



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**PROPUESTA DE UN NUEVO USO DE LA PRUEBA DE ESTIMULACIÓN
CON hMG PARA LA DETERMINACION DE TEJIDO OVÁRICO
FUNCIONAL EN LOS PACIENTES CON SOSPECHA DIAGNÓSTICA DE
ALTERACION EN DIFERENCIACIÓN SEXUAL OVOTESTICULAR DE
CLINICA DE ALTERACION EN DIFERENCIACION SEXUAL DEL
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA.**

T E S I S

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA
EN ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA**

P R E S E N T A:

DRA. MÓNICA FABIOLA MEJÍA HERNÁNDEZ

TUTORES DE TESIS:

DRA. MARÍA DE LA LUZ RUIZ REYES

M.C. LUISA DÍAZ GARCÍA

MEXICO, D.F., 2011

INP

**I N P
CENTRO DE INFORMACION
Y DOCUMENTACIÓN**

PROPUESTA DE UN NUEVO USO DE LA PRUEBA DE ESTIMULACIÓN CON hMG PARA LA DETERMINACION DE TEJIDO OVÁRICO FUNCIONAL EN LOS PACIENTES CON SOSPECHA DIAGNÓSTICA DE ALTERACION EN DIFERENCIACIÓN SEXUAL OVOTESTICULAR DE CLINICA DE ALTERACION EN DIFERENCIACION SEXUAL DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA



DR. JOSE NICOLAS REYNÉS MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



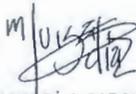
DRA. MIRELLA VÁZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DR. CARLOS ROBLES VALDES
PROFESOR TITULAR DEL CURSO



DRA. MARIA DE LA LUZ RUIZ REYES
TUTOR DE TESIS



M.C. LUISA DÍAZ GARCIA
ASESOR METODOLÓGICO



TUTOR Y ASESORES

Tutor

Dra. María de la Luz Ruíz Reyes

Asesor Metodológico

M. en C. Luisa Díaz García

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, mi confidente, mi apoyo y mi soporte en los tropiezos y alegrías.

A mi familia, por su paciencia, por su apoyo incondicional en los momentos fáciles y en los difíciles, por su amor que rebasa las distancias.

A mis amigos, mis hermanos elegidos, los cercanos y los que a pesar de la distancia me han animado todos los días de este caminar, gracias por su apoyo y comprensión.

Por las enseñanzas de todos mis maestros, Dr. Calzada, Dr. Robles, Dra. Altamirano, Dra. Ruíz, gracias por su apoyo y por compartir sus conocimientos.

Al Dr. Lavalle, por seguir otorgándome su confianza y apoyo, por creer en mi.

A Martita, sin tu apoyo nada sería igual.

INDICE

Abreviaturas	5
Antecedentes	6
Planteamiento del Problema	16
Justificación	16
Pregunta de investigación	17
Objetivos	
General	17
Específicos primarios	17
Específicos secundarios	17
Diseño metodológico	17
Población objetivo	17
Población específica	18
Criterios de selección	
Criterios de inclusión	18
Definición operacional de variables	18
Material y métodos	19
Recursos materiales y humanos	20
Análisis estadístico	20
Consideraciones éticas	21
Financiamiento	21
Resultados	22
Discusión	33
Conclusiones	34
Bibliografía	35
Anexos	37

ABREVIATURAS

ADS	Alteración en diferenciación sexual
DHT	Dehidrotestosterona
hMG	Hormona gonadotropina menopáusica humana
hCG	Hormona gonadotropina Coriónica humana
HSC	Hiperplasia suprarrenal congénita
pg/mL	Picogramos por mililitro
PRT	Prueba de reserva testicular

ANTECEDENTES

ALTERACIÓN EN DIFERENCIACIÓN SEXUAL

En ocasiones, la ambigüedad de genitales en el recién nacido es considerada una "Emergencia Endocrinológica". Esto aunado al estrés emocional que puede generar en los padres tras no ser posible la asignación de género al momento del nacimiento.

Tras el Consenso de Chicago en el año 2006, se ha recomendado el uso del término "Alteración en la diferenciación Sexual" (ADS) en aquellos recién nacidos que presentan genitales ambiguos, dejando atrás la palabra "intersexo" la cual era, para los padres de estos pacientes, un término peyorativo. Esta alteración es definida como aquella condición congénita en la cual el desarrollo sexual cromosómico, gonadal o anatómico es atípico (1). Dichas anomalías se encuentran reportadas hasta en uno de 4500 nacimientos, siendo el diagnóstico de Hiperplasia Suprarrenal Congénita (HSC) la patología más frecuente (2). La nomenclatura propuesta en el consenso citado propone una clasificación diferente a la anteriormente utilizada (3, 1) (Cuadro 1), en la que el diagnóstico de las diferentes etiologías de ADS se realiza según el sexo cromosómico del paciente estudiado, con lo cual es requerida la toma de Cariotipo (Cuadro 2). Los Síndromes de Turner y Klinefelter generalmente no se asocian a anomalías genitales al nacimiento, pero en el Síndrome de Klinefelter se han descrito casos en los que se presentan anomalías genitales, por lo que han sido incluidos en la clasificación actual. Las categorías de ADS XX y XY se subdividen según el desorden primario del desarrollo gonadal o alteración en la biosíntesis esteroidea.

Cuadro 1. NUEVA CLASIFICACIÓN PROPUESTA	
Previa	Propuesta
Intersexo	Alteración en Diferenciación Sexual (ADS)
Pseudohermafroditismo masculino	ADS 46,XY
Varón XY poco virilizado	
Varón XY poco masculinizado	
Pseudohermafroditismo femenino	ADS 46,XX
Femenino XX sobrevirilizada	
Femenino XX masculinizada	
Hermafroditismo verdadero	ADS Ovotesticular
Reversión sexual XX o Varón XX	ADS 46,XX testicular
Reversión sexual XY	Disgenesia Gonadal Pura 46,XY

Cuadro 2. CLASIFICACIÓN PROPUESTA POR ALTERACION DE DIFERENCIACIÓN SEXUAL (ADS)

ADS de cromosomas sexuales	ADS 46,XY	ADS 46,XX
A. 47,XXY (Síndrome de Klinefelter y variantes)	A. Alteración del desarrollo gonadal (Testicular) 1. Disgenesia gonadal completa o parcial (ej. SRY, SOX9, SFI, WTI, DHH, etc) 2. ADS Ovotesticular 3. Regresión testicular	A. Alteración del desarrollo gonadal (Ovario) 1. Disgenesia gonadal 2. ADS Ovotesticular 3. ADS testicular (ej. SRY+, dup SOX9,SRP01)
B. 45,X (Síndrome de Turner y variantes)	B. Alteración en la síntesis o acción de Andrógenos 1. Alteración en la síntesis de Andrógenos Mutación del receptor de LH Síndrome Smith-Lemli-Optiz Mutación de StAR CYP11A1 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa 2 (HSD3B2) 17β-hidroxiilasa/17,20 liasa(CYP 17) P450 oxidoreductasa (POR) 17-hidroxiesteroide deshidrogenasa (HSD 17B3) 5α-reductasa 2 (SRDSA2) 2. Alteración en la acción de andrógenos. Síndrome de insensibilidad de andrógenos Drogas o moduladores ambientales	B. Exceso de andrógenos 1. Fetal 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa 2 HSD3B2 21hidroxilasa (CYP21A2) P450 oxidoreductasa (POR) 11b-hidroxiilasa (CYP 11B1) Mutación del receptor de glucocorticoides 2. Fetoplacentaria Deficiencia de Aromatasa (CYP 19) Deficiencia de oxidoreductasa (POR) 3. Materno Tumores virilizantes maternos (luteomas) Drogas androgénicas
C. 45,X/46,XY (Disgenesia gonadal mixta)	C. Otros 1. Asociaciones sindrómica del desarrollo genital masculino (ej. Anomalidades cloacales, Robinow, Aarskog, mano-pie-genital, pterigión polplíteo) 2. Síndrome de conducto Mülleriano persistente 3. Hipospadias idiopática 5. Hipogonadismo hipogonadotrópico congénito 6. Criptorquidia (INSL3, GREAT)	C. Otros 1. Asociaciones sindrómica (ej. Anomalidades cloacales) 2. Agenesia/hipoplasia de Müllerianos (ej. MURCS) 3. Anomalidades uterinas (ej. MODYS) 4. Atresia Vaginal (ej. Kckusick - Kaufman) 5. Fusión de labios

Los principales antecedentes de importancia descritos en un paciente con ADS son: consanguinidad de los padres, antecedente familiar de alteración genital, ingesta de medicamentos durante la gestación.

1. Genética

Se han encontrado genes que, al ser alterados, desencadenan ADS en el ratón pero no han sido documentados en el humano.

Genes considerados anti-testículo han sido descritos, como DAX1 y WNT4 así como FOXL2 y RSPO1 que se encuentran relacionados con la determinación ovárica.

Actualmente los avances en las técnicas moleculares como Reacción en Cadena de la Polimerasa Fluorescente Cuantitativa (QF-PCR) y Polimerización de Pirofosforólisis Activada (PAP) para el análisis del DNA libre fetal obtenida de la sangre materna o del líquido amniótico, han sido aplicadas para la detección de aneuploidías cromosómicas y sexo prenatal. Uno de los beneficios es el evitar el uso de Dexametasona en el feto masculino que tiene riesgo de HSC, el cual se identifica en las primeras 7 semanas de gestación con el análisis del cromosoma Y con la prueba SRY específica (1).

2. Causas de Alteración en la Diferenciación Sexual

a) Causas de ADS XX

La HSC es la más común.

Se ha documentado la Deficiencia de Aromatasa como alteración en la esteroidogénesis en la que se encuentra virilización tanto en la madre como en el recién nacido femenino, mientras en el varón se encuentran genitales normales al nacimiento pero en la adultez temprana se observa talla alta, deficiencia en maduración esquelética, disminución en la mineralización ósea y rasgos del Síndrome Metabólico.

