

CARLA CLÁUDIA PAVAN SENN

**SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE ANDROGÊNICA COMPLETA:  
MUTAÇÃO DO GENE DO RECEPTOR ANDROGÊNICO,  
ASPECTOS CLÍNICOS E COMPORTAMENTO SEXUAL  
NUMA GRANDE FAMÍLIA BRASILEIRA.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação - Mestrado em Pediatria, da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Pediatria.

Orientador: Prof. Dr. Bonald C. Figueiredo

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz de Lacerda  
Filho

CURITIBA

2002



## Parecer

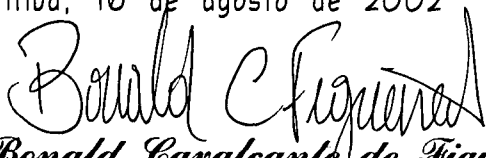
Parecer conjunto dos Professores: *Dr. Ronald Cavalcante de Figueiredo*, *Dr. Gil Guerra Júnior* e a *Dra. Neiva Isabel Rodrigues Magdalena*, sobre a dissertação: "SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE ANDROGÊNICA COMPLETA: MUTAÇÃO DO RECEPTOR ANDROGÊNICO, ASPECTOS CLÍNICOS E COMPORTAMENTO SEXUAL NUMA GRANDE FAMÍLIA BRASILEIRA", nível de Mestrado em Pediatria, da aluna: *Dra. Carla Claudia Pavan Senn*, do Curso de Pós-Graduação - Mestrado em PEDIATRIA da Universidade Federal do Paraná.

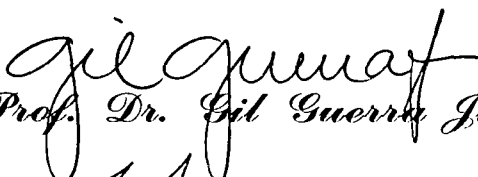
A Comissão Examinadora considerou que a *Dra. Carla Claudia Pavan Senn* apresentou trabalho adequado para a dissertação ao nível de Mestrado em Pediatria e defendeu convenientemente as arguições que lhes foram feitas, atribuindo-lhes as seguintes notas:

<i>Prof. Dr. Ronald Cavalcante de Figueiredo</i>	<i>Nota (100) e Conceito A</i>
<i>Prof. Dr. Gil Guerra Júnior</i>	<i>Nota (100) e Conceito A</i>
<i>Profa. Dra. Neiva Isabel Rodrigues Magdalena</i>	<i>Nota (100) e Conceito A</i>

Tendo a candidata sido aprovada com *Média Final (100) e Conceito A* Sendo, pois unanimemente recomendada à Universidade Federal do Paraná, a concessão de título de "Mestre em Pediatria" e a publicação da dissertação em veículo de divulgação conveniente.

Curitiba, 16 de agosto de 2002

  
*Prof. Dr. Ronald Cavalcante de Figueiredo*

  
*Prof. Dr. Gil Guerra Júnior*

  
*Profa. Dra. Neiva Isabel Rodrigues Magdalena*

*Dedico este trabalho aos meus pais Luiz Carlos e Avany pelo exemplo de vida, apoio constante e amor incondicional. Ao Edson, meu marido, pelo amor, apoio e carinho em todos os momentos.*

## AGRADECIMENTOS

Aos Professores Bonald Cavalcante Figueiredo, MD, PhD, e Luiz de Lacerda Filho, MD, Mestre, pela presença constante em todos os momentos, pelo apoio, pelo incentivo à pesquisa, pelo estímulo constante, pela orientação deste trabalho, pela amizade e, principalmente, pelo exemplo de pessoas e de profissionais dedicados.

Aos Professores Suzana Nesi França, Rosana Marques Pereira, Margaret Boguszewski, Romolo Sandrini Neto, pela amizade, pela confiança e pelos ensinamentos em Endocrinologia Pediátrica.

Aos professores do Departamento de Pediatria, pelos ensinamentos em Pediatria e pela contribuição na formação profissional. Em especial ao Dr. Izrail Cat e ao Dr Mitsuru Miyaki.

Às secretárias do Departamento de Pediatria: Cláudia da Silva Vilela, Maria Bernadete de Oliveira, Andréa Branco Manetti e do curso do Mestrado: Clara Lara de Freitas.

À psicóloga Jandira Kapp Mengarelli pela avaliação psicológica das pacientes e seus familiares e, principalmente, pela ajuda e amizade .

Aos amigos da Unidade de Endocrinologia Pediátrica: a Mestre Ana Alzira Fenalte Streher, a Mestre Lethusa Camacho Fortes, a Mestre Rilene Figueiredo, a Dra. Milene C. Geiger, Dra Daniela Seick, Dra. Silvana O. Leal, Dra. Adriane Cardoso, Dra. Ana Cristina T. Meireles, Dra. Zuleica Izabel Zarabia, a assistente social: Francisca de Lara, as enfermeiras: Dirce Misugi, Mariângela dos Reis Siqueira, Maria de Lourdes Petry, Terezinha de Freitas Oliveira, as secretárias: Neuza M. J. Luz, Vera Lucia Dias, Marli Oshima e a zeladora Alice Santos pelo convívio agradável e pela amizade. Ao meu amigo e dupla na Endocrinologia Pediátrica, o Dr. Fabrício S. Lando, pela amizade e apoio constantes.

Às amigas do Laboratório da Unidade de Endocrinologia Pediátrica: a Mestre Juliana de Moura e a Bióloga Elis Sade, pela ajuda e amizade em muitos momentos.

Aos amigos do curso do Mestrado: o Dr. Eduardo Meisner, a Dra. Joceli Antoniuk, a Dra Mônica Volpato, o Dr. Sérgio Fujimura, a Dra Taísa Simões de Assis Razera, o Dr. Tony T. Tahan pela amizade, companheirismo e incentivo.

Aos Professores do Curso do Mestrado, a Dra Leide P. Marinoni, Dr. Dinarte J. Giraldi, ao Prof.º Luiz Gonzaga Caleffe, a Prof.ª Martha Garcia Gomensore de Sánchez.

À professora Helen T. Hooper, MD, PhD, do Departamento de Antropologia, da Universidade de Durham, Inglaterra, Reino Unido, pela análise molecular realizada, que foi indispensável para este estudo.

Aos professores e médicos do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, em especial ao Dr Mauri J. Piazza e ao Dr Arcélio Teixeira.

A Dra. Flávia K. Shibata, do Departamento de Patologia, Serviço de Medicina Nuclear pelas dosagens hormonais.

Aos professores e médicos do Departamento de Anatomia Patológica, em especial, à Dra. Maria Fernanda Soares e ao Dr Luiz F. B. Torres pela realização do estudo histopatológico das gônadas das pacientes.

Às crianças e a seus familiares, que são o principal motivo da busca de soluções para suas enfermidades.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	ix
<b>RESUMO</b> .....	x
<b>SUMMARY</b> .....	xii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 OBJETIVOS .....	4
1.2 HIPÓTESES .....	5
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	6
2.1 Síndrome de Insensibilidade Androgênica .....	6
2.1.1 Definição .....	6
2.1.2 Incidência .....	7
2.1.3 Diferenciação Gonadal e Genital Fetal .....	7
2.1.4 Descida Testicular .....	10
2.2 RECEPTOR ANDROGÊNICO .....	12
2.2.1 Estudos Genéticos .....	12
2.2.2 Clonagem do Gene do RA .....	13
2.2.3 Estrutura do RA .....	14
2.2.4 Identificação e Caracterização das Mutações do Gene do RA .....	15
2.3 SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE ANDROGÊNICA COMPLETA .....	20
2.3.1 Manifestações Clínicas .....	20
2.3.2 Crescimento e Diferenciação Capilar .....	21
2.3.3 Neoplasia Testicular .....	24
2.3.4 Desenvolvimento Esquelético .....	29
2.3.5 Métodos de Ampliação Vaginal .....	30
2.4 COMPORTAMENTO SEXUAL .....	32
2.4.1 “ <i>Imprinting</i> Cerebral” .....	32
2.4.2 Guias para Orientação da Definição Sexual nos Estados Intersexuais .....	33
2.4.3 Identidade Sexual em Pacientes com CAIS .....	35
<b>3 PACIENTES E MÉTODOS</b> .....	36
3.1 CONSTRUÇÃO DO HEREDOGRAMA .....	37
3.1.1 Caso Índice .....	37
3.1.2 Heredograma .....	37
3.2 ANÁLISE DA MUTAÇÃO .....	40
3.2.1 Desenvolvimento de um Teste de Identificação da Mutação C576F do <i>AR</i> : PCR Alelo-específica .....	40
3.3 DOSAGENS HORMONAIS .....	42
3.4 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DOS TESTÍCULOS .....	42
3.5 MÉTODOS DE AMPLIAÇÃO VAGINAL .....	42
3.6 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA .....	42
3.7 AVALIAÇÃO PSICOLÓGICA .....	43
<b>4 RESULTADOS</b> .....	44
4.1 ANÁLISE DO HEREDOGRAMA .....	44

4.2 ANÁLISE DA MUTAÇÃO DO GENE DO RA.....	44
4.3 ASPECTOS CLÍNICOS .....	47
4.3.1 Dados quanto à Pilificação, , Hérnia Inguinal, Tumores Gonadais e Comprimento da Vagina.....	47
4.3.2 Hérnia Inguinal e Gonadectomia .....	48
4.3.3 Histopatologia das Gônadas .....	49
4.3.4 Densidade Mineral Óssea antes da Gonadectomia.....	50
4.4 MÉTODOS DE AMPLIAÇÃO VAGINAL.....	50
4.5 ASPECTOS SÓCIO-COMPORTAMENTAIS .....	51
4.6 IDENTIDADE SEXUAL.....	52
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>68</b>
ANEXOS.....	69
ANEXO 1 – CARTA DA COMISSÃO DE ÉTICA.....	70
ANEXO 2 – CARTA DE ESCLARECIMENTO .....	72
ANEXO 3 – DECLARAÇÃO DE TERMO DE CONSENTIMENTO.....	74
ANEXO 4 – AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	78

## LISTA DE FIGURAS

1	ETAPAS DA DIFERENCIAÇÃO GONADAL, FOLICULAR E GENITAL.....	9
2	LÓCUS CROMOSSÔMICO DO GENE DO RECEPTOR ANDROGÊNICO E ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DO GENE E DA PROTEÍNA.....	13
3	AÇÃO ANDROGÊNICA MOLECULAR .....	15
4	MUTAÇÕES NO GENE DO RECEPTOR ANDROGÊNICO .....	18
5	HEREDOGRAMA – ÁRVORE FAMILIAR.....	39
6	MUTAÇÃO DO GENE DO RECEPTOR ANDROGÊNICO C576F.....	45
7	DIAGNÓSTICO ATRAVÉS DA PCR ALELO-ESPECÍFICA .....	46
8	MACROSCOPIA DOS TESTÍCULOS .....	49



## LISTA DE TABELAS

1	MUTAÇÕES NA SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE ANDROGÊNICA .....	19
2	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NAS PACIENTES COM CAIS.....	20
3	CLASSIFICAÇÃO DOS TUMORES TESTICULARES.....	25
4	ESTADIAMENTO DOS TUMORES TESTICULARES.....	27
5	DADOS CLÍNICOS DE 10 PACIENTES COM CAIS .....	47
6	IDADE DA GONADECTOMIA, TUMORES TESTICULARES E DMO ANTES DA GONADECTOMIA .....	48
7	MÉTODO DE AMPLIAÇÃO VAGINAL EM 8 PACIENTES COM CAIS.....	50
8	RELATOS DE ESTUDOS DE 8 OU MAIS PACIENTES COM AIS - IDADE DA GONADECTOMIA E PRESENÇA DE TUMORES TESTICULARES.....	58
9	RELATOS DE CASOS DE PACIENTES COM AIS, IDADE DA GONADECTOMIA E AVALIAÇÃO DE TUMORES TESTICULARES .....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS

AIS	- “Androgen Insensitivity Syndrome”
AR	- Gene do Receptor Androgênico
CAIS	- “Complete Androgen Insensitivity Syndrome”
CIS	- Carcinoma <i>in situ</i>
DLA	- Domínio de Ligação ao Androgênio
DLD	- Domínio de Ligação ao DNA
DHT	- Diidrotestosterona
DMO	- Densidade Mineral Óssea
DRT	- Domínio de Regulação da Transcrição
DEXA	- “Dual Energy X-ray Absorptiometry”
ERA	- Elemento Responsivo ao Androgênio
FA-1	- Fator de Ativação - 1
FA-2	- Fator de Ativação - 2
FAP	- Fosfatase Alcalina Placentária
GC	- Gonadotrofina Coriônica
IGF-1	- “Insulin-like Growth Factor – 1”
LH	- Hormônio Luteinizante
MAIS	- “Mild Androgen Insensitivity Syndrome”
MIS	- Substância Inibidora de Müller
PAIS	- “Partial Androgen Insensitivity Syndrome”
PCR	- Reação em Cadeia da Polimerase
RA	- Receptor Androgênico
UF	- Unidades Foliculares

## RESUMO

Síndrome de Insensibilidade Androgênica (AIS) é uma doença causada por mutações no gene do receptor androgênico (AR) ou em coativadores do AR. A apresentação clínica varia desde um fenótipo totalmente masculino até tipicamente feminino com amenorréia primária e pilificação escassa, o último fenótipo é caracterizado como AIS completa (CAIS). OBJETIVOS: O objetivo deste estudo foi identificar a mutação do AR em indivíduos com CAIS e portadores da mesma família e avaliar alguns fatores que ainda são questões de debate: presença de pequena quantidade de pêlos em pacientes com CAIS, época da gonadectomia, método de ampliação vaginal (vaginoplastia cirúrgica ou dilatação mecânica) e comportamento sexual. PACIENTES E MÉTODOS: A partir do caso índice foi realizada análise do heredograma que identificou todos os familiares. As pacientes com CAIS foram diagnosticadas através de dados clínicos e laboratoriais. Seqüenciamento direto de DNA, combinado com ensaio de PCR alelo-específica, identificou-se a mutação do AR. Análises do comportamento sexual foram realizadas a partir de entrevistas com pacientes adultas. RESULTADOS: Dezenove pacientes com CAIS foram identificadas, incluindo 3 pacientes falecidas e 14 carreadoras, distribuídas em 4 gerações. Inicialmente algumas pacientes com CAIS se apresentavam com amenorréia e pilificação sexual secundária ausente ou escassa. Análises subseqüentes revelaram altos níveis de testosterona e cariótipo 46, XY. Dez das 16 pacientes vivas foram totalmente investigadas, três (3/16) não completaram este estudo e 3 (3/16) se recusaram a qualquer participação e foram consideradas como portadoras de CAIS com base em relatos de seus parentes de primeiro grau. Usando o ensaio de PCR alelo-específico, 13 (13/19) pacientes com CAIS e 11 (11/14) mulheres carreadoras foram positivas para a mutação C576F entre 89 indivíduos testados. Esta mutação substitui guanina por timina no nucleotídeo 2089, localizado no éxon 2. As pacientes com CAIS, apresentavam achados similares, tais como genitália externa feminina, amenorréia, ginecomastia e ausência de pilificação sexual secundária. Três das pacientes adultas examinadas (3/8) exibiam pilificação pubiana escassa (Tanner P2) ao invés de ausência completa de pêlos. A gonadectomia foi realizada após a puberdade em 7 pacientes (7/10), sendo encontrados 3 hamartomas e 2 seminomas. Uma das pacientes com seminoma possuía um hamartoma contra-lateral, e a outra possuía o testículo contra-lateral normal que foi extirpado 20 anos após a retirada do seminoma. As duas crianças aguardam a cirurgia de remoção da gônada, e uma das pacientes adultas está providenciando a sua gonadectomia. Duas pacientes optaram por vaginoplastia e 5, por dilatação vaginal mecânica. O tratamento não cirúrgico obteve sucesso em atingir um tamanho razoavelmente esperado da vagina em 4 de 5 pacientes após um período de 2 a 4 anos. A análise do comportamento sexual demonstrou que todas as pacientes com CAIS são completamente femininas, embora houvesse o estigma de possuir uma doença intersexual. CONCLUSÕES: Neste estudo está o maior número de pacientes com CAIS, já relatado, numa mesma família. (1) A mutação encontrada, C576F, é responsável por todos os casos de CAIS na família estudada; (2) alguns indivíduos apresentam, uma variação fenotípica, pilificação pubiana esparsa, sugerindo que um mecanismo independente de androgênios pode influenciar o crescimento dos pêlos; (3) tumores em gônadas foram observados apenas em pacientes adultas, sugerindo que a gonadectomia pode ser adiada para o período pós-puberal; (4) a dilatação vaginal mecânica foi preferida quando comparada com a vaginoplastia cirúrgica; e (5) o comportamento sexual foi completamente feminino, o que é consistente com a idéia de que a falta completa da ação androgênica induz a feminização de indivíduos XY com CAIS.

