Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo Vol 43 • No. 1
Copyright © 2006 por la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo

TRABAJO ORIGINAL

Relación lípidos y resistencia insulínica en un modelo experimental de dislipemia inducido por dieta rica en sacarosa.

Premio al mejor Trabajo Básico del XIV Congreso SAEM 2005.

Relationship between lipid and insulin resistance in an experimental model of dyslipidemia.

D'Alessandro, M.E.[1]; Chicco, A.[1]; Basabe, J.C.[2]; Lombardo, Y.B.[1]

[1] Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas. U.N. Litoral. Santa Fe
[2] CEDIE, Hospital Ricardo Gutiérrez. Buenos Aires. Argentina.

Resumen

Dislipidemia (aumento de triglicéridos y ácidos grasos libres plasmáticos), moderada hiperglucemia y resistencia insulínica pueden ser inducidas en ratas normales por administración crónica de una dieta rica en sacarosa. El objetivo del presente trabajo fue analizar algunas vías metabólicas que relacionen dislipidemia, incremento de lípidos en músculo esquelético, resistencia insulínica y la secreción de insulina en islotes perifundidos. Los hallazgos obtenidos señalan: a) Alterado patrón de secreción de insulina frente al estímulo de la glucosa (islotes pancreáticos perifundidos) y reducida sensibilidad insulínica periférica total (VIG, $p<0.05$). b) Un incremento significativo ($p<0.05$) en el contenido de triglicéridos y acil-CoA de cadena larga en el músculo gastronemio se acompaña de una alteración en las vías oxidativa y no oxidativa de la glucosa en condiciones basal y bajo el estímulo de la insulina. Una alteración de estas vías por competición de sustratos como combustible energético (ciclo de Randle) disminuye la utilización de la glucosa. c) Un significativo aumento ($p<0.05$) del contenido de acil-CoA y diacilglicerol inducen un incremento y translocación a la membrana de la masa proteica de la isoenzima nPKCθ pudiendo esto último interferir con las señales de la insulina.
(Rev Argent Endocrinol Metab 43:3-15, 2006)

Abstract

Lipids and insulin resistance in an experimental model of dyslipidemia.

Rats fed chronically a sucrose-rich diet develop hypertriglyceridemia, moderate hyperglycemia, insulin resis-

Dirección Postal: Dra. Yolanda B. Lombardo, Dpto. Cs. Biológicas. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas. U.N. Litoral. Ciudad Universitaria. Paraje "El Pozo" CC 242 (3000) Santa Fe. Tel. 0342 4575211, Fax 0342 4575221
e-mail: ylombard@fbcb.unl.edu.ar
Palabras clave: Dislipemia, resistencia insulínica, músculo esquelético, dieta rica en sacarosa.
Key words: Dyslipemia, Insulin resistance, Skeletal muscle, Sucrose-rich diet.
Recibido: octubre 2005 **Aprobado:** diciembre 2005

tance and adiposity. The goal of this work was to study in this animal model some metabolic pathways that might account for the lipid accumulation in the skeletal muscle and it relationship with dyslipidemia, altered insulin secretion from perifused islets and whole body insulin resistance. For this purpose male Wistar rats initially weighting 180-190 g were fed during 30 weeks with a purified sucrose-rich diet (SRD) containing by weight (g/100g): 63 sucrose, 17 casein free vitamins, 5 corn oil, 10 cellulose, 3.5 salt mixture (AIN-93MX), 1 vitamin mixture (AIN-93-VX), 0.2 choline and 0.3 DL-methionine. The control group received the same purified diet, but sucrose replaced by corn-starch [high starch diet (CD)]. The rats had free access to food and water and consumed their respective diets for up to 30 weeks. Both diets were isoenergetic and provided approximately 15.28 kJ/g of food. Rats were fed "ad- libitum" during the complete experimental period. The following results were obtained: A) The biphasic patterns of glucose-stimulated insulin secretion from perifused islets showed an absence of the first peak with an increase of the second phase of hormone secretion. Moreover, compared to rats fed a control diet (CD) a significant reduction of the glucose infusion rate (GIR) was observed. Values were as follows: GIR (mg/kg.min.), mean ± SEM (n= 6), 4.3±0.80 in SRD vs 10±1.1 in CD ($p<0.05$). B) A significant increase ($p<0.05$) of both triglyceride and long-chain acyl -CoA contents in the gastrocnemius muscle was accompanied by an impaired capacity of glucose oxidation in the basal state and during the euglycemic –hyperinsulinemic clamp studies. This was mainly due to a decrease ($p<0.05$) of the active form of the pyruvate dehydrogenase complex (PDHa) and an increase of the PDH-Kinase activities ($p<0.05$). A significant reduction of the flux through the PDH complex may limit glucose oxidation via glucose-fatty acid cycle of Randle. Besides, an impaired non-oxidative pathway of glucose was recorded at the end of the clamp. The glycogen synthase activity was significantly lower ($p<0.05$) as compared with age matched control rats fed a CD. Furthermore, a decreased insulin-stimulated glycogen store was observed. C) A high level of both long-chain acyl -CoA and diacylglycerol within the skeletal muscle could stimulate an increase and translocation of nPKCθ isozyme to the cell membrane and this could interfere with insulin signaling pathways. Our data suggest that in the gastrocnemius muscle of rats fed a SRD over an extended period of time increased availability and oxidation of lipid fuel contributed to the abnormal insulin sensitivity and the whole body insulin resistance.

Literature cited:

Cheal, K.L.; Abbasi, F.; Lamendola, E. et al. Relationship to insulin resistance of the adult treatment panel III diagnostic criteria for identification of the metabolic syndrome. Diabetes 53: 1195-1200, 2004.

Stannard, S.R.; Johson N.A. Insulin resistance and elevated triglycerides in muscle: more important for survival than "thirty" genes? J Physiol 3: 595-607, 2003.

Yu, C.; Chen, Y.; Cline, G.W. et al. Mechanism by which fatty acid inhibits insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1) associated phosphatidyl inositol-3-kinase activity in muscle. J Biol Chem 277: 50230-50236, 2002.

Rossi, A.; Lombardo, Y.B.; Lacorte, J.M. et al. Dietary fish oil positively regulates plasma leptin and adiponectin levels in sucrose-fed insulin-resistant rats. Am J Physiology 289: R486-R494, 2005.

Chicco, A.; Basabe, J.C.; Karabatas, L. et al. Troglytazone (CS-045) normalizes hypertriglyceridemia and restores the altered patterns of glucose-stimulated insulin secretion in dyslipemic rats. Metabolism 49: 1346-1351, 2000.

Lewis, G.F.; Carpentier, A.; Adeli, K. et al. Disorder fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 Diabetes. Endocr Rev 23: 201-229, 2002.

(Rev Argent Endocrinol Metab 43:3-15, 2006)

Introducción

Los factores genéticos, nutricionales y estilo de vida (sedentarismo) contribuyen a la elevada prevalencia de hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, hipertensión, obesidad, diabetes tipo II y enfermedad cardiovascular, desórdenes metabólicos presentes en el denominado Síndrome Plurimetabólico o Síndrome X [(1)]. La resistencia insulínica (RI) es una anomalía común a todos ellos y constituye un factor clave en la fisiopatología de este síndrome.

El músculo esquelético es uno de los principales tejidos blanco a la acción de la insulina. La regulación de este tejido envuelve una compleja interrelación con

otros combustibles metabólicos, especialmente lípidos.

Un incremento en el contenido de triglicéridos y acil-CoA de cadena larga intramiocelulares se asocia con RI en humanos y en animales de experimentación [2,3]. Elevados niveles de acil CoA fueron observados en músculos de ratas con RI por infusión constante de glucosa o por administración de dietas grasas [2,4]. El aumento del pool citosólico de estos metabolitos puede alterar el efecto de la insulina sobre el metabolismo de la glucosa, incrementando la síntesis de diacilglicerol (DAG), que activaría isoformas de las protein kinasas C (PKCs), las cuales pueden interferir en las señales de la insulina, afectar el transporte de la glucosa a través de los mecanismos de translocación del transportador Glut4, regular actividades enzimáticas, etc. [5]

En relación a los factores nutricionales a nivel experimental se ha demostrado que dietas ricas en grasas o hidratos de carbono (sacarosa, fructosa) inducen dislipemia, anormal homeostasis de la glucosa y resistencia insulínica [2,6,7]. Al respecto hemos constatado que en ratas alimentadas con una dieta rica en sacarosa (DRS) la hipertrigliceridemia se acompaña de niveles plasmáticos de glucosa e insulina que evolucionan desde normoglucemia e hiperinsulinemia a las 3 semanas de ingesta a hiperglucemia y normoinsulinemia cuando la misma se extiende por un período más prolongado (30-40 semanas). En este último período los animales presentan una marcada adiposidad visceral y un ligero incremento de peso corporal (15-20%). Ésto se acompaña de elevados niveles de ácidos grasos libres plasmáticos (AGNE), una acentuada insensibilidad insulínica periférica y un significativo incremento en el contenido de triglicéridos del músculo esquelético [8-11].

Al presente, son escasos los estudios disponibles que analicen los posibles mecanismos que relacionan un incremento de lípidos (triglicéridos, acil CoA) en el músculo esquelético e insensibilidad insulínica en este modelo experimental de dislipemia y RI inducido por una ingesta crónica (30 semanas) de DRS [10]. De lo expuesto, los objetivos del presente trabajo fueron: Analizar I) el contenido de lípidos y los caminos metabólicos de la glucosa (oxidativo y no oxidativo) en el músculo gastronemio, en condiciones basal y posterior al estímulo de la insulina; II) algunos indicadores del metabolismo de la glucosa y lípidos que podrían interferir en la cascada de señales de la acción insulínica (acil CoA, DAG, masa proteica y localización subcelular de la nPKCθ) III) Dado que una crónica elevación de ácidos grasos plasmáticos puede alterar la secreción de insulina *in vivo* e *in vitro*, estudiaremos la secreción de la hormona en islotes pancreáticos perifundidos frente al estímulo de la glucosa.

Materiales y métodos

Animales y dietas

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (Instituto Nacional de Farmacología, Bs. As., Argentina) de aproximadamente 180-200 gramos de peso inicial mantenidas en un bioterio climatizado (22±1ºC) con humedad y aireación controladas y ciclo de luz-oscuridad de 12 hs. (luz 7:00 a 19:00 hs). Los animales tuvieron libre acceso al agua y a una dieta estándar comercial de laboratorio (Ralston, Purina, St. Louis, USA). Luego de una semana de adaptación las ratas fueron divididas al azar en dos grupos. El grupo experimental recibió una dieta semisintética rica en sacarosa (DRS), conteniendo por peso (g/100g): sacarosa 62,5, caseína libre de vitaminas 17, aceite de maíz 8, celulosa 7,5, mezcla de sales 3,5 (AIN-93 M-Mx), mezcla de vitaminas 1 (AIN-93-Vx), colina 0,2 y DL-metionina 0,3. El grupo control (DC) recibió la misma dieta con excepción de la fuente de hidratos de carbono, donde la sacarosa, fue reemplazada por almidón de maíz. Las dietas fueron administradas *ad libitum* durante 30 semanas. Ambas dietas son isocalóricas y aportan aproximadamente 16,3kJ/g comida. Las dietas fueron preparadas semanalmente y conservadas a 4ºC. El peso de los animales fue registrado dos veces por semana durante el transcurso de toda la experiencia. En experimentos en paralelo, utilizando 8 animales en cada grupo dietario, se constató la ingesta energética y la ganancia de peso tres veces por semana. Detalles de la metodología han sido descriptos previamente [10]. Finalizado el período experimental las ratas de ambos grupos fueron divididas al azar en dos subgrupos. En el primero la comida fue removida al final del período de oscuridad (7:00 hs) y los experimentos fueron llevados a cabo entre las 9:00 y 12:00 hs. El segundo subgrupo (animales utilizados en el estudio del clamp euglucémico-hiperinsulinémico) fue ayunado durante

5 hs y la mitad de estos animales fue utilizado para los ensayos analíticos al inicio del clamp (tiempo 0 min) y en el resto se realizó el estudio del clamp euglucémico-hiperinsulinémico.

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Investigación Humana y Animal de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

Métodos analíticos

Los animales fueron anestesiados intraperitonealmente con pentobarbital (60mg/kg peso corporal). Las muestras de sangre obtenidas a partir de la vena yugular fueron rápidamente centrifugadas a 3500 xg a 4ºC y los plasmas utilizados de inmediato o conservados a -20ºC hasta su ensayo dentro de los tres días subsiguientes. Los niveles plasmáticos de triglicéridos, ácidos grasos libres (AGNE) y glucosa fueron determinados por métodos espectrofotométricos convencionales [10]. La insulina inmunoreactiva (IRI) se analizó por el método de Herbert [12]. El ensayo de IRI fue calibrado con un estándar de insulina de rata (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark).

El tejido muscular (gastronemio) fue rápidamente removido, congelado a la temperatura del N_2 líquido y conservado hasta su procesamiento a -80ºC. Homogeneizados de este tejido fueron utilizados para la determinación del contenido de triglicéridos [13], glucógeno [14], proteínas [15], glucosa-6-fosfato [16] y ácidos grasos de cadena larga unidos a CoA [17]. En otra alícuota de tejido se determinaron las actividades enzimáticas glucógeno sintasa [18] y complejo piruvato dehidrogenasa (PDHc) y PDH quinasa como se detalló previamente [19]. Se analizó además el contenido muscular de diacilglicerol [20] y la masa proteica de nPKCθ [20] y Glut 4 [21].

Clamp euglucémico-hiperinsulinémico

La sensibilidad insulínica periférica global fue determinada utilizando el clamp euglucémico-hiperinsulinémico, descripta en trabajos previos [10]. Brevemente, ratas de ambos grupos dietarios ayunadas durante 5 hs fueron anestesiadas con pentobarbital (60mg/kg peso corporal), extrayéndose muestras de sangre para la determinación de glucosa e insulina. Seguidamente se infundió una solución de insulina porcina neutra purificada (Actrapid, Novo Nordisk) a concentración constante [5,69nmol/(kg.h) durante 2 hs. La euglucemia fue mantenida infundiendo una solución de glucosa (20g/l) a velocidad variable. La infusión de glucosa comenzó 5 min posteriores a la infusión de insulina registrándose los niveles de glucemia por medio de un analizador Glucometer (Boehringer Manheim, Indianapolis, IN) dentro de los 2 min posteriores a la extracción de la muestra. Los niveles de insulina se evaluaron en alícuotas de sangre (0,3ml) obtenidas a los 60, 90 y 120 min.

La velocidad de infusión de glucosa (VIG) en el estado estacionario (segunda hora del clamp) es considerada como la velocidad de captación periférica global de la glucosa, la cual se expresó como mg de glucosa/(kg.min) como se describió previamente [10]. Finalizado el clamp el músculo fue removido y congelado rápidamente a la temperatura del N_2 líquido. Los tejidos fueron conservados a -80º C determinándose en los mismos el contenido de triglicéridos [13], acilCoA de cadena larga [17], glucógeno [14], glucosa-6-P [16] y las actividades enzimáticas glucógeno sintasa [18], PDHc y PDH quinasa [19] y la masa proteica del transportador Glut4 [21].

Determinación de diacilglicerol (DAG)

Se utilizó el método descripto por Schmitz-Pfeiffer y col. [20] con ligeras modificaciones. Brevemente, los lípidos totales fueron extraídos con una mezcla de cloroformo:metanol (2:1 vol:vol), lavados con NaCl al 0,6% y posteriormente centrifugados 5 min a 2000 xg. La fase clorofórmica resultante fue evaporada a sequedad bajo corriente de nitrógeno. El residuo seco fue reconstituido en 100µl de cloroformo y alícuotas de 15µl fueron sometidas a cromatografía en capa fina utilizando diglicéridos como estándares. La corrida cromatográfica se llevó a cabo en una mezcla hexano: eter etílico: ácido acético (82:18:4 v/v). Posteriormente, las placas fueron coloreadas con Coomasie blue al 0,03% en metanol 20% durante 30 min y decoloradas durante 3 min en metanol 20%. Las placas secas fueron escaneadas cuantificando la intensidad de las bandas con un software provisto por el Instituto Nacional de Salud (NIH, Bethedsa, USA).

Determinación de la masa proteica de nPKCθ

Tejido muscular finamente pulverizado en N_2 líquido fue homogeneizado a 4ºC en solución tampón conteniendo (400µl/100 mg tejido): 20mmol/L

MOPS pH= 7,5, 250mmol/L manitol, 1,2mmol/L EGTA, 1mmol/L DTT, 2mmol/L fenilmetilsulfonilfluoruro (PMSF), 200μg leupeptina y 2mmol/L benzamidina [20]. El homogeneizado fue centrifugado a 4ºC durante 45 min a 100.000 xg. El sobrenadante obtenido –fracción citosólica- fue conservado a la temperatura del N_2 líquido. El precipitado remanente fue lavado con buffer de homogeinización y centrifugado en las condiciones previamente descriptas. El precipitado obtenido fue solubilizado (400μl/100 mg tejido) y conservado 1 hora a 4ºC en solución tampón conteniendo 20mmol/L MOPS pH= 7,5, 0,5% (p/v) decanoil-N-metil-glucamida, 2mmol/L EDTA, 5mmol/L EGTA, 1mmol/L DTT, 2mmol/L PMSF, 200μg leupetina y 2mmol/L benzamidina. El extracto fue posteriormente centrifugado a 100.000 xg durante 45 min a 4ºC y el sobrenadante conteniendo las proteínas solubilizadas -fracción de membrana- fue conservado a la temperatura del N_2 líquido. La fracción remanente insoluble (precipitado) fue secada, congelada y pesada y utilizada para corregir las variaciones de siembra entre las muestras sometidas a inmunoblotting y densitometría de acuerdo a lo descripto por Schmitz-Peiffer [20].

Electroforesis e inmunoblotting de las fracciones de membrana y citosólicas.

Las fracciones fueron adicionadas de solución tampón de dilución, calentadas a 95ºC durante 2 min y una alícuota sometida a SDS-PAGE, como fue descripta por Laemmli [22], usando un gel al 10%. Las proteínas separadas fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa utilizando una celda de transferencia Bio-Rad. Las membranas fueron bloqueadas y expuestas a 1μg/ml de anticuerpo anti nPKCθ (conejo) durante 2 hs a temperatura ambiente, seguido por incubación con anti IgG conejo conjugado con peroxidasa de rábano 1:10.000 durante 1 h. Las bandas correspondientes a las nPKCθ fueron visualizadas por quimioluminiscencia (ECL Amersham, Co) y expuestas a placas de rayos X durante 30 seg a 1 min. La intensidad de las bandas fueron cuantificadas usando un software provisto por el NIH (Bethedsa, USA). Las variaciones en las extracciones de las diferentes muestras fueron corregidas usando la relación peso seco postextracción: peso húmedo preextracción. Estudios preliminares demostraron linealidad en los ensayos de Western blot en un rango de 50 a 200μg de proteínas para las fracciones citosólicas y de membrana. El coeficiente de correlación entre la cantidad de proteína y la intensidad de la imagen fue de 0,97 y 0,94 para la fracción citosólica y de membrana respectivamente ($p< 0,01$). La relación entre la cantidad de muestra sujeta a inmunoblot y la intensidad de la señal observada fue lineal bajo las condiciones descriptas previamente.

Determinación de la masa proteica del transportador de glucosa Glut4

Las membranas del músculo gastronemio fueron aislados de acuerdo al método descripto por Zierath y col. [21]. El contenido de proteínas fue determinado por el método de Bradford [15]. Las membranas musculares fueron sometidas a SDS-PAGE 10% [22]. Las membranas fueron bloqueadas y posteriormente incubadas toda una noche con anticuerpo anti-transportador de glucosa insulina regulable de rata (conejo) (Calbiochem Immunochemicals) a temperatura ambiente. Posterior al lavado, las membranas se incubaron durante 60 min con anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado con peroxidasa de rábano (Amersham Arlington Illinois). Las bandas de las proteínas del transportador Glut 4 fueron detectadas por incubación de la membrana con reactivo ECL plus (Amersham) y expuestos a placas radiográficas por 2 a 8 min. La intensidad de las bandas se cuantificaron como se describió previamente para las nPKCθ. Estudios preliminares mostraron una linealidad de los ensayos de Western blot para una concentración de proteínas de 75 a 200μg.

Actividad enzimática glucógeno sintasa (GSa)

La actividad GSa fue determinada de acuerdo al método de Golden y col. [18]. La actividad GSa independiente fue ensayada a bajas concentraciones de G-6-P (0,1mmol/L) y la actividad total a altas concentraciones de G-6-P (10mmol/L). Los resultados se expresaron como actividad fraccional % que fue calculada como la relación entre la velocidad de incorporación de [U^{14}-C] UDP glucosa al glucógeno a concentraciones de G-6-P de 0,1mmol/L y 10mmol/L.

Extracción y ensayo de la actividad del complejo PDH y PDH quinasa

La determinación de la actividad del complejo enzimático piruvato dehidrogenasa (PDHc) en el

músculo gastronemio fue realizada de acuerdo a la metodología previamente descripta [19]. La actividad PDHc fue expresada como nmoles de NADH formado por minuto, por gramo de tejido húmedo o por gramo de proteínas solubles.

El aislamiento y el ensayo de la actividad PDH quinasa fue realizado de acuerdo a lo descripto previamente [19]. La actividad PDH quinasa fue ensayada determinando la inactivación de la actividad PDH en presencia de ATP en función del tiempo. La constante de primer orden (K/min^{-1}) se calculó por análisis de regresión lineal del ln (inactivación por ATP) en función del tiempo de incubación.

Perifusión de islotes aislados

Las ratas fueron decapitadas y los islotes aislados por digestión con colagenasa y recolectados bajo microscopio estereoscópico como describimos previamente [23]. Brevemente, posterior al lavado, 30-40 islotes aislados de cada rata fueron perifundidos en presencia de 16.5 mmol/L de glucosa durante 40 min. Alícuotas del efluente fueron colectadas a intervalos de 1 min durante los primeros 15 min y luego a intervalos de 5 min hasta el minuto 40. En dichas alícuotas se realizó el dosaje de insulina [12].

Análisis estadísticos: Los resultados se expresaron como media ± SEM. Las diferencias significativas entre los grupos fueron determinadas mediante el test de Student [24]. Diferencias con $p< 0,05$ fueron consideradas significativas.

Reactivos: Enzimas, sustratos y coenzimas fueron obtenidos de Sigma, Chemical, Co (St Louis, MO) o Boehringer Mannheim Biochemical (Indianapolis, IN). Uridin-5'-difosfo [U^{14}-C] glucosa fue obtenido de New England Co Nuclear (Boston, MA). El resto de los reactivos químicos fueron de grado analítico.

Resultados

Ganancia de peso e ingesta calórica

Durante las primeras 15 semanas de ingesta no se observaron diferencias en el incremento del peso corporal ni en la ingesta calórica en ambos grupos dietarios (datos no mostrados). A partir de este período y hasta las 30 semanas, los animales alimentados con DRS mostraron al final del período de experimentación un significativo incremento (~15%) en el peso corporal respecto de los respectivos controles etarios alimentados con DC. Ésto se asoció a una mayor ingesta calórica. Los valores obtenidos fueron los siguientes, media ± SEM (n=8): Peso a las 30 semanas (g): DC: 450 ± 25; DRS: 520 ± 29 $p<0,05$; Ingesta calórica (kJ/d): DC: 280 ± 18,3; DRS: 348 ± 16,8, $p<0,05$.

Niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos, AGNE e insulina

Al final del período de oscuridad (07:00 h) y confirmando resultados previamente descriptos [10], se observa un incremento significativo de los niveles de triglicéridos, glucosa y AGNE plasmáticos en los animales alimentados con DRS comparados con sus respectivos controles etarios. Sin embargo la insulinemia se encuentra dentro de los valores observados para el grupo DC. (Tabla I)

Estudio de la sensibilidad insulínica periférica global: clamp euglucémico-hiperinsulinémico

Los niveles de glucemia al inicio (t=0) del clamp fueron los siguientes: media ± SEM (n=6): DC 5,30

Tabla I. Niveles plasmáticos de triglicéridos, ácidos grasos no esterificados (AGNE), glucosa e insulina en ratas alimentadas con dieta control (DC) o dieta rica en sacarosa (DRS) durante 30 semanas.

Dieta	Triglicérido *mmol/L*	AGNE *µmol/L*	Glucosa *mmol/L*	Insulina *pmol/L*
DC	0,52 ± 0,04^b	275 ± 11^b	6,30 ± 0,12^b	355 ± 26^a
DRS	2,17 ± 0,13^a	850 ± 30^a	8,36 ± 0,10^a	362 ± 29^a

Los valores se expresan como media ± SEM; n=6. Los valores en cada columna que no comparten la misma letra supraíndice son significativamente diferentes, $p<0,05$.

± 0,08mmol/L, DRS: 7,85 ± 0,15mmol/L (p<0,05). Por otra parte, los niveles plasmáticos de insulina obtenidos en estas condiciones fueron similares a los observados al final del período de oscuridad (datos no mostrados). La velocidad de infusión de glucosa (VIG) que cuantifica la acción de la insulina *in vivo* fue significativamente menor (p<0,05) en los animales alimentados con DRS comparados a los del grupo que recibió la DC, lo que demuestra un deterioro de la sensibilidad a la insulina en estos animales (Figura 1). No se observaron cambios en los niveles de hematocrito desde el inicio y durante el clamp en ninguno de los grupos dietarios (datos no mostrados).

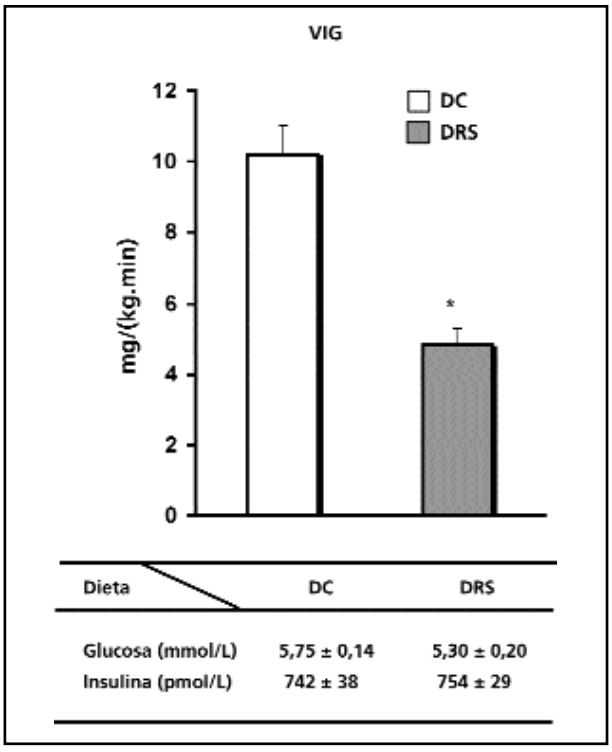
Concentraciones de glucógeno, glucosa-6-fosfato (G-6-P) y actividad glucógeno sintasa (GSa) en músculo gastronemio al inicio (0 min) y al final (120 min) del clamp euglucémico-hiperinsulinémico

Comparando con los valores obtenidos al inicio del clamp, los niveles de glucógeno y glucosa-6-fosfato así como la actividad glucógeno sintasa incrementan significativamente bajo el estímulo de la insulina en el músculo gastronemio de los animales alimentados con DC, mientras que no se observa el efecto estimulatorio de la hormona en los animales con DRS (Figura 2).

Concentración de triglicéridos y acil CoA de cadena larga y actividades enzimáticas del complejo piruvato dehidrogenasa (PDH) y piruvato dehidrogenasa quinasa (PDHq) en músculo gastronemio al inicio (0 min) y al final (120 min) del clamp euglucémico-hiperinsulinémico

En el músculo gastronemio de los animales del grupo alimentado con DRS, se observa un significativo incremento de los niveles de Tg y acil CoA al inicio del clamp (0 min). Ésto se acompaña de una alteración de la oxidación de la glucosa, estimada a partir de una menor actividad del complejo PDH y de un incremento de la actividad PDH quinasa.

Bajo el estímulo insulínico (clamp) el contenido de triglicéridos y acil CoA de cadena larga incrementa significativamente en los animales alimentados con DC sin observarse cambios en estos parámetros bajo la acción de la hormona en el grupo DRS (Figura 3). La alterada oxidación de la glucosa observada en el inicio del clamp en los animales del grupo DRS (baja actividad PDH y alta actividad PDHq) se mantiene aún bajo el estímulo de la insulina.



Dieta	DC	DRS
Glucosa (mmol/L)	5,75 ± 0,14	5,30 ± 0,20
Insulina (pmol/L)	742 ± 38	754 ± 29

Figura 1. Velocidad de infusión de glucosa (VIG) durante el clamp euglucémico-hiperinsulinémico en ratas alimentadas con dieta control (DC) o dieta rica en sacarosa (DRS) durante 30 semanas.

Los valores se expresan como media ± SEM, n=6 . *p < 0,05 DRS vs DC. Glucosa e Insulina: concentraciones respectivas de glucosa e insulina en el estado estacionario, durante los últimos 60 minutos del clamp euglucémico-hiperinsulinémico.

Contenido de diacilglicerol (DAG), masa proteica de nPKCθ y de Glut4 en músculo gastronemio

El contenido muscular de diacilglicerol está significativamente incrementado (p< 0,05) en los animales alimentados con DRS en relación a sus respectivos controles etarios (Figura 4). Comparando cuantitativamente la abundancia relativa de la masa proteica de la isoenzima nPKCθ en las fracciones citosólica y de membrana del músculo gastronemio, se observa un incremento significativo (p< 0,05) de la masa nPKCθ de la membrana y un ligero pero no significativo decrecimiento en la fracción citosólica en los animales que recibieron la DRS (Tabla II). No se observaron diferencias significativas en el contenido de la masa proteica del transportador Glut4 en ambos grupos dietarios (datos no mostrados).

Secreción de insulina bajo el estímulo de la glucosa en islotes pancreáticos aislados perifundidos

Los islotes pancreáticos aislados perifundidos de los animales alimentados con DC muestran el clásico patrón bifásico de secreción de insulina bajo el estímulo de la glucosa (16,5mmol/L) (Figura 5). Bajo las condiciones experimentales utilizadas el primer pico de secreción de la hormona se observa a los 4 min de perifusión mientras que el segundo pico alcanza su máximo valor a los 40 min. Los islotes perifundidos de los animales alimentados con DRS muestran una clara alteración de la secreción de insulina, con ausencia del primer pico y un significativo incremento en la segunda fase de secreción de la hormona (Figura 5).

