

### RESUMO

A hipoplasia das células de Leydig é uma forma rara e bem definida de pseudo-hermafroditismo masculino de herança autossômica recessiva. A inadequada diferenciação das células de Leydig fetais e, conseqüentemente, a baixa produção androgênica na vida intra-uterina e no período pós-natal resultam em ausência ou incompleta virilização em indivíduos com cariótipo 46,XY. Os portadores desta anomalia apresentam um amplo espectro clínico, desde um fenótipo feminino normal até genitália externa masculina com micropênis, com baixas concentrações de testosterona e elevadas de LH. Mutações inativadoras no gene do receptor de LH/hCG têm sido identificadas em diversas famílias afetadas na última década. Entretanto, a baixa frequência de mutações inativadoras neste gene e a falta de segregação de polimorfismos intragênicos entre os membros afetados de famílias com fenótipo típico de hipoplasia das células de Leydig, sugerem a heterogeneidade genética desta condição. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2005;49/1:83-86**)

**Descritores:** LH; Mutações; Pseudo-hermafroditismo masculino; Receptor de LH

### ABSTRACT

#### Leydig Cell Hypoplasia.

The Leydig cell hypoplasia is a rare and well defined form of male pseudohermaphroditism with autosomal recessive inheritance pattern. An inadequate fetal testicular Leydig cell differentiation and, consequently a low androgenic production during intra uterine and post natal periods, result in absence or incomplete virilization in patients with 46,XY karyotype. These patients exhibit a wide clinical spectrum, ranging from complete female external genitalia to male external genital with micropenis, low serum testosterone levels associated with high LH levels. Inactivating mutations of the LH/hCG receptor gene have been identified in affected families in the last decade. However, the low frequency of inactivating mutations in this gene, and the lack of segregation of intragenic polymorphisms among affected members from families with typical phenotype of Leydig cell hypoplasia, suggest the genetic heterogeneity of this condition. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2005;49/1:83-86**)

**Keywords:** LH; LH receptor; Male pseudohermaphroditism; Mutations

A SECREÇÃO ANDROGÊNICA TESTICULAR durante a vida intra-uterina é crítica para a diferenciação normal dos ductos de Wolff e da genitália externa masculina. A síntese e secreção de testosterona pelas células de Leydig fetais são reguladas inicialmente pela gonadotrofina coriônica (hCG) e posteriormente pela produção de LH hipofisário fetal. A falha

Ana Cláudia Latronico  
Elaine Maria Frade Costa  
Berenice B. Mendonça  
Ivo Jorge Prado Arnhold

Unidade de Endocrinologia do  
Desenvolvimento e Metabolismo,  
Laboratório de Hormônios e  
Genética Molecular – LIM/42,  
Disciplina de Endocrinologia e  
Metabologia do Hospital das  
Clínicas da Faculdade de  
Medicina da USP (HC-FMUSP),  
São Paulo, SP.

Recebido em 05/11/04  
Aceito em 17/11/04

no estímulo pelo hCG ou LH resulta em deficiência da produção de testosterona e de seu metabólito ativo, a dihidrotestosterona, e conseqüentemente na falência de virilização da genitália externa na vida intra-uterina em indivíduos geneticamente masculinos.

A hipoplasia das células de Leydig é uma causa rara de pseudo-hermafroditismo masculino (PHM), descrita por Berthezène e cols. (1) na década de 70. Esta condição autossômica recessiva é caracterizada pelas seguintes manifestações clínicas: 1-genitália externa predominantemente feminina, 2-ausência de características sexuais secundárias femininas ou masculinas na época da puberdade, 3-presença de gônadas masculinas em região inguinal ou intra-abdominal, 4-presença de epidídimo e vaso deferente e ausência de útero e trompas, 5-concentrações baixas de testosterona, apesar dos valores elevados de gonadotrofinas hipofisárias, 6- ausência de incremento de testosterona após teste de estímulo com hCG, assim como de precursores androgênicos (2-5).

