

Seudohermafroditismo masculino debido a deficiencia de esteroide 5α -reductasa

TEOFILO GAUTIER, M. D.
RALPH E. PETERSON, M. D.
JULIANNE IMPERATO-McGINLEY, M. D.
ERASMO STURLA, M. D.
LUIS A. GUERRERO, M. D.
NEW YORK, NEW YORK.
SANTO DOMINGO, REPUBLICA DOMINICANA

Hemos investigado una nueva forma hereditaria de pseudohermafroditismo masculino en un *pedigree* de 24 familias con 38 varones afectados. Estos (46 XY) tenían al nacer falo clitoriforme, escroto bífido y seno urogenital. Los testículos estaban en los conductos inguinales o en los pliegues labioscrotales. Las estructuras wolffianas estaban normalmente diferenciadas; no existían estructuras müllerianas. En la pubertad, estos sujetos desarrollaron un hábito muscular masculino con crecimiento del falo y del escroto, cambio de voz y ausencia de ginecomastia. Tienen erecciones, eyaculaciones y una libido dirigida hacia las mujeres. Desarrollan escaso vello corporal, una barba escasa o ausente, no presentan recesión de la línea temporal del cabello y la próstata es pequeña. La biopsia testicular reveló que estas estructuras eran normales. Los niveles plasmáticos medios de T (testosterona) en los adultos afectados eran significativamente elevados, y los de DHT (dihidrotestosterona) eran significativamente inferiores a los normales. Las relaciones plasmáticas de T/DHT (testosterona/dihidrotestosterona) oscilaban entre 35 y 84, mientras que en los normales oscilan entre 8 y 16. En los niños varones afectados, la relación T/DHT tras la estimulación con hCG (gonadotropina coriónica humana) osciló desde 74 a 162, mientras que en los controles fue de 3 a 26. En los adultos afectados, los niveles plasmáticos medios de LH (hormona luteotrópica) y FSH (hormona foliculostimulante) eran significativamente superiores a los normales. En los sujetos afectados, los MCRs (índices de aclaramiento metabólico) de testosterona y dihidrotestosterona eran normales, pero la relación de conversión de T (testosterona) en DHT (dihidrotestosterona) era inferior al 1 %. La relación media de E/A (etiocolanolona/androsterona) urinarias y de E-OH/A-OH (etiocolanolonadiol/androstenediol) urinarios, y estas mismas relaciones tras la infusión de T (testosterona) radiactiva, fueron significativamente superiores a las de los varones normales. La herencia es autosómica recesiva, con algunas hermanas que presentan el mismo defecto bioquímico, y padres portadores obligados que muestran una forma intermedia del defecto. Los datos apoyan nuestra tesis de que el defecto que padecen estos pseudohermafroditas masculinos es secundario a una disminución de la actividad del esteroide Δ^4 - 5α -reductasa. Los sujetos afectados proporcionan un modelo clínico para delinear el papel de la testosterona y dihidrotestosterona en la diferenciación sexual y en el desarrollo. Esta entidad también presenta un trastorno hereditario del metabolismo de los esteroides en el que la deficiencia enzimática básica reside en los tejidos diana.

Division of Endocrinology, Department of Medicine, Cornell University Medical College, New York, y Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña, Departamento de Pediatría, Santo Domingo, República Dominicana. Este trabajo fue subvencionado por la USPH Career Research Award (REP) K6-AM 14, 241-13, Clinical Research Center grant RR-47, Training grant AM 5250, Research grant HD 09421, National Foundation Research grant 6-52, Shorr Fellowship fund, Mayer Foundation grant, y una donación del Gulf y Western (República Dominicana).



Fig. 1A. Varón afecto de 18 meses de edad que muestra el fenotipo femenino.



Fig. 1B. Los genitales externos del caso anterior (fig. 1A) muestran el escroto similar a unos labios con una discreta fusión posterior, el seno urogenital y el falo clitoriforme (18 mm).

Recientemente hemos descrito una forma hereditaria de seodohermafroditismo masculino secundaria a una disminución de la actividad del esteroide $\Delta^4 5\alpha$ -reductasa^{1,2}. Desde aquella publicación, nuestra casuística ha aumentado de 24 a 38 casos (33 viven) y el número de familias con sujetos afectados ha pasado de 13 a 24. Los pacientes son oriundos de Salinas, Barahona y de los Arroyos, Polo, Barahona. Una de las familias emigró hace años a Los Jovillos, Azua. Actualmente se encuentran distribuidos en los poblados aledaños a su lugar de origen y en Santo Domingo.

Con la finalidad de fundamentar con más datos nuestra tesis de que estos sujetos tienen una deficiencia de la enzima esteroide $\Delta^4 5\alpha$ -reductasa, hemos completado nuevos estudios sobre el metabolismo de la testosterona* en los sujetos afectados, en sus padres y en sus hermanos. Hemos medido los niveles plasmáticos de T (testosterona) y DHT (dihidrotestosterona) en varones púberes normales y en los púberes afectados en un grupo control de varones prepúberes y en varones prepúberes afectados, antes y después de la administración de gonadotropina coriónica humana (hCG). En los varones afectados, hemos medido también los índices de aclaramiento metabólico (MCRs) y los índices de producción sanguínea de T y DHT. Tras la administración de testosterona radiactiva también se midieron la DHT, E y A (etiocolanolona y androsterona) y los metabolitos urinarios 5β y $5\alpha C_{19}$ esteroides.

Se hizo una comparación entre las relaciones de los esteroides urinarios E/A ($5\beta/5\alpha$) (etiocolanolona/androsterona) en adultos y niños normales, en individuos prepúberes y púberes afectados, en los padres portadores obligados, en pacientes con diversos trastornos gonadales o suprarrenales y en seodohermafroditas masculinos no clasificados.

Los resultados de estos estudios también apoyan el concepto de que estos seodohermafroditas masculinos tienen una disminución de la capacidad para convertir T (testosterona) en DHT (dihidrotestosterona) y otros esteroides 5α reducidos secundariamente a una deficiencia del esteroide $\Delta^4 5\alpha$ -reductasa, definiéndose así un nuevo trastorno bioquímico que afecta el metabolismo de la T (testosterona).

RESUMEN DE LOS DATOS CLINICOS

Aspecto fenotípico prepuberal. En los niños varones afectados, la anomalía se limita a los genitales externos (figs. 1 a 4). Existe una notoria ambigüedad de los genitales externos y el aspecto corporal del niño tiene una apariencia fenotípica femenina. Sin embargo, la inspección cuidadosa de los genitales externos revela un falo clitoriforme, un escroto bifido con ligera fusión posterior y un seno urogenital que se abre en el perineo. En el seno

*Hemos empleado las siguientes denominaciones y abreviaturas: testosterona (T), 17β -hidroxi-androst-4-eno-3-ona; dihidrotestosterona (DHT), 17β -hidroxi- 5α -androst-3-ona; androsterona (A), 3α -hidroxi- 5α -androst-17-ona; etiocolanolona (E), 3α -hidroxi- 5β -androst-17-ona; (5α) androstanediol (A-OH), 5α -androst- 3α , 17β -diol; (5β) etiocolanoladiol (E-OH), 5β -androst- 3α - 17β -diol; androstenodiona (Δ), androst-4-eno-3, 17-diona; estradiol (E_2), 1,3,5 (10)-estratrieno-3, 17β diol.



Fig. 2A. Varón pseudohermafrodita de cuatro años de edad.



Fig. 2B. Genitales externos del caso anterior (fig. 2A). Se observa un escroto bifido con una apertura: orificio uretral en la base del pene.

urogenital existen dos orificios: una uretra (anterior) y una vagina ciega (posterior). El defecto parece idéntico en todos los niños varones afectados, excepto en un caso que tenía una sola apertura, la uretra localizada en la base del falo. La vagina en fondo de saco ciego se abría en la uretra (figs. 2 a 5). Los testículos están en los trayectos inguinales o en los pliegues labioescrotales. Las estructuras wolffianas internas presentan una diferenciación normal, y existe un conducto deferente, epidídimo y vesículas seminales. No existen estructuras mullerianas.

Aspecto fenotípico postpuberal. En la pubertad se virilizan los varones afectados, con transformación de la voz, aumento de la masa muscular y crecimiento considerable de los genitales externos. El falo crece hasta 4-6 cm de longitud (figs. 5 a 7). Tienen un grado variable de cordones. El escroto bifido aumenta de tamaño, se hace rugoso y pigmentado, y los testículos crecen y descienden (si no estaban ya en el escroto). Ninguno de los sujetos presenta ginecomastia. Los varones afectados tienen erecciones y existe eyaculación. Pueden efectuar la cópula, pero debido a la posición de la uretra la inseminación es imposible. El análisis del semen obtenido de un paciente reveló 40 millones de espermatozoides con un 80 % de motilidad y ausencia de formas anormales. No se efectuaron análisis específicos de los productos de la secreción prostática. Todos los varones postpúberes afectados tienen barba escasa o ausente, no presentan retroceso de la línea temporal del cabello y ninguno presenta acné. La próstata continúa siendo pequeña e incluso en los sujetos de más de 30 años se palpa con dificultad. Tienen una libido dirigida hacia el sexo femenino y todos me-



Fig. 3. Varón pseudohermafrodita de ocho años de edad.

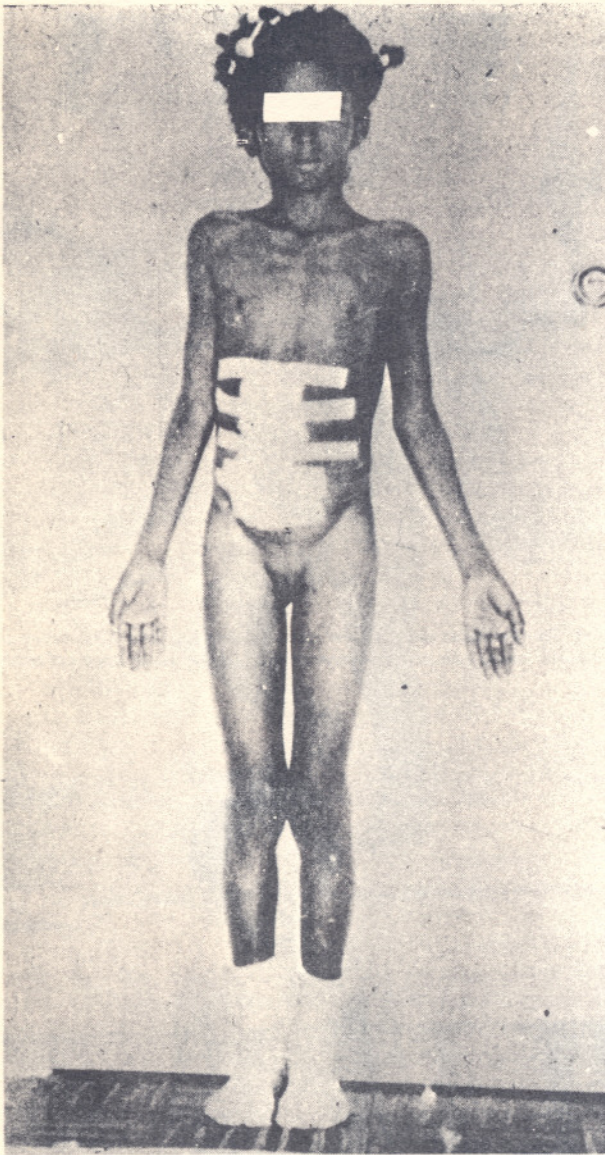


Fig. 4A. Varón pseudohermafrodita de 12 años de edad que creció como una chica. El niño fue sometido a cirugía abdominal por un quiste renal. En la intervención no se observaron útero, trompas de Falopio ni ovarios. Los testículos estaban en los trayectos inguinales. Este sujeto es el hermano del caso mostrado en la figura 3.

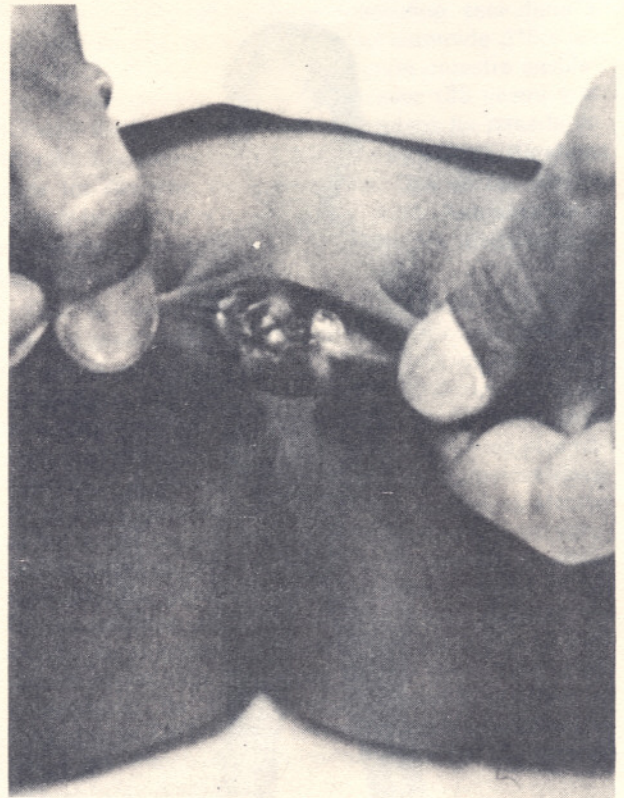


Fig. 4B. Genitales externos del caso de la figura 4A. Se observa un escroto bifido, el seno urogenital y el pequeño falo.

nos dos han asumido el papel masculino. Parecen tener una identidad masculina.

De los 33 sujetos afectos supervivientes, siete son prepúberes, dos púberes y 24 postpúberes.

MÉTODOS

Los reactivos empleados fueron diclorometano, benceno, mesitileno, decalín, ciclohexano, éter de petróleo e isoootano; todos fueron purificados mediante el paso a través de una columna de sílica de 7×100 cm y un promedio de 100 retículos. Los colorantes marcadores del papel de cromatografía para los esteroides eran Isatin (Eastman), F9, F11, F60 y F65 (Ciba). Los esteroides no radiactivos fueron obtenidos de Steraloids, Pawling, N.Y., y fueron

recristalizados dos veces. Los esteroides marcados con tritio (^3H) y ^{14}C fueron obtenidos de la New England Nuclear Corporation, Boston, Mass., y purificados mediante cromatografía en papel de partición y almacenados en alcohol absoluto a 4° .

El cortisol plasmático fue medido por un método fluorométrico³. Los niveles plasmáticos de LH y FSH fueron determinados por radioinmunoensayo⁴. Los 17-hidroxiesteroides urinarios fueron medidos por la reacción de Porter y Silver tras la hidrólisis con glucuronidasa⁵, y los 17-cetosteroides urinarios se determinaron con una modificación del método de Zimmerman⁶. Los estrógenos urinarios fueron medidos por el método de Brown según una modificación de Beling⁷. El pregnantriol urinario se midió con el método de Bongiovanni⁸ y el pregnandiol urinario por el método de Klopfer⁹. Los niveles plasmáticos de triyodotironina (T_3) se determinaron por radioinmunoensayo¹⁰.

