

# REVISIÓN

## UTILIDAD DE LA HORMONA ANTI-MÜLLERIANA (AMH) Y LA INHIBINA B EN EL DIAGNÓSTICO DEL HIPOGONADISMO EN EL NIÑO.

*Romina P. Grinspon, Nazareth Loreti, Débora Braslavsky, Patricia Bedecarrás, Verónica Ambao, Silvia Gottlieb, Ignacio Bergadá, Stella M. Campo y Rodolfo A. Rey.*

Centro de Investigaciones Endocrinológicas “Dr. César Bergadá” (CEDIE), CONICET-FEI-División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Buenos Aires, Argentina.

**Rev Venez Endocrinol Metab 2014;12(2): 76-88**

### RESUMEN

Durante la infancia, el eje hipotálamo-hipófiso-testicular se encuentra parcialmente quiescente: bajan los niveles de gonadotropinas y la secreción de testosterona disminuye siguiendo a la caída de la LH. Por el contrario, las células de Sertoli están activas, como lo demuestran los niveles séricos de hormona anti-mülleriana (AMH) e inhibina B. Por lo tanto, el hipogonadismo en la infancia puede ser puesto en evidencia, sin necesidad de pruebas de estímulo, si se evalúa la función de las células de Sertoli. La AMH sérica es alta desde la vida fetal hasta el inicio de la pubertad. La producción testicular de AMH aumenta en respuesta a la FSH pero es potentemente inhibida por los andrógenos. La inhibina B es alta en los primeros años de la vida, luego disminuye parcialmente aunque permanece claramente más alta que en las mujeres, y aumenta nuevamente en la pubertad. Las concentraciones séricas de AMH e inhibina B son indetectables en pacientes anórcidos. En el hipogonadismo primario que afecta a todo el testículo, establecido durante la vida fetal o la infancia, todos los marcadores testiculares están bajos. Cuando en el hipogonadismo están afectadas sólo las células de Leydig, la AMH y la inhibina B sérica son normales y/o altas, mientras que están bajas cuando se ven afectadas las células de Sertoli. La AMH y la inhibina B están bajas en varones con hipogonadismo central en edad prepuberal y continúan bajas en edad puberal. El tratamiento con FSH induce un aumento en los niveles séricos de los marcadores de la célula de Sertoli. En conclusión, la determinación de los niveles séricos de AMH e inhibina B es útil para evaluar la función testicular, sin necesidad de pruebas de estímulo, y orientar el diagnóstico etiológico en el hipogonadismo masculino en pediatría.

**Palabras clave:** Hipogonadismo hipogonadotrófico, testículos, anorquia, anomalías de la diferenciación sexual.

### ABSTRACT

During childhood, the hypothalamic-pituitary-gonadal axis is partially quiescent: gonadotropin and testosterone levels decrease, but Sertoli cells remain active, as shown by serum anti-Müllerian hormone (AMH) and inhibin B levels. Therefore, hypogonadism may be diagnosed during childhood, without the need for stimulation tests, provided Sertoli cell function is assessed. Serum AMH levels are high from fetal life until the onset of puberty. Testicular AMH production increases in response to FSH but is potently inhibited by androgens. Serum inhibin B levels are high until the age of 3-4 years in boys; although they decrease thereafter, they remain clearly higher than in girls of the same age. During the early stage of puberty, serum inhibin B increases again to reach adult values. AMH and inhibin B are undetectable in the serum of anorchid patients. In boys with fetal-onset primary hypogonadism affecting the whole testicular parenchyma, AMH and inhibin B are low in serum. Conversely, they are normal or high when only the interstitial tissue of the gonads is impaired. AMH and inhibin B are low in children with central hypogonadism and persist low during pubertal age. FSH treatment induces an increase in both Sertoli cell markers. In conclusion, the determination of serum AMH and inhibin B levels is useful for the assessment of testicular function, without the need for stimulation tests, in pediatric patients.

**Key words:** hypogonadotropic hypogonadism, testis, anorchia, disorders of sex development.

**Artículo recibido en:** Marzo 2014. **Aceptado para publicación en:** Abril 2014.

**Dirigir correspondencia a:** Dr. Rodolfo Rey, **Email:** [rodforey@cedie.org.ar](mailto:rodforey@cedie.org.ar)

## INTRODUCCIÓN

El término hipogonadismo masculino es utilizado clásicamente en el adulto para referirse a la disfunción testicular asociada a una deficiencia en la secreción de andrógenos por la célula de Leydig y/o una alteración en la producción espermiática. Esta definición no toma en cuenta las deficiencias potenciales de la célula de Sertoli. Durante la mayor parte de la infancia, las células de Sertoli constituyen la población celular más activa en el testículo, mientras que la testosterona es muy baja o indetectable y la producción de espermatozoides no existe. Por lo tanto, el diagnóstico de hipogonadismo en el niño se basa fundamentalmente en la evaluación de la función de la célula de Sertoli. En esta revisión, ahondaremos en la importancia de la hormona anti-mülleriana (AMH) y la inhibina B, como marcadores sertolianos, en el diagnóstico y la comprensión del hipogonadismo en el niño.

## BREVE REVISIÓN DEL DESARROLLO DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISO-TESTICULAR

El eje hipotálamo-hipófiso-testicular atraviesa cambios madurativos durante la vida fetal y postnatal que son específicos de cada uno de sus componentes. Los testículos se diferencian durante la 6<sup>ta</sup> semana de desarrollo embrionario (8<sup>va</sup> semana de amenorrea). Las células de Sertoli y las células germinales se agregan para formar los cordones seminíferos. Las células de Sertoli secretan AMH e inhibina B. Durante la 8<sup>va</sup> y 9<sup>na</sup> semanas, la AMH induce la regresión de los conductos de Müller, primordio del útero y las trompas de Falopio. El comienzo de la producción de AMH es independiente de la función hipofisaria. Más tarde, la FSH fetal regula la actividad de la célula de Sertoli<sup>1</sup>. Las células de Leydig se localizan en el tejido intersticial y secretan testosterona y el factor insulino-símil 3 (INSL3) en respuesta a la gonadotropina coriónica humana (hCG)<sup>2</sup>. Entre la semana 9 y 14, los andrógenos son responsables de la diferenciación de los conductos de Wolff en epidídimo, vesícula seminal y conductos deferentes, así como también de la masculinización de los genitales externos. Más tarde los niveles de hCG caen, y la secreción

de testosterona e INSL3 se mantiene a expensas de la LH fetal. El INSL3 y la testosterona están involucrados en el descenso testicular mientras que la testosterona tiene también un efecto trófico sobre el escroto y el tamaño del pene<sup>2</sup>.

Al nacimiento, los niveles de gonadotropinas, testosterona y AMH circulantes son transitoriamente bajos; mientras que las concentraciones de inhibina B son similares a las observadas en el inicio de la pubertad. Las gonadotropinas aumentan en la primera semana de vida, mientras que la testosterona y la AMH aumentan más gradualmente durante las primeras 3-4 semanas<sup>3</sup>. El eje hipotálamo-hipófiso-testicular se mantiene activo por los siguientes 3-6 meses de vida<sup>4,5</sup>: la FSH estimula la proliferación de las células de Sertoli y la secreción de AMH e inhibina B mientras que la LH mantiene la producción de testosterona e INSL3 por la célula de Leydig. Más adelante, las gonadotropinas disminuyen induciendo un descenso en la secreción de testosterona a niveles muy bajos o indetectables durante la infancia (Figura 1).