## SUMMARY

Androgen insensitivity syndrome (AIS) is a disorder whose origins lie in the androgen receptor (AR) or in coactivators of AR. Clinical presentation of AIS ranges from a typically male phenotype to a typically female phenotype with primary amenorrhea and lack of pubic and axillary hair; the latter phenotype is categorized as complete AIS (CAIS). **OBJECTIVE:** The goals of this study were to identify the AR mutation in CAIS individuals and carriers of the same kindred and evaluate some features that are still a matter of debate: presence of small amount of pubic hair in CAIS patients, the best age for gonadectomy, vaginal enlargement (based on surgical vaginoplasty or dilation therapy) and sex behavior. **SUBJECTS and METHODS:** Analysis of the index cases pedigree allowed identification of all family members. Affected members with CAIS were identified based on clinical and laboratory data. Direct DNA sequencing combined with a rapid and reliable allele-specific PCR assay were employed to identify the underlying mutation in the AR gene of all consenting family members through all generations. Sex behavior analysis was based on interviews with each adult patient or parents of children. **RESULTS:** Analysis of the pedigree revealed 19 affected individuals, including 3 deceased patients and 14 carriers. All patients were phenotypically female and distributed throughout four generations and most of the adult patients initially presented with amenorrhea and lack of secondary sexual hair. Subsequent analyses revealed high testosterone levels and a male karyotype. Ten of the 16 alive patients were fully investigated. 3/16 did not complete this investigation and the remaining 3/16 individuals refused any participation and they were considered as CAIS based on reports from their first-degree relatives. Using an allele-specific PCR method, 13/19 CAIS patients and 11/14 carrier women were found positive among 89 tested individuals for a G to T transition at nucleotide 2089, in exon 2 of the AR gene, resulting in CYS 576 PHE. All individuals presented similar findings, such as female external genitalia, female sex behavior, amenorrhea, gynecomastia and absence of facial hair. Three of the patients exhibited sparse (Tanner P2) rather than complete absence of pubic hair. Three hamartomas and 2 seminomas were found in 7 gonadectomized patients. One of the patients with a seminoma had a contralateral hamartoma while the patient with the second seminoma had a normal testis, which was removed during this investigation, 20 years after the seminoma removal. Two individuals elected to have plastic surgery to enlarge the vaginal cavity and 5 had opted for chronic mechanical vaginal dilation. Dilation therapy was successful in reaching the minimal expected size of vagina in 4 of 5 cases. Analysis of sex behavior revealed it to be genuinely feminine in all examined patients, despite stigmatization for having an intersex disorder, sometimes requiring long-term psychological support. **CONCLUSIONS:** We have presented the highest number of CAIS individuals in the same kindred found in the literature and the most important features were: (1) the C576F mutation is responsible for all cases of CAIS; (2) some of the individuals presented at least one different phenotype, sparse pubic hair, suggesting that, a yet unknown androgen-independent mechanism seems to influence hair growth; (3) tumors in gonads were found only among adult patients and had a frequency that was similar to those of previous studies, suggesting that gonadectomy may be postponed to the end of puberty; (4) vaginal dilation was the preferable therapy compared to surgical vaginoplasty; and (5) sex behavior was entirely feminine which is consistent with the idea that complete lack of androgen effect causes feminization of XY individuals.

## 1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Insensibilidade Androgênica (AIS) é uma doença recessiva ligada ao cromossomo X. Os indivíduos 46,XY afetados apresentam resistência parcial ou completa aos androgênios (QUIGLEY *et al.*, 1995; NITSCHKE & HIORT, 2000). A insensibilidade androgênica é decorrente de mutações do *gene do receptor androgênico (AR)* ou do coativador do *AR (ADACHI et al., 2000)*. Após a identificação *AR*, localizado em Xq11–12, mais de 300 mutações foram descritas (GOTTLIEB, 2002, <http://ww2.mcgill.ca/androgendb/AR23C.pdf>).

A apresentação clínica da AIS varia desde um fenótipo completamente masculino, fértil (CHU *et al.*, 2002) com diminuição da pilificação corporal, oligospermia e/ou infertilidade (HIORT *et al.*, 2000) até um fenótipo feminino, com genitália externa feminina, ausência de pilificação pubiana e axilar, amenorréia primária e desenvolvimento mamário normal. O último fenótipo é caracterizado como AIS completa (CAIS). O recém-nascido, com CAIS, tem uma genitália externa feminina, apesar da presença de testículos e de concentrações séricas de androgênios normais ou elevadas, mesmo para um recém-nato com cariótipo 46,XY. Internamente, não há útero devido à secreção da Substância Inibidora de Müller (MIS) pelo testículo fetal, e a vagina é curta. Em mulheres com CAIS, o diagnóstico é suspeitado pela presença de hérnia inguinal, ou, massas inguinais e, em alguns casos, por tumores gonadais, devido à retenção das gônadas (COLLINS *et al.*, 1993; QUIGLEY *et al.*, 1995; CHEN *et al.*, 1999; WYSOCKA *et al.*, 1999).

O risco de malignização das gônadas é maior que 30% aos 50 anos de vida (LEVIN, 2000). Uma decisão que não é unânime, defende a idéia de que a paciente deve manter a gônada até a puberdade para se beneficiar da produção hormonal e apresentar um processo de feminização natural a partir do estrógeno derivado da testosterona (QUIGLEY *et al.*, 1995; LEVIN, 2000). O achado de carcinoma “*in situ*” em gônadas de pacientes pré-púberes com AIS (CASSIO *et al.*, 1990; DIECKMANN & SKAKKEBAEK, 1999) levou a questionamentos sobre a melhor idade para gonadectomia, sendo que, em alguns centros este procedimento é realizado no período pré-puberal (AHMED *et al.*, 2000).

Um fenótipo completamente masculino, com diminuição da pilificação corporal, oligospermia e/ou infertilidade é denominado como AIS moderada (MAIS) (GOTTLIEB, 1999). Fenótipos intermediários com ambigüidade genital são caracterizados como AIS parcial (PAIS). A heterogeneidade dos sintomas está relacionada com o tipo do defeito molecular no gene do RA (AHMED *et al.*, 2000). Entretanto a mesma mutação numa família com PAIS pode causar fenótipos diferentes, sugerindo que fatores adicionais podem modificar o efeito do *AR* mutante (NITSCHKE & HIORT, 2000). Variação fenotípica em famílias com CAIS é muito rara (BOEHMER *et al.*, 2001). RODIEN e colaboradores (1996) descreveram a única família portadora da mesma mutação do *AR*, com indivíduos com CAIS e PAIS, posteriormente se verificou que isto ocorria devido a diferenças encontradas no domínio de transativação do *AR* (KNOKE *et al.*, 1999).

Na AIS que resulta de redução da afinidade de ligação hormonal, o aumento nas concentrações de testosterona exógena pode exercer efeitos variáveis sobre os tecidos alvo. Em outros casos, o defeito molecular está num locus que não permite a atividade do *AR* (ONG *et al.*, 1999).

A determinação do sexo de criação nos estados intersexuais é geralmente baseada na aparência física e funcional da genitália externa. A prática usual para pacientes com CAIS é de que elas sejam consideradas do sexo feminino. Reconsiderações do sexo atribuído, dentro de um contexto social, cultural e familiar dos indivíduos afetados, não é infrequente, e várias sociedades e grupos estão se estabelecendo para oferecer apoio para os indivíduos afetados e suas famílias (MONEY *et al.*, 1968; DIAMOND & SIGMUNDSON, 1997; MIGEON & WISNIEWSKI, 1998; REINER, 1999). Existem controvérsias quanto aos melhores protocolos de tratamento de crianças com intersexo. Isto é devido à falta de informações quanto ao seguimento médico, cirúrgico e psicossocial dos afetados na vida adulta (WISNIEWSKI *et al.*, 2000), levando a necessidade de estudos longitudinais de recém-nascidos com genitália ambígua (REINER, 1999).

Pacientes com CAIS não apresentam um “bias” masculino, visto que eles estão claramente num dos extremos do espectro das malformações dos órgãos sexuais. Entretanto outras variáveis relacionadas com CAIS como a presença do cromossomo Y, testículos e de uma vagina rasa, constituem obstáculos para uma estabilidade psíquica plena destas mulheres (MIGEON & WISNIEWSKI, 1998; WARNE, 1998).

Neste estudo há a oportunidade incomum de serem analisados aspectos clínicos e moleculares de pacientes com CAIS, crianças e adultas, numa grande família composta de mais de 700 membros, distribuídos em 4 gerações. Um aspecto incomum é que a família se manteve isolada até recentemente. Quando os sintomas de amenorréia, pilificação escassa e infertilidade motivaram a busca do conhecimento sobre bases clínicas das queixas das pacientes, a família rompeu este isolamento.

## 1.1 OBJETIVOS

1) Distinguir, numa família, as pacientes com CAIS e portadoras com a finalidade de fornecer aconselhamento genético às portadoras e tratamento para aquelas com CAIS;

- 2) identificar a mutação do gene do receptor androgênico;
- 3) avaliar o fenótipo das pacientes com CAIS quanto à presença ou não de pêlos;
- 4) verificar, nesta análise de casos, juntamente com dados da literatura, se há indicação formal de gonadectomia antes da puberdade completa;
- 5) comparar os benefícios da dilatação mecânica da vagina *versus* dilatação cirúrgica; e
- 6) verificar a aceitação do sexo social, e como é o comportamento sexual das pacientes com CAIS.



## 1.2 HIPÓTESES

- 1) Pacientes com CAIS da mesma família e com a mesma mutação do *AR* podem apresentar algum grau de variação de determinado fenótipo.
- 2) O maior risco de malignização da gônada intra-abdominal, as repercussões psicológicas de uma gonadectomia no período pós-puberal, quando a paciente pode entender e questionar sua doença, não são suficientes para convencer a maior parte dos médicos e familiares a decidirem por uma gonadectomia mais precoce.
- 3) As pacientes com CAIS apresentam comportamento sexual completamente feminino.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE ANDROGÊNICA

#### 2.1.1 Definição

A AIS é uma doença causada por mutações no *AR*, que é único e localizado no cromossomo X. Recentemente foi descrita uma mutação num coativador do *AR* que interage com o domínio de transativação do *AR* (ADACHI *et al.*, 2000), causando AIS com receptor androgênico (RA) íntegro. Os indivíduos 46,XY afetados apresentam resposta parcial ou resistência completa à testosterona e ao seu metabólito diidrotestosterona (DHT). A análise molecular do *AR* revelou que suas mutações são de vários tipos e gravidades, formando um “espectro contínuo” com fenótipos desde completamente femininos até completamente masculinos. Este último é categorizado como AIS moderada (MAIS) na qual os indivíduos afetados apresentam infertilidade ou azospermia (GOTTLIEB, 1999, NISTICHE & HIORT, 2000). Genitália ambígua, micropênis, ginecomastia e/ou hipospádia caracterizam AIS parcial (PAIS), que é considerada a causa mais comum de pseudohermafroditismo masculino (QUIGLEY *et al.*, 1995).

GRIFFIN e colaboradores (1995) definem CAIS como indivíduos que apresentam genitália externa completamente feminina, pilificação pubiana e axilar esparsa e ausência de derivados dos ductos de Wolff (GRIFFIN *et al.*, 1995). QUIGLEY e colaboradores (1995) definem CAIS como indivíduos que apresentam genitália externa completamente feminina, com pilificação pubiana e axilar ausente, todavia, podem ser encontrados derivados dos ductos de Wolff. A presença de qualquer quantidade de pilificação pubiana é uma evidência de algum grau de resposta androgênica e, portanto, se classifica como PAIS. Na classificação de SINNECKER e colaboradores (1997), pacientes com CAIS têm fenótipo feminino com pilificação pubiana e axilar esparsa ou ausência de estruturas dependentes de androgênios.

BOEHMER e colaboradores (2001) descrevem CAIS como abolição completa da função do receptor androgênico num paciente 46,XY adulto com genitália externa feminina, pilificação pubiana ausente ou esparsa, incluindo Tanner P2. Vestígios dos ductos de Wolff podem ser encontrados. PAIS é definida como adultos com considerável quantidade de pilificação pubiana (P3–5), com genitália externa feminina ou mais virilizada.

Neste estudo utilizamos a definição de SINNECKER e colaboradores (1999), na qual pacientes com CAIS têm um fenótipo feminino com pilificação pubiana e axilar esparsa ou ausentes.

### 2.1.2 Incidência

CAIS é uma doença rara, acomete 1:20.000 recém-nascidos masculinos (BANGSBOLL *et al.*, 1992). A incidência de AIS nos Países Baixos é de 1:99.000 (BOEHMER *et al.*, 2001). Segundo GOTTLIEB e colaboradores (1999), a taxa é de 2 a 5 afetados por 100.000 nascimentos.

### 2.1.3 Diferenciação Gonadal e Genital Fetal

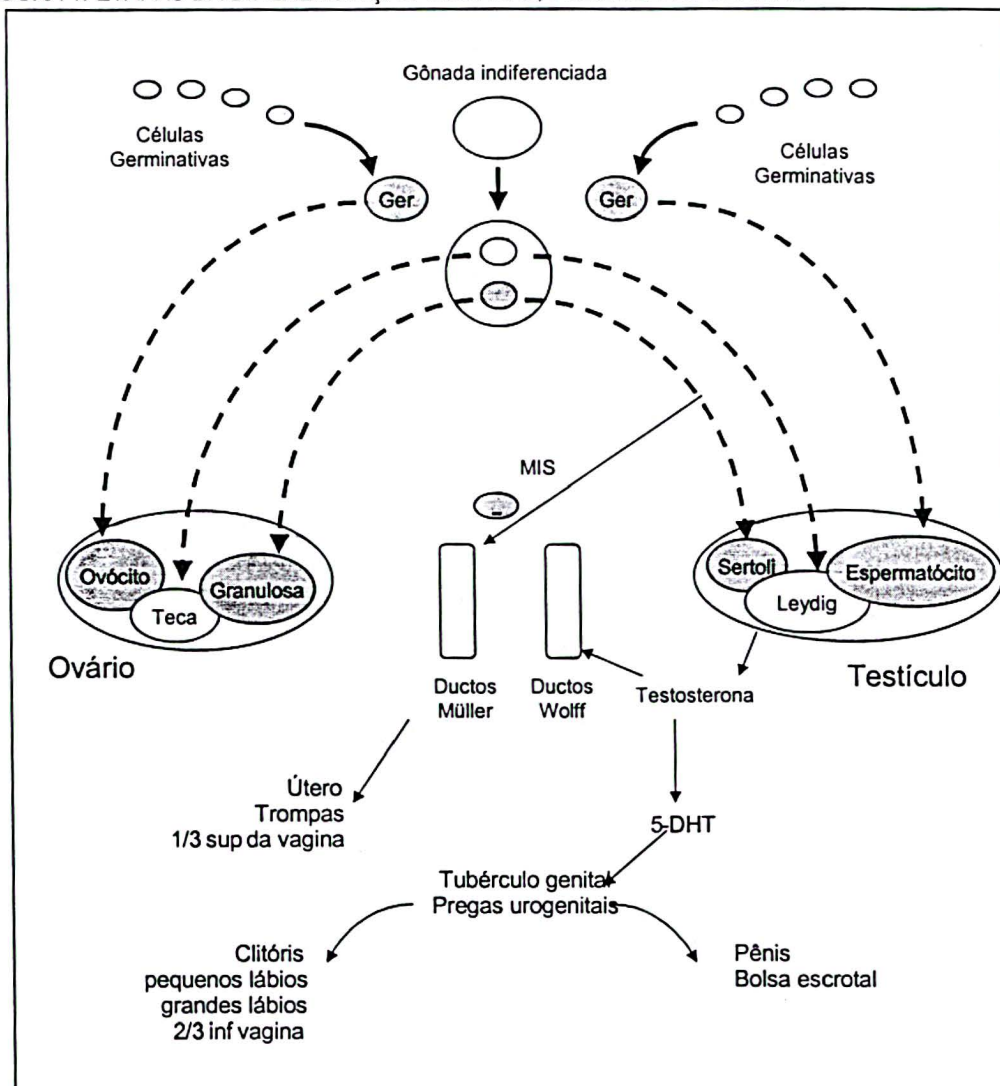
A maioria dos eventos da embriogênese é normal no feto com AIS; entretanto os processos que são dependentes de androgênios sofrem alterações. Tais processos incluem a diferenciação e o desenvolvimento da genitália interna (epidídimo, ductos espermáticos e glândulas sexuais acessórias), da genitália externa e da descida testicular.

O desenvolvimento testicular ocorre normalmente no feto com AIS (BALE *et al.*, 1992). Entretanto estudos histopatológicos das gônadas de pacientes mais velhos com AIS demonstraram a presença ocasional de espermatogônias no período peripuberal, e nenhuma célula germinativa em adultos afetados (RUTGERS & SCULLY, 1991), sugerindo um declínio progressivo do número de células germinativas com o avanço da idade.