Los valores plasmáticos de T, DHT y Δ (androstenediona) fueron determinados por radioinmunoensayo (RIA). Los antisueros fueron obtenidos de los laboratorios Miles, Elkhart, Indiana, T-7 α -carboximetil tioéter-albúmina sérica bovina; DHT-1-carboxietil tioéter-albúmina sérica bovina; Δ -7 α -carboxietil-tioéter-albúmina sérica bovina. Los esteroides radiactivos empleados para el ensayo fueron 100 Ci/mM de (1, 2, 6, 7- ^3H) T; 120 Ci/mM de (1, 2, 4, 5, 6, 7- ^3H) DHT; y 100 Ci/mM de (1, 2, 6, 7- ^3H) Δ (androstenediona). Los esteroides marcados fueron purificados por cromatografía en papel de partición en sistemas C y E (tabla I). Al plasma se le añadieron aproximadamente 2.000 dpm de cada esteroide marcado con ^3H con objeto de corregir las pérdidas habidas durante el método. En los adultos varones se empleó un mililitro de plasma, y en las mujeres y varones púberes o prepúberes de dos a tres mililitros. El plasma fue extraído con siete u ocho volúmenes de éter etilo recién purificado, mediante su paso a través de una columna de óxido de aluminio activado, y luego destilado. La fase acuosa fue congelada en un baño de hielo seco, y el éter decantado y evaporado hasta la desecación bajo una corriente de nitrógeno a 35° . Los colorantes marcadores F11 (azul) y F65 (naranja, previamente puri-

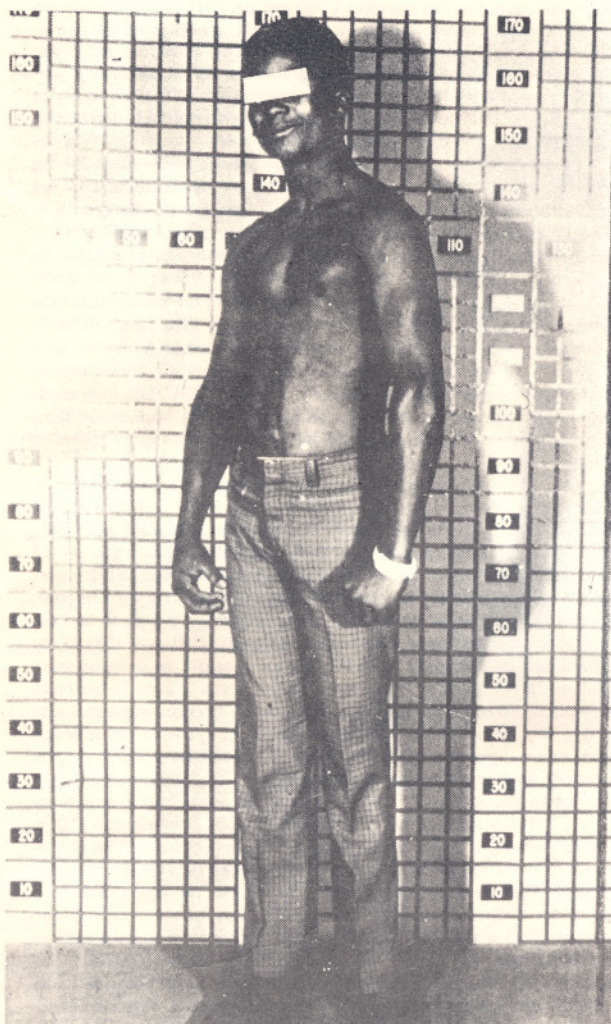


Fig. 5A. El caso anterior de las figuras 4A y B, ahora a la edad de 19 años. Nótese el hábito muscular varonil, sin ginecomastia y la ausencia de pelo facial y de retroceso de la línea temporal del cabello.

ficado por cromatografía en papel en el sistema disolvente C) fueron añadidos a los extractos desecados y cromatografiados durante 16 horas sobre papel Whatman nº 1 (18 x 55 cm) en el sistema disolvente C. Los índices de emigración de la T (testosterona), DHT (dihidrotestosterona) y Δ (androstenediona) fueron determinados mediante barrido de las tiras de papel de los esteroides radiactivos que fueron cromatografiados simultáneamente con las muestras en el mismo recipiente de disolvente. El colorante F65 (naranja) emigró con Δ a unos 44 cm, el colorante azul F11 emigró con la T a unos 15 cm y la DHT emigró con una relación (R) de 1,15 hacia el marcador fluorescente (visto en una fuente de luz de 254 m μ) en el colorante F11 a unos 35 cm. Tras la cromatografía, los esteroides fueron eluidos del papel con etanol; se tomaron partes alícuotas adecuadas para corregir las pérdidas habidas durante el método (recuperación de ^3H) y durante el RIA; estas muestras fueron luego desecadas en vacío. Tras la incubación del esteroide y el anticuerpo, el complejo esteroide-anticuerpo y el esteroide libre fueron separados con carbón recubierto de dextrán¹¹. La sensibilidad de los ensayos fue de 5 pg para los tres esteroides, y para los reactivos blancos de 5-10 pg/tubo. El coeficiente de variación entre los ensayos fue del 9,9 %. La especificidad de estos antisueros ha sido ya descrita con detalle¹².

Para determinar el índice de aclaramiento metabólico (MCR) de



Fig. 5B. Genitales externos del caso de las figuras 4A, 4B y 5A. Se observa un crecimiento ostensible del falo y escroto con los testículos ya situados en la bolsa escrotal.

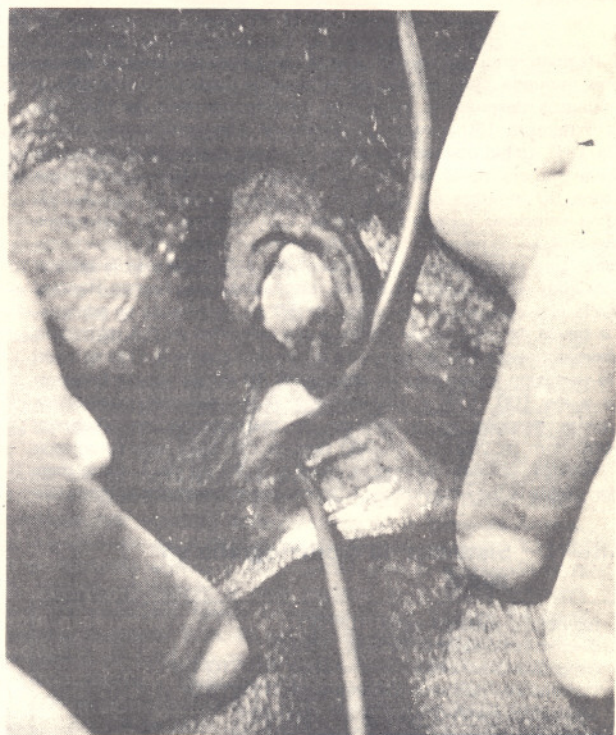


Fig. 5C. Los genitales externos del caso de la figura 5A y 5B. Hay dos catéteres en el seno urogenital; el anterior está colocado en la uretra y el posterior en la vagina de fondo ciego.

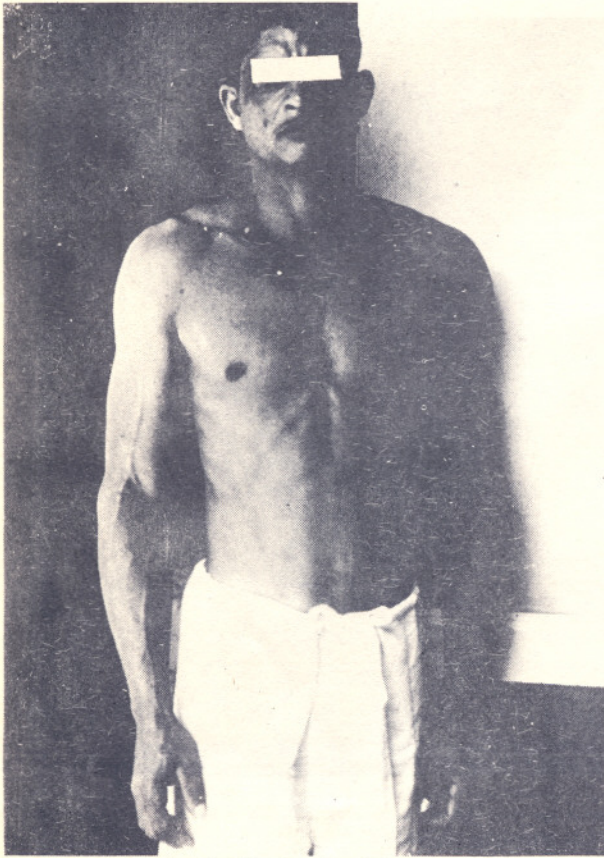


Fig. 6. Varón afecto de 42 años de edad con un hábito muscular masculino.

la T (testosterona), se inyectó una primera dosis de 5 μ Ci de testosterona marcada con carbono en la posición cuatro (50 mc/mM), y 30 minutos después se inició una infusión continua de 15 μ Ci de (14 C) T durante 130 minutos. El índice de aclaramiento metabólico de la DHT (dihidrotestosterona) se investigó mediante la inyección de una primera dosis de 10 μ Ci de (3 H) DHT (100 Ci/mM), que pasados 30 minutos se siguió de una infusión de 30 μ Ci de (3 H) DHT a velocidad constante durante 130 minutos. Los esteroides empleados en la infusión fueron disueltos en etanol y diluidos hasta obtener una concentración de etanol del 7 % mediante la adición de solución salina isotónica estéril. Empleando una bomba Harvard cargada con una jeringa de vidrio de 50 ml, la infusión se administró a través de un tubo de teflón, a una velocidad de 0,4 ml/minuto aproximadamente tras el inicio de la infusión continua. Tras el inicio de la perfusión constante, se obtuvieron 40 ml de sangre heparinizada a los 100, 115 y 130 minutos. A las muestras plasmáticas recogidas después de la infusión de testosterona, se añadieron 25.000 dpm de (3 H) T y 25.000 dpm de (3 H) DHT a fin de corregir las pérdidas sufridas durante la técnica, y 50 μ g de T como marcador visible a luz ultravioleta. A las muestras plasmáticas recogidas

tras la infusión de DHT se añadieron 2.000 dpm de (14 C) DHT para corregir las pérdidas del método y 50 μ g de DHT. A cada muestra plasmática se añadió un mililitro de NaOH 1N, y el plasma fue extraído con ocho volúmenes de diclorometano. Los extractos del disolvente fueron desecados y cromatografiados en el sistema disolvente C, como se ha descrito anteriormente para el RIA de la T y la DHT. La T y la DHT fueron eluidas del papel con etanol y desecadas y acetiladas con anhídrido acético y piridina (2/1) durante 16 horas a 22°. Se añadió metanol a las muestras y los disolventes fueron evaporados hasta la desecación. El acetato de testosterona fue cromatografiado durante ocho horas en el sistema de disolvente A, y el acetato de DHT (dihidrotestosterona) fue cromatografiado durante 30 horas con el colorante F60 en el sistema G. El acetato de testosterona (30 cm) fue localizado mediante el barrido del papel con una fuente de luz de 254 m μ . El acetato de dihidrotestosterona tiene una R (relación) de 1,00 con el colorante F60 (azul, 40 cm). Los acetatos esteroideos fueron eluidos con etanol en viales de conteo, y el 3 H y el 14 C se midieron simultáneamente en un espectrómetro de centelleo líquido Packard, modelo 3390. Los índices de aclaramiento metabólico (MCRs), las relaciones de conversión (C) y las constantes de transferencia (ρ) fueron calculadas en la forma ya descrita¹³.

En los sujetos postpúberes se procedió al fraccionamiento de C19, 17 ceteroides, A y E (androsterona y eticolanolona) urinarios mediante cromatografía en papel. Se tomaron de 20 a 50 ml de orina (aproximadamente del 2 al 5 % del volumen urinario en 24 horas) y se ajustaron a un pH de 5,0 a los que añadieron posteriormente 1.000 unidades de cetodasa por mililitro (Warner-Chilcott). Antes de la incubación de la orina, se le añadieron a ésta la androsterona y la eticolanolona marcadas con tritio [3 H) A y (3 H) E] en una cantidad de 300.000 dpm/ml; a continuación, se inició la incubación de la mezcla a 37° durante 36-40 horas*. Tras la hidrólisis con β -glucuronidasa, la orina fue extraída en un embudo separador con 6 ó 7 volúmenes de éter de petróleo. El extracto del éter fue lavado sucesivamente con NaOH 0,1N, 0,1 de ácido acético y agua, y entonces se evaporó hasta la desecación.

A una parte alícuota de la orina residual, se añadieron nuevamente (3 H) A y (3 H) E y la orina fue acidificada con ClH concentrado (10 % v/v) y calentada al baño María durante 30 minutos. Tras su enfriamiento, la orina fue extraída con 6-7 volúmenes de éter de petróleo, se lavó sucesivamente con NaOH 2N, 0,1M de ácido acético y agua, y se evaporó hasta la desecación. Los dos residuos fueron cromatografiados durante 20 horas con colorante marcador F60 en papel Whatman número 1 en el sistema de cromatografía A. El colorante F60 (azul) emigró hasta unos 40 cm. Se tomaron las tiras del papel, cortándose éste en toda la anchura de la mancha producida por el colorante; a continuación se procedió al barrido del papel cortado con un cortador de centelleo para localizar los esteroides marcados con el tritio. La androsterona (A) tiene una R de 0,75 y la eticolanolona (E) tiene una R de 0,60 con el colorante F60 (azul). Las áreas de papel que contenían los dos esteroides fueron cortadas y separadas y los esteroides eluidos con etanol. Se tomaron cantidades conocidas de los eluidos, con objeto de determinar las pérdidas habidas durante el método, se evapora hasta la desecación y se investigó el contenido de 3 H (tritio) en ellas; el eluido restante fue evaporado hasta la desecación; entonces se midió el contenido de A y E mediante la reacción de Zimmerman⁶. El coeficiente de variación entre los ensayos fue del 3,9 %.

En los niños y adolescentes prepúberes, los C19 y 17-cetosteroides urinarios fueron determinados por un método isotópico doble^{14, 15}. Se tomaron de 10 a 25 ml de orina y se añadieron 1.500 dpm de (14 C) A y (14 C) E, iniciándose después la hidrólisis con β -glucuronidasa a 37° durante 36-40 horas, como se ha mencionado anteriormente. Tras la hidrólisis, la orina fue extractada y el extracto evaporado hasta la desecación con objeto de proceder a la cromatografía. A la orina residual se añadieron A y E marcadas con 14 C y la orina fue hidrolizada con ácido, como ya se ha descrito. A los extractos del disolvente se añadieron el colorante F65 y

TABLA I. Sistemas de cromatografía en papel

- | | |
|----|--|
| A. | Iso-octano-metanol-agua, 10/10/1 |
| B. | Decalin-nitrometanol-metanol, 10/5/5 |
| C. | Ciclohexano-benceno-metanol-agua 10/2/10/1,5 |
| D. | Ciclohexano-benceno-metanol-agua 10/4/10/2 |
| E. | Mesitileno-metanol-agua 3/2/1 reversible |
| F. | Mesitileno-metanol-agua 10/10/1 reversible |
| G. | Decalin-metanol-agua 10/10/1 reversible |

* Los glucosiduronatos (glucurónidos) son los esteroides liberados en la hidrólisis por la β -glucuronidasa. Los sulfatos son los esteroides liberados tras la ebullición durante 30 minutos con ClH al 10 % y tras la extracción de los glucosiduronatos, aunque hay que reconocer que una pequeña porción de esta fracción puede representar a otros conjugados esteroideos.



Fig. 7. Los varones de la izquierda y el centro son primos pseudohermafroditas. El sujeto de la derecha es un varón normal y hermano del individuo de la izquierda. Los dos sujetos afectados están más musculados, mientras que el varón normal tiene barba y retroceso de la línea temporal del cabello.