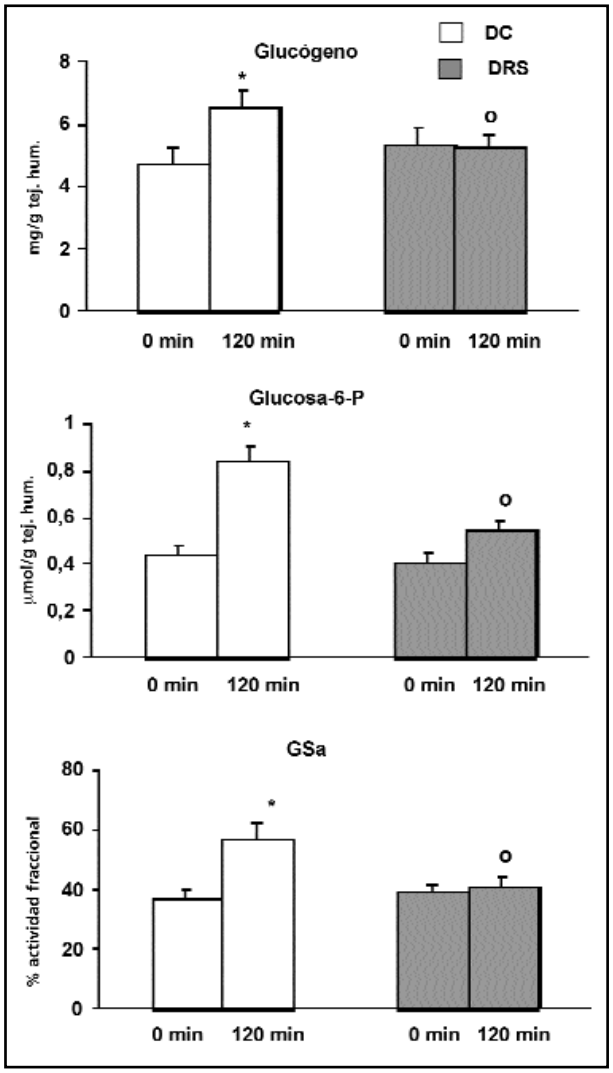


Figura 2. Contenido de Glucógeno, Glucosa-6-fosfato, y actividad Glucógeno sintasa (GSa) (% actividad fraccional) en músculo gastronemio al inicio (0 min) y al final (120 min) del clamp euglucémico-hiperinsulinémico en ratas alimentadas con dieta control (DC) o dieta rica en sacarosa (DRS) durante 30 semanas.
Los valores se expresan como media ± SEM, n= 6.° p< 0,05 DRS vs DC a 120 min. y * p< 0,05 DC 120 min. vs DC 0 min. GSa % actividad fraccional: calculada como el porcentaje de la relación entre la incorporación de Uridina difosfato ^{14}C-glucosa a glucógeno a 0,1mmol/L de glucosa-6-fosfato/ velocidad de incorporación a 10mmol/L de glucosa-6-fosfato.

Discusión

En ratas normales la ingesta crónica (30 semanas) de una dieta rica en sacarosa induce dislipidemia, hiperglucemia, adiposidad visceral con moderado sobrepeso y resistencia insulínica. Utilizando este modelo experimental, el objetivo del presente

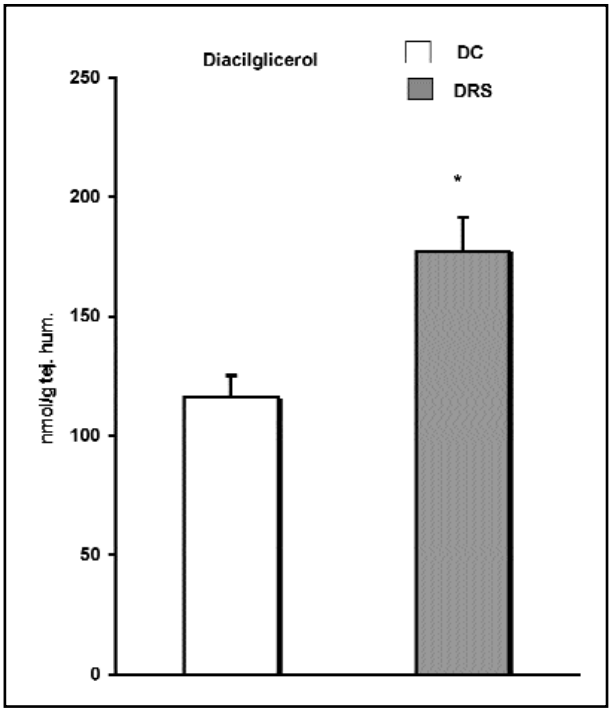


Figura 4. Contenido de diacilglicerol en músculo gastronemio en ratas alimentadas con dieta control (DC) o dieta rica en sacarosa (DRS) durante 30 semanas.
Los valores se expresan como media ± SEM, n=6.° p < 0,05 DRS vs DC.

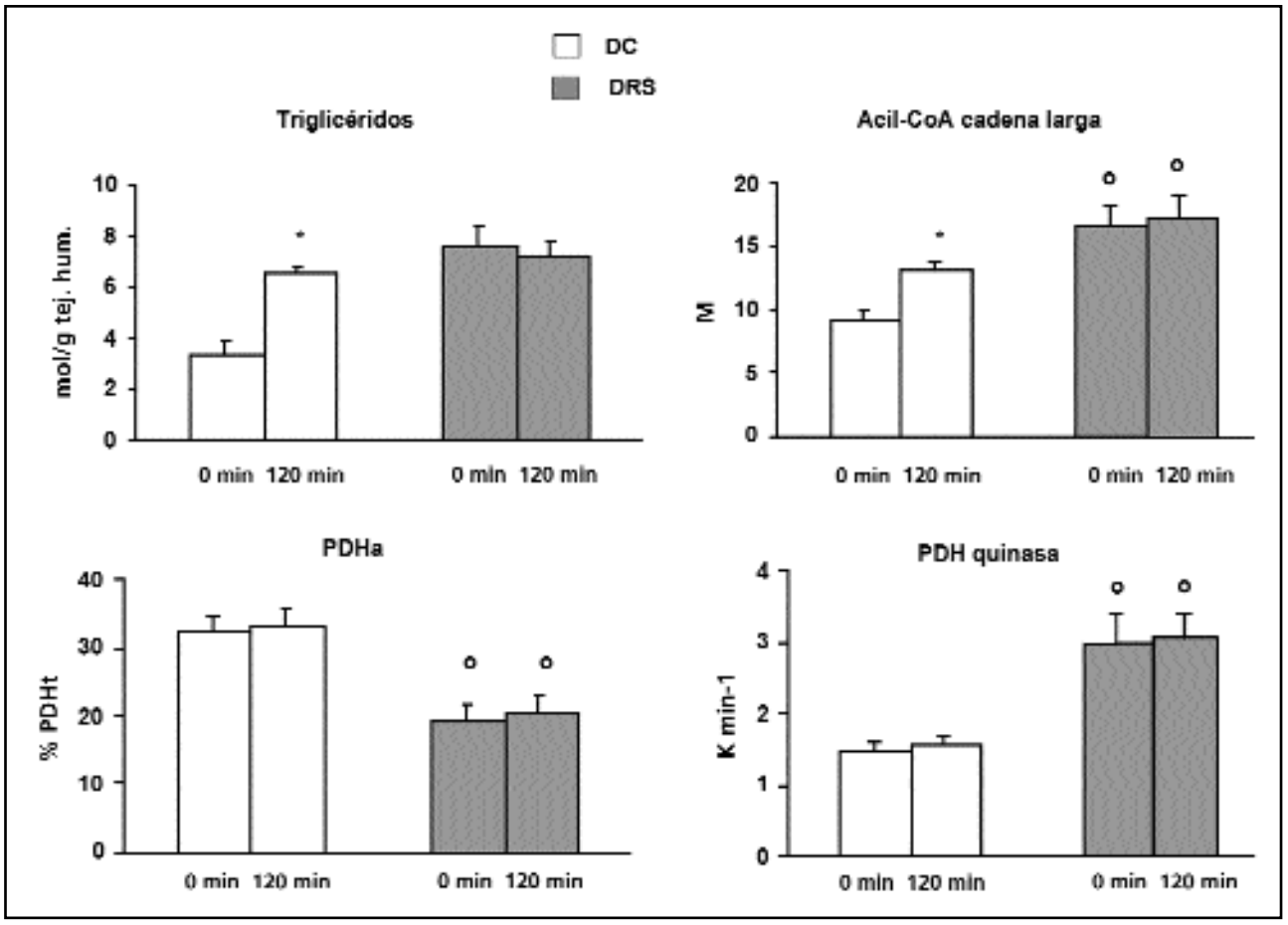


Figura 3. Contenido de triglicéridos y acil-CoA de cadena larga y actividades enzimáticas piruvato dehidrogenasa (PDHc) y PDH quinasa en músculo gastronemio al inicio (0 min) y al final (120 min) del clamp euglucémico-hiperinsulinémico en ratas alimentadas con dieta control (DC) o con dieta rica en sacarosa (DRS) durante 30 semanas.
Los valores se expresan como media ± SEM, n= 6.º p< 0,05 DRS vs DC a 0 o 120 min respectivamente y * p< 0.05 DC 120 min vs DC 0 min. PDHa: forma activa del PDHc, se expresa como el porcentaje de la actividad total (PDHt) (actividad basal x 100/ actividad total).

trabajo fue analizar algunas vías y/o señales metabólicas que relacionen dislipidemia, incremento de lípidos (triglicéridos, acil CoA) en músculo esquelético (gastronemio) y la resistencia insulínica. Los principales hallazgos obtenidos fueron: a) Incremento significativo en el contenido de triglicéridos y acil CoA de cadena larga acompañado de una alteración en las vías oxidativa y no oxidativa de la glucosa en condiciones basal y bajo el estímulo de la insulina sin cambios significativos de la masa proteica del transportador Glut 4. b) Un significativo incremento del contenido de diacilglicerol y de la masa proteica de la isoenzima nPKCθ en la fracción de membrana del músculo gastronemio. c) Alterado patrón de secreción de insulina frente al estímulo de la glucosa (islotes pancreáticos perifundidos) con ausencia del primer pico y sustancial incremento de la secreción de la hormona en la segunda fase y reducida sensibilidad insulínica periférica total (VIG). Elevados niveles plasmáticos de AGNE y triglicéridos acompañan a las alteraciones metabólicas mencionadas.

Una gran disponibilidad de lípidos tisulares deteriora la acción insulínica en los tejidos periféricos (ej: adiposo, corazón, etc.) incluyendo el músculo esquelético [25]. Al respecto en animales alimentados con dietas ricas en grasas saturadas la resistencia in-

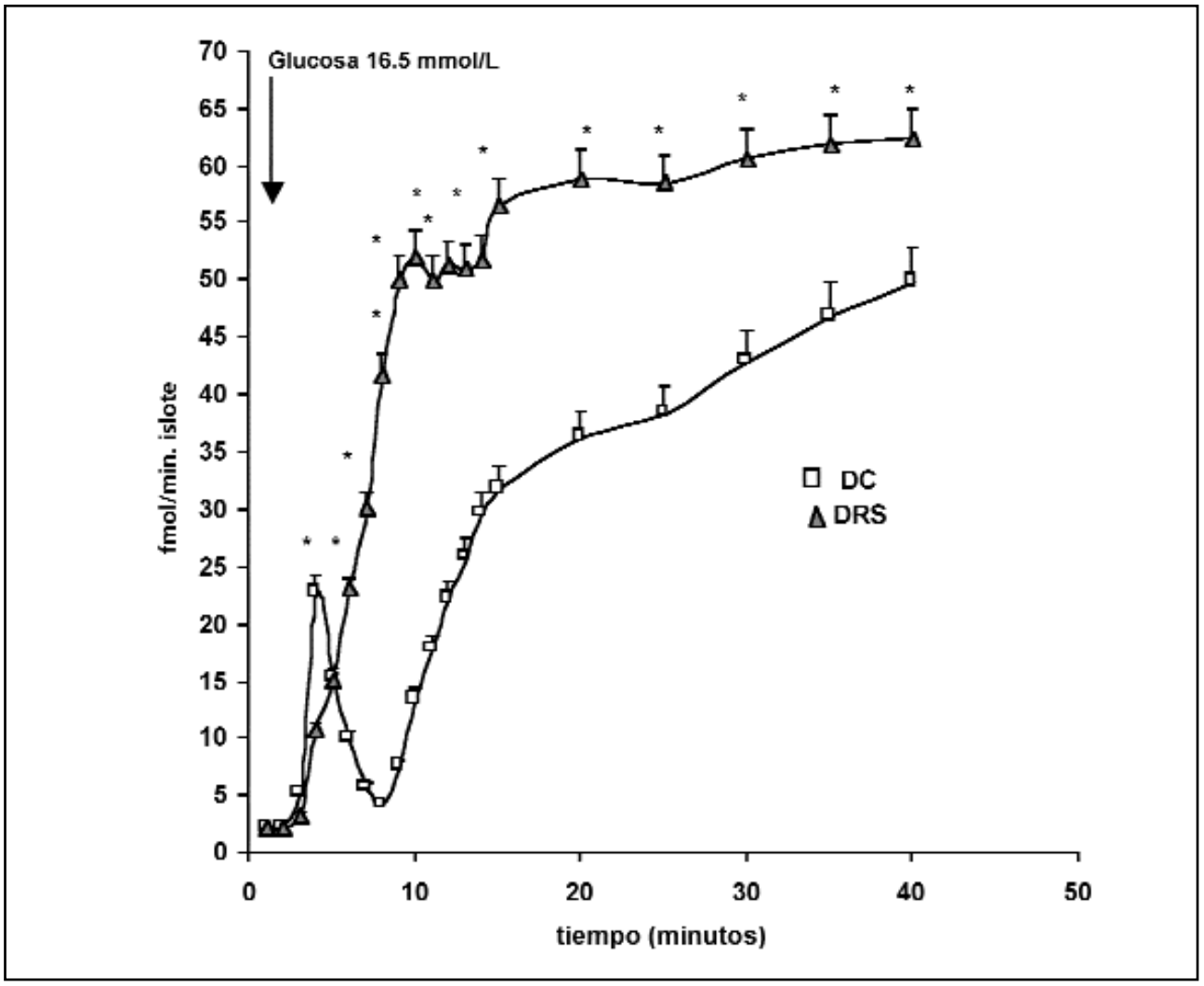


Figura 5. Secreción de insulina en islotes pancreáticos perifundidos bajo el estímulo de glucosa en ratas alimentadas con dieta control (DC) o dieta rica en sacarosa durante 30 semanas.
Los valores se expresan como media ± SEM; n=6.º p< 0,05 DRS vs DC.

Tabla II. Masa proteica de n-PKC θ en músculo gastronemio de ratas alimentadas con dieta control (DC) o dieta rica en sacarosa (DRS) durante 30 semanas.

Dieta	nPKC θ	
	Fracción Citosólica (unidades densitométricas relativas a dieta control)	Fracción de Membrana (unidades densitométricas relativas a dieta control)
DC	100,0 ± 9,0[a]	100,0 ± 9,50[b]
DRS	83,8 ± 9,6[a]	173,0 ± 15,0[a]

Los valores se expresan como media ± SEM, n=6 . Los valores en cada columna que no comparten la misma letra supraíndice son significativamente diferentes, p < 0,05.

sulínica del músculo esquelético se relaciona estrechamente con un incremento en el contenido de triglicéridos y acil CoA [26]. En el presente trabajo el incremento de triglicéridos y acil CoA del músculo gastronemio de los animales con alimentados durante 30 semanas con DRS se acompaña de una menor actividad del complejo PDH y mayor actividad de la enzima PDHquinasa. La disminuida actividad del complejo PDH limita la conversión del piruvato proveniente de la glicólisis a acetil CoA disminuyendo el metabolismo oxidativo de la glucosa [27]. Ésto fue observado en estado basal y bajo el estímulo de la insulina (clamp euglucémico-hiperinsulinémico) sugiriendo que una mayor disponibilidad y oxidación de ácidos grasos por competición de sustratos como fuente energética podría ser uno de los mecanismos que alteran la oxidación de la glucosa vía ciclo de Randle [27]. Además, un incremento del contenido de triglicéridos intramiocelulares podría ser el resultado de una inadecuada oxidación de lípidos en este tejido, situación factible de acontecer en presencia de una mayor disponibilidad de lípidos [28].

La insulina estimula la captación de glucosa, glicólisis y síntesis de glucógeno en el músculo esquelético. En las condiciones experimentales del presente trabajo, el clamp euglucémico-hiperinsulinémico fue realizado a dosis elevadas de insulina. Bajo estas condiciones y corroborando datos previos [10] los niveles alcanzados de la velocidad de infusión de glucosa (VIG) en los animales alimentados con DRS indican una marcada reducción de la sensibilidad insulínica periférica global. Esto se acompaña de una alterada secreción de insulina en islotes perifundidos bajo el estímulo de la glucosa. Al finalizar el clamp euglucémico-hiperinsulinémico, los niveles de glucógeno, glucosa-6-fosfato y la actividad enzimática glucógeno sintasa incrementaron significativamente en los animales alimentados con DC. Un panorama diferente se observó en el grupo con DRS, donde la insulina no fue capaz de estimular la actividad glucógeno sintasa y los niveles de glucógeno y glucosa-6-fosfato no se modificaron bajo la acción de la hormona. Esto nos sugiere una alteración en la vía no oxidativa de la glucosa. El incremento de acil CoA del músculo gastronemio podría también participar en esta regulación. Chalkley y col. [29] observaron una disminuida síntesis de glucógeno frente a la acción de la insulina asociada a una menor actividad glucógeno sintasa muscular en ratas normales infundidas con triglicéridos/heparina durante un clamp euglucémico-hiperinsulinémico, condiciones que conducen a un incremento de triglicéridos y acil CoA en dicho tejido [29]. En los animales con DRS nuestros resultados no demostraron modificaciones en la masa proteica del transportador Glut4 pero observamos recientemente una significativa disminución en la actividad de la enzima hexoquinasa (datos no publicados). Al respecto Thompson y col. [30] han demostrado *in vitro* que los acil CoA de cadena larga podrían también regular el metabolismo de la glucosa inhibiendo alostéricamente la actividad de la enzima hexoquinasa.

Otros mecanismos, diferentes al propuesto por Randle [27], podrían también contribuir a la resistencia insulínica muscular en situaciones de una mayor disponibilidad de lípidos tisulares o plasmáticos. Se postula que el incremento citosólico de acil CoA de cadena larga, más que los triglicéridos en sí mismos interfieren con las señales de la insulina posiblemente vía su conversión en diacilglicerol (DAG) [5]. Esto podría influir sobre la actividad proteinquinasa C (PKC) dando como resultado una alteración en el sustrato receptor de insulina 1 (IRS-1)/fosfoinositol-3-quinasa (PI-3K), lo cual a su turno afectaría el transporte de la glucosa a través del mecanismo de translocación del transportador de glucosa Glut4 a la membrana celular y la fosforilación de enzimas tales como glucógeno sintasa [5]. Al respecto en el presente trabajo constatamos un incremento significativo de la expresión de la masa proteica de la nPKCθ (la más abundante isoforma de nPKC en el músculo esquelético) en la fracción de membrana del músculo gastronemio de los animales con DRS. Esto se acompañó de un mayor contenido de DAG. El incremento de este metabolito podría estimular la translocación de la nPKCθ a la membrana, constituyendo otro posible mecanismo de conexión que relacione el metabolismo lipídico y la resistencia insulínica en este modelo experimental. Alterados niveles de DAG y nPKCθ y ε fueron también observados en ratas insulinorresistentes por ingesta rica en dietas grasas o en ratas normales bajo infusión de intralipid/heparina [20, 31].

En resumen, la resistencia insulínica, alterada secreción de insulina y dislipidemia están presentes en ratas alimentadas durante un largo período de tiempo con DRS. Los resultados del presente estudio sugieren que en el músculo esquelético de estos

animales diferentes mecanismos pueden relacionar el incremento de lípidos tisulares y la resistencia insulínica. Sin excluir otros podemos postular: 1- Una alteración de las vías oxidativa y no oxidativa de la glucosa, por competición de sustratos como combustible energético (Ciclo de Randle), disminuye la utilización de la misma en el músculo esquelético. 2- Los altos niveles de acil CoA de cadena larga y DAG inducen un incremento y translocación a la membrana de la masa proteica de la isoenzima nPKCθ, pudiendo esto último interferir con las señales de la insulina.

Por último, este modelo experimental "no genético" que refleja en diferentes aspectos las condiciones presentes en las etapas tempranas de la diabetes tipo 2 del humano, constituye una herramienta adecuada para realizar estudios que contribuyan a esclarecer los mecanismos fisiopatológicos de esta patología y por extensión de algunas de las involucradas en el Síndrome Plurimetabólico.

Bibliografía

1. **Cheal, K.L.; Abbasi, F.; Lamendola, E. y col.** Relationship to insulin resistance of the adult treatment panel III diagnostic criteria for identification of the metabolic syndrome. Diabetes 53: 1195-1200, 2004.
2. **Kraegen, E.W.; Clark, P.W.; Jenkins, A.B. y col.** Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat fed rats. Diabetes 40: 1397-1403, 1991.
3. **Stannard, S.R.; Johson, N.A.** Insulin resistance and elevated triglycerides in muscle: more important for survival than "thirty" genes? J Physiol 3: 595-607, 2003.
4. **Laybutt, D.R.; Schmitz-Peiffer, C.; Saha, A.K. y col.** Muscle lipid accumulation and protein kinase C activation in the insulin-resistant chronically glucose- infused rat. Am J Physiol 277: E1070-E1076, 1999.
5. **Yu, C.; Chen, Y.; Cline, G.W. y col.** Mechanism by which fatty acid inhibits insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1) associated phosphatidyl inositol-3-kinase activity in muscle. J Biol Chem 277: 50230-50236, 2002.
6. **Pagliassotti, M.J.; Prach, P.A.; Koppenhafer, T.A. y col.** Changes in insulin action, triglycerides and lipid composition during sucrose feeding in rats. Am J Physiol 271: R1319-R1326, 1996.
7. **Vrána, A.; Kazdová, L.; Dobesová, Z. y col.** Triglyceridemia, glucoregulation and blood pressure in various rat strains. Effects of dietary carbohydrate. Dietary lipids and insulin action. Second International Smolenice Insulin Symposium. Editors: Klimes, I.; Howard, B.V.; Storlien, L.H.; Seböková, E. Ann N Y Acad Sciences 683: 57-68, 1993.
8. **Gutman, R.; Basílico, M.Z.; Bernal, C. y col.** Long-term hypertriglyceridemia and glucosa intolerance in rats fed chronically and isocaloric sucrose-rich diet. Metabolism 36: 1013-1021, 1987.
9. **Rossi, A.; Lombardo, Y.B.; Lacorte, J.M. y col.** Dietary fish oil positively regulates plasma leptin and adiponectin levels in sucrose-fed insulin-resistant rats. Am J Physiology 289: R486-R494, 2005.
10. **Chicco, A.; Basabe, J.C.; Karabatas, L. y col.** Troglytazone (CS-045) normalizes hypertriglyceridemia and restores the altered patterns of glucose-stimulated insulin secretion in dyslipemic rats. Metabolism 49: 1346-1351, 2000.
11. **Lombardo, Y.B.; D'Alessandro, M.E.; Basabe, J.C. y col.** Mecanismos que relacionan lípidos y resistencia insulínica en un modelo de dislipidemia. Rev Arg Endocr Metab 42: 114, 2005.
12. **Herbert, V.; Lan, K.S.; Gottlieb, C.H. y col.** Coated charcoal immunoassay of insulin. J Clin Endocrinol Metab 25: 1375-1384, 1965.
13. **Laurell, S.** A method for routine determination of plasma triglycerides. Scand J Clin Lab Invest 18: 668-672, 1966.
14. **Huijing, F.** A rapid enzymic method for glycogen estimation in very small tissue samples. Clin Chim Acta 30: 567-572, 1970.
15. **Bradford, M.M.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 72: 248-254, 1976.
16. **Lang, G.; Michal, G.** Metabolites: Carbohydrate

metabolism in methods of enzymatic analysis. Bergmeyer, H.U. de Verlag Chemie International, Deerfield Beach F.L. 3: 1238-1242, 1974.

17. **Lowestein, J.M.** In Methods in Enzymology. Vol XIII. Citric Acid Cycle. Edited by Lowestein, J.M. Academic Press New York and London, pág. 440-445, 1969.
18. **Golden, S.; Wals, P.A.; Katz, J.** An improved procedure for the assay of glycogen synthase and phosporylase in rat liver homogenates. Anal Biochem 77: 436-445, 1997.
19. **Montes. M.; Chicco, A.; Lombardo, Y.B.** The effect of insulin on the uptake and metabolic face of glucose in isolated perifused hearts of dyslipemic rats. J Nutr Biochem 11: 30-37, 2000.
20. **Schmitz-Peiffer C.; Browne, C.L.; Oakes, N.D. y col.** Alterations in the expression and cellular localization of protein kinase C isozymes ε and θ are associated with insulin resistance in skeletal muscle of the high-fat fed rats. Diabetes 46: 169-178, 1997.
21. **Zierath, J.R.; Houseknecht, K.L.; Gnudi, L. y col.** High-fat feeding impairs insulin-stimulated GLUT4 recruitment via an early insulin-signaling defect. Diabetes 46: 215-223, 1997.
22. **Laemmli, U.K.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685, 1970.
23. **Pighín, D.; Karabatas, L.; Rossi, A. y col.** Fish oil affects pancreatic fat storage, pyruvate dehydrogenase complex activity and insulin secretion in rats fed a sucrose-rich diet. J Nutr 133: 4095-4101, 2003.
24. **Snedecor, G.W.; Cochran, W.G.** Statistical methods. Iowa University Press, Ames I.A. pag. 339-350, 1967.
25. **Lewis, G.F.; Carpentier, A.; Adeli, K. y col.** Disorder fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 Diabetes. Endocr Rev 23: 201-229, 2002.
26. **Ellis, B.A.; Pynten, A.; Lowy, A.J. y col.** Long-chain acyl CoA esters as indicators of lipid metabolism and insulin sensitivity in rats and human muscle. Am J Physiol 279: E554-E560, 2000.
27. **Randle, P.J.** Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. Diabetes Metab Rev 14: 263-268, 1998.
28. **Soria, A., Chicco, A.; D'Alessandro, M.E. y col.** Dietary fish oil reverse epididymal tissue adiposity, cell hypertrophy and insulin resistance in dyslipemic sucrose fed rat model. J Nutr Biochem 13: 209-218, 2002.
29. **Chalkley, S.M.; Hettiarachi, M.; Chisholm, D.J. y col.** Five-hour fatty acid elevation increases muscle lipids and impairs glycogen synthesis in the rat. Metabolism 47: 1121-1126, 1998.
30. **Thompson, A.J.; Cooney, G.J.** Acyl-CoA inhibition of hexoquinase in rat and human skeletal muscle is a potencial mechanism of lipid induced insulin resistance. Diabetes 49: 1761-1765, 2000.
31. **Griffin, M.E.; Marcucci, M.J.; Cline, G.W. y col.** Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C θ and alterations in the insulin signalling cascade. Diabetes 45: 1270-1274, 1999.

Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo Vol 43 • No. 1
Copyright © 2006 por la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo

REVISIÓN

Importancia de la presencia de insuficiencia renal en el tratamiento de la osteoporosis.

The importance of the presence of renal insufficiency in the treatment of osteoporosis.

Negri, A.L., MD, FACP

Instituto de Investigaciones Metabólicas, Facultad de Medicina, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

Resumen

La osteoporosis es una enfermedad altamente prevalente en las mujeres posmenopáusicas añosas y en los hombres añosos. Por otro lado la prevalencia de compromiso renal se eleva en función de la edad, usando la creatinina sérica como medición de la función renal. Es por ello que surge la pregunta de si ese compromiso de la función renal puede afectar el tratamiento de la osteoporosis. La patogénesis de la osteoporosis relacionada con la edad parece estar estrechamente relacionada a la declinación de la función renal relacionada al envejecimiento. La síntesis de calcitriol comienza a alterarse cuando el Clearance de creatinina cae entre 30 y 50 ml/min y es progresiva. Esto lleva a hipocalcemia, por disminución de la absorción intestinal de calcio que es dependiente del calcitriol, lo que estimula la liberación de PTH. Se estimulan así ciclos de remodelación y la actividad osteoclástica, que asociado a la disminución de la función osteoblástica asociado a la edad, en cada ciclo remodelatorio se produce pérdida de masa ósea. Por lo tanto el incremento en la PTH es en parte lo que mueve el turnover óseo y la pérdida ósea. La Fundación Nacional del Riñón (National Kidney Foundation) de los Estados Unidos ha publicado recientemente una guía para la prevención de osteodistrofia en pacientes en prediálisis, poco conocida en el ámbito no nefrológico. Esta guía sugiere la determinación periódica de la PTH en esta población y su corrección utilizando ya sea ergocalciferol o análogos de la vitamina D. Por otro lado, los bifosfonatos que son las drogas más usadas para el tratamiento de la osteoporosis, se eliminan principalmente por vía renal. Debido a que en la mayor parte de los estudios sobre bifosfonatos en el tratamiento de la osteoporosis se excluyeron aquellos pacientes con insuficiencia renal, no se conoce con seguridad qué ocurre con esta drogas en esos pacientes. Desgraciadamente es poco frecuente que los médicos que tratan osteoporosis midan la creatinina sérica, y en general la sola determinación de la creatinina no da una idea cabal de la reducción de la función renal que presentan los pacientes: siempre se debería calcular el clearance de creatinina usando alguna fórmula validada.
(Rev Argent Endocrinol Metab 43:16-21, 2006)

Abstract

Osteoporosis is a highly prevalent disease among aging postmenopausal women and aging men. Also, the

Dirección Postal: Dr Armando Luis Negri, Instituto de Investigaciones Metabólicas, Libertad 836 1º piso, Buenos Aires 1012, Argentina. Fax: 50319705. E-mail: secger@idim.com.ar
Palabras clave: Osteoporosis; insuficiencia renal; paratohormona; bifosfonatos; tratamiento
Key words: Osteoporosis; renal insufficiency; parathyroid hormone; bisphosphonates; treatment
Recibido: 11-10-05 **Aprobado:** 10-11-05

prevalence of renal insufficiency increases as a function of age, using serum creatinine as an estimation of renal function. Because of that the question that arises is if the compromise in renal function can affect osteoporosis treatment. The pathogenesis of age related osteoporosis seems to be tightly associated to the aging related decline in renal function. Calcitriol synthesis begins to decline when creatinine clearance falls between 30 to 50 ml/min and is progressive. This produces hypocalcemia, because of a decrease in calcium intestinal absorption that is calcitriol dependent, which stimulates PTH release. In this way cycles of remodeling and osteoclastic activity are stimulated, which associated with the ageing related decline in osteoblastic function, produces bone loss with each remodelatory cycle. Thus, the increment in PTH is what moves in part bone turn over and bone loss. The US National Kidney Foundation has recently published guidelines for the treatment of renal osteodistrophy in predialysis patients, which is little known among non nephrologists. This guideline suggests the periodic determination of PTH in this population and its correction using either ergocalciferol o vitamin D analogues. From other point of view, bisphosphonates which are the drugs most frequently used for osteoporosis treatment, are principally eliminated by renal excretion. Due to the fact that most of the studies about treatment of osteoporosis with bisphosphonates have excluded those patients with renal impairment, we do not know for sure what happens with these drugs in these patients. Unluckily physicians that treat osteoporosis very infrequently ask for creatinine determination in their patients, and the simple determination of serum creatinine does not give a clear idea of the patients true renal function: creatinine clearance should always be calculated using validated formulas.
(Rev Argent Endocrinol Metab 43:16-21, 2006)

Introducción

La osteoporosis es una enfermedad altamente prevalente en las mujeres posmenopáusicas añosas y también está presente en los hombres añosos. La osteoporosis es un problema mayor de salud ya que el riesgo acumulativo durante la vida de padecer una o más fracturas en mujeres caucásicas es mayor al 50% [1,2].

