

ULTRAESTRUCTURA DEL SINDROME DE FEMINIZACION TESTICULAR

Dr. Julio E. Ospina*

Dr. Jorge E. Medina**

RESUMEN

Se estudiaron tres hermanas de 16, 18 y 20 años respectivamente, quienes presentaban un síndrome de feminización testicular.

El motivo de la consulta fue amenorrea primaria. Las tres presentaban ausencia de virilización y el cariotipo reveló un complemento cromosómico 46-XY. Se hicieron laparatomías exploradoras y gonadectomías en todas ellas, para evitar degeneración maligna.

Después de la gonadectomía se instituyó una terapia hormonal de suplencia, de la siguiente manera: dos de ellas recibieron estrógenos conjugados y otra, metil-testosterona 10 mg diarios. No se observaron signos de virilización. Tampoco se observaron diferencias en la respuesta clínica o en la citología vaginal en las dos hermanas que recibieron estrógenos durante seis meses de estrecha observación.

Al microscopio de luz, el examen de las gonadas mostró túbulos seminíferos formados por células con citoplasma claro y abundante parecidas a las células de Sertoli. Tejido conjuntivo y células de Leydig se observaron en el espacio intersticial.

Al microscopio electrónico se observaron células de Sertoli abundantes e inmaduras y células de Leydig bien diferenciadas, cuya apariencia morfológica sugiere una esteroidogénesis muy activa, tal como ocurre en el testículo adulto. Los hallazgos ultraestructurales y la falta de virilización en la paciente que recibió metil-testosterona por seis meses, nos hacen pensar que la ausencia de características androgénicas parecen estar relacionadas con órganos blanco refractarios debido a una falla enzimática (de 5-alfa-reductasa), que impide que la testosterona se transforme en 5-alfa-dehidrotestosterona, metabólicamente activa.

* Director Instituto Nacional de Cancerología, Jefe, Sección de Microscopía Electrónica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia.

** Profesor Asociado de Obstetricia y Ginecología, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Este trabajo fue presentado en el V Congreso Bolivariano de Endocrinología, Agosto de 1975, Bogotá, Colombia.

INTRODUCCION

El síndrome de Feminización Testicular representa una interesante variedad de pseudohermafroditismo masculino de tipo familiar caracterizado por un fenotipo femenino con senos bien desarrollados, ausencia de vello axilar y púbico, vagina ciega, ausencia de útero y trompas de Falopio, gonadas localizadas en la cavidad pélvica, en el canal inguinal o en los labios mayores, y un complemento cromosómico 46 XY, con cromatina sexual negativa y cromosoma Y fluorescente.

Desde que Morris en 1953 (1) llamó la atención sobre este síndrome y lo clasificó en completo cuando hay feminización total e incompleto cuando hay algunos signos de virilización como hipertrofia del clítoris y algo de vello axilar y púbico, se han estudiado exhaustivamente estas pacientes desde el punto de vista endocrino, genético, histológico y bioquímico.

Se trasmite con un gene recesivo ligado al sexo o como un gene autosómico dominante limitado al sexo masculino (2) (3) (4). Está demostrado que hay producción adecuada tanto de estrógenos como de andrógenos (4) (5) (6), sin embargo estas pacientes son totalmente refractarias a la acción de los andrógenos (2) (7) (8), posiblemente por defecto enzimático.

La testosterona parece que no está biológicamente activa, sino cuando es convertida en 5 alfa-dehidrotestosterona en los tejidos receptores (9). Varios investigadores han encontrado falla en la piel suprapúbica de pacientes con este síndrome para hacer esta conversión. (9) (10).

La histología de estos testículos ha sido ampliamente estudiada y descrita como testículos fetales, inmaduros o criptorquídicos (2) (4); lo cual ha hecho pensar a algunos autores que la alteración endocrina se pueda deber a deficiencia en la producción de esteroides por las células de Leydig (11).