25 μg de 11α -OH acetato de progesterona (11α -acetoxi-pregn-4-eno-3,20 diona), iniciándose la cromatografía durante 16 horas en el sistema de disolvente C. El marcador esteroideo acetato de 11α -OH progesterona fue localizado mediante el examen del papel con luz ultravioleta. El colorante F65 (naranja) emigra con la androsterona a unos 42 cm, y la eticolanolona emigra con el acetato de 11α -OH progesterona a unos 35 cm. Las relaciones entre la A y E y sus respectivos marcadores fueron determinadas mediante el rastreo en papel de estos marcadores con la indicación de los marcadores esteroideos que habían sido cromatografiados simultáneamente con las muestras en el mismo recipiente del disolvente. Las bandas de papel que contenían los esteroides fueron cortadas y los esteroides eluidos con etanol. Este fue evaporado hasta la desecación y el residuo acetilado en anhídrido acético- $^3\text{H}^{14}$. Las fracciones esteroideas de las orinas de los sujetos de menos de seis años de edad fueron acetiladas con 100 mCi/mM de anhídrido acético, y las de los sujetos de 7 a 11 años y de 12 a 15 años con 33 y con 20 mCi/mM de anhídrido acético, respectivamente, para formar los monoacetatos C-3 marcados con tritio. Posteriormente se añadieron a cada orina 20 μg de benzoato de testosterona (17β -benzoxiandro-4-eno-3-ona), cromatografiándose después durante 33 horas en sistema disolvente B o hasta que el colorante F60 (turquesa) estuviera cerca del final del papel. El benzoato de testosterona fue localizado con luz ultravioleta. El acetato de androsterona tiene una R de 0,94 y el acetato de eticolanolona tiene una R de 1,10 con el benzoato. Los esteroides fueron eluidos con metanol y cromatografiados con 40 μg de benzoato de $\Delta^{1,4}$ testosterona (17β -benzoxiandro-1,4-dian-3-ona) durante 80-90 horas en sistema disolvente F. El acetato de androsterona tiene una R (relación) de 1,00 y el acetato de eticolanolona de 0,95 con el benzoato. Los esteroides fueron eluidos del papel, desecados, disueltos en 0,5 ml de metanol y entonces reducidos a acetatos 17β -hidroxi-C-3, mediante la adición de 0,1 ml de NaBH_4 al 2 % recién preparado en agua, durante cinco minutos a 22° . Tras la adición de 1 ml de agua y dos gotas de ácido acético glacial, el esteroide fue extractado con cinco volúmenes de diclorometano y el extracto evaporado hasta la desecación. Después de la adición de 10 μg de benzoato de $\Delta^{1,4}$ testosterona, los esteroides fueron cromatografiados durante ocho horas en un sistema A o hasta que el colorante F60 (turquesa) hubiera emigrado hasta el final del papel. El acetato de 17β -hidroxi-androsterona tiene una R de

0,98 y el acetato de 17β -hidroxi-eticolanolona de 1,10 con el benzoato. Los esteroides fueron eluidos, desecados y acetilados con anhídrido acético y piridina (2/1) durante 16 horas a 22° . Se añadió metanol y los disolventes fueron evaporados hasta la desecación. Tras la adición de colorante F60, las muestras se cromatografiaron durante 80-90 horas en sistema disolvente G. El colorante F60 emigra unos 30 cm; el diacetato de androstanediol (A-OH) tiene una R de 1,15 y el diacetato de eticolanolonadiol (E-OH) de 0,98 con el colorante F60. Los acetatos esteroideos fueron eluidos con etanol en viales de conteo y el ^3H y ^{14}C medidos simultáneamente en un espectrómetro de centelleo líquido. La androsterona y eticolanolona urinarias se calcularon en la forma ya descrita^{14, 15}. El coeficiente de variación entre los ensayos fue del 9,0 %.

En los adultos, el eticolanolonadiol y el androstanediol (E-OH y A-OH) urinarios se midieron con un método isotópico doble. Se tomaron 10 ml de orina y se les añadieron 1.500 dpm de ^{14}C A-OH y (^{14}C) E-OH, hidrolizándose y extractándose posteriormente en la forma descrita para el método de la determinación de la androsterona (A) y eticolanolona (E) urinarias en los niños. Tras la adición del colorante F11, se añadieron a los residuos extractados 20 μg de Δ^4 11β -OH androstenodiona (11β -hidroxiandro-4-eno-3,17-diona) y 20 μg de Δ^4 androsteno-3,11,17-triona (andro-4-eno-3,11,17-triona), cromatografiándose las muestras durante 20 horas en sistema disolvente D o hasta que el colorante F11 alcanzara el extremo del papel. El androstanediol a 42 cm tiene una R de 0,95 con la triona y la eticolanolonadiol de 1,35 con el Δ^4 11β -OH-androstenodiona a 25 cm. Los esteroides fueron eluidos y acetilados con anhídrido acético tritidado en la forma ya descrita. Para la acetilación del A-OH (androstanediol) se emplearon 33 mCi/mM de anhídrido acético y 20 mCi/mM para la acetilación de la E-OH (eticolanolonadiol). A cada muestra se le añadió colorante F60 y los diacetatos fueron cromatografiados durante 24 horas en sistema disolvente B. A 40 cm, los diacetatos de A-OH y E-OH tienen una R de 1,10 con el colorante F60 (turquesa). Los diacetatos fueron eluidos y cromatografiados durante 90 horas con colorante F60 en sistema disolvente F. El diacetato de A-OH tiene una R de 1,35 y el diacetato de E-OH de 1,23 con el colorante F60 (turquesa 10 cm). Los esteroides eluidos fueron cromatografiados en sistema disolvente A durante cinco horas. Los dos acetatos esteroideos tienen una R de 1,20 con el colorante F60 (turquesa 40 cm). Los esteroides eluidos fueron cromatografiados en el sis-

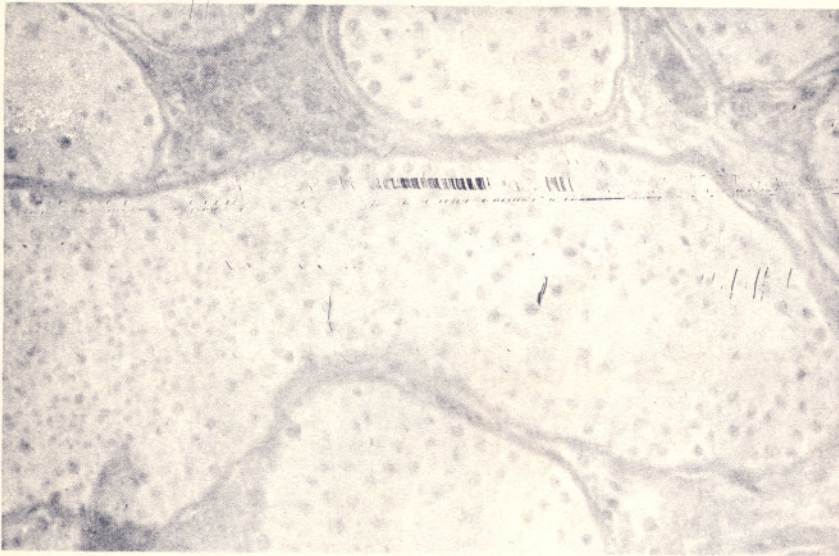


Fig. 8. Visión microscópica de los testículos que muestra abundantes células de Leydig y un túbulo seminífero alargado y contorneado con espermatogénesis. No hay hialinización de los túbulos.

tema disolvente G durante 80-90 horas con colorante F60 como ya se ha descrito. Los diacetatos fueron eluidos y ensayados para la existencia de ^{14}C y ^3H , y la cantidad de A-OH y E-OH calculada en la forma ya señalada anteriormente.

Los esteroides marcados con tritio y ^{14}C para administración intravenosa ($5-10 \mu\text{C } ^{14}\text{C}$ y los $10-20 \mu\text{C } ^3\text{H}$) fueron disueltos en etanol absoluto y diluidos con 150-200 ml de solución acuosa estéril de dextrosa al 5 %, hasta obtener una concentración de etanol del 7 %. La solución fue administrada durante 20-30 minutos, y durante dos o tres días se recogió la orina de 24 horas. La totalidad de la orina recogida fue establecida por una excreción

urinaria constante de creatinina. Se combinó aproximadamente el 5 % del total de cada recogida de orina de 24 horas y se ajustó a un pH de 5,0. A la orina así preparada se le añadieron esteroides marcados con ^{14}C o ^3H con objeto de corregir las pérdidas producidas durante el método, y seguidamente se procedió a hidrolizar y extraer la orina en la forma ya descrita. Los extractos fueron cromatografiados durante 33 horas con el colorante F9 e insatina en sistema E. Los metabolitos de los esteroides radiactivos fueron localizados mediante barrido de las manchas de colorante producidas en el papel. La androsterona tiene una R de 1,05 con el marcador fluorescente en F9 (15 cm), y la eticolanolona de 0,98 con el colorante F9 (púrpura, 22 cm). El androstanediol (A-OH) tiene una R de 0,92 y el eticolanodiol (E-OH) de 1,00 con la insatina (43 cm). La androsterona fue cromatografiada con colorante F60 durante 24 horas en sistema disolvente A. La androsterona tiene una R de 0,75 con el colorante F60 (azul, 40 cm). La eticolanolona fue cromatografiada con colorante F65 durante 40 horas en el sistema disolvente A y tiene una R de 0,90 hacia el colorante F65 (naranja, 35 cm). El A-OH fue cromatografiado con $20 \mu\text{g}$ de Δ^4 androsteno-3,11,17-triona durante 20 horas en sistema disolvente D, y tiene una R de 0,95 con el marcador de la triona a 42 cm. El E-OH fue cromatografiado con $20 \mu\text{g}$ de Δ^4 11-OH androstanodiona durante 40 horas en sistema disolvente D, y tiene una R de 1,35 con el marcador esteroideo (30 cm). Tras la elución y desecación de los eluidos alcohólicos, se procedió a la acetilación de los esteroides con anhídrido acético y piridina (2/1) durante 16 horas a 22° . Se añadió metanol y los disolventes fueron evaporados hasta la desecación. Al acetato de eticolanolona se le añadieron $20 \mu\text{g}$ de benzoato de testosterona, y a las muestras de acetato de androsterona se añadió colorante F60; ambas preparaciones fueron cromatografiadas durante 36 horas en sistema disolvente G. El acetato de eticolanolona tiene una R de 1,15 con el benzoato de testosterona (30 cm) y el acetato de androsterona de 0,95 con el colorante F60 (azul, 35 cm). A los acetatos de A-OH y E-OH se les añadió colorante F60, siendo cromatografiadas las preparaciones durante 80-90 horas en sistema disolvente G. El diacetato de A-OH (androstanediol) tiene una R de 1,15 y el diacetato de eticolanolonadiol (E-OH) de 0,98 con el colorante F60 (azul, 30 cm).

Los acetatos esteroideos fueron eluidos con etanol en viales de conteo; el ^3H y ^{14}C fueron determinados en la forma ya descrita. Los porcentajes de los metabolitos esteroideos radiactivos urinarios fueron determinados mediante el cálculo de la cantidad de metabolito excretado en la orina, empleando esteroides marcados con isótopos para corregir las pérdidas producidas durante el método, dividido por la radiactividad total en la orina o por la cantidad de esteroide radiactivo administrado. La radiactividad urinaria total

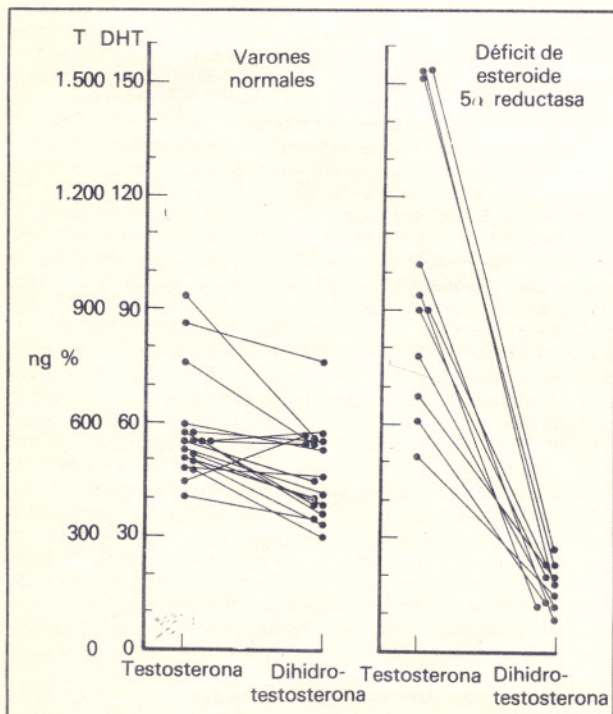


Fig. 9. Concentraciones plasmáticas de ^3H y DHT en sujetos adultos normales y afectados, de 18 a 55 años de edad.

fue determinada mediante el recuento de 0,5 ml de orina en una solución biológica de fósforo en tolueno, empleando un estándar externo para las variaciones producidas por el enfriamiento.

Los metabolitos esteroideos marcados con ^{14}C fueron preparados por incubación de los precursores esteroideos marcados con fracciones de hígado de rata. Se homogeneizaron aproximadamente 100 g de hígado de ratas hembras jóvenes de unos 200 g de peso, a 4° en 100 ml de tampón tris 0,1M a pH de 7,4. El homogeneizado fue centrifugado a 4° y 10.000 rpm durante 10 minutos, y la mitad del sobrenadante fue recentrifugada en la ultracentrífuga Spinco Preparative a 100.000 rpm durante 60 minutos.

Los esteroideos marcados fueron disueltos en 0,1 ml de metanol, a lo que se añadió después 2 ml de tampón tris 0,1M a pH 7,4. A la solución tamponada se le añadieron a continuación los siguientes compuestos: 0,2 ml de Cl_2Mg 0,2 M, 0,2 ml de NADP (Sigma, 2 mg/ml en tampón tris a pH 7,4); 0,2 ml de ácido isocítrico, 0,2M (Sigma, sal trisódica en tampón tris a pH 7,4); 0,2 ml de isocítrico-deshidrogenasa (Sigma, 10 mg por ml en tampón tris a pH 7,4). Tras la mezcla, se añadieron 3 ml de una solución de la fracción soluble del hígado de rata, y la preparación se incubó a 37° durante dos horas.

Para la preparación de androstanediol (A-OH) y eticolanolonadiol (E-OH), se empleó como sustrato ^{14}C Δ (androstenodiona) (50 mCi/mM), y para la preparación de androsterona y eticolanolona (A y E), se empleó como sustrato ^{14}C 11-desoxicortisol (50 mCi/mM). El sobrenadante del homogeneizado de hígado de rata dio preferentemente, tras su centrifugación a 10.000 rpm, esteroideos 3α , 5α , mientras que tras la centrifugación a 100.000 rpm se obtuvieron en el sobrenadante esteroideos 3α y 5β , fundamentalmente.

El A-OH y E-OH marcados que se formaron tras la incubación del ^{14}C Δ fueron extraídos del homogeneizado con 10 volúmenes de benceno/éter de petróleo (1/1). El disolvente fue lavado con una solución acuosa de NaOH 0,1N, fue evaporada hasta la desecación y el residuo cromatografiado durante 33 horas con isatina en sistema disolvente E. El E-OH tiene una R de 1,00 y el A-OH de 0,92 con isatina (43 cm). El 3β -A-OH tiene una R de 1,00 y el 3β E-OH de 0,96 con isatina. Las zonas correspondientes al A-OH y E-OH fueron cortadas y los esteroideos eluidos con metanol y cromatografiados en sistema disolvente D. El androstanediol (A-OH) fue cromatografiado con 20 μg de Δ^4 -androsten-3,11,17-triona y colorante F11 durante 20 horas, o hasta que el F11 alcanzara el extremo del papel. El androstanediol y la 3β , eticolanolonadiol tienen una R de 0,95 con la triona (40 cm). El E-OH fue cromatografiado con 20 μg de Δ^4 -11 β -OH androstenodiona durante 40 horas. El E-OH central (ecuatorial) tiene una R de 1,35 y el 3β A-OH ecuatorial de 1,15 hacia el Δ^4 -11 β -OH androstanediona (30 cm).

Los metabolitos marcados formados después de la incubación del ^{14}C 11-desoxicortisol fueron extraídos del homogeneizado con 10 volúmenes de diclorometano, y tras el lavado con NaOH 0,1N y ácido acético 0,1M el disolvente fue evaporado hasta la desecación. El residuo fue disuelto en 0,5 ml de metanol, seguido por 5 ml de ácido acético al 2,5 %. Se añadieron después 5 mg de bismutato sódico y la mezcla fue agitada en la oscuridad durante cuatro horas. Esta mezcla fue filtrada a través de un papel Whatman número uno y el filtrado extractado con cinco volúmenes de éter de petróleo. El disolvente se lavó con una solución acuosa de NaOH 0,1 N y fue evaporado hasta la desecación. Se cromatografió el residuo con colorante F9 durante 60-70 horas en sistema disolvente E o hasta que el colorante F9 alcanzara los 43 cm. La androsterona tiene una R de 1,05 con el marcador fluorescente en el colorante F9 (28 cm), y la eticolanolona de 0,98 con el colorante F9 (42 cm). La 3β , eticolanolona tiene una R de 1,20 con el marcador fluorescente, mientras que la 3β androsterona tiene una R de 0,92 con el F9. Las zonas correspondientes a la androsterona y eticolanolona fueron cortadas y separadas, y los esteroideos eluidos con metanol y cromatografiados en sistema disolvente A. La androsterona fue cromatografiada con colorante F60 durante 20 horas. La androsterona y la 3β , eticolanolona tiene una R de 0,75 con el colorante F60 (azul, 40 cm). La eticolanolona fue cromatografiada con colorante F65 durante 40 horas y tiene una R de 0,90. La 3β , androsterona tiene una R de 0,80 con el colorante F65 (naranja, 35 cm). Los cuatro esteroideos epimeros fueron recromatografiados en sistema disolvente E. La prueba de la pureza radioquímica de los esteroideos marcados con ^{14}C se basó en la determinación de la constancia de la relación $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ de los esteroideos tras la mezcla de los esteroideos marcados con ^{14}C y los respectivos este-

roides marcados con ^3H , seguida por la cromatografía en los sistemas disolventes arriba citados. Tras la acetilación de las muestras y la cromatografía de los acetatos, las relaciones $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ permanecieron constantes. La pureza de los esteroideos ^{14}C fue también valorada mediante la adición de esteroideos portadores, seguido de la recristalización. Las actividades específicas de los cristales y los líquidos madre eran constantes.

