

11204
3
29

*V.B. Bo
rutor
C. P. ...*

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION

*U. B.
C. ...
Profesor del curso.*



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**EFFECTO SENSIBILIZADOR DE LA LH/HCG SOBRE
LA RESPUESTA TESTICULAR BIFASICA A LA
ADMINISTRACION DE HCG EXOGENA**

**T E S I S
Q U E P R E S E N T A**

JUAN PABLO MENDEZ B.

**PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE
LA REPRODUCCION HUMANA
MEXICO, D. F. 1986**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

I.	INTRODUCCION :	
A.	ANTECEDENTES HISTORICOS	1
B.	HORMONA LUTEINIZANTE	2
C.	RECEPTOR A LH EN EL TESTICULO	3
D.	INTERACCION LH-CELULA DE LEYDIG	5
E.	SINTESIS DE TESTOSTERONA	6
F.	DESENSIBILIZACION DE LOS RECEPTORES	8
G.	ESTIMULACION CON HCG DE LA SINTESIS DE TESTOSTERONA	10
II.	OBJETIVO	11
III.	MATERIAL Y METODOS	12
A.	ANALISIS ESTADISTICO	15
IV.	RESULTADOS	
A.	RESPUESTA A LA PRIMERA DOSIS DE HCG	16
B.	RESPUESTA A LA SEGUNDA DOSIS DE HCG	19
V.	DISCUSION	22
VI.	BIBLIOGRAFIA	27

INTRODUCCION

Antecedentes Históricos:

Ha transcurrido poco más de un siglo desde que J.N. Langley formuló los primeros conceptos sobre la interacción de receptores, describiendo entonces el efecto de la atropina y de la pilocarpina sobre la secreción de saliva en los gatos (1). En 1905, el mismo autor, introdujo el concepto sobre la existencia de una molécula receptora a la cuál él denominó substancia receptora (2). Por otro lado, en ese mismo año Starling introdujo al mundo científico el término hormona (3):

"These chemical messengers, however, or hormones (from $\sigma\eta\mu\alpha\omega$, I excite or arouse), as we might call them have to be carried from the organ where they are produced to the organ which they affect, by means of the blood stream and the continually recurring physiological needs of the organism must determine their repeated production and circulation through the body".

Las bases cuantitativas para la teoría del receptor fueron firmemente establecidas por Clark (4) y Gaddum (5), quienes formularon la teoría de la ocupación la cual establece que la intensidad del efecto farmacológico es directamente proporcional al número de receptores ocupados

por una substancia determinada. Por lo tanto, es obvio que la formación del complejo receptor-droga o receptor-hormona, constituye el primer paso de una secuencia de reacciones que finalmente llevan a la respuesta del órgano blanco.

Hormona Luteinizante:

La estimulación de la síntesis de testosterona y su secreción por parte del testículo es consecuencia de la unión de la hormona luteinizante (LH) a receptores específicos localizados en las membranas de las células de Leydig de los testículos, y cuyas funciones fundamentales son el reconocimiento de la hormona y la transferencia de información (6-9). La LH, es liberada por la hipófisis anterior mediante estímulo directo de la hormona liberadora de LH y FSH (hormona folículo estimulante), conocida como LH-RH (Fig. 1). La LH, tiene un peso molecular de 30 000 daltones y pertenece estructuralmente al grupo de las glucoproteínas; el porcentaje de carbohidratos en su molécula es variable de acuerdo a su actividad biológica. Esta hormona, se encuentra constituida por dos subunidades peptídicas denominadas alfa y beta, siendo esta última la que le confiere su actividad

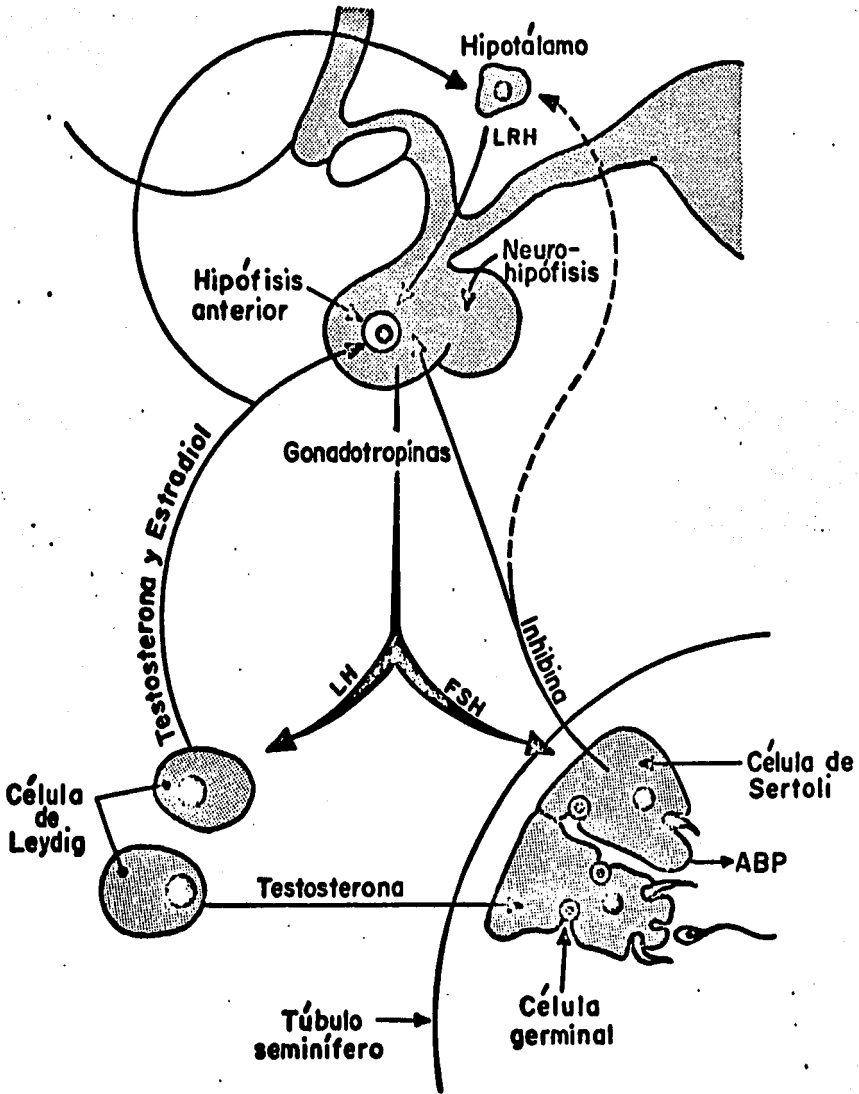


Figura 1.- Eje Hipotalamo - Hipófisis - Testículo. Liberación de las gonadotropinas posterior al estímulo de LHRH. Acciones de éstas sobre el testículo.

tanto inmunológica como biológica. La LH, se une a proteínas séricas al ser secretada a la sangre, llegando a las gónadas, en donde se une e interacciona con receptores específicos.

Receptor a LH en el Testículo:

La estructura bioquímica exacta del receptor para LH aún no ha sido determinada; se conoce que es una proteína, naturaleza que ha sido demostrada mediante la susceptibilidad del receptor a la digestión por proteasas (10, 11). Por medio de técnicas de solubilización, se ha demostrado que los receptores son glucoproteínas asimétricas e hidrofóbicas, localizados en la membrana celular, los cuáles poseen un peso molecular de 180 000 a 240 000 daltones. Estas características han sido dilucidadas utilizando técnicas de filtración en gel y sedimentación (10). Hasta el momento, solamente se ha logrado una purificación parcial del receptor de LH (12) y su complejo hormonal (13, 14), más la estructura exacta aún no ha sido determinada.

Interacción Hormona-Receptor:

Existen dos requerimientos básicos para la interacción

ligando-receptor que son de suma importancia para la res
puesta subsecuente: alta afinidad y rigurosa especifici-
dad. La primera propiedad hace posible que a bajas con
centraciones fisiológicas, la hormona sea capaz de reco-
nocer a su receptor respectivo, mientras que la segunda
determina que bajo condiciones fisiológicas las funciones
tanto del receptor como de la hormona sean evocadas. La
reacción de unión entre el receptor y la hormona es espe
cífica para cada hormona, siendo además reversible. La
presencia de receptores específicos en la membrana celu
lar de un tejido, demuestra el alto grado de selectividad
de la acción hormonal, además del gran número de efectos
biológicos inducidos por una hormona determinada. Además
de que los receptores son selectivos, el alto grado de es
pecificidad para la unión de las hormonas proteicas a su
tejido blanco apropiado, está conferido por la subunidad
beta de éstas (15, 16). La capacidad de las células
blanco para responder a los cambios en la concentración
del ligando mediante la regulación del número y/o de la
afinidad de sus receptores de superficie, ha sido demos
trada en tejidos regulados por hormonas (17).