La deficiencia en la Citocromo P450 oxidoreductasa (POR), flavoproteína de membrana que juega un papel central en la transferencia de electrones desde NADPH a las enzimas P450. Ha sido descrito el Síndrome de Antley-Bixler en el cual se encuentra deficiencia de POR con la subsecuente ADS asociado a displasia esquelética, además representa ha sido propuesta la deficiencia de POR como la forma más común de HSC.

En los últimos años se ha encontrado la sobre expresión de genes como DAX-1 y WNT4 tras su duplicación en las regiones Xp21 y 1p35 respectivamente, ambos genes llamados "anti-testículo", los cuales pueden condiciones regresión sexual.

b) Causas de ADS XY

La Disgenesia Gonadal completa o Síndrome de Swyer se encuentra en un 10 a 15% de los casos de ADS XY, y es causada por la mutación en SRY. La anorquia bilateral asociada a micropene, resulta de una mutación heterocigota en SF-1 y se han descrito causas sindrómicas de Disgenesia Gonadal asociada a genes conocidos como Displasia Campomética (SOX9), Talasemia/retraso mental (ATRX), Síndrome de Denys-Drash (WT-1) y Lisencefalia ligada al X (ARX).

Los defectos en la síntesis de andrógenos como la deficiencia de P450 oxidoreductasa, que ocasiona alteración en la síntesis de Dehidrotestosterona, causan ADS. En caso de encontrarse niveles normales o altos de andrógenos, se debe sospechar en resistencia a su acción, lo que puede ocasionar el síndrome de testículo feminizante.

En el Síndrome de Insensibilidad Parcial a Andrógenos se encuentran diferentes grados de disminución en la masculinización asociada a una producción de andrógenos para la edad y función de Hormona AntiMülleriana normales con histología testicular normal, en el que se ha

comprobado un efecto en la señalización de andrógenos alterada en solo una minoría de los casos y ha sido asociada a la presencia de hipospadias severa y peso bajo al nacimiento.

Hipospadias y criptorquidia deben asociarse a efectos de químicos ambientales como los pesticidas, donde se reporta una falta de balance entre andrógenos/estrógenos durante la vida fetal aunque algunos compuestos son específicamente anti androgénicos o estrogénicos.

3. Abordaje de ADS

Los niños con ADS son vulnerables psicológica y socialmente (2). Desde el primer contacto del médico con el paciente y su familia, se deben usar términos neutros como "su bebé" así como para la descripción de los genitales (4). Las decisiones de asignación de género y del manejo médico, deben ser tomadas tras la evaluación integral de especialistas en Endocrinología Pediátrica, Psicología, Urología Pediátrica, Genética, apoyados por Trabajo Social.

Historia Clínica

Debe incluir antecedentes familiares y perinatales, así como una exploración física completa de todas las áreas corporales.

- a) **Gestación:** uso de medicamentos como progesterona o derivados los cuales pueden generar diferentes grados de virilización según el momento de la gestación en el que se presentó la exposición.
- b) **Antecedentes Familiares:** Consanguinidad, endogamia, alteraciones genitales en otros miembros de la familia, poliquistosis ovárica, amenorrea primaria o secundaria. Infertilidad.

Exámenes Iniciales

Deberán realizarse de acuerdo a las posibilidades de cada centro de estudio. Aquellos estudios de primera línea son (2):

- a) **Laboratorio:** hormonas y precursores hormonales suprarrenales (17 OH progesterona, testosterona, gonadotropinas, Hormona antimülleriana), cariotipo en sangre periférica, electrolitos séricos y urinarios.
- b) **Gabinete:** Ultrasonido abdominal y pélvico así como inguinal en caso necesario, uretrografía.

Otros exámenes

Aquellos de segunda línea de investigación en los que se encuentran las pruebas de estimulación (2, 3, 4):

- a) **Pruebas de estimulación Gonadal:**
 1. Prueba de estimulación con Gonadotropina Coriónica Humana (hCG): Tras la medición de Testosterona y Dehidrotestosterona, demuestra la existencia de capacidad esteroidogénica para sintetizar andrógenos y sugiere la presencia de testículos con células de Leydig funcionales. La elevación de DHT permite evaluar la presencia de 5 α -reductasa. El protocolo de realización de esta prueba aún no se ha consensado (2).
 2. Prueba de estimulación con ACTH: cuando es sospechada alteración en la biosíntesis de hormonas adrenales y gonadales.

3. Prueba de estimulación con Gonadotropina Menopáusica humanas (LH y FSH): evalúa la capacidad de sintetizar estrógenos lo que sugiere la presencia de tejido ovárico funcional (10).

b) Laparoscopia/Laparotomía:

Útil para describir características gonadales intraabdominales y de estructuras Mülllerianas así como para el retiro de las gónadas cuando se encuentra el riesgo de malignización.

Deben obtenerse biopsias de gónadas para la determinación histológica y en algunos casos para la determinación de cariotipo gonadal.

c) Pruebas especiales:

1. Determinación del receptor de andrógenos, 5 α - reductasa in Vitro por PCR y secuenciación de DNA en fibroblastos.
2. Niveles séricos de Hormona Antimülleriana: demuestra la existencia de células de Sertoli funcionales.
3. Determinación de genes:
 - A. Genes que determinan la formación gonadal: SRY, SOX-9, WT-1, SF-1. DAX-1 y LIM-1.
 - B. Genes de esteroidogénesis: STAR, CYP-17.
 - C. Genes que codifican para síntesis del Receptor de Andrógenos o LH.

4. Manejo Médico

Depende del diagnóstico establecido, lo cual no es posible hasta en el 50% de los casos (5). Para lo cual es necesario realizar los estudios anteriormente descritos.

5. Manejo Quirúrgico

El cirujano debe estar involucrado en el grupo de trabajo multidisciplinario. Es aceptada la idea de la corrección quirúrgica de los genitales de forma temprana siguiendo las recomendaciones de la Academia Americana de Pediatría en la cual se habla de la corrección en base a las condiciones genitales de cada paciente, diagnóstico exacto de ADS así como la asignación de género basada en los conocimientos de la evolución post puberal (2, 6), haciéndose énfasis en la funcionalidad antes que en la apariencia cosmética genital.

6. Manejo Psicológico

Para los padres, el no poder distinguir a que género pertenece su hijo por las características genitales del mismo, es el primer problema al que deben enfrentarse.

Estos pacientes son objeto de iatrogenias por la vulnerabilidad en la que se encuentran. Exámenes genitales repetidos así como la toma de fotografías crean un trauma innecesario (7). Se sugiere la presencia del psicólogo en la consulta endocrinológica desde el principio así como en aquellas consultas en las cuales se trate información sobre el diagnóstico y procedimientos a realizar en el paciente (2). Se han propuesto programas sobre manejo de problemas y solución de los mismos en aquellos padres que se presentan con mayor vulnerabilidad ante el estrés. Con el propósito de evitar confusiones o falsas expectativas, se propone otorgar los resultados de todos los estudios realizados al paciente hasta haberse concluido el abordaje.

No ha sido encontrada evidencia de que el sexo cromosómico influya en la identidad de género. La mayor evidencia acerca de esta identidad involucra aspectos como la agresión y conducta social (8). Es recomendada la discusión sobre el cariotipo, status gonadal y fertilidad en base a los derechos de los niños, cambios en los puntos de vista de médicos y personal de salud así como de los pacientes; esto permite a los niños tener oportunidad de formular preguntas así como favorecer una autoimagen positiva ya que la capacidad de los niños de entender su condición es esencial cuando se requiere su participación en la toma de decisiones sobre intervenciones médicas.

ALTERACIÓN EN DIFERENCIACIÓN SEXUAL OVOTESTICULAR

Anteriormente llamado Hermafroditismo Verdadero, el término es reemplazado por el término descriptivo ADS ovotesticular, en el que se reconoce que la patología sólo puede ser definida tras el conocimiento histológico de las gónadas. Es una causa rara de alteración genital al nacimiento en la cual se encuentran presentes tejidos tanto ovárico (con la presencia de folículos) como testicular en un mismo individuo, por separado o en una misma gónada (ovotestes) (7, 9,10). La diferenciación genital presenta grados variables de ambigüedad; mientras que, por definición, el tejido testicular debe contener túbulos seminíferos desarrollados y el tejido ovárico, folículos primordiales. La función endocrina y gametogénica del ovario solo o en ovotestes se encuentra normal en la mayoría de los pacientes mientras que el testículo o porción testicular de ovotestes generalmente es anormal en la producción hormonal y espermatogénesis (10). El cariotipo más frecuente es 46, XX.

Ya que la exploración física genital no presenta una orientación diagnóstica por sí sola, son necesarios una serie de estudios para la determinación de la etiología.

Diagnóstico

El abordaje es aquel que se lleva a cabo en toda ADS. Es necesario el abordaje clínico con un examen físico completo con la descripción de los genitales así como los antecedentes tanto familiares como perinatales de importancia. El esquema diagnóstico a realizar no difiere al del resto de ADS, con la siguiente presentación encontrada:

1. Presentación clínica

Puede manifestarse de forma esporádica o familiar (11, 12, 13). El síntoma más común es la ambigüedad de genitales que va desde clitoromegalia aislada a hipospadias.

Los grados de virilización son determinados por la escala de evaluación de Prader la cual especifica los diferentes fenotipos en 5 grados que van de genitales femeninos normales así como masculinos pasando por la variedad entre ellos. (Imagen 1) También ha sido propuesta la clasificación de Lucks y colaboradores para la descripción genital (14) (Imagen 2).