Espermatócitos e células germinativas mais maduras não estão presentes em todas as idades. Estes achados provavelmente refletem a necessidade de androgênios para a espermatogênese e mostram que, a exposição a temperaturas elevadas em regiões fora da bolsa escrotal, altera o desenvolvimento dos espermatócitos. Outros eventos ocorrem normalmente e parecem ser androgênio independentes, entre eles a atividade secretora das células de Leydig e de Sertoli. A secreção fetal de testosterona é normal, quando em resposta ao estímulo da gonadotrofina coriônica materna ou do LH fetal. Estes dados indicam que a responsividade androgênica não é necessária para a regulação da função do receptor de gonadotrofina coriônica ou de LH ou para a secreção de androgênios *in útero* (QUIGLEY *et al.*, 1995).

Apesar dos níveis normais ou aumentados de testosterona secretada pelas células de Leydig durante o período de diferenciação masculina, há interrupção do desenvolvimento dos derivados dos ductos de Wolff. O desenvolvimento destas estruturas é primariamente dependente da testosterona (FIGURA 1). Externamente, as pregas labioescrotais falham na fusão e no alargamento necessários para formar o escroto, não há crescimento fálico, e a uretra fállica está ausente ou incompletamente formada. O desenvolvimento da genitália externa é dependente principalmente da DHT.

FIGURA 1: ETAPAS DA DIFERENCIAÇÃO GONADAL, FOLICULAR E GENITAL



As cristas urogenitais dão origem às gônadas indiferenciadas e parte do sistema urinário. Na sexta semana, as células germinativas migram do saco vitelínico e invadem os cordões primitivos das gônadas indiferenciadas. Estas, por sua vez, iniciam sua diferenciação entre a sétima e oitava semana da gestação, e, por volta da décima semana, os ovários se tomam distintos dos testículos que se desenvolvem mais precocemente. Os cordões localizados na parte cortical da gônada indiferenciada, juntamente com as células germinativas, vão formar os folículos primordiais que aumentam de tamanho e se multiplicam antes do nascimento. Os cordões da parte medular vão formar os túbulos seminíferos cujas paredes são formadas pelas células de Sertoli e pelas células germinativas. As células de Leydig começam a produzir testosterona na oitava semana de gestação. Na ausência de testosterona, os ductos de Wolff regredem. Na ausência de MIS, secretado pelas células de Sertoli, há o desenvolvimento dos ductos de Müller com a formação das estruturas internas femininas – trompas de Falópio, útero, cervix, e 1/3 superior da vagina. As estruturas genitais internas masculinas, derivadas dos ductos de Wolff, incluem o epidídimo, ducto deferente, ductos ejaculatórios e túbulos seminíferos. As estruturas da genitália externa são bipotenciais no início da gestação, e a diferenciação ocorre conforme os níveis de androgênicos, sendo o mais importante a  $5\alpha$ -diidrotestosterona, a qual deve interagir com um receptor androgênico íntegro.

FONTE: PAVAN-SENN & FIGUEIREDO, 2002, *in press*.

A produção da MIS pela célula de Sertoli *in* útero é provavelmente normal na maioria dos indivíduos com AIS, pois eles apresentam níveis normais de MIS (HARBISON *et al.*, 1991) e regressão quase completa dos ductos de Müller, os quais de outra forma dariam origem ao útero, às trompas de Falópio e ao terço superior da vagina. Entretanto, em alguns pacientes, não há regressão completa dos ductos de Müller (RUTGERS & SCULLY, 1991). Uma hipótese para explicar estes achados seria aquela de que a alta concentração local de estrogênios provenientes da conversão de testosterona em estrogênio interferiria na regressão dos ductos de Müller (ULLOA-AGUIRRE *et al.*, 1990). Além disto, o RNAm para o receptor do MIS é regulado pelo RA (BAARENDS *et al.*, 1994). Conseqüentemente, defeitos no RA podem resultar numa deficiência secundária parcial do receptor do hormônio MIS e regressão incompleta dos ductos de Müller.

Na formação testicular estão envolvidos 3 tipos celulares principais:

- 1) células germinativas, que são derivadas de células primitivas ectodérmicas e que são inicialmente identificadas no saco vitelínico,
- 2) células de Leydig e Sertoli que são derivadas do epitélio celômico da crista gonadal, e
- 3) células intersticiais que são derivadas do mesenquima da crista gonadal.

As células germinativas primordiais são reconhecidas pelo seu tamanho, pela atividade de fosfatase alcalina e pelo conteúdo de glicogênio e podem ser identificadas no blastocisto aos 4–5 dias de vida.

#### 2.1.4 Descida Testicular

Em pacientes com AIS, a descida dos testículos ocorre em graus diferentes, eles podem estar localizados em qualquer local entre a cavidade abdominal até as formações lábio escrotais. HUTSON (1986), examinando a localização dos testículos em 16 crianças com AIS e 2 com deficiência de androgênios, encontrou que 35 de 36 testículos estavam na altura do anel inguinal. Com base neste resultado, ele sugere que a fase de descida testicular transabdominal não seja dependente de androgênios, enquanto a segunda fase (transinguinal) seja dependente de androgênios.

BARTHOLD e colaboradores (2000) demonstraram que a incidência de gônadas intra-abdominais era maior nas pacientes com CAIS (86%) sugerindo que quanto mais completa for a resistência androgênica, maior é a probabilidade da gônada permanecer dentro da cavidade abdominal. Esta incidência diminui significativamente com a androgenização. Hérnia inguinal está associada tanto com testículos abdominais, como inguinais.

## 2.2 RECEPTOR ANDROGÊNICO

### 2.2.1 Estudos Genéticos

A natureza da herança da AIS foi inicialmente descrita por PETERSON & BONNIER, em 1937 (citados por QUIGLEY *et al.*, 1995). Estes autores realizaram estudos clínicos e patológicos de indivíduos afetados em três gerações de uma família e deduziram que eles eram, na verdade, geneticamente masculinos. Os mesmos autores também determinaram, através de uma revisão de seis famílias relatadas na literatura, que a anormalidade era transmitida apenas por mulheres. GRUMBACH & BARR, em 1958 (citados por QUIGLEY *et al.*, 1995), concluíram que a doença era herdada de uma forma recessiva ligada ao cromossomo X ou dominante ligada ao X. MORRIS & MAHESH, em 1963 (citados por QUIGLEY *et al.*, 1995), subsequentemente notaram que as formas parcial e completa da síndrome não ocorriam na mesma família.

Em 1970, estudos genéticos do camundongo *Tfm* (camundongo com testículos, fenótipo feminino e uma vagina em fundo cego – resistente aos androgênios) estabeleceram a localização do locus *Tfm* no cromossomo X (LYON & HAWKES, 1970). Em 1981, MIGEÓN e colaboradores demonstraram, por análise de células contendo cromossomos híbridos de humanos e de camundongos, que o locus para a AIS no homem era homólogo ao do camundongo. Por analogia, a condição humana de AIS foi atribuída a um locus ligado ao cromossomo X.

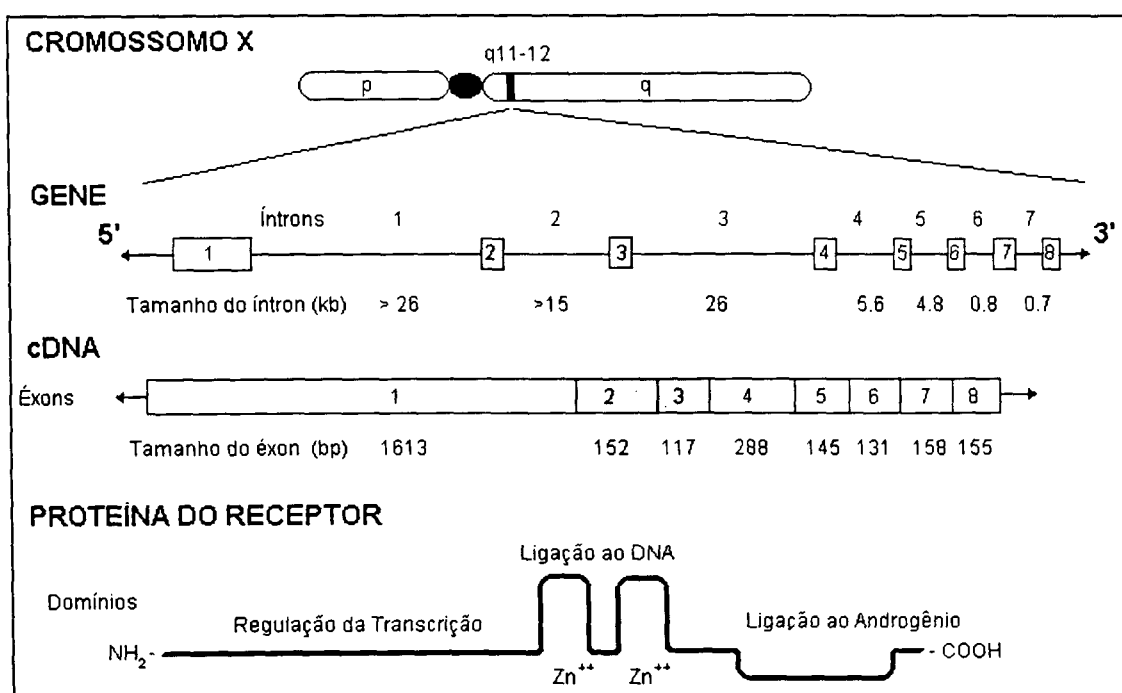
SPENCER e colaboradores (1991) demonstraram que o gene do RA está localizado numa região altamente conservada do cromossomo X em marsupiais, monotremados e mamíferos. Estes achados indicam uma região do cromossomo X que apresenta um antecessor comum de 150 milhões de anos atrás, sendo uma região com marcada conservação durante a evolução das espécies.



## 2.2.2 Clonagem do Gene do RA

O DNA complementar (cDNA) do AR humano foi clonado em 1988 por LUBHAN e colaboradores. O gene do RA está localizado no braço longo do cromossomo X (FIGURA 2), em Xq11-12 (MAHTANI *et al.*, 1991). A sequência de introns e exons do gene do RA humano foi descrita em 1989 (LUBHAN *et al.*, 1989) e, com esta informação e o advento da reação em cadeia da polimerase (PCR), houve uma rápida evolução no entendimento das bases moleculares da AIS.

FIGURA 2 – LÓCUS CROMOSSÔMICO DO GENE DO RECEPTOR ANDROGÊNICO E ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DO GENE E DA PROTEÍNA



O gene do RA está localizado na região pericêntrica do braço longo do cromossomo X em Xq11-12. Este gene tem uma extensão de 75 – 90 kb de DNA genômico, com oito exons (números dentro dos retângulos) sendo separados por sete introns (números acima do diagrama) variando de 0,7 até 26 kb em tamanho. O tamanho dos introns é dado sob o diagrama do gene. O DNA complementar do AR consiste de uma região codificadora de aproximadamente 2760 bp. O tamanho dos exons é dado sob o diagrama do cDNA. Exon 1 codifica a porção aminoterminal, domínio de regulação da transcrição (DRT); exons 2 e 3 codificam o domínio de ligação ao DNA (DLD), o lado 5' do exon 4 codifica a região "dobradiça", incluindo a sinalização alvo nuclear, a porção 3' do exon 4 e dos exons 5 ao 8 codificam o domínio de ligação ao androgênio (DLA). Em baixo está a representação esquemática da proteína do RA. Os principais domínios funcionais do RA são da esquerda para a direita: DRT (aminoterminal), DLD, que consiste de um par de dedos de zinco, contendo a sequência alvo nuclear e o DLA.

FONTE: Figura modificada de QUIGLEY *et al.*, 1995.

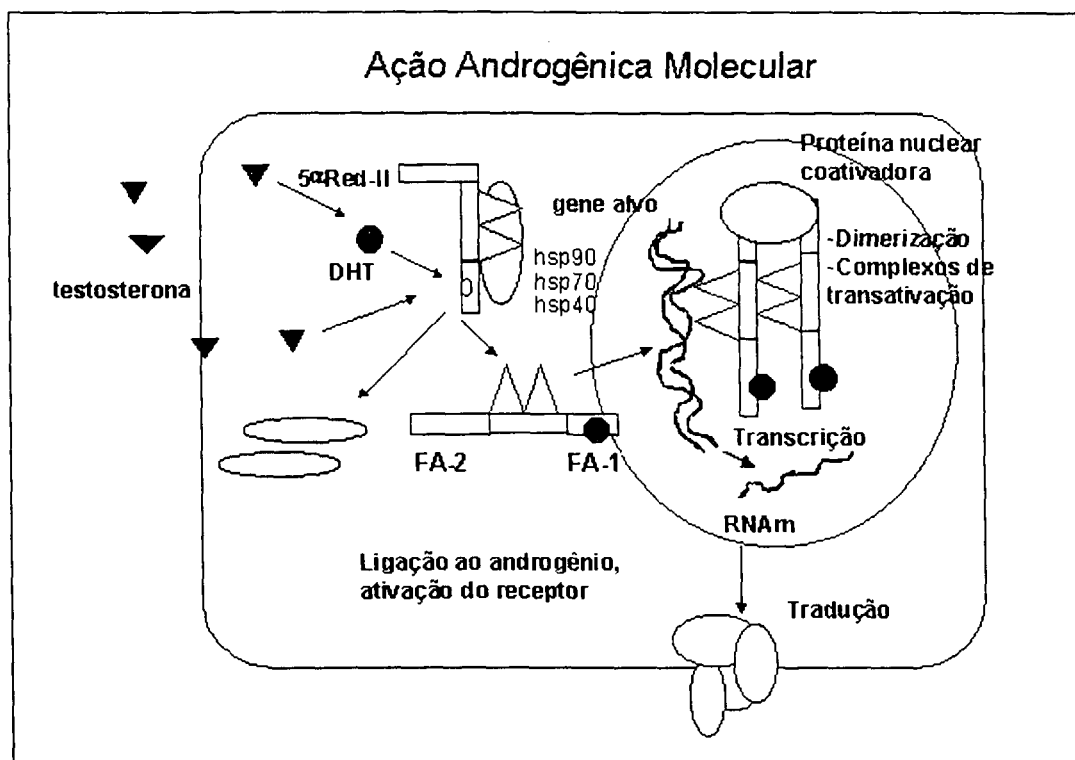
### 2.2.3 Estrutura do RA

O RA é uma proteína intracelular de 910 aminoácidos que pertence à família do receptor esteróide, na qual se incluem os receptores estrogênicos  $\alpha$  e  $\beta$ , os receptores mineralo e glicocorticóides, o receptor do hormônio tireoidiano e o receptor da vitamina D. Todos os receptores hormonais mencionados têm em comum 3 domínios funcionais: Domínio de regulação da transcrição (DRT), domínio de ligação ao DNA (DLD), domínio de ligação ao androgênio (DLA) (FIGURA 2).

A porção 5' do exón 4 assume um papel importante na dimerização de monômeros, formando o complexo andrógeno-receptor (FIGURA 3) que é translocado do citoplasma para o núcleo, juntamente com proteínas co-ativadoras. Os coativadores que interagem com a região de transativação do domínio aminoterminal (onde está localizado o Fator de Ativação-2: FA-2) não são específicos, pois podem interagir com múltiplos receptores nucleares (HORWITZ *et al.*, 1996). Os coativadores que aumentam a transativação da região FA-2 do AR, são: p300, proteína associada ao RA<sub>70</sub> (ARA<sub>70</sub>), coativador 1 e o fator de transcrição intermediário 2 (YEH & CHANG, 1996; IKONEN *et al.*, 1997; AARNISALO *et al.*, 1998; ALEN *et al.*, 1999). Estas proteínas formam os complexos pré-iniciadores, os quais se ligam com seqüências específicas no DNA, na região promotora dos genes (NITSCHKE & HIORT, 2000).

Recentemente foi descrito um coativador indispensável para a transferência do sinal da região de transativação do DLA para a maquinaria genética. Este coativador é específico para a região do DLA chamada de Fator de Ativação-1 (FA-1) (ADACHI *et al.*, 2000).

FIGURA 3 – AÇÃO ANDROGÊNICA MOLECULAR



A testosterona penetra na célula alvo e é parcialmente convertida em DHT. Ambos os esteróides ligam-se ao RA, cujos complexos são translocados para o núcleo, dimerizam-se, formam complexos de transativação com outras proteínas co-ativadoras e se ligam aos elementos responsivos do DNA alvo para regular a transcrição e tradução de RNAm para proteínas. FA-1 (Fator de Ativação-1) se localiza na região de ligação ao androgênio e FA-2 (Fator de Ativação-2) se localiza no domínio de regulação da transcrição.  
 FONTE: Figura modificada de NITSCHÉ & HIORT, 2000

#### 2.2.4 Identificação e Caracterização das Mutações do Gene do RA

Avaliações da função do RA foram feitas através de estudos do domínio de ligação ao androgênio em cultura de fibroblastos de pele genital de pacientes com AIS em comparação com controles normais. Este método oferece uma estimativa quantitativa bem como qualitativa do DLA do AR. Estes estudos foram muito válidos em seu tempo, entretanto eles necessitam de uma biópsia da pele genital, são laboriosos, demorados e oferecem pouca informação a respeito do defeito molecular do AR (QUIGLEY *et al.*, 1995). Em 1988 com a clonagem do AR (LUBAHN *et al.*, 1988) foram abertas as possibilidades de identificação de mutações através de vários métodos.