Looker y col. han mostrado la declinación de la densidad mineral ósea (DMO) con la edad en la población de los EEUU [3,4]. Analizaron la población del NHANES III (Third National Health and Nutrition Examination Survey) y estimaron que para edades mayores a 50 años, entre 4 y 6 millones de mujeres tienen osteoporosis y entre 13 a 17 millones tienen osteopenia. Por otro lado Jones y col. han encontrado que la prevalencia de compromiso renal se eleva en función de la edad en el mismo NAHANES III usando la creatinina sérica como medición de la función renal [5]. Ya que tanto la prevalencia de osteoporosis y compromiso de la función renal se elevan con la edad, surge la pregunta de si ese compromiso de la función renal puede afectar el tratamiento de la osteoporosis, especialmente cuando las drogas más usadas para el tratamiento de la osteoporosis, los bifosfonatos, se excretan por vía renal.

Relación entre osteoporosis, función renal y edad

Recientemente Klawansky y col. utilizaron los datos de 13831 hombres y mujeres de más de 20 años del NAHANES III para estudiar la ocurrencia de compromiso de la función renal en hombres y mujeres con osteoporosis [6]. Par tener una mejor estimación de la función renal que la creatinina sérica, utilizaron el clearance de creatinina obtenido por la fórmula de Cockcoft - Gault, que además de la creatinina utiliza el peso y la edad del sujeto para su cálculo (CCr= [(140-edad) (peso en Kg)] / [72 x Cr sérica (mg%)] para mujeres multiplicar por 0,85). Para el diagnóstico de osteopenia osteoporosis usaron los criterios de la OMS de osteopenia osteoporosis aplicados a la DMO de cadera total. Así hallaron que para mujeres de 20 a más de 80 años de edad con osteoporosis el porcentaje de prevalencia de insuficiencia renal leve a moderada (Ccr <=60ml/min) se estimó en 85% y para compromiso renal severo (Ccr<=a 35 ml/min) del 24%. En las mujeres con osteoporosis y compromiso severo de la función renal, la prevalencia específica por edad fue despreciable entre los 50-59 años y se elevó abruptamente al 54% para edades mayores a 80 años. En forma similar para las mujeres con osteopenia y compromiso severo de la función renal, la prevalencia específica por edad fue también despre-

ciable entre los 50-59 años pero se elevó abruptamente al 37% para edades mayores a 80 años. Para los hombres la prevalencia de insuficiencia renal severa fue menor del 11%.

Recientemente nosotros estudiamos 300 mujeres posmenopáusicas con una edad promedio de 66,9 ± 6,8 años a las que se les efectuó una densitometría ósea de cadera total (DMOCT) y cuello femoral (DMOCF) en las cuales se diagnóstico osteoporosis sobre la base de los criterios de T score de la OMS [7]. La función renal se estimó por fórmula de Cockcroft-Gault sobre la base de la medición de la creatinina sérica. Encontramos osteoporosis en cadera total en 61 pacientes (20,3%). De ellas, el 81,9% presentó insuficiencia renal (clearance de creatinina estimado – CcrE- < 60 ml/min), contra el 54% de 239 mujeres que presentaron DMO normal u osteopenia (p<0,001). Seis de 61 (9,8%) mujeres con osteoporosis presentaron insuficiencia renal severa (CcrE <=36 ml/min) contra 4/239 (1,6%) mujeres con DMOCT normal u osteopenia (p=0,001). Las mujeres con osteoporosis fueron más añosas, y tuvieron un peso y un CcrE significativamente menor que el de las pacientes sin osteoporosis (CcrE 52 ± 11 ml/min vs 59 ± 12 ml/min; p<0.0001).

Importancia de la determinación de PTH y calcidiol en la población añosa con insuficiencia renal

La patogénesis de la osteoporosis relacionada con la edad está estrechamente relacionada a la declinación de la función renal relacionada con la edad. Además la síntesis cutánea de vitamina D luego de la exposición solar está disminuida en las personas añosas. La conversión de 25 (OH) D a 1,25 (OH)2 D comienza a alterarse cuando el Ccr cae entre 30 y 50 ml/min y es progresiva. Ya que la absorción intestinal de calcio es dependiente de la 1,25 (OH)2 D, se produce hipocalcemia que estimula la liberación de PTH, que a su vez estimula los ciclos de remodelación y la actividad osteoclástica que causa liberación de calcio del esqueleto restaurando los niveles de calcio sérico. Ya que con la edad hay una disminución de la función osteoblástica, cada ciclo remodelatorio lleva a una pérdida de masa ósea. Por lo tanto el incremento en la PTH es en parte lo que mueve el turnover óseo y la pérdida ósea.

La Fundación Nacional del Riñón (National Kidney Foundation, NKF) de los Estados Unidos han publicado recientemente una guía para la prevención de osteodistrofia en pacientes con insuficiencia renal tanto en prediálisis como en diálisis que es poco conocida en el ámbito no nefrológico [8]. Esta guía preconiza la determinación de hormona paratiroidea (PTH) en todos aquellos con una función renal inferior a 60 ml/min/1,73 m^2 de superficie corporal. Estas recomendaciones podrían tener un impacto significativo en el cuidado de los pacientes añosos con insuficiencia renal que a su vez es una población con alta probabilidad de tener osteoporosis. Según esta guía el nivel de PTH a mantener se incrementa a medida que la función renal cae, dada la resistencia creciente del esqueleto a la PTH con el avance de la insuficiencia renal (tabla 1). La manera en que debe manejarse la elevación de la PTH en los pacientes con insuficiencia renal crónica incluye el manejo de la retención de fosfato (se debe mantener un fósforo <= a 4,6 mg% con un calcio corregido entre 9,5-10,2 mg% y un producto calcio x fósforo de 55 mg^2/dl^2. También recomienda hacer determinaciones de 25 (OH)D que es la forma circulante de almacenaje de la vitamina D, tratando de mantener niveles superiores a 30 ng/ml. La guía de la NKF recomienda la administración intermitente de 50.000 UI de ergocalciferol con una periodicidad

Tabla I. Rango de niveles de paratohormona intacta sugeridos según el estadio de insuficiencia renal crónica.

Estadio de Insuficiencia Renal Crónica	Rango de Filtrado Glomerular (ml/min)	Rango de PTH intacta sugerido (pg/ml)
Estadio 3	30-59	35-70
Estadio 4	15-29	70-110
Estadio 5	<15 o diálisis	150-300

de acuerdo al nivel de insuficiencia o deficiencia de 25 (OH)D. La guía recomienda que en caso que en respuesta a la elevación de los niveles de 25 (OH)D a 30 ng/ml o más, no reduzca adecuadamente los valores de PTH de considerar el uso de metabolitos activos de la vitamina D como el calcitriol, el 1 alfa D2 o el paricalcitol.

La mayor parte de las autores creen que los incrementos de la PTH relacionados con la edad serían un factor potencialmente reversible de pérdida ósea relacionada con el envejecimiento. De ser posible la PTH debería normalizarse con dosis nutricionales de vitamina D (800 UI /día o mayores) y debería controlarse periódicamente. La respuesta de los niveles de 25 (OH)D a la suplementación oral es variable ya que los pacientes añosos pueden tener una mala absorción no reconocida de vitaminas liposolubles. Además Vieth y col. han concluido recientemente que los adultos mayores podrían requerir mayores ingresos de vitamina D para mantener niveles de 25 (OH)D para superar el hiperparatiroidismo asociado a una disminución de la función renal [9].

En un estudio reciente efectuado en nuestro país se estudiaron 369 sujetos ambulatorios de más de 65 años de edad de 7 ciudades (entre latitud de 26 grados S y 55 grados S) al final del invierno y comienzos de la primavera [10]. En ellos se detectó una alta prevalencia de sujetos, del 52% al 87 según la latitud, con niveles de 25OHD en el rango de deficiencia-insuficiencia (niveles de 25OHD <20 ng/ml). Otro estudio en residentes de geriátricos, con una edad promedio de 81.9 + 8.1 años (rango 69-99) Plantalech y col. [11] encontraron niveles medios bajos de 25(HO)D (14.4 + 1.7ng/ml) al finalizar el verano mostrando 40.5% de ellos niveles < 10 ng/ml, asociado a hiperparatiroidismo secundario (PTH: 169.4 + 30.9 pg/ml) e hipocalcemia en 34.5% de esta población añosa. La subpoblación con hipovitaminosis D tenía un incremento en el turnover óseo y una densidad ósea en hueso cortical y trabecular que correlacionaba con los niveles de 25 (OH)D y PTH.

Insuficiencia renal y tratamiento de la osteoporosis

Los bifosfonatos son las drogas más usadas para el tratamiento de la osteoporosis en la actualidad. Son moléculas pequeñas de bajo peso molecular y poco unidas a la proteínas plasmáticas que se eliminan principalmente por vía renal. El área bajo la curva concentración/tiempo de estas drogas aumenta marcadamente en presencia de insuficiencia renal y en general su uso esta contraindicado en presencia de insuficiencia renal severa. Curiosamente muchos de los grandes estudios clínicos sobre eficacia y seguridad de bifosfonatos han excluido a los pacientes con un grado importante de disfunción renal. Uno de los primeros estudios de fase III con alendronato, sobre 994 mujeres con osteoporosis posmenopáusica, excluyó individuos con creatinina sérica >1,5/dl o 130 umol/l [12]. El FIT (Fracture Intervention Trial) con 6469 participantes, excluyó en forma específica a pacientes con función renal comprometida (>144 umol/l) [13,14]. El estudio con alendronato una vez por semana que incluyó 1258 mujeres posmenopáusicas con osteoporosis también excluyó aquellas con disfunción renal [15]. Finalmente, el estudio internacional FOSIT que abarcó 1908 mujeres posmenopáusicas con baja masa ósea excluyó mujeres con disfunción renal definida como una creatinina sérica >150 umol/l [16]. En el estudio VERT de eficacia del tratamiento con risedronato sobre fracturas vertebrales y no vertebrales en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis no se excluyó a pacientes con insuficiencia renal [17] mientras que el estudio donde se evaluó el efecto del risedronato sobre el riesgo de cadera en 5445 mujeres de 70-79 años se excluyó a pacientes con alteraciones significativas en los valores de laboratorio [18].

Debido a que en la mayor parte de los estudios sobre bifosfonatos en el tratamiento de la osteoporosis se excluyeron aquellos pacientes con insuficiencia renal, no se conoce con seguridad qué ocurre en esos pacientes. Una reducción importante de la función renal puede disminuir su excreción y afectar la eficacia y seguridad de estas drogas por la posibilidad de producir excesiva reducción del remodelado óseo. Es por ello que en los prospectos de los bifosfonatos más usados (alendronato y risedronato) se contrainidica su uso en pacientes con clearance inferior a 30 ml/min (insuficiencia renal severa). Recientemente Odvina y col. [19] reportaron 9 pacientes que sufrieron fracturas no espinales espontáneas, seis de las cuales tenían retardo o ausencia de curación de sus fracturas por varios meses durante tratamiento con alendronato, el bifosfonato

más usado para el tratamiento de la osteoporosis. El análisis histomorfométrico de las biopsias óseas de estas pacientes mostraba una marcada supresión del remodelado óseo. Lo que no se sabe, ya que no hay estudios al respecto, es qué pasa con el uso de bifosfonatos en pacientes con filtrados entre 30 a 60 ml/min, que son el grueso de las pacientes que reciben tratamiento para la osteoporosis. Los pocos estudios de biopsia ósea en pacientes con insuficiencia renal crónica no en diálisis, muestran que entre el 20 al 25% de esos pacientes tienen bajo recambio óseo (osteomalacia y enfermedad ósea adinámica) mientras que una minoría (2 al 3%) tiene franco alto remodelado [20]. En esta población la PTH intacta da poca información sobre el nivel de remodelado óseo que presentan estos pacientes, ya que es en la población en IRC no en diálisis donde hay mayor resistencia esquelética a la acción de esta hormona.

En Europa se ha comenzado a comercializar un nuevo tratamiento para la osteoporosis, el ranelato de estroncio. Está constituido por dos átomos de estroncio estable combinado con un compuesto orgánico, el ácido raélico. Esta nueva droga tiene un doble mecanismo de acción, ya que inhibe la resorción ósea a la vez que estimula su formación [21]. El estroncio se absorbe a nivel intestinal igual que el calcio y se elimina preferentemente a través de los riñones [22]. Se ha demostrado que los pacientes con impedimento de la función renal pueden acumular más estroncio a nivel óseo que los individuos con función renal normal lo que se ha asociado con el desarrollo de osteomalacia [23]. En ratas con insuficiencia renal crónica se ha demostrado un rol causal del estroncio en el desarrollo de la osteomalacia [24].

Conclusiones

Tanto la prevalencia de osteoporosis como el número de pacientes con alteración de la función renal se elevan con la edad. A su vez la patogénesis de la osteoporosis relacionada con la edad está estrechamente relacionada a esa declinación de la función renal. En esa patogénesis intervendría la reducción de la producción del calcitriol, con reducción de la absorción renal de calcio e incremento de la paratohormona. Esta hormona incrementa los ciclos remodelatorios que en las personas que envejecen se asocia a disminución de la formación ósea con la consiguiente reducción de la masa ósea. Desgraciadamente es poco frecuente que los médicos que tratan osteoporosis midan la creatinina sérica, y en general la sola determinación de la creatinina no da una idea cabal de la reducción de la función renal que presentan los pacientes: siempre se debería calcular el clearance de creatinina en base a la creatinina sérica, la edad y el peso del sujeto usando la simple fórmula de Cockcroft-Gault.

Si el paciente presenta reducción del clearance de creatinina calculado, debería determinarse la PTH y el calcidiol. Los niveles de PTH deberían controlarse a los niveles que sugieren la guía de la NKF, utilizando inicialmente vitamina D si las concentraciones de 25 (OH)D son inferiores a 30 ng/ml o en su defecto con metabolitos activos de la vitamina D. Los bifosfonatos no deben usarse en pacientes con insuficiencia renal severa en prediálisis ya que una alta proporción de estos pacientes tiene bajo remodelado óseo. Desgraciadamente no hay estudios que demuestren claramente la seguridad de los bifosfonatos en pacientes con disminución moderada de la función renal (30 a 60 ml/min) que representan una parte muy importante de las pacientes con osteoporosis.

Bibliografía

1. **Melton, L.J. III; Kan, S.H.; Wahner, H.W. y col.** Lifetime fracture risk: an approach to hip fracture risk assessment based on bone mineral density and age. J Clin Epidemiol 1988; 41:985-994.
2. **Melton, L.J. III; Atkinson, E.J.; O'Fallon, W.M. y col.** Long-term fracture prediction by bone mineral assessed at different skeletal sites. J Bone Miner Res 1993; 8:1227-1233.
3. **Looker, A.N.; Johnston, C.C. Jr; Wahner, H.W. y col.** Prevalence of low femoral bone density in older US women from NAHANES III. J Bone Miner Res 1995; 10:796-802.
4. **Looker, A.N.; Orwoll, E.S.; Johnston, C.C. Jr. y col.** Prevalence of low femoral bone density in

older US adults from NAHANES III. J Bone Miner Res 1997; 12:1761-1768.
5. **Jones, C.A.; McQuillian, G.M.; Kusek, J.W. y col.** Serum creatinine levels in the US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. Am J Kid Dis 1998; 32:992-999.
6. **Klawansky, S.; Komaroff, E.; Cavanaugh, P.F. Jr. y col.** Relationship between age, renal function and bone density in the US population. Osteoporosis Int 2003; 14:570-576.
7. **Negri, A.L.; Lombas, C. y Zanchetta, J.R.** Relación entre función renal y densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas que realizan evaluación de masa ósea. Nefrología (en Prensa)
8. **Kasiske, B.L.; Chavers, B.; Rosenberg, M. y col.** Clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. Am J Kidney Dis 2003; 24 (suppl 3): S12.
9. **Vieth, R.; Ladak, Y.; Walfish, P.G.** Age-related changes in the 25-hydroxyvitamin D versus parathyroid hormone relationship suggest a different reason why older adults require more vitamin D J Clin Endocrinol Metab 2003; 88:185-191.
10. **Oliveri, B.; Plantalech, L.; Bagur, A. y col.** High prevalence of vitamin D insufficiency in healthy elderly people living at home in Argentina. Eur J Clin Nutr. 2004; 58(2):337-42.
11. **Plantalech, L.; Knoblovits, P.; Cambiazzo, E. y col.** Hypervitaminosis D in institutionalized elderly in Buenos Aires. Medicina (B Aires). 1997; 57(1):29-35.
12. **Liberman, U.A.; Weiss, S.R.; Broll, J. y col.** Effects of alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. N Engl J Med 1995; 333:1437-1443.
13. **Cummings, S.R.; Black, D.M.; Thompson, D.E. y col.** Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. JAMA. 1998; 280(24):2077-82.
14. **Black, D.M.; Cummings, S.R.; Karpf, D.B. y col.** Randomized trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Lancet 1996; 348:1535-1541.
15. **Schnitzer, T.; Bone, H.G.; Crepaldi, G. y col.** Therapeutic equivalence of alendronate 70 mg once-weekly and alendronate 10 mg daily in the treatment of osteoporosis. Aging Clin Exp Res 2000; 12:1-12.
16. **Pols, H.A.; Felsenberg, D.; Hanley, D.A. y col.** Multinational, placebo-controlled, randomized trial of the effects of alendronate on bone density and fracture risk in postmenopausal women with low bone mass: results of the FOSIT study. Foxamax International Trial Study Group. Osteoporos Int. 1999;9(5):461-8.
17. **Harris, S.T.; Watts, N.B.; Genant, H.K. y col.** Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. JAMA 1999; 282(14):1344-52.
18. **McClung, M.R.; Geusens, P.; Miller, P.D. y col.** Hip Intervention Program Study Group. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. Hip Intervention Program Study Group. N Engl J Med. 2001;344(5):333-40
19. **Odvina, C.V.; Zerwekh, J.E.; Rao, D.S. y col.** Severely suppressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy. J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90(3): 1294-301
20. **Coen, G.; Ballanti, P.; Bonucci, E. y col.** Renal osteodystrophy in predialysis and hemodialysis patients: comparison of histologic patterns and diagnostic predictivity of intact PTH. Nephron. 2002 ; 91(1):103-11.
21. **Meunier, P.J.; Roux, C.; Seeman, E. y col.** The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. N Engl J Med 2004; 350:459-68.
22. **Marshall, J.H.; Lloyd, E.L.; Rundo, J. y col.** Alcaline earth metabolism in adult man. A report prepared by a task group of committee 2 of International Commission on Radiological Protection (ICRP publication 20) Health Phys 1973; 24:129-221.
23. **D'Haese, P.C.; Schrooten, I.; Goodman, W.G. y col.** Increased bone strontium levels in hemodialysis patients with osteomalacia. Kidney Int. 2000 Mar;57(3):1107-14.
24. **Schrooten, I.; Behets, G.J.; Cabrera, W.E. y col.** Dose-dependent effects of strontium on bone of chronic renal failure rats. Kidney Int. 2003; 63(3):927-35.

Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo Vol 43 • No. 1
Copyright © 2006 por la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo

REVISIÓN

Síndrome de Klinefelter: Viejos y nuevos conceptos.

Klinefelter syndrome: old and new concepts.

Aszpis, S.; Gottlieb, Silvia; Knoblovits, P.; Pacenza, N.; Pasqualini, Titania; Rey, R.; Stewart Usher, J.

Departamento de Andrología de la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo.

Resumen

El síndrome de Klinefelter es un hipogonadismo primario, resultado de una polisomía del cromosoma X en el varón, y se caracteriza por la presencia de ginecomastia, testículos pequeños, azoospermia y aumento de FSH. La constitución cromosómica es, en la mayoría de los casos, 47,XXY en forma homogénea y, en una minoría, se presenta en mosaico con otras líneas celulares normales o anormales. El fenotipo puede ser variable, dependiendo del grado de deficiencia androgénica experimentada por el paciente. En esta revisión, se abordan diferentes aspectos del síndrome de Klinefelter: diagnóstico prenatal, manifestaciones clínicas en la infancia y adolescencia, su relación con el cáncer, las enfermedades autoinmunes y el metabolismo óseo, nuevos conceptos relacionados con la fertilidad en estos pacientes y el abordaje terapéutico del hipoandrogenismo.
(Rev Argent Endocrinol Metab 43:22-39, 2006)

Abstract

Klinefelter syndrome is a disorder characterised by primary male hypogonadism resulting from an X-chromosome polysomy. The main clinical features are gynaecomastia, small testes, azoospermia and high FSH levels. The karyotype is in the vast majority of cases 47,XXY, whereas in a small proportion of patients it may present as a mosaicism including normal and/or abnormal lineages. The phenotype may vary according to the degree of androgen deficiency. In this review, we make a critical appraisal of different issues related with Klinefelter syndrome: prenatal diagnosis, clinical manifestations during childhood and adolescence, the association between Klinefelter syndrome and cancer, autoimmune disorders and bone metabolism, as well as new aspects of fertility and therapeutic management.
(Rev Argent Endocrinol Metab 43:22-39, 2006)

Introducción

En 1942, Harry Klinefelter y col. describen un síndrome hallado en 9 pacientes de sexo masculino de 17 a 38 años de edad con ginecomastia bilateral, testículos pequeños, azoospermia y aumento de FSH [(1)]. En 1956, en 7 hombres con características fenotípicas del síndrome de Klinefelter (SK), se halló cromatina sexual femenina o cuerpos de Barr en la mucosa oral y tejido epidérmico, postulándose que podría corresponder a un cariotipo 47,XXY [(2)]. En 1959, Jacobs y Strong [(3)] describen un paciente con síndrome de Kli-

Dirección Postal: SAEM. Díaz Vélez 3889 - C1200AAF Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Palabras clave: hipogonadismo; disgenesia gonadal; infertilidad; ginecomastia; cáncer.
Key words: hypogonadism; gonadal dysgenesis; infertility; gynaecomastia; cancer.
Recibido: 26-12-05 **Aprobado:** 15-03-06

nefelter y cariotipo 47,XXY, estableciéndose así el cariotipo característico de este síndrome. La constitución cromosómica es, en la mayoría de los casos, la disomía del X (47,XXY) en forma homogénea (SK no masaico) y, en una minoría, en forma no homogénea, es decir que se presenta en mosaico con otras líneas celulares normales o anormales (SK mosaicos). Previo a la disponibilidad del estudio del cariotipo, la realización de la cromatina sexual fue el método de elección para confirmar el presunto síndrome.

El fenotipo es muy variable y depende del inicio y grado de deficiencia androgénica experimentada por el paciente. En algunos, la deficiente virilización comienza a temprana edad por severa disfunción del eje androgénico con gonadotrofinas elevadas, niveles subnormales de testosterona y signos de insuficiencia androgénica. En este grupo, la mayoría de los pacientes tienen testículos pequeños y son azoospérmicos. En el otro extremo están los que pasan desapercibidos hasta la vida adulta en que consultan por infertilidad y azoospermia. Estos varones están bien masculinizados.

Diagnóstico prenatal del síndrome de Klinefelter

Se estima que el 47,XXY es la anomalía de los cromosomas sexuales más común. En un estudio realizado en Dinamarca que describe la prevalencia de SK prenatal y posnatal, se observó que, entre 1970 y 2000, 163 fetos fueron diagnosticados con cariotipo del SK entre 76.526 exámenes prenatales de fetos masculinos, correspondiendo a una prevalencia de 213 por 100.000. Extrapolado a toda la población de varones recién nacidos vivos, resultó en una prevalencia de 153 por 100.000 (1/667) varones [4]. Estos valores están dentro del rango hallado en otros estudios, que varía entre 85 y 223/100.000 varones [5-12]. No se diagnosticaron falsos positivos del síndrome de Klinefelter [4].

También se pueden observar otras cromosomopatías como 48,XXXY, 49,XXXXY y mosaicos con una línea 47,XXY, siendo la incidencia de estas variantes más baja [13]. Los efectos en el desarrollo físico y mental aumentan al aumentar el número de cromosomas X extra y cada cromosoma X extra reduce el coeficiente intelectual en un promedio de 15 a 16 puntos, siendo el lenguaje, el área más afectada [14, 15].

El estudio cromosómico es necesario para el diagnóstico. En el SK, el cromosoma adicional se origina de la no disyunción durante las divisiones meióticas que ocurren en el desarrollo de las células germinales paterna o materna, o en las divisiones mitóticas durante la vida embrionaria temprana. Las alteraciones a nivel de la meiosis son predominantes, siendo 53% de origen paterno por errores en la meiosis I, 43% de origen materno por errores en la meiosis I o menos frecuentemente en la meiosis II y el restante 3% de origen materno por errores mitóticos poscigóticos tempranos [16, 17]. No existe evidencia que la no disyunción pueda repetirse en una familia particular.

Aunque se ha reportado que la edad paterna no está relacionada con la falla meiótica [18, 19], otros autores hallaron que a mayor edad paterna la frecuencia de no disyunción aumenta [20, 21]. Por otro lado, Bernardini y col. [22] hallaron que en hombres entre 28-54 años con buena calidad de esperma, la edad paterna no tenía efecto sobre la aneuploidía en el mismo. Sin embargo, a medida que disminuía la calidad del semen (número total de espermatozoides menor de 5 x 106), la aparición de no disyunciones para distintos cromosomas aumentaba. Entre los casos de origen materno, no se halló asociación con la edad en algunos estudios [23], y sí en otros [4, 18, 24], siendo el efecto limitado a los errores en la meiosis I; aquellos originados por errores en la meiosis II parecen ser independientes de la edad materna [25]. Hook [26] publicó las estimaciones de riesgo de todas las anormalidades citogenéticas clínicamente significativas en recién nacidos vivos dividida en intervalos de un año de edad materna entre 15 a 49 años y halló que el síndrome de Down era la más frecuente. Sin embargo, el riesgo de otras anormalidades citogenéticas aumentaba también con la edad materna de tal forma que de un riego de 2 por 1000 (1/500) a la edad materna más joven, aumentaba a 2.6 por 1000 (1/270) a los 30 años, 5.6 por 1000 (1/80) a los 35 años; 15.8 por 1000 (1/60) a los 40 años; y 53.7 por 1000 (1/20) a los 45 años.

Actualmente la indicación de realizar cariotipo prenatal está cambiando, ya que se basa en los hallazgos ecográficos patológicos y el triple test (niveles circulantes maternos de a-feto-proteína, estriol no conjugado y hCG), más que en la edad materna (>35 años). En el SK no hay hallazgos ecográficos ni marcadores bioquímicos que lo caractericen. En

consecuencia, al disminuir la indicación de pesquisa de cromosomopatías mediante el estudio del cariotipo, podría disminuir con el tiempo el número de diagnósticos prenatales del SK.

Los exámenes prenatales pueden ser útiles para diagnosticar alteraciones del cariotipo, relacionado con los cromosomas sexuales para dar tratamiento y consejos tempranos. En pacientes con SK, pueden proveer una guía apropiada a padres y maestros frente a dificultades en el lenguaje y en el desempeño escolar, o a distress psicológico y social [27-29]. También permiten suplir con testosterona desde la pubertad temprana, asegurando un buen desarrollo de las características sexuales secundarias y un buen pico de masa ósea [30], y mejorando la atención, la autoestima y las funciones cognitivas [31, 32].

Actualmente, se está desarrollando la metodología para el aislamiento y análisis de células fetales en la sangre materna durante el embarazo como método de diagnóstico prenatal no invasivo. En primera instancia se trató de determinar el sexo fetal mediante la obtención de muestras de sangre periférica materna con la detección y análisis de los glóbulos rojos nucleados fetales (epsilon-haemoglobin-chain positive fetal nucleated red blood cells [NRBCs]) colectados con un micromanipulador. Se pudo determinar, de esta manera, el sexo fetal en 11 de 14 casos, entre ellos 2 casos con SK 47,XXY [33].

Solamente 1/4 de los adultos con SK son diagnosticados, correspondiendo a una prevalencia entre hombres adultos de 25 a 54 años de 35-40/100.000 [4]. Menos del 10% se diagnostica entre los 10-14 años [4, 34], probablemente porque los varones prepuberales con SK no presentan características clínicas prominentes y la mayoría de los diagnósticos posnatales se realizan por infertilidad o hipogonadismo [34].