Interacción LH-Célula de Leydig:

Los receptores a LH en los testículos, se encuentran confinados exclusivamente a las células de Leydig. Este hecho ha sido demostrado mediante estudios con ^{125}I -HCG (18, 19). Ha sido informado que en cada célula de Leydig existen un total de 6000 receptores (20).

- Los receptores para LH, unen a su ligando en una forma sumamente selectiva y con una gran afinidad. La reacción de unión es más bién lenta, llevándose a cabo en una hora aproximadamente bajo condiciones fisiológicas (20). La evidencia de la formación inicial del complejo hormona-receptor en la membrana plasmática ha sido obtenida mediante el uso de métodos de inmunofluorescencia (21). Al interaccionar la LH con su receptor, se estimula la adenil ciclasa incorporada a la membrana, la cuál cataliza la síntesis de monofosfato de adenosina en su forma cíclica (AMPC) que fungirá como segundo mensajero. El sistema de adenil ciclasa se encuentra compuesto por tres unidades diferentes unidas a la membrana: el receptor a la hormona que contiene el sitio específico para el reconocimiento de LH; la unidad catalítica de adenil ciclasa, la cuál convierte trifosfato de adenosina (ATP) a AMPC; y por último la subunidad reguladora del guanidil nucleótido que

acopla GTP uniendo al receptor hormonal a la adenil ciclasa (22). Una vez que el AMPc es liberado al citoplasma de la célula de Leydig, se une a la subunidad reguladora de las kinasas proteicas la cuál activa a la subunidad catalítica de esta enzima (23). La subunidad catalítica fosforila residuos específicos de serina y treonina provenientes de proteínas de la célula, produciendo entonces una respuesta característica facilitando la conversión de colesterol a pregnenolona y la síntesis subsecuente de andrógenos. La fosforilación se presenta en un gran número de sitios intracelulares incluyendo al núcleo celular, modificandose de esta forma las funciones fisiológicas (16). Posterior a la estimulación de LH, se genera una producción máxima de esteroides (principalmente testosterona), que ocurre después de un pequeño incremento del AMPc, (Fig 2). Se ha demostrado que la producción de testosterona en células de Leydig dispersas, alcanza su máximo con la ocupación de solamente el 1% de los receptores; debido a ésto, no se ha podido observar un aumento significativo en las concentraciones de AMPc (20, 24).

Síntesis de Testosterona:

El andrógeno que produce el testículo en mayor cantidad es

la testosterona, siendo su sitio específico de síntesis la célula de Leydig. En estas células, el colesterol es sintetizado de novo a partir de glucosa y de ácidos grasos o proporcionado por las lipoproteínas de baja densidad. Las mitocondrias de las células de Leydig, poseen la habilidad de romper la cadena lateral del colesterol produciendo pregnenolona; este esteroide es el primer precursor en la síntesis de testosterona. Posteriormente, utilizándose varios sistemas enzimáticos, la célula de Leydig sintetiza precursores de la testosterona hasta llegar a la síntesis de ésta (Fig. 2) (25, 26). La testosterona sintetizada es transportada a través de estructuras membranales pericelulares a la sangre venosa espermiática, saliendo el esteroide a la circulación general a través de estas venas. La testosterona se metaboliza principalmente en el hígado, produciéndose una reducción en el anillo A bien sea directamente, o habiéndose oxidado previamente para formar androstendiona. Después de estas degradaciones, los andrógenos se conjugan con grupos sulfato o glucurónico, siendo liberados a la sangre y excretados en la orina (26, 27).

En diversas especies la capacidad para sintetizar testosterona aparece desde la etapa fetal. En los ratones, ésta se presenta cuando aparecen los receptores funcionales a la LH/hCG en los testículos durante la vida fetal (28).

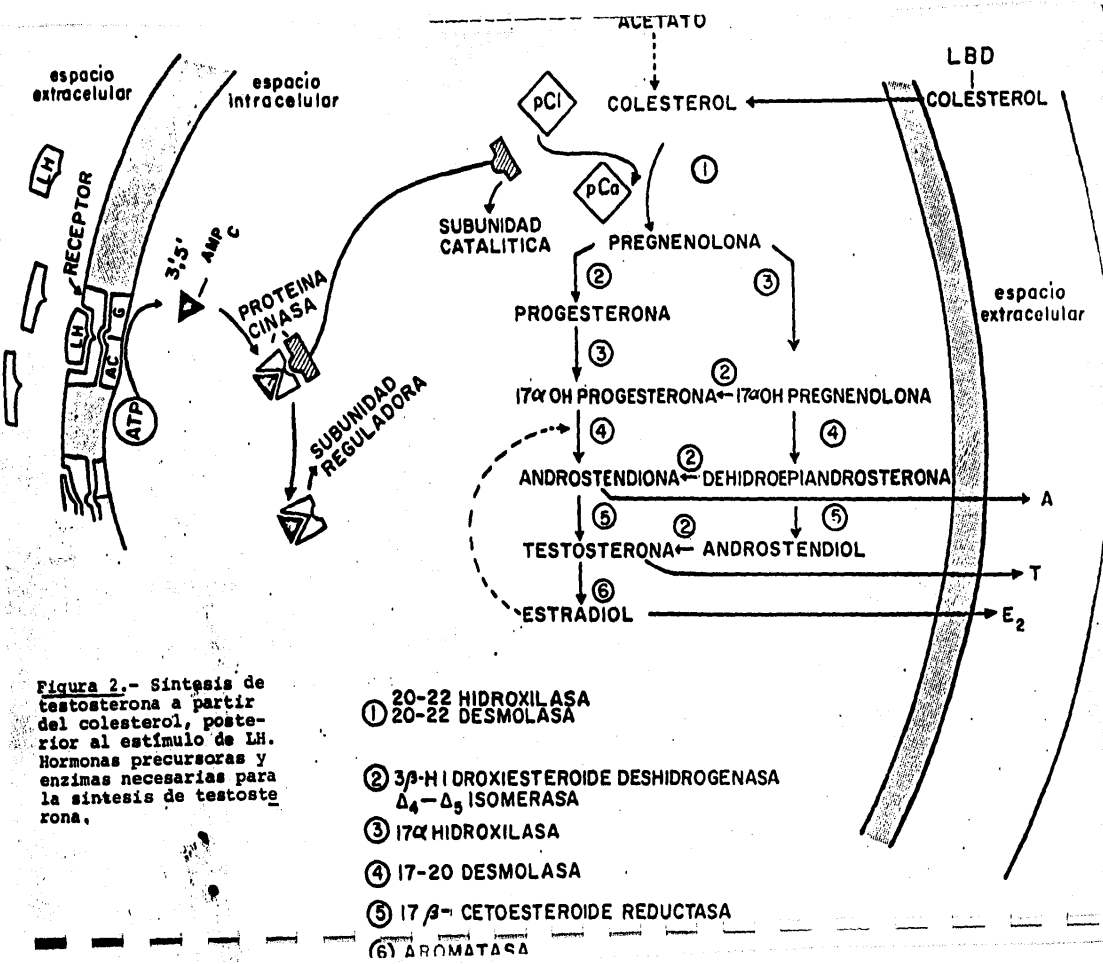


Figura 2.- Síntesis de testosterona a partir del colesterol, posterior al estímulo de LH. Hormonas precursoras y enzimas necesarias para la síntesis de testosterona.

- ① 20-22 HIDROXILASA
20-22 DESMOLASA
- ② 3 β -HIDROESTEROIDE DESHIDROGENASA
 Δ_4 - Δ_5 ISOMERASA
- ③ 17 α HIDROXILASA
- ④ 17-20 DESMOLASA
- ⑤ 17 β -CETOESTEROIDE REDUCTASA
- ⑥ AROMATASA

En el humano, se ha observado que la estimulación de la biosíntesis de testosterona se obtiene aproximadamente hacia la 6a. a 8a. semana de la gestación (29), lo que indica que los receptores funcionales para LH/hCG se en encuentran presentes desde etapas tempranas de la vida fetal (30).

No existe un conocimiento exacto de cómo es que finaliza la acción de LH sobre el testículo y cuál es el mecanismo íntimo por el cuál la hormona unida es removida. Algunos estudios, han sugerido que los complejos hormona receptor son internalizados y subsecuentemente degradados (31-33).