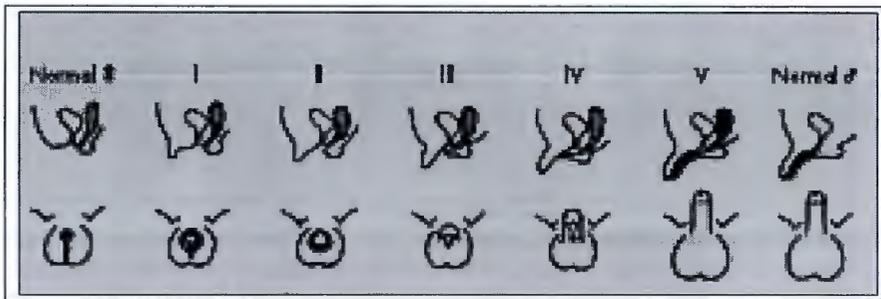


Imagen 1

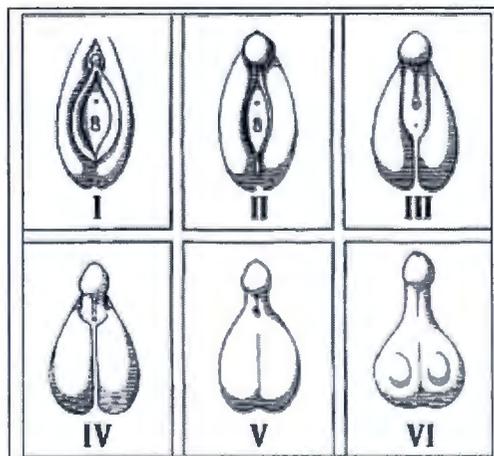
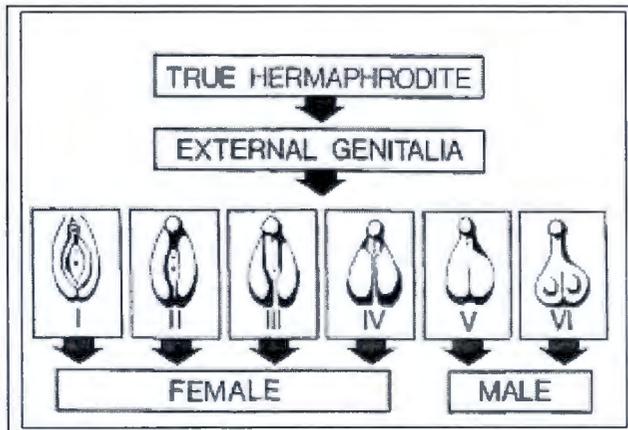


Imagen 2

2. Presentación Genética

El cariotipo más frecuentemente encontrado es 46, XX hasta en 70% ^(9,11) de los casos, seguidos por mosaicos 46, XX/46,XY en 20-22%, el resto está dado por otros mosaicismos como 46,XY, 45,XO/46,XY, 47,XXY/46,XX, reportándose 46,XY como el menos frecuente en Europa, Norteamérica y Asia pero el más frecuente en Japón ⁽⁹⁾.

En aquellos pacientes con cromosoma Y presente, la existencia de tejido testicular se explica por la presencia del gen SRY, determinante para la diferenciación testicular mientras que en los pacientes 46,XX se encuentra por un gen SRY oculto tras la traslocación de Y-X o Y- autosoma ⁽¹⁵⁾. En algunos, se ha encontrado el gen SRY en tejido gonadal, no así en sangre periférica.

3. Presentación Ultrasonográfica

Es requerido el ultrasonido para una valoración completa del paciente con ADS. La primer vez que se enfatizó el uso de este medio fue publicada en 1978 ⁽¹⁶⁾. Es importante para demostrar de forma precisa, la anatomía genitourinaria e incluso se ha reportado el análisis gonadal como aspecto asimétrico ⁽¹⁷⁾.

La cistouretrografía permite la visualización de las características uretrales, seno urogenital, impresión vesicouretral de la próstata y presencia de fístulas de la uretra ⁽⁴⁾.

4. Pruebas de estimulación

Tras la realización de los exámenes de laboratorio requeridos en el abordaje de ADS, son necesarias pruebas de estimulación que confirmen la presencia de tejido tanto testicular como ovárico.

La presencia de células de Leydig puede ser demostrada con la determinación de Testosterona basal y post estimulación con Gonadotropina Coriónica humana (hCG). Además esta prueba ayuda para sugerir el bloqueo en la síntesis de testosterona desde Androstenediona por la deficiencia de 17 α -hidroxisteroide deshidrogenada así como la conversión de testosterona a Dehidrotestosterona (DHT) por la deficiencia de 5 α -reductasa.

Para la realización de dicha prueba no se encuentra un protocolo definido aunque se ha descrito la administración de una a tres inyecciones de altas dosis de hCG, que va de 500 a 1500 UI, con un intervalo de 24hr durante 3 a 4 días con la medición de Testosterona y Dehidrotestosterona (DHT) basales, durante y posterior a la administración de la dosis total de hCG. Dicha prueba se ha extendido en ocasiones hasta 3 semanas en caso de no ser concluyente. La dosis es la misma que en la primer fase con administración dos veces por semana y toma de Testosterona y DHT 24hr posteriores a la última administración. Los cambios clínicos encontrados son el descenso testicular así como incremento en el tamaño del falo ^(11, 17).

La prueba diagnóstica para la demostración de tejido ovárico se realizó por Méndez *et al* en 1998 con la administración de gonadotropina menopáusica humana (hMG). Aunque la prueba con hCG puede estimular la producción de estradiol por el tejido ovárico, no ha podido documentarse incremento de dicha hormona por arriba del valor de corte propuesto de forma arbitraria (80pg/ml).

La prueba de estimulación ovárica con hMG se llevó a cabo de 6 a 8 semanas posteriores a la prueba con hCG, en quince pacientes con sospecha diagnóstica de ADS ovotesticular. Cada paciente recibió hMG (Pergonal, Laboratorios Serono) a dosis de 2UI/kg intramuscular cada 12hr. Se obtuvieron muestras sanguíneas basales para estradiol además de cada 24hr, previo a la administración de la dosis matutina de hMG. Cuando los niveles de estradiol se elevaron por arriba de 80pg/mL, la prueba se dio por concluida. Después de 7 días de estimulación si los niveles de estradiol se mantenían por debajo de 80pg/mL, la prueba continuó durante 7 días más y la dosis administrada de hMG fue duplicada (4UI/kg/dosis) hasta que los niveles de estradiol se elevaron a los rangos mencionados.

Los niveles basales de estradiol se encontraron en rangos no detectables. En 5 pacientes se elevó por arriba del valor de corte y en los 10 pacientes restantes, los niveles se mantuvieron por debajo de dicho valor a pesar de continuar la prueba 7 días más con la dosis de hMG duplicada.

Tras la realización de Laparotomía exploradora en los 5 pacientes que respondieron a la prueba con hMG, se documentó la presencia de útero así como tejido tanto ovárico como testicular. Con los resultados obtenidos, se ha considerado la realización de dicha prueba diagnóstica dentro del protocolo de estudio para pacientes con ADS con sospecha de ADS ovotesticular, ya que la orientación diagnóstica obliga al cirujano a una mejor exploración abdominal así como a un manejo quirúrgico definitivo según los hallazgos quirúrgicos asociados al cariotipo y condiciones genitales del paciente.

Histología gonadal

En los pacientes con ADS ovotesticular, el útero se encontró hipoplásico en 46% de los casos, 14% presentó el cuerpo uterino solo, ausencia uterina en 13% y útero unicornio en 10%; sólo en el 10% de los casos el útero se consideró como normal. En la mayoría de los casos se reporta un falo de 4 a 8cm, la mayoría presenta cuerda, el 63% con pliegues labioescrotales, 17% escroto normal, 13% hemiescroto, 7% labios mayores normales.

Está descrita una clasificación acerca de la distribución gonadal encontrada en los pacientes con ADS ovotesticular: 1) Laterales 29.6% (ovario en un lado y testículo en otro); 2) Unilateral en 29.1% (ovotestes en un lado y ovario del otro); 3) Bilateral en 20.8% (ovotestes en ambos lados) y 4) la combinación de ovotestes con testículo hasta en 11% de los casos (11, 18, 19).

1. Ovotestes

Es la gónada más comúnmente encontrada, reportándose hasta en un 44.3% de los casos. La apariencia histológica de la porción ovárica es generalmente normal hasta en 77% de los ovotestes estudiados y el resto considerada como anormal principalmente por la disminución en la cantidad de folículos primordiales. En contraste, la porción testicular del ovotestes usualmente presenta una histología anormal no encontrándose espermatogonia ni espermatogénesis. También se reporta hiperplasia de las células de Leydig así como incremento en las células de Sertoli en el lumen de los túbulos seminíferos.

2. Ovario

Se presenta hasta en un 33.4%. Situado en la posición normal intraabdominal. Macroscópicamente se describe como órgano normal, ocasionalmente más pequeño o quístico. Ha sido reportada producción estrogénica normal.

3. Testículo

Representa el 22.3% de los casos de ADS ovotesticular siendo la menos común. Se presenta en 63% en escroto, 22% en posición ovárica normal, 14% en región inguinal con un 1% en anillo inguinal interno.

La histología es similar a la de la porción testicular del ovotestes como un testículo inmaduro con células de Sertoli en el lumen de los túbulos; hiperplasia de las células de Leydig en 19% y la espermatogénesis se reporta en el 12% de los casos.

Correlación del cariotipo con la histología gonadal

En aquellos casos con cariotipo 46, XX el patrón de distribución gonadal más común fue ovario de un lado y ovotestes del otro en un 37%; seguido de ovotestes bilateral en 28.4% de los casos y 19.8% para ovario de un lado y testículo del otro, el restante 4.4% fue para ovotestes de un lado y gónada no diferenciada en el otro.

En los pacientes con cromosoma Y un testículo fue encontrado en el 61% de los casos lo que demuestra que la presencia del cromosoma Y incrementa la posibilidad de que se encuentre un testículo como parte de las gónadas.

Tratamiento

El tratamiento no difiere de los protocolos anteriormente descritos para ADS en los cuales el manejo médico, quirúrgico y psicológico son un conjunto que deben ir de la mano en la toma de decisión para la asignación de género en base a la futura función sexual y reproductiva tomando en cuenta la etiología así como las anomalías anatómicas que se presentan.

Diagnóstico diferencial

La disgenesia gonadal pura (DGP) 46XY es el principal diagnóstico de exclusión en el estudio del paciente con ADS ovotesticular. En esta patología el hallazgo histopatológico presentan una gónada bien diferenciada en un lado y en el otro una gónada o testículo disgenético. El conocer el diagnóstico preciso es importante para la asignación oportuna del paciente así como la decisión de gonadectomía temprana.