Las anormalidades de los cromosomas sexuales, como grupo, son tan comunes como el síndrome de Down, pero la mayoría de los sujetos afectados nunca son identificados. Los fetos afectados se diagnostican cuando las mujeres realizan el estudio cromosómico prenatal para descartar síndrome de Down. Un estudio sistemático de lo publicado demostró que mientras 91-93% de los embarazos diagnosticados con síndrome de Down terminan en aborto provocado, alrededor de 50-66% de los diagnosticados con síndrome de Klinefelter abortan [35]. En otras patologías, la tasa de aborto provocado varía: espina bífida, 64%; síndrome de Turner, 72%; anencefalia, 84%. Esto fue similar en las décadas de 1980 y 1990 [35]. En este sentido es bueno recordar que el riesgo de aborto espontáneo ocurrido en algún momento después de amniocentesis es de 0.85%, sin injurias fetales. Sin embargo, se observaron grandes diferencias en la frecuencia de abortos provocados luego de un diagnóstico prenatal del SK según los países: así, en Dinamarca 70% terminaron en aborto [4], mientras que en Alemania, de 55 parejas con polisomía de un cromosoma sexual, sólo 12,7% abortaron [36]. Se consideró que las diferencias culturales en la percepción parental de las polisomías de los cromosomas sexuales y la pecularidad del consejo genético en la institución pudieron jugar un rol. De hecho se observó gran variación en lo que diferentes profesionales de la salud conocen, piensan, y dicen de las anomalías cromosómicas sexuales y la mayoría de las parejas con un cromosoma sexual extra continuaron el embarazo, después de buscar una entrevista con un genetista clínico [37-39]. En este sentido, se observó que el embarazo del feto afectado tenía aproximadamente 2,5 más posibilidades de continuar cuando el consejo genético era entregado por un genetista clínico.

Síndrome de Klinefelter en la niñez y adolescencia

El SK es raramente diagnosticado en la infancia porque los signos clínicos son escasos.

Las formas más frecuentes de sospechar el diagnóstico son [15]:

- *En la etapa prenatal*, por amniocentesis.
- *En la infancia*, por criptorquidia, por dificultades de aprendizaje, trastornos de conducta.
- *En la adolescencia*, por la discordancia entre un desarrollo adecuado de los genitales externos y un volumen testicular disminuido, ginecomastia, hábito eunucoide, talla alta.

Características somáticas:

En la infancia, se puede observar hipoplasia mediofacial y un perímetro cefálico en percentilo más bajo que el correspondiente a la talla. La espalda puede ser angosta y las caderas anchas. Pueden observarse disminución del tono muscular [40], escoliosis y cifosis secundarias a hiperlaxitud ligamentaria,

costillas anómalas, sacralización de las últimas vértebras lumbares, pectum carinatum, pectum excavatum, pie plano, pies angostos, clinodactilia y alteraciones del 5º metatarsiano o 5º metacarpiano [41].

Entre los 5 y los 8 años, la velocidad de crecimiento puede incrementarse debido a un mayor aumento de longitud de los miembros inferiores. El empuje puberal no difiere del de la población normal. Estos pacientes tienen una talla final media o alta. Inversamente a lo que se observa en el hábito eunucoide típico, en pacientes con SK la longitud de los miembros superiores no está aumentada, por lo cual la brazada no excede a la talla [17].

Función gonadal:

Durante la infancia normal, el testículo se caracteriza por una escasa funcionalidad del intersticio (células de Leydig) y una intensa actividad de los túbulos seminíferos: existe una importante proliferación de las células germinales premeióticas (espermatogonias) y de las células de Sertoli, así como una marcada capacidad secretoria de hormona antimülleriana (AMH) e inhibina B. El incremento del volumen testicular durante la infancia, si bien importante en término relativos, es pequeño en términos absolutos, por lo cual resulta prácticamente imperceptible a la palpación. La evaluación de la función endocrina de las gónadas se basa en la determinación de AMH e inhibina B en condiciones basales, que reflejan la actividad de las células de Sertoli. La valoración de la función intersticial requiere la utilización de una prueba de estimulación con gonadotrofina coriónica (hCG).

En pacientes con SK, la criptorquidia es más frecuente (aproximadamente 1/100) que en la población normal (aproximadamente 1/500-1/1000) [42]. La histología testicular en pacientes criptórquidos con SK muestra una menor cantidad de células germinales desde la infancia [43-46]. Sin embargo, el volumen testicular y los niveles circulantes de AMH e inhibina B son normales durante la infancia [47-51], lo cual indica que la funcionalidad de las células de Sertoli no está afectada en esta etapa de la vida. Más aún, los niveles de FSH circulantes también son normales hasta el inicio de la pubertad [48, 50]. Por el contrario, la actividad de las células de Leydig parece estar parcialmente afectada, lo que se refleja en niveles más bajos de testosterona, en edades tempranas en algunos pacientes con SK [40, 48, 52]. La subunidad de la inhibina pro-aC, otro marcador del sector intersticial testicular, también está baja en algunos pacientes [50].

Al iniciarse el desarrollo puberal, el número de células germinales se afecta tempranamente, llevando progresivamente a una depleción germinal, principal responsable del pequeño tamaño testicular puberal y adulto [49]. Se afecta también la producción de inhibina B, que cae por debajo de lo normal hasta hacerse indetectable a medida que progresa la pubertad, lo cual va acompañado por un incremento muy significativo de la FSH (15-50 U/l) [47-50]. La AMH, que normalmente disminuye en la pubertad, sufre una caída más espectacular en pacientes con SK, siendo indetectable en la gran mayoría de ellos hacia el final del desarrollo. Estos hallazgos son el reflejo de la hialinización progresiva de los túbulos seminíferos. Los niveles de testosterona aumentan durante la pubertad, logrando el desarrollo de caracteres sexuales secundarios. Sin embargo, en aproximadamente el 40% de los casos la testosterona sérica está por debajo de 300 ng/dl y se acompaña de valores elevados de LH circulante (10-30 U/l) [47-50]. Asimismo, los niveles de pro-aC suelen estar disminuidos. Todo ello indica una disfunción de las células de Leydig, que se intensifica en la vida adulta.

Un 50% de los pacientes con SK 47,XXY y un 25% de los pacientes con mosaicismo desarrollan ginecomastia en la pubertad [53]. El tratamiento sustitutivo con andrógenos no mejora la ginecomastia, e incluso puede agravarla. Esto ocurriría por el aumento en la disponibilidad del sustrato para la aromatización [54].

Desarrollo neurocognitivo:

Los recién nacidos con SK tienen el tono muscular troncal disminuido. En el primer año se observa una disminución de la motricidad gruesa [55]. El coeficiente intelectual se encuentra en el rango normal bajo, con leve afectación del lenguaje (desarrollo tardío del lenguaje, que también se encuentra con más frecuencia en otras cromosomopatías de los cromosomas sexuales como 47, XXX y 47, XYY) y de las funciones de ejecución (resolución de problemas, velocidad de respuesta, planificación). Los trastornos de conducta observados en la infancia incluyen dificultades en las relaciones con sus hermanos y sus pares. Son más lábiles emocionalmente (llanto fácil). Los trastornos psi-

quiátricos son más frecuentes que en varones normales, pero menos que en varones 47,XYY [29].

Síndrome de Klinefelter y cáncer

El SK ha sido asociado a una variedad de neoplasias: hematológicas (leucemias y linfomas), sarcomas, cáncer de mama y tumores de células germinales de localización extragonadal, especialmente mediastinal.

No existen estudios epidemiológicos multicéntricos que demuestren la verdadera incidencia de cáncer en el SK. Lo más aproximado es el trabajo de Hasle y col., quienes efectuaron un estudio de cohorte cruzando información entre el Registro Danés de Citogenética y el Registro Danés de Cáncer [56]. Para determinar el riesgo relativo (RR) se los comparó con el número esperado de casos de cáncer en general y por tejido. Se hallaron 39 casos de cáncer dentro de los 696 hombres con SK (RR 1,1), es decir, una incidencia similar a lo esperado para la población general masculina. Esto fue observado tanto en los pacientes con cariotipo 47,XXY puros como en las otras variedades y mosaicos. El número de casos observados y esperados de los distintos tipos de cáncer, pueden verse en la tabla I.

Cáncer de mama

El cáncer de mama en el hombre ocurre infrecuentemente y representa sólo el 1% de los cánceres de mama (incluyendo hombres y mujeres) y menos del 1,5% de los tumores malignos en el hombre [57].

La asociación entre cáncer de mama y SK fue sugerida por primera vez por Bauer y Erickson en 1955 [58]. Luego, Harnden y col. en 1971 [59] analizaron 150 hombres con cáncer de mama, de los cuales 8 (4,2%) tuvieron cromatina sexual positiva, 18 veces más de lo esperado. Por otro lado, Evans y Crichlow sugirieron un riesgo de cáncer de mama de aproximadamente 3% en los hombres con SK [60]. Sin embargo, en 1997, Hultborn y col. [61], en un estudio con la técnica FISH (fluorescence in situ hybridisation) efectuado en tejidos de 93 pacientes no seleccionados de cáncer de mama, hallaron una prevalencia de SK del 7,5%. Según estos hallazgos, el riesgo de padecer un cáncer de mama en un hombre con SK estaría incrementado 50 veces con respecto al hombre normal. La mayor prevalencia de cáncer de mama en SK en este estudio con respecto a otros anteriores podría justificarse por una mayor sensibilidad de la técnica utilizada y por un promedio de edad mayor. En este estudio, la edad media fue de 72 años, mientras que en el análisis de Evans y Crichlow la media fue de 58 años. Por lo tanto, el aumento de la edad elevaría el riesgo de padecer cáncer de mama en el SK. Dadas estas consideraciones, algunos autores postulan al SK como factor de riesgo de cáncer de mama en el hombre [62].

Tumor de células germinales

Los tumores testiculares asociados al SK son muy raros. Hasta 2001 habían sido publicados sólo 4 casos de seminomas en pacientes con SK [63]. La aparición del tumores de Leydig y de Sértoli asociado al SK es de carácter excepcional [64, 65]. En cambio, hubo varios reportes que sugerían la asociación de SK con tumores de células germinales (TCG) extragonadales, principalmente mediastinales. En un estudio retrospectivo sobre 455 hombres con TCG, hubo 49 casos de presentación extragonadal: 19 mediastinales y 30 retroperitoneales. Dentro de los tumores mediastinales, hubo 4 casos de SK (21%) pero ninguno dentro de los retroperitoneales ni en los 406 casos de tumores testiculares [66]. Nichols y col. [67], sobre 22 pacientes con TCG mediastinales, hallaron 5 pacientes con SK (22,7%). Los 5 eran no seminomatosos y se diagnosticaron a una edad entre 14 y 28 años, similar a lo observado por el estudio danés [56]. Por otro lado, han sido también descriptas localizaciones más raras de TCG en el SK: próstata, cerebro, médula espinal [68-70].

Cáncer hematológico

Han sido descriptos varios reportes de asociación de distintos tipos de leucemias y linfomas en hombres con SK [71-74]. En un trabajo más reciente, sobre 517 casos de leucemia aguda en el hombre, Keung y col. [75] hallaron 2 casos de SK al estudio citogenético. Sin embargo, el trabajo de Hasle y col. no mostró una mayor prevalencia de cáncer hematológico en hombres con este síndrome [56].

Conclusiones

Los hombres con SK no parecen tener mayor prevalencia global de cáncer en relación con la po-

Tabla I. Número de casos de cáncer por sitio específico observado y esperado dentro de los 696 hombres con Síndrome de Klinefelter [56].

Sitio	Observado	Esperado	RR	IC 95%
Todos los sitios	39	35,39	1,1	0,8 - 1,5
Cavidad bucal	1	1,18	0,8	0,0 - 4,7
Aparato digestivo	7	7,74	0,9	0,4 - 1,9
Pulmón	9	5,75	1,6	0,7 - 3,0
Mediastino	4	0,06	66,7	17,9 - 170,7
Mama	0	0,05	-	-
Próstata y testículo	2	3,97	0,3	0,0 - 1,4
Tracto urinario	4	3,73	1,1	0,3 - 2,7
Piel	5	5,16	1,0	0,3 - 2,3
Cerebro	2	1,76	1,1	0,1 - 4,5
Linfomas	2	1,61	1,2	0,1 - 4,5
Leucemias	1	1,45	0,7	0,0 - 3,8
Sarcomas	3	0,8	3,7	0,6 - 11,0

blación general. Dentro de la rareza del cuadro, los pacientes con SK tienen un riesgo incrementado de TCG, especialmente entre las edades de 14 y 30 años. La mayor prevalencia de cáncer de mama en el SK parece darse especialmente en pacientes de edad avanzada. No ha sido demostrada aún una mayor prevalencia de cáncer hematológico en pacientes con SK.

Síndrome de Klinefelter y enfermedades reumáticas autoinmunes

Se ha observado una mayor prevalencia de lupus eritematoso sistémico (LES) y de otras colagenopatías en pacientes con SK que en hombres normales. Los pacientes con SK presentaron niveles significativamente más elevados de IgG, IgA, IgM, IL-2 y IL-4, y de la relación $CD4^+/CD8^+$ [76-79]. Bizzarro y col. [80] observaron que las alteraciones inmunológicas, tanto humorales como celulares, en pacientes con SK que tenían LES o Síndrome de Sjögren eran revertidas con el tratamiento con undecanoato de testosterona, acompañándose de mejoría clínica de los pacientes. Esto fue también observado por otros autores y en otras colagenopatías [81], así como en pacientes con SK sin colagenopatías, cambios que también eran revertidos con la terapéutica androgénica [79].

En un estudio comparativo entre SK, hipogonadismo hipogonadotrófico idiopático (HHI) y normales, se observó que tanto las alteraciones humorales (aumento de IgA, IgM, IgG, IL-2, etc.) como las alteraciones celulares (aumento de los $CD4^+$% y de los $CD19^+$%) eran similares en los pacientes con SK y con HHI. Ello avalaría que estos cambios estarían relacionados al hipogonadismo *per se*. Sólo llamó la atención la mayor prevalencia de anticuerpos anticardiolipina (35%) y de anticuerpos antinuclear extraíble (16%) y, en menor grado, de anticuerpos antiperoxidasa y antiislote, en el SK, no hallado en los pacientes con HHI. Es posible que el mayor nivel de estrógenos observado en los pacientes con SK juegue un rol en la producción de estos autoanticuerpos [82].

En síntesis, los pacientes con SK presentan una mayor prevalencia de enfermedades reumáticas autoinmunes, aparentemente relacionadas con su estado hipogonádico; donde el tratamiento con testosterona mejoraría la evolución de dichas enfermedades.

Otras patologías asociadas

Se ha observado una menor respuesta tiroidea al TSH y una mayor respuesta de TSH al TRH en el SK [83]. Los anticuerpos antiperoxidasa son positivos en-

tre el 5,6 y el 10% de los casos [82, 84]. Sin embargo, Bjöern y col. no hallaron diferencias estadísticamente significativas respecto a la prevalencia de anticuerpos antiperoxidasa o antitiroglobulina, niveles de TSH, ni volumen tiroideo medido por ecografía, cuando compararon pacientes con SK y sujetos normales [85].

Los pacientes con SK pueden tener una mayor incidencia de diabetes tipo I, por el mayor riesgo de padecer patologías autoinmunes, y de diabetes tipo II por mayor prevalencia de obesidad y, por ende, de insulinorresistencia que poseen los pacientes hipogonádicos. Nielsen encontró un 19% de intolerancia a los hidratos de carbono y un 8% de diabetes en estos pacientes [86].

Por otro lado, se ha descripto una mayor frecuencia de úlceras de pierna en pacientes con SK, en quienes se hallaron alteraciones inmunológicas (factor antinúcleo, anticuerpo antifosfolipídico y crioglobulinas) sin insuficiencia venosa demostrable [83, 84]. Es interesante destacar que estas alteraciones se normalizaron luego del tratamiento androgénico, acompañadas de una rápida curación de la úlcera [87].

Síndrome de Klinefelter y hueso

En los varones hipogonádicos es frecuente el compromiso de la mineralización ósea [88]. El hipogonadismo masculino es reconocido como una de las causas principales de osteoporosis secundaria [89]. Sin embargo, esta etiología de la llamada "enfermedad silenciosa" en muchos casos es subdiagnosticada, de allí la importancia de la evaluación sistemática de la densidad mineral ósea (DMO) en todo paciente con un bajo nivel circulante de testosterona.

Las disgenesias gonadales son hipogonadismos congénitos frecuentemente relacionados a anormalidades de los cromosomas sexuales. Como los esteroides sexuales juegan un rol en la adquisición y mantenimiento de la masa ósea, se ha investigado el status óseo en pacientes con disgenesia gonadal, particularmente en los síndromes de Turner y de Klinefelter [90].

Dada la importante prevalencia del SK y de la muy variada forma de presentación, el médico clínico debería familiarizarse con esta entidad, ya que su diagnóstico y tratamiento precoz prevendría el avance de la enfermedad ósea. Si bien la pérdida ósea es una característica menor en el SK, a diferencia del hipogonadismo hipogonadotrófico idiopático (HHI), en quienes se constituye un hallazgo distintivo [90, 91], en el 25% de los pacientes con SK se ha constatado una complicación ósea por menor formación y mayor resorción [92]. Al igual que en el HHI, en el SK la androgenoterapia incrementa la DMO trabecular y cortical [93].

En el SK los niveles séricos de testosterona y de dihidrotestosterona (DHT) son generalmente bajos. Sin embargo, de mantener un perfil esteroideo normal o cursar un hipogonadismo leve, la masa ósea podría estar preservada.

Los estudios histológicos demuestran una pobre función osteoblástica y una baja actividad de la 5α-reductasa. Los ensayos de los marcadores evidencian un incremento del *turnover* óseo. La deficiencia ósea es más marcada a nivel del cuello femoral y parece correlacionar con el nivel plasmático de testosterona y estradiol. Los datos histomorfométricos de biopsias de hueso ilíaco no descalcificado en pacientes con SK muestran el mismo patrón de osteoporosis que en otros pacientes con osteoporosis e hipogonadismo sin alteración genética. De esta forma, se interpreta que el compromiso óseo en el SK se debe al déficit esteroideo y no a la cromosomopatía [93, 94].

Los bajos niveles de testosterona previos o durante la pubertad generan un desarrollo óseo inadecuado y una baja DMO en el SK. Sólo la sustitución precoz con testosterona puede prevenir el déficit mineral óseo. La terapia androgénica tiene efectos favorables en el hueso si se inicia antes de la pubertad; la sustitución tardía ya no afectaría la DMO [30]. Si bien la testosterona puede en el hipogonádico mantener e incrementar la masa ósea especialmente a nivel espinal [96], llamativamente, un alto porcentaje de pacientes con SK mantienen un bajo T-*Score* en los controles densitométricos bajo tratamiento con testosterona [95, 96]. Por otra parte, en el período prepuberal, la terapia combinada con estrógenos y hormona de crecimiento parece beneficiar al paciente [94].

Una vez establecido el diagnóstico de osteoporosis, pueden resultar beneficiosos los bifosfonatos. Ante tal estrategia terapéutica, debe considerarse que la coexistencia de un déficit de vitamina D se opone al efecto antiresortivo de la droga [97].

Fertilidad en pacientes con síndrome de Klinefelter

El SK originalmente descripto por Harry Klinefelter en 1942 presentaba testículos pequeños y azoospermia [1]. En la mayoría de los estudios reportados hasta el presente, la histología testicular del SK revela atrofia del epitelio germinal con hialinización de la pared de los túbulos seminíferos e hiperplasia de las células de Leydig. Como los casos de fertilidad en varones con SK son excepcionales [98], usualmente se consideran estériles. Aproximadamente 11% a 15% de los pacientes con azoospermia y 4% de los varones con oligozoospermia, tienen cromatina sexual positiva con cariotipos XXY homogéneo o en mosaisco. El SK es la causa genética más frecuente en los varones azoospérmicos.

El proceso de depleción de las células germinales observada en la adultez no es total, ya que algunos adultos se convirtieron en padres con ayuda de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) [110-112]. Algunos autores sostienen que la depleción comienza en la infancia y es la responsable de la ausencia o la significativa reducción de las células germinales antes de la pubertad [43-46]. En cambio los pacientes con mosaicismo 46,XY/47,XXY pueden presentar algún grado de espermatogénesis con cuadros variables de oligozoospermia.

A pesar de que los pacientes no mosaicos presentan azoospermia en la gran mayoría de los casos, en algunos pacientes -sobre todo en aquellos menores de 35 años [99]- se pueden recuperar espermatozoides en biopsias de testículos y ser utilizados en un procedimiento ICSI cuando se desea fertilidad. De hecho, esta posibilidad ha cambiado sustancialmente el pronóstico en cuanto a la fertilidad futura del varón con disomía del X en forma homogénea o no homogénea [100]. Damani y col. [101] proponen, como estrategia para preservar la fertilidad futura de los varones con SK, la criopreservación de biopsias testiculares en edad peripuberal cuando todavía no se ha acentuado la depleción de las células germinales. Normalmente está estimado que el comienzo promedio de la liberación de espermatozoides ocurre a los 13,4 años, estadio de Tanner 2-3 con volumen testicular de 11,5 ml, siendo el estadio 2 como el más precoz reconocido en la espermarca [102]. En los niños con SK, el volumen testicular aumenta hacia la mitad del desarrollo puberal para luego detenerse, fenómeno que coincide con la aparición del hipergonadotrofinismo. Es posible que en la época en que los varones normales comiencen con su espermarca la función testicular de los varones SK sea relativamente normal. Wikström y col. [49] encontraron que el 50% de los adolescentes con SK estudiados tenían células germinales y que la depleción de las mismas se aceleraba con el comienzo de la pubertad. Si bien hallaron detención en espermatogonias de tipo A, la maduración *in vitro* de esas espermatogonias hasta espermatozoides o espermátides elongadas podrían ser de utilidad para los procedimientos ICSI [103].

¿Pueden las espermatogonias XXY completar la meiosis y generar espermatozoides haploides?

Durante muchos años se dudó sobre la posibilidad de que las células germinales XXY pudieran transcurrir la meiosis y producir espermatozoides maduros. En 1969 Skakkebæk y col. [104] sugieren que esto es posible. Estop y col. [105] confirman esta hipótesis en 1998, estudiando la constitución cromosómica de espermatozoides eyaculados de un paciente con SK no mosaico. Aplicando la técnica de FISH con sondas específicas para marcar los cromosomas sexuales, encontraron que 50% de los espermatozoides de este paciente eran haploides (23,X o 23,Y), y 50% anueploides (25% 24,XY, 4,2% 24,XX y 20% con 22 autosomas y sin cromosomas sexuales). En contraste, en sujetos normales la posibilidad de hallar espermatozoides con el patrón 24,XY fue 0,18% y en pacientes con SK mosaico, de 0,9 a 2,10% [106-108]. Lo que proponen Estop y col. [105] es que en el espermatocito primario XXY, son los cromosomas X los que se aparean, produciéndose segregación aleatoria del univalente Y, originado así espermatozoides haploides e hiperaploides. Pero cabe preguntarse si los espermatozoides haploides de pacientes con SK no mosaico son el fruto de la meiosis de una espermatogonia normal, o sea que esos varones en realidad sean mosaicos a nivel gonadal con una línea normal. El estudio de Foresta y col. [109] responde tal vez esa pregunta. Ellos estudian a 10 pacientes infértiles con SK no mosaico. Analizan la constitución cromosómica testicular por FISH en muestras citológicas obtenidas por punción con aguja fina de los testículos de estos pacientes. En todos los pacientes, el 100% de las células de Sertoli fueron 47,XXY. En los dos pacientes con es-

permatogénesis completa hallaron el mismo patrón tanto en las espermatogonias como en los espermatocitos primarios. En cambio, el análisis de los espermatocitos secundarios, espermátides y espermatozoides mostró diferentes constituciones en cuanto a los cromosomas sexuales, siendo un 30% de las espermátides 24,XY o 24,XX, por lo que los autores infirieron que probablemente su origen fuera a partir de espermatogonias 47,XXY.

¿Cuál es la probabilidad de encontrar espermatozoides intratesticulares en biopsias de pacientes con SK no mosaico?

Como hemos visto antes, la mayor parte de los pacientes con SK presentarán azoospermia, es decir, ausencia de espermatozoides en eyaculado. Hoy sabemos que es posible recuperar espermatozoides del testículo (extracción testicular de espermatozoides - TESE) para intentar la fertilización ovocitaria mediante técnicas de fertilidad asistida (ICSI). Distintos autores publicaron su experiencia en este campo. Intentaremos resumir los resultados de las series que reportaron resultados con mayor número de pacientes.

En 1997 Tournaye y col. [110] comunican su experiencia en 15 pacientes con SK no mosaico en quienes emplearon la técnica de TESE. Encontraron espermatozoides maduros intratesticulares en 8 de 15 pacientes (53.3%). En 5 de los pacientes se utlizaron los espermatozoides para ICSI. Se consiguieron tres embarazos, uno fue de diagnóstico bioquímico y los otros dos llegaron a término.

Friedler y col. [111] reportan sus resultados en el año 2001 sobre 12 pacientes con SK no mosaico diagnosticado por estudio citogenético de 30 metafases de linfocitos de sangre periférica. Si bien 2 pacientes de los 12 presentaban espermatozides inmóviles en el semen, en todos se intentó fertilización a través de las técnicas de TESE-ICSI. Se encontraron espermatozoides testiculares en 5 de 12 pacientes (42%). Luego de más de un ciclo de ICSI por cada pareja, se consiguió embarazo en 5 de ellas (4 fueron embarazos progresivos y uno resultó en un aborto espontáneo temprano).

En el año 2002, Magdar y col. [112] publican sus resultados sobre una población de 20 pacientes azoopérmicos con SK no mosaico. El diagnóstico fue realizado por cariotipo con técnicas de bandeo realizado en preparaciones de sangre periférica. De los 20 pacientes, 8 tuvieron confirmación diagnóstica por el análisis de 500 celulas de sangre periférica mediante técnica de hibridización *in situ* con fluorescencia (FISH). Utilizando técnicas de TESE encontraron espermatozoides en 9 pacientes (45%). Cuatro parejas (25%) consiguieron embarazo.

La experiencia más importante es comunicada en 2005 por Schiff y col. [113]. Estos autores reportan sus resultados luego de la aplicación de las técnicas de TESE-ICSI en 42 parejas con infertilidad por factor masculino debido a SK no mosaico, diagnosticado por análisis citogeneético de por lo menos 50 células. Encontraron espermatozoides testiculares en casi 70% de los pacientes. Se lograron 18 embarazos sobre 39 (46%) procedimeintos exitosos de TESE realizados. Cabe mencionar que en este trabajo se realizó tratamiento con inhibidores de la aromatasa (anastrazole o testolactona) durante dos a tres meses antes del TESE, en pacientes cuya testosterona sérica total fuera menor de 15.6 nmol/l (equivalente a 4.5 ng/ml) o cuyo ratio testosterona/estradiol fuese menor de100. En caso de no conseguir la elevación de testosterona con este esquema de tratamiento, se suministraba gonadotrofina coriónica humana. Los autores sostienen que este esquema de tratamiento es útil para la estimulación de la producción endógena de testosterona.

En base a las experiencias resumidas la probabilidad de encontrar espermatozoides en biopsias testiculares de pacientes con SK no mosaico está entre 40 y 70%. Este porcentaje es similar al observado en la población general de pacientes infértiles con azoospermia no obstructiva [112].Es necesrio confirmar aún si el pretratamiento con inhibidores de la aromatasa o antiestrógenos como el clomifieno permiten una mayor porcentaje de éxito del TESE.

Westlander y col. [114] evaluaron elementos clínicos y estudios complementarios que pudieran predecir la posibilidad de recuperación espermática en 19 pacientes con SK no mosaico. Ni el volumen testicular, ni los niveles de testosterona o FSH, ni la ecogenicidad testicular o los parámetros de flujo vascular (doppler) fueron distintos en pacientes con o sin recuperación. Cabe mencionar que en este estudio se pudo recuperar espermatozoides sólo en el 21% de los pacientes (4 de 19). Friedler y col [111] tampoco encuentran factores que puedan predecir la recuperación espermática.

Algunos pacientes con SK pueden necesitar sustitución con testosterona, que ejerce un feedback negativo sobre la secreción gonadotrófica. Es por lo tanto recomendable: a) realizar un espermograma antes de la sustitución, para conocer el estado basal de espermatogénesis en cada paciente y b) suspender el reemplazo hormonal con suficiente antelación antes de realizar la búsqueda de espermatozoides en testículo.

Probabilidad de recuperación de espermatozoides en SK mosaico

Aproximadamente 15% de los pacientes con SK son mosaicos XXY/XY. La expresión fenotípica de este tipo de mosaico es muy variada, desde la normal hasta el cuadro florido que permite su detección bien temprana. La calidad del semen también varía desde una oligozoospermia moderada a azoospermia. Por lo tanto, el hallazgo del mosaico de ninguna manera pronostica fertilidad, sino la calidad espermática del portador.

Yamamoto y col. [115] describen un incremento de espermatozoides 24,XX y 24,XY tanto en pacientes mosaicos como no mosaicos. En SK mosaico el porcentaje de hiperhaploidías sexuales varió de 0,9% a 7,5%, mientras que en los varones normales no superó 0,4%.

¿Cómo es la descendencia de los varones XXY?

Desde un punto de vista teórico, si las espermatogonias 47,XXY lograran transcurrir todo el proceso meiótico darían lugar al 50% de los espermatozoides con aneuploidías de los cromosomas sexuales. Por lo tanto, desde lo teórico sería esperable que un 50% de los descendientes tengan anomalías de los cromosomas sexuales. Pero la prevalencia de anomalías cromosómicas en espermatozoides recuperados de testículos de pacientes con SK no mosaico es mucho más baja y similar a la encontrada en SK mosaicos. Levron y col. [116] comunicaron una prevalencia de anomalías de cromosomas sexuales de 7% al estudiar a 5 pacientes SK no mosaicos. Es de hacer notar que también se ha encontrado una tasa aumentada de anomalías de cromosomas sexuales en espermatozoides recuperados de testículo de pacientes con azoospermia no obstructiva de causa no cromosómica. Según el estudio de Foresta y col. [109], un 30% de los espermatozoides tenían aneuploidías de los cromosomas sexuales. Este trabajo no es concluyente que las espermatogonias XXY puedan completar la meiosis ni que el porcentaje de espermátides y espermatozoides aneuploides sea una prueba de que derivan de espermatogonias XXY. Al respecto, cabe señalar que los estudios por FISH en espermatozoides intratesticulares de varones azoospérmicos con cariotipos somáticos normales también se caracterizan por una alta tasa de anomalías cromosómicas [117-119]. Además, la mayoría de los niños nacidos de padres con SK no mosaico fue normal. A la fecha se han comunicado 39 nacidos, 22 niños, 13 niñas y 4 sin documentar. Solamente se ha documentado un feto 47,XXY en el diagnóstico prenatal de un embarazo de trillizos y los padres optaron por el aborto genético selectivo [120]. Excluimos del análisis al trabajo de Schiff y col. [113] pues no comunican el cariotipo de los niños. Por lo tanto, el hallazgo de 1 en 40 parecería indicar un mayor riesgo, pero en rigor a la verdad no se ha documentado el origen parental de la no disyunción y el bajo número de casos comunicados no nos permite aún contar con un riesgo empírico de aneuploidías para descendientes de padres con SK. Además habría que tener en cuenta que el procedimiento ICSI *per se* tiene un mayor riesgo de anomalías cromosómicas de novo (1,6% vs. 0,5% documentada en amniocentesis) y transmitidas (1,4% vs. 0,4% documentada en diagnósticos prenatales)[121-123]. Staessen y col. [124], al comunicar los resultados de 32 ciclos de PGD de 20 parejas con espermatozoides recuperados de testículos de pacientes con SK no mosaicos, evidenciaron una mayor tasa de preembriones con aneuploidías sexuales y autosómicas comparado con el hallado en los controles (13,2% y 15,6% vs. 3,1% y 5,2%, respectivamente). Por lo tanto, lo recomendable –si se dispone de la metodología– sería realizar un screening de las aneuploidías cromosómicas sexuales y autosómicas preimplantatoriamente.