O produto do gene do RA pode apresentar um comprimento variado pelo fato do domínio aminoterminal conter 2 polímeros homólogos de aminoácidos que são polimórficos em tamanho. Um é a poliglutamida, que varia de 9 até 36 aminoácidos (ANDREW *et al.*, 1997), o outro é a poliglicina que varia desde 10 até 31 (LUMBROSO *et al.*, 1997). Esta possibilidade de variação na porção aminoterminal justifica ter predomínio de MAIS e PAIS em mutações de substituição de 1 aminoácido (mutação de ponto) no DRT, enquanto que na CAIS há predomínio de mutação de ponto no domínio carboxiterminal e na região de ligação ao DNA (NITSCHKE & HIORT, 2000). Quase todas as mutações que geram proteínas truncadas resultam em CAIS (FIGURA 4).

Mais de 200 mutações diferentes (FIGURA 4) associadas com AIS foram descritas nos exons 2 ao 8 e apenas 23 no exon 1 (GOTTLIEB *et al.*, 1999), apesar do exon 1 codificar uma grande parte da proteína do RA (toda porção aminoterminal). O DLA possui uma região que é considerada “hot spot”, isto é um local onde ocorre grande frequência de mutações causando AIS (GOTTLIEB *et al.*, 1999, MELO *et al.*, 1999).

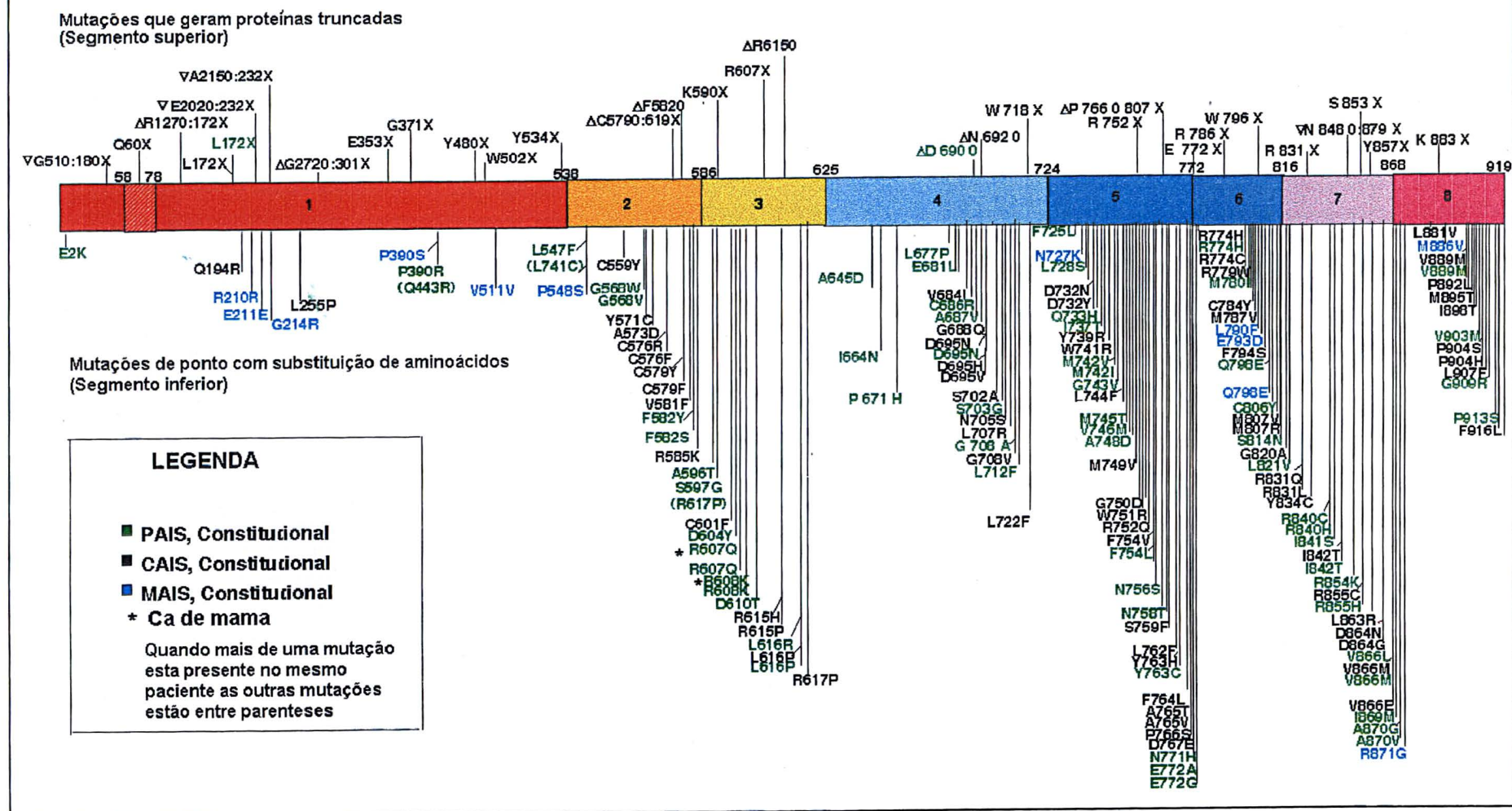
Os resultados obtidos ofereceram informação quanto ao tipo da mutação. Uma única mutação pode resultar num “*codon de parada*” ao invés de codificar um aminoácido e, conseqüentemente, causar uma parada prematura na síntese protéica (proteína truncada). Como a proteína é sintetizada do aminoterminal (DRT) ao carboxiterminal (DLA), uma proteína truncada poderia provavelmente perder o DLA ou ambos DLA e DLD. Uma mutação de ponto pode também causar uma troca de um aminoácido, gerando uma proteína com estrutura alterada. Deleções e inserções podem resultar em “*mudança da matriz de leitura*”, ou seja, mudança em toda seqüência de aminoácidos além da mutação. Uma mutação do tipo “*processamento do DNA*” também causaria o mesmo efeito (HELLWINKEL *et al.*, 1999). Além do dano qualitativo da proteína do AR que sofreu a mutação, há evidências de que em muitas mutações a expressão do gene da proteína mutada do RA também está reduzida (McINTOSH *et al.*, 1993).

Algumas mutações podem apresentar expressividade variável (i.e., mutação R855H e V866H na FIGURA 4). A explicação tradicional para tal variedade de expressão da mutação do *AR* é o nível de competência das proteínas co-reguladoras (PINSKY *et al.*, 1996; RODIEN *et al.*, 1996; BOEHMER *et al.*, 1997). Recentemente, entretanto, avaliou-se que um mosaïcismo somático pode ser a causa da variação da expressão do *AR* (BOEHMER *et al.*, 1997; HOLTERHUS *et al.*, 1997). Num dos estudos, três de oito pacientes com mutações *de novo* apresentavam a mutação apenas numa fração de células somáticas (HIORT *et al.*, 1998).

Para caracterização adicional do *AR* mutante são aplicadas técnicas de co-transfecção. Uma linhagem celular sêm o *AR* é *transfectada* com um vetor que leva o *AR* que sofreu a mutação, e com um segundo plasmídeo, contendo um gene *reporter* apropriado que pode ser ativado por um elemento responsivo ao androgênio (ERA) localizado na região promotora do gene. Quando o *AR* está sendo expresso na presença do ligante, o grau em que o gene *reporter* é ativado é dependente do grau da função do RA. Esta técnica é muito boa, porém apresenta limitações claras. O *AR* nestes sistemas é hiper expresso e disponível em maiores concentrações do que *in vivo*. Além disso há um grande número de passos necessários para a função do *AR in vivo*, tal como translocação da molécula para dentro do núcleo, ligação com fatores de transcrição com diferente regulação gênica, e a investigação ocorre *in vitro*. Outro experimento é com a transfecção de fibroblastos de região genital com um plasmídeo levando um gene *repórter* e um ERA na região promotora. Em pacientes com CAIS, a ativação do gene *repórter* foi extremamente baixa, enquanto nos controles normais foi significativa. Usando este método o grau de função do *AR* em pacientes com CAIS e com PAIS pode ser analisado (McPHAUL, 1999).

A maioria das mutações encontradas no *AR* está localizada entre os 5 exons que codificam o domínio de ligação androgênico, particularmente nos exons 5 e 7. Mais comumente as mutações de ponto no *AR* resultam na substituição de um único aminoácido. Mutações nos exons 2 e 3, que codificam o DLD, causam AIS com “RA-positivo”, isto é, o receptor pode se ligar ao esteróide, mas não ao DNA.

FIGURA - 4 - MUTAÇÕES NO GENE DO RECEPTOR ANDROGÊNICO



Esta figura demonstra uma distribuição desigual das mutações ao longo do RA. As letras que codificam os aminoácidos são: A, alanina; C, cisteína; D, ácido aspartico; E, ácido glutâmico; F, fenilalanina; G, glicina; H, histidina; I, isoleucina; K, lisina; L, leucina; M, metionina; N, asparagina; P, prolina; Q, glutamina; R, arginina; S, serina; T, treonina; V, valina; W, triptofano; Y, tirosina.

FONTE: Figura modificada de GOTTLIEB, 2002, <http://ww2.mcgill.ca/androgendb/AR23C.pdf>

Na figura 4 estão todas as mutações que geraram proteínas truncadas (descritas na parte superior da ilustração), e na parte inferior, as mutações de ponto no gene do RA que têm sido descritas como causadoras de CAIS, PAIS e MAIS (GOTTELIEB *et al.*, 1999). Esta figura apresenta 230 mutações diferentes causando AIS em mais de 440 pacientes com AIS. Na tabela 1 estão todas as mutações no *AR* descritas. As deleções geralmente, mas nem sempre, vão produzir CAIS. Mutações de ponto podem causar tanto PAIS, como CAIS.

TABELA 1 – MUTAÇÕES NA SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE ANDROGÊNICA

Tipo	Fenótipo	Número de Mutações
Mutações de ponto: mudança de 1 base com substituição de um único aminoácido	CAIS	134
	PAIS	104
	MAIS	10
	Normal	04
Substituições de vários aminoácidos	CAIS	02
	CAIS	05
Substituição do sítio de "splicing"	PAIS	01
	CAIS	01
Inserção no sítio de "splicing"	CAIS	01
Substituição de intron	CAIS	01
Códons com terminação prematura	CAIS	22
	PAIS	01
<b>Total</b>		<b>285</b>
<b>Defeitos estruturais</b>		
Deleções gênicas completas	CAIS	03
Deleções gênicas parciais	CAIS	08
	MAIS	01
Deleções 1- a 4-bp	CAIS	06
Deleções de introns	PAIS	01
Deleção do sítio de "splicing"	CAIS	01
Inserções	CAIS	04
Inserções (variáveis)	Sd. Kennedy	01
Duplicações de base	CAIS	01
<b>Total</b>		<b>26</b>
<b>Total Geral</b>		<b>311</b>

FONTE: GOTTLIEB *et al.*, 1999.

Estudos moleculares com AIS permitiram avanços clínicos. O primeiro é a identificação de mulheres portadoras nas famílias em que a mutação foi completamente caracterizada (QUIGLEY *et al.*, 1995). As mulheres portadoras da mutação do *AR* podem solicitar triagem neonatal através de biópsia de vilosidade coriônica para detectar a presença da mutação e do cromossomo Y (LOBACCARO *et al.*, 1994).

## 2.3 SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE ANDROGÊNICA COMPLETA

### 2.3.1 Manifestações Clínicas

Na tabela 2, estão relacionadas as características clínicas encontradas nas pacientes com CAIS. O diagnóstico de CAIS é variável de acordo com as fases da vida. Poucos indivíduos são diagnosticados antes ou logo após o nascimento. A suspeita diagnóstica resulta do achado discrepante de um cariótipo 46,XY, através de amniocentese, e um fenótipo feminino no exame de ultra-som ou ao nascimento (STEPHENS *et al.*, 1984). Se houver história familiar, o nascimento de uma criança com fenótipo feminino e cariótipo 46,XY devem suscitar o diagnóstico de CAIS.

TABELA 2 – MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NAS PACIENTES COM CAIS

-	Fenótipo feminino
-	Genitália Externa Feminina
-	Hérnia inguinal (pode ou não estar presente)
-	Gônadas palpáveis em canal inguinal (com queixa de dor) ou impalpáveis (gônadas intra-abdominais)
-	Pilificação pubiana ausente ou esparsa (na puberdade)
-	Odor corporal: diminuído ou ausente
-	Pele livre de comedões e acne, e menos oleosa
-	Desenvolvimento mamário: observado no período puberal em pacientes não gonadectomizadas
-	Amenorréia primária: vagina curta em fundo cego, sem útero e na maioria das vezes sem trompas e sem derivados de Wolff.
-	Tumores testiculares

Durante a infância, o sinal mais comum é o desenvolvimento de hérnia inguinal, frequentemente bilateral. Estimativas da prevalência de AIS em meninas com hérnia inguinal são difíceis de interpretar. Em estudos realizados nos anos 60 e 70 as taxas de prevalência foram tão baixas quanto 0/32 (GERMAN *et al.*, 1973) e 0,8% [1/200 (JANIELLO & ATWELL, 1962)], até tão altas quanto 12% [2/17 (PERGAMENT *et al.*, 1973)]. GRUMBACH & CONTE (1991) estimaram a prevalência de AIS em meninas com hérnia inguinal em 1–2%. Entretanto, num estudo realizado por AHMED e colaboradores (2000), 28/72 (39%) casos de CAIS se apresentaram com hérnia inguinal bilateral e 20/72 (28%), com hérnia inguinal unilateral.



A genitália externa das pacientes com CAIS é feminina, sem ambigüidade, algumas vezes com pouco desenvolvimento do clitóris e dos grandes e pequenos lábios (um sinal mais evidente após a puberdade), com ausência de pubarca (QUIGLEY *et al.*, 1995), ou pode apresentar um estágio Tanner 2 (GRIFFIN *et al.*, 1995; BOEHMER *et al.*, 2001). A vagina é em fundo cego (a qual pode ser curta ou menos freqüentemente, de profundidade normal) e não há útero. RUTGERS & SCULLY (1991) encontraram derivados de Müller, tais como trompas de Falópio diminutas em um terço dos casos de CAIS, cujos dados são similares aos de BALE e colaboradores (1992). Remanescentes das estruturas de Wolff, tais como ductos deferentes ou epidídimos, também podem, raramente, ser encontrados (MORRIS, 1953).

A maioria das pacientes não suspeita da doença até a puberdade, quando, apesar do desenvolvimento mamário normal ou aumentado, não há menarca, e a pilificação axilar e pubiana é esparsa ou ausente (QUIGLEY *et al.*, 1995; GOTTLIEB *et al.*, 1999). A pele é livre de acne. O desenvolvimento mamário e a feminização do contorno corporal ocorrem em resposta ao estrogênio (produzido principalmente pelos testículos e, em menor quantidade, pela aromatização periférica dos androgênios).

### 2.3.2 Crescimento e Diferenciação Capilar

Há aproximadamente 50 milhões de folículos pilosos cobrindo o corpo, dos quais 100.000 a 150.000 estão no couro cabeludo, e os demais estão no corpo e na face. As únicas áreas livres de folículos capilares são as palmas das mãos, as plantas dos pés e os lábios. Há pouca nova formação de folículos após o nascimento e o número tende a diminuir após os 40 anos (AZZIZ *et al.*, 2000). O cabelo é composto de proteínas de queratina, as quais formam a sua haste. A raiz do cabelo é parte da epiderme. Estruturalmente há 3 tipos de cabelos: “lanugo”, “velus” e “terminal”. “Lanugo” é um cabelo fino que cobre a pele do feto até o primeiro ou quarto mês pós-parto. Cabelo “velus” é também um cabelo fino, porém maior do que o lanugo. Usualmente o cabelo “velus” não é pigmentado, geralmente medindo menos do que 2 mm de comprimento e cobrindo as áreas aparentemente sem cabelos do corpo.

Histologicamente o cabelo “velus” não ultrapassa 0,03 mm de diâmetro. O cabelo “terminal” é maior, pigmentado e grosso em textura. Este cabelo terminal forma os cílios, sobrancelhas, pêlos do púbis e das axilas em ambos os sexos e forma muitos pêlos faciais e corporais dos homens (UNO, 1986). Os cabelos terminais são freqüentemente descritos como medulares. A medula do folículo capilar é a área interna do cabelo terminal e é composta de proteínas colapsadas, embora a composição exata desta área se mantenha controversa. O pequeno lanugo e o cabelo velus são considerados não medulares.