LH e hCG interagem com um mesmo receptor. Mutações inativadoras no gene do receptor do LH e hCG (LHR) foram descritas no início da década de 90, esclarecendo a etiopatogenia de uma parte dos pacientes com diagnóstico clínico e hormonal de hipoplasia das células de Leydig (6). As células de Leydig fetais nestes pacientes não respondem a concentrações adequadas do hCG produzido pela placenta, resultando em uma produção androgênica ausente ou deficiente. No entanto, a ausência de mutações inativadoras no gene do LHR e a análise de segregação de polimorfismos entre os membros afetados de uma mesma família indicaram mais recentemente a participação de um ou mais genes na etiopatogenia deste defeito da determinação sexual (7,8).

### **Apresentação Clínica**

A suspeita inicial de PHM devido à hipoplasia das células de Leydig freqüentemente baseia-se na ausência de desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários e amenorréia primária em um indivíduo com aparência feminina e gônadas na região inguinal (2). Alguns pacientes podem apresentar discreta virilização da genitália externa, caracterizada pela fusão posterior de grandes lábios e hipertrofia de clitóris ou até mesmo uma genitália masculina hipodesenvolvida com micropênis (2-4). A ausência de desenvolvimento mamário no período da puberdade é um sinal relevante no diagnóstico diferencial com a forma mais prevalente de PHM, a síndrome de insensibilidade androgênica.

### **Avaliação Hormonal**

Nos pacientes pré-púberes, a falta de incremento da testosterona plasmática e a ausência de acúmulo dos precursores androgênicos (17-hidroxiprogesterona, 17-hidroxipregnenolona, progesterona, DHEA e androstenediona) após estímulo com hCG são fortemente sugestivas de um defeito do desenvolvimento ou da função das células de Leydig. O estímulo gonadal é realizado com 50 a 100UI/ Kg/dia de hCG via intramuscular por dose, a cada 4 dias, 4 doses, seguida da coleta de testosterona e seus precursores 48 e 72 horas após a última aplicação de hCG. No período pós-puberal, o perfil hormonal dos pacientes com hipoplasia das células de Leydig caracteriza-se por concentrações elevadas de LH e FSH (LH>FSH), associadas a concentrações baixas de testosterona e de seus precursores.

### **Avaliação por Imagens**

Exames de imagem da região pélvica, incluindo ultrassonografia e genitografia, indicam ausência de trompas e útero (derivados Mülllerianos) e presença de epidídimo, vesícula seminal e vaso deferente hipoplásicos (derivados Wolffianos), além da vagina em fundo cego (3). A regressão dos ductos de Müller nos pacientes com hipoplasia das células de Leydig é completa devido à secreção preservada do hormônio anti-mülleriano pelas células de Sertoli fetais. No entanto, o achado de derivados de Wolff, dependentes de testosterona, é paradoxal em pacientes com virilização mínima da genitália externa (fusão posterior das saliências labioescrotais).

### **Tratamento**

Nas pacientes que apresentam genitália externa feminina ou discretamente virilizada e, portanto, com sexo social feminino, a orquiectomia bilateral deve ser realizada assim como a correção da genitália externa, quando necessário. A reposição hormonal com estrógenos na época da puberdade e a dilatação vaginal com moldes vaginais complementam o tratamento.

No estudo anatomopatológico, os testículos inguinais mostram redução discreta do volume, desenvolvimento dos túbulos seminíferos com espermatogênese incompleta, aspecto normal das células de Sertoli e ausência ou diminuição do número das células de Leydig maduras no interstício (2-3).

Naqueles pacientes que apresentam genitália externa masculina hipodesenvolvida e com sexo social masculino, a reposição com andrógenos deve ser reali-

zada para tratamento do micropênis na infância e retomada na idade puberal para desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários.

### Mecanismo Molecular

Os efeitos dos hormônios glicoprotéicos (LH, hCG, FSH e TSH) são mediados por receptores localizados na membrana plasmática, que ativam a enzima adenil ciclase através da ligação à proteína Gs. Os hormônios LH e hCG exercem seus efeitos biológicos através de um único receptor composto por três domínios: um extenso domínio extracelular amino-terminal, um domínio intermediário composto de sete segmentos helicoidais hidrofóbicos interligados por 3 alças extracelulares e 3 alças intracelulares, e um curto domínio intracelular carboxi-terminal.