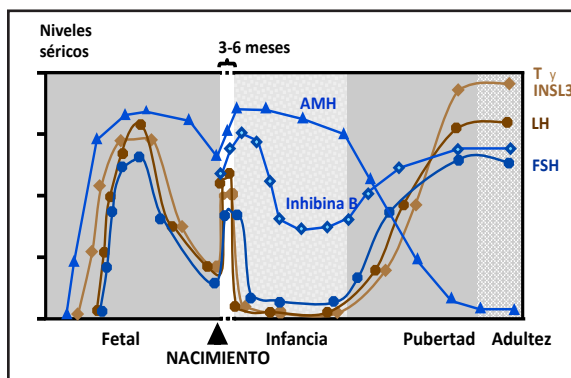
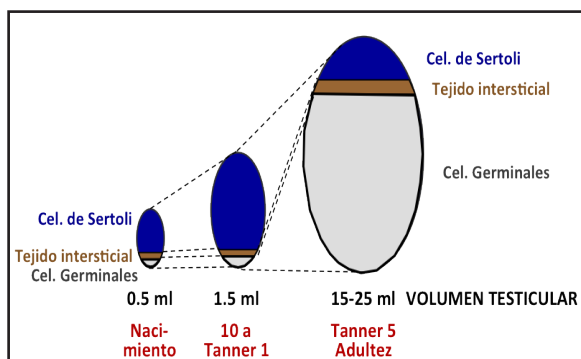


Fig. 1: . Esquema de la ontogenia de los niveles circulantes de gonadotropinas, testosterona (T) y Hormona Anti-Mülleriana (AMH) en el varón. Reproducido con permiso de: Grinspon RP and Rey RA. Anti-mullerian hormone and Sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Horm Res Paediatr* 2010; 73: 81-92. Copyright 2010, S Karger AG, Basel.<sup>33</sup>

A pesar de la disminución de FSH, la AMH hace un pico a la edad de 1-2 años; luego disminuye aunque se mantiene en un nivel varias veces superior al que tienen las niñas durante toda la infancia<sup>6-8</sup>. Los niveles de inhibina B alcanzan, durante los primeros 6 meses de vida, valores similares a los de la pubertad avanzada, permanecen elevados durante los primeros años y descienden lentamente hasta alcanzar valores prepuberales alrededor de los 4 años de edad<sup>9-11</sup>.

A pesar de ser imperceptible a la palpación, el volumen testicular aumenta durante la infancia, principalmente debido a la proliferación de células de Sertoli<sup>12,13</sup>. El eje hipotálamo-hipofisario se reactiva en la pubertad. La FSH induce una nueva ola de proliferación de células de Sertoli y la LH reactiva la función de las células de Leydig. Las concentraciones de testosterona aumentan dentro del testículo antes de que esto se refleje en la circulación<sup>14</sup>, y provoca la maduración de las células de Sertoli, caracterizada por el cese de su proliferación y la disminución en la producción de AMH (Figura 1). La secreción de inhibina B aumenta<sup>15</sup> estimulada por la FSH y las células germinales, que presentan espermatogénesis puberal resultando en la producción de espermatozoides. Clínicamente, el comienzo puberal se define por un volumen testicular  $\geq 4$  ml. El subsecuente aumento en el volumen testicular hasta su volumen final de 15-25 ml es consecuencia de la proliferación de las células germinales (Figura 2), que depende de los niveles intratesticulares de testosterona y de una función normal del receptor de andrógenos en la célula de Sertoli.



**Fig. 2:** Esquema de la ontogenia de los cambios en el volumen testicular desde el nacimiento hasta la adultez. Los túbulos seminíferos (células de Sertoli y germinales) representan siempre el mayor componente del testículo. Desde el nacimiento y durante todo el período prepuberal (hasta los 9-14 años, estadio de Tanner 1), el túbulo seminífero depende principalmente de las células de Sertoli, mientras que durante la pubertad el aumento significativo del volumen testicular se debe principalmente a la proliferación de las células germinales (entre los estadios 1 y 5 de Tanner). Reproducido con permiso de: Rey RA. Regulation of Spermatogenesis. *Endocr Dev* 2003; 5: 38-55. Copyright 2003, S Karger AG, Basel<sup>62</sup>.

En resumen, durante la niñez existe un estado fisiológico de baja secreción de gonadotropinas y testosterona, comparado con la vida fetal, la infancia temprana, la pubertad y la edad adulta. Sin embargo, las células de Sertoli permanecen

activas como lo demuestra la secreción de AMH e inhibina B.

## HORMONAS PRODUCIDAS POR LA CELULA DE SERTOLI

### AMH

La AMH es un marcador específico de la célula de Sertoli inmadura. La AMH es transitoriamente baja durante las primeras semanas de vida, luego aumenta, hace un pico a la edad de 2-3 años, y permanece en niveles altos hasta el comienzo de la pubertad. Luego la AMH disminuye principalmente entre el estadio puberal 2 y 3 para alcanzar los niveles adultos bajos (Tabla I)<sup>6,8</sup>.

**Tabla I.** AMH sérica en varones normales, usando el AMH/MIS ELISA de Beckman-Coulter-Immunotech.

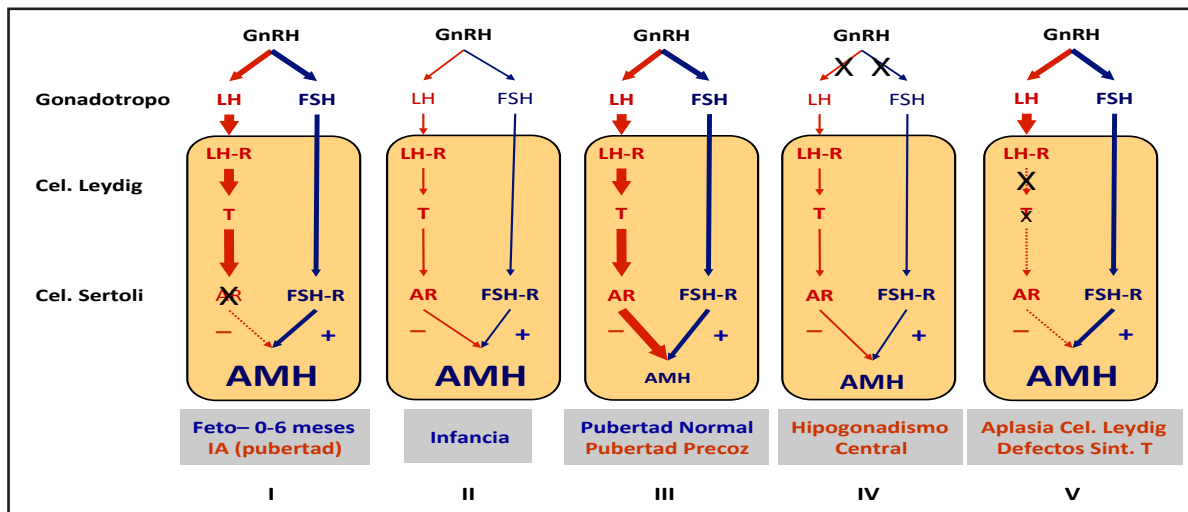
Edad	AMH sérica	
	Mediana (percentilos 3-97) pmol/L	µg/L
0-14 días	584 (253-1038)	82 (35-145)
15 días-6 meses	697 (421-1470)	98 (59-206)
6 meses - 2 años	1132 (684-2329)	159 (96-326)
2 - 9 años	684 (236-1831)	96 (33-256)
9 - 18 años		
G1	713 (257-1371)	100 (36-192)
G2	295 (69-1017)	41 (10-142)
G3	71 (30-423)	10 (4-59)
G4	65 (33-164)	9 (5-23)
G5	82 (38-195)	11 (5-27)

Reproducido con permiso de: Grinson RP and Rey RA. Anti-mullerian hormone and Sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Horm Res Paediatr* 2010; 73: 81-92. Copyright 2010, S Karger AG, Basel<sup>33</sup>.