Desensibilización o Regulación Decreciente de los Recep tores:

El término regulación decreciente, significa que una exposición prolongada de la célula blanco a una concentración hormonal elevada, conlleva a una respuesta hormonal disminuida. Este fenómeno es dado por cambios en la concentración y/o afinidad del receptor (34, 35) y tiene como función el prevenir la sobreestimulación de las células debido a un exceso de hormona. Este fenómeno fue demostrado originalmente por el grupo de Roth para el re

ceptor de insulina en el hígado (36). En cuanto al receptor de LH, ha sido plenamente demostrado que la exposición de las células de Leydig a niveles elevados de LH/hCG ocasiona pérdida de receptores (6, 37-39). De acuerdo con Catt y Cols. (35), el mecanismo más plausible mediante el cual se produce la regulación decreciente es por medio de la internalización del complejo hormona-receptor, lo que significa que tanto el complejo como algunos receptores que no fueron ocupados son endocitados y posteriormente degradados por los lisosomas (40). La hormona es metabolizada o inactivada, mientras que el receptor se mantiene en condición de inactividad fisiológica (no unido). Además de este mecanismo, es posible que otros, aún no dilucidados, se encuentren relacionados con este proceso. Por otro lado, algunos investigadores han informado que para que se produzca la pérdida del receptor, es necesaria la síntesis de proteínas intracelulares específicas (41) fenómeno que no ha sido confirmado por otros autores (42).

A pesar de que la degradación del ligando y la regulación decreciente son procesos estrechamente relacionados, no siempre se presentan en el mismo momento; mas en el caso de la hCG, se ha demostrado que la internalización del complejo hormona-receptor y la regulación decreciente, sí se presentan en forma simultánea (43).

Estimulación con hCG de la Síntesis de Testosterona

La administración de hCG exógena bien sea como una medida de valoración de la reserva testicular o como tratamiento sustitutivo en deficiencias del eje hipotálamo-hipofisario, se ha utilizado desde hace muchos años, existiendo diversos esquemas de administración (44). Se ha observado, que la administración de una dosis única de hCG exógena a hombres adultos normales induce una respuesta bifásica en términos de testosterona plasmática (45-49). Este patrón de respuesta se encuentra caracterizado por la aparición de un pico temprano entre las 2 y 4 horas después de la administración y un pico tardío que aparece entre 48 y 120 horas después de la inyección (45, 47, 49). Este tipo de respuesta probablemente refleje una desensibilización temporal de las células de Leydig, la cuál es seguida del re establecimiento del proceso esteroidogénico (45, 46-48, 50, 51). El período refractario es un fenómeno sumamente complejo que ha sido atribuido a una disminución en la actividad enzimática de la 17 alfa hidroxilasa y la 17-20 liasa. Ha sido propuesto que la disminución en la actividad de estas enzimas, es secundaria a la formación de estradiol por el testículo (46, 52-60). Por otro lado, se ha observado que ni los niños prepúberes normales, ni los pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico (H H) presentan es

te tipo de respuesta bifásica (61-63). Estos sujetos no presentan el incremento temprano de testosterona, mientras que la respuesta tardía se encuentra atenuada y retardada. La ausencia de una respuesta temprana en los pacientes con H H ha sido atribuida ya sea a la falta de una reserva de testosterona lista para ser liberada en forma inmediata por la célula de Leydig, o a la ausencia de sistemas enzimáticos testiculares previamente inducidos por gonadotropinas (61).

OBJETIVO

Con el fin de investigar si la presencia de la respuesta bifásica de testosterona al estímulo con hCG exógena es consecuencia de una exposición previa de la célula de Leydig a la actividad de la LH, se estudiaron los patrones temprano y tardío de la respuesta testicular después de la administración de dos dosis intermitentes de hCG en sujetos normales sin exposición previa a LH (prepúberes) y con exposición a LH endógena (púberes y adultos), así como pacientes adultos con deficiencia de LH (H H) y con niveles elevados de esta gonadotropina y función testicular normal (síndrome de feminización testicular; SFT).

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron cuatro grupos diferentes de sujetos. El primer grupo incluyó cuatro adultos normales (estadio G5 de la clasificación de Tanner; T-G5) (64, 65) y un puber T-G4; la edad de estos sujetos iba de los 17 a los 26 años de edad, presentaban cuentas espermáticas normales y no había existido historia de criptorquidia o ginecomastia. El segundo grupo se encontraba constituido por tres subgrupos (de 4 a 6 sujetos cada uno) de niños normales prepúberes y púberes (estadio de Tanner G1 a G3), entre 10 y 15 años de edad, con edad ósea de 8 años o más y sin historia de criptorquidia; estos sujetos fueron escogidos de un grupo de niños sanos que presentaban talla baja constitucional (estatura entre la Percentila 10 y la 25). El tercer grupo incluyó a cinco pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico, de 17 a 29 años de edad. Salvo un paciente que había recibido hCG previamente seis meses antes del estudio con propósitos diagnósticos (cuatro inyecciones diarias intramusculares, 2 500 UI), ninguno de los restantes había recibido tratamiento alguno para su deficiencia endócrina a lo largo de su vida. Hay que señalar que uno de estos pacientes tenía niveles basales de gonadotropinas norma

les, (LH: 4.3 mUI/ml, FSH: 4.0 mUI/ml) fenómeno que ya ha sido informado previamente en el eunucoidismo hipogonadotrópico (66). En el último grupo estudiamos a dos pacientes de 25 y 26 años de edad respectivamente, que presentaban la variante de receptor negativo del síndrome de feminización testicular. Las edades cronológicas, óseas y los niveles basales de gonadotropinas encontrados en los diferentes grupos de sujetos, se encuentran resumidos en la tabla 1.

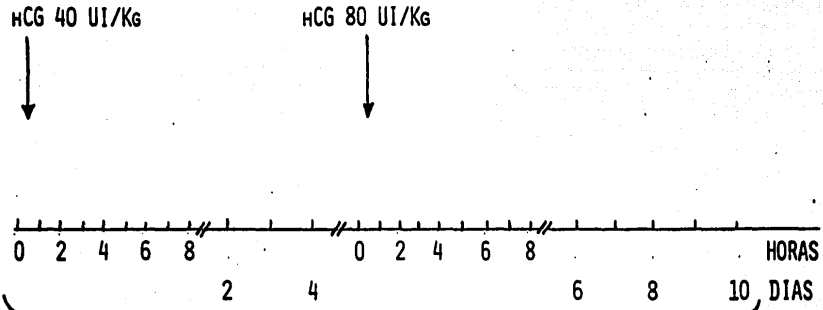
Para realizar el estudio, se obtuvo aprobación tanto del Comité de Etica de Estudios en Humanos del Instituto, así como de los adultos y de los padres de los niños participantes.

El estudio fué llevado a cabo durante 10 días. Todos los sujetos fueron internados en la Unidad Metabólica Pediátrica durante la prueba. El protocolo de estudio llevado a cabo en cada individuo fue el siguiente (Fig. 3). El primer día, a las 0800 h, cada sujeto recibió una inyección i.m. de hCG (Pregnyl, Organon Mexicana) a la dosis de 40 U.I. por Kg. de peso. Las muestras de sangre fueron extraídas de la vena antecubital antes de la administración de hCG y 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 24, 48, 72 y 96h después del estímulo. El 5o. día (96 h) cada sujeto recibió una segunda dosis de hCG (80 U.I./Kg de peso); las

TABLA I
CARACTERISTICAS CLINICAS

NÚMERO DE PACIENTES	ESTADIO DE TANNER	E. C.	E. O.	LH (MUI/ML)	FSH (MUI/ML)
5	I	10 - 12	8 - 10	0.4 - 1.6	0.5-1.3
6	II	12 - 15	9 - 15	2.3 - 5.4	1.6-4.1
4	III	11 - 15	10 - 13	2.7 - 4.6	1.8-2.5
5	IV-V	17 - 26	ADULTO	3.6 - 9.0	1.6-4.6
5	HIPOGONADISMO HIPOGONADOTRO PICO	17 - 29	14 - 17	1.3 - 4.3	0.5-4.0
2	INSENSIBILIDAD COMPLETA A LA ACCION DE AN- DROGENOS	25 - 26	ADULTO	14.7-23.6	2.0-2.8

DISEÑO EXPERIMENTAL



EXTRACCIÓN Y
CROMATOGRAFIA
EN CELITA.

T, Δ 4, DHT y 17α OHP₄
RIA

Figura 3.- Protocolo de investigación seguido en todos los pacientes estudiados.

muestras sanguíneas se obtuvieron utilizando la misma se cuencia de tiempo que después de la primera administración de hCG. La última muestra fué colectada a las 120 h (el 10o. día). Todos los sujetos fueron mantenidos en posición supina durante las fases agudas del estudio, pero ambulante posteriormente. Las muestras obtenidas fueron centrifu gadas a 1000x g en forma inmediata. El suero resultante fué almacenado en congelación a -20°C hasta el día en el que se realizó el radioinmunoanálisis (RIA) de testosterona.

