

# Micropene e hipospadias distal debido a variante patogénica en *NR5A1* no descrita previamente en la literatura

M.E. Álvaro<sup>a</sup>, C. de Mingo<sup>a</sup>, F. Moreno<sup>a</sup>, R. Gastón<sup>a</sup>, S. León<sup>a</sup>, T. Jaijo<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Endocrinología Pediátrica. <sup>b</sup>Unidad de Genética. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

## Resumen

**Introducción:** El factor de esteroidogénesis 1 (SF-1), codificado por el gen *NR5A1*, juega un papel fundamental en el desarrollo de la glándula adrenal, de la función reproductiva, del bazo y del hipotálamo medial. Su alteración, fundamentalmente por variantes patogénicas en heterocigosis, se relaciona con desórdenes en el desarrollo y diferenciación sexual. Aunque puede afectar a ambos sexos, las mutaciones se han descrito principalmente en varones con hipospadias, micropene, criptorquidia, infertilidad y/o anorquia.

**Caso clínico:** Paciente de 13 años con hipospadias y micropene en el que se ha identificado el cambio p.Ser203Ile en heterocigosis en el gen *NR5A1*, que no ha sido descrito previamente en la literatura.

**Discusión:** El espectro clínico de las variantes patogénicas del gen *NR5A1* que alteran la proteína SF-1 es heterogéneo, pudiendo asociar, en el caso de los varones, alteraciones en el desarrollo y descenso testicular, en la esteroidogénesis, en la función adrenal y anomalías esplénicas. En nuestro paciente, las anomalías consisten en micropene e hipospadias pero las gónadas se sitúan en posición escrotal, los valores de testosterona son adecuados al desarrollo puberal, los valores de ACTH y cortisol están dentro de la normalidad y la ecografía abdominal no muestra anomalías del bazo. Este tipo de alteraciones genéticas deben tenerse en cuenta en varones con micropene, hipospadias y criptorquidia. En el caso de confirmarse, se debe hacer un cribado y seguimiento del resto de alteraciones que pueden asociarse.

## Palabras clave

Gen *NR5A1*, SF-1, micropene, hipospadias, mutación.

## Abstract

**Title:** Micropenis and distal hypospadias due to a pathogenic variant in *NR5A1* not previously reported in the literature

**Introduction:** The steroidogenesis factor 1 (SF-1), encoded by the *NR5A1* gene, plays a fundamental role in the development of the adrenal gland, reproductive function, spleen and medial hypothalamus. Its alteration, mainly due to mutations in heterozygosis, is related to disorders of sex development. Although it can affect both sexes, mutations have been described mainly in males with hypospadias, micropenis, cryptorchidism, infertility and/or anorchia.

**Case report:** A 13-year-old patient with hypospadias and micropenis in whom p.Ser203Ile change was identified in heterozygosis in the *NR5A1* gene, which has not been previously described in the literature.

**Discussion:** The clinical spectrum of the mutation of the SF-1 gene is heterogeneous, being able to associate, in the case of male patients, alterations in the development and testicular descent, in the steroidogenesis, in the adrenal function and splenic anomalies. In our patient, the anomalies consist of micropenis and hypospadias but the gonads are placed in the scrotal position, the testosterone values are adequate for pubertal development, the values of ACTH and cortisol are within normal and the abdominal ultrasound does not show splenic anomalies. This type of genetic alterations should be taken into account in males affected by micropenis, hypospadias and cryptorchidism. In the case of confirmation, a screening and monitoring of the rest of the alterations that can be associated should be done.

## Keywords

*NR5A1*, SF-1, micropenis, hypospadias, mutation.

Fecha de recepción: 20-01-19. Fecha de aceptación: 7-07-19.