Al microscopio electrónico Smith y col. (12) describen testículos similares a los descritos como inmaduros; Pérez-Palacio (13), Gordon (14) y colaboradores describen células de Leydig ma-

duras sin tener en cuenta si se trata de pacientes con feminización total o parcial. Damjanov y col. (11) encuentran en la variedad completa células de Leydig inmaduras y concluyentes que la falta de virilización en estas pacientes se puede deber a esta falla.

Al tener nosotros la oportunidad de estudiar tres hermanas con la variedad completa del Síndrome de Feminización Testicular, nos ha parecido de la mayor importancia completar el estudio con la microscopía electrónica, lo cual constituye el objeto de esta presentación.

MATERIAL Y METODOS

A— Presentación de los casos

Se trata de tres hermanas con historias clínicas números 88, 870, 871 y 88.928 del Hospital Universitario San Ignacio, L. R. de 18 años fue remitida para estudio citogenético al laboratorio de Investigación del Instituto Nacional de Cancerología, por presentar amenorrea primaria.

Su cariotipo mostró complemento cromosómico 46, XY y la paciente informó que dos de sus hermanas presentaban el mismo problema, por lo cual se citaron para examinarlas y se comprobó la misma situación clínica. Después de estudiarlas en la consulta externa del Hospital Universitario San Ignacio, se admitieron al Servicio de Ginecología para Laparotomía Exploradora y extirpación de las gonadas.

Ellas son las últimas hijas del segundo matrimonio de su madre. Tienen dos hermanas mayores, una hermana media y dos hermanos medios, todos normales. El niño mayor del segundo matrimonio murió a los 14 meses y el producto del 4o. embarazo del segundo matrimonio fue un mortinato, (ver pedigree en la figura No. 1). No hay más casos comprobados en la familia.

Las tres hermanas fueron estudiadas simultáneamente. (Figura No. 2). Presentaban desarrollo somático normal con senos bien

■ SINDROME DE FEMINIZACION TESTICULAR

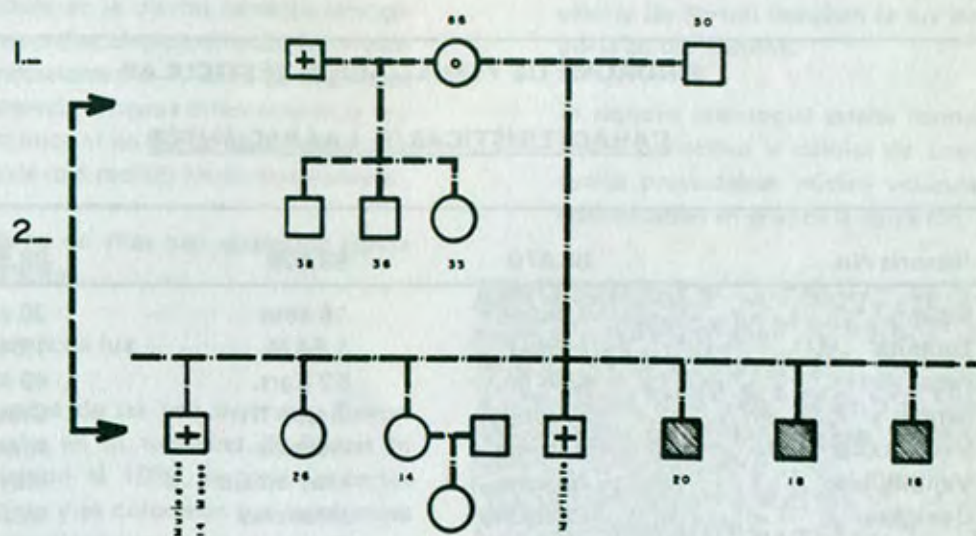


Figura No. 1. Pedigree.



Figura No. 2. Fotografía de las tres hermanas con SFT. Nótese el desarrollo de los senos y la ausencia de vello axilar y púbico.

desarrollados, ausencia de vello axilar y púbico, genitales externos de tipo infantil.

En la tabla No. 1 se resumen las características clínicas de las pacientes.