Conclusiones

La recuperación de espermatozoides en material testicular de pacientes con SK y su inyección dentro de los ovocitos posibilita hoy que esos pacientes se conviertan en padres genéticos de sus hijos. Los estudios por FISH en espermatozoides extraídos de testículos, de varones con azoospermia no obstructiva no cromosómica o cromosómica, muestran una mayor

tasa de espermatozoides con anomalías numéricas de cromosomas sexuales y autosómicos. Sabemos que para que sea exitosa la fecundación debe recurrirse a un procedimiento ICSI y que si bien los resultados obtenidos son halagüeños, lo recomendable sería el screening previo de las aneuploidías más frecuentes en los preembriones, previo a la transferencia embrionaria.

Como se carece de marcadores predictivos en cuanto al posible hallazgo de espermatozoides intratesticulares, valdría la pena reflexionar sobre la conservación de tejido testicular para preservar la fertilidad en los casos en que el diagnóstico se realiza en período peripuberal.

Tratamiento del síndrome de Klinefelter

El tratamiento consiste en la administración de testosterona con el objetivo de corregir el hipogonadismo, con aumento del vello facial, axilar y pubiano, incremento de la fuerza muscular, aumento de la libido, lograr el máximo pico de densidad ósea y mejorar los estados de ánimo, alcanzando así una mejor calidad de vida [125, 126]. También sirve, como vimos anteriormente, para mejorar algunas enfermedades autoinmunes concomitantes [79, 80].

Aún cuando los pacientes diagnosticados en la edad adulta también se benefician con la terapia androgénica, es conveniente que los pacientes con SK cuya pubertad no progrese adecuadamente comiencen este tratamiento, así experimentan los mismos cambios puberales que sus compañeros de edad [127] y también puedan conseguir el pico máximo de masa ósea [96]. Es frecuente que los pacientes que comenzaron el tratamiento después de los 20 años de edad tengan un menor efecto del mismo sobre su masa ósea que aquellos que lo iniciaron más temprano [128].

Durante mucho tiempo se trató de lograr un sistema ideal de aporte de testosterona. Generalmente es aceptado que la terapia debe liberar cantidades fisiológicas de la hormona (3-10 mg/día) para mantener los niveles plasmáticos de testosterona, DHT y estradiol dentro de rangos fisiológicos normales [129]. Dado que las preparaciones orales de testosterona son inactivadas en el primer pasaje hepático y que los derivados 17α-alquilados son hepatotóxicos, las opciones terapéuticas son las siguientes:

- **Enantato de Testosterona:** es la forma de testosterona más comúnmente usada y con la que se tiene décadas de experiencia. En los hipogonádicos puberales se comienza con dosis de 50 mg por vía IM cada 2 a 4 semanas, incrementando gradualmente de acuerdo a la repuesta madurativa y de laboratorio hasta llegar a los valores de adulto [130]. Las dosis de reemplazo más comunes en adultos son de 100 a 250 mg IM cada 14 a 28 días. Estas dosis pueden llevar a valores suprafisiológicos de testosterona a las 24-48 horas de administrada, seguida habitualmente por una caída a valores subnormales antes de la siguiente aplicación, lo que puede provocar bruscos cambios de ánimo y rendimiento sexual [131, 132].

- **Ésteres de testosterona:** son preparados farmacológicos compuestos por distintas sales de testosterona, con distintas vidas medias: propionato de testosterona 30 mg + fenilpropionato de testosterona 60 mg + isocaproato de testosterona 60 mg + caproato de testosterona 100 mg. Esta forma inyectable también es comúnmente usada, y su dosificación es de 250 mg cada 21 a 28 días.

- **Parche escrotal de testosterona:** consiste en un parche que contiene 15 mg de testosterona; con un buen contacto con la piel entrega alrededor de 6 mg de testosterona diariamente. Tiene como desventaja que solamente se puede aplicar en la piel del escroto, dado que en otros sitios no es efectivo, y que, por la gran actividad de la 5α-reductasa en ese lugar, puede aumentar los niveles de DHT de 4 a 5 veces. Como la DHT pude intervenir en la génesis de patología prostática, su alto costo y las molestias locales que produce han llevado prácticamente a dejar de utilizarlo [133].

- **Parches no escrotales de testosterona:** fueron la segunda generación de los parches de testosterona. Consisten en un reservorio de 12,2 mg de testosterona que, gracias a su mecanismo de disolución, administra alrededor de 2,5 mg/día. Puede ser aplicado en otras partes del cuerpo y debe ser cambiado diariamente. Debido a su tamaño y algunas molestias locales, nunca fueron muy aceptados. Por otro lado, estos parches, como lo anteriores, no están disponibles en nuestro país.

- **Undecanoato de testosterona:** es la única forma actualmente disponible para ser administrada por vía oral. Su absorción se ve dificultada por las grasas de la dieta, lo que sumado a su corta vida media puede llevar a grandes fluctuaciones diarias

de los valores de testosterona circulante. La dosis varía entre 80 y 240 mg repartidos en 3-4 tomas [134].

- Gel hidroalcohólico de testosterona: es la más reciente forma de aplicación. Luego de la aplicación transdérmica diaria de una dosis de 5 g de gel (50 mg de testosterona), se logran valores circulantes normales de testosterona, DHT y estradiol [135]. La aplicación en áreas extensas parece favorecer su absorción [136]. La dosis puede variar entre 25 y 75 mg. Dado que la aplicación es simple y cómoda, evitando las inyecciones, es probable que su uso sea más frecuente en el futuro. Por ahora, los datos clínicos son escasos y no hay experiencias a largo plazo.

- Undecanoato de testosterona en forma inyectable: su presentación comercial en un futuro mejorará la oferta de tratamientos, ya que una sola aplicación de 1000 mg puede mantener estables los niveles de testosterona alrededor de tres meses, sin la aparición de picos suprafisiológicos [137]. Su forma de administración es la siguiente:

• 1 aplicación IM con lo cual se consiguen niveles plasmáticos de T en rango eugonádico luego de 3 días. Se recomienda una 2ª aplicación a las 6 semanas como para completar la saturación (este tiempo puede ser más corto en el caso de pacientes que cambian de otras formas de T) y luego es suficiente una dosis cada 12 semanas [138].

• Deben mantenerse valores de T en el tercio inferior de lo normal, siendo conveniente realizar un control plasmático de T al 6º mes (alrededor de la semana 30).

Para la mayoría de los pacientes la terapia de reemplazo es efectiva y segura. Sin embargo, pueden producirse efectos adversos como acné, incremento excesivo de la libido, priapismo, policitemia, ginecomastia y, en el caso de los adultos, obstrucción urinaria y edemas. Asimismo se ha visto que induce el inicio o agravamiento de la apnea de sueño [139]. A pesar de décadas de investigación, es muy controvertido aún el papel de la testosterona como causante del cáncer de próstata [140, 141]. No obstante, el uso de testosterona en hombres mayores debe ser acompañado por un examen digital y determinación de PSA en sangre por lo menos trimestralmente durante el primer año de tratamiento y anualmente después [142].

Bibliografía

1. **Klinefelter, H.F.; Reifenstein, E.C.; Albright, F.** Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without a-Leydigism, and increased excretion of follicle-stimulating hormone. J Clin Endocrinol Metab 2: 615-627, 1942.
2. **Barr, M.L.; Shaver, E.L.; Carr, D.H. y col.** An unusual sex chromatin pattern in three mentally deficient subjects. J Ment Defic Res 3: 78-87, 1956.
3. **Jacobs, P.A.; Strong, J.A.** A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. Nature 183: 302-303, 1959.
4. **Bojesen, A.; Juul, S.; Gravholt, C.H.** Prenatal and Postnatal Prevalence of Klinefelter Syndrome: A National Registry Study. J Clin Endocrinol Metab 88: 622-626, 2003.
5. **Maclean, N.; Harnden, D.G.; Brown, W.M. y col.** Sex chromosome abnormalities in newborn babies. Lancet 13: 286-290, 1964.
6. **Taylor, A.I.; Moores, E.C.** A sex chromatin survey of newborn children in two London hospitals. J Med Genet 4: 258-259, 1967.
7. **Bochkov, N.P.; Kuleshov, N.P.; Chebotarev, A.N. y col.** Population cytogenetic investigation of newborns in Moscow. Humangenetik 22: 139-152, 1974.
8. **Hamerton, J.L.; Canning, N.; Ray, M. y col.** A cytogenetic survey of 14,069 newborn infants. I. Incidence of chromosome abnormalities. Clin Genet 8: 223-243, 1975.
9. **Ratcliffe, S.H.** Development of children with sex chromosome abnormalities. Proc R Soc Med 69: 189-191, 1976.
10. **Higurashi, M.; Iijima, K.; Ishikawa, N. y col.** Incidence of major chromosome aberrations in 12,319 newborn infants in Tokyo. Hum Genet 46: 163-172, 1979.
11. **Leonard, M.F.; Schowalter, J.E.; Landy, G. y col.** Chromosomal abnormalities in the New Haven newborn study: a prospective study of development of children with sex chromosome

anomalies. Birth Defects Orig Artic Ser 15: 115-159, 1979.
12. **Nielsen, J.; Wohlert, M.** Sex chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. Birth Defects Orig Artic Ser 26: 209-223, 1990.
13. **Linden, M.G.; Bender, B.G.; Robinson, A.** Sex chromosome tetrasomy and pentasomy. Pediatrics 96: 672-682, 1995.
14. **Polany, PE.** Abnormal sex chromosomes, behaviour and menta disorder. In: Tanner JM, ed. Developments in psychiatric research. London: Hodder and Stoughton; 89-128, 1977.
15. **Visootsak, J.; Aylstock, M.; Graham, J.M., Jr.** Klinefelter syndrome and its variants: an update and review for the primary pediatrician. Clin Pediatr (Phila) 40: 639-651, 2001.
16. **Thomas, N.S.; Hassold, T.J.** Aberrant recombination and the origin of Klinefelter syndrome. Hum Reprod Update 9: 309-317, 2003.
17. **Lanfranco, F.; Kamischke, A.; Zitzmann, M. y col.** Klinefelter's syndrome. Lancet 364: 273-283, 2004.
18. **Carothers, A.D.; Filippi, G.** Klinefelter's syndrome in Sardinia and Scotland. Comparative studies of parental age and other aetiological factors in 47,XXY. Hum Genet 81: 71-75, 1988.
19. **Luetjens, C.M.; Rolf, C.; Gassner, P. y col.** Sperm aneuploidy rates in younger and older men. Hum Reprod 17: 1826-1832, 2002.
20. **Griffin, D.K.; Abruzzo, M.A.; Millie, E.A. y col.** Non-disjunction in human sperm: evidence for an effect of increasing paternal age. Hum Mol Genet 4: 2227-2232, 1995.
21. **Eskenazi, B.; Wyrobek, A.J.; Kidd, S.A. y col.** Sperm aneuploidy in fathers of children with paternally and maternally inherited Klinefelter syndrome. Hum Reprod 17: 576-583, 2002.
22. **Bernardini, L.; Borini, A.; Preti, S. y col.** Study of aneuploidy in normal and abnormal germ cells from semen of fertile and infertile men. Hum Reprod 13: 3406-3413, 1998.
23. **Kamischke, A.; Baumgardt, A.; Horst, J. y col.** Clinical and Diagnostic Features of Patients With Suspected Klinefelter Syndrome. J Androl 24: 41-48, 2003.
24. **Ferguson-Smith, M.A.; Yates, J.R.** Maternal age specific rates for chromosome aberrations and factors influencing them: report of a collaborative european study on 52 965 amniocenteses. Prenat Diagn 4: 5-44, 1984.
25. **Thomas, N.S.; Collins, A.R.; Hassold, T.J. y col.** A reinvestigation of non-disjunction resulting in 47, XXY males of paternal origin. Eur J Hum Genet 8: 805-808, 2000.
26. **Hook, E.B.** Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages. Obstet Gynecol 58: 282-285, 1981.
27. **Mandoki, M.W.; Sumner, G.S.; Hoffman, R.P. y col.** A review of Klinefelter's syndrome in children and adolescents. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 30: 167-172, 1991.
28. **Rovet, J.; Netley, C.; Keenan, M. y col.** The psychoeducational profile of boys with Klinefelter syndrome. J Learn Disabil 29: 180-196, 1996.
29. **Ratcliffe, S.** Long term outcome in children of sex chromosome abnormalities. Arch Dis Child 80: 192-195, 1999.
30. **Kubler, A.; Schulz, G.; Cordes, U. y col.** The influence of testosterone substitution on bone mineral density in patients with Klinefelter's syndrome. Exp Clin Endocrinol 100: 129-132, 1992.
31. **Nielsen, J.; Pelsen, B.; Sorensen, K.** Follow-up of 30 Klinefelter males treated with testosterone. Clin Genet 33: 262-269, 1988.
32. **Sorensen, K.** Physical and mental development of adolescent males with Klinefelter syndrome. Horm Res 37 Suppl 3: 55-61, 1992.
33. **Nagy, G.R.; Ban, Z.; Sipos, F. y col.** Isolation of epsilon-haemoglobin-chain positive fetal cells with micromanipulation for prenatal diagnosis. Prenat Diagn 25: 398-402, 2005.
34. **Abramsky, L.; Chapple, J.** 47,XXY (Klinefelter syndrome) and 47,XYY: estimated rates of and indication for postnatal diagnosis with implications for prenatal counselling [see comments]. Prenat Diagn 17: 363-368, 1997.
35. **Mansfield, C.; Hopfer, S.; Marteau, T.M.** Termination rates after prenatal diagnosis of Down syndrome, spina bifida, anencephaly, and Turner and Klinefelter syndromes: a systematic literature review. European Concerted Action: DADA (Decision-making After the Diagnosis of a fetal Abnormality). Prenat Diagn

19: 808-812, 1999.

36. **Meschede, D.; Louwen, F.; Nippert, I. y col.** Low rates of pregnancy termination for prenatally diagnosed Klinefelter syndrome and other sex chromosome polysomies. Am J Med Genet 80: 330-334, 1998.
37. **Abramsky, L.; Hall, S.; Levitan, J. y col.** What parents are told after prenatal diagnosis of a sex chromosome abnormality: interview and questionnaire study. BMJ 322: 463-466, 2001.
38. **Hall, S.; Marteau, T.M.; Limbert, C. y col.** Counselling following the Prenatal Diagnosis of Klinefelter Syndrome: Comparisons between Geneticists and Obstetricians in Five European Countries. Community Genet 4: 233-238, 2001.
39. **Marteau, T.M.; Nippert, I.; Hall, S. y col.** Outcomes of pregnancies diagnosed with Klinefelter syndrome: the possible influence of health professionals. Prenat Diagn 22: 562-566, 2002.
40. **Ross, J.L.; Samango-Sprouse, C.; Lahlou, N. y col.** Early androgen deficiency in infants and young boys with 47,XXY Klinefelter syndrome. Horm Res 64: 39-45, 2005.
41. **Simpson, J.L.; de la, C.F.; Swerdloff, R.S. y col.** Klinefelter syndrome: expanding the phenotype and identifying new research directions. Genet Med 5: 460-468, 2003.
42. **Bergadá, C.; Farías, N.E.; Romero de Behar, B.M. y col.** Abnormal sex chromatin pattern in cryptorchidism, girls with short stature and other endocrine patients. Helv Paediatr Acta 24: 372-377, 1969.
43. **Ferguson-Smith, M.A.** The prepubertal testicular lesion in chromatin-positive Klinefelter's syndrome (primary micro-orchidism) as seen in mentally handicapped children. Lancet 1 (7066): 219-222, 1959.
44. **Mikamo, K.; Aguercif, M.; Hazeghi, P. y col.** Chromatin-positive Klinefelter's syndrome. A quantitative analysis of spermatogonial deficiency at 3, 4, and 12 months of age. Fertil Steril 19: 731-739, 1968.
45. **Gottlieb, S.E.; Chemes, H.; Vilar, O. y col.** [The prepubertal testis in Klinefelter's syndrome. Histological and endocrinological study]. Medicina (B Aires) 43: 495-501, 1983.
46. **Müller, J.; Skakkebæk, N.E.; Ratcliffe, S.G.** Quantified testicular histology in boys with sex chromosome abnormalities. Int J Androl 18: 57-62, 1995.
47. **Christiansen, P.; Andersson, A.M.; Skakkebæk, N.E.** Longitudinal Studies of Inhibin B Levels in Boys and Young Adults with Klinefelter Syndrome. J Clin Endocrinol Metab 88: 888-891, 2003.
48. **Lahlou, N.; Fennoy, I.; Carel, J.C. y col.** Inhibin B and Anti-Mullerian Hormone, but not testosterone levels, are normal in infants with non-mosaic Klinefelter Syndrome. J Clin Endocrinol Metab 89: 1864-1868, 2004.
49. **Wikström, A.M.; Raivio, T.; Hadziselimovic, F. y col.** Klinefelter Syndrome in adolescence: Onset of puberty is associated with accelerated germ cell depletion. J Clin Endocrinol Metab 89: 2263-2270, 2004.
50. **Rey, R.; Bastida, M.G.; Bedecarrás, P. y col**. Klinefelter syndrome: Assessment of Sertoli and Leydig cell endocrine function in childhood and adolescence. Horm Res 64 (suppl. 1): 125, 2005. (abstract)
51. **Bastida, M.G.; Bergadá, I.; Andreone, L. y col.** Síndrome de Klinefelter: evaluación de la función endocrina de las células de Leydig y Sertoli en la infancia y adolescencia. Revista Argentina de Andrología 14: 79-89, 2005.
52. **Sorensen, K.; Nielsen, J.; Wohlert, M. y col.** Serum testosterone of boys with karyotype 47,XXY (Klinefelter's syndrome) at birth. Lancet 2: 1112-1113, 1981.
53. **Becker, K.L.; Hoffman, D.L.; Underdahl, L.O. y col.** Klinefelter's syndrome. Clinical and laboratory findings in 50 patients. Arch Intern Med 118: 314-321, 1966.
54. **Griffin, J.E, Wilson, J.D.** Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, eds. Williams Textbook of Endocrinology. Philadelphia, USA: WB Saunders Co; 819-830, 1998.
55. **Samango-Sprouse, C.** Mental development in polysomy X Klinefelter syndrome (47,XXY; 48,XXXY): effects of incomplete X inactivation. Semin Reprod Med 19: 193-202, 2001.
56. **Hasle, H.; Mellemgaard, A.; Nielsen, J. y col.** Cancer incidence in men with Klinefelter syn-

drome. Br J Cancer 71: 416-420, 1995.
57. **Crichlow RW, Evans DB.** Cancer in the male breast. In: Ariel IM, Cleary JB, eds. Breast cancer: diagnosis and treatment. New York (USA): McGraw-Hill; 516-528, 1987.
58. **Bauer, D.D.; Erickson, R.L.** Male breast cancer; Klinefelter syndrome with prostatic, adrenal and mammary tumors. Northwest Medicine 54: 472-476, 1955.
59. **Harnden, D.G.; Maclean, N.; Langlands, A.O.** Carcinoma of the breast and Klinefelter's syndrome. J Med Genet 8: 460-461, 1971.
60. **Evans, D.B.; Crichlow, R.W.** Carcinoma of the male breast and Klinefelter's syndrome: is there an association? CA Cancer J Clin 37: 246-251, 1987.
61. **Hultborn, R.; Hanson, C.; Kopf, I. y col.** Prevalence of Klinefelter's syndrome in male breast cancer patients. Anticancer Res 17: 4293-4297, 1997.
62. **Giordano, S.H.; Buzdar, A.U.; Hortobagyi, G.N.** Breast Cancer in Men. Ann Intern Med 137: 678-687, 2002.
63. **Kurabayashi, A.; Furihata, M.; Matsumoto, M. y col.** Primary intrapelvic seminoma in Klinefelter's syndrome. Pathology International 51: 624-628, 2001.
64. **Soria, J.C.; Durdux, C.; Chretien, Y. y col.** Malignant Leydig cell tumor of the testis associated with Klinefelter's syndrome. Anticancer Res 19: 4491-4494, 1999.
65. **Gottlieb, S., Rey, R., Venara, M. y col.** Sertoli cell tumor associated with Klinefelter's syndrome. In: Proceedings VII International Congress of Andrology, Montréal, Canada; abstr. 201, p. 9, 2001.
66. **Dexeus, F.H.; Logothetis, C.J.; Chong, C. y col.** Genetic abnormalities in men with germ cell tumors. J Urol 140: 80-84, 1988.
67. **Nichols, C.R.; Heerema, N.A.; Palmer, C. y col.** Klinefelter's syndrome associated with mediastinal germ cell neoplasms. J Clin Oncol 5: 1290-1294, 1987.
68. **Namiki, K.A.; Tsushiya, A.K.I.R.; Noda, K.E. y col.** Extragonadal germ cell tumor of the prostate associated with Klinefelter's syndrome. International Journal of Urology 6: 158-161, 1999.
69. **Ganslandt, O.; Buchfelder, M.; Grabenbauer, G.G.** Primary spinal germinoma in a patient with concomitant Klinefelter's syndrome. Br J Neurosurg 14: 252-255, 2000.
70. **Kaido, T.; Sasaoka, Y.; Hashimoto, H. y col.** De novo germinoma in the brain in association with Klinefelter's syndrome: case report and review of the literature. Surg Neurol 60: 553-558, 2003.
71. Groupe Français de Cytogénétique Hématologique Cytogenetic findings in leukemic cells of 56 patients with constitutional chromosome abnormalities. A cooperative study. Cancer Genet Cytogenet 35: 243-252, 1988.
72. **Foot, A.B.; Oakhill, A.; Kitchen, C.** Acute monoblastic leukemia of infancy in Klinefelter's syndrome. Cancer Genet Cytogenet 61: 99-100, 1992.
73. **Shaw, M.P.; Eden, O.B.; Grace, E. y col.** Acute lymphoblastic leukemia and Klinefelter's syndrome. Pediatr Hematol Oncol 9: 81-85, 1992.
74. **Humphreys, M.; Lavery, P.; Morris, C. y col.** Klinefelter Syndrome and Non-Hodgkin Lymphoma. Cancer Genet Cytogenet 97: 111-113, 1997.
75. **Keung, Y.K.; Buss, D.; Chauvenet, A. y col.** Hematologic malignancies and Klinefelter syndrome: a chance association? Cancer Genet Cytogenet 139: 9-13, 2002.
76. **Tsung, S.H.; Ajlouni, K.** Immune competence in patients with Klinefelter syndrome. Am J Med Sci 275: 311-317, 1978.
77. **French, M.A.; Hughes, P.** Systemic lupus erythematosus and Klinefelter's syndrome. Ann Rheum Dis 42: 471-473, 1983.
78. **Kobayashi, S.; Yamamoto, S.; Tanaka, M. y col.** Klinefelter's syndrome and rheumatoid arthritis. Report of a case and review of the literature. Clin Rheumatol 13: 500-503, 1994.
79. **Kocar, I.H.; Yesilova, Z.; Ozata, M. y col.** The effect of testosterone replacement treatment on immunological features of patients with Klinefelter's syndrome. Clin Exp Immunol 121: 448-452, 2000.
80. **Bizzarro, A.; Valentini, G.; Di Martino, G. y col.** Influence of testosterone therapy on clinical and immunological features of autoimmune diseases associated with Klinefelter's syndrome.

J Clin Endocrinol Metab 64: 32-36, 1987.

81. **Olsen, N.J.; Kovacs, W.J.** Case report: testosterone treatment of systemic lupus erythematosus in a patient with Klinefelter's syndrome. Am J Med Sci 310: 158-160, 1995.
82. **Oktenli, C.; Yesilova, Z.; Kocar, I.H. y col.** Study of autoimmunity in Klinefelter's Syndrome and idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. J Clin Immunol 22: 137-143, 2002.
83. **Smals, A.G.; Kloppenborg, P.W.; Lequin, R.L. y col.** The pituitary-thyroid axis in Klinefelter's syndrome. Acta Endocrinol (Copenh) 84: 72-79, 1977.
84. **Schwartz, I.D.; Root, A.W.** The Klinefelter syndrome of testicular dysgenesis. Endocrinol Metab Clin North Am 20: 153-163, 1991.
85. **Bjoern, A.M.; Bojesen, A.; Gravholt, C.H. y col.** Thyroid abnormalities in patients with Klinefelter Syndrome. Thyroid 15 (Suppl.1): S158-S159, 2005. (abstract)
86. **Nielsen, J.** Diabetes mellitus in patients with aneuploid chromosome aberrations and in their parents. Humangenetik 16: 165-170, 1972.
87. **Igawa, K.; Nishioka, K.** Leg ulcer in Klinefelter's syndrome. J Eur Acad Dermatol Venereol 17: 62-64, 2003.
88. **Luisetto, G.; Mastrogiacomo, I.; Bonanni, G. y col.** Bone mass and mineral metabolism in Klinefelter's syndrome. Osteoporos Int 5: 455-461, 1995.
89. **Yamauchi, M.; Tadano, M.; Fukunaga, Y. y col.** Low bone mineral density in a case of mosaicism Klinefelter syndrome: rapid response to testosterone therapy. Endocr J 45: 601-604, 1998.
90. **Smyth, C.M.; Bremner, W.J.** Klinefelter syndrome. Arch Intern Med 158: 1309-1314, 1998.
91. **De Rosa, M.; Paesano, L.; Nuzzo, V. y col.** Bone mineral density and bone markers in hypogonadotropic and hypergonadotropic hypogonadal men after prolonged testosterone treatment. J Endocrinol Invest 24: 246-252, 2001.
92. **Horowitz, M.; Wishart, J.M.; O'Loughlin, P.D. y col.** Osteoporosis and Klinefelter's syndrome. Clin Endocrinol (Oxf) 36: 113-118, 1992.
93. **Delmas, P.; Meunier, P.J.** [Osteoporosis in Klinefelter's syndrome Quantitative bone histological data in 5 cases and relationship with hormonal deficiency]. Nouv Presse Med 10: 687-690, 1981.
94. **Breuil, V.; Euller-Ziegler, L.** Gonadal dysgenesis and bone metabolism. Joint Bone Spine 68: 26-33, 2001.
95. **Wong, F.H.; Pun, K.K.; Wang, C.** Loss of bone mass in patients with Klinefelter's syndrome despite sufficient testosterone replacement. Osteoporos Int 3: 3-7, 1993.
96. **van den Bergh, J.P.; Hermus, A.R.; Spruyt, A.I. y col.** Bone mineral density and quantitative ultrasound parameters in patients with Klinefelter's syndrome after long-term testosterone substitution. Osteoporos Int 12: 55-62, 2001.
97. **Stepan, J.J.; Burckhardt, P.; Hana, V.** The effects of three-month intravenous ibandronate on bone mineral density and bone remodeling in Klinefelter's syndrome: the influence of vitamin D deficiency and hormonal status. Bone 33: 589-596, 2003.
98. **Laron, Z.; Dickerman, Z.; Zamir, R. y col.** Paternity in Klinefelter's syndrome--a case report. Arch Androl 8: 149-151, 1982.
99. **Okada, H.; Goda, K.; Yamamoto, Y. y col.** Age as a limiting factor for successful sperm retrieval in patients with nonmosaic Klinefelter's syndrome. Fertil Steril 84: 1662-1664, 2005.
100. **Tachdjian, G.; Frydman, N.; Morichon-Delvallez, N. y col.** Reproductive genetic counselling in non-mosaic 47,XXY patients: implications for preimplantation or prenatal diagnosis: Case report and review. Hum Reprod 18: 271-275, 2003.
101. **Damani, M.N.; Mittal, R.; Oates, R.D.** Testicular tissue extraction in a young male with 47,XXY Klinefelter's syndrome: potential strategy for preservation of fertility. Fertil Steril 76: 1054-1056, 2001.
102. **Nielsen, C.T.; Skakkebæk, N.E.; Richardson, D.W. y col.** Onset of the release of spermatozoa (spermarche) in boys in relation to age, testicular growth, pubic hair, and height. J Clin Endocrinol Metab 62: 532-535, 1986.
103. **Sousa, M.; Cremades, N.; Alves, C. y col.** Developmental potential of human spermato-

genic cells co-cultured with Sertoli cells. Hum Reprod 17: 161-172, 2002.
104. **Skakkebæk, N.E.; Philip, J.; Hammen, R.** Meiotic chromosomes in Klinefelter's syndrome. Nature 221: 1075-1076, 1969.
105. **Estop, A.M.; Munne, S.; Cieply, K.M. y col.** Meiotic products of a Klinefelter 47,XXY male as determined by sperm fluorescence in-situ hybridization analysis. Hum Reprod 13: 124-127, 1998.
106. **Cozzi, J.; Chevret, E.; Rousseaux, S. y col.** Achievement of meiosis in XXY germ cells: study of 543 sperm karyotypes from an XY/XXY mosaic patient. Hum Genet 93: 32-34, 1994.
107. **Chevret, E.; Rousseaux, S.; Monteil, M.l. y col.** Increased incidence of hyperhaploid 24,XY spermatozoa detected by three-colour FISH in a 46,XY/47,XXY male. Hum Genet 97: 171-175, 1996.
108. **Martini, E.; Geraedts, J.P.; Liebaers, I. y col.** Constitution of semen samples from XYY and XXY males as analysed by in-situ hybridization. Hum Reprod 11: 1638-1643, 1996.
109. **Foresta, C.; Galeazzi, C.; Bettella, A. y col.** Analysis of Meiosis in Intratesticular Germ Cells from Subjects Affected by Classic Klinefelter's Syndrome. J Clin Endocrinol Metab 84: 3807-3810, 1999.
110. **Tournaye, H.; Camus, M.; Vandervorst, M. y col.** Surgical sperm retrieval for intracytoplasmic sperm injection. Int J Androl 20 Suppl 3: 69-73, 1997.
111. **Friedler, S.; Raziel, A.; Strassburger, D. y col.** Outcome of ICSI using fresh and cryopreserved-thawed testicular spermatozoa in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. Hum Reprod 16: 2616-2620, 2001.
112. **Madgar, I.; Dor, J.; Weissenberg, R. y col.** Prognostic value of the clinical and laboratory evaluation in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome who are receiving assisted reproductive therapy. Fertil Steril 77: 1167-1169, 2002.
113. **Schiff, J.D.; Palermo, G.D.; Veeck, L.L. y col.** Success of Testicular Sperm Injection and Intracytoplasmic Sperm Injection in Men with Klinefelter Syndrome. J Clin Endocrinol Metab 90: 6263-6267, 2005.
114. **Westlander, G.; Ekerhovd, E.; Granberg, S. y col.** Testicular ultrasonography and extended chromosome analysis in men with nonmosaic Klinefelter syndrome: a prospective study of possible predictive factors for successful sperm recovery. Fertil Steril 75: 1102-1105, 2001.
115. **Yamamoto, Y.; Sofikitis, N.; Mio, Y. y col.** Morphometric and cytogenetic characteristics of testicular germ cells and Sertoli cell secretory function in men with non-mosaic Klinefelter's syndrome. Hum Reprod 17: 886-896, 2002.
116. **Levron, J.; Aviram-Goldring, A.; Madgar, I. y col.** Sperm chromosome analysis and outcome of IVF in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome. Fertil Steril 74: 925-929, 2000.
117. **Storeng, R.T.; Plachot, M.; Theophile, D. y col.** Incidence of sex chromosome abnormalities in spermatozoa from patients entering an IVF or ICSI protocol. Acta Obstet Gynecol Scand 77: 191-197, 1998.
118. **Aran, B.; Blanco, J.; Vidal, F. y col.** Screening for abnormalities of chromosomes X, Y, and 18 and for diploidy in spermatozoa from infertile men participating in an in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection program. Fertil Steril 72: 696-701, 1999.
119. **Rives, N.; Joly, G.; Machy, A. y col.** Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47,XXY and 46,XY/47,XXY males: comparison with fertile and infertile males with normal karyotype. Mol Hum Reprod 6: 107-112, 2000.
120. **Ron-El, R.; Strassburger, D.; Gelman-Kohan, S. y col.** A 47,XXY fetus conceived after ICSI of spermatozoa from a patient with non-mosaic Klinefelter's syndrome: Case report. Hum Reprod 15: 1804-1806, 2000.
121. **Aboulghar, H.; Aboulghar, M.; Mansour, R. y col.** A prospective controlled study of karyotyping for 430 consecutive babies conceived through intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 76: 249-253, 2001.
122. **Bonduelle, M.; Van Assche, E.; Joris, H. y col.** Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters. Hum Reprod 17: 2600-2614, 2002.