En el estudio de Kim y cols. (20), en el cual se valoraron biopsias gonadales en 10 niños para su diferenciación. En ambas patologías se encontró el compartimiento testicular compuesto por túbulos seminíferos inmaduros alineados por células de Sertoli y células germinales primitivas. El compartimiento ovárico en ADS ovotesticular mostró abundantes folículos primordiales que contenían oocitos primarios con folículos antrales o primarios mientras que en los pacientes con DGP presentaron estrías gonadales con o sin células germinales en el pseudoestroma ovárico, semejando gonadoblastomas o tumor de células de Sertoli.

Ya que el procedimiento diagnóstico por medio de la clínica, estudios de laboratorio y gabinete representan dificultad en la diferenciación entre ambas entidades, es de primordial importancia el examen histológico del tejido ovárico, el cual deberá mostrar folículos primordiales o maduros conteniendo oocitos primarios para la realización del diagnóstico definitivo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

ADS ovotesticular es un condición rara pero presente como diagnóstico en el marco de alteración genital al nacimiento. Si bien es cierto que el diagnóstico se hace tras conocer la histología gonadal en las que se encuentra tejido ovárico y testicular ya sea en una misma gónada o en gónadas separadas asociado al cariotipo, es de utilidad la realización de estudios de laboratorio basales y pruebas de estimulación hormonal, aunados los estudios de imagen.

Han sido realizados estudios como Imagen de Resonancia Magnética (IRM) así como Ultrasonidos (US) pélvico y abdominal. Este último ha sido de mayor utilidad incluso con un reporte en la literatura de detección de gónadas asimétricas como orientación diagnóstica de ADS ovotesticular, lo que puede apoyar a dicho diagnóstico. Además es de primordial importancia en la detección de restos müllerianos.

Se ha propuesto la realización de Laparoscopia con la finalidad de realizar biopsias gonadales para demostrar los tejidos testicular y ovárico. Sin embargo, es necesaria una adecuada toma de muestra que permita examinar la gónada casi en su totalidad para lograr dicho diagnóstico ya que, en algunos casos puede subdiagnosticarse esta entidad.

Tras el inicio de la aplicación de la prueba de estimulación ovárica con hMG, asociada al resto del protocolo de los pacientes con ADS, se ha otorgado mayor orientación diagnóstica de ADS ovotesticular con lo cual, el abordaje quirúrgico se orienta a la búsqueda de aquellas gónadas que deben conservarse o bien retirarse del paciente, según la asignación de género, funcionalidad de las mismas y riesgo de malignización a largo plazo y la intervención quirúrgica se convierte en diagnóstica y terapéutica.

Dicha prueba es costosa y de larga duración requiriéndose en ocasiones de hasta 14 días para determinar la positividad o negatividad de la respuesta a hMG, requiriendo determinaciones diarias de estradiol sérico en el que el valor de corte es de 80pg/mL, además de que el estudio implica en ocasiones hasta 28 aplicaciones intramusculares del medicamento a cada paciente y un alto costo para los padres. Es por eso que al plantear un nivel de corte menor para la determinación de tejido ovárico funcional en base a los hallazgos de la prueba de estimulación con hMG así como histológicos, de los pacientes estudiados en la Clínica de Alteración en Diferenciación Sexual del Instituto Nacional de Pediatría, se disminuyen costos para los pacientes además para el laboratorio de análisis hormonales de la Institución, así como el tiempo de invasión al paciente (disminución de aplicaciones del medicamento) y estrés de los padres por conocer el abordaje diagnóstico y terapéutico a seguir con el paciente.

JUSTIFICACIÓN

- Las pruebas de estimulación hormonal constituyen una herramienta para la evaluación funcional del tejido gonadal de pacientes con sospecha diagnóstica de ADS como orientación diagnóstica y apoyo para el abordaje quirúrgico.
- No se cuenta con un punto de corte estandarizado de estradiol sérico para determinar la funcionalidad del tejido ovárico tras la administración de la hMG en caso de encontrarse presente en un individuo.
- Ya que se trata de una prueba costosa, es importante determinar la utilidad de la primera fase de la misma o proponer la disminución del tiempo de realización para disminuir los

costos de la prueba así como números de administraciones del medicamento al paciente y el estrés de los padres ante la prueba y la continuación del abordaje diagnóstico y terapéutico.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál será el punto de corte óptimo de estradiol sérico para determinar que la prueba de estimulación del tejido ovárico con hMG como positiva o negativa, comparada con el estándar de referencia (histológico) positivo en los pacientes con sospecha de ADS ovotesticular que fueron atendidos en Clínica de Alteración en Diferenciación Sexual del Instituto Nacional de Pediatría en el periodo comprendido entre los años 2000 a 2010?

OBJETIVO GENERAL

Determina el punto de corte óptimo de estradiol sérico para la presencia de tejido ovárico funcional en los pacientes pediátricos con diagnóstico histopatológico de ADS ovotesticular atendidos en la Clínica de Alteración en Diferenciación Sexual del Instituto Nacional de Pediatría en el periodo comprendido entre los años 2000 a 2010, comparado con el estándar de referencia de la patología, siendo éste el estudio histológico gonadal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS PRIMARIOS

1. Conocer las pruebas diagnósticas con hMG positivas para el punto de corte propuesto actualmente.
2. Comparar el resultado de las pruebas con el estándar de referencia histológico establecido.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS SECUNDARIOS

1. Obtener los valores predictivos positivo y negativo de la prueba para el punto de corte actual.
2. Construir curvas ROC para obtener el punto de corte óptimo propuesto para estradiol.
3. Con el nuevo punto de corte propuesto obtener los valores predictivos positivo y negativo para la prueba.

DISEÑO METODOLÓGICO

El estudio propuesto es, trasversal, retrolectivo, comparativo y analítico.

POBLACION OBJETIVO

Expedientes de pacientes pediátricos mexicanos de 0 a 18 años de edad, con diagnóstico de Alteración en la diferenciación sexual atendidos por Clínica de Alteración en Diferenciación de un hospital de tercer nivel de atención, en los cuales se sospecha el Diagnóstico de ADS ovotesticular y se ha realizado la prueba de estimulación con hMG así como el diagnóstico histopatológico tras la toma de biopsia o extirpación quirúrgica de las gónadas de dichos pacientes.

POBLACIÓN ESPECÍFICA

Expedientes de pacientes pediátricos mexicanos de 0 a 18 años de edad manejados en Clínica de Alteraciones en Diferenciación Sexual del Instituto Nacional de Pediatría, con sospecha diagnóstica ADS ovotesticular, en quienes se realizó la prueba de estimulación ovárica con hGM así como cariotipo, abordaje quirúrgico y estudio histopatológico gonadal en el periodo comprendido entre los años 2000 a 2010.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

Expedientes clínicos de pacientes que acudieron a Clínica de ADS con sospecha diagnóstica de ADS ovotesticular en el periodo de 2000 a 2010, a quienes se realizó la prueba de estimulación ovárica con hMG previo a la intervención quirúrgica para toma de biopsia o retiro gonadal y en los cuales se encuentren consignados los resultados de estradiol sérico y reporte histológico gonadal.

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES			
VARIABLE	DEFINICIÓN	TIPO DE VARIABLE	VALOR
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo. Medido en meses.	Cuantitativa discreta	Meses
Tiempo al diagnóstico de ADS	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un individuo hasta la realización del diagnóstico de base. Medido en meses.	Cuantitativa discreta	Meses
Edad de ingreso al INP	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo hasta su ingreso a la Institución tratante. Medido en meses.	Cuantitativa discreta	Meses
Consanguinidad de los padres	Habla acerca de la relación parental entre los padres del paciente.	Cualitativa nominal	Presente o ausente
Sexo de asignación inicial y final	Género con el que es catalogado el paciente a su nacimiento y posterior al diagnóstico y tratamiento integral de la patología de base.	Nominal	Femenino, Masculino, Indiferenciado
Cariotipo	Prueba que determina el Conjunto cromosómico total de un individuo. Por estudio citogenético.	Cualitativa nominal Politémica	46XX, 46XY, otros mosaicismos
Longitud del falo	Es la medida obtenida a partir de la base del falo hasta la punta del mismo.	Cuantitativa continua	Centímetros
Circunferencia del falo	Es la medida obtenida tras medir la circunferencia en el tercio medio del falo.	Cuantitativa continua	Centímetros
Índice de volumen de falo	Es una medida de asociación entre la circunferencia y longitud del falo.	Cuantitativa continua	Centímetros cúbicos
Región de meato urinario	Lugar donde se observa la apertura de la uretra en relación al falo.	Cualitativa nominal dicotómica	Terminal, mediopeneano, basal

Gónadas palpables	Presencia de gónadas valorables por exploración física, en relación a los genitales y canal inguinal.	Cualitativa nominal dicotómica	Presentes o ausentes
Prueba de estimulación testicular (hCG)	Prueba realizada tras la administración IM de hCG con la finalidad de estimular la producción tanto de testosterona como DHT por el tejido testicular funcional.	Cualitativa nominal	Respuesta positiva Respuesta negativa
Prueba de estimulación ovárica	Prueba realizada tras la administración IM de hMG con la finalidad de estimular la producción de estradiol por el tejido ovárico funcional.	Cuantitativa continua	pg/ml
Dosis de hMG	Cantidad de hMG administrada IM en un día.	Cuantitativa continua	UI/kg/día
Valor de Corte estradiol en prueba de estimulación con hGM	La medición de estradiol obtenida de una muestra del suero del paciente, que determina la respuesta o no a la prueba de estimulación con hGM.	Cuantitativa continua	80pg/mL
Hallazgos quirúrgicos gonadales	Descripción anatómica realizada por el cirujano posterior al procedimiento quirúrgico.	Cualitativa nominal dicotómica	Ovotestes, ovario, testículo
Hallazgos de órganos pélvicos	Descripción anatómica realizada por el cirujano posterior al procedimiento quirúrgico.	Cualitativa nominal dicotómica	Órganos Müllерianos o Wolffianos
Posición de las gónadas	Descripción anatómica realizada por el cirujano posterior al procedimiento quirúrgico.	Cualitativa nominal dicotómica	Intraabdominal, inguinal, escrotal
Hallazgos histológicos gonadales	Descripción histopatológica realizada por el patólogo acerca del tejido referido por el cirujano tras el evento quirúrgico.	Cualitativa nominal dicotómica	Ovotestes, ovario, testículo