SINDROME DE FEMINIZACION TESTICULAR			
<u>CARACTERISTICAS DE LAS PACIENTES</u>			
Historia No.	88.870	88.928	88.871
Edad	16 años	18 años	20 años
Estatura	1.58 M.	1.64 M.	1.64 M.
Peso	45 Kgrs.	52 Kgrs.	49 Kgrs.
Senos	Grado III	Grado III	Grado III
Vello Axilar	Ausente	Ausente	Ausente
Vello Púbico	Ausente	Muy escaso	Muy escaso
Genitales Externos	Infantiles Femeninos	Infantiles Femeninos	Infantiles Femeninos
Vagina	4 cm.	7 cm.	9 cm.
Gonadas	Abdominales	Abdominales	Abdominales
Cariotipo	46, XY	46, XY	46, XY
Citología preop—(VEM)*	72.7	52.3	53.7
Terapia Suplencia	Estrógenos Conjugados	Metil Testosterona	Estrógenos Conjugados
Citología 6 meses post-op. (VEM)	54.6	53.5	55.9

* V E M — Valor Estrogénico Medio



Figura No. 3. Hallazgos durante la Laparotomía. Las gonadas ocupaban el sitio de los ovarios. Nótese la ausencia de útero y trompas.

Las pacientes fueron sometidas a Laparotomía. Se encontró ausencia de útero y trompas, y en el sitio correspondiente a los ovarios se encontraron gonadas de color blanquecino nacarado y superficie lisa (Figura No. 3). El post-operatorio transcurrió sin ninguna complicación y las pacientes se han seguido controlando periódicamente desde Octubre de 1971, fecha en que estuvieron hospitalizadas.

Durante el primer mes post-operatorio se les dejó sin terapia de suplencia y hacia el final de la tercera semana empezaron a aparecer síntomas de castración como oleadas de calor, cefaleas y cansancio. Se les inició terapia de suplencia en la siguiente forma:

C.R. 1.25 mgmos. diarios de Estrógenos conjugados; a L. R. se le prescribieron 10 mgmos. diarios de Metil-testosterona y a I. R. se le dejó sin ninguna droga, pero como persistieron los síntomas tres semanas después se le dieron también estrógenos conjugados, desapareciendo las molestias inmediatamente. Al cabo de seis meses no se apareció ninguna diferencia en la respuesta clínica ni en la citología vaginal con la paciente que recibió Metil-testosterona.

En ninguna de ellas han aparecido signos de virilización.

B— Microscopía de luz

Las gonadas de las tres hermanas fueron examinadas en su totalidad. Se fijaron en formaldehído al 10%, se hicieron cortes de parafina y se colocaron por las técnicas usuales de microscopía de luz.

C— Microscopía electrónica

Al extirpar las gonadas se tomaron fragmentos de cada uno de los casos y se fijaron en glutaraldehído al 4% en solución de Hanks durante 8 horas a 4 grados centígrados; luego se trataron con Tetróxido de Osmio diluido al 2% en solución de Hanks durante 4 horas a 4 grados centígrados. Los tejidos fueron deshidratados e incluidos en mezcla de Epon Araldita.

Se utilizó un ultramicrotomo Sorvall MT2 para hacer cortes de 400 Å (Amstrons) de espesor, los cuales se colocaron sobre rejillas de 300 "Mesh" y fueron impregnadas con citrato de plomo y acetato de uranilo.

Los tejidos fueron examinados en un microscopio electrónico JEM 7A con un voltaje de 80 Kv.

RESULTADOS

A— Microscopía de luz

Las gonadas mostraron una apariencia inmadura en general. Los túbulos estaban

formados por células de Sertoli con núcleos oscuros y redondeados. Se observaron algunas células con forma alargada, algo pálidas, las cuales se identificaron como células germinales. (Espermatogonias). Las células de Sertoli llenaban la luz de la mayoría de los túbulos.

El espacio intersticial estaba formado por tejido conectivo y células de Leydig, las cuales presentaban núcleo vesicular y se condensaban en grupos (Figura No. 4).