123. **Denschlag, D.; Tempfer, C.; Kunze, M. y col.** Assisted reproductive techniques in patients with Klinefelter syndrome: A critical review. Fertil Steril 82: 775-779, 2004.
124. **Staessen, C.; Tournaye, H.; Van Assche, E. y col.** PGD in 47,XXY Klinefelter's syndrome patients. Hum Reprod Update 9: 319-330, 2003.
125. **Amory, J.K.; Anawalt, B.D.; Paulsen, C.A. y col.** Klinefelter's syndrome. The Lancet 356: 333-335, 2000.
126. **Nieschlag, E.; Behre, H.M.; Bouchard, P. y col.** Testosterone replacement therapy: current trends and future directions. Hum Reprod Update 10: 409-419, 2004.
127. **Richman, R.A.; Kirsch, L.R.** Testosterone treatment in adolescent boys with constitutional delay in growth and development. N Engl J Med 319: 1563-1567, 1988.
128. **Grace, R.J.** Klinefelter's syndrome: a late diagnosis. The Lancet 364: 284, 2004.
129. **Winters, S.J.** Current Status of Testosterone Replacement Therapy in Men. Arch Fam Med 8: 257-263, 1999.
130. **Winter, J.S.** Androgen therapy in Klinefelter syndrome during adolescence. Birth Defects Orig Artic Ser 26: 235-245, 1990.
131. **Nieschlag, E.; Cuppers, H.J.; Wiegelmann, W. y col.** Bioavailability and LH-suppressing effect of different testosterone preparations in normal and hypogonadal men. Horm Res 7: 138-145, 1976.
132. **Schulte-Beerbuhl, M.; Nieschlag, E.** Comparison of testosterone, dihydrotestosterone, luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone in serum after injection of testosterone enanthate of testosterone cypionate. Fertil Steril 33: 201-203, 1980.
133. **Jockenhövel, F.** Practical aspects of testosterone substitution. Aging Male 5 (suppl. 1): 21-46, 2002.
134. **Gooren, L.J.** A ten-year safety study of the oral androgen testosterone undecanoate. J Androl 15: 212-215, 1994.
135. **Wang, C.; Berman, N.; Longstreth, J.A. y col.** Pharmacokinetics of Transdermal Testosterone Gel in Hypogonadal Men: Application of Gel at One Site Versus Four Sites: A General Clinical Research Center Study. J Clin Endocrinol Metab 85: 964-969, 2000.
136. **Wang, C.; Swerdloff, R.S.; Iranmanesh, A. y col.** Transdermal Testosterone Gel Improves Sexual Function, Mood, Muscle Strength, and Body Composition Parameters in Hypogonadal Men. J Clin Endocrinol Metab 85: 2839-2853, 2000.
137. **Nieschlag, E.; Buchter, D.; von Eckardstein, S. y col.** Repeated intramuscular injections of testosterone undecanoate for substitution therapy in hypogonadal men. Clin Endocrinol 51: 757-763, 1999.
138. **von Eckardstein, S.; Nieschlag, E.** Treatment of Male Hypogonadism With Testosterone Undecanoate Injected at Extended Intervals of 12 Weeks: A Phase II Study. J Androl 23: 419-425, 2002.
139. **Basaria, S.; Dobs, A.S.** Risks versus benefits of testosterone therapy in elderly men. Drugs Aging 15: 131-142, 1999.
140. **Slater, S.; Oliver, R.T.** Testosterone: its role in development of prostate cancer and potential risk from use as hormone replacement therapy. Drugs Aging 17: 431-439, 2000.
141. **Pechersky, A.V.; Mazurov, V.I.; Semiglazov, V.F. y col.** Androgen administration in middle-aged and ageing men: effects of oral testosterone undecanoate on dihydrotestosterone, oestradiol and prostate volume. Int J Androl 25: 119-125, 2002.
142. **Rhoden, E.L.; Morgentaler, A.** Risks of Testosterone-Replacement Therapy and Recommendations for Monitoring. N Engl J Med 350: 482-492, 2004.

Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo Vol 43 • No. 1
Copyright © 2006 por la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo

DEPARTAMENTO INFANTOJUVENIL

Evaluación diagnóstica del niño y del adolescente sin gónadas palpables.

Evaluation of boys and adolescents with non-palpable gonads.

Rey, R. [1]; Ciaccio, Marta [2]; Suárez, Martha [3]; Boquete, H. [3]; Martínez, Alicia [1]; Jasper, H. [1]; Rivarola, M. [2]; Gottlieb, Silvia [1]; Sequera, Ana [3]; Azaretzky, Miriam [4]; Bengolea, Sonia Viviana [5]; Bruneto, O. [6]; Falkon, Graciela [7]; Ferrari, Patricia [8]; Pasqualini, Titania [9].

[1] Hospital Ricardo Gutiérrez, [2] Hospital Juan P. Garrahan, [3] Hospital Teodoro Álvarez, [4] Hospital Francés, [5] Hospital Juan A. Fernández, [6] Hospital Pedro de Elizalde, [7] Hospital F. Santojanni, [8] Hospital Materno Infantil de San Isidro, [9] Hospital Italiano, Buenos Aires.

Resumen

La evaluación de la existencia de tejido testicular ectópico en un varón con gónadas no palpables puede requerir de diferentes estudios según el período de la vida. En esta revisión, se resumen los estudios sugeridos y su prioridad de realización en la búsqueda de la existencia de tejido testicular ectópico en niños y adolescentes con gónadas no palpables. En el primer mes de vida, es esencial descartar el pseudohermafroditismo femenino debido a una hiperplasia suprarrenal congénita, mediante la determinación de 17OH-Progesterona, ionograma y cariotipo; luego el estudio hormonal incluye testosterona basal, AMH o inhibina B y FSH, o testosterona post-hCG (si el valor basal es bajo y el dosaje de AMH o inhibina B no están disponibles). Similares estudios pueden ser necesarios hasta los 6 meses de vida. En un niño de más de 6 meses, sin desarrollo puberal, la evaluación de elección incluye AMH, o inhibina B, y FSH; luego, testosterona post-hCG (si AMH o inhibina B no disponibles) y cariotipo. En pacientes con signos de desarrollo puberal detenido, la evaluación se inicia con el dosaje de testosterona basal, FSH, LH e inhibina B, seguido de testosterona post-hCG (si el valor basal de testosterona es bajo y no hay una elevación de la LH).
(Rev Argent Endocrinol Metab 43:40-52, 2006)

Abstract

The evaluation of the existence of testicular tissue in ectopic position in a boy with non-palpable gonads may require different diagnostic steps, according to the patient's age. In the first month of life, it is mandatory to rule out congenital female pseudohermaphroditism owing to congenital adrenal hyperplasia. Determination of 17OH-progesterone, together with serum electrolytes and a karyotype, can rule out the diagnosis. In this case, hormone testing includes the determination of serum testosterone, AMH, inhibin B and FSH in basal conditions, or testosterone after hCG stimulation if basal levels are low and inhibin B and AMH determinations are not available. A similar approach may be necessary until the age of 6 months. In the prepubertal boys > 6 months of age, the evaluation includes AMH, or inhibin B, and FSH. If AMH and inhibin B determinations are not available, testosterone

Dirección Postal: Dra. Alicia Martínez, División de Endocrinología, Hospital de Niños R. Gutiérrez, Gallo 1330, C1425EFD Buenos Aires. Tel.: (011) 4963-5931, e-mail: amartinez@cedie.org.ar
Palabras clave: criptorquidia, anorquia, gonadotrofinas, testosterona, péptidos gonadales.
Key words: cryptorchidism, anorchia, gonadotrophins, testosterone, gonadal peptides.
Recibido: 27-02-06 **Aprobado:** 10-04-06

assay after hCG stimulation is necessary. A karyotype completes the evaluation. In patients with signs of arrested pubertal development, basal testosterone should be first measured in blood, together with LH, FSH and inhibin B. If testosterone levels are low and no elevated LH levels are observed, an hCG test should be performed.
(Rev Argent Endocrinol Metab 43:40-52, 2006)

La posición ectópica de los testículos puede acarrear *per se* –o sea, independientemente de la causa de la falta de descenso de las gónadas– alteraciones en el desarrollo espermatogénico. Esto es debido a que los testículos son órganos cuya función normal requiere una temperatura inferior a la temperatura corporal central, lo cual está garantizado por su posición escrotal. Por otra parte, la criptorquidia dificulta la evaluación clínica de las gónadas imposibilitando, por ejemplo, la detección temprana de tumores testiculares, cuya incidencia es mayor en pacientes con testículos no descendidos [1]. Sin embargo, la criptorquidia bilateral (testículos no palpables) es frecuentemente juzgada –de manera inapropiada– como una afección menor.

El objetivo de este informe es analizar críticamente la metodología disponible para llegar a un diagnóstico confiable de la existencia de tejido testicular y de su capacidad funcional en pacientes con genitales externos normalmente virilizados pero con escroto vacío y gónadas no palpables. Dado que el enfoque diagnóstico varía con la edad del paciente, hemos dividido a la población en estudio en 4 grupos: a) recién nacidos (1er mes de vida), b) 1 a 6 meses, c) desde los 6 meses, durante la etapa prepuberal, d) en edad puberal. Distinguiremos la inexistencia de tejido testicular (anorquia) de la presencia de gónadas en posición ectópica, principalmente intraabdominal (criptorquidia). No nos referiremos a la ectopía con gónadas palpables, presentes en el conducto inguinal o en posición escrotal alta, que no plantean un diagnóstico diferencial con la anorquia.

El descenso testicular

En su origen, los testículos fetales están ubicados en la cavidad abdominal y descienden hacia el orificio interno del conducto inguinal, adonde llegan en la 12ª semana de vida intrauterina. Esta fase transabdominal de descenso depende de una elongación del ligamento suspensorio, que va del polo superior de la gónada al diafragma, y de una adecuada inserción del gubernaculum testis en el polo inferior de la gónada y en la pared del esbozo del escroto. El factor símil a la insulina 3 (Insl-3), producido por las células de Leydig testiculares, actúa sobre un receptor denominado GREAT, presente en células del gubernaculum, regulando esta fase del descenso testicular [2]. La fase de descenso inguinoescrotal tiene lugar a partir de las semanas 27 a 30 y es dependiente de andrógenos y de un aumento de la presión intraabdominal [3]. La testosterona o la dihidrotestosterona actúan sobre el receptor de andrógenos, presente en el ligamento suspensorio y en el gubernaculum [2]. El descenso testicular se completa generalmente antes del nacimiento, si bien una pequeña proporción –que va desde un 2% y hasta un 9% en algunas series– de los recién nacidos de término puede presentar testículos no descendidos. La importancia de detectar la existencia de tejido testicular en posición ectópica resalta el interés de disponer de métodos diagnósticos adecuados, que varían de acuerdo con la edad del paciente.

Marcadores de función testicular en la infancia y pubertad

El testículo está formado por dos compartimientos: los túbulos seminíferos y el tejido intersticial. Los túbulos seminíferos contienen dos poblaciones celulares: las células de Sertoli y las células germinales. En el tejido intersticial se encuentran las células de Leydig. Desde el nacimiento hasta el inicio de la pubertad el volumen testicular está ocupado esencialmente por las células de Sertoli [4], cuyo número aumenta esencialmente en los primeros meses de vida [5]. Al comenzar el desarrollo puberal, se estabilizan las células de Sertoli y comienza una proliferación muy importante de las células germinales, responsables del aumento testicular clínicamente notorio observado durante la pubertad.

En los primeros 3 a 6 meses de vida, el eje hipo-

Tabla 1. Niveles de gonadotrofinas circulantes en varones normales. Valores de referencia de los laboratorios de los Hospitales Juan P. Garrahan (Microparticle Enzyme Immunoassay [MEIA] AxSYM, Abbott), Ricardo Gutiérrez (Immuno Fluorometric Assay [IFMA] Delfia, Wallac Oy) y Teodoro Álvarez (IFMA Delfia para LH, Immuno Radiometric Assay [IRMA] para FSH).

Hospital T. Álvarez

Tanner	LH (mUI/ml)	LH (mUI/ml)	LH/FSH
I	0,04 - 0,99	0,12 - 4,10	0,07 - 0,83
II	0,45 - 4,50	1,00 - 4,60	0,22 - 1,61
III	0,89 - 3,80	1,90 - 11,90	0,10 - 2,70
IV	0,68 - 6,60	2,90 - 11,20	0,23 - 2,79
V	0,65 - 3,90	1,40 - 7,80	0,23 - 2,79

Hospital J. Garrahan

Edad	LH (mUI/ml)	LH (mUI/ml)
0 - 3 meses	2,52 ± 1,74	2,43 ± 1,67
3 - 12 meses	1,21 ± 1,65	1,35 ± 0,81
12 - 24 meses	0,15 ± 0,17	0,90 ± 0,59
> 24 meses	0,13 ± 0,32	1,10 ± 0,82
9 - 12 años	0,78 ± 0,99	2,26 ± 0,96
Adulto	2,40 - 5,40	1,0 -14,0

Hospital R. Gutiérrez

Edad	LH (mUI/ml)	LH (mUI/ml)
0 - 6 meses	2.80 ± 1.60	1.30 ± 0.69
7 meses - 2 años	0.09 ± 0.04	0.44 ± 0.25
2 - 8 años	0.08 ± 0.04	0.65 ± 0.34
Tanner II	1.80 ± 0.62	2.30 ± 1.00
Tanner III - V	3.00 ± 1.60	2.10 ± 0.98

Tabla 2. Niveles de hormona anti-Mülleriana (AMH) circulantes en varones normales. Valores de referencia (AMH/MIS ELISA, Immunotech-Beckman) del laboratorio del Hospital Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires.

Edad	AMH (pmol/l)
< 14 días	60 - 700
15 - 30 días	350 - 700
1 mes - 1 año	450 - 950
1 - 5 años	500 - 1100
> 5 años (Tanner I)	250 - 800
Tanner II	100 - 400
Tanner III	30 - 200
Tanner IV - V - Adultos	5 - 100

Tabla 3. Niveles de inhibina B circulantes en varones normales. Valores de referencia del laboratorio del Hospital Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires.

Edad	Inhibina B (ng/l)
0 - 6 m.	477 ± 142
7 - 24 m.	322 ± 157
2 - 4 años	237 ± 76
4 - 6 años	153 ± 91
6 - 10 años	151 ± 76
10 - 12 años	179 ± 97
12 - 19 años	400 ± 186

Figura 1. Evolución esquemática de los niveles circulantes de LH, FSH, testosterona (T), hormona anti-Mülleriana (AMH) e inhibina B en el varón normal.

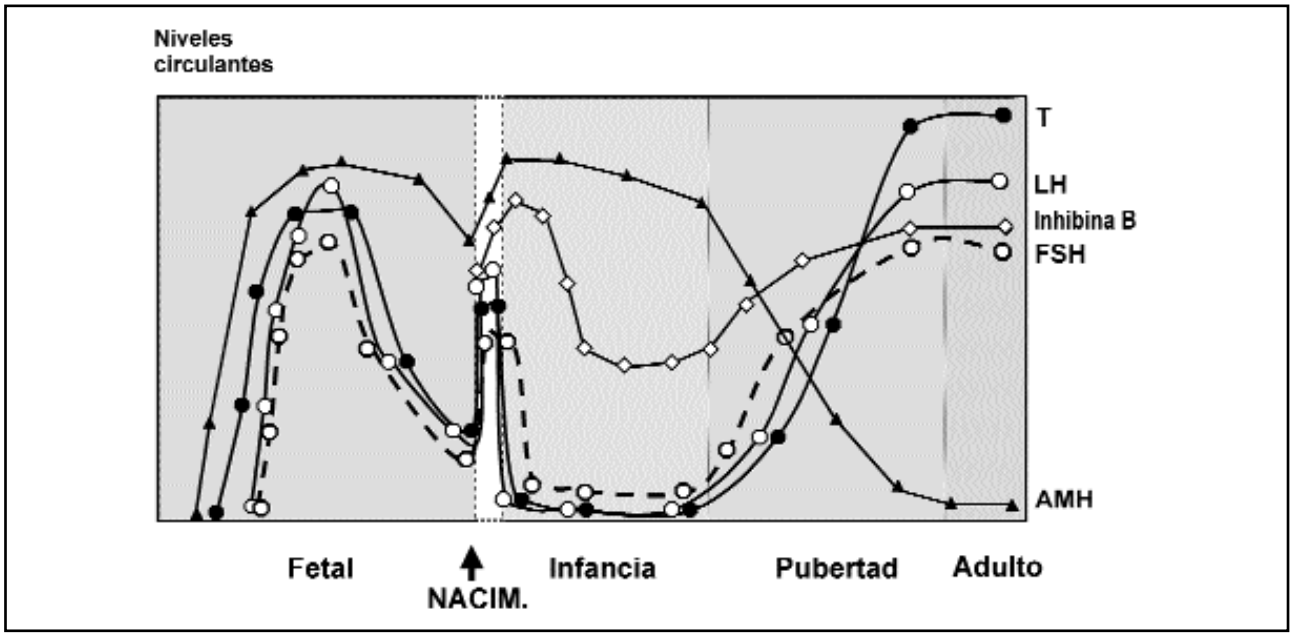


Tabla 4. Niveles de testosterona circulantes en varones normales. Valores de referencia de los laboratorios de los Hospitales Juan P. Garrahan (Electroquimioluminiscencia [EQLIA], DPC), Ricardo Gutiérrez (EQLIA, Elecsys, Roche) y Teodoro Álvarez (RIA, DSL).

Hospital T. Álvarez	
Tanner	**Testosterona (ng/ml)**
I	0,09 -1,40
II	0,28 - 2,20
III	1,40 - 7,60
IV	2,50 - 7,20
V	2,50 - 8,40

Hospital J. Garrahan	
Edad	**Testosterona (ng/ml)**
1 - 5 meses	< 0,05 -1,77
6 - 11 meses	≤ 0,07
1 - 5 años	≤ 0,25
6 - 9 años	≤ 0,30
10 - 11 años	0,05 - 0,50
12 - 14 años	0,10 - 5,72
15 - 17 años	2,20 - 8,00
Tanner	
I	≤ 0,23
II	0,05 - 0,70
III	0,15 - 2,80
IV	1,05 - 5,45
V	2,65 - 8,00
Adulto	2,80 - 11,00

Hospital R. Gutiérrez	
Edad	**Testosterona (ng/ml)**
0 - 6 meses	1,00 - 3,00
6 meses - 9 años	0,10 - 0,32
9 - 12 años	0,15 - 2,66
12 - 17 años	2,68 - 5,60
Adultos	2,80 - 8,00

tálamo-hipófiso-gonadal se encuentra activado. Los niveles circulantes de LH y FSH son claramente detectables (Tabla 1 y Figura 1). Las células de Sertoli producen altos niveles de hormona antimülleriana (AMH, Tabla 2) e inhibina B (Tabla 3), en tanto que las células de Leydig secretan testosterona (Tabla 4), en respuesta a la LH. A partir de los 3 a 6 meses el estímulo gonadotrófico entra en una etapa de relativa quiescencia: los niveles circulantes de LH y FSH disminuyen, pudiendo llegar a ser no detectables. Como consecuencia de ello, la testosterona también cae a niveles bajos o indetectables. Sin embargo, las células de Sertoli siguen activas: los niveles de AMH persisten altos y los de inhibina B, si bien bajan moderadamente, siguen siendo claramente superiores al límite de detección de los ensayos disponibles (Figura 1). A la edad de la pubertad, las gonadotrofinas vuelven a subir. Los niveles circulantes de inhibina B y testosterona también aumentan hasta llegar a los valores del adulto. Por su parte, la producción de AMH cae significativamente; en el adulto, los niveles circulantes de AMH son bajos.

Evaluación de varones con gónadas no palpables

Recién nacidos

El eje hipotálamo–hipofisario del recién nacido se encuentra afectado por los eventos que sucedieron durante la embriogénesis y el período fetal y por los fuertes cambios fisiológicos del parto, la deprivación de la función placentaria y la adaptación a la vida extrauterina. Por otra parte, la trascendencia que adquiere –por la gravedad que puede revestir– el diagnóstico de pseudohermafroditismo femenino por hiperplasia suprarrenal congénita en el primer mes de vida nos ha conducido a tratar a este grupo de pacientes de manera específica.

Anamnesis

Los siguientes son puntos importantes sobre los cuales se debe interrogar ante un recién nacido con testículos no palpables:

• *Embarazo y parto*

- Edad gestacional y peso al nacer:

La prevalencia de ectopía testicular (incluyendo desde gónadas en posición escrotal alta hasta no palpables) al nacimiento varía con las poblaciones estudiadas: 2,4% en Finlandia [1], 4,8% en Malasia [6], 6,9% en Italia [7], 9,0% en Dinamarca [1]. La prevalencia específica de testículos no palpables al nacimiento fue de 0,6% en Finlandia y 0,4% en Dinamarca [1]. Todos los estudios coinciden en señalar que los nacidos pretérmino y los nacidos con bajo peso para la edad gestacional tienen una frecuencia aumentada de criptorquidia (de 2,2 a 10 veces) [7-10].

- Otros factores de riesgo:

Otros factores asociados con un aumento de la prevalencia de criptorquidia son el origen étnico asiático, los antecedentes familiares de criptorquidia y el uso de analgésicos durante la gestación [6-8, 10]. La exposición a xenoestrógenos ambientales que se

comportan como disruptores endocrinos (pesticidas, herbicidas, poliestirenos, etc.) también ha sido sugerida como factor de riesgo para criptorquidia [11, 12]. Los antecedentes familiares de ambigüedad genital o de muertes en período neonatal pueden asociarse con una hiperplasia suprarrenal congénita con virilización completa de los genitales externos (Prader grado V) en individuos 46,XX. Otros datos familiares que pueden orientar el diagnóstico son los antecedentes de hipogonadismo hipogonadotrófico (anomalías en el desarrollo puberal, anosmia, etc.) o de síndromes de anomalías congénitas múltiples.

• *Antecedentes neonatales inmediatos*

La torsión testicular perinatal, capaz de provocar una atrofia total del tejido testicular, puede presentarse con una clínica de "escroto agudo". El diagnóstico diferencial debe establecerse fundamentalmente con el hematoma escrotal sin torsión testicular [13]. También ha sido referida como causa de hematoma escrotal la hemorragia suprarrenal que, al igual que la torsión testicular o del cordón espermático, suele asociarse con factores relacionados con el trauma periparto (alto peso, hipoxia, etc.) [14, 15].

La hiperplasia suprarrenal congénita puede manifestarse en recién nacidos 46,XX con virilización completa y escroto vacío (Prader grado V). La urgencia diagnóstica reside principalmente en la detección de la forma "perdedora de sal" que pone en riesgo la vida, con crisis que suelen ocurrir en las 2-3 primeras semanas de vida. Los padres suelen referir pobre ganancia de peso, vómitos, anorexia y astenia en el recién nacido. Estos síntomas están ausentes en la forma "virilizante simple".

Examen físico

• *Antropometría*

La evaluación del peso y de la talla del recién nacido son esenciales para orientarse hacia la posibilidad de retardo de crecimiento o bajo peso. Por otra parte, en los casos de hiperplasia suprarrenal congénita perdedora de sal, se observa deshidratación y falta de progreso pondoestatural.

• *Malformaciones asociadas*

La presencia de malformaciones asociadas con anomalías del desarrollo que afectan la línea media (labio leporino, paladar hendido, nistagmus, displasia septoóptica) pueden orientar el diagnóstico hacia anomalías hipotálamo-hipofisarias resultantes en un hipogonadismo hipogonadotrófico.

El anormal trofismo de la musculatura abdominal (Síndrome de "prune belly") también orienta al observador hacia una falla del descenso testicular dependiente de una insuficiente presión intraabdominal.

• *Detallada descripción de la anatomía de los genitales*

La longitud del pene en recién nacidos argentinos –medida bajo estiramiento desde el borde inferior de la sínfisis pubiana hasta el extremo distal del glande– es de 2,5 a 4,1 cm (Media ± DE: 3,3 ± 0,4 cm) en tanto que el diámetro es de 0,9 a 1,6 cm (1,2 ± 0,2 cm) [16]. Un tamaño por debajo de estos valores de referencia, asociado a criptorquidia, sugiere un posible hipogonadismo. Asimismo, las características escrotales son de suma importancia: las bolsas son normalmente bien desarrolladas, continentes y rugosas. La existencia de escroto plano y poco rugoso es indicio de que los testículos nunca estuvieron en situación normal.

Exámenes complementarios

• ***Laboratorio***

• *Sospecha de hiperplasia suprarrenal congénita 46,XX*

- Cariotipo

Dada la importancia que reviste descartar el diagnóstico de hiperplasia suprarrenal congénita que pueda poner en riesgo la vida, es recomendable en todo recién nacido con gónadas no palpables realizar un cariotipo. Ante la imposibilidad de obtenerlo dentro de los 7 días, se puede realizar un análisis de cromatina sexual (sólo si el laboratorio cuenta con experiencia). La desventaja de la cromatina sexual es que será también positiva en otras condiciones que se asocian con una mayor prevalencia de criptorquidia (por ejemplo, síndrome de Klinefelter y varón XX).

- 17OH-progesterona y ionograma

Un valor elevado de 17OH-progesterona, con método extractivo para evitar falsos positivos [17], confirma el diagnóstico. La ACTH está generalmente elevada y el ionograma muestra hiponatremia e hiperkalemia en las formas perdedoras de sal.

• *Descartada la HSC*

- Cariotipo

El síndrome de Klinefelter, con cariotipo 46,XXY, y el varón XX, dos tipos de disgenesias testiculares, se asocian con mayor incidencia de criptorquidia.

- Testosterona

Los niveles de testosterona mayores de 1 ng/ml pueden permitir descartar una anorquia en un recién nacido sin gónadas palpables. Sin embargo, deben analizarse con precaución los valores de testosterona bajos y no interpretarse como indicativos de anorquia en los primeros 10 a 15 días de vida, ya que durante ese período la secreción testicular de andrógenos puede normalmente estar deprimida [18]. Si no se dispone de valores de AMH, inhibina B o FSH, la confirmación de la ausencia de tejido testicular requiere una prueba de estimulación con hCG.

Recientes publicaciones han puesto en evidencia que algunos sistemas de medición de testosterona no serían confiables para la medición de muestras en niveles de concentración bajos. Estudios de validación, por comparación con la metodología de referencia, mostró sobreestimaciones de los valores de testosterona bajos cuando se usaron sistemas automatizados. La mayoría de los sistemas manuales tienen una buena performance y las técnicas extractivas serían de elección para confirmar valores muy bajos [19, 20].

- AMH

La determinación de AMH es altamente confiable para descartar la presencia de tejido testicular [21, 22]. Niveles < 100 pmol/l indican que no hay testículos presentes. El valor predictivo positivo que tiene una AMH indetectable para diagnosticar anorquia se acerca al 100% en varones de menos de 1 mes; la baja probabilidad de falso negativo –o sea AMH indetectable con testículos presentes– es el síndrome de persistencia de los conductos de Müller por mutación del gen de la AMH [22, 23].

- Inhibina B y FSH

Si bien existe una superposición en los niveles de inhibina B entre varones y mujeres menores de 1 mes [24-26], valores muy bajos (<100ng/ml) son indicativos de la ausencia de testículos. Asimismo, la existencia de niveles detectables de inhibina B permiten confirmar la existencia de testículos en posición ectópica [24, 27, 28]. Si bien no existen estudios epidemiológicos de valores predictivos de inhibina B para existencia de tejido testicular, es esperable que sean igual o superior al de AMH, puesto que no se han descripto hasta el momento mutaciones de las subunidades de la inhibina B que puedan inducir en falsos negativos.