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Se obtuvieron los registros y expedientes clínicos de 25 pacientes a través del Departamento de archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría, así como de la minuta de sesiones de Alteración en Diferenciación Sexual, llevada por el grupo conformado por los servicios de Endocrinología, Genética, Urología, Trabajo Social y Salud Mental, de aquellos pacientes con diagnóstico inicial de Alteración en Diferenciación Sexual que han requerido la realización de prueba de estimulación ovárica con Gonadotropina Menopáusica Humana (hMG).
2. De todos los expedientes de los pacientes se recolectaron los siguientes datos: Edad, Tiempo al diagnóstico de ADS, Edad de ingreso al INP, Consanguinidad de los padres, Sexo de asignación inicial y final, Cariotipo, Longitud del falo, Circunferencia del falo, Índice de volumen de falo, Región de apertura uretral, Gónadas palpables, Hallazgos quirúrgicos gonadales, Hallazgos de órganos pélvicos, Posición de las gónadas, Hallazgos histológicos gonadales, resultados de las pruebas de estimulación testicular y ovárica. Estos datos serán consignados en una hoja de recolección de datos (Anexo 1).

RECURSOS HUMANOS:

- Médico Endocrinólogo adscrito al Servicio de Endocrinología del INP: será el encargado de velar por el cumplimiento del protocolo.
- Médico residente de quinto año de Endocrinología Pediátrica del INP: será el encargado de revisar los expedientes de los pacientes que cumplan con todos los criterios y vaciar los resultados en la base de datos.
- Médico metodólogo: será el encargado de realizar el análisis estadístico así como interpretación de los datos obtenidos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis univariado por medio de pruebas de tendencia central para conocer las características de la muestra estudiada lográndose establecer el tipo de distribución de cada variable; tratándose de variables numéricas continuas, se realizó el cálculo de la media y desviación estándar o mediana con mínimos y máximos dependiendo del tipo de distribución (Edad al ingreso y al diagnóstico, Longitud del falo, Circunferencia del falo, Índice de volumen de falo); mientras que para las variables categóricas se obtuvieron proporciones (Región de apertura uretral o meato urinario, resultados de las pruebas de estimulación testicular y ovárica, Gónadas palpables, Cariotipo, Consanguinidad de los padres, Sexo de asignación inicial y final, Hallazgos de órganos pélvicos, Posición de las gónadas, Hallazgos histológicos gonadales).

Para evaluar la utilidad de concentración de estradiol se obtuvo la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y precisión para varios puntos de corte propuestos mediante la elaboración de curva ROC.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Según la Declaración de Helsinki Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, Junio 1964, y enmendada por la 29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, Octubre 1975, 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, Octubre 1983, 41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, Septiembre 1989, 48ª Asamblea General, Somerset West, Sudáfrica, Octubre 1996 y la 52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, Octubre 2000. Nota de clarificación sobre el párrafo 29 añadida por la Asamblea General, Washington 2002, en concordancia con las buenas prácticas clínicas, este tipo de estudio retrospectivo:

1. No hay inconveniencias ni riesgos previsible en relación al beneficio previsto para este estudio.
2. Según el protocolo previamente aprobado por el Comité de Investigación para la recolección y procesamiento de datos se seguirán los pasos expuestos en el.
3. Se extraerán los datos del expediente clínico pertinentes para este estudio (hoja de recolección de datos), los cuales solo serán empleados con fines de investigación.
4. Se protegerá la integridad de los datos, resguardando la intimidad de los individuos, la confidencialidad de la información del paciente y disminuyendo al mínimo cualquier consecuencia sobre su integridad física, mental y de su personalidad.

FINANCIAMIENTO

El presente estudio no requirió financiamiento externo a este Instituto ya que la revisión de expedientes y análisis estadístico no genera costos y los investigadores declaran que no existen conflictos de intereses.

RESULTADOS

Se obtuvieron 25 pacientes con expediente completo para fines del estudio. Dentro de los antecedentes se encontró 28% con endogamia. Fueron negados en la totalidad de los pacientes tanto consanguinidad como la ingesta de medicamentos durante el embarazo. En el 100% de los pacientes se identificó la patología a nivel genital al momento del nacimiento siendo de 4 meses la media de edad al ingreso al INP para su estudio, con un intervalo de menos de un mes hasta 96 meses. El género al momento del inicio del estudio se registró como indefinido en un 56% de los pacientes, al final de su estudio, se asignó con género masculino al 60% de los pacientes y femenino al 40%.

GENERO	AL INICIO DE ESTUDIO FRECUENCIA	AL INICIO DE ESTUDIO PORCENTAJE	ASIGNACION DEFINITIVA FRECUENCIA	ASIGNACION DEFINITIVA PORCENTAJE
MASCULINO	7	28%	15	60%
FEMENINO	4	16%	10	40%
INDEFINIDO	14	56%	0	0
TOTAL	25	100%	25	100%

El examen físico genital al ingreso a la Institución fue el siguiente: la longitud del falo tuvo una mediana de 3cm mientras que la circunferencia fue de 3.5cm con una desviación estándar de 1.4 y 1.43cm respectivamente. El índice de volumen calculado del pene tuvo una mediana de 2.68cm³. El meato urinario se encontró en un 92% en posición basal al falo o perineal mientras que las gónadas se encontraron, tanto en canal inguinal como a nivel escrotal, de forma bilateral en el 44% de los pacientes, derecha e izquierda en 12% de los pacientes cada uno y no fueron palpables al momento de la exploración en un 32%.

MEATO URINARIO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
TERMINAL	1	4%
MEDIOPENEANO	1	4%
BASAL	23	92%
TOTAL	25	100%

GONADAS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
BILATERAL	11	44%
DERECHA	3	12%
IZQUIERDA	3	12%
NO PALPABLES	8	32%
TOTAL	25	100%

El cariotipo 46XX se encontró en 11 pacientes mientras que 46XY estuvo en 11 pacientes (44% cada uno) mientras que los mosaicismos se encontraron en un 12% siendo estos 46XY/46XX/45X, 47XXY/46XX Y 46XX/46XY. A todos los pacientes se les realizó prueba de reserva testicular para documentar la presencia de tejido testicular funcional. En el 88% de ellos se encontró respuesta positiva para la producción de testosterona y en 80% se obtuvo respuesta positiva para la conversión de testosterona a Dehidrotestosterona, lo que habla indirectamente de la presencia de la enzima 5 α -reductasa, necesaria para llevarse a cabo dicha conversión. En 2 pacientes no se realizó DHT desconociéndose la razón.

CARIOTIPO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
46XX	11	44%
46XY	11	44%
MOSAICISMOS	3	12%
TOTAL	25	100%

PRUEBA DE RESERVA TESTICULAR	NO. DE PACIENTES CON PRT	PORCENTAJE RESPUESTA POSITIVA	PORCENTAJE RESPUESTA NEGATIVA
PRODUCE TESTOSTERONA	25	88%	12%
CONVIERTE A DEHIDROTESTOSTERONA	23	80%	12%

Los hallazgos quirúrgicos determinados por la observación y descripción realizados por el equipo quirúrgico durante laparoscopia fueron los siguientes: se encontraron únicamente estructuras müllerianas en el 12% de los pacientes así como solamente wolfianas en el 48% de ellos. En 10 de los 25 pacientes se reportaron estructuras tanto müllerianas como wolfianas, siendo esto el 40% de la totalidad de los pacientes, dichos pacientes cuentan con diagnósticos de ADS ovotesticular y Disgenesia Gonadal. Se observaron gónadas con características de ovotestes en 10% de los pacientes, ovario en 20% y testículo en el 70% de ellos.

HALLAZGOS QUIRÚRGICOS	PRESENTES	PORCENTAJE DEL TOTAL DE 25 PACIENTES
SOLO MÜLLERIANOS	3	12%
SOLO WOLFIANOS	12	48%
AMBOS	10	40%
TOTAL	25	100%

HALLAZGOS QUIRURGICOS	GÓNADAS	PORCENTAJE
OVOTESTES	5	10%
TESTICULO	35	70%
OVARIO	10	20%
TOTAL	50	100%

El hallazgo histológico más frecuente fue la presencia de tejido testicular normal derecho en 48% e izquierdo en 52%, mientras que el tejido testicular anormal se encontró en 9 gónadas siendo el principal hallazgo tejido hipotrófico y atrófico. El tejido ovárico normal se encontró en 9 gónadas y el ovotestes en 7.

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	DERECHO GONADAS	PORCENTAJE	IZQUIERDO GONADAS	PORCENTAJE
TESTÍCULO NORMAL	12	48%	13	52%
TESTÍCULO ANORMAL	4	16%	5	20%
OVARIO NORMAL	6	24%	3	12%
OVOTESTES	3	12%	4	16%
TOTAL	25	100%	25	100%

De los 25 pacientes estudiados, el 28% de ellos (7pacientes) fueron diagnosticados como ADS ovotesticular por el estándar de oro histológico. De estos, el 28.6% cuentan con el antecedente de endogamia de los padres y se tuvo una mediana de edad al ingreso al Instituto fue de 12 meses mientras que el género al inicio del estudio de ADS fue indefinido en 42.9% y el género de asignación al final del estudio de ADS fue femenino en 42.9% (3 pacientes) y masculino en 57.1% (4 pacientes). Al examen físico se encontró una mediana de índice de volumen de pene de 6.73cm³ mientras que el meato urinario se encontró a nivel basal en el 100% de los pacientes y se encontraron gónadas palpables en el 71.4% de los pacientes, en el 80% de ellos de forma unilateral y en el 20% bilateral.