O gene humano do LHR está localizado em 2p21 e sua organização estrutural caracteriza-se por 11 exons e 10 introns (9). Os primeiros 10 exons codificam a maior parte do domínio amino-terminal extracelular do receptor, enquanto o extenso exon 11 (> 1000pb) codifica aproximadamente 50 resíduos do domínio extracelular, os sete segmentos do domínio transmembranoso e toda a região intracitoplasmática carboxi-terminal do LHR.

Diversas mutações inativadoras do gene LHR foram identificadas em pacientes com PHM causado pela hipoplasia das células de Leydig (6-8). Kremer e cols. (6) descreveram a primeira mutação inativadora, Ala593Pro, na sexta hélice do domínio transmembrana do receptor de LH em uma família brasileira, constituída por duas irmãs com hipoplasia das células de Leydig. A transfecção transitória do receptor mutante em células mamíferas (HEK293) resultou em ligação ao hCG com alta afinidade, porém sem produção normal de AMPc, quando comparada com a forma selvagem do receptor (6). As mutações inativadoras foram descritas ao longo dos três domínios do receptor do LH, sem uma região de maior prevalência de mutações (10-14). Além disso, pontos de mutação com substituição de aminoácidos (mutação do tipo *missense*) ou substituição por códons que geram parada prematura do processo de tradução protéica (mutação do tipo *nonsense*), inserções, micro e macro deleções foram descritos em pacientes com hipoplasia das células de Leydig (13,14).

Embora a hipoplasia de células de Leydig tenha sido comumente relacionada a mutações inativadoras em homozigose em famílias com história de consanguinidade, mutações em heterozigose composta foram também descritas nesta condição (8). As mutações inativadoras descritas no gene do LHR em

pacientes com hipoplasia das células de Leydig resultaram em comprometimento da sinalização do LH por um ou mais dos seguintes defeitos de sinalização: 1-comprometimento da ligação do receptor ao hormônio, 2-ausência de ativação da proteína Gs; 3-defeito do transporte do receptor do citosol para a membrana citoplasmática, 4-ausência ou redução da produção do AMPc (12).

Diferentes mutações inativadoras do LHR foram também descritas em pacientes com micropênis e hipogonadismo hipergonadotrófico, considerados formas leves ou parciais da síndrome clássica de hipoplasia das células de Leydig (4,10,14). O estudo funcional *in vitro* destas mutações evidenciou uma correlação positiva entre a atividade parcial do receptor com o fenótipo menos grave dos pacientes (15).

Na última década descrevemos três mutações inativadoras do LHR em quatro famílias, 3 brasileiras e 1 porto-riquenha, com membros afetados por hipoplasia das células de Leydig. A mutação nonsense Arg554Stop e a microdeleção de dois aminoácidos Leu608 e Val609 foram identificadas em indivíduos 46,XY e falência completa da virilização dos genitais externos. Nestas duas famílias tivemos a oportunidade de descrever de forma inédita o fenótipo de mulheres com cariótipo 46,XX, irmãs de pacientes com hipoplasia das células de Leydig, também portadoras de resistência ao LH (10,11). Estas mulheres com mutações inativadoras do LHR em homozigose apresentam genitália interna e externa feminina normais, desenvolvimento mamário e pubiano adequado (16,17). No entanto, amenorréia primária ou irregularidade menstrual associadas à presença de cistos ovarianos múltiplos e infertilidade foram relatados em todas as pacientes afetadas por esta condição (16,17).

### Heterogeneidade Genética

A heterogeneidade genética da hipoplasia das células de Leydig tem sido recentemente demonstrada pela ausência de mutações na região codificadora do gene do LHR em pacientes com fenótipo típico de hipoplasia das células de Leydig (7,8). Inicialmente, a presença de mutações fora da região codificadora do gene do LHR, tais como nos grandes introns ou na região promotora, foi sugerida para explicar o número reduzido de casos com genótipo esclarecido (8). Alternativamente, o envolvimento de um ou vários novos *loci* foi aventado. Este fato foi ilustrado pelo estudo de um polimorfismo conhecido no intron 11 do gene do LHR, que não segregou entre membros afetados por hipoplasia das células de Ley-

dig em uma família mexicana, indicando o envolvimento de um novo *locus* na etiopatogenia da hipoplasia das células de Leydig (7).