**Correspondencia:** M.E. Álvaro. Endocrinología Pediátrica. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Avda. Fernando Abril Martorell, 106. 46026 Valencia. Correo electrónico: eleal2002@gmail.com

## Introducción

El factor de esteroidogénesis 1 (SF-1), codificado por el gen *NR5A1*, localizado en el cromosoma 9 (9p33), juega un papel fundamental en el desarrollo adrenal, función reproductiva, bazo e hipotálamo medial. En los individuos con cariotipo 46,XY la proteína SF-1 regula el proceso de determinación y diferenciación sexual. Activa la expresión de la hormona anti-mülleriana en las células de Sertoli, resultando en la regresión de las estructuras müllerianas, e induce la producción de enzimas esteroidogénicas en las células de Leydig, permitiendo la virilización de los genitales externos y el descenso testicular. En los ovarios, la proteína SF-1 regula varios genes requeridos en los procesos de esteroidogénesis y maduración folicular<sup>1</sup>.

La alteración del gen *NR5A1* se relaciona con alteraciones en el desarrollo y diferenciación sexual tales como disgenesia testicular, hipospadias, anorquia, micropene e infertilidad en hombres y fallo ovárico precoz en mujeres, pudiendo asociar además insuficiencia adrenal<sup>2</sup>.

Se conocen más de 160 variantes patogénicas, principalmente en heterocigosis. La mayoría se han visto en pacientes con cariotipo 46,XY afectados de hipospadias, criptorquidia, infertilidad y anorquia. Las descritas en pacientes con cariotipo 46,XX han sido identificadas por estudio familiar o en casos de insuficiencia ovárica precoz<sup>2</sup>. Recientemente se han publicado varios casos con una variante patogénica en heterocigosis de *NR5A1* (p.R92W) en pacientes 46,XX con ovotestes<sup>3-5</sup>.

## Caso clínico

Varón de 13 años remitido a la Consulta de Endocrinología infantil de nuestro centro por micropene. Nació por cesárea por posición podálica tras un embarazo normal. El peso al nacimiento fue 2.750 g y la longitud 49 cm. Diagnosticado de hipospadias distal, se realizó uretroplastia mediante la técnica de Snodgrass a los 2 años de edad.

A los trece años presenta un peso de 83,5 kg (p98,5, +2,17 DE), una talla de 174 cm (p98,2, +2,1 DE), un índice de masa corporal (IMC) de 27,58 kg/m<sup>2</sup> (p95, 1,72 DE), un pene prepúber de 3 cm, un volumen testicular de 6 mL bilateral, pubarquia II y axilarquia I. Un año después, los testículos tienen un volumen de 10 cc y el pene un tamaño de 5 cm y aspecto prepuberal. Se realizan estudios hormonales (tabla 1), y cariotipo, que fue normal (46,XY). Se solicita estudio de panel genético de anomalías de la diferenciación sexual (genes *AR*, *SRD5A2*, *NR5A1* y *MAMLD1*) que identificó una variante patogénica en *NR5A1*.

Tras conocer el resultado, se realiza una ecografía abdominal y testicular, que son normales; se estudia la función adrenal, que es normal (ACTH/cortisol 9,1 pg/mL/11,1 µg/dL), y se solicitan marcadores tumorales, que son negativos (CEA 1,4 mng/mL, betahCG menor de 0,1 mU/mL, AFP 0,9 ng/mL).

El estudio paterno del gen *NR5A1* es normal. No disponemos de estudio genético materno.

El estudio genético del paciente se llevó a cabo mediante técnica de secuenciación masiva (NGS), analizando tanto exones como intrones flanqueantes de los genes *NR5A1*, *AR*, *SRD5A2* y *MAMLD1*. La plataforma de secuenciación masiva empleada fue Ion Torrent™ *Personal Genome Machine*™ (Life Technologies), empleando un sistema de captura de las regiones de interés mediante amplicones y con una cobertura media de dichas regiones superior a 300X. El análisis se realizó mediante el *software Ion Reporter*™ y utilizando distintas bases de datos. Aquellas variantes con una posible implicación patológica fueron validadas mediante secuenciación Sanger.