La testosterona sérica fue determinada por RIA, posterior a su extracción y separación por cromatografía en columnas de celita siguiendo el método de Abraham y Cols. (67). La testosterona marcada (1,2,6,7-³H), a.e. 94 Ci/mmol, fué adquirida de New England Nuclear (Boston, MA, E.U.A.) mientrás que el antisuero fue proporcionado por el Matched Reagent Program de la Organización Mundial de la Salud (Genebra, Suiza). Con el fin de impedir variaciones interensayo, todas las muestras del mismo sujeto fueron analizadas en el mismo ensayo. Los coeficientes de variación intraensa yo fueron de 7.3, 3.1. y 2.5% para las concentraciones séricas de testosterona en los niveles de 115 + 6, 1166 + 51 y 7360 + 184 pg/ml (\bar{X} + D.S.), respectivamente. Todos los resultados se encuentran expresados en pg/ml.

Con el fin de eliminar la posibilidad de que la respuesta temprana de testosterona pudiese ser debida a pulsaciones fisiológicas de la hormona, dos sujetos en cada grupo de individuos normales recibieron una inyección i.m. de solución salina, uno o dos días antes de iniciar el estudio, así como al cuarto día de éste; las muestras fueron colectadas utilizando la misma secuencia de tiempo descrito para los días 1 y 5 (ver arriba). En todos estos sujetos, el valor máximo de testosterona sérica se encontró a las 0800 h. Aunque se encontraron oscilaciones discretas y no significativas en los niveles de testosterona, el valor máximo siempre se detectó al inicio del estudio (0800h). Estos hallazgos concuerdan con trabajos previos (68, 69) en los cuales se ha demostrado que en adultos normales y púberes sanos, la testosterona sérica no incrementa sus valores basales a lo largo del día, sino que por el contrario éstos van disminuyendo paulatinamente. Este hallazgo descarta la eventualidad de que los pulsos fisiológicos de testosterona fuesen malinterpretados como incrementos inducidos por la hCG.

Análisis Estadístico:

Las diferencias entre los niveles basales de testosterona

sérica los días 1 y 5 y los picos máximos tanto temprano (1-8 h después del estímulo) como tardío (2-4 y 6-10 días después de la hCG) entre cada grupo, fueron analizados utilizando la prueba de t de student pareada; esta misma prueba fué utilizada para analizar las diferencias en cuanto a valores de ΔT (ver abajo).

La magnitud de la respuesta (ΔT) fue definida como la diferencia existente entre el máximo valor de testosterona y la menor concentración que le precedía. Se consideraron como incrementos de testosterona a aquellos valores que excediesen los valores basales en dos o más veces al coeficiente de variación intraensayo.

Las diferencias entre los grupos se examinaron mediante el análisis de varianza de una vía y por medio de la prueba de comparación múltiple de Walker-Duncan, a un nivel alfa = 0.05.

RESULTADOS

Respuesta Testicular a la Primera Dosis de hCG.

- a). Sujetos normales y pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico.

La primera inyección de hCG (40 UI/kg) produjo una res
puesta bifásica (temprana y tardía) significativa en tér
minos de testosterona plasmática en todos los adultos
(TG5) y púberes (T-G2 a G4) (Figuras 4 y 5). Los cinco
sujetos prepuberales y cuatro de los pacientes hipogona
dotrópicos presentaron discretos incrementos de testos
terona plasmática (de 129 ± 43 a 288 ± 127 y de 79 ± 18
a 107 ± 12 pg/ml respectivamente; $\bar{X} \pm \text{SEM}$), que no fue
ron estadísticamente diferentes de las concentraciones
basales (Tabla II); aún así, todos los sujetos presentaron
respuesta tardía (Figuras 4 a 6). Los dos niños prepu
berales que presentaron la mayor respuesta temprana, en
traron al estadio G2 de Tanner 3 y 6 meses después del
estudio respectivamente, mientras que el paciente con
hipogonadismo que presentó el mayor valor de ΔT en la
respuesta temprana ($\Delta = 70$) (Tabla III) fué aquel que ha
bía recibido hCG anteriormente (ver Material y Métodos).
El pico temprano hizo su aparición entre 2 y 7 h después
de la administración de hCG, mientras que el tardío se
presentó entre 48 y 72 h después del estímulo. En los
pacientes con HH, el incremento tardío se encontró ate
nuado y discretamente retardado en comparación con los
púberes (Fig. 6).

No se encontraron diferencias significativas en los va

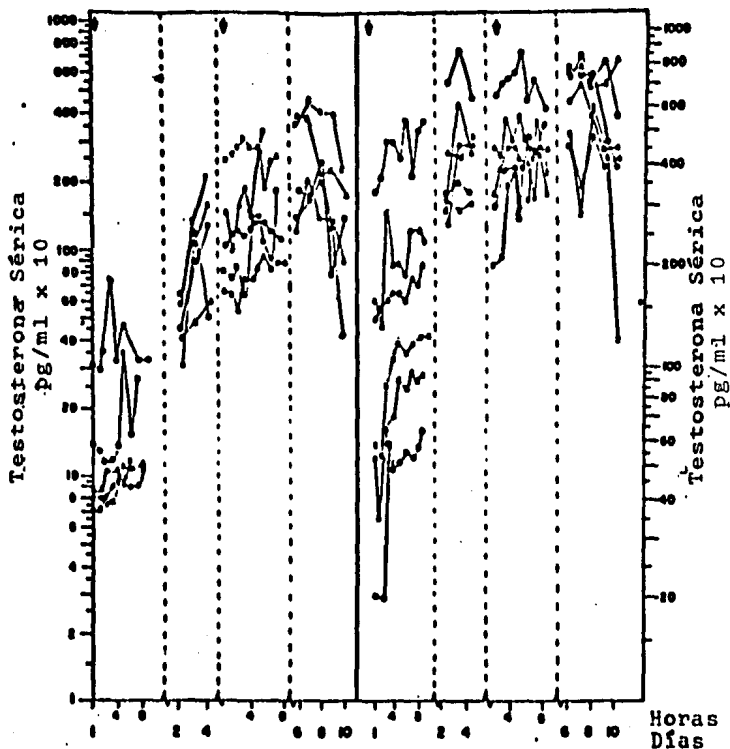


Figura 4.- Respuestas de testosterona, tempranas y tardías (escala log) posteriores a la administración de HCG a dosis de 40 (flechas negras) y 80 (flechas blancas) UI/Kg de peso. Panel izquierdo, niños normales T-G1; panel derecho, niños normales T-G2. En uno de los sujetos T-G2 no se presenta la respuesta temprana a la segunda inyección con el fin de que se puedan visualizar más claramente las otras respuestas.

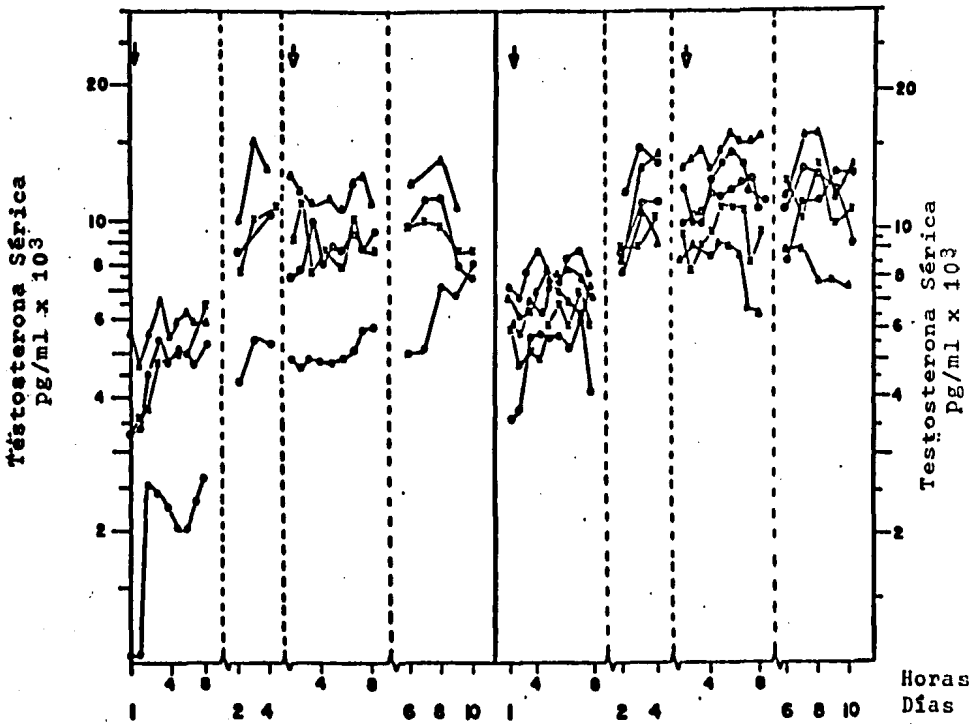


Figura 5.- Respuestas de testosterona, tempranas y tardías (escala log) posteriores a la administración de HCG a dosis de 40 (flechas negras) y 80 (flechas blancas) UI/Kg de peso. Panel izquierdo, niños T-G3. Panel derecho, adultos T-G5 y púber (0—0) T-G4.