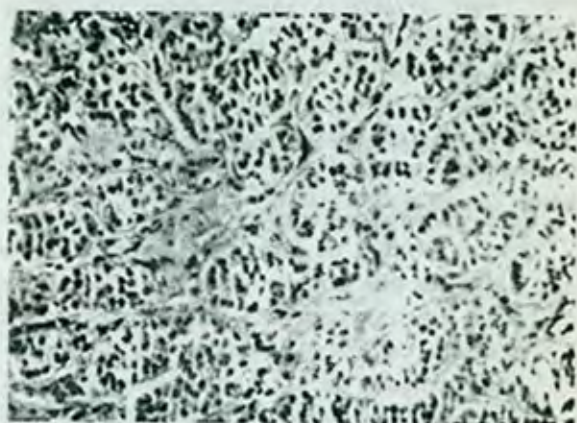


Figura No. 4. Microscopía de luz X 100 X Hema-tóxilina-Eosina. Las células de Sertoli ocupan casi toda la luz de los tubos seminíferos, hay ausencia de espermatogénesis. El espacio intersticial está formado por células de Leydig y tejido conectivo.

B— Microscopía Electrónica

1— **Tubulos seminíferos.** En los tubulos llamó la atención la ausencia de lumen en la gran mayoría de ellos, así como la de espermatogénesis. Estaban rodeados de membrana basal muy delgada en íntima relación con fibroblastos y abundantes fibras colágenas. Se observaron los siguientes tipos de células:

A— **Células de Sertoli.** Estas células eran en general grandes, con un núcleo voluminoso dentro de un citoplasma abundante. Los núcleos eran ovales y esencialmente compuestos de eucromatina, lo cual es indicativo de síntesis activa de RNA mensajero.

La mayoría de estas células presentaban uno o más nucleólos con pars amorfa prominente y nucleólo nemata abundante. En el citoplasma se notaron esbozos de retículo endoplasmático rugoso y ausencia de retículo endoplásmico liso, lo cual es indicativo de falta de diferenciación celular. También se observaron en el citoplasma, mitocondrias redondeadas con crestas prominentes y ocasionales gránulos mitocondriales muy densos. Los ribosomas eran abundantes, aislados y sin ninguna relación con el retículo endoplásmico rugoso; se observaron también sistemas de Golgi rudimentarios, microtúbulos, microfilamentos y gránulos de lipofuscina. La membrana citoplasmática mostraba digitaciones.

B- Células germinales. Estas últimas fueron difíciles de identificar como tales, ya que las que podrían tener las características descritas para ellas, se asimilaban más a células de Sertoli pequeñas. No se observaron cristales de Lubarsch ni tampoco células similares a las definidas como del tipo intermedio de Sertoli por otros autores (15). (Figura No. 5).

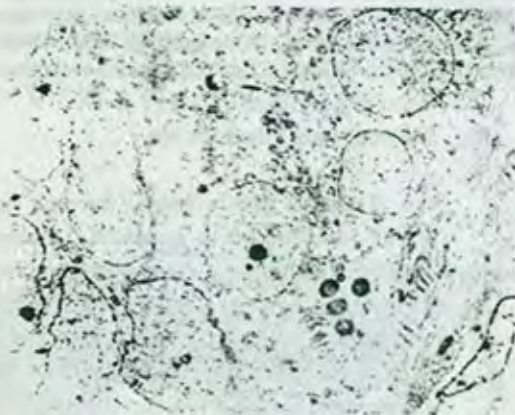


Figura No. 5. Microscopía electrónica X 1.950. Células de Sertoli. Se nota una buena relación núcleo-citoplasmática y uno o más nucleólos en algunos núcleos. Se ven esbozos de RER (retículo endoplásmico rugoso) y abundantes ribosomas libres. Las mitocondrias son redondas y con gránulos densos.

2- Espacio intersticial. Células de Leydig. Estas células eran muy numerosas y se agrupaban entre los túbulos seminíferos alrededor de capilares. Este hallazgo fué

uniforme en todos los cortes. Estas células mostraban núcleos voluminosos, alargados y con ligeras hendiduras.