Este estudio demostró una variante patogénica en heterocigosis en el gen *NR5A1* (secuencia de referencia: NM\_004959.4) con un cambio de nucleótido c.608G>T, lo que implica un cambio de una serina (Ser) por una Isoleucina (Ile) en la posición 203 (p.Ser203Ile). Dicho cambio no ha sido descrito ni en pacientes con disgenesia gonadal o hipospadias ni se ha identificado en población control.

| TABLA 1 | Valores hormonales del paciente |                          |                     |                    |                      |                        |                       |
|---------|---------------------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|
|         | Edad (años)                     | Volumen testicular (cc*) | FSH (mU/l)          | LH (mU/l)          | Testosterona (ng/mL) | Androstendiona (ng/mL) | AMH (pM)              |
|         | 13                              | 4/4                      | 1,6<br>(<0,3 - 3,0) | 1,5<br>(0,2 - 2,1) | 0.49<br>(1,9 ± 1,3)  | 1.5<br>(1,03 ± 0,51)   |                       |
|         | 14                              | 10/10                    | 1,7<br>(0,6 - 4,8)  | 2,3<br>(0,2 - 2,2) | 2.42<br>(8,1 ± 4,6)  |                        | 50,02<br>(27 - 1.141) |

En paréntesis se reflejan los valores de normalidad según estadio de Tanner.  
\*Volumen testicular en cc, teste derecho/teste izquierdo.

Tras ser analizado con diversos programas informáticos, los resultados apoyan un posible carácter patogénico de la variante, que explicaría la clínica del paciente. En la tabla 1 se muestran los valores hormonales en los análisis de seguimiento. Ha sido valorado por el Comité de Ética de nuestro centro para la publicación del caso con informe favorable.

## Discusión

El paciente consulta en nuestro centro por micropene, añadiéndose en la historia clínica otra anomalía del desarrollo sexual, hipospadias. Ante estas dos alteraciones se solicitó un estudio hormonal para realizar el diagnóstico diferencial con panhipopituitarismo y anomalías del eje hipotálamo-hipofiso-gonadal<sup>6</sup>. Dado que la velocidad de crecimiento de nuestro paciente era normal así como las hormonas del eje hipotálamo-hipofisario, se descartaron ambos diagnósticos. Respecto a la ambigüedad de los genitales externos por hipospadias severo con testes no palpables en bolsas escrotales, constituye una urgencia diagnóstica en un recién nacido, ante la posibilidad de que se trate de un sexo erróneamente asignado por ser femenino con hiperplasia suprarrenal congénita<sup>6</sup>. En nuestro caso, no existía insuficiencia suprarrenal, el cariotipo fue normal de varón y los testes eran palpables en bolsas escrotales. Posteriormente, se solicitó un estudio genético que puso de manifiesto la anomalía en el gen *NR5A1*.

El espectro clínico de anomalías de la proteína SF-1 es heterogéneo. Son diversas las patologías descritas como consecuencia de la alteración de esta proteína en los pacientes con cariotipo 46,XY: insuficiencia adrenal, disgenesia gonadal, defecto en esteroidogénesis, defecto en la formación de los genitales externos que puede variar desde leve a grave<sup>3</sup>. En nuestro caso, los hallazgos clínicos que consideramos consecuencia de la mutación en *NR5A1* son el hipospadias y el micropene. La función adrenal de nuestro paciente fue normal.

Aunque muchas variantes aparecen *de novo*, en algunos casos las mutaciones de *NR5A1* pueden ser transmitidas por uno de los progenitores<sup>3</sup>. En el caso de este paciente sólo se ha podido demostrar que no ha sido heredada por vía paterna.