A pesar de que el comienzo de la expresión fetal de AMH y el mantenimiento de sus niveles basales es independiente de gonadotropinas, la FSH es capaz de aumentar la producción testicular de AMH induciendo la proliferación de las células de Sertoli y la expresión de AMH<sup>16,17</sup>. De hecho, la AMH sérica es baja en pacientes con hipogonadismo central, y aumenta en respuesta a la administración exógena de FSH<sup>18-20</sup>, indicando que la concentración sérica de AMH es un marcador útil de la acción de FSH en el testículo prepuberal.

Los andrógenos son potentes inhibidores de la producción de AMH por las células de Sertoli durante la pubertad. La correlación negativa entre la testosterona y la AMH se observa también en la pubertad precoz central y en la pubertad precoz periférica<sup>21</sup>, sugiriendo que los andrógenos son los responsables de la disminución de la AMH, independientemente de la edad y de los niveles de gonadotropinas. Es más, en pacientes con defectos en la producción o en la sensibilidad a los andrógenos, los niveles de AMH están

anormalmente altos<sup>22,23</sup>. El efecto inhibitorio de los andrógenos predomina sobre el efecto estimulador de la FSH en la secreción de AMH del testículo puberal. En el testículo fetal y neonatal, los altos niveles de andrógenos son incapaces de inhibir la producción de AMH debido a que la célula de Sertoli es fisiológicamente insensible a los andrógenos en este período de la vida. De hecho, la célula de Sertoli carece de expresión del receptor de andrógenos antes de los 6 meses de vida (Figura 3)<sup>24,25</sup>.



**Fig. 3:** Regulación de la secreción de AMH testicular por las gonadotropinas y los andrógenos. En general el hipotálamo regula la secreción de LH y FSH por el gonadotropo a través de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH del inglés gonadotrophin-releasing hormone). La LH actúa en el receptor de LH (LH-R) presente en las células de Leydig, induciendo la secreción de testosterona (T). La FSH actúa en el receptor de FSH (FSH-R) presente en la célula de Sertoli. El eje hipotálamo-hipofiso-gonadal es activo en el feto y en los primeros meses de vida, es quiescente durante la infancia, y se reactiva en la pubertad. La FSH es un estímulo moderado de la secreción de AMH, mientras que la T, actuando a través del receptor de andrógenos (AR), es un potente inhibidor de la producción de AMH. En el feto y niño en los primeros meses de la vida, así como también en pacientes con síndrome de insensibilidad a los andrógenos (AIS), la falta de expresión del AR resulta en la producción de altos niveles de AMH por las células de Sertoli (I). Durante la infancia existe un estado hipogonadotrófico fisiológico que resulta en una T baja y niveles altos de AMH, aunque algo menores por la falta de estímulo de FSH (II). En la pubertad normal o precoz, predomina el efecto de la testosterona sobre el de la FSH, resultado en una inhibición de la AMH (III). En el hipogonadismo congénito central la AMH es más baja que en niños normales por la falta prolongada de FSH desde la vida fetal; sin embargo, a edad puberal, el efecto inhibitorio de la T también está ausente, y la AMH permanece en niveles superiores a los de la pubertad normal (IV). En el hipogonadismo primario específico de la célula de Leydig (Aplasia o hipoplasia de células de Leydig debido a mutación en el LH-R, o defectos en la esteroideogénesis), el efecto inhibitorio de los andrógenos está ausente, y los niveles de AMH están elevados. El área naranja representa el testículo. El grosor de las líneas se correlaciona con el efecto hormonal en el blanco. Reproducido con permiso de: Grinspon RP and Rey RA. Anti-mullerian hormone and Sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Horm Res Paediatr* 2010; 73: 81–92. Copyright 2010, S Karger AG, Basel<sup>33</sup>.

### Inhibina B

Las inhibinas son glicoproteínas predominantemente producidas por las gónadas; se ha demostrado claramente que la inhibina B es la única forma de inhibina clínicamente relevante en el varón<sup>26-28</sup>. La célula de Sertoli es el principal productor de inhibina B en el testículo; sin embargo, los mecanismos involucrados en la regulación de su síntesis son complejos dependen

del grado de maduración de la célula de Sertoli. La producción de inhibina B por la célula de Sertoli no está regulada solo por la FSH, sino también por otros factores producidos probablemente por las células peritubulares y productos no esteroideos de la célula de Leydig, particularmente durante el período neonatal. El hecho de que la producción de inhibina B varíe según el estadio del túbulo seminífero demuestra que las células germinales

también participan en la regulación de la síntesis de inhibinas. Las células de Sertoli postnatales son capaces de expresar todo su potencial para secretar inhibina B en ausencia de espermatogénesis; es decir, poseen la misma capacidad que adquieren cuando el desarrollo del epitelio germinal se ha completado y su producción está estimulada por factores provenientes de las células germinales. Los niveles de inhibina B caen moderadamente hasta los 3-4 años, permanecen en el límite inferior del rango normal del hombre adulto fértil y vuelven a aumentar en la edad puberal durante el estadio 2 de Tanner<sup>10,15</sup>, coincidiendo con el aumento de las gonadotrofinas y la testosterona; luego, los niveles de inhibina B se mantienen constantes hasta el fin de la pubertad. La relación inversa entre FSH e inhibina B se observa en la pubertad media<sup>29</sup>; esto evidencia que el mecanismo de retroalimentación negativa es activo aunque el desarrollo sexual no esté completo. Una vez que la maduración testicular puberal se completa, la producción de inhibina B depende del número de células de Sertoli, de la FSH y de factores producidos por las células germinales, principalmente espermatoцитos y espermátides.

## DEFINICIONES Y CLASIFICACIÓN DEL HIPOGONADISMO MASCULINO

### Clasificación del hipogonadismo (Tabla II)

#### *Hipotálamo-hipofisario (Central), Testicular (Primario), o Combinado*

El hipogonadismo central se caracteriza por una disfunción gonadal debida a una alteración que afecta al generador de pulsos de GnRH o a la secreción de LH y/o FSH por el gonadotropo<sup>30,31</sup>. En el hipogonadismo primario existe una disfunción testicular primaria. Finalmente, ciertas patologías pueden involucrar al eje hipotálamo-pituitario y al testículo concomitantemente, y provocar un hipogonadismo combinado.

#### *Hipogonadismo generalizado o disociado.*

El hipogonadismo primario, central o combinado puede involucrar la falla concomitante de todas las poblaciones celulares del testículo; se trata entonces de un “hipogonadismo generalizado”.

Por otro lado, cuando solo una población celular testicular está afectada primariamente (células de Sertoli, de Leydig o germinales), existe un “hipogonadismo disociado”.