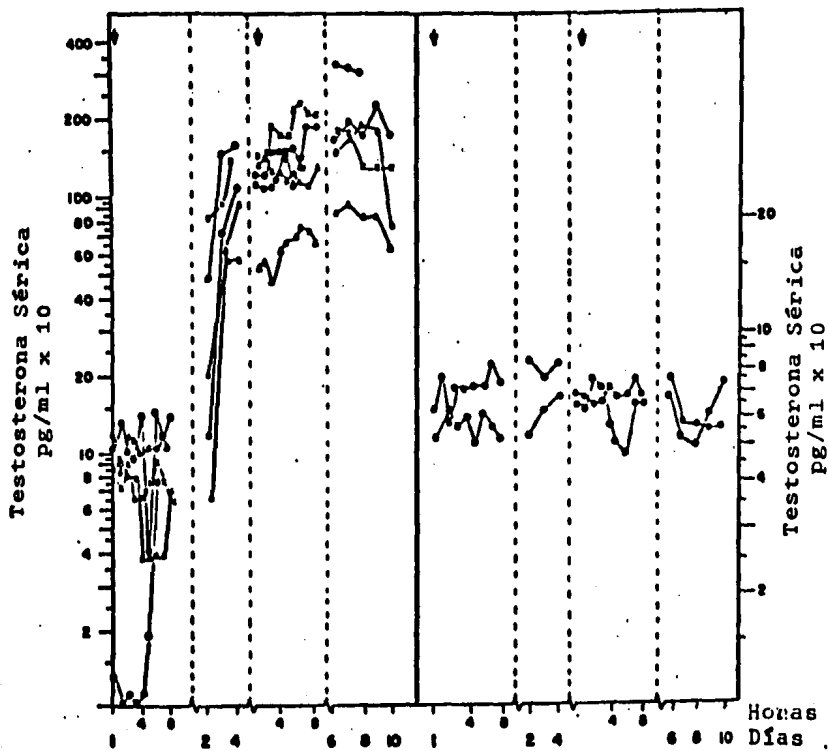


Figura 6.- Respuestas de testosterona, tempranas y tardías (escala log) posteriores a la administración de HCG a dosis de 40 (flechas negras) y 80 (flechas blancas) UI/Kg de peso. Panel izquierdo, pacientes con HH. Panel derecho, pacientes con SFT.

Tabla II.-Picos tempranos y tardíos de testosterona sérica (pg/ml) posteriores a la administración i.m. de HCG exógena a dosis de 40 y 80 U.I/Kg de peso.

Sujetos	Primera dosis de HCG			Segunda dosis de HCG		
	Basal	Pico Temprano	Pico Tardío	Basal	Pico Temprano	Pico Tardío
T-61	70	101	1600	1520	2930	3960
	84	111	662	662	997	2140
	76	115	2490	2490	3400	4530
	300	760	1310	1040	1380	2220
	113	354	1190	817	1900	2070
	$\bar{X} + SEM$	129 43	288 ¹ 127	1450 ² 301	1306 330	2121 ² 456
G2	500	1500	3200	2100	5500	6000
	208	609	3780	3050	4820	8850
	312	1001	4810	4200	5460	8050
	1370	2670	4720	4600	5880	7200
	3460	5690	9060	6650	8950	8080
	1400	1900	4700	3300	4700	5100
$\bar{X} + SEM$	1208 498	2228 ² 752	5045 ⁵ 845	3983 643	5885 ⁴ 639	7213 ⁴ 579
G3	3310	5480	10620	7310	9730	11320
	3470	5040	10630	8930	10070	10140
	1010	2570	5570	4900	5790	7910
	4650	6650	15300	10820	12710	13990
	$\bar{X} + SEM$	3110 761	4935 ⁴ 858	10530 ⁴ 1987	7990 1255	9575 ² 1427
-G4*- T-65	3610**	6080	11290	9860	12600	13370
	4660	7160	10530	9270	11110	13230
	6070	7960	10880	8300	9000	8740
	5500	7200	14100	13400	15900	15800
	6580	8870	15010	12080	14350	12990
$\bar{X} + SEM$	5284 526	7454 ⁵ 464	12362 ⁵ 915	10582 939	12592 ⁴ 1207	12826 ³ 1141
HH	107	150	1790	1173	1916	3431
	13	83	1640	1288	1670	2382
	86	95	1356	1356	1460	1931
	111	119	596	541	771	998
	78	89	1449	1478	2340	1875
	$\bar{X} + SEM$	79 18	107 ¹ 12	1366 ⁴ 207	1167 164	1631 ³ 260
	5100	6100	6800	6500	7600	7300
	6100	8440	8230	6820	7640	7640
\bar{X}	5600	7270	7515	6660	7620	7470

NS Vs Valores Basales 3 p < 0.05 Vs Valores Basales *Se incluyo con T-G5
 2 p < 0.02 Vs Valores Basales 4 p < 0.01 Vs Valores Basales **Valores sujeto T-G4.

Tabla III.- Magnitud de las respuestas temprana y tardía de testosterona (Δ T) posteriores a la administración intramuscular de HCG a dosis de 40 y 80 UI/Kg de peso.

Sujetos		Respuesta Temprana	Respuesta Tardía	Respuesta Temprana	Respuesta Tardía
T-G1		31	1530	1410	2440
		27	578	335	1478
		29	2483	910	2040
		460	1010	340	1180
		241	1077	1083	1253
	$\bar{X} +$ SEM	158 86	1336 324	815 211	1678 243
T-G2		1000	2700	3400	3900
		401	3572	1770	5800
		689	4498	1260	3850
		1300	3350	1280	2600
		2230	5600	2300	1430
		500	3300	1400	1800
$\bar{X} +$ SEM	1020 ^{1,3} 277	3837 ^{1,3} 426	1902 ^{1,3} 833	3231 ^{3,4,5} 661	
T-G3		2170	7310	2420	4010
		1570	7160	1140	1210
		1560	4560	890	3010
		2000	10650	1890	3178
	$\bar{X} +$ SEM	1825 ² 154	7420 ² 1248	1585 ⁶ 350	2852 ^{3,4} 589
	T-G4* T-G5		2470**	7680	2740
		2500	5870	1840	3960
		1890	4810	700	400
		1700	8600	2500	2400
		2290	6140	2270	910
$\bar{X} +$ SEM		2170 ⁵ 160	6620 ⁵ 675	2010 ⁵ 360	2236 ^{3,4,5,6} 698
HH		43	1685	743	2258
		70	1627	382	1094
		9	1270	104	574
		8	485	230	457
		11	669	862	397
	$\bar{X} +$ SEM	28 ⁴ 12	1147 ⁴ 245	464 ⁴ 146	956 ⁴ 348
F value & P	27.4 <0.01	21.5 <0.01	5.7 <0.01	2.8 =0.05	

1. $p < 0.05$ Vs Tanner-G1
2. $p < 0.05$ Vs Tanner-G2
3. $p < 0.05$ Vs H H
4. NS Vs Tanner G-1

5. NS Vs Tanner-G3
6. NS Vs Tanner-G2
- * Valores incluidos con T-G5
- ** Valores del sujeto T-G4
- 6 Valor de F; los valores tabulados fueron de 2.87 (P=0.05) y 4.43 (P=0.01).

lores promedio de ΔT en ambas respuestas, entre los sujetos T-G1 y los pacientes con HH (ΔT temprana T-G1 = 158 ± 86 , ΔT temprana en pacientes con HH = 28 ± 12 ; ΔT tardía T-G1 = 1336 ± 324 , ΔT tardía en pacientes con HH = 1147 ± 245) (Tabla III). En los niños T-G2, ambas respuestas fueron mayores que aquellas mostradas por los niños T-G1 y los pacientes hipogonadotrópicos ($p < 0.05$; Tabla III). Los sujetos en estadios T-G3, G4 y G5 presentaron valores de ΔT similares tanto en la respuesta temprana como en la tardía. Estos valores no fueron estadísticamente diferentes entre sí, pero sí fueron mayores que los presentados por los individuos T-G2 ($p < 0.05$).

Todas las respuestas tardías a la primera administración de hCG fueron considerablemente mayores que las tempranas.

b). Pacientes con SFT.

En las dos pacientes con SFT se observó una respuesta testicular bifásica a la primera dosis de hCG (Tabla 11 y Figura 6). Como se puede apreciar, ambas respuestas fueron de magnitud similar, esto es, las máximas concentraciones de testosterona plasmática se observaron durante la respuesta temprana. Debido a que este grupo fue re

presentado por el número mínimo de sujetos ($n= 2$), no se efectuaron intentos de analizar las diferencias entre las respuestas por medio de métodos estadísticos.