Na pele, os folículos pilosos formam grupos, chamados de unidades foliculares (UF). Cada UF consiste de aproximadamente de 2 ou 4 folículos entre as glândulas sebáceas e o tecido conectivo (HEADINGTON, 1984). A concentração de UF na pele, pelo menos no couro cabeludo, pode variar entre os vários grupos étnicos. Entretanto não há nenhuma diferença de gênero entre o número de UF dentro de um mesmo grupo étnico/racial. Conseqüentemente não há diferenças visíveis no crescimento capilar de homens e mulheres em relação ao número de folículos, mas, sim, conforme o tipo e a qualidade do cabelo dentro destes folículos (UNO, 1986).

Há três fases de crescimento capilar. Uma fase de crescimento ativo (anágena); seguida por um estágio de involução (catágena), na qual o crescimento do cabelo pára; finalmente a fase telógena na qual o cabelo está quiescente e então cai, sendo substituído por um novo (UNO, 1986). Nos humanos, os cabelos parecem estar crescendo continuamente, isto é resultado da falta de sincronia das fases de crescimento entre os diferentes folículos capilares. Enquanto alguns cabelos estão na fase ativa do crescimento (anágena), outros estão na fase quiescente (telógena). A duração da fase de crescimento capilar varia conforme a localização do folículo piloso. Por exemplo, no couro cabeludo a fase anágena pode durar 2 – 6 anos, enquanto a dos pêlos do corpo dura 3 – 6 meses. A duração das fases catágena e telógena é semelhante para o couro cabeludo e para os pêlos corporais, demorando 2 – 3 semanas e 3 – 4 meses respectivamente.

A relação anágena/telógena (a razão entre o número de cabelos em fase anágena pelo número de cabelos em fase telógena) é frequentemente utilizada para estimar a atividade de crescimento capilar em diversas áreas da pele, uma razão alta indica maior atividade de crescimento capilar (AZZIZ *et al.*, 2000).

Esteróides sexuais e outros fatores locais e sistêmicos podem influenciar o crescimento capilar atuando diretamente ou indiretamente na papila dérmica, que é importante para a regulação do crescimento capilar. Fatores de crescimento e citocinas têm sido implicados no crescimento capilar (JANKOVIC, 1998). Tem sido sugerido que estes fatores atuam aumentando a síntese de “estromelisina”, uma matriz de metaloproteinase que atua na papila dermal para acelerar o crescimento capilar (GOODMAN & LEDBETTER, 1992)

Outros hormônios tais como os hormônios tireoidianos (FREINKEL & FREINKEL, 1972; COMAISH, 1985) e o hormônio de crescimento (GH) (BLOK *et al.*, 1997), podem também alterar o crescimento capilar. Geralmente hipotireoidismo e deficiência de hormônio de crescimento, estão associados com modificações na relação entre as fases anágena/telógena do crescimento capilar corporal e do couro cabeludo. Pacientes com hipotireoidismo em tratamento geralmente apresentam recapilarização do couro cabeludo em 8 semanas (FREINKEL & FREINKEL, 1972). Foi demonstrada a presença de receptores para triiodotironina no revestimento dos pêlos, e um efeito positivo dela sobre o crescimento dos pêlos (AHSAN *et al.*, 1998).

Homens com deficiência de GH, após o tratamento, apresentam um aumento dos pêlos corporais, sugerindo que o GH possa estimular diretamente o crescimento capilar. É possível que o efeito do GH seja mediado pela produção do IGF-1, causando um aumento da atividade da enzima 5 $\alpha$ -redutase II, o que potencializa o efeito androgênico periféricamente (HORTON *et al.*, 1993). Além disso, em culturas de folículos capilares, IGF-1 e insulina estimulam o crescimento folicular (PHILPOTT *et al.*, 1994).

Os androgênios são os esteróides sexuais mais importantes na determinação do tipo e da distribuição dos cabelos sobre o corpo humano. Sobre a influência dos androgênios, os folículos capilares produtores de cabelos tipo “velus” podem ser estimulados para produzir cabelos terminais. Observações *in vivo* documentam claramente os efeitos dos androgênios exógenos na diferenciação dos folículos capilares nos tecidos alvo (genitália, área da barba, toráx) em eunucos e em transexuais femininos. Os androgênios também prolongam a fase anágena dos cabelos do corpo e diminuem a fase anágena do cabelo do couro cabeludo (ELBLING, 1986; RANDALL, 1994) e aumentam a secreção sebácea. Alguns folículos pilosos podem produzir cabelos terminais sob a influência dos androgênios. Se isso é devido a diferenças na sensibilidade aos androgênios, ou a outras diferenças primárias dos folículos pilosos, isto ainda não está claro. Há diferenças consideráveis entre os pêlos corporais em seu conteúdo de 5 $\alpha$ -redutase e sua habilidade em metabolizar androgênios (AZZIZ *et al.*, 2000). A concentração de receptor androgênico na determinação do efeito dos androgênios no crescimento do cabelo terminal é crítica, como demonstrado pela esparsa pilificação terminal corporal notada em pacientes com CAIS e PAIS (GRIFFIN & WILSON, 1980).

### 2.3.3 Neoplasia Testicular

Nos EUA a incidência é de 2–3 por 100.000 homens/ano (HAINSWORTH & GRECO, 1983). É a segunda doença maligna mais freqüente (após a leucemia) nos homens entre 20 e 35 anos. Há um pico na infância (carcinomas embrionários e teratocarcinomas), nos adultos jovens e nos idosos (seminomas). Os tumores são comumente bilaterais, tanto simultâneos como seqüenciais – por exemplo, um seminoma se desenvolvendo num testículo vários anos após a remoção do outro (LEFEVRE *et al.*, 1975).

Vários fatores predispõem o aparecimento do tumor testicular. Homens com criptorquidia têm um risco 5 vezes maior de desenvolver tumores testiculares (FONGER *et al.*, 1981). Testículos intra-abdominais têm maior risco de malignizar do que os testículos que estão na região inguinal. Este risco é 100 vezes maior nos pacientes com anomalias do desenvolvimento sexual (disgenesia gonadal mista 45,X/46,XY e nas síndromes de insensibilidade androgênica) (MANUEL *et al.*, 1976; ULBRIGHT, 1999).

Exposição ocupacional a altas ou baixas temperaturas pode aumentar o risco (ZHANG *et al.*, 1995). Outras causas associadas a um aumento da incidência de tumores testiculares são: filhos de mães que fizeram uso de estrogênios durante a gestação (HENDERSON *et al.*, 1979), Síndrome de Klinefelter (CARROL *et al.*, 1988) e infecção por HIV (BUZELIN *et al.*, 1994).

A classificação dos tumores testiculares mais comumente usada é a de MOSTOFI (1980) (TABELA 3). Esta classificação é baseada no tipo celular do qual o tumor se origina: células germinativas (espermatogônias), células estromais (Sertoli e Leydig) e epidídimo. Linfomas (MOLLER *et al.*, 1994) e tumores carcinóides (ZAVALA-POMPA *et al.*, 1993) são raros.

TABELA 3 – CLASSIFICAÇÃO DOS TUMORES TESTICULARES

I.	Tumores de células germinativas (95%)	
a)	Tumores de apenas um tipo celular (60%): Seminomas	Tumor do saco vitelínico Teratoma Coriocarcinoma
b)	Tumores de vários tipos de células (40%)	
II.	Tumores do estroma gonadal (1-2%):	Tumores de células de Leydig Tumores de células de Sertoli Tumores de estruturas gonadais primitivas
III.	Gonadoblastomas:	Células germinativas e células do estroma.

FONTE: MOSTOFI, 1980.

Tumores de células germinativas são os mais comuns e presumivelmente são derivados das células germinativas primordiais. Seminomas são caracterizados por células grandes, com citoplasma claro, estroma fibrovascular delicado e infiltrado com linfócitos. Uma reação granulomatosa ao redor do tumor pode ser tão intensa que mimetiza a presença de uma reação enxerto-*versus*-hospedeiro (MARSHALL & DAYAN, 1964). Estes tumores correspondem à metade de todas as neoplasias testiculares e podem ser subdivididos nas variedades espermatocíticas e anaplásicas. Diferentemente dos outros tumores o seminoma espermatocítico parece não evoluir do carcinoma *in situ* (CIS) (GRIGOR, 1993).

Carcinomas embrionários são mais comuns na infância, tendo sobrevida de 5 anos em 70% das crianças e em 25% dos adultos. Coriocarcinomas contêm células do sinciotrofoblasto e ocorrem mais comumente na segunda e na terceira décadas de vida e eles têm um mau prognóstico. Teratomas contêm, pelo menos, duas linhagens celulares germinativas e podem ser malignos ou benignos. São os segundos em frequência na infância e correspondem a apenas 1/10 dos tumores testiculares em adultos. Tumores que contêm combinações de células germinativas correspondem a 40% dos tumores destas células; a biologia destes tumores é determinada pelo elemento menos diferenciado (mais maligno).

Tumores mistos que contêm células germinativas e células do estroma são representados pelo gonadoblastoma, composto de células germinativas, células do cordão sexual e células de Leydig. O gonadoblastoma usualmente se origina de um testículo disgenético que contém um cromossomo Y e comumente sintetiza androgênio (HASS, 1987). O sinal clínico usual do tumor de células germinativas é dor testicular ou nódulo testicular. Ocasionalmente os tumores são identificados através das metástases ou pela secreção de gonadotrofina coriônica (GC) pelo tumor. O estadiamento (TABELA 4) é realizado através de laparotomia exploradora associada à tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética (GRIFFIN & WILSON, 1998).

TABELA 4 – ESTADIAMENTO DOS TUMORES TESTICULARES

---

Estádio I: limitado ao testículo.
Estádio II: metástase para linfonodos infra diafragmáticos.
Estádio III: metástase para linfonodos supra diafragmáticos.
Estádio IV: metástases extralinfáticas

---

FONTE: GRIFFIN & WILSON, 1998

Germinomas, coriocarcinomas, tumores do saco vitelínico podem secretar GC que é um marcador tumoral e apresenta efeitos endócrinos. O testículo normal sintetiza GC, porém em quantidades mínimas que somente alguns traços atingem a circulação (BRAUNSTEIN *et al.*, 1975). Tumores do saco vitelínico podem produzir  $\alpha$ -fetoproteína e teratomas podem produzir antígeno carcinoembrionário (TALERMAN, 1980; LANGE *et al.*, 1976). O aumento da GC pode causar um aumento da produção de testosterona ou de estradiol pelos testículos. Como resultado do aumento do estradiol há uma síndrome de feminização com inibição da produção de LH e de FSH hipofisários.

Tumores testiculares de células germinativas e de células não germinativas (células de Sertoli, Leydig e células intersticiais) ocorrem com maior frequência em indivíduos com AIS (QUIGLEY *et al.*, 1995). No estudo de CORTES e colaboradores (2001), pacientes com testículos intra-abdominais, anormalidades da genitália externa ou com cariótipo anormal apresentavam risco de neoplasia de 5% (7/150) versus 0% (0/1,185) em pacientes sem estas características.

A presença de CIS, também conhecido como neoplasia celular germinativa intratubular, foi descrita em testículos de crianças pré-púberes com AIS (CASSIO *et al.*, 1990). CIS é um precursor dos tumores de células germinativas testiculares (DIECKMANN & SKAKKEBAEK, 1999). As células do CIS são, provavelmente, derivadas de células germinativas primordiais e já estariam presentes ao nascimento. Antes de progredir para um carcinoma invasivo, as células do CIS parecem estar espalhadas pelos túbulos seminíferos. O diagnóstico é feito após biópsia testicular e análise com imunocitoquímica para fosfatase alcalina placentária (FAP). Esta enzima está presente nas células germinativas primordiais, no CIS, no seminoma e em outros tipos de tumores testiculares, mas não, em células germinativas normais.

O caso mais precoce de tumor testicular associado com AIS foi numa menina de 17 meses com tumor de saco vitelínico, que apresentava o testículo contra-lateral normal (HANDA *et al.*, 1995). Seminomas têm sido descritos em pacientes pós-púberes com AIS, entretanto há o relato de um caso de surgimento de um seminoma numa paciente com 14 anos (HURT *et al.*, 1989). Nas pacientes com AIS, todos os tipos de tumores de células germinativas têm sido descritos e apresentam o mesmo prognóstico de pacientes sem AIS com tumores similares (LEVIN, 2000).

O risco de desenvolvimento de tumores gonadais em pacientes com AIS foi estimado em 6 – 9% por RUTGERS & SCULLY (1991). Em 43 casos de AIS, estes autores encontraram 27 hamartomas (63%) e 2 seminomas (4.6%). Hamartomas são muito mais freqüentes nas pacientes com AIS. A hiperestimulação do LH pode gerar hiperplasia de células de Leydig que é freqüentemente vista em pacientes com CAIS. É possível que os hamartomas também sejam decorrentes desta hiperestimulação do LH (QUIGLEY *et al.*, 1995).

A época da gonadectomia é variável em pacientes com AIS. Geralmente é recomendado que se faça gonadectomia após a puberdade (HANDA *et al.*, 1995), porque o estrogênio de origem testicular direta ou da conversão periférica de testosterona é necessário para o desenvolvimento das características sexuais secundárias, e o risco de apresentar uma alteração maligna durante a vida pré-púbere é baixo (3,6% em pacientes menores de 25 anos). Se a castração pré-púbere for inevitável devido à presença de neoplasias, deve-se iniciar a administração de estrogênio exógeno (HANDA *et al.*, 1995).

LUKUSA e colaboradores (1991) investigaram a presença de tumores gonadais em 7 pacientes com disgenesia gonadal e em 14 pacientes com AIS e constataram que 4 de 7 pacientes com disgenesia gonadal apresentavam gonadoblastoma e não encontraram nenhum caso de tumor nas pacientes com AIS. Assim, na disgenesia gonadal, o risco de malignização é maior do que na AIS e requer uma gonadectomia profilática logo após o diagnóstico ser estabelecido (ULBRIGHT, 1999).



#### 2.3.4 Desenvolvimento Esquelético

Inúmeros estudos têm demonstrado que os estrogênios possuem um papel decisivo na aquisição e na manutenção da massa óssea em homens e mulheres. Homens portadores de mutações no receptor estrogênico ou na aromatase não apresentam aceleração do crescimento durante a puberdade e apresentam déficit na massa óssea adulta (SMITH *et al.*, 1994; MORISHIMA *et al.*, 1995; CARANI *et al.*, 1997; BILEZIKIAN *et al.*, 1998).

Osteoporose decorrente de hipogonadismo em homens está bem descrita (ORWOLL & KLEIN, 1996) e apresenta melhora, pelo menos parcial, da densidade mineral óssea com a reposição hormonal com testosterona. A presença de receptores de alta afinidade para androgênios nas células ósseas é um pré-requisito para a ação direta do androgênio no osso, e o RA é expresso nos osteoblastos (COLVARD *et al.*, 1989; BENZ *et al.*, 1991; ABU *et al.*, 1997). Entretanto, embora a DHT tenha um efeito direto sobre o aumento da expressão de proteínas específicas de osteoblastos em cultura de células (KASPERK *et al.*, 1990), os estrogênios derivados dos androgênios *in vivo* (TANAKA *et al.*, 1993) têm um papel importante no metabolismo ósseo.

Nos pacientes com AIS, há alta prevalência de diminuição da densidade mineral óssea em sítios clinicamente relevantes, tais como coluna lombar e fêmur proximal, porém é difícil distinguir entre os efeitos da resistência androgênica dos efeitos da falta de estrogênios (SOULE *et al.*, 1995; BERTELLONI *et al.*, 1998). No estudo de MARCUS e colaboradores (2000), as pacientes com CAIS que estavam recebendo estrogênio em dose considerada adequada, apresentavam diminuição da densidade mineral óssea da coluna lombar, indicando que a aquisição e a manutenção da massa óssea dependem também da ação direta dos androgênios. Pacientes com PAIS apresentam densidade mineral óssea superior aos pacientes com CAIS, sugerindo um efeito protetor mesmo dentro de um grau limitado de responsividade androgênica (MARCUS *et al.*, 2000).

Se a remoção das gônadas é postergada até a puberdade ou mais tardiamente, meninas adolescentes com AIS provavelmente foram expostas a altos níveis de estrogênios. Entretanto, após a gonadectomia precoce, a reposição programada com estrogênios pode ser inadequada, tanto na quantidade como na aderência ao tratamento (MARCUS *et al.*, 2000), o que pode resultar numa inadequação da mineralização óssea.

Nos anos 70, a idade média da gonadectomia das pacientes com AIS era aos 15 anos. Há uma tendência de gonadectomia mais precoce nos anos 80, durante a infância, ou logo após o diagnóstico. Meninas com AIS, tratadas entre os anos 80 e 90, que foram submetidas a gonadectomia precoce provavelmente foram menos expostas aos estrogênios do que aquelas pacientes mantidas com as gônadas *in situ* até a puberdade estar completa. Uma menina de 11 anos de idade com AIS que havia sido submetida a gonadectomia com 1 ano e 6 meses de vida e ainda não havia iniciado reposição hormonal, apresentava baixos índices de escore Z de densidade mineral óssea (-1,5). Porém estes dados não podem ser generalizados e precisam ser revistos com um maior número de casos (MARCUS *et al.*, 2000).