RESULTADOS

Se efectuó análisis cromosómico en ocho de los varones afectados; el cariotipo fue 46 XY.

La biopsia testicular de uno de ellos (de 45 años de edad) demostró unos túbulos seminíferos normales con espermatogénesis completa (fig. 8). Las células de Leydig eran abundantes pero no hiperplásicas. En los varones afectados eran normales los niveles plasmáticos de cortisol y los niveles urinarios de 17-hidroxisteroides y 17 cetosteroides. El pregnandiol urinario, el pregnantriol y los estrógenos fueron medidos en cuatro sujetos, con resultados normales en todos ellos. En 11 adultos afectados, los niveles plasmáticos de Δ (androstanediona) estaban dentro de los valores normales para los varones (de 50 a 130 ng %). En cuatro varones prepúberes afectados, los niveles plasmáticos de Δ eran de 5 a 19 ng %, y de 22 a 35 ng % tras la administración de hCG. En siete adultos afectados los niveles plasmáticos de T_3 eran normales.

En 24 varones normales (de 18 a 55 años de edad) el nivel plasmático medio de LH fue de $2,8 \mu\text{g} \% \pm 1,4$ DE (LER 907), mientras que en 10 de los varones afectados (de 18 a 55 años de edad) era de $8,1 \mu\text{g} \% \pm 5,5$ DE (LER 907), valor significativamente superior ($p < 0,001$) al valor medio de los varones normales. El nivel plasmático medio de FSH en 24 varones normales fue de $16,6 \mu\text{g} \% \pm 14,4$ DE (LER 907) y en los 10 varones afectados era de $40,9 \mu\text{g} \% \pm 15,8$ DE (LER 907), valor también significativamente superior ($p < 0,001$) al valor medio de FSG entre los sujetos normales.

En 18 varones normales (de 18 a 55 años de edad), los niveles plasmáticos de testosterona oscilaron desde 403 a 929 ng %, con una media de $571 \text{ ng} \% \pm 140$ DE (fig. 9), y en 11 varones postpúberes afectados (de 18 a 55 años) la testosterona plasmática osciló entre 508 y 1.550 ng %, con una media de $989 \text{ ng} \% \pm 376$ DE, valor significativamente superior ($p < 0,001$) al medio en los varones normales.

Los niveles plasmáticos de DHT (dihidrotestosterona) en los varones normales oscilaron desde 30 a 76 ng %, con una media de $46 \text{ ng} \% \pm 12$ DE, mientras que en los varones afectados la DHT plasmática alcanzó valores de 9 a 23 ng %, con una media de $17 \text{ ng} \% \pm 5,0$ DE, cifra significativamente inferior ($p < 0,001$) al valor medio en los sujetos normales (fig. 9). Las relaciones T/DHT oscilaron desde 8 a 18 en los varones normales, mientras que en los afectados fue de 35 a 84.

Los niveles plasmáticos de T y DHT y las relaciones T/DHT en los cinco prepúberes y tres púberes varones normales, y en los cuatro prepúberes y dos púberes varones afectados, no fueron significativamente diferentes. Sin embargo, tras la administración de hCG, las relacio-

TABLA II. Índices de aclaramiento metabólico (MCR), concentraciones plasmáticas, índices de producción sanguínea de testosterona (T) y dihidrotestosterona (DHT); relaciones de conversión (RC) y constantes de transferencia (ρ) de la testosterona en dihidrotestosterona en los sujetos con deficiencia de 5α reductasa

Sujeto	MCR (T) l/día	Plasma (T) ng %	IPS*(T) mg/día	RC (T→DHT) %	(ρ)/(T→DHT) %
A.B.	1.050	1.028	10,8	0,48	0,23
E.B.	980	605	5,9	0,85	0,76
	MCR (DHT) l/día	Plasma (DHT) ng %	IPS*(DHT) g/día		
A.B.	503	9	45		
E.B.	744	13	96		
P.C.	423	14	66		

*IPS = índice de producción sanguínea

nes T/DHT en los varones prepúberes y púberes normales osciló desde 3 a 26, mientras que en los cuatro prepúberes varones afectados, las relaciones fueron de 74 a 162 (figs. 10 y 11).

En la tabla II se muestran los índices de aclaramiento metabólico de la T y DHT en los adultos afectados; estos valores están dentro de los límites normales¹⁶⁻¹⁹. Los índices de producción sanguínea de la testosterona eran también normales entre los sujetos afectados^{16, 18, 19}. Sin

embargo, los índices de producción sanguínea de DHT eran solamente algo superiores a los de las mujeres adultas normales^{16, 18, 19}. En los sujetos afectados, las relaciones de conversión eran inferiores a las descritas en los varones (del 2,5 al 7 %) o mujeres (del 2 al 4 %) normales, y las constantes de transferencia eran también algo inferiores a las de los varones (del 2 al 5 %) o mujeres (del 1 al 2 %) normales¹⁶⁻¹⁹. Aproximadamente el 50 % de la producción de DHT derivaba de la testosterona en los sujetos afectados, hecho similar al descrito por otros autores^{16, 18, 19}.

Las relaciones E/A urinarias en los 23 varones normales (de 18 a 55 años de edad) oscilaron desde 0,46 a 1,60, con una media de $0,88 \pm 0,37$ DE*. En 19 varones afectados, estas relaciones oscilaron desde 2,20 a 6,30, con una media de $5,02 \pm 2,62$ DE ($p < 0,001$). Cinco de los varones afectados tenían relaciones E/A que rebasaban el 95 % de los límites de los varones afectados ($5,02 \pm 1,26$) (fig. 12). En los 13 padres portadores obligados, la relación E/A media fue de $2,20 \pm 0,68$ DE, con unos límites de 1,24 a 3,65 que eran valores intermedios entre los de los varones normales y los afectados. La diferencia entre las relaciones de los varones portadores obligados y las de los varones normales o afectados fue estadísticamente significativa. Tres varones portadores obligados tenían relaciones (1,24, 1,40 y 1,44) normales, pero que rebasaban el 95 % de los límites de los varones normales ($0,88 \pm 0,16$). Seis padres portadores tenían valores dentro de los límites de los varones, afectados, pero todos rebasaban el 95 % de los límites de éstos ($5,02 \pm 1,26$) (fig. 12).

En 16 mujeres normales, la relación E/A media fue de $0,87 \pm 0,25$ DE, con unos límites de 0,42 a 1,34. En 17 madres portadoras obligadas, la relación media fue de $2,42 \pm 0,99$ DE, con unos límites de 1,15 a 5,14. Las relaciones de las mujeres normales y las portadoras obligadas fueron significativamente diferentes ($p < 0,001$). Una portadora obligada tenía una relación de 1,24 que estaba dentro de los límites normales para las mujeres (0,42 a 1,34), pero que rebasaba el

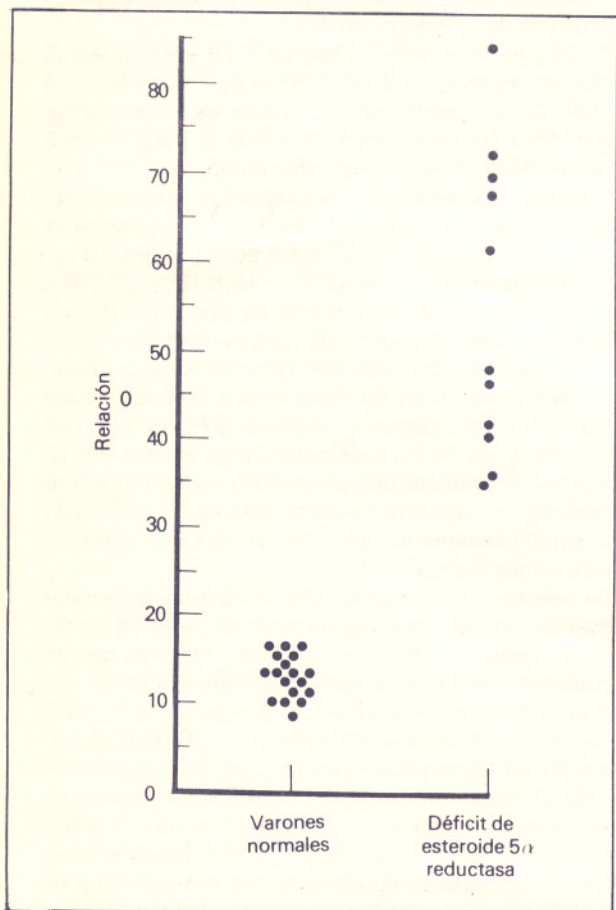


Fig. 10. Relación de T/DHT plasmática en los adultos normales y afectados de 18 a 55 años de edad.

*En todos los sujetos, las cantidades de E, A, E-OH y A-OH formadas endógenamente o tras la infusión de T radiactiva representan la suma de los metabolitos esteroideos producidos por la β -glucuronidasa y la hidrólisis ácido caliente.

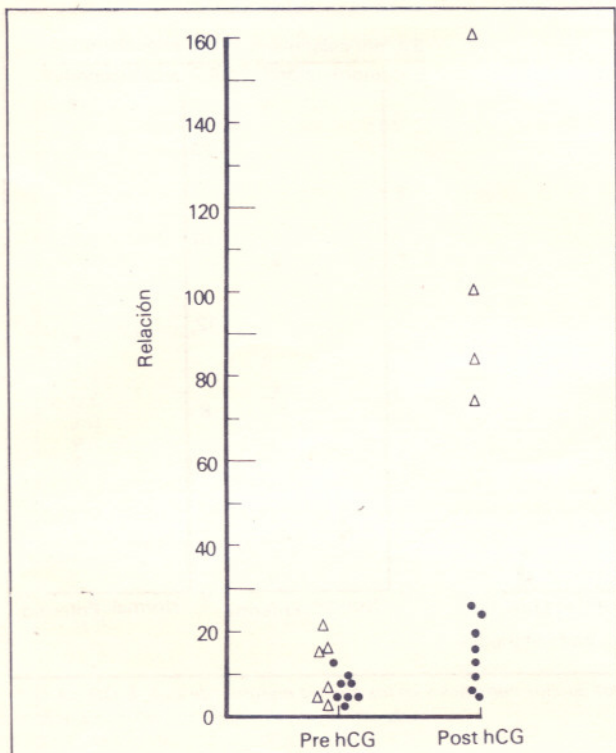


Fig. 11. Relación de 1/DHT plasmática en los varones prepúberes normales y en los afectados antes y después de la estimulación con hCG.

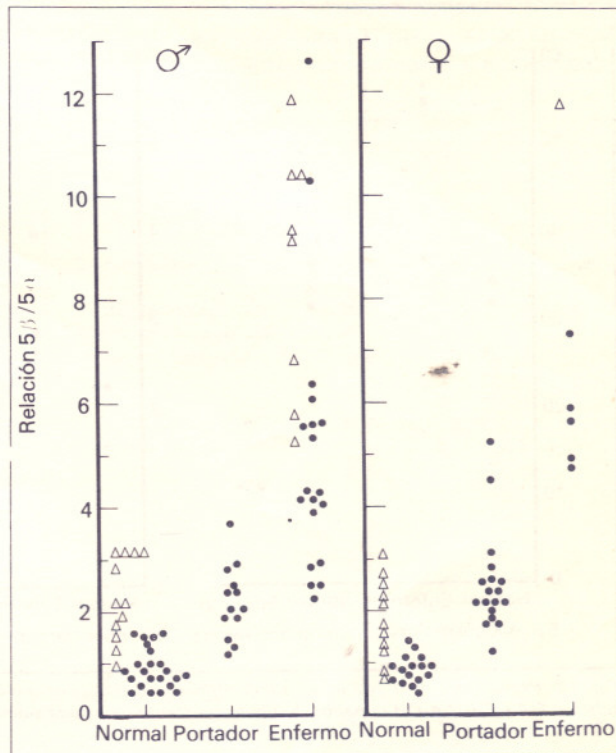


Fig. 12. Relación de E/A (●) y E-OH/A-OH (Δ) urinarias endógenas en los adultos normales, en portadores obligados y en sujetos afectados.

95 % de los límites de las mujeres normales ($0,87 \pm 0,14$). Dos mujeres portadoras tenían relaciones que estaban dentro del 95 % de los límites de los varones afectados ($5,02 \pm 1,26$) y son probablemente homocigotos para la enfermedad. Cinco mujeres, todas hermanas de varones afectados, tenían relaciones que estaban dentro del 95 % de los límites de los varones afectados ($5,02 \pm 1,26$) y son presumiblemente homocigotos para la enfermedad.

Las relaciones E/A en siete varones prepúberes normales oscilaron desde 0,88 a 1,43 y en nueve mujeres también prepúberes normales oscilaron desde 0,50 a 1,18 (tabla III). Seis varones prepúberes afectados tenían relaciones que oscilaban de 2,62 a 5,37, valores significativamente superiores a las relaciones en los varones y mujeres prepúberes normales. Una hermana prepúber de un varón afecto tenía una relación de 2,75 y puede ser homocigoto para la enfermedad. En 11 varones prepúberes con genitales ambiguos de etiología desconocida, las relaciones E/A fueron similares a las de los varones prepúberes normales (tabla III).

Ninguno de los varones y mujeres con disfunción suprarrenal o gonadal primaria o secundaria tenían relaciones E/A urinarias superponibles a las de los varones afectados, a excepción de cinco pacientes con síndrome de Cushing (tabla IV).

La relación E-OH/A-OH urinaria media en los varones normales fue de $2,29 \pm 0,80$ DE, con unos límites de

0,97 a 3,17. Ocho de los sujetos afectados tenían una relación media de $8,61 \pm 2,29$ DE, con unos límites de 2,80 a 11,8 ($p < 0,001$). En 11 mujeres normales, la relación media de E-OH/A-OH fue $1,80 \pm 0,79$ DE, con unos límites de 1,20 a 3,03. Una mujer homocigoto con una relación media de E/A de 7,20 tenía una relación de E-OH/A-OH de 11,6 (fig. 14).

En los sujetos normales y en los afectados, la radiactividad recuperada en la orina a las 72 horas de la administración de T radiactiva osciló desde el 64 al 89 %. Aproximadamente el 60 % de la radiactividad recuperada tras la hidrólisis con β -glucuronidasa y el 15-30 % tras la hidrólisis ácida caliente. En ambos grupos, el 80-90 % de la radiactividad urinaria se recuperó en el extracto neutro después de la hidrólisis. En los sujetos normales y en los afectados, el 45-65 % de la T administrada se recogió como suma de A y E. En los sujetos normales, se recuperó como E una media del 29 % y un 30 % como A, mientras que en los afectados se recogió el 48 % como E y el 13 % como A (fig. 13).

Tras la perfusión de T radiactiva, la suma de A-OH y E-OH excretados en la orina en ambos grupos de sujetos fue del 3 al 6 % de la T administrada. En los normales, se recogió una media de 3 % como E-OH y 1,5 % como A-OH, mientras que en los varones afectados se recuperó el 2,9 % como E-OH y el 0,22 % como A-OH.