Se observó heterocromatina en igual proporción que eucromatina. Se vieron ocasionales nucleolos pequeños.

En el citoplasma llamó la atención la presencia de abundantes vesículas de retículo endoplásmico liso y muy escasos túbulos de retículo endoplásmico rugoso con ribosomas. En numerosas células se vieron mitocondrias gigantes con crestas bien definidas y gránulos muy densos a los electrones. Se observaron también gránulos de lipofuscina (Figura No. 6).

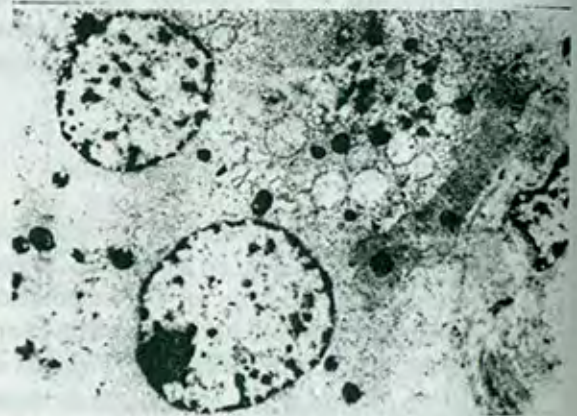


Figura No. 6. Microscopía electrónica. X 1.950. Células de Leydig. Hay numerosas vesículas de REL (Retículo endoplásmico liso) y mitocondrias voluminosas, algunas con edema.

DISCUSION

Algunos autores sugieren que en el síndrome de feminización testicular hay hiperplasia de células de Sertoli, e inclusive formación de adenomas tubulares (1) (2).

Estas sugerencias se basan en observaciones hechas a la microscopía de luz. Sin embargo, el estudio ultraestructural no demuestra que las células de Sertoli formen grupos adenomatosos; lo que se observa es un fenómeno de hiperplasia con detención en su proceso de diferenciación, lo cual se confirma con la ausencia de retículo endoplásmico liso y solo esbozos de retículo endoplásmico rugoso. La hiperplasia de estas

células y escasez de células germinales nos puede explicar la falta de espermatogénesis.

Para algunos autores como Ferenczy y Richard, (15) y Felliniemi, (16) estas células son similares a las células de Sertoli fetales, lo cual confirmamos en nuestras observaciones.

Este fenómeno puede ser importante si se analiza el hecho de que cerca del 30% de estas pacientes desarrollan neoplasias malignas.

En cuanto a los túbulos seminíferos, la presencia de membrana basal fina en todos nuestros casos, establece de por sí una diferencia con gonadas criptorquídicas (17), pues en estas últimas siempre se observa fibrosis peritubular.

El aspecto morfológico de las células de Leydig sugiere una esteroidogénesis sexual muy activa, la ultraestructura indica que los esteroi-

des sintetizados deben ser bioquímicamente normales ya que estas células no difieren de las descritas en testículos adultos.

Esto está de acuerdo por lo sugerido por otros autores (8) (9) (10), quienes afirman que la falla fundamental reside en la incapacidad del órgano receptor de la hormona para permitir la incorporación de esta y no por un defecto en la producción de testosterona en las células de Leydig. En el presente estudio el hecho de que una paciente haya recibido Metil-testosterona por más de seis meses sin mostrar ningún signo de virilización confirma que la falla en la virilización de estas pacientes está a nivel terminal en los tejidos receptores donde la testosterona no actúa por una falla enzimática de 5-alfa-reductiva tasa que impide su transformación a nivel celular en 5-alfa-dehidrotestosterona, metabólicamente activa.

ULTRASTRUCTURE OF TESTICULAR FEMINIZATION SYNDROME (TFS)

SUMMARY

Three sisters 16, 18 and 20 years old with TFS were studied at the Department of Obstetrics and Gynecology of San Ignacio Hospital and at the Electron Microscopy Unit of National Cancer Institute in Bogotá, Colombia.