Respuesta Testicular a la Segunda Dosis de hCG.

a). Sujetos normales y pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico.

En todos los grupos estudiados la inyección de 80 UI/kg de hCG en la mañana del quinto día del estudio, indujo una respuesta bifásica en términos de testosterona. La respuesta temprana apareció de 60 a 480 minutos después de la inyección, y estuvo caracterizada por la presencia de uno o más picos bien definidos (Figuras 4-6). En los sujetos T-G1 y en los pacientes con HH, los valores promedio del máximo pico temprano de testosterona fueron significativamente diferentes a los promedios de los valores basales (Tabla II). A pesar de que el pico temprano de testosterona en los sujetos T-G1 fue mayor que el de los pacientes hipogonadotrópicos, el promedio de los valores de ΔT entre estos dos grupos no presentó diferencias significativas. La magnitud (ΔT) de la respuesta temprana en el grupo T-G2, fué mayor ($p < 0.05$) que la encontrada en los sujetos T-G1 y en los pacientes con HH, mas no

fue significativamente diferente de lo encontrado en los sujetos T-G3, T-G4 y T-G5 (Tabla III).

En todos los grupos, el pico tardío de testosterona se encontró entre el sexto y décimo día del estudio y una vez más no se encontraron diferencias en cuanto a los valores de ΔT entre los sujetos en estadio T-G1 y los pacientes con hipogonadismo. La magnitud de las respuestas testiculares en términos de ΔT fué similar en todos los grupos de sujetos normales, y por lo tanto las diferencias encontradas en el promedio de los valores de ΔT en la respuesta tardía en estos grupos, careció de significancia estadística (Tabla III). Ahora bien, al comparar el promedio de los valores de ΔT de cada grupo de púberes con el de los pacientes con hipogonadismo, se encontró una diferencia discreta, pero significativa ($p < 0.05$) (Tabla III).

En los sujetos T-G2, G3, G4 y G5 al igual que en los pacientes con HH, el promedio de los valores de ΔT en la respuesta tardía no fue significativamente diferente de los valores obtenidos durante la respuesta temprana. Por otro lado, en los sujetos T-G1, el grado de esta respuesta tardía fue mayor que el alcanzado en la respuesta temprana ($p < 0.01$) (Tabla III).

Al comparar las respuestas testiculares después de cada

administración de hCG, encontramos que la respuesta temprana obtenida después de la segunda inyección, era mayor que la provocada después de la primera dosis, solamente en los sujetos prepuberales, puberales tempranos (T-G2) y en los pacientes con H H ($p < 0.02$, $p < 0.05$ y $p < 0.05$, respectivamente) (Tablas II y III); los grupos restantes, exhibieron respuestas tempranas similares después de cada estímulo (Tabla III). En los sujetos T-G3, T-G4 y T-G5 el pico máximo de testosterona plasmática se encontró durante la respuesta tardía a la primera dosis de hCG, pues estos grupos requirieron de una sola exposición a la hCG exógena para presentar una respuesta máxima (Tabla II y Figura 5). Contrastando con esto, los grupos restantes (T-G1, T-G2 y los pacientes con H H) presentaron los mayores niveles de testosterona sérica posterior a la segunda dosis de hCG (Tabla II).

b.) Pacientes con SFT.

Las pacientes con SFT también exhibieron una respuesta bifásica, aunque bizarra a la segunda inyección de hCG (Figura 6) en términos de testosterona. Una de estas pacientes presentó un pico temprano de testosterona bien definido 120 min después de la inyección, el cuál fue seguido

do por una caída en los niveles de testosterona sérica por debajo de los valores basales; a los 420 min, la testosterona retornó a su concentración basal. Posteriormente, se encontró una segunda caída en los días 7 y 8, seguido ésto por un incremento moderado el décimo día. Mientras tanto, la segunda paciente presentó dos picos tempranos a los 240 y 420 min después de la inyección, así como un incremento tardío de testosterona el sexto día; posteriormente, los niveles de testosterona sérica declinaron por debajo de los valores basales (Figura 6).

DISCUSION

Los resultados presentados en este trabajo demuestran que los testículos de los adultos normales y de los púberes responden en forma bifásica en términos de testosterona al ser estimulados con hCG exógena, lo cuál confirma y complementa trabajos previos (45-49). Nosotros asumimos que estos grupos de individuos ya fueron sensibilizados con LH endógena biológicamente activa (70, 71) y por lo tanto, ya activaron los sistemas enzimáticos de las células de Leydig. Contrastando con ésto, los niños pre púberes y los pacientes con hipogonadotropismo, requie

ren de una dosis de hCG exógena que sensibilice a la gónada para que ésta responda en forma bifásica en términos de testosterona plasmática. Aunque se observaron discretas respuestas tempranas después de la primera inyeción en algunos sujetos de estos dos últimos grupos, el promedio de todas estas respuestas no presentó diferencias significativas en relación a sus valores basales de testosterona. Más aún, dos sujetos pertenecientes al estadio 1 de Tanner, los cuáles presentaron claras respuestas tempranas a la primera inyección de hCG, iniciaron la pubertad unos meses después de haber terminado el estudio, lo que sugiere que se encontraban expuestos a LH biológicamente activa en el momento del estudio. Existen varias posibilidades para explicar la ausencia de respuesta temprana en términos de testosterona por aquellos testículos que no han sido estimulados previamente: 1). Que la cantidad de células intersticiales disponibles para la esteroidogénesis se encuentre limitada y/o que exista un contenido bajo de receptores en estas células (72, 73); 2). Que se encuentre presente una sensibilidad testicular disminuida a las gonadotropinas (74) y 3). Que la actividad de los sistemas enzimáticos intracelulares responsables de la biosíntesis de esteroides esté disminuida (61). Todos estos factores pudiesen estar reflejando la existen

cia de un estímulo pobre de LH. La posibilidad de que la dosis de hCG exógena fuese insuficiente (40 UI/kg) y que ésto explicase la ausencia de respuesta temprana a la primera administración de hCG, puede descartarse con base en la significativa respuesta tardía encontrada en los pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico y en los niños prepúberes.

La presencia de respuestas tempranas de testosterona al estímulo con hCG en aquellos pacientes que carecen del receptor para andrógenos (SFT), indica que este tipo de respuesta no depende de mecanismos mediados por la testosterona o sus metabolitos 5 α -reducidos, sino de una exposición previa de las células de Leydig a la actividad de LH.

El patrón de respuesta de la testosterona al estímulo con hCG encontrado en pacientes con SFT fue muy interesante y merece un comentario adicional. Las respuestas tardías máximas fueron menores que aquellas observadas en los adultos normales, a pesar de la mayor actividad esteroidogénica preexistente en sus células de Leydig (75, 76). Esta subrespuesta testicular pudiese ser el resultado de un incremento en la acción inhibitoria intratesticular de retroalimentación de asa corta del

estradiol sobre la síntesis de andrógenos (46, 53, 55, 56), lo que daría como resultado un incremento en la capacidad de la célula para regular decrecientemente el estímulo de LH/hCG.

En pacientes con HH, el patrón de la respuesta de testosterona después de dos estímulos intermitentes con hCG exógena fué similar al encontrado en niños prepuberales por lo que el estudio no sirvió para identificar separadamente a estos dos grupos; sin embargo, permitió distinguir claramente a estos dos grupos de aquellos niños que se encontraban en el inicio de la pubertad (T-G2). Este último grupo presentó respuestas tempranas y tardías después de ambos estímulos con hCG, y la magnitud de la respuesta testicular tardía después de la primera dosis de hCG fué mayor que la observada en niños prepuberales y en sujetos con hipogonadismo. Este hallazgo está en desacuerdo con un trabajo reciente publicado por Tapanainen y Cols. (77), los cuáles no pudieron encontrar respuestas tempranas en términos de testosterona en niños que iniciaban la pubertad, al estimularlos con una dosis de hCG. Sin embargo, estos autores estudiaron una muestra de población diferente compuesta por niños con criptorquidia y por otro lado, el tiempo de muestreo durante la fase temprana fue menor.