El cariotipo 46XX se encontró en el 71.4% de los pacientes mientras que el resto fueron los mosaicismos 46XY/46XX/45X y 47XXY/46XX. La prueba de reserva testicular se encontró positiva tanto para la producción de testosterona como de Dehidrotestosterona en el 100% de los pacientes.

Quirúrgicamente se encontraron estructuras müllerianas y wolffianas en la totalidad de los casos. Los hallazgos histológicos fueron los siguientes: gónada derecha ovotestes en el 42.9% (3 pacientes), 14.3% testículo normal (1 paciente) y 42.9% ovario (3 pacientes), gónada izquierda 57.1% ovotestes (4 pacientes) y 42.9% (3 pacientes) testículo de características normales.

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
ENDOAMIA	2	25%
MEATO URINARIO BASAL	7	88%
GONADAS PALPABLES	5	71.4%
PRT	7	100%

CARIOTIPO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
46XX	5	71.4%
MOSAICISMOS	3	28.6%
TOTAL	8	100%

HISTOLOGIA	OVOTESTES	TESTICULO	OVARIO
DERECHO	3/42.9%	1/14.3%	3/42.9%
IZQUIERDO	4/57.1%	3/42.9%	0

PRUEBA DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA CON HORMONA GONADOTROPINA MENOPÁUSICA HUMANA

La prueba se realizó en dos fases utilizándose un valor de corte de estradiol de 80pg/mL: la fase 1 consistió en administración de hMG 2mg/kg/dosis durante 7 días en 13 pacientes mientras que 12 pacientes recibieron 4mg/kg/dosis. En esta primera fase 3 de los pacientes que recibieron la dosis de 4mg/kg/dosis resultaron positivos a la prueba sin lograr positividad en aquellos que recibieron la dosis de 2mg/kg/dosis. La fase 2 se realizó en 10 de los 13 pacientes que resultaron negativos en la fase 1 a una dosis de 2mg/kg/dosis, a estos pacientes se les administraron 4mg/kg/dosis de hMG y solamente 3 de ellos obtuvieron respuesta positiva para el valor de corte establecido.

DOSIS	FASE 1		FASE 2	
	POSITIVOS	NEGATIVOS	POSITIVOS	NEGATIVOS
2mg/kg/dosis	0	13	0	0
4mg/kg/dosis	3	9	3	7
SUBTOTAL	3	22	3	7
TOTAL		25		10

Los 25 pacientes a los que se realizó la prueba de estimulación ovárica tuvieron los siguientes diagnósticos finales por el estándar de referencia histológico: Alteración en la diferenciación sexual ovotesticular (7 pacientes), Disgenesia gonadal en sus diferentes modalidades (3 pacientes), Varón XX (4 pacientes), hipospadias idiopática (5 pacientes) y otros diagnósticos (6 pacientes) entre ellos 2 pacientes femeninos con diferentes grados de virilización por patología materna, 3 pacientes masculinos con patologías a nivel de receptor de andrógenos y un paciente sin diagnóstico definitivo. De los 6 pacientes que fueron positivos a la prueba, 3 tuvieron el diagnóstico de ADS ovotesticular y 2 otros diagnósticos siendo pacientes femeninos con diferentes grados de virilización como se comentó previamente y un paciente sin diagnóstico definitivo. En este último paciente se encontró por biopsia gonadal tejido ovárico únicamente aunque a nivel bioquímico se obtiene producción de ambos esteroides sexuales y

mosaico en cariotipo (46XX/46XY), por lo cual no se concluye diagnóstico de ADS ovotesticular y se continúa estudio para descartar o confirmar el mismo.

DIAGNOSTICO FINAL		PRUEBA hMG	
		NEGATIVO	POSITIVO
ADS ovotesticular	RECuento	4	3
	% DEL DX FINAL	57.1%	42.9%
	% DEL TOTAL	16%	12%
Disgenesia gonadal	RECuento	3	NA*
	% DEL DX FINAL	100%	
	% DEL TOTAL	12%	
Varón XX	RECuento	4	NA*
	% DEL DX FINAL	100%	
	% DEL TOTAL	16%	
Hipospadias idiopática	RECuento	5	NA*
	% DEL DX FINAL	100%	
	% DEL TOTAL	20%	
Otros	RECuento	3	3
	% DEL DX FINAL	50%	50%
	% DEL TOTAL	12%	12%
Total	RECuento	19	6
	%	76%	24%

*Nota: en aquellos pacientes en lo que no se encontró positividad a la prueba no aplica (NA) la frecuencia y porcentaje de positivos a la misma.

De los pacientes que resultaron positivos a la prueba, 3 de ellos fueron positivos en la primer fase de la misma con una administración de 4mg/kg/dosis de hMG mientras que el resto (3 pacientes) positizaron hasta la segunda fase a la misma dosis, no encontrándose respuesta a la dosis de 2mg/kg/dosis.

Diagnóstico	Dosis mg/kg/dosis	Primer fase	Segunda fase
ADS ovotesticular	2	0	0
	4	1	2
Otros	2	0	0
	4	2	1
Total		3	3

Analizando con 50pg/mL como punto de corte de estradiol sérico, el cual fue obtenido mediante curvas ROC, se registraron los siguientes resultados: en la fase 1 con la administración de hMG a dosis de 2mg/kg/dosis un paciente resultó positivo y 12 negativos mientras que a dosis de 4mg/kg/dosis 3 pacientes fueron positivos y 9 negativos. La fase 2 se realizó en 10 de los 12 pacientes que resultaron negativos en la fase 1 a una dosis de 2mg/kg/dosis a todos se les administraron 4mg/kg/dosis de hMG y 4 de ellos obtuvieron respuesta positiva para el valor de corte establecido.

DOSIS	FASE 1		FASE 2	
	POSITIVOS	NEGATIVOS	POSITIVOS	NEGATIVOS
2mg/kg/dosis	1	12	0	0
4mg/kg/dosis	3	9	4	6
SUBTOTAL	4	21	4	6
TOTAL		25		10

De los 8 pacientes que resultaron positivos a la prueba, 4 tuvieron el diagnóstico de ADS ovotesticular, uno de ellos probable Disgenesia gonadal no determinada, 2 pacientes fueron pacientes femeninos con virilización por agentes externos como se ha comentado y un paciente sin diagnóstico definitivo por la razón comentada anteriormente.

DIAGNOSTICO FINAL		PRUEBA hMG	
		NEGATIVO	POSITIVO
ADS ovotesticular	RECuento	3	4
	% DEL DX FINAL	42.9%	57.1%
	% DEL TOTAL	12%	16%
Disgenesia gonadal	RECuento	2	1
	% DEL DX FINAL	67%	33%
	% DEL TOTAL	8%	4%
Varón XX	RECuento	4	NA*
	% DEL DX FINAL	100%	
	% DEL TOTAL	16%	
Hipospadias idiopática	RECuento	5	NA*
	% DEL DX FINAL	100%	
	% DEL TOTAL	20%	
Otros	RECuento	3	3
	% DEL DX FINAL	50%	50%
	% DEL TOTAL	12%	12%
Total	RECuento	17	8
	%	68%	32%

*Nota: en aquellos pacientes en lo que no se encontró positividad a la prueba no aplica (NA) la frecuencia y porcentaje de positivos a la misma.

De los pacientes positivos a la prueba, 4 resultaron positivos en la primer fase, 3 con una administración de 4mg/kg/dosis de hMG y 1 con 2mg/kg/dosis, mientras los 4 pacientes restantes resultaron positivos durante la segunda fase a 4mg/kg/dosis.

Diagnóstico	Dosis mg/kg/dosis	Primer fase	Segunda fase
ADS ovotesticular	2	0	0
	4	1	3
Disgenesia gonadal	2	1	0
	4	0	0
Otros	2	0	0
	4	2	1
Total		4	4

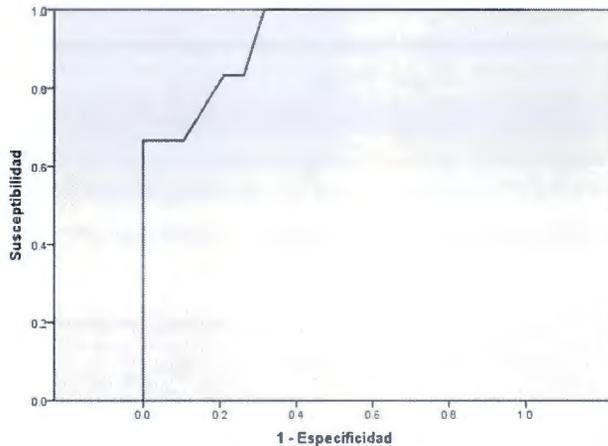
La probabilidad de detectar a un paciente correctamente con el punto de corte de estradiol de 80pg/mL es de 4.75 con un intervalo de confianza al 95% (1.99-11.35). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de sujetos con las dos pruebas positivas (hMG e histología) y los grupos que dieron negativo para las dos pruebas con una χ^2 de 11.84 con una $P < 0.0005$.

	TEJIDO OVÁRICO PRESENTES	TEJIDO OVÁRICO AUSENTE	Total
hMG positiva	6	0	6
hMG negativa	4	15	19
Total	10	15	25

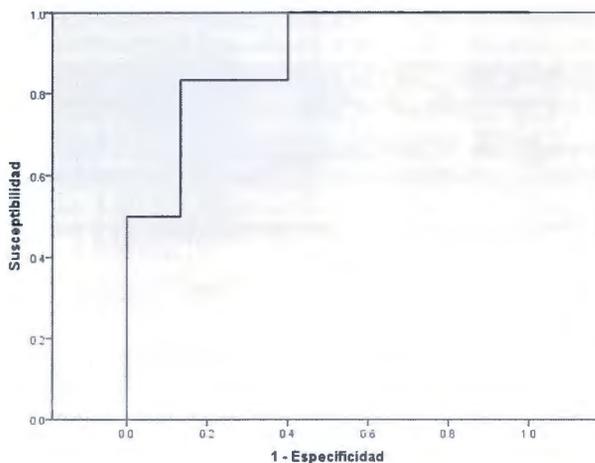
La probabilidad de detectar a un paciente correctamente con el punto de corte de estradiol de 50pg/mL es de 5.67 con un intervalo de confianza al 95% (2.03-15.82). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de sujetos con las dos pruebas positivas (hMG e histología) y los grupos que dieron negativo para las dos pruebas con una χ^2 de 14.97 con una $P < 0.0001$.