Después de la infusión de H-T (testosterona marcada

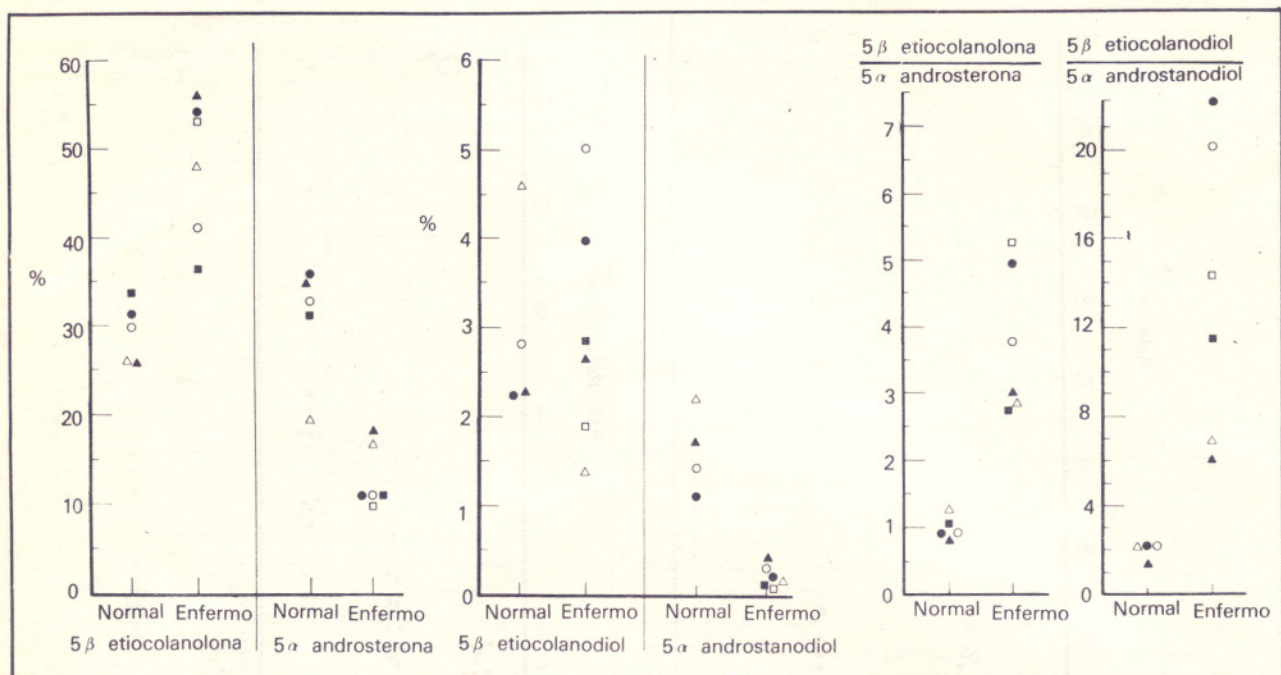


Fig. 13. Porcentajes de T radiactiva administrada, excretada por la orina en los adultos normales y en los afectados en forma de E, A, E-OH y A-OH y relación E/A y E-OH/A-OH urinarios. Simbolo constante para cada sujeto.

con tritio), las relaciones E/A en cinco varones normales oscilaron de 0,79 a 1,26, mientras que en seis de los varones afectados los límites fueron de 2,80 a 5,25. Las relaciones E-OH/A-OH en cuatro sujetos normales oscilaron de 1,37 a 2,19, y en seis de los afectados de 6,0 a 22 (fig. 13).

Los porcentajes de E y E-OH radiactivos excretados en la orina como glucosiduronatos y sulfatos tras la administración de E radiactiva fueron similares en los sujetos normales y en los afectados (tabla V). Del 0,5 al 2 % se excretó como androstan- 5β -3,17-diona.

Tras la perfusión de androsterona radiactiva, los porcentajes de A y A-OH radiactivos excretados en la orina como glucosiduronatos o sulfatos en ambos grupos de sujetos (normales y afectados) fueron similares (tabla V). Del 0,05 al 0,8 % se excretó en forma de androstan- 5α -3,17-diona.

Tras la infusión de DHT radiactiva en los sujetos normales y en los afectados, aproximadamente el 40 % de la radiactividad se excretó en la orina como producto de la suma de A y A-OH (tabla V). Del 0,1 al 1,0 % se excretó como DHT y del 0,3 al 1,5 % se excretó como androstan- 5α -3,17-diona.

DISCUSION

Estos pseudohermafroditas masculinos presentan una notable ambigüedad de sus genitales externos al nacer. No obstante, muestran una pubertad masculina, con un crecimiento genital sustancial. Ante estos hechos contrastados y aparentemente contradictorios, noso-

tros creímos improbable un trastorno de la biosíntesis de la T. Si estos sujetos tuvieran un defecto de la biosíntesis de la testosterona lo suficientemente grave como para producir este importante trastorno genetal en la vida intrauterina, la pubertad estaría igualmente alterada. La insensibilidad a los andrógenos (feminización testicular completa o incompleta) también era una explicación improbable, debido a la existencia de una pubertad masculina con espermatogénesis, desarrollo wolffiano normal y ausencia de ginecomastia. Por tanto, basados en el cuadro clínico, la explicación más probable del trastorno era una disminución en la biotransformación de T en DHT, secundaria a una disminución de la actividad de la enzima esteroide Δ^4 - 5α -reductasa.

Desde el trabajo de Jost²⁰ en fetos de conejos, se sabe que para el desarrollo del fenotipo masculino los testículos deben desarrollarse y funcionar normalmente. En un momento crítico de la vida intrauterina (8-14 semanas), las células de Leydig de los testículos secretan testosterona²¹⁻²³ que induce la diferenciación de los conductos de Wolff hacia conductos deferentes, epidídimo y vesículas seminales, y, finalmente, diferenciación masculina normal del anlage de los genitales externos y próstata. También por esta época, las células de Sertoli secretan un polipéptido de elevado peso molecular que suprime el anlage mülleriano^{24,25}.

Sin embargo, la testosterona (T) puede actuar sobre las estructuras específicamente andrógeno-dependientes como prohormona, mediante su conversión a DHT (dihidrotestosterona) por la enzima microsómica esteroide Δ^4 - 5α -reductasa²⁶. En el momento de la diferenciación sexual intrauterina en el conejo, en la ra-

TABLA III. Relaciones eticolanolona (E)/ androsterona (A) urinarias en los prepúberes

Pacientes	Edad (años)	Relación
<i>Varones normales</i>		
J.T.	1 2/12	1,43
F.C.	3 6/12	0,88
J.D.	4	0,97
B.P.	5	0,80
D.G.	6	1,18
M.O.	11	1,87
E.C.	12	0,84
<i>Mujeres normales</i>		
S.S.	2 6/12	1,16
K.K.	5	0,50
D.C.	6	0,94
J.D.	6	0,67
Y.G.	6	0,75
J.R.	7 6/12	0,80
C.G.	8	1,18
L.D.	8 6/12	0,94
J.W.	11	1,02
<i>Varones con deficiencia de 5 α reductasa</i>		
J.F.	1 3/12	4,00
J.C.	3	2,42
M.P.	4 6/12	2,83
C.R.	7	2,63
V.B.	8	5,37
P.B.	9	5,10
<i>Seudohermafrodita varones no clasificados</i>		
E.M.	2 semanas	0,52
G.E.	2 "	0,34
E.S.	2 "	0,31
R.C.	4 "	
F.A.	9 meses	0,33
E.B.	2 "	0,80
H.F.	5 "	0,97
A.S.	5 "	0,35
R.S.	6 "	1,37
P.H.	12 "	0,79
M.P.	12 "	0,97

ta²⁷ y en los fetos humanos²⁸⁻³⁰, el seno urogenital, las eminencias urogenitales y los pliegues urogenitales tienen la mayor capacidad para convertir T en DHT. Sin embargo, en los conductos de Wolff, la capacidad para formar DHT no aparece hasta después de producida la diferenciación²⁸. Estos estudios sugieren que la diferenciación de los genitales externos en el feto masculino viene condicionada por la conversión de T en DHT.

En los sujetos adultos afectados, el valor medio de la T plasmática era significativamente superior al nivel medio de T plasmática en los varones normales. Los valores de T en nuestros varones normales eran similares a los descritos en la literatura^{19,31-35}.

El nivel medio de DHT plasmática en los varones afectados fue significativamente inferior al nivel plasmático medio de DHT en los varones normales. Los valores de la DHT plasmática en varones adultos normales fueron similares a los señalados por otros autores^{19,31-35}. Los índices de aclaramiento metabólico de T y DHT en los varones afectados estaban dentro de los valores normales para el hombre¹⁶⁻¹⁹, y por tanto el índice de producción sanguínea de DHT se hallaba dismi-

TABLA IV. Relaciones eticolanolona (E)/ androsterona (A) urinarias en sujetos con disfunción gonadal o suprarrenal

Paciente	Edad	Sexo genético	Relación
<i>Deficiencias de enzimas esteroideas</i>			
3 β -ol deshidrogenasa	M.D.	15 XY	0,32
17 α hidroxilasa	H.W.	18 XX	1,32
21-hidroxilasa	P.S.	40 XX	0,88
	Y.D.	21 XX	0,65
17,20 desmolasa	R.L.	16 XY	0,96
17 β -ol deshidrogenasa	R.T.	46 XY	1,13
<i>Feminización testicular</i>			
	D.M.	30 XY	0,89
	L.M.	35 XY	0,76
	J.M.	24 XY	1,43
	M.A.	19 XY	0,53
<i>Síndrome de Turner</i>			
	J.L.	47 XO/XXqi	1,65
	E.R.	40 XO/XX	1,33
	L.D.	17 XXqi	1,02
	L.T.	35 XXqi	0,88
<i>Disgenesia gonadal</i>			
	L.G.	22 XY	1,53
	D.R.	28 XX	1,02
	H.P.	25 XO/XY	1,89
<i>Síndrome de Klinefelter</i>			
	J.B.	19 XXY	0,69
	J.A.	50 XXY	1,93
<i>Hipogonadismo</i>			
hipogonadotrópico	F.L.	34 XY	0,73
Enfermedad de Addison	T.M.	28 XY	0,77
<i>Síndrome de Cushing</i>			
	A.M.	22 XX	2,75
	M.B.	38 XX	4,81
	M.W.	47 XX	2,59
	E.S.	50 XY	4,64
	D.D.	51 XY	3,50
<i>Seudohermafroditismo masculino (no clasificado)</i>			
	K.F.	19 XY	0,86
	F.R.	32 XY	1,35
	C.T.	55 XY	0,67

TABLA V. Excreción urinaria de eticolanolona (E), androsterona (A), eticolanolodiol (E-OH) y androstanodiol (A-OH), tras la infusión de ³H-E, ³H-A o ³H-5 DHT expresada en porcentaje de la dosis administrada excretada en 48 horas.

	³ H-E		³ H-A		³ H-DHT	
	E	E-OH	A	A-OH	A	A-OH
<i>Varones afectados</i>						
A.B.	77,5	2,10	54,0	2,56	34,5	6,3
E.B.	73,8	2,07	50,5	3,60	28,5	8,8
P.C.					41,6	2,70
<i>Varones normales</i>						
R.P.	83,0	1,70	66,6	0,71		
D.B.	52,2	4,30	65,0	0,80	34,8	6,70
E.M.	64,0	7,91	49,2	0,20		
M.W.	68,6	1,70	53,0	1,14	22,9	15,9

nuido hasta valores ligeramente superiores a los descritos en el sexo femenino¹⁶⁻¹⁸⁻¹⁹. En los varones, la mayor parte de la DHT plasmática deriva de la conversión periférica de T¹⁶⁻¹⁹.

La relación media T/DHT en los sujetos afectados fue de 54, mientras que en los individuos normales

de control fue de 12. En los varones normales se han descrito relaciones T/DHT similares^{19, 31, 32, 34}.

Los niveles plasmáticos de T y DHT en cuatro varones prepúberes afectos fueron muy similares a los de varones prepúberes de control. Sin embargo, tras la administración de hCG, las relaciones plasmáticas T/DHT en los varones prepúberes control oscilaron de 3 a 26, mientras que en cuatro de los prepúberes afectos estas relaciones fueron de 74 a 162. Por lo tanto, la determinación de las relaciones T/DHT tras la administración de hCG puede ser de gran utilidad para el diagnóstico de esta entidad en los niños con genitales ambiguos.

Las elevadas concentraciones plasmáticas de T que presentaban los adultos afectos son similares a las que se describen en los sujetos con el síndrome de feminización testicular³⁵⁻³⁸. En este síndrome, los niveles plasmáticos medios de LH están también elevados. La elevación del nivel plasmático medio de T es probablemente secundaria a una relativa hiporreactividad de la unidad hipotálamo-hipofisaria y a un aumento de la globulina fijadora de las hormonas sexuales^{35, 39}.

Los índices de aclaramiento metabólico de T y DHT fueron normales en los varones afectos y, por tanto, no resulta probable que la elevación de la globulina fijadora de las hormonas sexuales fuera la causa de los elevados niveles plasmáticos de T. Al ser los niveles plasmáticos medios de LH mayores en los individuos afectos que en los normales, la elevación de las concentraciones plasmáticas medias de T es probablemente el resultado del aumento de secreción de la LH. Este aumento de LH puede ser la consecuencia de una relativa insensibilidad del hipotálamo a la T; otra posibilidad es que la DHT desempeñe un papel en el control del mecanismo de retroalimentación negativo de la secreción de LH. Un nivel bajo de DHT plasmática podría llevar a una elevación de los niveles plasmáticos de LH y de la concentración plasmática de T.

Se aduce que la T ejerce un control de retroalimentación negativo sobre la secreción de LH contra su conversión en E_2 (estradiol) en el hipotálamo^{40, 41}. Sin embargo, el tejido hipotalámico de la rata puede también convertir la testosterona en metabolitos 5α reducidos (reducidos en la posición 5), y la DHT en epímeros 3α y 3β del A-OH (androstenediol)^{42, 43}. Las proteínas fijadoras del citoplasma del tejido hipotalámico de la rata también poseen una mayor afinidad por la T y DHT que por el E_2 ⁴⁴. Además, en las ratas, los metabolitos 5α reducidos de la T (DHT y A-OH) son más activos que la propia T en cuanto a la supresión de la secreción de LH^{42, 45}. Algunos investigadores han demostrado también que las dosis farmacológicas de DHT suprimen en el hombre la LH plasmática^{46, 47}, aunque otros no han podido demostrar supresión alguna⁴⁸. La administración de cantidades farmacológicas de otros andrógenos no aromáticos, 2 metil DHT y Danazol (17α -pregn-4-20-ino (2,3-d) isoxazol-17-ol), suprimen la LH plasmática o disminuyen la T plasmática^{49, 50}. Por lo

tanto, los datos obtenidos en los animales y en el hombre sugieren que la DHT puede tener un papel en la regulación de la LH.

Los niveles plasmáticos medios de FSH también se hallaban elevados en los sujetos afectos, lo que hace entrever dos explicaciones posibles. La criptorquidia se acompaña de una elevación de los niveles de FSH⁵¹, y en muchos de los sujetos con deficiencia de 5α -reductasa existía criptorquidia, con los testículos situados en el trayecto inguinal hasta la pubertad. Bramble y colaboradores⁵² observaron que los niveles de FSH permanecían elevados en algunos individuos que habían sido intervenidos por criptorquidia bilateral, con los testículos ya en el escroto, y a pesar de la normalidad de los niveles plasmáticos de T y del recuento de espermatozoides. Otra posibilidad es que la DHT pueda también modular el mecanismo de retroalimentación negativo de la FSH^{46, 47}.

En el hombre, la T se metaboliza por dos vías fundamentales. Una requiere la oxidación del grupo 17β -hidroxi por una 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa dependiente del NADP hasta dar androstenediona (Δ)⁵³. Esto se sigue de la reducción del puente doble a nivel de la unión de los anillos A y B de la androstenediona por la Δ^4 - 5β reductasa (s), dependiente del NADPH, del citoplasma de la célula o por la Δ^4 - 5α reductasa (s) de la membrana del retículo endoplasmático⁵⁴⁻⁵⁶. Esta parece ser la reacción limitadora del índice. El hígado contiene 5α y 5β reductasa (s); sin embargo, una fracción sustancial de la T se metaboliza en los tejidos extrahepáticos^{13, 57}, y la mayor parte de ella, si no toda, precede a la configuración trans o 5α ²⁶. Las androstenedionas cis (5β) o trans (5α), producidas por la reducción de la doble unión, son nuevamente transformadas por una 3α -hidroxiesteroide deshidrogenasa a E y A. También se forman pequeñas cantidades de 3β -A y 3β -E⁶⁵⁻⁶⁷. La E y la A (etiocolanolona y androsterona) son excretadas por la orina como glucosiduronatos, aunque aproximadamente una quinta parte de la A axial y una décima parte de la E ecuatorial son excretadas como conjugados sulfatados⁵⁸⁻⁶⁰ (fig. 14).