El descenso testicular comprende dos fases. La primera tiene lugar entre la semana 10 y la 23 del desarrollo embrionario (fase transabdominal) y la segunda entre la 26 y la 28 (fase inguinoescrotal). Las hormonas, en particular la testosterona, la hormona antimülleriana y el *Insulin-like factor 3*, juegan un papel fundamental en este proceso<sup>4</sup>, regulado, entre otros, por el receptor nuclear SF-1<sup>5</sup>. Cerca del 50% de los pacientes con variante patogénica en el gen *NR5A1* tienen las gónadas en posición inguinal. También se han descrito casos de gónadas situadas en región labioescrotal y abdominal o ausentes. En la mayoría de artículos publicados de pacientes 46,XX con disgenesia gonadal atribuida a mutación de *NR5A1*, las estructuras müllerianas están descritas como ausentes (74%)<sup>7</sup>. En el caso de nuestro paciente los testículos se localizan en escroto y en la ecografía abdominal no se aprecian restos müllerianos.

Entre las funciones de la proteína SF-1 se encuentra la esteroidogénesis y la regulación de la expresión en la glándula hipofisaria de las gonadotropinas, FSH y LH, así como de GnRH a nivel hipotalámico<sup>3</sup>. De hecho, entre el amplio abanico de manifestaciones que abarca la mutación, se encuentra el hipogonadismo hipogonadotropo<sup>8</sup>, aunque la mayoría de los pacientes con esta alteración que tienen repercusión en la esteroidogénesis tienen niveles disminuidos de testosterona con gonadotropinas secundariamente elevadas. Sin embargo, lo más frecuente es que los niveles de testosterona de estos pacientes se encuentren dentro de los límites normales. El estudio de evaluación hormonal longitudinal llevado a cabo por Pedace et al. y la revisión de la literatura que realizan para definir el perfil clínico de los individuos 46,XY con disgenesia gonadal y mutación de SF-1<sup>7</sup>, ponen de manifiesto que un alto porcentaje de pacientes tienen niveles normales de testosterona en los primeros 5 meses de vida, pubertad y edad adulta, siendo el test de estimulación con hCG normal en la mayoría de individuos prepuberales (60%) y los niveles de testosterona basal normales en el 64% de los adultos. Esto demostró ser independiente de la morfología genital al nacimiento. De acuerdo con estos hallazgos, se sugiere que la producción de testosterona en las células de Leydig y la virilización de los genitales externos son más dependientes de SF-1 en la época prenatal, mientras que no lo son tanto tras el nacimiento, en la pubertad y en la edad adulta. De acuerdo con esto, en nuestro caso, se encuentran niveles normales de testosterona adecuados a su desarrollo puberal según los estadios de Tanner (LH 1,5 mU/mL/testosterona 0,49 ng/mL, acorde con un volumen testicular de 6 cc bilateral, y LH 2,3 mU/L/testosterona 2,42 pg/mL acorde con un volumen testicular de 10 cc).

La alteración de la función adrenal no es muy prevalente en pacientes con alteraciones de SF-1. A pesar de ello, cerca del 25% de los pacientes con esta variante tienen una respuesta deficiente a la prueba de estimulación de ACTH, pudiendo desarrollar con el tiempo una insuficiencia adrenal<sup>9</sup>. Los valores basales de ACTH y cortisol de nuestro caso están dentro de la normalidad, no obstante es esencial su seguimiento a largo plazo.

Nuestro paciente tiene un IMC de 27,58 kg/m<sup>2</sup> (p95, 1,72 DE), compatible con sobrepeso. El origen podría ser exógeno, pero dada la participación de SF-1 en la formación del núcleo ventromedial del hipotálamo<sup>3</sup>, que regula el apetito, no podemos descartar su implicación, aunque se requieren más estudios que investiguen este aspecto.

Los pacientes con variantes patogénicas en *NR5A1* pueden padecer anomalías esplénicas sin clínica aparente, que suelen ser infradiagnosticadas. Colson et al. presentan el caso de una paciente, con fenotipo femenino y virilización progresiva que tenía un cariotipo 46,XY, anomalías gonadales y tres bazos accesorios. Así, sugieren que, dada la gravedad de los defectos de función esplénica, debe realizarse estudio de la misma a todos los pacientes con variantes patogénicas en *NR5A1*<sup>10</sup>. En nuestro caso, la ecografía abdominal demostró un bazo normal.