	TEJIDO OVÁRICO PRESENTES	TEJIDO OVÁRICO AUSENTE	Total
hMG positiva	8	0	8
hMG negativa	3	14	17
Total	11	15	25

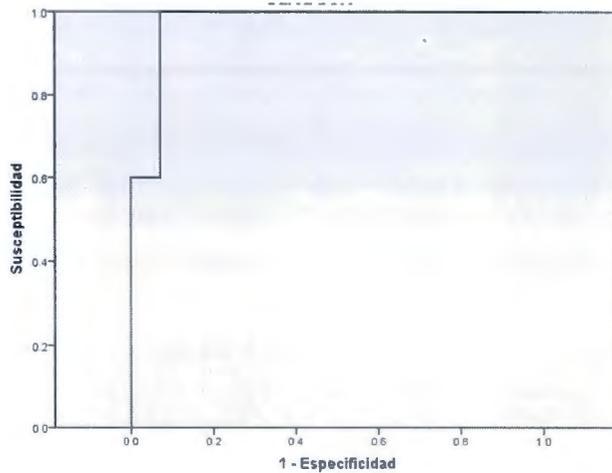
Para el punto de corte de 80pg/mL se realizaron curvas ROC con los siguientes resultados: con la administración de 4mg/kg/dosis de hMG en la primera fase, en el segundo día de valoración de estradiol, se determinó que el 92% de las veces se encontrará la prueba positiva en pacientes con tejido ovárico funcional comenzando con un punto de inflexión de 0.7.



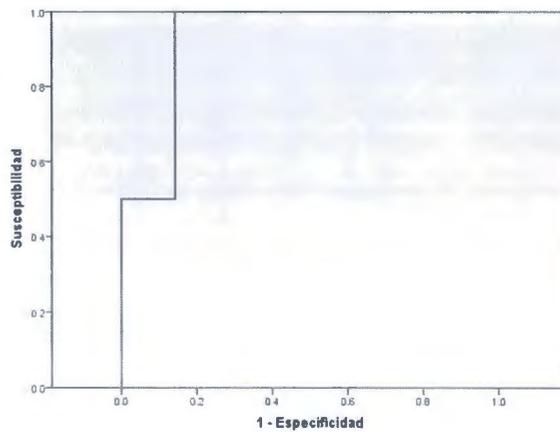
De la misma forma, en la primera fase y con dosis de hMG de 4mg/kg/dosis en el día 5 de valoración de estradiol, se determinó que el 89% de las veces se encontrará la prueba positiva en pacientes con tejido ovárico funcional, con un primer punto de inflexión de 0.5 llegando hasta 0.9.



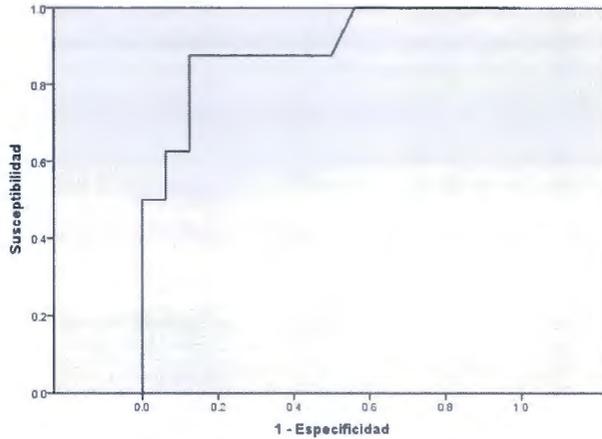
En la segunda fase de la prueba con administración de hMG de 4mg/kg/dosis, en el séptimo día de la prueba, el 97% de las veces se encontrará la prueba positiva en pacientes con tejido ovárico funcional, con un punto de inflexión de 0.6.



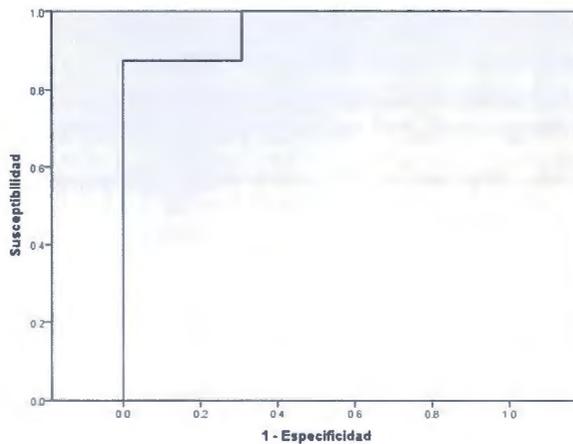
En la misma fase y con misma dosis de hMG, en el día 11 de prueba, el 93% de las veces se encontrará la prueba positiva en pacientes con tejido ovárico funcional, con un punto de inflexión de 0.5.



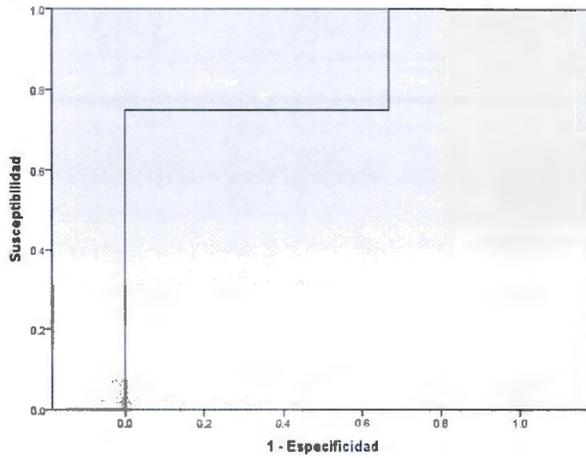
Para el punto de corte de 50pg/mL se realizaron las siguientes curvas ROC: con la administración de 4mg/kg/dosis de hMG en la primera fase, en el cuarto día de valoración de estradiol, se determinó que el 90% de las veces se encontrará la prueba positiva en pacientes con tejido ovárico funcional, con un punto de inflexión inicial de 0.5 basal el cual se incrementa hasta en 0.9 en las subsecuentes determinaciones.



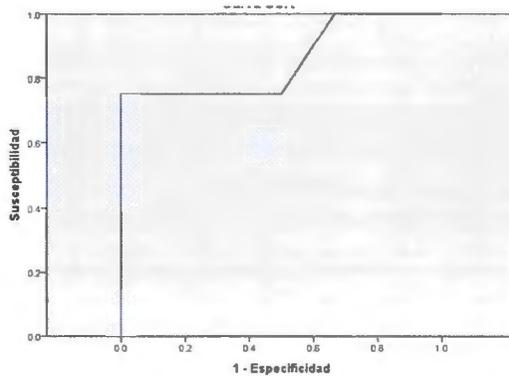
De la misma forma, en la primera fase y con dosis de hMG de 4mg/kg/dosis en el día 5 de valoración de estradiol, se determinó que el 96% de las veces se encontrará la prueba positiva en pacientes con tejido ovárico funcional, con un punto de inflexión de 0.9.



En la segunda fase de la prueba con administración de hMG de 4mg/kg/dosis, en el octavo día de la prueba, el 83% de las veces se encontrará la prueba positiva en pacientes con tejido ovárico funcional, con un punto de inflexión de 0.7.



En la misma fase y con misma dosis de hMG, en el día 9 de prueba, el 85% de las veces se encontrará la prueba positiva en pacientes con tejido ovárico funcional, con un punto de inflexión de 0.8.



DISCUSIÓN

La prueba de estimulación con hMG realizada para determinar la presencia de tejido ovárico funcional, se realiza como parte del abordaje diagnóstico para aquellos pacientes con alteración en diferenciación sexual, con sospecha diagnóstica de ADS ovotesticular y ha sido utilizada por autores como Shannon French y Luisa Rodríguez con la finalidad de determinar la presencia de tejido ovárico funcional (21). El estándar de referencia para el diagnóstico definitivo de dicha patología es considerado el estudio histopatológico, ya sea de biopsias gonadales o el estudio histológico de la gónada que ha sido removida. En un estudio realizado por K.-R. Kim *et al*, se revisó la histología de las gónadas extirpadas así como de biopsias gonadales en pacientes con sospecha de ADS ovotesticular vs Disgenesia Gonadal encontrándose la presencia de ovotestes y testículo u ovario en los primeros, y gónadas disgenéticas en el segundo, resaltando la importancia del estudio histopatológico inclusive para la asignación del paciente según el pronóstico puberal y reproductivo así como del riesgo de desarrollo de gonadoblastomas (20). Autores como Willem A. van Niekerk, C. G. Hadjiathanasiou, Nursen Yordam y Ayfer Alikasifoglu han estudiado las gónadas de pacientes con diagnóstico probable de ADS ovotesticular siendo el método histológico, aquel que otorga el diagnóstico definitivo de la patología (9, 19, 22).

La estimulación con hMG fue publicada en 1998 cuando Mendez *et al* estudiaron 11 pacientes con sospecha diagnóstica de ADS ovotesticular con la administración de la hormona a una dosis de 2mg/kg/dosis durante 7 días y en caso de no obtenerse positividad, la prueba se extendió hasta 14 días con una segunda fase en la que se duplicó la dosis de hMG administrada (4mg/kg/dosis) durante 7 días más, tomándose como punto de corte para determinar una prueba como positiva estradiol sérico de 80pg/mL, dicho punto de corte fue aplicado de forma arbitraria. En esta prueba los pacientes sin tejido ovárico determinado por histología, tuvieron un valor máximo de estradiol de 43pg/mL y todos los pacientes en quienes se demostró la presencia de tejido ovárico por histología, tuvieron una prueba positiva para el valor de corte establecido (10).