La segunda vía metabólica requiere la reducción directa de la T por las 5β y 5α reductasas hasta dar 5β o 5α SHT. Estos esteroides son transformados por la 3α hidroxiesteroide deshidrogenasa en E-OH y A-OH, respectivamente, y la mayor parte son excretados como glucosiduronatos^{58, 61-23}. Solamente se forman pequeñas cantidades de los epímeros 3β de la E-OH y A-OH.

Dos grupos de investigadores han publicado datos sobre la excreción fraccional de los metabolitos de la T marcada. Tras la infusión de T radiactiva, un grupo recuperó en la orina el 25-30% de la T administrada, como suma de A y E⁵⁸⁻⁶⁴, mientras que el segundo grupo recuperó del 40 al 50% de la T como suma de A y E (androsterona y etiocolanolona)⁶⁵⁻⁶⁹. Ambos grupos obtuvieron una relación E/A urinaria de alrededor de uno. En nuestro método para la medición de la excreción fraccional urinaria de la T radiactiva se emplearon esteroides isotópicos para corregir las pérdidas, y

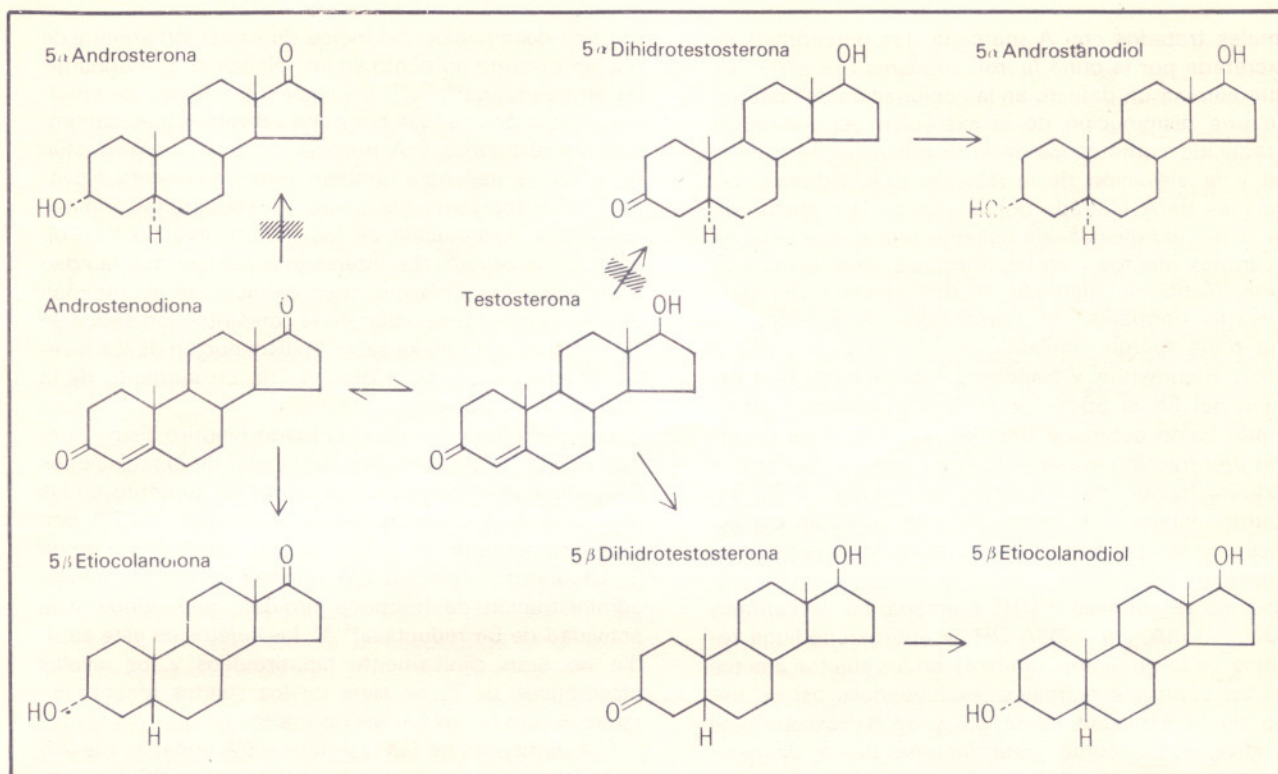


Fig. 14. Transformación biológica de la testosterona en el hombre. Las barras entramadas identifican los bloqueos en la conversión de la testosterona y androstenodiona en metabolitos 5 α reducidos en la deficiencia de 5 α -reductasa.

ésta puede haber sido la causa de los mayores porcentajes recogidos como suma de A y E (fig. 13).

Nosotros observamos que la fracción de T excretada como E-OH (etiocolanodiol) y A-OH (androstenodiol) era en los varones normales y en los afectos de 3 al 6 % con una relación E-OH/A-OH en los sujetos normales de 1,03 a 2,10 y de 6,0 a 22 en los varones afectos. Estos datos son similares a los valores normales publicados^{58, 60, 61, 64}.

En el hombre, la androstenodiona (Δ) es el esteroide precursor de la mayor parte de E y A excretada en la orina. El metabolismo de la T y D (3 β -hidroxi-androst-5-eno-17ona) a E y A se produce principalmente mediante su conversión en androstenodiona. Por tanto, las relaciones E/A urinarias endógenas tendrían que ser similares a las relaciones E/A que se obtienen tras la perfusión de T radiactiva. Nuestros datos y los de otros autores apoyan este concepto⁶⁷.

Los varones afectos tenían las más elevadas relaciones E/A urinarias endógenas (media de 4,62) y los padres portadores obligados tenían relaciones (media de 2,26) intermedias entre los sujetos afectados y los varones normales (relación media 0,88). No había superposición entre las relaciones de los varones normales y los afectos; sin embargo, tres padres portadores obligados tenían valores normales y cinco varones afectos tenían valores en el límite de los portadores.

La relación media E/A de las madres portadoras obligadas fue significativamente superior a la de las mu-

jeres normales. Una portadora obligada (una madre) tenía una relación dentro de las cifras normales para el sexo femenino, pero que rebasaba el 95 % de los límites de las mujeres normales. Cinco hermanas y dos madres tenían relaciones E/A dentro del 95 % de los límites de los varones afectos y son probablemente homocigotos para la enfermedad.

Existen varios trabajos sobre las relaciones E/A urinarias en los adultos jóvenes normales⁷⁰⁻⁷³. La relación media E/A es de aproximadamente 1 en ambos sexos, y la mayoría de los investigadores describen relaciones ligeramente superiores en las mujeres adultas normales de 18 a 55 años de edad.

Las relaciones urinarias E/A en cinco niños afectos eran significativamente superiores a las de los niños normales. Nosotros observamos que estas relaciones en los muchachos y muchachas normales prepúberes y púberes eran similares a las de los adultos. Otros investigadores apreciaron que estas relaciones eran ligeramente inferiores en los prepúberes; sin embargo, ninguno de estos trabajos incluye datos sobre los niños de menos de 3 a 4 años de edad^{71, 74-76}.

Las relaciones medias de E-OH/A-OH urinarios endógenos en los varones adultos afectos eran significativamente superiores a la relación media de los sujetos normales, hecho que apoya la tesis de que los sujetos afectos tienen disminuida la actividad de 5 α -reductasa.

En dos de los sujetos afectos y en cuatro controles

normales tratados con A marcada, los porcentajes de A excretada por la orina fueron similares (49 al 67 %), lo que elimina un defecto en la conjugación del esteroide o una disminución de la excreción del conjugado 5α reducido como causa de la disminución de A en la orina y la elevación de la relación E/A. Además, las fracciones de A liberada por acción de la β -glucuronidasa o por hidrólisis ácida caliente fueron similares en los varones afectados y en los normales. Tras la infusión de etiololanona marcada en dos varones afectados y en cuatro normales, los porcentajes de E excretada en la orina fueron similares en ambos grupos (52 al 83 %). Slaunwhite y Sandberg⁷⁷ observaron una excreción del 55 al 65 % de la A o E radiactiva administrada como esteroide original, aunque otros observaron una fracción urinaria de A y E más pequeña tras la administración de estos dos esteroides^{61, 78-80}. Sin embargo, ninguno de estos autores introdujo correcciones por las pérdidas hechas durante la realización del ensayo.

Cuando se administra DHT marcada, los porcentajes de 3α y $3\alpha\beta$ A, 3α y 3β A-OH, y androstenodiona recogidos en la orina son similares en los sujetos afectados y en los controles normales, excluyéndose así un defecto de la actividad de la 3α y 3β hidroxisteroide deshidrogenasa, como determinante de la disminución urinaria de metabolitos 5α reducidos. Otros investigadores encontraron un porcentaje más pequeño de A y A-OH urinarias tras la administración de DHT^{60, 61}, pero tampoco hicieron correcciones para las pérdidas producidas durante el método.

Para asegurar si puede existir una relación E/A urinaria anormal en otras formas de pseudohermafroditismo masculino, síndromes hipogonadales o anomalías de la esteroidogénesis, hemos estudiado estas relaciones en sujetos con estos trastornos. Ninguno de los pacientes con agenesia gonadal, disgenesia testicular o deficiencias enzimáticas de la biosíntesis de la testosterona o de los estrógenos tenían relaciones E/A urinarias en el margen de los varones afectados o de sus hermanas homocigotas. Por lo tanto, una relación E/A urinaria anormal supone una importante prueba diagnóstica de la deficiencia de 5α reductasa en los pseudohermafroditas varones.

Es importante reconocer que algunas entidades pueden dar lugar a un aumento de la relación E/A urinaria. Zumoff y colaboradores^{68, 81} estudiaron la influencia de la edad y el sexo sobre las relaciones E/A urinarias tras la administración de ^{14}C T intravenosa. Estos autores no encontraron diferencias sexuales en las relaciones E/A urinarias en los niños prepúberes (de 4 a 13 años de edad); sin embargo, en los varones adultos jóvenes la relación media E/A era ligeramente inferior a la de las mujeres, en función de la edad. Nosotros no observamos diferencias sexuales significativas en las relaciones E/A urinarias endógenas en los chicos y chicas prepúberes, o en adultos(as) jóvenes.

En un pequeño grupo de adultos de edad avanzada (de 68 a 86 años) Zumoff y colaboradores⁶⁸ encontra-

ron una disminución del índice de excreción urinaria de A y un discreto aumento en las relaciones E/A urinarias en ambos sexos^{68, 72, 81}. En pacientes afectados de enfermedades crónicas (que consumen diversos medicamentos) las relaciones E/A urinarias tras la administración de (^{14}C) se hallaban también moderadamente elevadas⁸¹. Ciertos fármacos como el fenobarbital originan una ligera disminución de los metabolitos 5α esteroideos en la orina⁸². Es interesante señalar que la edad avanzada o las enfermedades crónicas se acompañan de una ligera disminución de la concentración sérica de T_3 ^{83, 84}, y que, como se sabe, la disminución de los niveles séricos de T_3 se acompaña de un aumento de la relación E/A urinaria.

Los pacientes con un acentuado hipotiroidismo pueden presentar un aumento sustancial de las relaciones E/A urinarias endógenas, así como un aumento de las relaciones E/A urinarias tras la infusión de ^{14}C T⁶⁶, con un ligero aumento de la fracción excretada en forma de E. La anormal relación E/A urinaria se corrige con la administración de hormona tiroidea, que aumenta la actividad de 5α reductasa^{66, 85}. Los sujetos de este estudio no eran clínicamente hipotiroideos y los niveles plasmáticos de T_3 en siete de los sujetos afectados estaban dentro de los límites normales.

Los aumentos de las relaciones E/A urinarias (de 2,6 a 3,6) que acompañan a la perfusión de ^{14}C T se observan también en la anorexia nerviosa entidad que se asocia con niveles bajos de T_3 en plasma. La relación anormal se corrige con la administración de T_3 o con el tratamiento de la afección subyacente que lleve a la normalización de los valores plasmáticos de T_3 ⁶⁹.

Los pacientes con hipercortisolemia crónica (síndrome de Cushing) pueden tener relaciones E/A elevadas^{86, 87} (tabla V). Una relación E/A anormal puede observarse también, como, por ejemplo, dexametasona y prednisona⁸⁷. Las dosis farmacológicas de glucocorticoides sintéticos también disminuyen los niveles séricos de T_3 mediante la inhibición de la conversión de T_4 en T_3 y aumentando la conversión de T_4 en algo distinto a T_3 ⁸⁸. Por lo tanto, los bajos niveles plasmáticos de T_3 que se observan en el síndrome de Cushing pueden ser los responsables de la elevación de la relación E/A. Sin embargo, los sujetos de este estudio no tenían síndrome de Cushing y los niveles de cortisol plasmático y 17-hidroxisteroides urinarios estaban dentro de la normalidad.

Los pacientes con porfiria intermitente aguda puede tener elevada la relación E/A endógena urinaria^{67, 73} y ésta se corresponde con la relación E/A que se observa tras la infusión de ^{14}C T⁶⁷. En tres de los sujetos afectados, los valores sanguíneos de uroporfirinógeno sintetasa⁸⁹ y ácido δ -aminolevulínico y porfobilinógeno urinarios⁹⁰ eran normales, lo que excluye la existencia de una porfiria intermitente aguda.

Las relaciones E/A urinarias que se citan en estos trabajos no fueron corregidas en función de las pérdidas del método, y, por tanto, sus datos no pueden compararse exactamente con los nuestros.

Estos estudios adicionales del metabolismo de la tes-

tosterona apoyan nuestra comunicación inicial en la que definíamos el defecto como secundario a una hipocatividad de la enzima esteroide Δ^4 - 5α -reductasa*¹. La deficiencia de esta enzima se hace patente por la disminución de los niveles plasmáticos de DHT, por la disminución de la conversión de T en DHT en el plasma, por el aumento de las relaciones $5\beta/5\alpha$ urinarias de los 17-cetosteroides y 17 β -hidroxiesteroides, metabolitos de la testosterona, y en el cultivo de fibroblastos por una disminución del índice de conversión de T en DHT, androstanodiona, 3α y 3β A y 3α y 3β A-OH².

Según los estudios del *pedigree* previamente publicados, el defecto puede trazarse hasta siete generaciones anteriores en una mujer^{1,2}. Hasta la fecha, existen 24 familias con 38 varones afectados; en 15 de ellas puede trazarse una línea de descendencia hasta esta mujer, y en otras siete puede trazarse el linaje a través de los dos padres. El aislamiento de estos pueblos en la zona suroeste de la República Dominicana y el árbol genealógico que demuestra los ascendientes comunes sugieren que el aumento en la frecuencia genética en estas zonas es el resultado de la conducción genética: un efecto fundador. Además, la elevada incidencia de consanguinidad, los padres portadores fenotípicamente normales con un trastorno bioquímico intermedio entre los sujetos normales y los varones afectados, y la presencia de un defecto bioquímico de magnitud similar en los varones afectados y en sus hermanas sugieren una herencia autosómica recesiva.

En los sujetos afectados, la acusada ambigüedad de los genitales externos en el nacimiento y en la pubertad, la barba escasa o ausente, la falta de retroceso de la línea temporal del cabello o de acné y la próstata pequeña podrían deberse a la ausencia de un receptor citoplásmico específico para la DHT. Por esta razón se administró en dos sujetos, durante aproximadamente un año, propionato de DHT a dosis de 100 mg dos veces por semana. Ambos pacientes experimentaron un aumento significativo del vello de las piernas, brazos y abdomen, y en uno de ellos se observó la aparición de bigote y el aumento del tamaño de la próstata. La respuesta a la DHT elimina la posibilidad de la ausencia de un receptor específico para la DHT.

Se han descrito dos hermanos con pseudohermafroditismo masculino tipo 2 que tenían una deficiencia de actividad de 5α reductasa, demostrada en cortes de piel tomados de la zona genital⁹¹. Los cultivos de fibroblastos⁹² y los extractos de fibroblastos libres de células⁹³ obtenidos de estos sujetos también demuestran una ostensible disminución de la actividad de 5α -reductasa, pero con fijación normal de la DHT al receptor citoplásmico de los fibroblastos⁹⁴.