Previamente ha sido informado que la administración repetida de hCG, bien sea diariamente durante tres días, o a intervalos de 72 h, induce incrementos de testosterona plasmática iguales a los que se presentan después de una sola inyección (45, 47, 50). Esta falta de efectividad de las inyecciones repetidas de hCG para elevar aún más los niveles de testosterona plasmática ha sido atribuida bien sea a una desensibilización temporal de la célula de Leydig por una exposición previa a la hCG, o a la vida media prolongada de la glucoproteína (50, 78, 79). Este fenómeno lo observamos exclusivamente en los sujetos T-G3, T-G4 y T-G5, mas no en los prepúberes, púberes tempranos o en aquellos pacientes con HH, en quienes la máxima respuesta de testosterona plasmática se obtuvo después de la segunda administración de hCG. Estas diferencias pudiesen estar reflejando los diversos estadios de maduración de las células de Leydig, incluyendo la capacidad para regular decrecientemente el estímulo de LH/hCG. Nuestros hallazgos concuerdan con los reportados por Scholler y Cols.(80) quienes demostraron que es posible obtener incrementos graduales de testosterona plasmática por medio de dosis intermitentes de hCG en aquellos testículos que no han sido estimulados previamente, siempre y cuando éstas se administren con intervalos adecuados de tiempo (> 72 h).

BIBLIOGRAFIA

- 1). Langley, J.N. On the physiology of the salivary secretion. *J. Physiol. (London)*, 1:340, 1878.
- 2). Langley, J.N. On the reaction of cells and of nerve-endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle to nicotine and curare. *J. Physiol. (London)*, 33:374, 1905.
- 3). Starling, E.H. On the clinical correlation of the functions of the body. *Lancet*, 2:339, 1905.
- 4). Clark, A.J. The antagonism of acetylcholine by atropine. *J. Physiol. (London)*, 61:547, 1926.
- 5). Gaddum, J.H. The action of adrenalin and ergotamine on the uterus of the rabbit. *J. Physiol. (London)* 61: 141, 1926.
- 6). Hsueh, A.J.W., Dufau, M.L., Catt, K.J. Regulation of luteinizing hormone receptors in testicular cells by gonadotropin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 72:1145, 1976.
- 7). Tsurahara, T., Dufau, M., Cigorrara, S., Catt, K.J. Hormonal regulation of testicular luteinizing hormone receptors. *J. Biol. Chem.* 252:9002, 1977.
- 8). Dufau, M.L., Catt, K.J. Gonadotropin receptors and regulation of steroidogenesis in the testis and ovary. *Vitam. Horm.* 36:461, 1978.
- 9). Davies, T.F., Dufau, M.L., Catt, K.J. Gonadotropin receptors: Characteristics and clinical applications. *Clin. Obstet. Gynecol.* 5:329, 1978.
- 10). Dufau, M.L., Charreau, E.M., Catt, K.J. Characteristics of a soluble gonadotropin receptor from the rat testis. *J. Biol. Chem.* 248: 6973, 1973.
- 11). Charreau, E.M., Dufau, M.C., Catt, K.J. Multiple forms of solubilized gonadotropin receptors from the rat testis. *J. Biol. Chem.* 249: 4189, 1974.
- 12). Dufau, M.L., Ryan, D.W., Baukal, A.J., Catt, K.J. Gonadotropin receptors. Solubilization and purification by affinity chromatography. *J. Biol. Chem.* 250: 4822, 1975.
- 13). Metsikko, K., Rajaniemi, H. Purification of human chorionic gonadotropin-receptor complex by immunoaffinity chromatography. *FEBS Lett.* 106: 193, 1979.

- 14). Rebois, R.F., Omedeo-Sale, F., Brady, R.O., Fishman, P. H. Covalent crosslinking of human chorionic gonadotropin to its receptor in rat testes. Proc. Natl. Acad. Sci. 78:2086, 1981.
- 15). Cuatrecasas, P. Membrane receptors. Annu. Rev. Biochem. 43: 169, 1974.
- 16). Catt, K.J., Dufau, M.L. Basic concepts of mechanism of action of peptide hormones. Biol. Reprod. 14:1, 1976.
- 17). Raff, M. Self regulation of membrane receptors. Nature, 259: 265, 1976.
- 18). De Kretser, D.M., Catt, K.J., Burger, H.G., Smith, G.C. Radioautographic studies on the localization of ¹²⁵I-labelled human luteinizing and growth hormone in immature male rats. J. Endocrinol. 43:105, 1969.
- 19). Lago, D.A., Rolandi, M.T., Bortolussi, M., Galli, S. Direct binding of radioiodinated human chorionic gonadotropin to frozen sections of rat testis. J. Reprod. Fert. 43:123, 1975.
- 20). Mendelson, C., Dufau, M.L., Catt, K.J. Gonadotropin - binding and stimulation of cyclic adenosine 3:5-monophosphate and testosterone production in isolated Leydig cells. J. Biol. Chem. 250:8818, 1975.
- 21). Hsueh, A.J.W., Dufau, M.L., Katz, S.I., Catt, K.J. Immunofluorescence labelling of gonadotropin receptors in enzyme-dispersed interstitial cells. Nature, 261: 710, 1976.
- 22). Abramowitz, J., Iyengar, R., Birnbaumer, L. Guanyl nucleotide regulation of hormonally-responsive adenylyl cyclases. Moll. Cell. Endocrinol. 16:129, 1979.
- 23). Podesta, E.J., Dufau, M.L., Solano, A.R., Catt, K. J. Hormonal activation of protein kinase in isolated Leydig cells: Electrophoretic analysis of cyclic AMP receptors. J. Biol. Chem. 253:8994, 1978.
- 24). Catt, K.J., Dufau, M.L. Spare gonadotropin receptors in rat testis. Nature New Biol. 244:219, 1973.
- 25). Lehninger, A. Biochemistry, Ed.: Lehninger A. Worth Publishers Inc. Nueva York, P. 685, 1975.
- 26). Eik-Nes, K.B. Biosynthesis and secretion of testicular steroids. En: Greep, R.O., Astwood, E.B. (Eds.), Handbook of Physiology. American Physiology Society, Washington, D.C., P. 95, 1975.

- 27). Goodman, M. Endocrine glands: Reproduction. En: Mount castle, V.B. (Ed.), Medical Physiology, Mosby Co., St. Louis, Mo., P. 1602, 1980.
- 28). Gungnerau, M.N., Funkenstein, B., Picon, R. LH/hCG receptors and stimulation of testosterone biosynthesis in the rat testis: Changes during foetal development in vivo and in vitro. Moll. Cell. Endocrinol. 28:499, 1982.
- 29). Huhtaniemi, I., Korenbrat, C., Jaffe, R. HCG binding and stimulating of testosterone biosynthesis in the human fetal testis. J. Clin. Endocrinol. Metab. 44:963, 1977.
- 30). Ahluwalia, B., Williams, J., Verma, P. In vitro testosterone biosynthesis in the human fetal testis. II. Stimulation by cyclic AMP and human chorionic gonadotropin (hCG). Endocrinology, 95:1411, 1974.
- 31). Chen, T.T., Abel, J.H., McCellan, M.C., Sawyer, H. R., Diekman, M.A., Niswender, G.D. Localization of gonadotrophic hormones in lysosomes of ovine luteal cells. Cytobiologie, 14:412, 1977.
- 32). Ascoli, M., Puett, D. Intracellular uptake and catabolism of lutropin by testicular tissue in vivo. FEBS Lett., 75:77, 1977.
- 33). Corn, P.M., Conti, M., Harwood, J.P., Dufau, M.L., Catt, K.J. Internalization of gonadotrophin-receptor complex in ovarian luteal cells. Nature, 274:598, 1978.
- 34). Baxter, J.D., Funder, J.W. Hormone receptors, N. Eng. J. Med. 301: 1149, 1979.
- 35). Catt, K.J., Harwood, J.P., Aguilera, G., Dufau, M. L. Hormonal regulation of peptide receptors and target cell response. Nature, 280: 109, 1979.
- 36). Soll, A.H., Kahn, C.R., Neville, D.M., Roth, J.J. Insulin receptor deficiency in genetic and acquired obesity. J. Clin. Invest. 56: 769, 1975.
- 37). Sharpe, R.M. HCG induced decrease in availability of rat testis receptors. Nature, 264:644, 1976.
- 38). Haour, F., Saez, J.M. HCG dependent regulation of gonadotropin receptor sites: negative control in testicular Leydig cells. Moll. Cell. Endocrinol. 7:17, 1977.
- 39). Huhtaniemi, I., Rajaniemi, H., Martikainen, H., Tikkala, L. Autoregulation of LH/hCG receptors and catabolism of HCG in rat testis. Int. J. Androl. Supp 2:276, 1978.