#### *Hipogonadismo de inicio en la vida Fetal, en la Infancia o en la Pubertad*

El hipogonadismo masculino tiene distintas consecuencias dependiendo del período de la vida en el cual se establece. El hipogonadismo que se establece en el 1<sup>er</sup> trimestre de la vida fetal resulta en una anomalía del desarrollo sexual presentándose con genitales ambiguos o femeninos, debido a insuficientes niveles hormonales testiculares durante la ventana crítica de la diferenciación sexual. La disgenesia gonadal es un ejemplo de hipogonadismo generalizado, mientras que la aplasia/hipoplasia de células de Leydig y los defectos de la esteroideogénesis son formas de hipogonadismo disociado. El hipogonadismo central no provoca ambigüedad genital, debido a que la función de la célula de Leydig en el 1<sup>er</sup> trimestre de la vida fetal depende de la hCG placentaria. El hipogonadismo fetal –sea primario, central o combinado– que se establece en la segunda mitad de la gestación resulta típicamente en micropene y criptorquidia. Cuando el hipogonadismo se establece durante la infancia puede no ser diagnosticado hasta la edad puberal, a menos que se evalúe la función de la célula de Sertoli. A edad puberal, el hipogonadismo provoca una falta o una detención de la pubertad.

## HIPOGONADISMO MASCULINO EN LA INFANCIA: UTILIDAD DE LOS NIVELES DE AMH

La evaluación de la función testicular basal en la infancia recae principalmente en la determinación de los marcadores de la célula de Sertoli, ya que los niveles de gonadotrofinas y testosterona normalmente disminuyen a valores muy bajos hasta el comienzo de la pubertad. La AMH sérica refleja de manera fidedigna la función testicular en niños prepuberales, sin necesidad de realizar pruebas de estímulo<sup>32,33</sup>. Para evaluar el gonadotropo o la célula de Leydig se necesita la realización de estudios dinámicos.



**Tabla II.** Clasificación del Hipogonadismo.**HIPOGANADISMO CENTRAL**

Edad de comienzo	Disfunción gonadal generalizada	Disfunción gonadal disociada
<b>Fetal (2do – 3er trimestres)</b>	Hipogonadismo hipogonadotrófico aislado Deficiencia hormonal hipofisaria múltiple	Cel. Leydig: Mutación del gen de la subunidad LH $\beta$ Cel. Sertoli: Mutación del gen de la subunidad FSH $\beta$
<b>Infancia</b>	Patología endocrina: hipotiroidismo, hiperprolactinemia Tumores del Sistema Nervioso Central, Histiositosis de Langerhan	Ninguno
<b>Peri-Puberal</b>	Hipogonadismo central funcional: anorexia nerviosa Patología endocrina: hipotiroidismo, hiperprolactinemia Tumores del Sistema Nervioso Central, Histiositosis de Langerhan	Ninguno

**HIPOGANADISMO PRIMARIO**

Edad de comienzo	Disfunción gonadal generalizada	Disfunción gonadal disociada
<b>Fetal (1er trimestre)</b>	Disgenesia Gonadal	Cel. Leydig: Aplasia/hipoplasia de cel. Leydig (mutación LH/CG-R) y defectos en la esteroideogénesis Cel. Sertoli: Mutación en el gen de la AMH (PMDS) y mutación del FSH-R
<b>Fetal (2do – 3er trimestres)</b>	Disruptores endocrinos Síndrome de regresión testicular Torsión testicular	Ninguno
<b>Infancia</b>	Criptorquidia Torsión testicular Orquitis Quimioterapia / Radioterapia Trisomía 21	Ninguno
<b>Peri-Puberal</b>	Criptorquidia Torsión testicular Orquitis Quimioterapia / Radioterapia Síndrome de Klinefelter	Cel. Germinales: Varón XX Quimioterapia

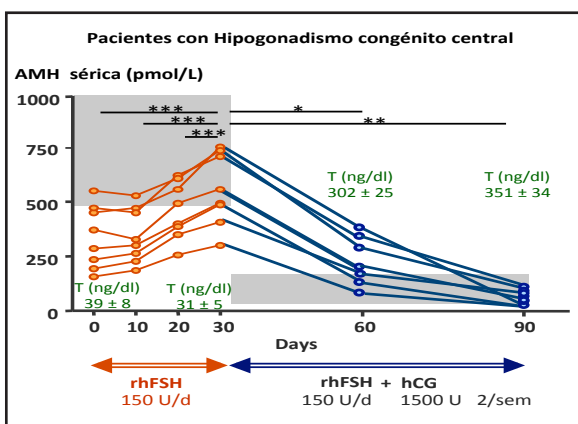
**HIPOGANADISMO COMBINADO**

Edad de comienzo	Disfunción gonadal generalizada	Disfunción gonadal disociada
<b>Fetal (1er trimestre)</b>	Mutación del gen DAX1	Ninguno
<b>Fetal (2do – 3er trimestres)</b>	Síndrome de Prader-Willi	Ninguno
<b>Infancia</b>	Irradiación corporal total	Ninguno
<b>Peri-Puberal</b>	Irradiación corporal total	Ninguno

## Hipogonadismo central con “disfunción testicular generalizada”

### *Hipogonadismo hipogonadotrófico aislado e insuficiencia hipofisaria múltiple*

En una serie de niños con hipopituitarismo congénito, la presencia de un fenotipo genital anormal como micropene (<2,5 cm), criptorquidia y/o microorquidismo (volumen testicular < 1 ml) estuvo asociada a niveles séricos bajos de LH y testosterona en todos los pacientes, mientras que se encontraron bajas concentraciones de FSH, AMH e inhibina B en 53%, 57% y 58% respectivamente. Estos resultados destacan la importancia de la exploración del eje hipófiso-gonadal incluyendo los marcadores de la célula de Sertoli, durante la activación postnatal del eje GnRH-gonadotropo, para fortalecer el diagnóstico de hipogonadismo congénito central<sup>34</sup>. El tratamiento temprano con FSH induce un aumento del volumen testicular –debido a la proliferación de las células de Sertoli– y una elevación de la AMH sérica<sup>20</sup>. En pacientes con retraso puberal no tratados, la AMH sérica es elevada para la edad –porque la falta de testosterona no la inhibe– pero es más baja que lo esperado para un varón prepuberal<sup>19,35</sup> reflejando la falta de estímulo de FSH (Figura 3). El tratamiento con FSH induce un aumento en la AMH sérica. Un tratamiento posterior con hCG resulta en una elevación de los niveles de andrógenos intratesticulares, que inhiben a la AMH (Figura 4).



**Fig. 4:** Efectos del tratamiento con FSH recombinante (rhFSH) y hCG en la producción testicular de Hormona Anti-Mülleriana (AMH) en pacientes con hipogonadismo central sin tratamiento previo. El tratamiento inicial con rhFSH durante 30 días resulta en una elevación de la AMH sérica en 8 pacientes, mientras que la testosterona (T) sérica se mantiene en niveles prepuberales. El área sombreada representa las concentraciones normales de AMH para estadio de Tanner I, de acuerdo a los niveles de testosterona observados en estos pacientes. El subsecuente tratamiento con hCG resulta en una elevación de la T que provoca una disminución de la AMH. El área sombreada representa los valores normales de AMH para estadios de Tanner IV-V, de acuerdo a los valores de testosterona observados en pacientes tratados. Reproducido con permiso de: Young J, Chanson P, Salenave S, Noël M, Brailly S, O'Flaherty M, Schaison G, Rey R. Testicular anti-Müllerian hormone (AMH) secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:724-728. Copyright 2005, The Endocrine Society<sup>19</sup>.