### REFERÊNCIAS

- Berthèze F, Forest MG, Grimaud JA, Claustrat B, Mornex R. Leydig-cell agenesis: a cause of male pseudohermaphroditism. **N Engl J Med** 1976;295:969-72.
- Schwartz M, Imperato-McGinley, Peterson RE, Cooper E, Morris PL, MacGillivray M, et al. Male pseudohermaphroditism secondary to an abnormality in Leydig cell differentiation. **J Clin Endocrinol Metab** 1981;53:123-7.
- Arnhold IJP, Mendonça BB, Bloise W, Toledo SPA. Male pseudohermaphroditism resulting from Leydig cell hypoplasia. **J Pediatr** 1985;106:1057.
- Toledo SPA, Arnhold IJP, Luthold W, Russo EMK, Saldanha PH. Leydig cell hypoplasia determining familial hypergonadotropic hypogonadism. **Prog Clin Biol Res** 1985;200:311-4.
- Saldanha PH, Arnhold IJP, Mendonça BB, Bloise W, Toledo SPA. A clinic-genetic investigation of Leydig cell hypoplasia. **Am J Med Genet** 1987;26:337-44.
- Kremer H, Kraaij R, Toledo SPA, Post M, Fridman JB, Hayashida CY, et al. Male pseudohermaphroditism due to a homozygous missense mutation of the luteinizing hormone receptor gene. **Nat Genet** 1995;9:160-4.
- Zenteno JC, Canto P, Kofman-Alfaro S, Mendez JP. Evidence for genetic heterogeneity in male pseudohermaphroditism due to Leydig cell hypoplasia. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:3803-6.
- Richter-Unruh A, Martens JWM, Verhoef-Post M, Wessels HT, Kors WA, Sinnecker GHG, et al. Leydig cell hypoplasia: cases with new mutations, new polymorphisms and cases without mutations in the luteinizing hormone receptor gene. **Clin Endocrinol** 2002; 56:103-12.
- Minegishi T, Nakamura K, Takakura Y, Miyamoto K, Hasegawa Y, Ibuki Y, et al. Cloning and sequencing of human LH/hCG receptor cDNA. **Biochem Biophys Res Commun** 1990;172:1049-54.
- Latronico AC, Anasti J, Arnhold IJP, Rapaport R, Mendonça BB, Bloise W, et al. Brief Report: Testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone-receptor gene. **N Engl J Med** 1996;334:507-12.
- Latronico AC, Chai Y, Arnhold IJP, Liu X, Mendonça BB, Segaloff DL. A homozygous microdeletion in helix 7 of the luteinizing hormone receptor associated with familial testicular and ovarian resistance is due to both decreased cell expression and impaired effector activation by cell surface receptor. **Mol Endocrinol** 1998;12:442-50.
- Latronico AC, Segaloff DL. Naturally occurring mutations of the luteinizing hormone receptor: lessons learned about reproductive physiology and G protein-coupled receptors. **Am J Hum Genet** 1999;65:949-58.
- Themmen APN, Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors, elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. **Endocr Rev** 2000;21:551-83.
- Grommoll J, Eiholzer U, Nieschlag E, Simoni M. Male hypogonadism caused by homozygous deletion of exon 10 of the luteinizing hormone (LH) receptor: differential action of human chorionic gonadotropin and LH. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:2281-6.
- Martens JW, Verhoef-Post M, Abelin N, Ezabela M, Toledo SP, Brunner HG, et al. A homozygous mutation in the luteinizing hormone receptor causes partial Leydig cell hypoplasia: correlation between activity and phenotype. **Mol Endocrinol** 1998;12:775-84.
- Arnhold IJP, Latronico AC, Batista MC, Izzo CR, Mendonça BB. Clinical features of women with resistance to luteinizing hormone. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1999;51:701-7.
- Arnhold IJ, Latronico AC, Batista MC, Mendonça BB. Menstrual disorders and infertility caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone receptor gene. **Fertil Steril** 1999;71:597-601.

### Endereço para correspondência:

Ana Claudia Latronico  
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 155, 2º andar, Bloco 6  
05403-900 São Paulo, SP  
E-mail: anacl@usp.br