- 40). Rajaniemi, H., Manninen, M., Huhtaniemi, I. Catabolism of human 125-I-iodochorionic gonadotropin in rat testis. *Endocrinology* 105:1208, 1979.
- 41). De Meyts, P., Kahn, C.R., Roth, J.J., Bar, B.S. Hormonal regulation of the affinity and concentration of hormone receptors in target cells. *Metabolism*, 25:1365, 1976.
- 42). Mukherjee, C., Caron, M.G., Lefkowitz, R.J. Catecholamine-induced subsensitivity of adenylate cyclase associated with loss of Beta-adrenergic receptor binding sites. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 72:1945, 1975.
- 43). Hizuka, N., Gorden, P., Lesniak, M.A. Polypeptide hormone degradation and receptor regulation are coupled to ligand internalization. *J. Biol. Chem.* 256:4591, 1981.
- 44). Bardin, C.W., Paulsen, C.A. The testes. In: Williams, R. (Ed.), *Textbook of Endocrinology*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA., p 317, 332-33, 1981.
- 45). Saez, J.M., Forest, M.G. Kinetics of human chorionic gonadotropin-induced steroidogenic response of the human testis. I. Plasma testosterone: implications for human chorionic gonadotropin stimulation test. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49:278, 1979.
- 46). Forest, M.A., Lecoq, A., Saez, J.M. Kinetics of human chorionic gonadotropin-induced steroidogenic response of the human testis. II. Plasma 17 α -hydroxy-progesterone, Δ 4-androstenedione, estrone, and 17 β -estradiol: evidence for the action of human chorionic gonadotropin on intermediate enzymes implicated in steroid biosynthesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49:284, 1979.
- 47). Smals, A.G.H., Pieters, G.F.F., Lozekoot, D.C., Benraad, Th, J, Kloppenborg, P.W. Dissociated response of plasma testosterone and 17 α -hydroxyprogesterone to a single or repeated human chorionic gonadotropin administration in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 50:190, 1980
- 48). Martikainen, H., Huhtaniemi, I., Vihko, R. Response of peripheral serum sex steroids and some of their precursors to a single injection of hCG adult man. *Clin. Endocrinol (Oxf)* 13:157, 1980.
- 49). Padrón, R.S., Wischusen, J., Hudson, B., Burger, H. G., De Krester, D.M. Prolonged biphasic response of plasma testosterone to a single intramuscular injection of human chorionic gonadotropin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 50: 1100, 1980.

- 50). Smals, A.G.H., Pieters, G.F.F.M., Drayer, J.I.M., Benraad, Th. J., Kloppenborg, P.W.C. Leydig cell responsiveness to single and repeated hCG administration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49:12, 1979.
- 51). Glass, A.R., Vigersky, R.A. Resensitization of testosterone production in men after human chorionic gonadotropin induced desensitization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51:1395, 1980.
- 52). Jones, T.M. Estrogen-induced suppression of testicular androgen production in young adult men. *Endocrinology*, (Suppl) 94:253, 1974.
- 53). Jones, T.M., Fang, V.S., Landau, R.L., Rosenfield, R. Direct inhibition of Leydig cell function by estradiol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47:1368, 1978.
- 54). Canick, J.A., Makris, A., Gunsalus, G.L., Ryan, K. J. Testicular aromatization in immature rats: localization and stimulation after gonadotropin administration in vitro. *Endocrinology*, 104:285, 1979.
- 55). Kalla, R., Nisula, B.C., Menard, R., Loriaux, A.L. The effect of estradiol on testicular testosterone biosynthesis. *Endocrinology*, 106:35, 1980.
- 56). Smals, A.G.H., Pieters, G.F.F., Drayer, J.I.M., Boers., G.H.J., Benraad, Th. J., Kloppenborg, P.W.C. Tamoxifen suppresses gonadotropin-induced 17α -hydroxyprogesterone accumulation in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 51:1026, 1980.
- 57). Cigorrara, S.B., Sorrel, S., Bator, J., Catt, K.J., Dufau, M.L. Estrogen dependence of a gonadotropin-induced steroidogenic lesion in rat testicular Leydig cells. *J. Clin. Invest.* 65:699, 1980.
- 58). Nozu, K., Dufau, M.L., Catt, K.J. Estradiol receptor-mediated regulation of steroidogenesis in gonadotropin-desensitized Leydig cells. *J. Biol. Chem.* 256:1915, 1981.
- 59). Nozu, K., Matura, S., Catt, K.J., Dufau, M.L. Modulation of Leydig cell androgen biosynthesis and cytochrome P-450 levels during estrogen treatment and human chorionic gonadotropin-induced desensitization. *J. Biol. Chem.* 256:10012.
- 60). Onoda, M., Hall, P.F. Inhibition of testicular microsomal cytochrome P-450 (17α -hydroxylase/C17, 20 lyase) by estrogens. *Endocrinology*, 109:763, 1981.

- 61). Smals, A.G.H., Pieters, G.F.F.M., Kloppenborg, P.W.C., Lozekoot, D.C., Benraad, Thn, J. Lack of biphasic steroid response to single chorionic gonadotropin administration in patients with isolated gonadotropin deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 50:879, 1980.
- 62). Forest, M.G., David, M., Lecoq, A., Jeune, M., Bertans, J. Kinetics of the hCG induced steroidogenic response of the human testis. III. Studies in children of the plasma levels of testosterone and hCG: rationale for testicular stimulation test. *Pediatr. Res.* 14:819, 1980.
- 63). Toscano, V., Balducci, R., Adamo, M.V., Manca Bitti, M.L., Sciarra, F., Boscherini, B. Response to a single dose of human chorionic gonadotropin in prepubertal boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57:421, 1983.
- 64). Marshall, W.A., Tanner, J.M. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch. Dis. Child.* 45:13, 1970.
- 65). Styne, D., Grumbach, M.L. Puberty in the male and female: its physiology and disorders. En: Yen, S.S., Jaffe, R.B. (Eds.), *Reproductive Endocrinology Physiology Pathophysiology and Clinical Management.* W.B. Saunders, Philadelphia, P. 189, 1979.
- 66). Santen, R.J., Kulin, H.E. Hypogonadotropic hypogonadism and delayed puberty. En: Burger, H., de Kretser, D. (Eds.), *Comprehensive Endocrinology.* Raven Press, Nueva York, P 329, 1981.
- 67). Abraham, G.E., Manlimos, F.S., Garza, R. Radioimmunoassay of steroids. En: Abraham, G.E. (Ed.), *Handbook of Radioimmunoassay.* Marcel Dekker, Inc., Nueva York, P 591, 1977.
- 68). Lacerda, L., Kowarski, A., Johanson, A., Athanasiou, R., Migeon, C. Integrated concentration and circadian variation of plasma testosterone in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 37:366, 1973.
- 69). Boyar, R.M., Rosenfield, R.S., Kapen, S., Finkelstein, J. W., Roffwarg, H.P., Weitzman, E.D., Hellman, L. Human puberty: Simultaneous augmented secretion of luteinizing hormone and testosterone during sleep. *J. Clin. Invest.* 54:609, 1974.
- 70). Lucky, A.W., Ruh, B.H., Rosenfield, R.L., Fang, V.S., Roche-Bender, N. LH bioactivity increases more than immunoreactivity during puberty. *J. Pediatr.* 97:205, 1980.
- 71). Reiter, E., Beitins, I., Ostrea, T., Guts, J. Bioassayable luteinizing hormone during childhood and adolescence and in patients with delayed pubertal development. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 54:155, 1982.

- 72). Odell, W.D., Swerdloff, R.S., Bain, J., Wollesen, F., Grover, P. K. The effect of sexual maturation on testicular response to LH stimulation of testosterone secretion in the intact rat. *Endocrinology*, 95:1380, 1974.
- 73). Lackgren, G., Ploen, L., A: son Berg, A., Hansson, V. Receptors for luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in the human undescended testis and the effect of hCG treatment. *Int. J. Androl.* 6:520,1983.
- 74). Ojeda, S.R., Andrews, W.W., Advis, J.P., Smith, S. Recent advances in the endocrinology of puberty. *Endocrine Reviews*. 1:249, 1980.
- 75). Wilson, J. Harrod, M. Goldstein, J. Hemsell, D. MacDonald, P. Familial incomplete male pseudohermaphroditism type I. Evidence for androgen resistance and variable clinical manifestation in family with the Reifenstein syndrome. *N. Engl. J. Med.* 290:1097, 1974.
- 76). MacDonald, P., Madden, J., Brenner, P., Wilson, J., Siite ri, P. Origin of estrogen in normal men and in women with testicular feminization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49:905, 1979.
- 77). Tapanainen, J., Martikainen, H., Dunkel, L., Perheentupa, J., Vinhko, R. Steroidogenic response to a single injection of hCG in pre- and early pubertal criptochid boys. *Clin. Endocrinol.* 18:355, 1983.
- 78). Sharpe, R.M. hCG induced decrease in availability of rat testis receptors. *Nature*, 264:644, 1976.
- 79). Haour, F., Saez, J.M. HGC-dependent regulation of gonadotropin receptor sites: negative control in testicular Leydig cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 7:17, 1977.
- 80). Scholler, R., Roger, M., Leymarie, P., Castanier, M., Toublanc, J.E., Canlorbe, P., Job, J.C. Evaluation of Leydig cell function in normal prepubertal and pubertal boys. *J. Steroid. Biochem.* 6:95, 1975.