Ainda não há protocolos apropriados para definir o início e a dosagem da terapia de reposição hormonal em meninas com AIS, as quais diferem de outras adolescentes hipogonádicas (por exemplo as pacientes com Síndrome de Turner). É importante monitorizar estas meninas quanto ao desenvolvimento esquelético, incluindo o estirão puberal, estatura adulta e mineralização óssea.

### 2.3.5 Métodos de Ampliação Vaginal

A atresia vaginal ou sua ausência pode ser devastadora, especialmente para adolescentes. Em estudos recentes, a maioria das pacientes com CAIS não necessitava de cirurgia de alongamento vaginal (WISNIEWSKI *et al.*, 2000; BOEHMER *et al.*, 2001). Pacientes com vagina rudimentar, com 3 – 4 cm, podem alcançar resultados adequados após vários meses de dilatação seriada.

Os métodos de reconstrução vaginal empregam enxertos da pele da coxa, âmnio ou intestino sigmóide. A plástica vaginal com enxerto de pele da coxa foi descrita inicialmente por McINDOE (1950). Apesar dos relatos animadores, esta técnica usualmente apresenta necessidade de dilatação regular, continuada, em casa. Além disto há alta incidência de estenose vaginal, comprimento vaginal inadequado e dispareunia (DE SOUZA *et al.*, 1987).

A vaginoplastia, que utiliza intestino sigmóide, também apresenta índices de estenose vaginal e dispareunia, porém é considerado um bom método de ampliação vaginal (HENSLE & REILEY, 1998). SANCHEZ-MARTIN e colaboradores (1999) descrevem a vaginoplastia com intestino sigmóide como um método excelente para pacientes com genitália ambígua ou AIS.

## 2.4 COMPORTAMENTO SEXUAL

### 2.4.1 “Imprinting Cerebral”

A primeira observação do dimorfismo cerebral entre o sexo feminino e o masculino foi feita em animais de laboratório. Em 1978, GORSKI e colaboradores, examinando o hipotálamo de ratos observaram que um grupo de células próximas à região frontal do hipotálamo era muitas vezes maior no macho do que na fêmea. A região medial pré-óptica do hipotálamo é implicada na gênese do comportamento sexual, particularmente, do comportamento tipicamente masculino. Os neurônios desta área são ricos em receptores para os hormônios sexuais, androgênios e estrogênios. Os androgênios têm um papel chave no desenvolvimento do dimorfismo sexual.

Embora tanto os ratos machos como as fêmeas inicialmente apresentem o mesmo número de neurônios na área medial pré-óptica, um pico de testosterona, secretada pelos testículos dos fetos machos, age estabilizando esta população neuronal. Nas fêmeas a falta de tal pico de testosterona causa a morte de muitos neurônios desta área; levando ao desenvolvimento de uma estrutura menor do que a do rato macho. É interessante que os neurônios da área pré-óptica são sensíveis aos androgênios somente alguns dias antes e após o nascimento.

Em 1985, SWAAB & FLIERS descreveram um grupo de células dimórficas sexualmente na área pré-óptica do hipotálamo humano. Estes núcleos são maiores no homem do que na mulher. Embora ainda não se tenha estabelecido uma função específica para estes núcleos, a área pré-óptica é essencial para o controle da liberação hormonal, comportamento maternal e para o comportamento sexual de outras espécies de mamíferos. Em 1989, ALLEN e colaboradores sugeriram o termo Núcleo Intersticial do Hipotálamo Anterior (*INAH 1-4*) para 4 grupos de células não descritos na área pré-óptica do hipotálamo anterior. Comparando o tamanho destas estruturas entre homens e mulheres, esses autores verificaram que os núcleos INAH 2 e INAH 3 eram maiores nos homens. Estes resultados sugeriram que as diferenças sexuais funcionais no hipotálamo podem estar relacionadas com diferenças na estrutura neural.

O núcleo INAH 3 foi descrito em 1991, por LEVAY, como 2 vezes maior em homens heterossexuais do que em mulheres e homossexuais, sugerindo que a orientação sexual teria um substrato biológico. No estudo de LEVAY todos os cérebros, menos um, de homens homossexuais eram provenientes de pacientes com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, deixando a dúvida sobre a possível influência de um processo degenerativo reduzindo o tamanho dos núcleos, porém os autores não encontraram sinais de degeneração nesses indivíduos.

Apoiando a teoria de uma masculinização pré-natal do cérebro humano, estão sendo feitos estudos em crianças com hiperplasia adrenal congênita. BERENBAUM e colaboradores (2000), defendem a idéia de que um comportamento masculino, observado em meninas com hiperplasia adrenal congênita, ocorre devido ao excesso de androgênios atuando no desenvolvimento fetal, mais do que no período pós-natal. As brincadeiras masculinas e o comportamento masculino são mais freqüentes em meninas com a forma mais severa de hiperplasia adrenal congênita, perdedora de sal, que são diagnosticadas precocemente no período neonatal e não naquelas que apresentam indicadores de excesso de androgênios no período pós-natal, fato já observado por outros autores (ZUCKER *et al.*, 1996; DITTMANN *et al.*, 1990). Há evidências de que os androgênios têm um papel importante no estímulo da libido (efeito “ativacional”) durante toda vida sexual em mulheres e homens, porém isto não fica restrito a um efeito “organizacional” que acontece uma vez na vida como o “*imprinting cerebral*” (COALLER & HINES, 1995).

#### 2.4.2 Guias para Orientação da Definição Sexual nos Estados Intersexuais

Em 1957, MONEY e colaboradores, desenvolveram protocolos para orientação quanto ao manejo de crianças nascidas com estados intersexuais. A atribuição sobre o fenótipo sexual deverá ser feita em função do melhor prognóstico para função reprodutiva (se alcançada por completo), função sexual adequada, genitália externa de aparência normal e identidade de gênero (auto-percepção como menino ou menina), os quais devem proporcionar uma adaptação psicossocial saudável (MEYER-BAHLBURG, 1993; MEYER-BAHLBURG, 1998).

A decisão referente ao fenótipo sexual deve ser feita o mais precocemente possível, preferencialmente durante o período neonatal, com um limite de idade superior para reverter um sexo estabelecido entre 18 a 24 meses no máximo (MONEY *et al.*, 1957). Incerteza e ambigüidade por parte dos pais e profissionais referente à decisão final do sexo, e subseqüentemente, do sexo de criação, devem ser mínimas (MONEY *et al.*, 1957).

A contribuição relativa de variáveis, tais como hormônios pré-natais e sexo de criação para o desenvolvimento psicosssexual, tem sido estudada em várias populações com intersexo (MONEY *et al.*, 1984). Estas investigações levaram a ampla aceitação de um conceito multivariado do desenvolvimento do gênero sexual que enfatiza a importância tanto da natureza como do sexo de criação. Novos conhecimentos mostram a necessidade de incorporar outros dados psicossociais e psicosssexuais para designação sexual. O reconhecimento das conseqüências psicossociais e psicosssexuais das crianças com genitália ambígua mostra a necessidade de pesquisas longitudinais, colocando em transição o paradigma do desígnio sexual no período neonatal (REINER, 1999).

Dados do seguimento psicosssexual de 2 pacientes que tiveram remoção do pênis levaram a reconsiderar as práticas de designação sexual para pacientes com intersexo (DIAMOND & SIGMUNDSON, 1997; BRADLEY *et al.*, 1998). Uma das questões levantadas por estes relatos é a possibilidade de que a exposição fetal a androgênios influencie o cérebro de tais pacientes resultando num desenvolvimento psicosssexual tipicamente masculino com uma masculinização irreversível do cérebro, criando diferenças com o cérebro feminino. Avaliação de pacientes com hiperplasia adrenal congênita e pacientes com AIS servem como modelos para entendermos quais são os fatores que afetam a formação do gênero sexual (MONEY *et al.*, 1984).

A identidade psicosssexual feminina é mais freqüentemente associada com a presença de ovários ou com disgenesia gonadal, enquanto a identidade psicosssexual masculina aparece mais freqüentemente na presença de tecido testicular independente do fenótipo feminino ou hermafrodita. Em homens geneticamente com ausência da formação da genitália masculina, causado por AIS, a identidade psicosssexual depende da gravidade da doença: identidade psicosssexual feminina em CAIS e feminina ou masculina em PAIS.

Estes dados experimentais confirmam o papel do androgênio na criação de uma identidade psicosssexual. Estes conhecimentos são necessários para a decisão quanto à correção cirúrgica da genitália externa de uma criança com genitália ambígua, a qual não deve ser dependente somente da eficiência da performance da relação sexual, mas também conforme a identidade sexual esperada ou já presente no indivíduo (KULA, 2000).

#### 2.4.3 Identidade Sexual em Pacientes com CAIS

Pacientes com CAIS sempre são consideradas como tendo sexo feminino e, por terem resistência completa aos androgênios, constituem um grupo ideal para o estudo de outras influências sobre a definição do comportamento sexual, tais como a presença do cromossomo Y, de testículos e de uma vagina curta, os quais, de alguma forma, poderiam influenciá-la a pensar como indivíduo de comportamento masculino ou menos feminino (MIGEON & WISNIEWSKI, 1998; SLIJPER *et al.*, 2000).

Explicar para os pais e para as pacientes com CAIS a respeito da doença, nunca foi fácil para os médicos, porque se pensa que a menina poderia ficar psicologicamente ofendida por saber que possui um cromossomo Y. Mulheres com CAIS dizem que isto não é o mais ofensivo (WARNE *et al.*, 1998). Elas falam que o maior problema é o segredo, levando ao isolamento com falta de informação e apoio. As principais questões para elas são: falta de menstruação, ausência de pilificação pubiana e de odor corporal, tamanho da vagina, experiências sexuais e, principalmente, quando são tratadas como “esquisitas” diante de estudantes médicos e sendo submetidas a fotografias médicas (WARNE *et al.*, 1998).

Existem atualmente controvérsias quanto aos melhores protocolos de tratamento de crianças com intersexo. Há falta de informação de longo prazo quanto ao seguimento médico, cirúrgico e psicosssexual de adultos afetados com estados intersexuais. Estes fatores motivam a realização de estudos longitudinais que sejam capazes de unir dados físicos, sociais e psicosssexuais desde a infância até a vida adulta de pacientes com intersexo (WARNE *et al.*, 1998; WISNIEWSKI *et al.*, 2000).

### **3 PACIENTES E MÉTODOS**

Foi realizado um estudo prospectivo e descritivo nas pacientes com CAIS e seus familiares, no período de fevereiro de 1999 até março de 2002.

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da UFPR (ANEXO 1).

As pacientes foram incluídas no estudo após o esclarecimento detalhado das finalidades da pesquisa e após a obtenção do consentimento escrito dos responsáveis. (ANEXOS 2-3).

Devido à baixa frequência de CAIS na população geral, os dados são apresentados de forma descritiva.



### 3.1 CONSTRUÇÃO DO HEREDOGRAMA

#### 3.1.1 Caso Índice

A paciente índice (IV-10 na FIGURA 3, indicada por uma flecha) era fenotipicamente uma menina de 15 anos de idade apresentando sinais clínicos de CAIS. Inicialmente ela compareceu à Unidade de Endocrinologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná para tratamento de obesidade. Em virtude do desenvolvimento mamário normal, mas amenorréia e ausência de pubarca investigou-se a possibilidade de CAIS. Análises subseqüentes revelaram um cariótipo 46,XY e altos níveis de testosterona (72,8 ng/mL) e 8,2 UI/L de LH.

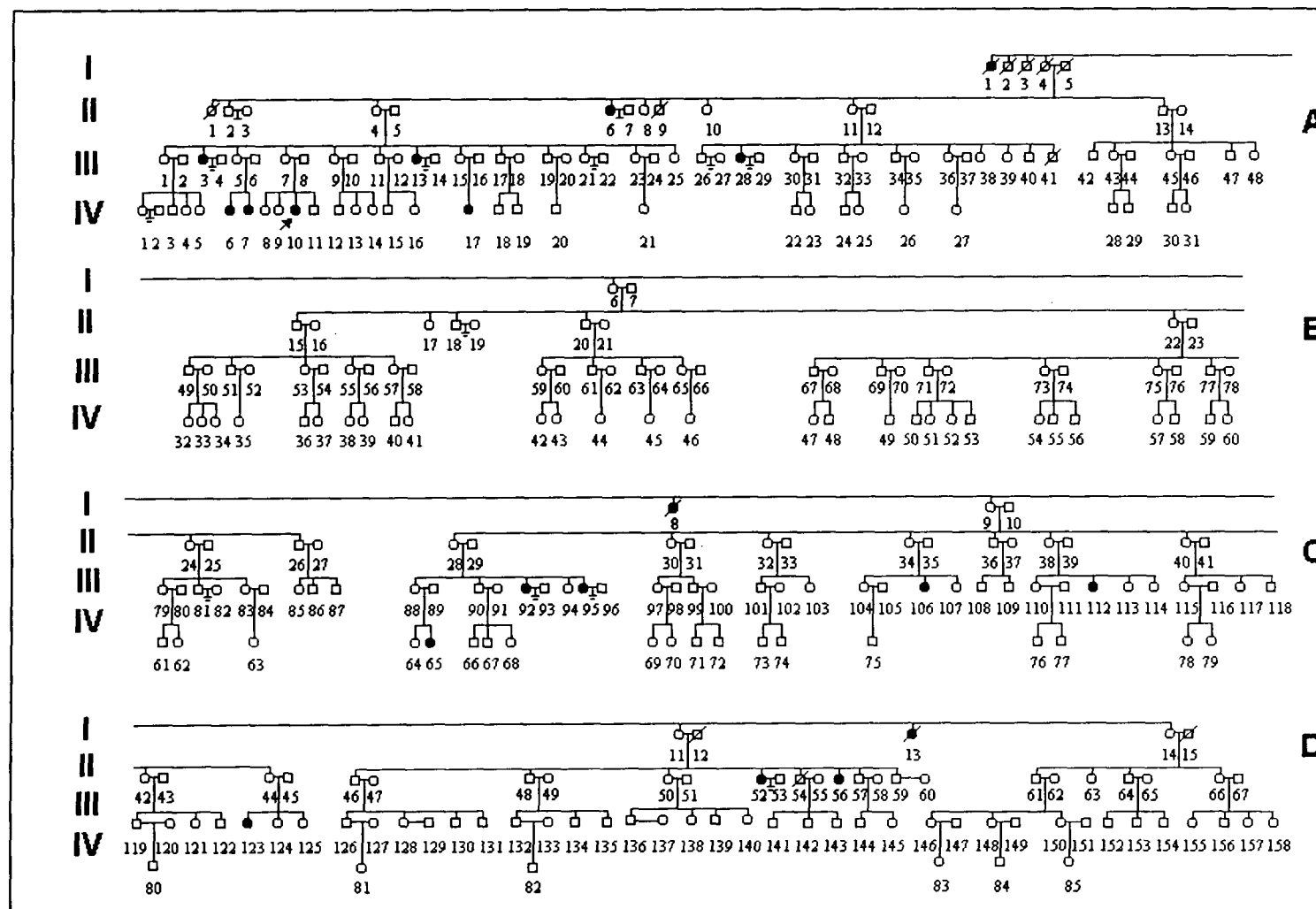
Membros da família do caso índice conheciam mulheres casadas, porém inférteis, através das 4 gerações da família, o que é consistente com a herança ligada ao X que ocorre na CAIS. Entretanto os pais do caso índice não estavam completamente cientes do número de outros casos de CAIS ou da extensão de sua família e aonde outras famílias viviam.

#### 3.1.2 Heredograma

O heredograma foi construído com a ajuda de 3 mulheres da família que voluntariamente contataram parentes distantes. Um heredograma truncado com 325 membros é mostrado na figura 5 mas o número completo é de mais de 700 pessoas. Algumas mulheres mostradas no heredograma foram testadas para a mutação do gene do RA, e aquelas sem filhos tiveram análise de cariótipo. Quatro gerações foram identificadas desde a primeira imigração alemã originária da região do Vale do Rio Reno. A influência sócio-cultural predominante é do norte da Europa (i.e., cultura e língua germânica, feições claras, olhos e cabelos claros). A maioria dos familiares mantinha desconhecimento da base clínica da infertilidade na família, até que o diagnóstico foi procurado neste estudo, devido a um isolamento cultural e geográfico associado a um nível sócio econômico baixo (classe ocupacional).

Devido a uma formação católica, laços familiares eram altamente valorizados, e os grupo de irmãos são grandes (média=10, para famílias nucleares completas nas gerações I e II). Esta preferência cultural parcialmente explica o alto número de indivíduos afetados com CAIS. Não havia nenhum caso recente de casamento consanguíneo. O seguimento da família foi mantido através de contato com médicos locais e com os parentes de todas as gerações da família.

FIGURA 5 – HEREDOGRAMA



NOTA: Árvore familiar parcial mostrando 325 membros distribuídos por 4 gerações, incluindo 19 pacientes com CAIS. Os círculos sólidos indicam as pacientes afetadas. O caso índice está indicado pela seta.