La elevación de la FSH es un indicador indirecto de anorquia en esta edad, reflejando la ausencia de inhibina B. Lamentablemente, no existen trabajos que hayan analizado niveles de corte para establecer el valor predictivo [17, 29]. Por otra parte, puede existir alguna superposición en los recién nacidos con un retardo de crecimiento intrauterino, que también presentan valores elevados de FSH aunque con testículos presentes [30].

En resumen, un valor de AMH o inhibina B indetectable o de FSH muy elevada son prácticamente confirmatorios de anorquia. Un nivel bajo de testosterona o moderadamente elevado de FSH, si bien sugestivos, deben ser interpretados con cautela. Por su parte, valores normales de AMH, inhibina B y testosterona confirman la existencia de testículos en posición ectópica.

Diagnóstico por imágenes

El uso de métodos de diagnóstico por imágenes es de escasa ayuda en la búsqueda de gónadas no palpables.

- Ecografía

El uso de la ecografía en manos avezadas puede permitir detectar testículos pequeños o rudimentarios presentes en las bolsas [31]. Sin embargo, hay controversias entre los especialistas en imágenes sobre la capacidad de la ecografía para detectar la existencia de testículos en posición inguinal o abdominal [31, 32].También puede resultar de utilidad en la detección de genitales internos femeninos en casos de pseudohermafroditismo femenino.

Niños de 1 a 6 meses

Como hemos visto, el eje hipotalamo-hipófisogonadal se mantiene activo en los primeros 3 a 6 meses de vida y el pico de testosterona es variable y transitorio lo cual evita la necesidad sistemática de usar pruebas de estímulo para el estudio funcional de las gónadas, quedando su uso condicionado al valor basal de testosterona.

Anamnesis y Examen físico

La anamnesis y el examen físico en este grupo etario no varían significativamente con respecto a los realizados en pacientes menores de 1 mes de vida. La evaluación de la progresión pondoestatural puede dar un indicio si se sospecha de una hiper-

plasia suprarrenal congénita, ya que podrá estar disminuida en caso de que sea una forma perdedora de sal, teniendo además signos de deshidratación, con o sin vómitos y diarrea e insuficiencia glucocorticoidea, astenia, hipotonía, hipotensión arterial e hipoglucemia.

La prevalencia de gónadas no palpables no excede de 0,2% al final del 3er mes de vida, ya que el 50 al 80% de los testículos no palpables al nacimiento descienden espontáneamente para esa edad [1].

El tamaño del pene se modifica ligeramente respecto del 1er. mes de vida: entre 1 y 6 meses, la longitud peneana normal es 2,5-4,0 cm (Media ± DE 3,5 ± 0,5 cm), en tanto que el diámetro normal es 0,9-1,7 cm (1,3 ± 0,2 cm) [16].

Exámenes complementarios
Laboratorio

• *Sospecha de hiperplasia suprarrenal congénita 46,XX*

- 17OH-progesterona

El diagnóstico de hiperplasia suprarrenal congénita en pacientes 46,XX con genitales completamente virilizados (Prado grado V) es poco frecuente a esta edad. Sin embargo, es indispensable, ante un paciente con escroto vacío, realizar un dosaje de 17OH-progesterona, que confirma el diagnóstico si está elevada. La ACTH también suele estar elevada y el ionograma muestra hiponatremia e hiperkalemia, en las formas perdedoras de sal.

• *Descartada la hiperplasia suprarrenal congénita*

- Cariotipo

Al igual que en el recién nacido, hay que considerar dos tipos de disgenesias testiculares: el síndrome de Klinefelter, con cariotipo 46,XXY y el varón XX, que se asocian con mayor incidencia de criptorquidia.

- Testosterona

Niveles de testosterona basales por encima de 0.5 ng/ml permiten descartar una anorquia en un paciente hasta los 3-6 meses de vida. A partir de esa edad, deben analizarse con precaución los valores de testosterona basales bajos [33], pudiendo ser necesaria una prueba de hCG si otras determinaciones (AMH, inhibina B o FSH) no están disponibles.

- AMH, Inhibina B y FSH

Al igual que en menores de 1 mes, tienen gran valor la AMH >250 pmol/l y la inhibina B >200 ng/l, como marcadores directos de la existencia de células de Sertoli, y la FSH (> 10 UI/l), como marcador indirecto. A esta edad, la producción ovárica de inhibina B desciende significativamente, por lo cual no existe superposición en los niveles circulantes entre varones y mujeres [24]. En cambio, debe mantenerse la cautela en la interpretación de valores de FSH moderadamente elevados (< 10 UI/l), que pueden también ser observados en niños con testículos presentes y antecedentes de retardo de crecimiento intrauterino [34].

En conclusión, valores basales de testosterona, AMH o inhibina B muy bajos, o de FSH muy elevados son prácticamente confirmatorios de anorquia. Por su parte, valores normales de AMH, inhibina B y testosterona confirman la existencia de testículos en posición ectópica. Un nivel basal moderadamente elevado de FSH, si bien sugestivo, debe ser interpretado con cautela. Los valores basales de testosterona bajan a partir del 3er mes desapareciendo el dimorfismo sexual a partir del 6º mes aproximadamente.

Diagnóstico por imágenes

Al igual que en pacientes menores de 1 mes, el uso de métodos de diagnóstico por imágenes es de escasa ayuda en la búsqueda de gónadas no palpables.

Niños de 6 meses hasta el inicio de la pubertad

Anamnesis y Examen físico

El descenso testicular puede continuar en varones criptórquidos durante el primer año de vida. Como consecuencia de ello, la prevalencia de testículos incompletamente descendidos baja a menos de 1,5% a la edad de 18 meses, en tanto que la prevalencia de gónadas no palpables no supera 0,1% [1].

La anamnesis y el examen físico en este grupo etario no varían significativamente con respecto a los realizados en pacientes menores. Los antecedentes de traumatismos genitales o de escroto agudo pueden ser indicativos de una pérdida de la gónada. En el interrogatorio se debe preguntar si hubo gónadas palpables en algún momento del pasado.. Dado que la falta de descenso testicular puede ser consecuencia de una deficiencia gonadotrófica, la evaluación de la progresión pondoestatural puede dar un indicio si se sospecha de un hipogonadismo hipogonadotrófico como parte de una insuficiencia

hipofisaria multihormonal. Cuando la edad lo permite, la búsqueda de anosmia es importante ante la sospecha de un hipogonadismo hipogonadotrófico por síndrome de Kallmann.

El tamaño del pene aumenta progresivamente: la longitud peneana normal pasa de 2,7-4,5 cm (3,8 ± 0,5 cm) entre el primero y segundo año hasta 3,1-6,3 (4,7 ± 0,8 cm) antes del inicio puberal, en tanto que el diámetro peneano pasa de 0,9-1,7 (1,3 ± 0,2 cm) cm a 1,2-2,0 cm (1,6 ± 0,2 cm) [16]. La evaluación del tamaño del pene puede orientar ante la sospecha de insuficiencia hipofisaria (gonadotrófica aislada o multihormonal).

Las características del escroto pueden sugerir si existieron gónadas en posición eutópica (escroto más desarrollado) o no (escroto plano, no continente).

Exámenes complementarios

Laboratorio

Como hemos señalado, en el segundo semestre de la vida disminuye significativamente la actividad gonadotrófica, lo cual se refleja en la caída de los niveles basales de FSH, LH y testosterona. Por este motivo y dado que normalmente no hay cambios en el tamaño testicular detectables a la palpación, se habla de esta etapa del desarrollo como un período de reposo o quiescencia testicular. Sin embargo, estudios con técnicas de mayor precisión que la palpación de las gónadas y estudios histológicos con métodos morfométricos adecuados han demostrado que los testículos aumentan su volumen 3 a 4 veces entre el nacimiento y el inicio de la pubertad gracias a una multiplicación importante de las células de Sertoli y las células germinales premeióticas [5, 35]. Asimismo, las células de Sertoli son funcionalmente muy activas durante la infancia, tal como lo reflejan los niveles circulantes de AMH [36-38] e inhibina B [24, 28, 39].

- AMH y testosterona

Hasta el inicio de la pubertad, los niveles circulantes de AMH se mantienen elevados >250 pmol/l en condiciones basales. La determinación de AMH tiene alta sensibilidad y especificidad para detectar la presencia de testículos no palpables. Un valor normal de AMH tiene un valor predictivo de 98% para la presencia de testículos en varones con genitales externos normales y gónadas no palpables [22, 40], mientras que una AMH indetectable tiene un valor predictivo de 92% para la ausencia de tejido testicular. Como mencionamos anteriormente, los falsos negativos (que hace que el valor predictivo no llegue a 100%) se deben a los raros casos de niños con un síndrome de persistencia de los conductos de Müller por mutaciones en el gen de la AMH, que presentan habitualmente criptorquidia bilateral [23].

Niveles bajos de AMH deben hacer sospechar de un deterioro de la masa funcional de células de Sertoli (postraumática, posinfecciosa, posquirúrgica, degeneración testicular progresiva o "vanishing testes", hipogonadismo hipogonadotrófico, etc.).

Para interpretar los niveles séricos de testosterona es imprescindible realizar una prueba de estimulación con hCG, ya que no existen células de Leydig funcionalmente activas durante esta etapa de la infancia. El dosaje de testosterona post-hCG muestra una sensibilidad y una especificidad netamente más bajas que la AMH para el diagnóstico de anorquia. Así, el valor predictivo de una respuesta normal a la hCG para detectar la presencia de testículos es de 83% y el valor predictivo de una falta de respuesta a la hCG para el diagnóstico de anorquia es de 69% [22, 41]. Existen numerosos protocolos de estimulación con hCG, según el objetivo perseguido. Las pruebas de 2 semanas de duración con 6-7 inyecciones IM de 1000-1500 UI de hCG cada 48 horas han sido diseñadas para evaluar bloqueos esteroidogénicos [42, 43] y no parecen necesarias cuando sólo se busca detectar la existencia de tejido testicular. En este caso, pruebas más sencillas son más indicadas. Por ejemplo: a);2 inyecciones IM de 2500 UI hCG en día 1 y 4 de la prueba y extracción en el día 7: en este caso un valor de testosterona superior a 1 ng/ml es considerado como respuesta positiva [44]; b) 1 dosis única IM de hCG 5000 UI/1,7 m^2 y valoración de la testosterona 48-72 horas más tarde [45]; c) 1 dosis única IM de hCG 100 UI/kg peso o 5000 UI UI/1,7 m2 y valoración de la testosterona 48-72 horas más tarde [46]. Estos autores proponen que una respuesta normal debe superar los 2 ng/ml. Si la respuesta es inadecuada –como puede ocurrir en pacientes con hipogonadismo hipogonadotrófico– debe intentarse una prueba más prolongada. Dado que la administración de hCG puede realizarse también como prueba terapéutica buscando el descenso testicular (1000 UI/semana durante 5 semanas), puede realizarse un dosaje de testosterona 48-72 horas después de la última inyección de hCG. En estos casos, aun-

que la prueba terapéutica no logre el descenso testicular, será posible evaluar si hay gónadas en posición ectópica en base a los niveles de testosterona.

- Inhibina B y FSH

Si bien no existen análisis estadísticos sobre el valor predictivo de la inhibina B y la FSH como marcadores de la existencia o ausencia de testículos no palpables, parece claro que niveles de inhibina B detectables junto con FSH normal son un claro indicio de tejido testicular presente [24, 27, 28, 39]. Por el contrario, una inhibina B indetectable asociada a FSH elevada son indicativas de anorquia [27, 47].

En conclusión, en varones prepuberales la determinación de valores basales de AMH o inhibina B son de elección para realizar un diagnóstico diferencial entre anorquia y presencia de testículos no palpables. La FSH basal también puede ser de utilidad, como marcador indirecto de la ausencia de tejido testicular funcional. Si estas determinaciones no están disponibles, la determinación de testosterona post-hCG es imprescindible.

Diagnóstico por imágenes

La mayoría de los estudios de diagnóstico por imágenes tienen una alta especificidad (>95%) en la detección de gónadas no palpables, lo cual significa que el índice de falsos positivos es extremadamente bajo [31, 48, 49]. En la actualidad, la ecografía es la metodología más utilizada en la búsqueda testículos no descendidos a pesar de que estudios sistemáticos demuestran bajos índices de sensibilidad, con lo cual el valor predictivo de una ecografía negativa es poco satisfactorio: entre 16 y 50% (es decir, 84 a 50% de falsos negativos) según las series [32, 48]. La tomografía computada y la resonancia magnética nuclear tampoco tienen sensibilidad suficiente. Los resultados son decepcionantes, apareciendo como su única utilidad su capacidad para definir el tamaño de los testículos cuando son detectados [31, 48, 49].

Laparoscopía/Laparotomía exploradora

La laparoscopía es ampliamente aceptada actualmente como procedimiento diagnóstico/terapéutico en pacientes con criptorquidia [50]. En algunos casos, la laparotomía es necesaria ya que se ha demostrado un índice de falsos negativos de 8% en la detección de tejido testicular por laparoscopía [51]. En base a los altos índices de sensibilidad de los estudios hormonales, surge la pregunta si todo paciente sin gónadas palpables debe ser explorado por laparoscopía o laparotomía. Por un lado, si el valor predictivo que tienen en conjunto niveles indetectables de AMH e inhibina B basales junto con la falta de respuesta a la prueba de hCG y la elevación exagerada de los niveles de FSH es del 100%, no parecería necesario confirmar la falta de gónadas mediante un procedimiento quirúrgico. Además, un estudio reciente mostró la existencia de tejido testicular funcional –mediante determinaciones de gonadotrofinas, testosterona post-hCG y AMH– en 4 de 82 pacientes con diagnóstico de anorquia por laparoscopía o laparotomía [52]. A la luz de estos hallazgos, la pregunta parece invertirse: ¿no debería confirmarse mediante estudios hormonales la certeza de la remoción completa de tejido gonadal en todo paciente sometido a laparoscopía/laparotomía?

Adolescencia

Anamnesis y Examen físico

La presentación a la consulta de un paciente de edad puberal sin gónadas palpables es poco frecuente. La anamnesis sobre los antecedentes personales y familiares ya fue descripta para los otros grupos etarios. El tamaño del pene aumenta considerablemente si la pubertad ocurre normalmente: la longitud peneana normal pasa de 3,1-6,3 cm en el estadio I de Tanner a 4,7-9,9 cm en el estadio III y llega a una longitud media de aproximadamente 12 cm en el estadio V. Por su parte, el diámetro peneano pasa de 1,2-2,0 cm en el estadio I a 1,8-3,6 cm en el estadio III y llega a un valor promedio de 3,3 cm al final del desarrollo (media ± 2 DE, [16]. La falta de aumento en el tamaño del pene y del desarrollo del vello pubiano son claros indicios de una falta de testosterona, lo cual se acompaña de todas las características de la ausencia de desarrollo puberal (falta del empuje puberal, retraso de la edad ósea, etc.). De todas formas debe tenerse presente que en la anorquia, la adrenarca está presente y puede aparecer vello pubiano escaso con genitales no estimulados.

Exámenes complementarios
Laboratorio

En esta etapa de la vida, se reactiva el eje gona-

dotrófico: aumentan la LH y la FSH. La LH induce un aumento de la concentración intratesticular de testosterona ya en el estadio II de Tanner [53, 54], que resulta en el inicio de la espermatogénesis adulta y en una caída de los niveles de AMH [36]. Los niveles de inhibina B también se incrementan [24, 27, 28, 39]. Los niveles circulantes de testosterona recién aumentan significativamente en el estadio III de Tanner [53].

• *Varón sin desarrollo puberal*

En pacientes en edad puberal, sin gónadas palpables y sin signos de desarrollo, puede plantearse el diagnóstico diferencial entre la anorquia y un hipogonadismo primario (por ejemplo, antecedente de orquitis) o secundario (por ejemplo, hipogonadismo hipogonadotrófico).

- Inhibina B y FSH

Valores de inhibina B detectables indican la presencia de tejido testicular, en tanto que una inhibina B indetectable es diagnóstica de anorquia. Un aumento exagerado de la FSH también puede ser indicativo de anorquia, si bien no descarta falla testicular primaria [27, 47]. Valores normales de FSH no pueden asegurar la existencia de gónadas ectópicas en edades tempranas cuando no se puede estar aún seguro de la activación del eje gonadotrófico.

- AMH

Si no hay signos de pubertad y la testosterona es prepuberal, los niveles circulantes de AMH se mantienen elevados (>250 pmol/l) en varones con testículos presentes. En el hipogonadismo hipogonadotrófico, la AMH puede estar disminuida pero es siempre detectable. Si la AMH es indetectable, el diagnóstico de anorquia es casi seguro, excepción hecha del síndrome de persistencia de los conductos de Müller por mutaciones en el gen de la AMH.

- Testosterona y LH

La falta de aumento de la testosterona basal es poco informativa, ya que puede deberse tanto a un hipogonadismo hipogonadotrófico o hipergonadotrófico como a una anorquia. Si el déficit de testosterona se acompaña de un aumento de la LH, la sospecha de anorquia es más fuerte. En caso de duda, y de no disponerse de dosajes de Inhibina B o de AMH, debe recurrirse a una prueba de estimulación con hCG.

En conclusión, en varones en edad puberal pero sin inicio del desarrollo, la evaluación es bastante similar a la de un niño en edad prepuberal. La determinación de valores basales de AMH o inhibina B son de elección para realizar un diagnóstico diferencial entre anorquia y presencia de testículos no palpables. La FSH basal también puede ser de utilidad, como marcador indirecto de la ausencia de tejido testicular funcional. Si estas determinaciones no están disponibles, la determinación de testosterona post-hCG resulta imprescindible. Un cariotipo es indispensable para descartar un síndrome de Klinefelter.

Tabla 5. Estudios sugeridos en la evaluación de un varón con gónadas no palpables según la edad.

0-30 días
1. 17OH-Progesterona, ionograma
2. Cariotipo (o cromatina sexual, si laboratorio confiable y cariotipo no disponible dentro de los 7 días)
3. Testosterona basal + AMH o inhibina B + FSH
4. Testosterona post-hCG (si basal baja y AMH o inhibina B no disponibles)

1-6 meses
1. 17OH-Progesterona
2. Cariotipo (o cromatina sexual, si laboratorio confiable y cariotipo no disponible dentro de los 7 días)
3. Testosterona basal + AMH o inhibina B + FSH
4. Testosterona post-hCG (si basal baja y AMH o inhibina B no disponibles)

6 meses - Edad puberal
1. AMH o inhibina B + FSH
2. Testosterona post-hCG (si AMH o inhibina B no disponibles)
3. Cariotipo (o cromatina sexual si cariotipo no disponible)

Edad puberal

Sin signos de desarrollo puberal
1. AMH o inhibina B + FSH + LH
2. Testosterona post-hCG (si AMH o inhibina B no disponibles y gonadotrofinas prepuberales)

Con signos de desarrollo puberal
1. Testosterona basal + FSH + LH + inhibina B
2. Testosterona post-hCG (si basal baja)
3. Cariotipo

• *Varón con desarrollo puberal*

En pacientes sin gónadas palpables pero con evidencias de desarrollo puberal, es claro que existe o existió tejido testicular capaz de producir andrógenos. Puede plantearse el diagnóstico de Síndrome de Klinefelter como así también el de una degeneración completa del tejido testicular secundaria a traumatismo, cirugía, torsión, etc. El síndrome de

testículo evanescente es raro a esta edad pero puede plantearse como problema.

- Cariotipo

En estadios tempranos del desarrollo, niveles normales de gonadotrofinas, testosterona e inhibina B no descartan el diagnóstico de síndrome de Klinefelter [55-58], por lo cual un cariotipo, o una cromatina sexual, son necesarios para orientar el diagnóstico.

- Testosterona y LH

Niveles puberales normales o levemente disminuidos de testosterona indican la presencia de tejido testicular. Si los niveles de testosterona son muy bajos, una prueba de estimulación con hCG puede ser necesaria [52]. En la anorquia, la LH está elevada lo cual exime de realizar una prueba de hCG.

- Inhibina B y FSH

Si existe tejido testicular ectópico, se observa frecuentemente una disminución de la inhibina B con un aumento de la FSH. En la anorquia, la inhibina B es indetectable [27] y la FSH alcanza valores muy elevados [47].

- AMH

Dado que la AMH disminuye normalmente en la pubertad, su utilidad para evaluar la existencia de tejido testicular es escasa. Sin embargo, valores indetectables de AMH pueden ser sugestivos de anorquia.

En conclusión, en varones con cualquier grado de desarrollo puberal, la determinación de testosterona circulante es de elección, conjuntamente con la valoración de los niveles de inhibina B y de gonadotrofinas. Sólo en casos de duda, con LH baja, la determinación de testosterona post-hCG puede ser necesaria. El estudio del cariotipo, o de la cromatina sexual, es imprescindible para realizar un diagnóstico de síndrome de Klinefelter.

Diagnóstico por imágenes

El uso de los estudios de diagnóstico por imágenes en la adolescencia tiene la ventaja de disponer de la colaboración del paciente, al igual que en los niños prepúberes mayores. Sin embargo, la utilidad sigue siendo discutida en esta etapa del desarrollo [31, 32, 48, 49].

Conclusiones

La evaluación de la existencia de tejido testicular ectópico en un varón con gónadas no palpables puede requerir de diferentes estudios según el período de la vida. En la Tabla 5 se resumen los estudios sugeridos y su prioridad de realización en la búsqueda de la existencia de tejido testicular ectópico en niños y adolescentes con gónadas no palpables.

Bibliografía

1. **Boisen, K.A.; Kaleva, M.; Main, K.M. y col.** Difference in prevalence of congenital cryptorchidism in infants between two Nordic countries. Lancet 363: 1264-1269, 2004.
2. **Klonisch, T.; Fowler, P.A.; Hombach-Klonisch, S.** Molecular and genetic regulation of testis descent and external genitalia development. Dev Biol 270: 1-18, 2004.
3. **Hutson, J.M.; Hasthorpe, S.; Heyns, C.F.** Anatomical and functional aspects of testicular descent and cryptorchidism. Endocr Rev 18: 259-280, 1997.
4. **Rey, R.** Regulation of spermatogenesis. Endocr Dev 5: 38-55, 2003.
5. **Berensztein, E.B.; Sciara, M.I.; Rivarola, M.A. y col.** Apoptosis and Proliferation of Human Testicular Somatic and Germ Cells during Prepuberty: High Rate of Testicular Growth in Newborns Mediated by Decreased Apoptosis. J Clin Endocrinol Metab 87: 5113-5118, 2002.
6. **Thong, M.K.; Lim, C.T.; Fatima, H.** Undescended testes: incidence in 1,002 consecutive male infants and outcome at 1 year of age. Pediatric Surgery International 13: 37-41, 1998.
7. **Ghirri, P.; Ciulli, C.; Vuerich, M. y col.** Incidence at birth and natural history of cryptorchidism: a study of 10,730 consecutive male infants. J Endocrinol Invest 25: 709-715, 2002.
8. **Berkowitz, G.S.; Lapinski, R.H.** Risk factors for cryptorchidism: a nested case-control study. Paediatr Perinat Epidemiol 10: 39-51, 1996.
9. **Akre, O.; Lipworth, L.; Cnattingius, S. y col.** Risk factor patterns for cryptorchidism and hypospadias. Epidemiology 10: 64-69, 1999.
10. **Weidner, I.S.; Moller, H.; Jensen, T.K. y col.** Risk factors for cryptorchidism and hypospadias. J Urol 161: 1606-1609, 1999.
11. **Olea, N.; Olea-Serrano, F.; Lardelli-Claret, P. y col.** Inadvertent exposure to xenoestrogens in children. Toxicol Ind Health 15: 151-158, 1999.
12. **Sultan, C.; Balaguer, P.; Terouanne, B. y col.** Environmental xenoestrogens, antiandrogens and

disorders of male sexual differentiation. Mol Cell Endocrinol 178: 99-105, 2001.
13. **Diamond, D.A.; Borer, J.G.; Peters, C.A. y col.** Neonatal scrotal haematoma: mimicker of neonatal testicular torsion. BJU International 91: 675-677, 2003.
14. **Anding, R.; Fasnacht-Urban, E.; Walz, P.H.** ["Acute scrotum" in the neonate. Adrenal haemorrhage as cause]. Urologe A 39: 48-51, 2000.
15. **Avolio, L.; Fusillo, M.; Ferrari, G. y col.** Neonatal adrenal hemorrhage manifesting as acute scrotum: timely diagnosis prevents unnecessary surgery. Urology 59: 601, 2002.
16. **Anigstein, C.R.** Longitud y diámetro del pene en niños de 0 a 14 años de edad. Archivos Argentinos de Pediatría 103: 401-405, 2005.
17. **Elmlinger, M.W.; Kuhnel, W.; Ranke, M.B.** Reference ranges for serum concentrations of lutropin (LH), follitropin (FSH), estradiol (E2), prolactin, progesterone, sex hormone-binding globulin (SHBG), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS), cortisol and ferritin in neonates, children and young adults. Clin Chem Lab Med 40: 1151-1160, 2002.
18. **Forest, M.G.; Sizonenko, P.C.; Cathiard, A.M. y col.** Hypophyso-gonadal function in humans during the first year of life. 1. Evidence for testicular activity in early infancy. J Clin Invest 53: 819-828, 1974.
19. **Mitamura, R.; Yano, K.; Suzuki, N. y col.** Diurnal rhythms of Luteinizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone, and Testosterone secretion before the onset of male puberty. J Clin Endocrinol Metab 84: 29-37, 1999.
20. **Taieb, J.; Mathian, B.; Millot, F. y col.** Testosterone Measured by 10 Immunoassays and by Isotope-Dilution Gas Chromatography-Mass Spectrometry in Sera from 116 Men, Women, and Children. Clin Chem 49: 1381-1395, 2003.
21. **Josso, N.** Paediatric applications of anti-Müllerian hormone research. 1992 Andrea Prader Lecture. Horm Res 43: 243-248, 1995.
22. **Lee, M.M.; Donahoe, P.K.; Silverman, B.L. y col.** Measurements of serum Müllerian inhibiting substance in the evaluation of children with nonpalpable gonads. New England Journal of Medicine 336: 1480-1486, 1997.
23. **Belville, C.; Josso, N.; Picard, J.Y.** Persistence of Müllerian derivatives in males. Am J Med Genet 89: 218-223, 1999.
24. **Bergadá, I.; Rojas, G.; Ropelato, M.G. y col.** Sexual dimorphism in circulating monomeric and dimeric inhibins in normal boys and girls from birth to puberty. Clin Endocrinol (Oxf) 51: 455-460, 1999.
25. **De Schepper, J.; Verlinde, F.; Cortvrindt, R. y col.** Serum inhibin B in normal term-born male and female neonates during the first week of life. Eur J Pediatr 159: 465-469, 2000.
26. **Bergadá, I.; Ballerini, G.M.; Ayuso, S. y col.** High serum concentrations of dimeric inhibins A and B in normal newborn girls. Fertil Steril 77: 363-365, 2002.
27. **Kubini, K.; Zachmann, M.; Albers, N. y col.** Basal inhibin B and the testosterone response to human chorionic gonadotropin correlate in prepubertal boys. J Clin Endocrinol Metab 85: 134-138, 2000.
28. **Andersson, A.; Skakkebæk, N.E.** Serum inhibin B levels during male childhood and puberty. Mol Cell Endocrinol 180: 103-107, 2001.
29. **De Rosa, M.; Lupoli, G.; Mennitti, M. y col.** Congenital bilateral anorchia: clinical, hormonal and imaging study in 12 cases. Andrologia 28: 281-285, 1996.
30. **Ibáñez, L.; Valls, C.; Cols, M. y col.** Hypersecretion of FSH in Infant Boys and Girls Born Small for Gestational Age. J Clin Endocrinol Metab 87: 1986-1988, 2002.
31. **Nguyen, H.T.; Coakley, F.; Hricak, H.** Cryptorchidism: strategies in detection. Eur Radiol 9-336, 1999.
32. **Elder, J.S.** Ultrasonography is Unnecessary in Evaluating Boys with a Nonpalpable Testis. Pediatrics 110: 748-751, 2002.
33. **Forest, M.G.; Sizonenko, P.C.; Cathiard, A.M. y col.** Hypophyso-gonadal function in humans during the first year of life. I. Evidence for testicular activity in early infancy. 53: 819-828, 1974.
34. **Ibáñez, L.; Valls, C.; Cols, M. y col.** Hypersecretion of FSH in Infant Boys and Girls Born Small for Gestational Age. J Clin Endocrinol Metab 87: 1986-1988, 2002.
35. **Muller, J.; Skakkebæk, N.E.** Quantification of germ cells and seminiferous tubules by stereological examination of testicles from 50 boys who suffered from sudden death. Int J Androl 6: 143-156, 1983.
36. **Rey, R.; Lordereau-Richard, I.; Carel, J.C. y col.** Anti-müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely related during normal and precocious pubertal development. J Clin Endocrinol Metab 77: 1220-1226, 1993.