Estos pseudohermafroditas varones representan por lo tanto un modelo clínico único para diferenciar las acciones fundamentales de la T y DHT durante la di-

ferenciación sexual masculina y el desarrollo. En el nacimiento, el defecto se limita a los genitales externos y, por tanto, parece que la diferenciación de los genitales externos masculinos se lleva a cabo mediante las acciones de la DHT²⁷⁻³⁰. Además, la administración de DHT a monas *rhesus*⁹⁵ y ratas⁹⁶ preñadas ocasiona una acusada virilización de los genitales externos de los fetos hembras. Por el contrario, la capacidad para formar DHT en los conductos de Wolff no aparece hasta que la diferenciación se halla en estado avanzado^{27,28}, lo que sugiere un papel más dominante para la T. También, los conductos de Wolff acumulan intracelularmente más T que DHT⁹⁷, y en cultivo de órgano el conducto de Wolff se diferencia en presencia de T donde escasa cantidad de T pasa a DHT⁹⁸.

Los varones afectados tienen una pubertad masculina normal, a excepción de la escasa barba y vello corporal, de la falta de retroceso de la línea temporal del cabello, de la acné y de la próstata pequeña. Por tanto, el avance más importante de la pubertad masculina tiene lugar por medio de las acciones de la T. Los efectos anabólicos mediados por la T incluyen el aumento de la masa muscular, el cambio de la voz, el crecimiento esquelético, el arrugamiento e hiperpigmentación del escroto y el crecimiento del pene.

En el músculo elevador del ano de la rata⁹⁹ y en el músculo esquelético¹⁰⁰, el receptor citoplásmico tiene una mayor afinidad de fijación por la T que por la DHT. Esta ni se forma ni se acumula en cantidad apreciable en el músculo^{101,102}. Por lo tanto, la conversión de T en DHT y la fijación nuclear del complejo receptor citoplásmico-DHT no tiene por qué ser una característica de todos los tejidos que responden a los andrógenos.

Si la DHT actúa sobre la diferenciación y crecimiento de los genitales externos masculinos en la vida intrauterina, ¿por qué en la pubertad el crecimiento genital está mediado principalmente por la T? La afinidad de los receptores de los tejidos de los genitales externos puede cambiar con la edad, en caso de que la DHT tenga una mayor afinidad durante el período intrauterino de la diferenciación sexual y en caso de que la T muestre una mayor afinidad en la pubertad; también puede ser que los niveles históricos de DHT sean mayores durante la diferenciación sexual que en la pubertad. Wilson y Walker¹⁰³ observaron que la capacidad de formación de DHT en el prepucio es mayor en el recién nacido varón y que decrece con la edad.

El aumento de tamaño de la próstata, la acné, el crecimiento normal del patrón facial y corporal del vello masculino y el retroceso de la línea temporal del cabello no se producen en los varones afectados por la enfermedad, y estos cambios parecen mediados principalmente a través de las acciones de la DHT. En algunos animales y en el hombre existe una franca relación entre el crecimiento de la próstata y el índice de formación de DHT^{101,104}. Sansone y Reisner¹⁰⁵ han demostrado un aumento de la conversión *in vitro* de T en DHT en cortes de piel de los sujetos con acné. La formación de DHT es una propiedad ubicua de todos los pelos, independientemente de su localización^{106,107}, aunque existe

*En un adulto afecto, la incubación de tejido testicular con ¹⁴C-pregn-5-eno-3,20-diona y ³H-pregn-4-eno-3,20-diona no pudo demostrar ningún defecto de la biosíntesis de T (datos publicados).

un mayor índice de formación de metabolitos 5α -reducidos de la T en el pelo de la zona frontal de los hombres calvos¹⁰⁷.

En la pubertad no aparece ginecomastia en estos sujetos, lo que sugiere que *in utero* es la T el andrógeno que suprime el anlage mamario, de modo que en esa época de la vida no se produce el crecimiento mamario¹⁰⁸.

En la biopsia testicular de uno de los sujetos afectados se apreció una espermatogénesis completa, lo que sugiere que la T puede ser más importante que la DHT en la regulación de la espermatogénesis. Al ser imposible la inseminación natural por la localización del orificio uretral, no poseemos datos sobre fertilidad.

Los sujetos afectados tienen erecciones y eyaculaciones que también parecen dependientes de la testosterona. Además, en dos individuos, la administración de dosis farmacológicas de DHT provocó pérdida de la libido e impotencia. En el roedor adulto castrado, con la excepción de una cepa de ratones, la administración de T restablece la función sexual, pero la DHT no es eficaz¹⁰⁹⁻¹¹⁰. En el mono *Rhesus* adulto castrado¹¹¹ y en el conejo blanco Nueva Zelanda¹¹², sin embargo, la DHT restablece el comportamiento sexual, efecto opuesto al que hemos observado en estos varones pseudohermafroditas.

El fenotipo de los sujetos varones afectados es similar al de algunos de los casos descritos como hipospadias pseudovaginal perineoescrotal¹¹³, pseudohermafroditismo masculino familiar incompleto tipo 2⁹¹ u otras entidades descriptivas similares¹¹⁴⁻¹¹⁵. Estas clasificaciones fenotípicas no son específicas e incluyen trastornos bioquímicos distintos a la deficiencia de 5α -reductasa. Givens y colaboradores observaron dos hermanos que habían sido clasificados previamente como afectados de hipospadias pseudovaginal perineoescrotal; posteriormente se demostró que tenían una deficiencia de 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa¹¹⁶. Por tanto, existen por lo menos dos deficiencias enzimáticas que pueden tener la misma expresión fenotípica, hecho que pone de manifiesto la inespecificidad de estas clasificaciones descriptivas.

La gravedad del defecto enzimático puede también variar, lo que da lugar a una considerable heterogeneidad fenotípica; por tanto, si clasificamos descriptivamente a estos sujetos, deben ser incluidos en grupos fenotípicos diferentes. Por estos motivos, las clasificaciones del pseudohermafroditismo en función exclusiva del fenotipo no son válidas¹¹⁷.

Los sujetos afectados proceden de la misma zona geográfica y posiblemente todos están relacionados entre sí. Es, por tanto, probable que el defecto genético y su expresión sean idénticos en todos estos individuos, como lo refleja el hecho de que su fenotipo sea similar. Es probable que se describa una considerable heterogeneidad fenotípica en individuos ajenos a esta comunidad, sea en forma secundaria a la variabilidad de expresión de la mutación genética o a otras mutaciones genéticas que influyen sobre la actividad de la enzima esteroide Δ^4 - 5α -reductasa.

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento al Dr. Luis Guerrero por enviar a nuestra atención este grupo de pseudohermafroditas masculinos. Expresamos nuestra gratitud al Dr. Frederick Naftolin por las determinaciones de gonadotropinas plasmáticas, a los Dres. James Germen y John D. Blair que hicieron los estudios del cariotipo, al Dr. James Hurley por las determinaciones de T_3 plasmática y al Dr. Attallah Kappas por las determinaciones de uroporfirinógeno sintetasa. También deseamos agradecer a los Dres. Edward Biglieri, Uwe Goebelsman y Myron Genel los estudios urinarios de los pacientes con deficiencia de 17α -hidroxilasa, $17-20$ desmolasas, 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa y 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa. También apreciamos la excelente ayuda técnica de Theresa Huang y Ann Arthur, y la ayuda de Sheila Samuels en la preparación del trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. IMPERATO-McGINLEY, J., GUERRERO, L., GAUTIER, T. y PETERSON, R.E.: Steroid 5α -reductase deficiency in man: An inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science*, 186:1.213, 1974.
2. IMPERATO-McGINLEY, J., GUERRERO, L., GAUTIER, T., GERMAN, J.L. y PETERSON, R.E.: Steroid 5α -reductase deficiency in man. An inherited form of male pseudohermaphroditism. In Genetic Forms of Hypogonadism, pág. 91 (Bergsma, D., ed.), Stratton Intercontinental Medical Book Corporation, New York, 1975.
3. MATTINGLY, D.: A simple fluorimetric method for the estimation of free 11 -hydroxycorticoids in human plasma. *J. Clin. Pathol.*, 15: 324, 1962.
4. NAFTOLIN, F., JUDD, H.L. y YEN, S.S.C.: Pulsatile patterns of gonadotropins and testosterone in man: The effects of clomiphene with and without testosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36:285, 1973.
5. PETERSON, R.E., WYNGAARDEN, J.B., GUERRA, S.L., BRODIE, B.B. y BUNIN, J.J.: The physiological disposition and metabolic fate of hydrocortisone in man. *J. Clin. Invest.*, 34:1.779, 1955.
6. PETERSON, R.E.: Determination of urinary neutral 17 -ketosteroid in Standard Method in Clinical Chemistry, Vol. 4, Academic Press, New York, 1963.
7. BELING, C.G.: Purification of urinary conjugated oestrogens by gel filtration. *Nature*, 192:1961.
8. BONGIOVANNI, A.M. y EBERLEIN, W.R.: Critical analysis for measurement of pregnane- 3 -alpha, 17 alpha, 20 -alpha-triol in human urine. *Anal. Chem.*, 30:388, 1958.
9. KLOPPER, A., MICHIE, E.A. y BROWN, J.B.: A method for the determination of urinary pregnanediol. *J. Endocrinol.*, 12:209, 1955.
10. HACHIYA, T., OCHI, Y., MIYAZAKI, T., SHIOMI, K., YOSHIMURA, M. y OKAMOTO, K.: The determination of serum T_3 (triiodothyronine) by a radioimmunoassay method. *Jpn. J. Nucl. Med.*, 10: 457, 1973.
11. WEINSTEIN, A., LINDNER, H.R., FRIEDLANDER, A. y BAUMINGER, S.: Antigenic complexes of steroid hormones formed by coupling to protein through position 7: Preparation from Δ^4 - 3 -oxosteroids and characterization of antibodies to testosterone and androstenedione. *Steroids*, 20:789, 1972.
12. BAUMINGER, S., KOHEN, F. y LINDNER, H.R.: Steroids as haptens: Optimal design of antigens for the formation of antibodies to steroid hormones. *J. Steroid. Biochem.*, 5:739, 1974.
13. HORTON, R. y TAIT, J.F.: Androstenedione production and interconversion rates measured in peripheral blood and studies on the possible sites of its conversion to testosterone. *J. Clin. Invest.*, 45: 301, 1966.
14. PETERSON, R.E. y EILERS, E.A.: The use of labeled acetic anhydride in steroid assays. Proceedings of the International Congress Series 83:267, 1964.
15. GANDY, H.M. y PETERSON, R.E.: Measurement of testosterone and 17 -ketosteroids in plasma by the double isotope dilution derivative technique. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 28:949, 1968.
16. ITO, T. y HORTON, R.: The source of plasma dihydrotestosterone in man. *J. Clin. Invest.*, 50:1.621, 1971.

17. MAHOUJEAJ, J.A., BARDIN, C.W. y LIPSETT, M.B.: The metabolic clearance rate and origin of plasma dihydrotestosterone in man and its conversion to the 5α -androstanediols. *J. Clin. Invest.*, 50:1.338, 1971.
18. TREMBLAY, R.R., KOWARSKI, A., PARK, L. y MIGEON, C.J.: Blood production rate of dihydrotestosterone in the syndrome of male pseudohermaphroditism with testicular feminization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 35:101, 1972.
19. SAEZ, J.M., FOREST, M.G., MORERA, A.M. y BERTRAND, J.: Metabolic clearance rate and blood production rate of testosterone and dihydrotestosterone in normal subjects, during pregnancy, and in hyperthyroidism. *J. Clin. Invest.*, 51:1226, 1972.
20. JOST, A.: Problems of fetal endocrinology: The gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Prog. Horm. Res.*, 8:379, 1953.
21. REYES, F.L., BORODITSKY, R.S., WINTER, J.S.D. y FAIMAN, C.: Studies on human sexual development. II. Fetal and maternal serum gonadotropin and sex steroid concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38:612, 1974.
22. REYES, F.L., WINTER, J.S.D. y FAIMAN, C.: Studies on human sexual development. I Fetal gonadal adrenal sex steroids. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37:74, 1973.
23. ABRAMOVICH, D.R. y ROWE, P.: Foetal plasma testosterone levels at mid-pregnancy and at term: Relationship to foetal sex. *J. Endocrinol.*, 56:621, 1973.
24. JOSSO, N.: Permeability of membranes to the mullerian-inhibiting substance synthesized by the human fetal testes in vitro: A clue to its biochemical nature. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34:265, 1972.
25. BLANCHARD, M.G. y JOSSO, N.: Source of the anti-mullerian hormone synthesized by the fetal testis: Mullerian-inhibiting activity of fetal bovine sertolli cells in tissue culture. *Pediatr. Res.*, 8:96, 1974.
26. WILSON, J.D.: Metabolism of testicular androgens: Handbook of physiology, ed R.O. Greep y E.B. Astwood. Wash., D.C. Am Physiol Soc 1974 section 7, vol. V. chapter 25, p. 491.
27. WILSON, J.D. y LASNITZKI, L.: Dihydrotestosterone formation in fetal tissues of the rabbit and rat. *Endocrinology*, 89:659, 1971.
28. SIITERI, P.K. y WILSON, J.D.: Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38:113, 1974.
29. SULCOVA, J., NIRASEK, J.E. y STARKA, L.: Transformation of testosterone into dihydrotestosterone by the primordia of human genitalia and by the fetal suprascapular skin. *Steroid Lipid. Res.*, 4: 129, 1973.
30. FLAMIGNI, C., COLLINS, W.P., KOULLAPIN, E.N., CRAFT, L. DEWHURST, C.J. y SOMMERVILLE, L.F.: Androgen metabolism in human skin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 32:737, 1971.
31. ITO, T. y HORTON, R.: Dihydrotestosterone in human peripheral plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 31:362, 1970.
32. BARBERIA, J.M. y THORNEYCROFT, L.H.: Simultaneous radioimmunoassay of testosterone and dihydrotestosterone. *Steroids*, 23:5, 1974.
33. PARKER, C.R., ELLEGOOD, J.O. y MAHESH, V.B.: Methods for multiple steroid radioimmunoassay. *J. Steroid Biochem.*, 6:1, 1975.
34. PIRKE, K.M. y DOERR, P.: Plasma dihydrotestosterone in normal adult males and its relation to testosterone. *Acta Endocrinol.*, 79: 357, 1975.
35. KOWARSKI, A., BLIZZARD, R.M., JONES, H.W., Jr. y MIGEON, C.J.: Plasma concentration of testosterone, dihydrotestosterone, testosteroneoestradiol binding globulin, and pituitary gonadotrophins in the syndrome of male pseudo-hermaphroditism with testicular feminization. *Acta Endocrinol.*, 70:331, 1972.
36. JUDD, H.L., HAMILTON, C.R., BARLOW, J.J., YEN, S.S.C. y KLIMAN, B.: Androgen and gonadotropin dynamics in testicular feminization syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34:229, 1972.
37. FAIMAN, C. y WINTER, J.S.D.: The control of gonadotropin secretion in complete testicular feminization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39:631, 1974.
38. FRENCH, F.S., VAN WYK, J.J., BAGGETT, B., EATERLING, W. E., TALBERT, L.M., JOHNSTON, F.R., FORCHIELLI, E. y DEY, A.C.: Further evidence of a target organ defect in the syndrome of testicular feminization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 26:493, 1966.
39. MAUVAIS-JARVIS, P., CREPY, O. y BERCOVICI, J.P.: Further studies on the pathophysiology of testicular feminization syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 32:568, 1971.
40. NAFTOLIN, F., RYAN, K.J. y PETRO, Z.: Aromatization of androstenedione by the anterior hypothalamus of adult male and female rats. *Endocrinology*, 90:295, 1972.
41. REDDY, V.V.R., NAFTOLIN, F. y RYAN, K.J.: Aromatization in the central nervous system of rabbits: Effects of castration and hormone treatment. *Endocrinology*, 92:589, 1973.
42. ZANSI, M., MOTTA, M. y MARTINI, L.: Inhibitory effect of 5α -reduced metabolites of testosterone on gonadotrophin secretion. *J. Endocrinol.*, 56:315, 1973.
43. MASSA, R., STUPNICK, E., KNI EWALD, Z. y MARTINI, L.: The transformation of testosterone into dihydrotestosterone by the brain and the anterior pituitary. *J. Steroid Biochem.*, 3:385, 1972.
44. NAESS, P., ATTRAMADIAL, A. y AAKVAAG, A.: Androgen binding proteins in the anterior pituitary, hypothalamus, preoptic area and brain cortex of the rat. *Endocrinology*, 96:1, 1975.
45. SWERDLOFF, R.S., WALSH, P.C. y ODELL, W.D.: Control of LH and FSH secretion in the male: Evidence that aromatization of androgens to estradiol is not required for inhibition of gonadotropin secretion. *Steroids*, 20:13, 1972.
46. SANTEN, R.J.: Is aromatization of testosterone to estradiol required for inhibition of LH secretion in men? *J. Clin. Invest.*, 56:1.555 1975.
47. STEWARD-BENTLEY, M., ODELL, W. y HORTON, R.: Feedback control of luteinizing hormone in normal adult men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38:545, 1974.
48. SHERINS, R.J. y LORIAUZ, D.L.: Studies on the role of sex steroids in the feedback control of FSH concentrations in men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36:886, 1973.
49. SHERINS, R.J., GANDY, H.M., THORSUND, T.W. y PAULSEN, C.A.: Pituitary and testicular function studies. I. Experience with a new gonadal inhibitor, 17α -pregn-4-en-20-yno-(2,3-d) isoxazol-17 ol (Dazazol). *J. Clin. Endocrinol.*, 25:476, 1965.
50. DAVIS, T.E., LIPSETT, M.B. y KORENMAN, S.G.: Suppression of testosterone production by physiologic doses of 2α -methylidihydrosterone propionate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 25:476, 1965.
51. LEE, P.A., HOFFMAN, W.H., WHITE, J.J., ENGEL, R.M.E. y BLIZZARD, R.M.: Serum gonadotropins in cryptorchidism. An indicator on functional testes. *Am. J. Dis. Child.*, 127:530, 1974.
52. BRAMBLE, F.J., HOUGHTON, A.L., ECCLES, S., O'SHEA, A. y JOCOBS, H.S.: Reproductive and endocrine function after surgical treatment of bilateral cryptorchidism. *Lancet*, 2:311, 1974.
53. PETERSON, R.E.: Metabolism of adrenal cortical steroids pág. 87. (Christy, N. eds.), Harper & Row, New York, 1971.
54. MCGIRE, J.S., Jr. y TOMKINS, G.M.: The effects of thyroxin administration on the enzymic reduction of Δ^4 -3-ketosteroids. *J. Biol. Chem.* 234:791, 1959.
55. MCGUIRE, J.S., HOLLIS, V.W. y TOMKINS, G.M.: Some characteristics of the microsomal steroid reductases (5α) of rat liver. *J. Biol. Chem.*, 235:3.112, 1960.
56. FORCHIELLI, E., RAMACHANDRAN, S. y RINGOLD, H.J.: The soluble steroid Δ^4 -hydrogenase of female rat liver. *Steroids*. 1:157, 1963.
57. RIVAROLA, M.A., SINGLETON, R.T. y MIGEON, C.J.: Splanchnic extraction and interconversion of testosterone and androstenedione in man. *J. Clin. Invest.*, 46:2.095, 1967.
58. BAULIEU, E. y MAUVAIS-JARVIS, P.: Studies on testosterone metabolism. I. Conversion of testosterone- 17α - 3 H to 5α - and 5β -androstane- 3α , 17β -diol- 17α - 3 H: A new " 17β -hydroxyl pathway." *J. Biol. Chem.*, 239:1.569, 1964.
59. BAULIEU, E. y MAUVAIS-JARVIS, P.: Studies on testosterone metabolism. II. Metabolism of testosterone- 4 - 14 C and androst-4-ene-3, 17 -diol- $1,2$. *J. Biol. Chem.*, 239:1.578, 1964.
60. MAUVAIS-JARVIS, P., FLOCH, H.H. y BERCOVIC, J.P.: Studies on testosterone metabolism in human subject with normal and pathological sexual differentiation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 28: 460, 1968.
61. BAULIEU, E. y ROBEL, P.: Androst-5-ene- 3β , 17β -diol- 17α - 3 H to testosterone 17α - 3 H and 5α and 5β -androstane- 3α , 17β -diol 17α - 3 H in vivo. *Steroids*, 2:111, 1963.
62. MAUVAIS-JARVIS, P. y BAULIEU, E.: Studies on testosterone metabolism. IV. Urinary 5α - and β -androstanediols and testosterone in normal people and hirsute women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 25:1.167, 1965.