### 3.1 ANÁLISE DA MUTAÇÃO

Quatro indivíduos (FIGURA 5) foram selecionados para elucidar a base molecular do CAIS:

- (i) caso índice (IV.10, indicado por uma flecha);
- (ii) uma parente não afetada (III.45) para atuar como um controle negativo para polimorfismos neutros,
- (iii) dois parentes suspeitos de serem portadores de CAIS (II.6 e III.95) para confirmar o diagnóstico.

O DNA genômico foi isolado de leucócitos do sangue periférico conforme um método padrão (KUNKEL *et al.*, 1977), 200–400ng de DNA foi usado em cada 50–100  $\mu$ l de PCR. Cada exon de *AR* foi individualmente amplificado e triplicado através de PCR usando seqüências de *primers* derivados de dados publicados (LUBHAN *et al.*, 1989). Os produtos de PCR foram clonados dentro de pGEM–T (Promega), e ambos os filamentos de DNA foram seqüenciados automaticamente num seqüenciador de DNA ABI 373 no Departamento de Biologia Celular da Universidade de Durham, Reino Unido que identificou a mutação C576F.

#### 3.2.1 Desenvolvimento de um Teste de Identificação da Mutação C576F do *AR*: PCR Alelo–específica

Um método baseado na PCR alelo–específica foi desenvolvido no Departamento de Biologia Celular da Universidade de Durham, Reino Unido, e empregado na Unidade de Endocrinologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da UFPR para identificação da mutação encontrada pelo seqüenciamento automático de DNA (C576F). Cada amostra de DNA foi amplificada com 2 *primers forwards*, um para o alelo normal (fp2089G) e outro para o alelo mutante (fp2089T), sendo por isso chamado de PCR alelo–específica.

O mesmo *primer* reverso, rpX2CTL (5' TGTGCAAGACCTTTACCTT 3'), foi usado em ambas as PCRs, em combinação com um dos *primers forward*. O *primer forward* fp2089G (5' CACTATGGAGCTCTCACATG 3') amplifica um produto de 75 pares de bases se há um G no nucleotídeo 2089 (normal), e o *primer forward* fp2089T (5' CACTATGGAGCTCTCACATT 3') amplifica um produto de 75 pares se há um T no nucleotídeo 2089. Observe-se que os *primers* fp2089G e fp2089T apresentam diferença somente no nucleotídeo terminal 3' que está sublinhado, o qual corresponde ao nucleotídeo 2089 no gene do RA (localização da mutação de ponto com substituição de G para T). Foi identificada uma mutação de ponto no nucleotídeo 2089 no DLD, mudando o códon 576 de TGT para TTT, que resulta em substituição de uma cisteína por uma fenilalanina (C576F).

A enzima taq polimerase só consegue atuar quando houver hibridização da base 2089 com a banda complementar. Indivíduos com CAIS somente amplificam produtos de PCR com fp2089T; indivíduos não afetados com CAIS somente amplificam produtos de PCR com fp2089G, e indivíduos portadores amplificam produtos de PCR com ambos os *primers*. Uma reação de controle positivo adicional foi realizada para cada amostra, com todo o comprimento de 210 pares de bases do exon 2 com o *primer forward* fpX2CTL (5' TGTGCAAGACCTTTACCTT 3') em combinação com o *primer* reverso comum.

Foi utilizado 100 ng de DNA genômico em cada 20 µl de PCR, utilizando-se as seguintes condições: 94°C por 2 minutos; 25 ciclos de 92°C por 15 segundos; 72°C por 15 segundos; 72°C por 2 minutos. O produto da reação da PCR foi analisado através de eletroforese em 15% de gel de acrilamida (acrilamida:bisacrilamida 38:1) 1X TBE (1X TBE: 0,1 M Tris-HCL, pH 8,0; ácido bórico a 0,83M e 20 mM de EDTA).

### 3.3 DOSAGENS HORMONAIS

As dosagens hormonais foram realizadas no Departamento de Patologia, no Serviço de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. O método empregado para dosagem de testosterona foi Radioimunoensaio, Fase Sólida Magnética (Procedência: Biodata S.p.A. - Itália). Para dosagem de LH foi utilizado Método de Automação, Técnica Enzimaimunoensaio por micro-partícula. (Procedência: Abbott – E.U.A.).

### 3.4 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DOS TESTÍCULOS

Os achados histopatológicos foram classificados conforme o tipo predominante de células encontradas em cada testículo, através de microscopia óptica e com coloração de hematoxilina-eosina. Não foram utilizados marcadores para imunocitoquímica. A análise histopatológica foi realizada no Departamento de Patologia, no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e no serviço de Anatomia Patológica do Hospital Nossa Senhora das Graças, em Curitiba, Paraná.

### 3.5 MÉTODOS DE AMPLIAÇÃO VAGINAL

Os métodos usados para a ampliação vaginal foram a cirurgia plástica utilizando intestino delgado ou enxertos de pele da coxa, ou a dilatação mecânica crônica através de coito. Algumas pacientes utilizaram cilindros plásticos flexíveis, os quais tinham seu calibre aumentado até que o comprimento desejado fosse alcançado. Estes procedimentos foram realizados no Departamento de Ginecologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

### 3.6 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA

A DMO de coluna lombar foi determinada através de “Dual Energy X-ray Absorptiometry” (DEXA), sendo realizados em diversas instituições. Os resultados foram analisados através do escore Z de DMO, para o sexo feminino conforme a idade da paciente.

### 3.7 AVALIAÇÃO PSICOLÓGICA

As perguntas foram baseadas num questionário (ANEXO 4) para pacientes com estados intersexuais (MIGEON, dados não publicados, porém cedidos para este estudo). Como houve rejeição do mesmo por parte das primeiras participantes este questionário foi modificado passando a serem feitas entrevistas abertas e orais com a psicóloga ou com os médicos (WISNIEWSKI *et al.*, 2000). A natureza das questões cobriu detalhes de suas condições de vida, religião, vida social (tempo gasto com colegas e amigos do mesmo sexo ou do sexo oposto), encontros, romances ou casamento (experiência e duração de qualquer tipo de sexo e direção sexual), e em que grau elas se experimentam masculinas ou femininas e quanto incertas elas se sentem a respeito de seu gênero.

Mulheres adultas com CAIS (n=7), com idades entre 19 – 52 anos, bem como seus controles pareados (irmãs, primas e mulheres adultas pareadas por idade) da mesma família forneceram respostas orais às questões a respeito de suas preferências sexuais. Pais de 3 meninas com CAIS responderam a questões sobre atividades típicas e brincadeiras das crianças (inclusive do caso índice).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ANÁLISE DO HEREDOGRAMA

Foram identificados 19 membros afetados com CAIS na família (FIGURA 5), distribuídos em 4 gerações (5 deles eram desconhecidos do caso índice). Dezesesseis pacientes vivas com CAIS foram identificadas. Foram descritas 3 pacientes falecidas com os mesmos sinais clínicos de amenorréia e pilificação esparsa. A análise do heredograma revelou também 14 mulheres portadoras.

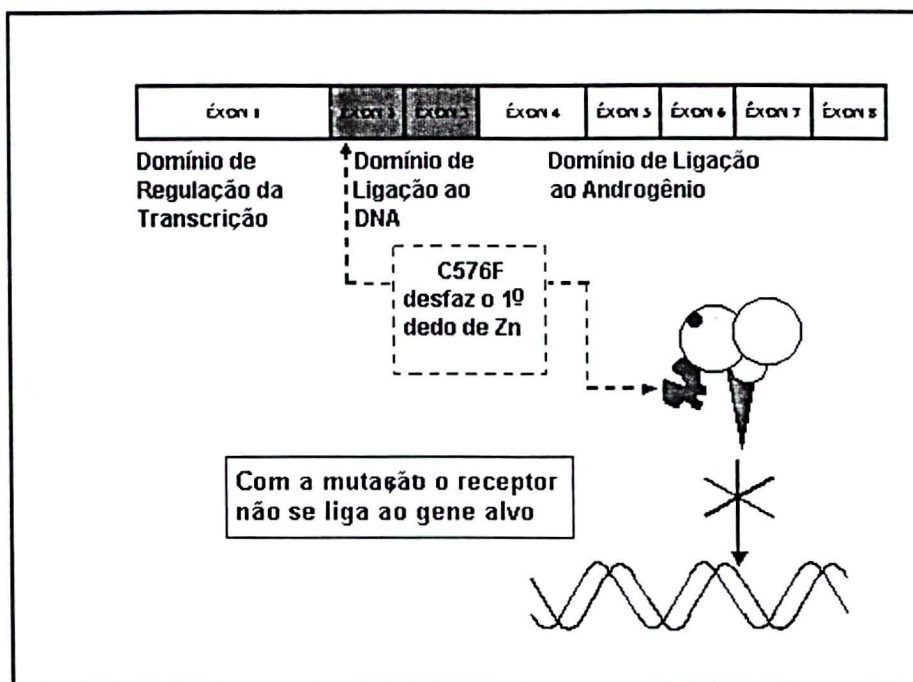
Das 16 pacientes vivas, um primeiro grupo de 13 mulheres (13/16) tinham história clínica que indicava claramente o diagnóstico de CAIS e aceitaram fazer cariótipo e análise de DNA para a mutação do RA. Entretanto 3 pacientes não completaram o estudo. Um segundo grupo de 3 mulheres (3/13) recusou fazer qualquer exame e foram consideradas como portadoras de CAIS com base nos dados referidos por seus parentes de primeiro grau.

### 4.2 ANÁLISE DA MUTAÇÃO DO GENE DO RA

O gene do RA de indivíduos da família estudada foi caracterizado por seqüenciamento direto de DNA. Uma mutação de ponto localizada no exon 2 no nucleotídeo 2089 foi identificada. A mudança de G (guanina) para T (timina) resulta na substituição de cisteína por fenilalanina no códon 576 (C576F), localizado no domínio de ligação ao DNA, resultando na perda da integridade do primeiro dedo de zinco do receptor androgênico, o qual é crítico para a ligação com o DNA (FIGURA 6). Esta mutação já havia sido descrita por CHANG e colaboradores (1991).



FIGURA 6 – MUTAÇÃO DO GENE DO RECEPTOR ANDROGÊNICO C576F

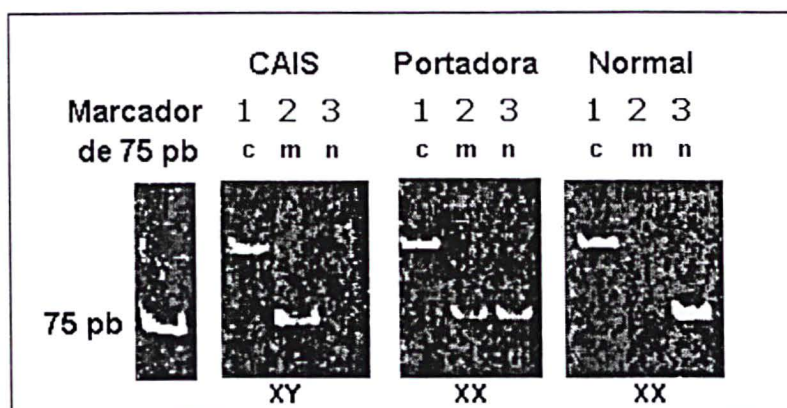


Oitenta e nove mulheres, incluindo 13 pacientes 46,XY (indivíduos com CAIS) foram triadas para a presença da mutação C576F, utilizando-se um protocolo simplificado, PCR alelo-específica, o qual claramente discrimina entre pacientes com CAIS e não afetadas e portadoras.

A mutação C576F do *AR* foi encontrada em 11 mulheres 46XX (11/76, 14%) e confirmada em 13 indivíduos 46,XY. A constatação de um produto de PCR com o *primer* 2089G é diagnóstico da sequência do alelo normal de RA (guanina na posição 2089) e com o *primer* 2089T é diagnóstico da mutação de ponto (T em 2089).

Mulheres com CAIS produzem uma banda com o *primer* 2089T e não com o *primer* 2089G. Amostras de indivíduos normais sem a mutação apresentam uma banda com 2089G e não com 2089T. Portadoras possuem um gene mutante e um gene normal, portanto exibem produtos com ambos os grupos de *primers* (FIGURA 7). A mutação foi encontrada da primeira à quarta geração (FIGURA 5).

FIGURA 7 – DIAGNÓSTICO ATRAVÉS DA PCR ALELO-ESPECÍFICA



NOTA: As colunas 1, 2 e 3 correspondem aos produtos dos alelos controle (c), mutante (m) e normal (n), respectivamente.

1

Uma análise representativa de PCR foi realizada com amostras de DNA de 3 indivíduos: uma paciente com CAIS, uma mulher carreadora da mutação e um indivíduo normal sem a mutação. A amplificação de PCR foi executada empregando-se 3 grupos de *primers* para cada amostra de DNA, e depois foram analisados após eletroforese em gel de *acrilamida* como descrito em material e métodos.

O *primer* G2089 (*forward*) detecta a seqüência do alelo normal, conseqüentemente esta banda é amplificada nas mulheres não afetadas e portadoras, mas não, nas mulheres com CAIS. O *primer* T2089 (*forward*) detecta a seqüência mutante, conseqüentemente esta banda é observada nas mulheres afetadas e portadoras e não, nas mulheres normais sem CAIS. A coluna 1 ilustra o produto amplificado usado como controle positivo interno (usando um *primer forward* com o mesmo reverso para amplificar todo o exon 2 com 210 pares de bases), o qual revela a existência de amostra adequada de DNA e condições ideais para amplificação de DNA.

### 4.3 ASPECTOS CLÍNICOS

#### 4.3.1 Dados quanto à Pilificação, Hérnia Inguinal, Dosagens Hormonais e Comprimento Vaginal

Dados clínicos de 10 pacientes com CAIS estão resumidos na tabela 5. Os níveis de testosterona sérica variaram de 43,4 até 90,4 ng/mL, média de 60,3 ng/mL (Valor de referência para homens adultos 3–10 ng/mL), os níveis de LH variaram entre 8,2 até 20,2 UI/L, média de 15,5 UI/L (Valor de referência para homens adultos: 3,6–17,1 UI/L) e todas as pacientes adultas feminizaram espontaneamente na puberdade. Elas apresentavam achados similares, genitália externa feminina, desenvolvimento mamário, amenorréia e ausência de pilificação sexual secundária.

Três das pacientes exibiam pilificação pubiana escassa (Tanner P2 – pilificação esparsa, pêlos pouco pigmentados, levemente enrolados, ao longo dos grandes lábios) ao invés de ausência completa de pêlos. Cinco das pacientes (5/10) apresentavam hérnia inguinal. O comprimento vaginal variou de 2 até 4 cm, as 2 crianças não foram avaliadas. As pacientes n<sup>o</sup>7 e n<sup>o</sup>8 não possuíam dados do comprimento vaginal prévio a dilatação vaginal.

TABELA 5 – DADOS CLÍNICOS DE 10 PACIENTES COM CAIS

Caso	Idade (anos)	Pilificação pubiana	Pilificação axilar	Hérnia Inguinal	Dosagens Hormonais # Testosterona (ng/mL) / LH (UI/L)	Comprimento vaginal prévio <sup>§</sup>
1*	15	Não	Não	Não	72,8 ng/mL / 8,2 UI/L	2 cm
2	19	Não	Não	Não	90,4 ng/mL / 20,2 UI/L	4 cm
3	28	Escassa	Não	Sim	43,4 ng/mL / 12,4 UI/L	3 – 4 cm
4	30	Não	Não	Sim	50,6 ng/mL / 17,2 UI/L	3 – 4 cm
5	32	Escassa	Não	Não	55,0 ng/mL / 17,4 UI/L	4 cm
6	34	Escassa	Não	Não	Não mensurado	2 – 3 cm
7	48	Não	Não	Sim	Não mensurado	Não mensurada
8	52	Não	Não	Não	45,6 ng/mL / 18,0 UI/L	Não mensurada
9	3	Não	Não	Sim	Não mensurado	Não mensurada
10	0.5	Não	Não	Sim	Não mensurado	Não mensurada

NOTA: \* Caso índice. # Dosagens hormonais prévias à gonadectomia <sup>§</sup> Valor referido por todas as pacientes na época que iniciaram a atividade sexual e auto-exploração, exceto o caso índice e as pacientes n.º 7 e n.º 8,.

#### 4.3.2 Hérnia Inguinal e Gonadectomia

Cinco pacientes (5/10) apresentavam hérnia inguinal bilateral, sendo 2 ainda crianças (TABELA 5). Uma das crianças (caso 9) realizou herniorrafia, e a outra (caso 10) ainda não decidiu fazer a cirurgia. Estas 2 crianças serão submetidas à gonadectomia após a feminização puberal completa, conforme decisão dos pais após receberem informação dos médicos quanto aos riscos e benefícios de manutenção das gônadas. A paciente n<sup>o</sup> 2 está providenciando a gonadectomia. Sete pacientes (7/10) foram submetidas à ressecção das gônadas (TABELA 6). Com exceção da paciente índice, todas as pacientes desta família quando foram gonadectomizadas tinham mais de 20 anos.