Por el contrario, la disminución de la producción de AMH es menos significativa cuando los pacientes reciben testosterona exógena, probablemente debido a que se obtienen menores niveles de testosterona intratesticular con dicho tratamiento<sup>19</sup>. Las concentraciones de AMH e inhibina B son normales para el estadio de Tanner en niños con retardo constitucional de la pubertad, reflejando un eugonadismo funcional en estos pacientes<sup>36,37</sup>.

## Hipogonadismo central con “disfunción testicular disociada”

El hipogonadismo central con “disfunción testicular disociada” puede ser el resultado de deficiencias aisladas de LH o FSH, respectivamente debido a mutaciones en los genes de las subunidades LHβ o FSHβ. La deficiencia aislada de LH provoca una falla en la diferenciación de las células de Leydig y en la secreción de testosterona en la segunda mitad de la vida fetal y en la edad puberal. Los pacientes presentan micropene, microorquidismo y ausencia de pubertad con niveles normales de inhibina B<sup>38</sup>. En ratones con un knockout de LHβ, los niveles de FSH están elevados y las células de Sertoli permanecen inmaduras, produciendo altos niveles de AMH<sup>39,39</sup>. La deficiencia aislada de FSH se asocia a un número reducido de células de Sertoli, oligo- o azoospermia y niveles de andrógenos normales con LH alta luego de la pubertad<sup>40,41</sup>. La inhibina B es baja en adultos<sup>42</sup>; no hay información sobre las concentraciones de AMH e inhibina B en niños.

## Hipogonadismo primario con “disfunción testicular generalizada”

### *Disgenesia Gonadal, síndrome de regresión testicular y anorquia*

La disgenesia gonadal establecida en el primer trimestre de la vida fetal resulta en genitales ambiguos o femeninos, dependiendo del grado de deficiencia hormonal testicular. En el síndrome de regresión testicular el tejido testicular está presente en la primera mitad de la vida fetal por lo cual no impide la virilización, pero puede provocar micropene o escroto hipoplásico. En todos los casos, la AMH sérica es baja o indetectable, de acuerdo a la cantidad de tejido testicular remanente<sup>23,32</sup>.

La mayoría de los niños con hipospadias aislado pero tamaño normal del pene y testículos descendidos

tienen concentraciones normales de AMH e inhibina B, indicando que no existe disfunción testicular<sup>43</sup>.

El síndrome de Klinefelter es una aneuploidia de los cromosomas sexuales caracterizada por una disgenesia testicular de comienzo tardío. Los niveles de AMH son normales hasta el estadio de Tanner 3, en correlación con niveles normales de inhibina B y FSH (Figura 5). De allí en más, la función de la célula de Sertoli se deteriora progresivamente, resultando en una AMH extremadamente baja o indetectable, en coincidencia con una inhibina B no detectable, niveles muy elevados de FSH y un bajo volumen testicular<sup>44-46</sup>. Otra aneuploidia con hipogonadismo primario es la Trisomía 21 (Síndrome de Down); a diferencia del síndrome de Klinefelter, los compartimentos tubular e intersticial están afectados en una alta proporción de pacientes con Síndrome de Down desde la infancia temprana. Los niveles de AMH son bajos, y la testosterona alcanza niveles normales-bajos pero con LH alta indicando una disfunción compensada de la célula de Leydig<sup>8</sup>.

### Criptorquidia

La criptorquidia, no es una patología en sí misma sino un signo clínico, con muchas etiologías posibles. Puede ser el resultado de una disfunción gonadal primaria con “disfunción testicular generalizada”, de un hipogonadismo hipogonadotrófico, de mutaciones raras en el gen INSL3 o su receptor<sup>2</sup>, o incluso de defectos anatómicos de la región inguinal o de la pared abdominal. De acuerdo a su etiología, la criptorquidia puede estar asociada a una función de la célula de Sertoli normal o alterada. La AMH es baja en aproximadamente un 75% de los niños con criptorquidia bilateral y gónadas no palpables y en 35% de los que tienen gónadas inguinales, indicando una disfunción de la célula de Sertoli<sup>47</sup>. La inhibina B es más baja en niños con criptorquidia o monorquia, aun con hipertrofia compensadora, que en controles<sup>48</sup>. Es esperable que los niveles de AMH e inhibina B sean normales en niños con defectos anatómicos de la región inguinal o pared abdominal o en defectos de la señal del INSL3. Como fue previamente discutido, los niveles de AMH e inhibina B son

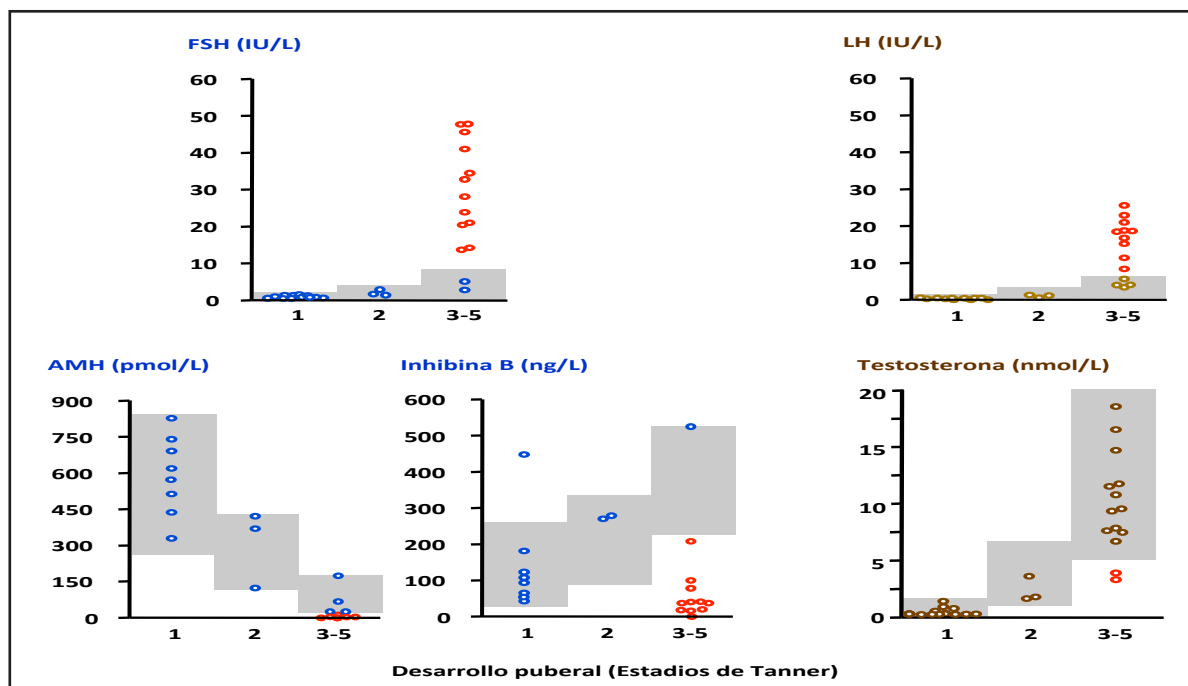


Fig. 4: Niveles circulantes de gonadotropinas (FSH: hormona foliculo estimulante, y LH: hormona luteinizante), hormonas de la célula de Leydig (T: testosterona) y hormonas de la célula de Sertoli (AMH: hormona Anti-Mülleriana, e inhibina B) en pacientes pediátricos con Síndrome de Klinefelter agrupados según el desarrollo puberal (estadios de Tanner). El are agrisada representa los rangos normales para el estadio de Tanner. Los puntos rojos indican pacientes con valores normales anormales, que sugieren una disfunción gonadal. Reproducido, con permiso de John Wiley and Sons de: Bastida MG et al. Establishment of testicular endocrine function impairment during childhood and puberty in boys with Klinefelter syndrome. Clin Endocrinol 2007; 67: 863-70. Copyright 2007, Blackwell Publishing Ltd<sup>46</sup>.



bajos en pacientes con criptorquidia secundaria a hipogonadismo hipogonadotrófico.