63. MAUVAIS-JARVIS, P., FLOCH, H., JUNG, L., ROBEL, P. y BAULIEU, E.: Studies on testosterone metabolism. VI. Precursors of urinary androstenediols. *Steroids*, 11:207, 1968.
64. MAUVAIS-JARVIS, P., BERCOVICI, J.P., CREPY, O. y GAUTHIER, F.: Studies on testosterone metabolism in subjects with testicular feminization syndrome. *J. Clin. Invest.*, 49:31, 1970.
65. FUKUSHIMA, D.K., BRADLOW, H.L., DOBRINER, K. y GALLAGHER, T.F.: The fate of testosterone infused intravenously in man. *J. Biol. Chem.*, 206:863, 1954.
66. HELLMAN, L., BRADLOW, H.L., ZUMOFF, B., FUKUSHIMA, D.K. y GALLAGHER, T.F.: Thyroid-androgen interrelations and the hypocholesterolemic effect of androsterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 19:936, 1959.
67. KAPPAS, A., BRADLOW, H.L., GILLETTE, P.N. y GALLAGHER, T.: Studies in porphyria: A defect in the reductive transformation of natural steroid hormones in the hereditary liver disease, acute intermittent porphyria. *J. Exp. Med.*, 136:1,043, 1972.
68. ZUMOFF, B., BRADLOW, H.L., FINKELSTEIN, J. y HELLMAN, L.: The influence of age and sex on the metabolism of testosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, (en prensa).
69. BRADLOW, H.L., BOYAR, R.M., O'CONNOR, J., ZUMOFF, B. y HELLMAN, L.: Hypothyroidal changes in testosterone metabolism in anorexia nervosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, (en prensa).
70. VESTERGAARD, P. y CLAUSSEN, B.: Hydrolysis of urinary 17-ketosteroids conjugates and estimation of the individual 17-ketosteroids by gradient elution chromatography. *Acta Endocrinol.*, 39: suppl. 64, 1962.
71. BERGER, H., FINK, M., FRITZ, H.J., GREISPACH, H. HEIDEMANN, P. y WOLF, J.: Normal values for the various 17-oxosteroids, pregnanes and testosterone excreted in the urine of healthy boys and girls. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, 8:354, 1970.
72. FEHER, T.: Some aspects of the determination of individual urinary 17-oxosteroids: normal excretion. *Clin. Chim. Acta*, 14:91, 1966.
73. PAXTON, J.W., MOORE, M.R., BEATTIE, A.D. y GOLDBERG, A.: 17-oxosteroid conjugates in plasma and urine of patients with acute intermittent porphyria. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 46:207, 1974.
74. GUPTA, D. y MARSHALL, W.A.: A longitudinal study of the urinary excretion of individual steroid in children from 3 to 7 years old. *Acta Endocrinol.*, 68:141, 1971.
75. VESTERGAARD, P.: Urinary excretion of individual 17-ketosteroids in children. *Acta Endocrinol.*, 49:436, 1965.
76. PAULSEN, E.P., SOBEL, E.H. y SHAFRAN, M.S.: Urinary steroid metabolites in children. I. Individual 17-ketosteroids in children with normal sexual development. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 26: 329, 1966.
77. SLAUNWHITE, W.R., Jr. y SANDBERG, A.A.: Metabolism of 4-C¹⁴-testosterone in human subjects. III. Fate of androsterone and etiocholanolone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 18:1,056, 1958.
78. FUKUSHIMA, D.K., BRADLOW, H., ZUMOFF, B., HELLMAN, L. y GALLAGHER, T.: Biotransformation of 3 α -hydroxy-17-ketosteroids. *Acta Endocrinol.*, 44:453, 1963.
79. FUKUSHIMA, D.K., BRADLOW, H.L., YAMAUCHI, T., ZUMOFF, B., HELLMAN, L. y GALLAGHER, T.F.: Studies with androsterone-3-³H, 4-¹⁴C. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 17:1,208, 1967.
80. BRADLOW, H.L., FUKUSHIMA, D.K., ZUMOFF, B., CASSOULTO, J., HELLMAN, L. y GALLAGHER, T.F.: Some aspects of the dynamics of oxidation-reduction of etiocholanolone-3-³H, 4-¹⁴C in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 27:1,203, 1967.
81. ZUMOFF, B., BRADLOW, H.L., GALLAGHER, T.F. y HELLMAN, L.: Decreased conversion of androgens to normal 17-ketosteroid metabolites: A nonspecific consequence of illness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 32:824, 1971.
82. BRADLOW, H.L., ZUMOFF, B., FUKUSHIMA, D.K., HELLMAN, L., BICKERS, D.R., ALVARES, A.P. y KAPPAS, A.: Drug induced alterations of steroid hormone metabolism in man. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 212:148, 1973.
83. RUBINSTEIN, H.A., BUTLER, V.P., Jr. y WERNER, S.C.: Progressive decrease in serum triiodothyronine concentrations with human aging: Radioimmunoassay following extraction of serum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 37:247, 1973.
84. BERMUDEZ, F., SURKS, M.L. y OPPENHEIMER, J.H.: High incidence of decreased serum triiodothyronine concentration in patients with nonthyroidal disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41:27, 1975.
85. BRADLOW, H.L., HELLMAN, L., ZUMOFF, B. y GALLAGHER, T.F.: Interaction of hormonal effects: Influence of triiodothyronine on androgen metabolism. *Science*, 124:1,206, 1956.
86. JAMES, V.H.T.: The excretion of individual 17-oxosteroids in Cushing's syndrome. *J. Endocrinol.*, 23:119, 1961.
87. WILSON, H. y SCHENKER, S.: Effect of corticosteroids on urinary 5 β and 5 α C₁₉ steroids in man. *Acta Endocrinol.*, 46:197, 1964.
88. CHOPRA, I.J., WILLIAMS, D.E., ORGIAZZI, J. y SOLOMON, D.H.: Opposite effects of dexamethasone on serum concentrations of 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T₃) and 3,3', 5'-triiodothyronine (T₃). *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41:911, 1975.
89. SASSA, S., GRANICK, S., BICKERS, D.R., BRADLOW, J.L. y KAPPAS, A.: Studies in porphyria III. A microassay for uroporphyrinogen synthetase, one of three abnormal enzyme activities in acute intermittent porphyria; an its application to the study of the genetics of this disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71:732, 1974.
90. MAUZERALL, D. y GRANICK, S.: The occurrence and determination of δ -aminolaevulinic acid and porphobilinogen in urine. *J. Biol. Chem.*, 219:435, 1956.
91. WALSH, P.C., MADDEN, J.D., HARROD, M.J., GOLDSTEIN, J.L., MacDONALD, P.C. y WILSON, J.D.: Familial incomplete male pseudohermaphroditism, Type 2. Decreased dihydrotestosterone formation in pseudo-vaginal perineoscrotal hypospadias. *N. Engl. J. Med.*, 291:944, 1974.
92. WILSON, J.D.: Dihydrotestosterone formation in cultured human fibroblasts. Comparison of cells from normal subjects and patients with familial incomplete male pseudohermaphroditism, Type 2. *J. Biol. Chem.*, 250:3,498, 1975.
93. MOORE, R.J., GRIFFIN, J.E. y WILSON, J.D.: Diminished 5 α -reductase activity in extracts of fibroblasts cultured from patients with familial incomplete male pseudohermaphroditism, Type 2. *J. Biol. Chem.*, 18:7,168, 1975.
94. GRIFFIN, J.E., PUNYASHITHI, K. y WILSON, J.D.: Dihydrotestosterone binding by cultured human fibroblasts. Comparison of cells from control subjects and from patients with hereditary male pseudohermaphroditism due to androgen resistance. *J. Clin. Invest.*, (en prensa).
95. GOY, R.W., WOLF, J.E. y EISELE, S.G.: Experimental pseudohermaphroditism in rhesus monkeys: Anatomical and psychological characteristics. En *Handbook of Sexology*, H. Musaph y J. Money (eds). Excerpta Medical (Elsevier), 1976.
96. GOLDMAN, A.S. y BAKER, M.K.: Androgenicity in the rat fetus of metabolites of testosterone and antagonism by cyproterone acetate. *Endocrinology*, 89:276, 1971.
97. WILSON, J.D.: Testosterone uptake by the urogenital tract of the rabbit embryo. *Endocrinology*, 92:1,192, 1973.
98. JOSSO, N.: Action de la testosterone sur le canal de wolff du foetus de rat en culture organotypique. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.*, 59:37, 1970.
99. JUNG, L. y BAULIEU, E.: Testosterone cytosol "receptor" in the rat levator ani muscle. *Nature*, 237:24, 1972.
100. GUSTAFSSON, J. y POUSETTE, A.: Demonstration and partial characterization of cytosol receptors for testosterone. *Biochemistry*, 14:3,095, 1975.
101. GLOYNA, R.E. y WILSON, J.D.: A comparative study of the conversion of testosterone to 17 β -hydroxy-5 α -androstane-3-one (dihydrotestosterone) by prostate and epididymis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 29:970, 1969.
102. GIANOPOULOS, G.: Binding of testosterone to uterine components of the immature rat. *J. Biol. Chem.*, 248:1,004, 1973.
103. WILSON, J.D. y WALKER, J.D.: The conversion of testosterone to 5 α -androstane-17 β -ol-one (dihydrotestosterone) by skin slices of man. *J. Clin. Invest.*, 48:371, 1969.
104. SITTERI, P.K., WILSON, J.D. y MAYFIELD, J.A.: Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. *J. Clin. Invest.*, 48:371, 1969.
105. SANSONE, G. y REISNER, R.M.: Differential rates of conversion of testosterone to dihydrotestosterone in acne and in normal human skin - a possible pathogenic factor in acne. *J. Invest. Dermatol.*, 56:366, 1971.
106. FAZEKAS, A.G. y LANTHIER, A.: Metabolism of androgens by isolated human beard hair follicles. *Steroids*, 18:367, 1971.
107. SCHWEIKERT, H.U. y WILSON, J.D.: Regulation of human hair growth by steroid hormones. I. Testosterone metabolism in isolated hairs. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38:811, 1974.
108. NEUMANN, F., VON BERSWORDT-WALLRABE, R., ELGER,

- W., STEINBECK, H., HAHN, J.D. y KRAMER, M.: Aspects of androgen-dependent events as studied by antiandrogens. *Recent Prog. Horm. Res.*, 26:337, 1970.
109. McDONALD, P., BEYER, C., NEWTON, F., BRIEN, B., BAKER, R., JAN, H.S., SIMPSON, C., KITCHING, P., GREENHILL, R. y PRITCHARD, D.: Failure of 5α -dihydrotestosterone to initiate sexual behaviour in the castrated male rat. *Nature*, 227:964, 1970.
110. LUTTGE, W.G. y HALL, N.R.: Differential effectiveness testosterone and its metabolites in the induction of male sexual behavior in two strains of albino mice. *Horm. Behav.*, 4:31, 1973.
111. PHOENIX, C.H.: Effects of dihydrotestosterone on sexual behavior of castrated male rhesus monkeys. *Physiol. Behav.*, 12: 1.045, 1974.
112. BEYER, C., de la TORRE, L., LARSON, K. y PEREZ-PALACIOS G.: Synergistic actions of estrogen and androgen on the sexual behavior of the castrated male rabbit. *Horm. Behav.*, 6:301, 1975.
113. OPITZ, J.M., SIMPSON, J.L., SARIO, G.E., SUMMITT, R.L., GERMAN, J. y NEW, M.: Pseudovaginal perineoscrotal hypospadias. *Clin. Genet.*, 3:1, 1972.
114. JONES, H.W. y SCOTT, W.W.: Familial male hermaphroditism an hermaphroditism, genital anomalies and related endocrine disorder, pág. 160. Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1971.
115. FEDERMAN, D.D.: Abnormal sexual development. A genetic and endocrine approach to differential diagnosis. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1967.
116. GIVENS, J.R., WISER, W.L., SUMMITT, R.L., KERBER, I.J., ANDERSEN, R.N., PITTAWAY, D.E. y FISH, S.A.: Familial male pseudohermaphroditism without gynecomastia due to deficient testicular 17-ketosteroid reductase activity. *N. Engl. J. Med.*, 291:938, 1974.
117. IMPERATO-McGINLEY, J. PETERSON, R.E.: Male pseudohermaphroditism: The complexities of male phenotypic development. *Am. J. Med.*, (en prensa).