En nuestro estudio se obtuvieron 25 expedientes de pacientes con sospecha diagnóstica de ADS ovotesticular. Con el punto de corte antes propuesto de 80pg/mL 6 pacientes resultaron positivos a la prueba de estimulación con hMG, de los cuales comparados con el estándar de referencia histológico, 3 tuvieron el diagnóstico de ADS ovotesticular y 2 pacientes diagnósticos en relación a pacientes femeninos con virilización por otras causas (virilización por luteoma materno y por deficiencia de Aromatasa placentaria), mientras que en 4 pacientes con ADS ovotesticular no se obtuvo positividad a la prueba de hMG.

En este estudio se propuso el punto de corte de estradiol de 50pg/mL obteniéndose positividad a la prueba en 8 pacientes de los cuales, al compararse con el estándar de referencia, 4 tuvieron diagnóstico de ADS ovotesticular, 2 pacientes femeninos con virilización por otras causas y 1 paciente con probable disgenesia gonadal no determinada.

En aquellos pacientes negativos a la prueba y que no fue encontrado tejido ovárico por histología, el valor máximo de estradiol encontrado fue de 20pg/mL a diferencia de lo reportado por Mendez *et al* que fue de 43pg/mL, mientras que todos los pacientes con estructuras müllerianas y cariotipo 46XX con histología positiva para ovario y virilización de genitales por otras causas, fueron positivas a la prueba. Cabe aclarar que los pacientes con diagnóstico histológico de ADS ovotesticular en los que no se obtuvo positividad a la prueba (3 pacientes) no la concluyeron por dificultades económicas de la familia realizándose únicamente 4 días de prueba a una dosis de 4mg/kg/dosis (basal y 3 días de estimulación).

Un paciente con diagnóstico probable de Disgenesia Gonadal que respondió a la prueba se encuentra aún en estudio.

De todos los expedientes revisados de los pacientes positivos a la prueba, el 87.5% (7 pacientes) llegaron y sobrepasaron el punto de corte de estradiol cuando fueron estimulados con hMG a una dosis de 4mg/kg/dosis entre los días 5 a 7 de administración de dicha dosis, solo un paciente (12.5%) respondió a la dosis de 2mg/kg/dosis, lo que hace evidente que la primer fase con hMG a dosis de 2mg/kg/dosis debiera ser omitida de la prueba de estimulación ovárica.

Es importante mencionar que un paciente de los 25 expedientes estudiados por sospecha de ADS ovotesticular se encuentra aún en estudio, ya que presenta cariotipo 46XX/46XY con positividad a las pruebas de estimulación tanto testicular como ovárica, por laparoscopia y estudios de imagen fue evidente la demostración de estructuras müllerianas y la biopsia de ambas gonadas solo reportó tejido ovárico sin lograr determinarse tejido testicular, por lo cual al no tener el reporte histológico de tejido testicular, aun no se puede concluir diagnóstico de ADS ovotesticular, aunque bioquímicamente exista la producción de ambos esteroides sexuales.

En conclusión, proponemos que el punto de corte de estradiol debe disminuirse a 50pg/dL para considerar la prueba de estimulación ovárica como positiva, ya que este incrementa tanto la sensibilidad como la especificidad para determinar tejido ovárico funcional demostrable por histología; además, la primera fase de la prueba a 2mg/kg/dosis de hMG debe ser retirada ya que no se encontró respuesta para la misma. Con lo anterior se llevará a una disminución en los días de realización de la prueba así como de la dosis de hMG administrada y el número de determinaciones de estradiol necesarias por paciente con lo que se reducirán los costos tanto para los pacientes como para el laboratorio del hospital donde se lleve a cabo la prueba.

Es necesario realizar un estudio prospectivo con la dosis de hMG de 4mg/kg/dosis únicamente y el punto de corte de estradiol propuesto de 50pg/mL, con la finalidad de evitar sesgos por la técnica de realización de dicha prueba y lograr su estandarización.

BIBLIOGRAFIA

1. Hughes IA. Disorders of sex development: a new definition and classification. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008; 22:119–134.
2. Hughes IA, Nihoul-Fékété C, Thomas B, Cohen-Kettenis PT. Consequences of the ESPE/LWPES guidelines for diagnosis and treatment of disorders of sex development. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007;21:351-365.
3. Houk CP, Hughes IA, Ahmed SF et al. Summary of consensus statement on intersex disorders and their management. International Intersex Consensus Conference. *Pediatrics* 2006; 118: 753–757.
4. Esmer-Sánchez M, Del Castillo RV, Calzada-León R. Clasificación y abordaje de la ambigüedad de genitales. *Acta Pediátrica de México* 2000; 21:76-81
5. Thyen U, Lanz K, Holterhus PM et al. Epidemiology and initial management of Ambiguous genitalia at birth in Germany. *Hormone Research* 2006; 66: 195–203.
6. Nihoul-Fé'ke'te' C, Thibaud E, Lortat-Jacob S et al. Long-term surgical results and patient satisfaction with male pseudohermaphroditism or true hermaphroditism: a cohort of 63 patients. *The Journal of Urology* 2006; 175: 1878–1884.
7. Hughes IA, Houk C, Ahmed SF et al. Consensus statement on management of intersex disorders. *Archives of Disease in Childhood* 2006; 91: 554–563.
8. Gatewood JD, Wills A, Shetty S et al. Sex chromosome complement and gonadal sex influence aggressive and parental behaviors in mice. *The Journal of Neuroscience* 2006; 26: 2335–2342.
9. Yordam N, Alikasifoglu A, Kandemir N, Caglar M, Balci S. True hermaphroditism: Clinical features, genetic variants and gonadal histology. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001;14:421-7.
10. Mendez JP, Schiavon R, Díaz-Cueto L, Ruiz A, Canto P, Söderlund D, et al. A reliable endocrine test with human menopausal gonadotropins for diagnosis of true hermaphroditism in early infancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3523-6.
11. Lucio-Ortiz CV, Abrego-Moya V. Hermafroditismo verdadero, características clínicas, genotipo e histología gonadal. *Medicina Universitaria* 2003;5:176-9.
12. Gallegos A, Guizar E, Arrendares S, Cortés-Gallegos C, Cervantes N, Bedolla N, et al. Familial true hermaphroditism in three siblings: Plasma hormonal profile and in Vitro steroid biosynthesis in gonadal structures. *J Clin Endocrinol Metab* 1976;42:653-60.
13. Sarafoglou K, Oster H. Familial sex reversal: A review. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:483-93.
14. Lukx FI, Hansbrough F, Klotz DH, Kottmeier PK, Tolete-Velcek F. Early assignment in true hermaphroditism. *J Pediatr Surg* 1988;12:1122-1126.
15. Ortenberg J, Oddoux G. SRY gene expression in the ovotestes of XX true hermaphrodite. *J Urol* 2002;167:1828-31.
16. Haller JO, Kasner EG, Staino S, Schneider M. Ultrasonic diagnosis of gynecologic disorders in children. *Pediatrics* 1978; 62:339–342.
17. Eberenz W, Rosenberg HK, Moshang T, Chatten J, Keating MA. True hermaphroditism: sonographic demonstration of ovotestis. *Radiology* 1991; 179: 429–431.
18. Ogilvy-Stuart AL, brain CE. Early assessment of ambiguous genitalia. *Arch Dis Child* 2004;89:401-7.
19. Van Nierck W, Retief F. The gonads of human true hermaphrodites. *Hum Genet* 1981;58:117-22.
20. Kim KR, Kwon Y, Joung JY, Kim KS, Ayala AG, Ro JY. True hermaphroditism and mixed gonadal dysgenesis: a clinicopathologic study of 10 cases. *Mod Pathol* 2002;15:1013-19.

21. French S, Rodriguez L, Schlesinger A, McCullough L, Dietrich J, Hicks J, Karaviti L. Case Report FSH Injections and Ultrasonography Determine Presence of Ovarian Components in the Evaluation of Ovotesticular Disorders of Sex Development. *International Journal of Pediatric Endocrinology* 2009:1-6.
22. Hadjiathanasiou et al. True hermaphroditism: Genetic variants and clinical management. *The Journal of Pediatrics* 1994; 125:738-744.


**SERVICIO DE ENDOCRINOLOGÍA
 CLÍNICA DE ALTERACIÓN EN DIFERENCIACIÓN SEXUAL**
HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NOMBRE: _____ REGISTRO: _____

FECHA DE NACIMIENTO: _____

EDAD AL DIAGNÓSTICO: _____ EDAD AL INGRESO A INP: _____

SEXO DE ASIGNACIÓN: INICIAL _____ FINAL: _____

ANTECEDENTE CONSANGUINIDAD PADRES: SI _____ NO _____

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS INICIALES

Longitud del falo: _____ cm Circunferencia del falo: _____ cm IVP: _____ pZ: _____

Meato urinario: Terminal: _____ Mediopeneano: _____ Basal: _____

Gónadas Palpables: No: _____ Si: _____

ESTUDIOS DE LABORATORIO

Cariotipo: 46,XX _____ 46,XY _____ Mosaicismos: _____

Prueba de estimulación con hCG:

Testosterona Respuesta Si _____ No _____

DHT Respuesta Si _____ No _____

Prueba de estimulación con hMG:

Estradiol basal: _____

 Días: 1 _____ 2 _____ 3 _____ 4 _____ 5 _____ 6 _____ 7 _____
 8 _____ 9 _____ 10 _____ 11 _____ 12 _____ 13 _____ 14 _____

Dosis administrada: Diaria por kg: _____

HALLAZGOS QUIRURGICOS

Apariencia gonadal: Ovotestes _____ Ovario _____ Testículo _____

Órganos Mülllerianos: Si _____ No _____ Órganos Wolffianos: Si _____ No _____

Situación de gónadas:

Ovotestes: derecho _____ izquierdo _____ ausente _____

Ovario: derecho _____ izquierdo _____ ausente _____

Testículo: derecho _____ izquierdo _____ ausente _____

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

Gónada derecha: Ovotestes _____ Ovario _____ Testículo _____

Gónada izquierda: Ovotestes _____ Ovario _____ Testículo _____