### **Hipogonadismo primario con “disfunción testicular disociada”**

Las mutaciones en el receptor de FSH resultan en una disminución del número y función de las células de Sertoli llevando a un bajo volumen testicular, bajas concentraciones de inhibina B y LH moderadamente elevada<sup>49</sup>. Se podría esperar una AMH baja, sin embargo no hay reportes aun.

La producción de AMH es anormal en pacientes con Síndrome de Persistencia de los Conductos de Müller debido a mutaciones en el gen de AMH<sup>50</sup>. Estos pacientes pueden presentarse con gónadas no palpables; la AMH no detectable puede interpretarse como un signo de anorquia; sin embargo, los niveles detectables de inhibina B y de testosterona luego de una estimulación con hCG son indicativos de la existencia de testículos intra-abdominales<sup>32,51</sup>.

La disfunción específica de la célula de Leydig puede ser el resultado de mutaciones en el receptor LH/hCG o en las enzimas esteroideogénicas en individuos 46,XY. El hipoandrogenismo aislado resultante lleva al desarrollo de genitales externos femeninos o ambiguos. Este tipo de anomalía de la diferenciación sexual puede ser distinguida de la disgenesia testicular (que provoca una disfunción testicular generalizada) mediante la medición de los marcadores de la células de Sertoli. Las concentraciones de AMH son normales/altas debido a la falta del efecto inhibitorio de los andrógenos y a la elevación de la FSH (Figura 3)<sup>23</sup>, y la inhibina B se encuentra también dentro del rango masculino<sup>44</sup>.

En los varones XX, la AMH y la testosterona son normales, indicando que las células somáticas de las gónadas no están primariamente afectadas<sup>23</sup>. Sin embargo, las células germinales no realizan la meiosis y entran en apoptosis en la pubertad. Los niveles de inhibina B deberían ser normales antes de la pubertad y disminuir cuando esta ha comenzado, asociado a testículos pequeños, debido a la degeneración de las células germinales.

La quimioterapia y la radioterapia afectan

primariamente a las células germinales. Los niveles de AMH e inhibina B han sido reportados en pocas oportunidades con resultados variables, de bajos a normales<sup>52-54</sup>. Las diferencias podrían deberse al tipo de radio/quimioterapia utilizada. Las células de Leydig parecen ser más resistentes que las células de Sertoli. Llamativamente, las gonadotrofinas están dentro del rango normal en los niños prepuberales con bajos niveles de inhibina B y AMH, lo cual ilustra el hecho de que el hipogonadismo primario no es siempre hipogonadotrófico cuando comienza antes de la pubertad.

### **Hipogonadismo combinado (central y primario) con “disfunción gonadal generalizada”.**

El factor de transcripción DAX1 tiene actividad funcional a distintos niveles del eje hipofisogonadal y adrenal<sup>55</sup>. Las mutaciones en el gen DAX1 resultan en una patología ligada al X caracterizada por hipoplasia adrenal y un hipogonadismo combinado. Los niveles de AMH e inhibina B son bajos desde los estadios de la pubertad temprana, indicando la existencia de una disfunción testicular primaria<sup>56,57</sup>. Inesperadamente, la disfunción testicular primaria no se acompaña de una elevación de gonadotrofinas en edad puberal; esto es debido a una disfunción concomitante del gonadotropo.

El Síndrome de Prader-Willi es otra forma de hipogonadismo combinado. Los niños y adolescentes presentan niveles bajos de inhibina B y testosterona con LH y FSH normal<sup>58-61</sup>.

## **CONCLUSIONES FINALES**

El hipogonadismo masculino puede ser difícil de diagnosticar en la infancia si se estudian exclusivamente las gonadotrofinas y la testosterona. Las células de Sertoli representan la población testicular más activa durante la edad prepuberal. Testículos pequeños son indicativos de un reducido número de células de Sertoli, por una disfunción primaria o secundaria a una deficiencia de FSH. Los marcadores de las células de Sertoli, como la AMH y la inhibina B, son sumamente útiles para la evaluación

de la función gonadal, sin la necesidad de realizar pruebas de estímulo, y pueden orientar al diagnóstico etiológico de hipogonadismo masculino en pacientes pediátricos. La AMH sérica es un marcador confiable de la acción de la FSH y los andrógenos sobre la célula de Sertoli, mientras que la inhibina B es un excelente reflejo de la acción combinada de la FSH y las células germinales, principalmente luego del comienzo de la pubertad.