37. **Lee, M.M.; Donahoe, P.K.; Hasegawa, T. y col.** Müllerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. J Clin Endocrinol Metab 81: 571-576, 1996.
38. **Guibourdenche, J.; Lucidarme, N.; Chevenne, D. y col.** Anti-Müllerian hormone levels in serum from human foetuses and children: pattern and clinical interest. Mol Cell Endocrinol 211: 55-63, 2003.
39. **Crofton, P.M.; Evans, A.E.M.; Groome, N.P. y col.** Inhibin B in boys from birth to adulthood: relationship with age, pubertal stage, FSH and testosterone. Clin Endocrinol 56: 215-221, 2002.
40. **Misra, M.; MacLaughlin, D.T.; Donahoe, P.K. y col.** Measurement of Müllerian inhibiting substance facilitates management of boys with microphallus and cryptorchidism. J Clin Endocrinol Metab 87: 3598-3602, 2002.
41. **Misra, M.; MacLaughlin, D.T.; Donahoe, P.K. y col.** Measurement of Müllerian inhibiting substance facilitates management of boys with microphallus and cryptorchidism. J Clin Endocrinol Metab 87: 3598-3602, 2002.
42. **Rivarola, M.A.; Bergadá, C.; Cullen, M.** HCG stimulation test in prepubertal boys with cryptorchidism, in bilateral anorchia and in male pseudohermaphroditism. J Clin Endocrinol Metab 31: 526-530, 1970.
43. **Forest, M.G.** Pattern of the response of testosterone and its precursors to human chorionic gonadotropin stimulation in relation to age in infants and children. J Clin Endocrinol Metab 49: 132-137, 1979.
44. **Ciaccio, M.; Rivarola, M.A.; Belgorosky, A.** Decrease of serum sex hormone-binding globulin as a marker of androgen sensitivity. Correlation with clinical response. Acta Endocrinol (Copenh) 120: 540-544, 1989.
45. **Tapanainen, J.; Martikainen, H.; Dunkel, L. y col.** Steroidogenic response to a single injection of hCG in pre- and early pubertal cryptorchid boys. Clin Endocrinol (Oxf) 18: 355-362, 1983.
46. **Kolon, T.F.; Miller, O.F.** Comparison of single versus multiple dose regimens for the human chorionic gonadotropin stimulatory test. J Urol 166: 1451-1454, 2001.
47. **Ropelato, M.G.; Escobar, M.E.; Gottlieb, S. y col.** Gonadotropin secretion in prepubertal normal and agonadal children evaluated by ultrasensitive time-resolved immufluorometric assays. Horm Res 48: 164-172, 1997.
48. **Maghnie, M.; Vanzulli, A.; Paesano, P. y col.** The accuracy of magnetic resonance imaging and ultrasonography compared with surgical findings in the localization of the undescended testis. Arch Pediatr Adolesc Med 148: 699-703, 1994.
49. **Siemer, S.; Humke, U.; Hildebrandt, U. y col.** Diagnosis of nonpalpable testes in childhood: comparison of magnetic resonance imaging and laparoscopy in a prospective study. Eur J Pediatr Surg 10: 114-118, 2000.
50. **Baillie, C.T.; Fearns, G.; Kitteringham, L. y col.** Management of the impalpable testis: the role of laparoscopy. Arch Dis Child 79: 419-422, 1998.
51. **Zaccara, A.; Spagnoli, A.; Capitanucci, M.L. y col.** Impalpable testis and laparoscopy: when the gonad is not visualized. JSLS 8: 39-42, 2004.
52. **McEachern, R.; Houle, A.M.; Garel, L. y col.** Lost and found testes: the importance of the hCG stimulation test and other testicular markers to confirm a surgical declaration of anorchia. Horm Res 62: 124-128, 2004.
53. **Pasqualini, T.; Chemes, H.; Rivarola, M.A.** Testicular testosterone levels during puberty in cryptorchidism. Clin Endocrinol (Oxf) 15: 545-554, 1981.
54. **Rivarola, M.A.; Pasqualini, T.; Chemes, H.E.** Testicular testosterone and dihydrotestosterone during sexual development in humans. J Steroid Biochem 19: 961-964, 1983.
55. **Christiansen, P.; Andersson, A.M.; Skakkebæk, N.E.** Longitudinal Studies of Inhibin B Levels in Boys and Young Adults with Klinefelter Syndrome. J Clin Endocrinol Metab 88: 888-891, 2003.
56. **Wikstrom, A.M.; Raivio, T.; Hadziselimovic, F. y col.** Klinefelter Syndrome in Adolescence: Onset of Puberty Is Associated with Accelerated Germ Cell Depletion. J Clin Endocrinol Metab 89: 2263-2270, 2004.
57. **Lahlou, N.; Fennoy, I.; Carel, J.C. y col.** Inhibin B and Anti-Mullerian Hormone, But Not Testosterone Levels, Are Normal in Infants with Nonmosaic Klinefelter Syndrome. J Clin Endocrinol Metab 89: 1864-1868, 2004.
58. **Rey, R.; Bastida, M.G.; Bedecarrás, P. y col.** Klinefelter syndrome: Assessment of Sertoli and Leydig cell endocrine function in childhood and adolescence. Horm Res 64 (suppl. 1): 125, 2005. (abstract)

Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo Vol 43 • No. 1
Copyright © 2006 por la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo

INFORME DEL CACDDI-FASEN

Durante el Congreso Mundial de Tiroides, celebrado en Buenos Aires entre el 30 de octubre y el 4 de noviembre de 2005, las 4 sociedades continentales de tiroides (ATA, AOTA, ETA y SLAT) redactaron y firmaron un acuerdo conjunto con respecto a la deficiencia de yodo, cuyo texto original, con la firma de los 4 Presidentes, se transcribe a continuación:

Statement Regarding Iodine Deficiency:

We note the progress toward eliminating iodine deficiency disorders (IDD) in all parts of the world in reports from the World Health Organization (WHO), the United Nations Children's Fund (UNICEF) and the International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders (ICCIDD);

We recognize and affirm the need for national priority attention in each country to achieve the goal of virtual elimination as recommended by the United Nations Special General Assembly on Children;

We are concerned that Iodine Deficiency remains a serious public health problem in many places as a major threat to preventable brain damage to millions of children, as well as threats of cretinism, miscarriage, stillbirth, and physical impairment;

We strongly support the effort to achieve Universal Salt Iodization because regular iodine consumption constitutes one of the most cost-effective public nutrition interventions, contributing to economic and social development,

We recognize that still one-third of the global population remains at risk, mostly in the poorest and economically least developed areas of the world;

We commend the work of the World Health Organization, the United Nations Children's Fund and ICCIDD in the global effort to initiate, improve and support national programs for the virtual elimination of Iodine Deficiency and Kiwanis International for its steadfast financial and other support to those efforts;

We strongly support the World Health Assembly (WHA) Resolution calling for additional political commitment, improved national oversight and monitoring, and improved reporting on iodine nutrition status; and

Further, we request all of the Members of the International Thyroid Association become associated with and support the National Committee formed in each country for oversight, public reporting and monitoring of progress;

Therefore, we call upon all Members, national and international, to seek collaboration with national leaders of iodination programs in order to achieve the goal of virtual elimination of Iodine Deficiency.

American Thyroid Association President — Paul W. Ladenson

European Thyroid Association President — Wilmar M. Wiersinga

Asia and Oceania Thyroid Association President — Bo Youn Cho

Latin American Thyroid Society President — Doris Rosenthal

Buenos Aires, October 31, 2005

Dra. María del Carmen Silva-Croome Dr. Hugo Niepomniszcze

Coordinadores del CACDDI-FASEN

Monitoreo de DDI en la provincia de Tucumán (2002).

*Rank, J. E. *; Avila de Manzur, Josefina **; Olaya, L. **; Bazán de Casella, Cristina **; Pavesa, Cristina **; Pasarell de Olaya, Noemí **; Rossino de Rey, Rafaela **; Rank, G. **; Chaila, Zulema ***; Tanssig, S. ***; Sánchez de Boeck, Nora ***; Martín de Quevedo, Angeles ***; Bernatené, D.º; Sartorio, G.ºº y Niepomniszcze, H. ººº•*

* Médico Responsable de la Coordinación Local, ** Médicos de la Provincia de Tucumán, *** Bioquímicos de la Provincia de Tucumán, º Bioquímico del Hospital San Juan de Dios de Buenos Aires, ºº Director Bioquímico de la División Endocrinología del Hospital "Ramos Mejía" de Buenos Aires, ººº Médico Responsable del Programa de Monitoreo del CACDDI y • División Endocrinología del Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UBA.

Resumen

Un total de 1007 alumnos de escolaridad primaria, de ambos sexos, fue estudiado en este monitoreo de bocio endémico en 3 localidades de la provincia de Tucumán: San Miguel de Tucumán (416 niños), Banda del Río Salí (315) y El Manantial [Departamento de Lules] (276 niños). La edad de los escolares osciló entre 6 y 14 años. La palpación tiroidea fue hecha por el conjunto de los médicos participantes. Sin embargo, con la finalidad de aunar criterios con lo realizado previamente [1-11], se tomó como única referencia la palpación de H.N., que se llevó a cabo en la totalidad de los niños estudiados. La definición del grado de bocio fue similar a la utilizada en los otros relevamientos [1]. Se determinó la yoduria en muestras casuales de orina emitidas por los niños una vez que fueron palpados (76 de San Miguel de Tucumán, 151 de Banda del Río Salí y 156 de El Manantial). Se pudo medir el contenido de yodo en 86 muestras de sal de consumo hogareño de San Miguel de Tucumán, 149 de Banda del Río Salí y 111 de El Manantial. El examen palpatorio de los niños reveló la existencia de bocio grado 1, con excepción de 2 niños de Banda del Río Salí cuyas glándulas presentaron nódulos. La prevalencia de bocio encontrada fue de 3,6% en San Miguel de Tucumán, 3,6% en el conjunto de los turnos mañana e intermedio y 8,9% en el turno tarde de Banda del Río Salí y 13% en El Manantial. Los niveles de yoduria tuvieron, en San Miguel de Tucumán, una media de 91μg/L y una mediana de 66μg/L, en Banda del Río Salí el promedio fue de 72μg/L y la mediana de 58μg/L, mientras que en El Manantial la media fue de 67μg/L y la mediana de 46μg/L. Cuando se analizaron las yodurias, en función de las marcas de sal consumidas, existió una importante diferencia entre las yodurias de los escolares que consumían marcas de sal de distribución nacional con respecto a aquellos que en sus hogares utilizaba sal de marcas de consumo local. De tal manera, se observó que en el conjunto de las localidades relevadas en este monitoreo en la provincia de Tucumán, el promedio de las yodurias, correspondientes a las marcas nacionales, alcanzó un valor de 86,1μg/L, con una mediana de 67μg/L, mientras que las marcas locales tuvieron una media de 69,2μg/L con una mediana de 50μg/L. Estos valores indican que los niveles de yoduria de los escolares fueron bajos en todas las localidades y, más aún, si el consumo hogareño de sal provenía de marcas locales. El contenido de yodo de las sales que aportaron los alumnos también varió en gran medida según el tipo de sal consumida. Cuando se analizaron las marcas de consumo nacional se obtuvo una media de 31,3±11,1 mg/Kg para Celusal® y de 31,9±11,8 mg/Kg para Dos Anclas®. Sin embargo, al considerar el grupo de marcas locales, salvo el caso de Salvitan® que tuvo una media de 22,3±5,7 mg/Kg, estos valores cayeron abruptamente, variando entre 0 y 8,1 mg/Kg. También pudimos observar que la calidad de las sales, traídas por los alumnos, fue muy diferente entre las marcas locales y nacionales. Cuando se pretendió llevar a cabo la medición del contenido de yodo de las mismas, se comprobó que un número consi-

Palabras Clave: Bocio endémico, deficiencia de yodo, monitoreo, tiroides y salud pública, sal yodada.
Key Words: Endemic Goiter, Iodine Deficiency, Screening Programs, Thyroid and Public Health, Iodized Salt.
Recibido: 27-02-06 **Aprobado:** 14-03-06

derable de sales locales se habían deteriorado por humedad, no ocurriendo lo mismo con las sales de consumo nacional. Al evaluar el porcentaje de muestras, cuyas concentraciones de yodo fueron <15mg/Kg, se vio que las marcas nacionales, analizadas en conjunto para toda la provincia de Tucumán, alcanzaron apenas un 9%, pero las sales locales arrojaron, con la excepción de Salvitan®, cifras que oscilaron entre 75 y 100%. Concluímos que en la provincia de Tucumán, al momento de realizar el presente monitoreo, existió una marcada deficiencia de yodo por una muy mala yodación de la gran mayoría de las sales manufacturadas localmente, las que también fueron de mala calidad a juzgar por el alto grado de humedad que evidenciaron. Los diferentes valores de prevalencia de bocio encontrados conllevan un paralelismo inverso con el nivel socioeconómico de los alumnos examinados. En forma resumida, puede afirmarse que cuanto más paupérrimo es el niño, mayor consumo de sal pobremente yodada tiene y, por ende, mayor prevalencia de bocio manifiesta. En los albores del Siglo XXI, esta situación resulta lisa y llanamente vergonzosa. Consideramos que es responsabilidad de las autoridades velar por el cumplimiento de la Ley 17259 por parte de las industrias salineras que no yodan la sal apropiadamente o que directamente no la yodan en absoluto. A nuestro criterio, esta última situación es una práctica delictiva, dado que en sus envases de sal, dichas compañías aseguran haber yodado la sal que comercializan. Es de esperar que este estudio promueva que las autoridades competentes tomen las medidas necesarias para revertir esta dañina situación, que atenta contra la salud de la población en general y de los niños en particular.
(Rev Argent Endocrinol Metab 43:54-59, 2006)

Introducción

Este monitoreo fue llevado a cabo dentro del marco del Programa del CACDDI patrocinado por Química Montpellier S.A., habiéndose realizado en tres localidades de la provincia de Tucumán, los días 12, 13 y 14 de junio de 2002. Las ciudades estudiadas fueron San Miguel de Tucumán, Banda del Río Salí (Departamento Cruz Alta) y El Manantial (Departamento Lules). Contó con la participación, en "terreno", de 8 médicos y 4 bioquímicos, como representantes locales, mientras que del CACDDI fue, desde Buenos Aires, el Coordinador del Programa (H.N.). La distribución de las tareas fue acorde con lo llevado a cabo en los relevamientos anteriores [1-11].

Material y Métodos

Se palpó el cuello de 416 niños de la Escuela "General Belgrano" de San Miguel de Tucumán, de 315 de la Escuela "Juan Crisóstomo Méndez" de Banda del Río Salí y de 276 de la Escuela Nro. 394 "Adolfo Kapelusz" de El Manantial. En todas las escuelas fue equivalente el número de varones y mujeres, cuyas edades oscilaron entre 6 y 14 años.

Las palpaciones fueron realizadas por el conjunto de los médicos participantes. Al igual que en relevamientos anteriores [3-11] y con la finalidad de aunar criterios para todo el Programa Nacional, se tomó como única referencia la palpación de H.N. La metodología usada en este relevamiento se basó en el trípode clásico (palpación tiroidea, recolección de orina y de muestras de sal de consumo hogareño) tal cual fuera descrito en una publicación anterior [1].

En la fig.1 se observa la distribución por edades de los alumnos estudiados en las tres localidades. Se determinó la yoduria en muestras casuales de orina, emitidas por los niños una vez que fueron palpados (76 de la ciudad de Tucumán, 151 de Banda del Río Salí y 156 de El Manantial). Se pudo medir el contenido de yodo en 86 muestras de sal de consumo hogareño de San Miguel de Tucumán, 149 de Banda del Río Salí y 111 de El Manantial.

Las yodurias fueron determinadas en Buenos Aires a través de la División Endocrinología del Hospital Municipal "Ramos Mejía". El contenido de yodo en las muestras de sal fue analizado en Córdoba por el Dr. Rolando Pécora.

Resultados

La prevalencia de bocio fue de 3,6% en los alumnos de la ciudad de Tucumán, también de 3,6% en el conjunto de escolares de los turnos mañana e intermedio, pero de 8,9% en los del turno tarde de la localidad de Banda del Río Salí, mientras que en El

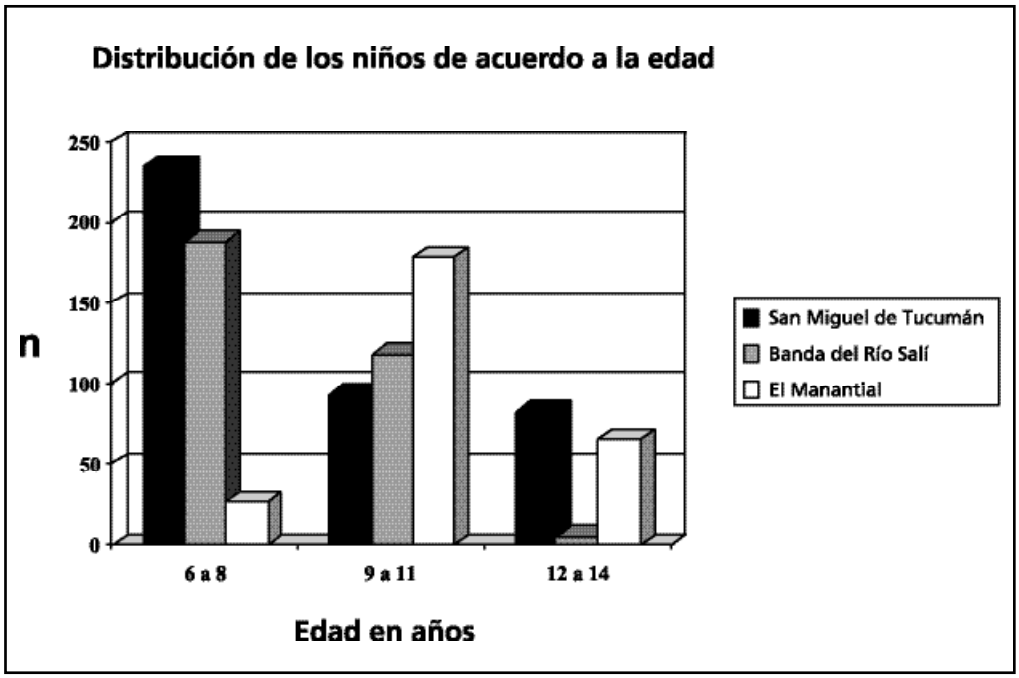


Figura 1. Distribución de alumnos por edad.

Manantial el porcentaje de bocio alcanzó la cifra de 13% (Fig.2). El examen palpatorio de los niños reveló la existencia de bocio grado 1, con excepción de 2 niños de Banda del Río Salí que tuvieron nódulos solitarios. No hubo relación alguna entre la frecuencia de bocio y la edad y sexo de los alumnos. Sin embargo, hubo correlación entre la frecuencia de bocio y el nivel socioeconómico de los niños. El caso más elocuente fue la diferencia encontrada en Banda del Río Salí con los chicos del turno tarde, que asociaron su marcado pauperismo con una mayor prevalencia de bocio. Cabe señalar que los niños de los turnos mañana e intermedio provenían de familias con un mucho mejor status socioeconómico que los de la tarde. Los alumnos de El Manantial, independientemente del turno al que pertenecían, tuvieron el mayor grado de pauperismo observado en este relevamiento de la provincia de Tucumán Estos resultados mostraron cifras porcentuales de bocio compatibles con una endemia leve, con la excepción de los escolares de la ciudad de Tucumán y de los de condición más pudiente de la Banda del Río Salí.

Yodurias:

El contenido de yodo urinario promedio de los escolares de todas las localidades fue bajo, siendo de 91μg/L para San Miguel de Tucumán, con una mediana de 66μg/L, de 72μg/L, con una mediana de 58μg/L, para Banda del Río Salí y de 67μg/L para El Manantial, cuya mediana fue de 46μg/L. Cuando se correlacionaron estos datos de acuerdo a la marca de sal consumida, se observaron los siguientes valores para el conjunto de las 3 localidades estudiadas:

1) Marcas Nacionales: el promedio de las yodurias fue de 86,1μg/L, con una mediana de 67μg/L.

2) Marcas Locales: tuvieron un promedio de 69,2μg/L con una mediana de 50μg/L.

Contenido de yodo en la sal de consumo hogareño:

El nivel de yodo de las sales, así como la calidad de las mismas, varió en gran medida según la marca de sal consumida. Por tal motivo, pudimos observar diferencias muy marcadas entre las de consumo nacional (Celusal® y Dos Anclas®) y aquellas de elaboración y/o consumo local (todas las demás, con excepción de Salvitan®). En la tabla I pueden observarse los datos que hemos obtenido sobre el contenido yódico de las sales traídas por los alumnos. Con respecto a la calidad de las sales, pudimos comprobar que un número considerable de sales lo-

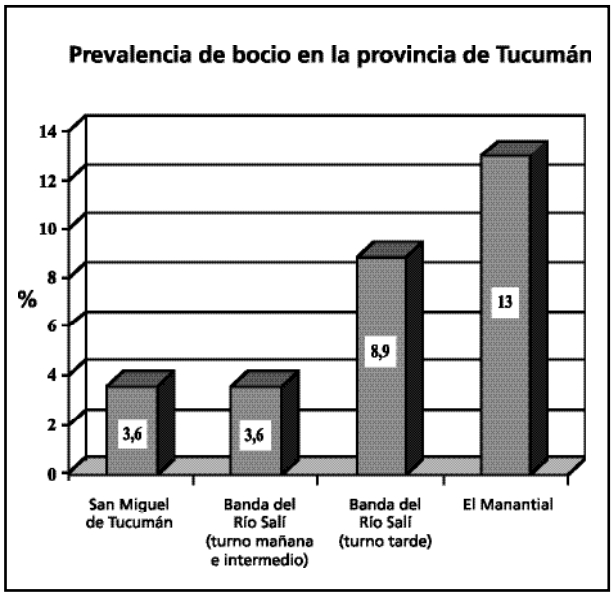


Figura 2. Prevalencia de bocio.

cales se habían deteriorado por humedad, no ocurriendo lo mismo con las sales de consumo nacional. Al evaluar el porcentaje de muestras, cuyas concentraciones de yodo fueron <15mg/Kg, se vio que las marcas nacionales, analizadas en conjunto para toda la provincia de Tucumán, alcanzaron apenas un 9%, pero las sales locales arrojaron, con la excepción de Salvitan®, cifras que oscilaron entre 75 y 100%, lo cual supera por lejos el límite del 10%, que es el máximo que acepta la ICCIDD [12] para que una sal sea considerada óptimamente yodada. En la Tabla II se presentan los porcentajes de consumo de sal según las marcas en cada una de las localidades estudiadas.

Discusión

Previamente a la yodación compulsiva de la sal, la provincia de Tucumán, al igual que el resto del noroeste argentino, era una región donde el bocio y el cretinismo endémicos afectaban a un alto número de sus habitantes. Después de la implementación de la profilaxis con sal yodada [13] la situación mejoró ostensiblemente. Sin embargo, a diferencia de otros territorios de nuestro país, los progresos no tuvieron el nivel esperado. Una situación análoga la encontramos también en Jujuy [11] y, como surge del análisis de los datos recogidos, las causas parecen ser similares para ambas provincias. Creemos que en la provincia de Tucumán, al momento de realizar el presente monitoreo, existió una marcada deficiencia de yodo por una muy mala yodación de la gran mayoría de las sales manufacturadas localmente, las que también fueron de mala calidad a juzgar por el alto grado de humedad que evidenciaron. Paradójicamente, una de las sales de consumo nacional (Celusal®), que es un ejemplo a seguir en calidad y yodación, se fabrica precisamente en la provincia de Tucumán. Otra excepción a la deficiencia en la yodación de la sal es la marca de consumo local Salvitan, que demostró un nivel promedio de yodo aceptable, aunque no fuese el ideal. Es así que, los diferentes valores de prevalencia de bocio encontrados mostraron una suerte de paralelismo inverso con el nivel socioeconómico de los alumnos examinados. En forma resumida, puede afirmarse que cuanto más paupérrimo es el niño, mayor consumo de sal pobremente yodada tiene y, por ende, mayor prevalencia de bocio manifiesta. En los albores del Siglo XXI, esta situación resulta lisa y llanamente vergonzosa.

Un par de meses después de llevar a cabo este monitoreo en la provincia de Tucumán, apareció en el diario La Gaceta (Tucumán) [14] un artículo periodístico, en la sección Policiales del mencionado matutino, cuyo título era: "Prohíben la venta de dos marcas de sal". En dicha nota se hacía referencia a que la Dirección de Comercio Interior y Transporte de la provincia recomendó evitar el consumo de sal gruesa y de mesa de las marcas Santa Rita, y Manto Blanco, luego de un análisis realizado por el Departamento de Bromatología del SIPROSA. En ambos productos se detectaron diversas faltas al Código Alimentario Argentino, como un elevado contenido de agua (tenían 2,6% de humedad, mientras que el máximo permitido es de 0,5%) entre otras deficiencias. Sin embargo, lo más grave que señalaba el informe era el hecho de que las sales mencionadas no contaban con el agregado de yodo que impone la ley. Evidentemente, lo publicado por el diario La Gaceta concordaba plenamente con nuestros hallazgos. Al día siguiente de esa publicación periodística, y también por el mismo medio, se comunicaba a la población que la firma Manto Blanco, retiraba del mercado los lotes de mercadería impugnada y que

Tabla 1. Contenido de yodo en la sal consumida por los escolares de la provincia de Tucumán

Marca	Cantidad (media ± D.S.) mg/Kg	% de muestras con <15mg/Kg	Valor del D.S. como % del valor de la media	Rango en mg/Kg	n
Marcas Nacionales:					
Celusal®	31,3 ± 11,1	9,5	35,5	0 - 55,3	105
Dos Anclas®	31,9 ± 11,8	0	37,0	15,9 - 48,5	9
Marcas Locales:					
Salvitan®	22,3 ± 5,7	0	25,6	18,3 - 31,7	5
Manto Blanco®	4,0 ± 9,2	89,7	230,0	0 - 55,7	116
Nortesal®	2,3 ± 5,4	96	234,8	0 - 16,5	25
Cris Sal®	0,7 ± 1,6	100	228,6	0 - 4,6	15
Sabrosal®	4,0				1
Santa Rita®	8,1 ± 16,2	75	200,0	0 - 32,3	4
Doña Emma®	1,5 ± 2,5	100	166,7	0 - 4,4	3

Marcas carentes de yodo: Andina® , San Antonio®, El Cóndor®, Molino San Jorge®, Sarantomes®, La Norteña®

Tabla 2. Consumo de sal según la marca

Marca	Localidad		
	San Miguel de Tucumán	Banda del Río Salí	El Manantial
Celusal®	55,6 %	17,8 %	16,7%
Dos Anclas®	5,2 %	1,9 %	1,5%
Salvitan®	6,7 %	3,2%	0,8%
Manto Blanco®	24,4%	61,8%	43,9%
Nortesal®	3,0 %	2,5%	22,7%
Cris Sal®	0,7 %	3,2%	9,1%
Otras Marcas	4,4%	9,6%	5,5%
Marcas Nacionales	60,8%	19,7%	18,2%
Marcas Locales	39,2%	80,3%	81,8%
Marcas Nacionales + Salvitan®	67,5%	22,9%	19,0%
Marcas Locales - Salvitan®	32,5%	77,1%	81,0%

estudiaría las observaciones realizadas [15]. Es de esperar que dicha firma haya tomado los recaudos pertinentes para solucionar el problema. Debemos aclarar, al respecto, que nosotros no tuvimos, todavía, la oportunidad de verificar el eventual cumplimiento de las disposiciones legales vigentes por parte de Manto Blanco. Al margen de ello, aún en el supuesto caso de que dicha firma comercial haya subsanado la deficiencia de yodo, nos cabe preguntar qué ha sucedido con todas las demás marcas de sal que se encontraban en una situación igual o peor a la de la citada empresa salinera.

Un tema que merece una consideración especial es el de la explicación del porqué los niños que consumieron, en sus hogares, sales de marcas con un óptimo nivel de yodación, aún así presentaron yodurias por debajo de lo recomendado por la ICCIDD [12]. Es sabido que la ingesta de sal, en el ser humano, proviene en parte por la que deriva de los alimentos envasados (conservas, fiambres, quesos,

etc.) y manufacturados (pan, fideos, pastas en general, etc.), que representarían alrededor del 60% del consumo, y el resto tendría como origen directo a la sal, que se expende como tal en los comercios, y que es usada para condimentar la comida. Es de suponer, entonces, que a pesar de utilizar en los hogares sales con óptimos niveles de yodación, estos niños consumieron alimentos manufacturados cuya sal provino del uso de marcas deficientemente yodadas. La situación inversa, también es válida para los casos donde la sal de consumo hogareño fue deficitaria en yodo, pero los alimentos envasados o manufacturados contuvieron sales de buena calidad.

Opinamos que es responsabilidad de las autoridades velar por el cumplimiento de la Ley 17259 [13] por parte de las industrias salineras que no yodan la sal apropiadamente o que directamente no la yodan en absoluto. A nuestro criterio, esta última situación es una práctica delictiva, dado que en sus envases de sal, dichas compañías aseguran haber yodado la sal que comercializan. Es de esperar que este estudio promueva que las autoridades competentes tomen las medidas necesarias para revertir esta dañina situación, que atenta contra la salud de la población en general y de los niños en particular.

Agradecimiento: Agradecemos al Sr. Mario Tomaíno, miembro de la Dirección Médica de Química Montpellier S.A., por su valiosa cooperación en la programación logística de esta campaña. Asimismo, hacemos extensivo nuestro reconocimiento al Dr. Héctor Ascierto, Director Médico de Química Montpellier, quien con su fundamental apoyo hizo posible que este monitoreo se haya concretado.

Bibliografía

1. **Pereyra, A. y col.** Monitoreo de DDI en Resistencia, Prov. de Chaco (1999). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 39:121, 2002
2. **Bollada, P. y col.** Monitoreo de DDI en la pcia. de Catamarca (1999). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 39:181, 2002
3. **Mascaró, P. y col.** Monitoreo de DDI en la Costa Patagónica (1999). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 39: 243, 2002
4. **Escalada, L.F. y col.** Monitoreo de DDI en la provincia de Misiones (2000). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 40: 44, 2003
5. **Morando, J.D. y col.** Monitoreo de DDI en la provincia de San Juan (2000). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 40:190, 2003
6. **Spegni, S. y col.** Monitoreo de DDI en la Cordillera Rionegrina (2000). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 40: 263, 2003
7. **Hereñú, M. y col.** Monitoreo de DDI en el Sur de la provincia de Mendoza (2000) Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 41: 47, 2004.
8. **Ortiz Arzelán, A. y col.** Monitoreo de DDI en la provincia de Córdoba (2001). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 41: 113, 2004
9. **Bertrand, B. y col.** Monitoreo de DDI en el Alto Valle del Río Negro (2001). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 41: 171, 2004
10. **Lucero, E. y col.** Monitoreo de DDI en la provincia de San Luis (2001). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 42: 116, 2005
11. **Basbus, M. C. y col.** Monitoreo de DDI en la provincia de Jujuy (2002). Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 42: 172, 2005
12. **Pretell, E. A. y col.** Consenso sobre los desórdenes por deficiencia de yodo en Latinoamérica. Criterios de evaluación y monitoreo para su erradicación sostenida. Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 35:239, 1998
13. **Salvaneschi, J.P.** La Ley Nacional 17259. Rev. Argent. Endocrinol. Metab., 40:268, 2003
14. Prohíben la venta de dos marcas de sal. La Gaceta (Tucumán). Sección Policiales, Viernes 2 de agosto de 2002, página 15
15. Retiran del mercado una sal. La firma Manto Blanco analizará el producto. La Gaceta (Tucumán). Sección Policiales, sábado 3 de agosto de 2002, página 15.