Finalmente, es bien conocido que las disgenesias gonadales predisponen a la aparición de tumores malignos de células germinales. En el caso de variantes patogénicas en *NR5A1*, el riesgo de aparición de estos tumores todavía no está bien establecido. Hasta la fecha sólo se ha documentado un caso de carcinoma *in situ*. Queda por esclarecer si la localización y el desarrollo gonadal se relacionan con el riesgo de degeneración maligna<sup>11</sup>. A nuestro paciente se le practicó una ecografía testicular que mostró unos testes homogéneos y bien vascularizados, sin lesiones focales. Asimismo se determinaron marcadores tumorales, que han sido negativos.

## Conclusiones

Probablemente las enfermedades asociadas a alteraciones en el gen *NR5A1* están infradiagnosticadas. El cuadro clínico que puede aparecer es muy heterogéneo, con afectación variable de la función adrenal y testicular. Es importante incluir esta patología en el diagnóstico diferencial de pacientes con hipospadias proximal, o hipospadias de cualquier tipo asociado a micropene, criptorquidia o escroto bífido. ■

## Bibliografía

1. Tuhan H, Anik A, Catli G, Onay H, Aykut A, Abaci A, et al. A novel mutation in steroidogenic factor (SF1/NR5A1) gene in a patient with 46 XY DSD without adrenal insufficiency. *Andrologia*. 2017 Feb;49(1).
2. Werner R, Mönig I, Lünstedt R, Wünsch L, Thorns C, Reiz B, et al. New *NR5A1* mutations and phenotypic variations of gonadal dysgenesis. *PLOS One*. 2017; 12(5): e0176720.
3. Baetens D, Stoop H, Peelman F, Todeschini AL, Rosseel T, Coppieters F, et al. *NR5A1* is a novel disease gene for 46,XX testicular and ovotesticular disorders of sex development. *Genet Med*. 2017; 19(4):367-76.
4. Foresta C, Zuccarello D, Garolla A, Ferlin A. Role of hormones, genes, and environment in human cryptorchidism. *Endocrinol Rev*. 2008; 29(5):560-80.
5. Tremblay JJ, Robert NM, Laguë E. Nuclear Receptors, Testosterone, and Posttranslational Modifications in Human INSL3 Promoter Activity in Testicular Leydig Cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2009; 1160:205-212.
6. Audí L, Martínez-Aedo MJ, Nieto JA, Prieto J. Capítulo 11, Intersexo, hipospadias, micropene, virilización, criptorquidia. En: Libro de consenso de endocrinología pediátrica de la SEEP. Disponible en <https://www.seep.es/index.php/noticias-y-publicaciones/publicaciones/publicaciones-oficiales>.
7. Pedace L, Laino L, Preziosi N, Valentini MS, Scommegna S, Rapone AM, et al. Longitudinal hormonal evaluation in a patient with disorder of sexual development, 46,XY karyotype and one *NR5A1* mutation. *Am J Med Genet A* 2014; 164A(11):2938-2946.
8. Hu SC, Ye J, Fathi AK, Fu X, Huang S, Ning Q, et al. Mutations in *NR5A1* and *PIN1* associated with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Genet Mol Res*. 2012; 164A(11):4575-4584.
9. Guran T, Buonocore F, Saka N, Ozbek MN, Aycan Z, Bereket A, et al. Rare Causes of Primary Adrenal Insufficiency: Genetic and Clinical Characterization of a Large Nationwide Cohort. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Jan; 101(1):284-292.
10. Colson C, Aubry E, Cartigny M, Rémy AA, Franquet H, Leroy X, et al. SF1 and spleen development: new heterozygous mutation, literature review and consequences for *NR5A1*-mutated patient's management. *Clin Genet*. 2017; 92(1):99-103.
11. Cools M, Wolfenbittel KP, Drop SL, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Gonadal Development and Tumor Formation at the Crossroads of Male and Female Sex Determination. *Sex Dev*. 2011; 5:167-180.