### Conflictos de interés

R.A. Rey ha recibido regalías de un acuerdo entre INSERM (Francia) y Beckman-Coulter-Immuntotech para el desarrollo de un ELISA para AMH. P. Bedecarrás y R.A. Rey han recibido honorarios de CONICET (Argentina) por servicios tecnológicos usando el Kit ELISA AMH. Los otros autores no tienen conflictos de interés.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Petersen C, Söder O. The Sertoli cell: a hormonal target and 'super' nurse for germ cells that determines testicular size. *Horm Res* 2006; 66: 153-61.
- Ivell R, Hartung S. The molecular basis of cryptorchidism. *Mol Hum Reprod* 2003; 9: 175-81.
- Bergadá I, Milani C, Bedecarrás P, Andreone L, Ropelato MG, Gottlieb S, Bergadá C, Campo S, Rey RA. Time Course of the Serum Gonadotropin Surge, Inhibins, and Anti-Müllerian Hormone in Normal Newborn Males during the First Month of Life. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 4092-8.
- Forest MG, Sizonenko PC, Cathiard AM, Bertrand J. Hypophyso-gonadal function in humans during the first year of life. 1. Evidence for testicular activity in early infancy. *J Clin Invest* 1974; 53: 819-28.
- Kuiri-Hanninen T, Seuri R, Tyrvaäinen E, Turpeinen U, Hamalainen E, Stenman UH, Dunkel L, Sankilampi U. Increased Activity of the Hypothalamic-Pituitary-Testicular Axis in Infancy Results in Increased Androgen Action in Premature Boys. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 98-105.
- Aksglæde L, Sorensen K, Boas M, Mouritsen A, Hagen CP, Jensen RB, Petersen JH, Linneberg A, Andersson AM, Main KM, Skakkebaek NE, Juul A. Changes in Anti-Müllerian Hormone (AMH) throughout the Life Span: A Population-Based Study of 1027 Healthy Males from Birth (Cord Blood) to the Age of 69 Years. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 5357-64.
- Hagen CP, Aksglæde L, Sorensen K, Main KM, Boas M, Cleemann L, Holm K, Gravholt CH, Andersson AM, Pedersen AT, Petersen JH, Linneberg A, Kjaergaard S, Juul A. Serum levels of anti-Müllerian hormone as a marker of ovarian function in 926 healthy females from birth to adulthood and in 172 Turner syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 5003-10.
- Grinspon RP, Bedecarrás P, Ballerini MG, Iñiguez G, Rocha A, Mantovani Rodrigues Resende EA, Brito VN, Milani C, Figueroa Gacitua V, Chiesa A, Keselman A, Gottlieb S, Borges MF, Ropelato MG, Picard JY, Codner E, Rey RA. Early onset of primary hypogonadism revealed by serum anti-Müllerian hormone determination during infancy and childhood in trisomy 21. *Int J Androl* 2011; 34: e487-e498.
- Bergadá I, Rojas G, Ropelato MG, Ayuso S, Bergadá C, Campo SM. Sexual dimorphism in circulating monomeric and dimeric inhibins in normal boys and girls from birth to puberty. *Clin Endocrinol* 1999; 51: 455-60.
- Andersson A, Skakkebaek NE. Serum inhibin B levels during male childhood and puberty. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 180: 103-7.
- Bergadá I, Bergadá C, Campo SM. Role of inhibins in childhood and puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14: 343-53.
- Nistal M, Abaurrea MA, Paniagua R. Morphological and histometric study on the human Sertoli cell from birth to the onset of puberty. *J Anat* 1982; 134: 351-63.
- Müller J, Skakkebaek NE. Quantification of germ cells and seminiferous tubules by stereological examination of testicles from 50 boys who suffered from sudden death. *Int J Androl* 1983; 6: 143-56.
- Pasqualini T, Chemes H, Rivarola MA. Testicular testosterone levels during puberty in cryptorchidism. *Clin Endocrinol* 1981; 15: 545-54.
- Trigo RV, Bergadá I, Rey R, Ballerini MG, Bedecarrás P, Bergadá C, Gottlieb S, Campo SM. Altered serum profile of inhibin B, Pro-alphaC and anti-Müllerian hormone in prepubertal and pubertal boys with varicocele. *Clin Endocrinol* 2004; 60: 758-64.
- Lukas-Croisier C, Lasala C, Nicaud J, Bedecarrás P,

- Kumar TR, Dutertre M, Matzuk MM, Picard JY, Josso N, Rey R. Follicle-stimulating hormone increases testicular anti-Müllerian hormone (AMH) production through Sertoli cell proliferation and a nonclassical cyclic adenosine 5'-monophosphate-mediated activation of the AMH gene. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 550-61.
17. Lasala C, Schteingart HF, Arouche N, Bedecarrás P, Grinspon RP, Picard JY, Josso N, di Clemente N, Rey RA. SOX9 and SF1 are involved in cyclic AMP-mediated upregulation of anti-Müllerian gene expression in the testicular prepubertal Sertoli cell line SMAT1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 301: E539-E547.
  18. Al-Attar L, Noël K, Dutertre M, Belville C, Forest MG, Burgoyne PS, Josso N, Rey R. Hormonal and cellular regulation of Sertoli cell anti-Müllerian hormone production in the postnatal mouse. *J Clin Invest* 1997; 100: 1335-43.
  19. Young J, Chanson P, Salenave S, Noël M, Brailly S, O'Flaherty M, Schaison G, Rey R. Testicular anti-müllerian hormone secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 724-8.
  20. Bougnères P, François M, Pantalone L, Rodrigue D, Bouvattier C, Demesteere E, Roger D, Lahlou N. Effects of an early postnatal treatment of hypogonadotropic hypogonadism with a continuous subcutaneous infusion of recombinant Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 2202-5.
  21. Rey R, Lordereau-Richard I, Carel JC, Barbet P, Cate RL, Roger M, Chaussain JL, Josso N. Anti-müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely related during normal and precocious pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1220-6.
  22. Rey R, Mebarki F, Forest MG, Mowszowicz I, Cate RL, Morel Y, Chaussain JL, Josso N. Anti-müllerian hormone in children with androgen insensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 960-4.
  23. Rey RA, Belville C, Nihoul-Fékété C, Michel-Calemard L, Forest MG, Lahlou N, Jaubert F, Mowszowicz I, David M, Saka N, Bouvattier C, Bertrand AM, Lecointre C, Soskin S, Cabrol S, Crosnier H, Léger J, Lortat-Jacob S, Nicolino M, Rabl W, Toledo SP, Bas F, Gompel A, Czernichow P, Josso N. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum antimüllerian hormone measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 627-31.
  24. Berensztejn EB, Baquedano MS, Gonzalez CR, Saraco NI, Rodriguez J, Ponzio R, Rivarola MA, Belgorosky A. Expression of aromatase, estrogen receptor alpha and beta, androgen receptor, and cytochrome P-450scc in the human early prepubertal testis. *Pediatr Res* 2006; 60: 740-4.
  25. Chemes HE, Rey RA, Nistal M, Regadera J, Musse M, Gonzalez-Peramato P, Serrano A. Physiologic androgen insensitivity of the fetal, neonatal, and early infantile testis is explained by the ontogeny of the androgen receptor expression in Sertoli cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 4408-12.
  26. Anawalt BD, Bebb RA, Matsumoto AM, Groome NP, Illingworth PJ, McNeilly AS, Bremner WJ. Serum inhibin B levels reflect Sertoli cell function in normal men and men with testicular dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3341-5.
  27. Illingworth PJ, Groome NP, Byrd W, Rainey WE, McNeilly AS, Mather JP, Bremner WJ. Inhibin-B: a likely candidate for the physiologically important form of inhibin in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1321-5.
  28. Jensen TK, Andersson AM, Hjollund NH, Scheike T, Kolstad H, Giwercman A, Henriksen TB, Ernst E, Bonde JP, Olsen J, McNeilly A, Groome NP, Skakkebaek NE. Inhibin B as a serum marker of spermatogenesis: correlation to differences in sperm concentration and follicle-stimulating hormone levels. A study of 349 Danish men. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4059-63.
  29. Raivio T, Perheentupa A, McNeilly AS, Groome NP, Anttila R, Siimes MA, Dunkel L. Biphasic increase in serum inhibin B during puberty: a longitudinal study of healthy Finnish boys. *Pediatr Res* 1998; 44: 552-6.
  30. Brioude F, Bouligand J, Trabado S, Francou B, Salenave S, Kamenicky P, Brailly-Tabard S, Chanson P, Guiochon-Mantel A, Young J. Non-syndromic congenital hypogonadotropic hypogonadism: clinical presentation and genotype-phenotype relationships. *Eur J Endocrinol* 2010; 162: 835-51.
  31. Villanueva C, de Roux N. FGFR1 mutations in Kallmann syndrome. *Front Horm Res* 2010; 39: 51-61.
  32. Lee MM, Donahoe PK, Silverman BL, Hasegawa T, Hasegawa Y, Gustafson ML, Chang YC, MacLaughlin DT. Measurements of serum Müllerian inhibiting substance in the evaluation of children with nonpalpable gonads. *N Engl J Med* 1997; 336: 1480-6.
  33. Grinspon RP, Rey RA. Anti-müllerian hormone and

- Sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Horm Res Paediatr* 2010; 73: 81-92.
34. Braslavsky D, Grinson RP, Ballerini MG, Bedecarrás P, Ropelato MG, Bastida MG, Keselman A, Rey RA, Bergadá I. Early evaluation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in patients with congenital hypopituitarism. *Horm Res Paediatr* 2010; 74 (Suppl.3): 244(abstract)
35. Young J, Rey R, Couzinet B, Chanson P, Josso N, Schaison G. Antimüllerian hormone in patients with hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2696-9.
36. Adan L, Lechevalier P, Couto-Silva AC, Boissan M, Trivin C, Brailly-Tabard S, Brauner R. Plasma inhibin B and antimüllerian hormone concentrations in boys: Discriminating between congenital hypogonadotropic hypogonadism and constitutional pubertal delay. *Med Sci Monit* 2010; 16: CR511-CR517.
37. Coutant R, Biette-Demeneix E, Bouvattier C, Bouhours-Nouet N, Gatelais F, Dufresne S, Rouleau S, Lahlou N. Baseline Inhibin B and Anti-Müllerian Hormone Measurements for Diagnosis of Hypogonadotropic Hypogonadism (HH) in Boys with Delayed Puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 5225-32.
38. Valdes-Socin H, Salvi R, Daly AF, Gaillard RC, Quatresooz P, Tebeu PM, Pralong FP, Beckers A. Hypogonadism in a Patient with a Mutation in the Luteinizing Hormone Beta-Subunit Gene. *N Engl J Med* 2004; 351: 2619-25.
39. Ma X, Dong Y, Matzuk MM, Kumar TR. Targeted disruption of luteinizing hormone beta-subunit leads to hypogonadism, defects in gonadal steroidogenesis, and infertility. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 17294-9.
40. Kumar TR, Wang Y, Lu N, Matzuk MM. Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. *Nat Genet* 1997; 15: 201-4.
41. Layman LC, Porto ALA, Xie J, da Motta LACR, da Motta LDC, Weiser W, Sluss PM. FSH{beta} Gene Mutations in a Female with Partial Breast Development and a Male Sibling with Normal Puberty and Azoospermia. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3702-7.
42. Lindstedt G, Nyström E, Matthews C, Ernest I, Janson PO, Chatterjee K. Follitropin (FSH) Deficiency in an Infertile Male due to FSHb Gene Mutation. A Syndrome of Normal Puberty and Virilization but Under-developed Testicles with Azoospermia, Low FSH but High Lutropin and Normal Serum Testosterone Concentrations. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 663-5.
43. Rey RA, Codner E, Iñiguez G, Bedecarrás P, Trigo R, Okuma C, Gottlieb S, Bergadá I, Campo SM, Cassorla FG. Low risk of impaired testicular Sertoli and Leydig cell functions in boys with isolated hypospadias. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6035-40.
44. Kubini K, Zachmann M, Albers N, Hiort O, Bettendorf M, Wolffe J, Bidlingmaier F, Klingmüller D. Basal inhibin B and the testosterone response to human chorionic gonadotropin correlate in prepubertal boys. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 134-8.
45. Lahlou N, Fennoy I, Carel JC, Roger M. Inhibin B and Anti-Müllerian Hormone, but not testosterone levels, are normal in infants with nonmosaic Klinefelter Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1864-8.
46. Bastida MG, Rey RA, Bergadá I, Bedecarrás P, Andreone L, del Rey G, Boywitt A, Ropelato MG, Cassinelli H, Arcari A, Campo S, Gottlieb S. Establishment of testicular endocrine function impairment during childhood and puberty in boys with Klinefelter syndrome. *Clin Endocrinol* 2007; 67: 863-70.
47. Misra M, MacLaughlin DT, Donahoe PK, Lee MM. Measurement of Müllerian inhibiting substance facilitates management of boys with micropallus and cryptorchidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3598-602.
48. Gaudino R, Cavarzere P, Camilot M, Teofoli F, Zampieri N, Tatò L. Prepubertal serum inhibin B in cryptorchid infants and in monorchid boys with compensatory testicular hypertrophy. *Fertil Steril* 2008; 90: 2217-21.
49. Tapanainen JS, Aittomäki K, Min J, Vaskivuo T, Huhtaniemi IT. Men homozygous for an inactivating mutation of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene present variable suppression of spermatogenesis and fertility. *Nat Genet* 1997; 15: 205-6.
50. Josso N, Picard JY, Rey R, di Clemente N. Testicular Anti-Müllerian Hormone: History, Genetics, Regulation and Clinical Applications. *Pediatr Endocrinol Rev* 2006; 3: 347-58.
51. McEachern R, Houle AM, Garel L, Van Vliet G. Lost and found testes: the importance of the hCG stimulation test and other testicular markers to confirm a surgical declaration of anorchia. *Horm Res* 2004; 62: 124-8.
52. Williams D, Crofton PM, Levitt G. Does ifosfamide

- affect gonadal function? *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50: 347-51.
53. Krawczuk-Rybak M, Solarz E, Wysocka J, Matysiak M, Gadomski A, Kazanowska B, Segal-Pondel D. Testicular function after treatment for acute lymphoblastic leukemia (ALL) in prepubertal and pubertal boys. *Pediatr Hematol Oncol* 2009; 26: 504-14.
54. Cuny A, Trivin C, Brailly-Tabard S, Adan L, Zerah M, Sainte-Rose C, Alapetite C, Brugières L, Habrand JL, Doz F, Brauner R. Inhibin B and Antimüllerian Hormone as Markers of Gonadal Function after Treatment for Medulloblastoma or Posterior Fossa Ependymoma during Childhood. *The Journal of Pediatrics* 2011; 158: 1016-22.
55. Yu RN, Ito M, Saunders TL, Camper SA, Jameson JL. Role of Ahch in gonadal development and gametogenesis. *Nat Genet* 1998; 20: 353-7.
56. Meeks JJ, Crawford SE, Russell TA, Morohashi K, Weiss J, Jameson JL. Dax1 regulates testis cord organization during gonadal differentiation. *Development* 2003; 130: 1029-36.
57. Bergadá I, Andreone L, Bedecarrás P, Ropelato MG, Copelli S, Laissue P, Rey RA, Campo SM. Seminiferous tubule function in delayed-onset X-linked adrenal hypoplasia congenita associated with incomplete hypogonadotropic hypogonadism. *Clin Endocrinol* 2008; 68: 240-6.
58. Eiholzer U, l'Allemand D, Rousson V, Schlumpf M, Gasser T, Girard J, Gruters A, Simoni M. Hypothalamic and Gonadal Components of Hypogonadism in Boys with Prader-Labhart- Willi Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 892-8.
59. Fillion M, Deal CL, Van Vliet G. Normal minipuberty of infancy in boys with Prader-Willi syndrome. *J Pediatr* 2006; 149: 874-6.
60. Hirsch HJ, Eldar-Geva T, Benarroch F, Rubinstein O, Gross-Tsur V. Primary Testicular Dysfunction Is a Major Contributor to Abnormal Pubertal Development in Males with Prader-Willi Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 2262-8.
61. Gross-Tsur V, Hirsch HJ, Benarroch F, Eldar-Geva T. The FSH-inhibin axis in prader-willi syndrome: heterogeneity of gonadal dysfunction. *Reprod Biol Endocrinol* 2012; 10: 39.
62. Rey RA. Regulation of Spermatogenesis. *Endocr Dev* 2003; 5: 38-55.