They complained of primary amenorrhea. All three presented absence of virilization and the karyotype revealed 46, XY chromosome complement. Exploratory laparotomy and gonadectomy were performed on all of them in order to prevent malignant degeneration.

After gonadectomy, replacement hormonal therapy was given as following: two of them received conjugated estrogens and the other sister received 10 mg daily of metil-testosterone. No signs of virilizations were observed. Neither differences in the clinical responses nor differences in vaginal cytology in the two sisters who received estrogens after six months of close observation, were noticed.

Light microscope examination of the gonads revealed seminiferous tubules formed by cells with abundant and clear cytoplasm similar to Sertoli cells. Leydig cells and connective tissue were observed in the interstitial space.

Electron microscope examination revealed abundant and immature Sertoli cells and well differentiated Leydig cells whose morphological appearance suggest a very active steroidogenesis as in the adult testis.

The ultrastructural finding and the lack of virilization in the patient who received metil-testosterone for a six months period, make us to think that the absence of androgenic characteristics seems to be related to target organ refractoriness due to an enzymatic failure which keeps testosterone from being transformed in 5-alpha-dehydrotestosterone, metabolically active.

BIBLIOGRAFIA

- 1) MORRIS, J. McL.: *Am. J. Obst. & Gynec.* 65: 1192, 1953.
- 2) MORRIS, J. McL., and MAHESH, V.: *Am. J. Obst. & Gynec.* 87: 731, 1963.
- 3) STEVENCHER, A. M., JONES, G. K., and JARVIS, A. J.: *Obst. & Gynec.* 33: 649, 1969.
- 4) TURNER, C. D.: *Am. J. Obst. & Gynec.* 90: 1208, 1964.
- 5) DRONJACK, P. N. and MIKULICIC, V.: *Arch. Gynack*, 198: 421, 1963.
- 6) JONES, H. W. Jr., SCOTT, W. W.: *Hermaphroditism, Genital Anomalies and Related Endocrine Disorders*. Williams and Wilkins Co. 2nd. Edition, Baltimore 1971, pag. 165.
- 7) FRENCH, F. S., BAGETT, B., VAN WYCK, J. J., TALBERT, L. M., HUBBARD, W. R., JOHNSTON, F. R., FORCHIELLI, E., RAE, C. E. and SARDA, I. R.: *J. Clin. Endocrin.* 25: 661, 1965.
- 8) FRENCH, F. S., VAN WYCK, J. J., BAGETT, B., BASTERLING, W. E., TALBERT, L. M., JOHNSTON, F. R., FORCHIELLI, E. and DAY, A. C. : *J. Clin. Endocrin.* 26: 493, 1966.
- 9) NORTHCUT, R. C., ISLAND, D. P., and LIDDLE, G. W. *J. Clin. Endocrin* 29: 422, 1969.
- 10) FARSZNA, R., WYSS, R. H., HEINRICHS, W. L. and HERRMAN, W. L. *Gynaecologia* 167: 197, 1969.
- 11) DAMJANOV, I., DROBNJAK, P. and GRIZEIJ, V. : *Am. J. Obst. & Gynec.* 110: 594, 1971.
- 12) SMITH, B. D., LEESON, C. R., BUNGE, and ANDERSON, W. R.: *Invest Urol* 5: 73, 1967.
- 13) PEREZ - PALACIO, G., LAMONT, K. G. PEREZ, A. F., JAFFE, R. B. and PIERCE, G. B.: *J. Clin. Endocrin.* 29: 786, 1969.
- 14) GORDON, C. B., LILER, L. B. and BENSCH, K. G.: *Lab. Invest.* 13: 152, 1964.
- 15) FERENCZY, A. and RICHART, R. M.: *Am. J. Obst. & Gynec.* 113: 399, 1972.
- 16) PELLINIEMI, L. J.: *Morphological Aspects of Andrology*, Holstein, A. F. and Horstman, E. Editors Berlin, 1970, pag. 5.
- 17) LEESON, C. R., *Invest. Urol* 3: 498, 1966.