Três pacientes adultas (3/16) que abandonaram o estudo estão providenciando a retirada das gônadas em outros centros, enquanto as outras 3 (3/16) que se recusaram desde do início a participar deste estudo já tinham se submetido à gonadectomia em outros centros.

TABELA 6 – IDADE DA GONADECTOMIA, TUMORES TESTICULARES E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA ANTES DA GONADECTOMIA.

Caso	Idade (anos)	Idade da Gonadectomia	Tumor Testicular	DMO antes da gonadectomia
1	15	14	Não	Normal
2	19	Não operada	Não operada	Não realizada
3	28	27	Hamartoma Bilateral	Normal
4	30	29	Não	Normal
5	32	31	Hamartoma/ Seminoma	Normal
6	34	21	Não	Normal
7	48	28	Não	Normal
8	52	32	Seminoma <sup>§</sup>	Normal
		51	testículo Normal	
9	3	Não operada	Não operada	Não realizada
10	0.5	Não operada	Não operada	Não realizada

NOTA: <sup>§</sup>Seminoma ressecado aos 32 anos de idade seguido de 1 ano de quimioterapia (1981–1982), enquanto o testículo contralateral foi ressecado aos 51 anos e estava normal ao exame histopatológico.

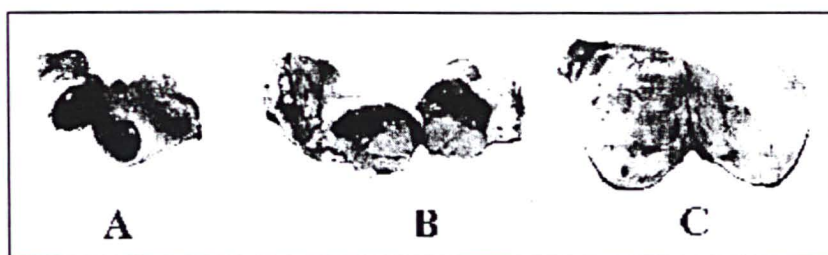
### 4.3.3 Histopatologia das Gônadas

Três pacientes (3/7) apresentavam tumores testiculares, e 5 pacientes (5/7) apresentavam testículos normais (TABELA 6). O maior diâmetro dos testículos normais foi de 2,0 x 3,0 cm. Seminoma unilateral foi encontrado em 2 pacientes, aos 28 e 30 anos de idade, com 4,5 x 6,0 cm e 5,5 x 7,0 cm respectivamente.

Duas pacientes tinham hamartoma, apenas unilateral numa paciente e bilateral na segunda, com o maior diâmetro variando entre 3,5 e 5,5 cm. Nenhuma evidência de túbulos seminíferos ou epidídimo foi encontrada em qualquer das pacientes gonadectomizadas. Os hamartomas eram compostos de múltiplos focos de túbulos com células de Sertoli e com o estroma contendo hiperplasia de células de Leydig.

Uma das pacientes com seminoma apresentava um hamartoma contralateral (FIGURA 8: Testículos B e C), e a segunda paciente com seminoma possuía o outro testículo normal, o qual foi removido durante esta investigação, 20 anos após a retirada do seminoma (FIGURA 8: Testículo A). Dois seminomas e 3 hamartomas foram completamente removidos e não foram observadas complicações pós-cirúrgicas ou focos de metástase através de tomografia computadorizada de tórax, abdômen e pelve.

FIGURA 8 – MACROSCOPIA DOS TESTÍCULOS



NOTA: Testículo normal (A) e neoplasia variando desde lesões mínimas somente visualizadas com a microscopia (hamartoma – B) até o seminoma clássico (C).

#### 4.3.4 Densidade Mineral Óssea Antes da Gonadectomia

Todas as pacientes que realizaram densitometria óssea apresentavam densidade mineral óssea dentro do normal para idade e sexo feminino (TABELA 6). O exame foi avaliado antes da gonadectomia ser realizada. Uma paciente que apresentou seminoma ressecado aos 32 anos de idade foi mantida com a gônada contra-lateral até os 51 anos (testículo normal) e apresentou densidade mineral óssea normal para o sexo feminino nessa idade, sem nunca ter feito reposição hormonal.

#### 4.4 MÉTODOS DE AMPLIAÇÃO VAGINAL

Duas pacientes com CAIS preferiram a cirurgia plástica como método de ampliação vaginal usando intestino delgado (caso índice) ou enxerto de pele da coxa (TABELA 7). As pacientes restantes optaram por dilatação vaginal mecânica crônica, através do coito. Além do coito, 1 paciente (caso 3 da TABELA 7) empregou cilindros de plástico flexíveis. Este tratamento não cirúrgico obteve sucesso em atingir um tamanho razoavelmente esperado da vagina em 4 de 5 pacientes após um período de 2 a 4 anos. Avaliações das 2 pacientes com vaginoplastia 1 ano após a cirurgia não mostrou nenhuma complicação tal como secreção vaginal, dispareunia ou prolapso da neovagina.

TABELA 7 – MÉTODOS DE AMPLIAÇÃO VAGINAL EM 8 PACIENTES COM CAIS

Caso	Status Marital	Método de ampliação vaginal	Idade da primeira relação sexual	Comprimento vaginal prévio*/ atual
1	Solteira	Vaginoplastia com intestino sigmoide	Nunca	2 cm/ 14 cm
2	Solteira	Dilatação mecânica	14	4 cm/ 9 cm
3	Noiva	Dilatação mecânica	15	3 – 4 cm/ 8 cm
4	Casada	Dilatação mecânica	16	3 – 4 cm/ 10 cm
5	Solteira	Dilatação mecânica	18	4 cm/ 6 cm
6	Casada	Neovagina com enxerto de pele da coxa	17	2 – 3 cm/ 16 cm
7	Casada	Dilatação mecânica	18	Não mensurada
8	Casada	Dilatação mecânica	19	Não mensurada / 10 cm

NOTA: \* valor referido por todas as pacientes, exceto o caso índice e as pacientes n.º 7 e n.º 8, na época que iniciaram a atividade sexual e auto-exploração.

#### 4.5 ASPECTOS SÓCIO-COMPORTAMENTAIS

O diagnóstico completo de CAIS não foi revelado para todas as pacientes. Os pais tomaram a decisão de revelar ou não a discordância entre o sexo genético e o sexo fenotípico para as pacientes menores de idade, baseados numa previsão de um impacto psicológico negativo para o indivíduo. Da mesma forma, por sugestão de alguns parentes mais instruídos, foi acatado o desejo de não revelar o sexo genético das pacientes. Ambas as decisões resultaram em 9 (9/16) pacientes vivas que, até o presente, não sabem todos os detalhes de sua doença, sendo mais comum não ter sido revelado sobre o padrão genético masculino e a presença de testículos. Nestes casos, as pacientes ficaram sabendo que tinham uma “gônada com características parecidas com testículos que produziam testosterona”. Algumas destas 9 pacientes sabiam que tinham o cromossomo Y e evitaram saber o significado. Três destas 9 pacientes tinham mais de 40 anos de idade. Das 16 pacientes afetadas vivas, 5 são menores de 18 anos (todas na geração IV). As 11 mulheres adultas vivas possuem entre 18 e 67 anos, 6 são casadas, 3 são noivas e 2 permanecem solteiras (uma é freira).

A maioria das mulheres portadoras da mutação C576F expressou medo de ter uma filha com CAIS, e algumas deliberadamente aprovariam o aborto. Algumas portadoras se sentiram estigmatizadas por possuírem a mutação do RA. No curso deste estudo, uma carreadora (indivíduo III.5) engravidou, entretanto o diagnóstico pré-natal de CAIS ou de sexo genético, bem como aborto estavam totalmente fora de questão, e ela deu à luz uma segunda criança com CAIS.

A paciente afetada mais velha da família (I.1, FIGURA 2) tinha 74 anos e faleceu durante esta investigação. Ela nunca tinha casado e aparentemente apresentava boa saúde. Ela era uma das pacientes que se recusaram a fazer qualquer tipo de exames e não tinha realizado gonadectomia. As causas da morte, aos 46 e 51 anos de idade, das outras 2 pacientes descritas com sinais clínicos de CAIS são desconhecidas.



#### 4.6 IDENTIDADE SEXUAL

As sete pacientes adultas descritas nas tabelas 5, 6 e 7 relataram que gostam da sua aparência feminina, estão interessadas exclusivamente em parceiros masculinos e todas têm o propósito de casar e adotar uma criança. Quatro delas (4/7) pretendem se relacionar com vários parceiros masculinos antes de dar um passo definitivo com o casamento. Duas delas, que já estão casadas, adotaram crianças. Todas as 7 experimentaram relação sexual apenas com parceiros masculinos. A idade da primeira relação sexual variou entre 14 e 19 anos. A maioria delas apresenta alguma preocupação quanto ao romance e encontros com receio de alguma reação do parceiro perante a falta ou a escassez de pêlos pubianos, e, principalmente, por terem uma vagina curta. As 7 pacientes se sentiram desconfortáveis ou irritadas quanto a questões sobre o que elas achavam da homossexualidade, ou mais precisamente, se elas se sentiam sexualmente atraídas por mulheres ou se possuíam pensamentos ou fantasias sexuais com mulheres.

Sobre o desejo sexual, todas, sem exceção, se sentiam atraídas por parceiros masculinos e manifestavam algum grau de fantasia nos relacionamentos que tiveram ou quiseram ter com os homens. As respostas sobre a libido foram muito variáveis, impossibilitando qualquer conclusão sobre um padrão de libido.

A análise do comportamento sexual da adolescente e das 3 crianças não foi considerada. No entanto brincadeiras típicas de meninas foram evidentes durante as avaliações e das respostas de seus pais. Todas as pacientes referiram o desejo de apoio emocional para enfrentar o diagnóstico de CAIS.



## 4 DISCUSSÃO

Devido à raridade da CAIS, não há na literatura famílias com um número considerável de casos, e muitos pacientes com diagnóstico de CAIS não apresentam avaliações moleculares e detalhamentos clínicos. Neste estudo temos a oportunidade de estudar 19 pacientes com CAIS numa mesma família, o que ultrapassa o estudo ZHU e colaboradores (1999) que publicaram 17 casos da doença.

Mais de 200 mutações diferentes no gene do RA foram descritas (GOTTLIEB, 2002, <http://ww2.mcgill.ca/androgendb/AR23C.pdf>). Estas mutações variam desde uma mutação de ponto, como da família deste estudo, até uma deleção completa do gene do RA e resultam em vários graus de resistência do AR e num amplo espectro fenotípico da AIS. Entretanto nem sempre existe uma relação clara entre a apresentação clínica (fenótipo) e a natureza da mutação de RA. As mutações de ponto com substituição de apenas um aminoácido são muito mais comuns do que todos os outros tipos de mutações. Foram descritas 134 mutações de ponto, com substituição de apenas um aminoácido, causando CAIS, 104 PAIS, 10 MAIS e 4 mutações em indivíduos normais (GOTTLIEB *et al.*, 1999). A maioria das mutações está localizada entre os exons 2 e 8 do RA. Mutações no exon 1 do gene do RA são menos freqüentemente encontradas do que nos outros exons, devido, em parte, à menor exigência na estrutura protéica aminoterminal codificada por este exon (LA SPADA *et al.*, 1991). Apenas 26 mutações foram descritas no exon 1 do AR, causando AIS. Seis mutações foram atribuídas a pequenas deleções ou inserções causando CAIS (QUIGLEY *et al.*, 1995, GOTTLIEB *et al.*, 1999).

O DLD que é codificado pelos exons 2 e 3 tem a seqüência de aminoácidos mais conservada em relação aos mesmos domínios encontrados nos receptores da superfamília do receptor retinóide (KUMAR & THOMPSON, 1999; FREEDMAN, 1992). Mutações nos exons 2 e 3 causam AIS, estas geralmente permitem que o receptor se ligue ao esteróide, mas não ao DNA. Devido à aparente normalidade da ligação ao androgênio, tais pacientes foram inicialmente considerados como tendo

defeitos na região pós-receptor. Com o entendimento dos domínios funcionais do RA foram esclarecidas as bases destes defeitos. Os exons 2 e 3 codificam o primeiro e o segundo dedos de zinco do DLD, respectivamente. Desde que a ligação do receptor com o gene alvo é fundamental para a atividade transcripcional do *AR*, fica claro que a falta total de ligação com o DNA do gene alvo está associada com CAIS (QUIGLEY *et al.*, 1992; ZOPPI *et al.*, 1992). Mutações nos exons 2 e 3 (DLD) usualmente causam CAIS (McPHAUL *et al.*, 1993, GRIFFIN, 1992), porém nem sempre (WEIDEMANN *et al.*, 1998).

Para confirmar o diagnóstico de CAIS, o gene do RA foi caracterizado por seqüenciamento direto do DNA, e um teste diagnóstico foi desenvolvido. Foi identificada uma mutação de ponto no nucleotídeo 2089 no DLD, mudando o codon 576 de TGT para TTT, que resulta em substituição de uma cisteína por uma fenilalanina (C576F). Mutações de ponto nos exons de 4 a 8 que codificam o DLA têm sido descritas em pacientes com PAIS e CAIS (TRAPMAN, 1996). Esta região carboxi-terminal de ligação ao hormônio está intacta na mutação C576F, sem alterar a ligação ao hormônio. A mutação C576F do RA prejudica sua ligação ao DNA, demonstrando que esta mutação é a base da CAIS existente nesta família. A mutação do RA C576F nesta família é transmitida de forma vertical de acordo com uma herança recessiva ligada ao X.

Neste estudo há uma relação clara entre o tipo e a posição da mutação e o fenótipo resultante. CYS 576 é um dos 4 resíduos indispensáveis para ligação a um átomo central de zinco, formando uma alça que constitui o primeiro dedo de zinco do DLD. Foram descritas 4 mutações com substituição da cisteína, alterando o primeiro dedo de zinco (CHANG *et al.*, 1991; ZOPPI *et al.*, 1992; SULTAN *et al.*, 1993), sendo uma delas descrita por CHANG e colaboradores (1991), a mesma encontrada neste estudo. Depois da identificação da mutação pelo seqüenciamento automático de DNA, foi desenvolvido um ensaio de PCR alelo-específico que simplificou a triagem de um maior número de amostras e a identificação de portadoras e de pacientes com suspeitas de CAIS.

Para todas as portadoras foi oferecido aconselhamento genético com orientação sobre o risco de nascimento de uma criança com CAIS. Foi respeitado o posicionamento final de cada portadora com relação a ter ou não filhos, abortar ou adotar filhos.

Todos os membros 46,XY da família que carregam a mutação apresentam sinais clínicos similares, confirmando que a variação fenotípica em famílias com CAIS é muito rara (BOEHMER *et al.*, 2001). Entretanto RODIEN e colaboradores (1996) descreveram a mutação M780I no exon 6, no domínio de ligação ao androgênio, causando na mesma família fenótipos diferentes, 2 irmãs com CAIS com pilificação pubiana (Tanner P2) e um indivíduo com a mesma mutação apresentando PAIS com hipospádia perineoescrotal e criptorquidismo. Conseqüentemente, o defeito molecular do AR pode não ser suficiente para prever o fenótipo em famílias com AIS. A influência do número de repetições de CAG no domínio de transativação do RA M780I pode originar CAIS ou PAIS. A atividade transcricional do RA com a mutação M780I pode ser, em contraste com o RA normal, consideravelmente aumentada por elevadas concentrações de androgênios. Foi observada uma relação inversa entre o número de repetições CAG e a atividade do AR que sofreu a mutação M780I (KNOKE *et al.*, 1999).

O desenvolvimento de derivados dos ductos de Wolff e o aparecimento de pilificação pubiana são eventos dependentes de androgênios (QUIGLEY *et al.*, 1995). Todavia 3 das pacientes com CAIS deste estudo, ao invés de terem ausência completa de pilificação, apresentavam pilificação pubiana escassa (Tanner P2), sugerindo que algum mecanismo ainda desconhecido poderia ter um papel contribuinte no crescimento dos pêlos pubianos através de outros fatores, tais como citoquinas e fatores de crescimento (JANKOVIC, 1998), ou, menos provavelmente, que o receptor mutante ainda poderia ter alguma atividade nesses 3 indivíduos. BOEHMER e colaboradores (2001) descreveram que todas as pacientes com CAIS pós-puberais apresentavam pilificação pubiana (Tanner P2) e vestígios dos ductos de Wolff, uma afirmação não completamente aceita por QUIGLEY e colaboradores (1995). No estudo de WISNIEWSKI e colaboradores (2000), 12 de 14 mulheres com CAIS apresentavam alguma pilificação pubiana, fina (Tanner P2), sugerindo que a presença de “velus” não é dependente de androgênios.

Para ZENTENO e colaboradores (2002), a variação fenotípica associada com mutações idênticas no gene do RA é, provavelmente, devido a diferenças funcionais nas moléculas correguladoras do *AR*. Porém foram avaliados somente pacientes com PAIS com a mesma mutação. A concordância completa entre a mutação encontrada no AR e o fenótipo ocorre em 75% dos casos. As mutações com variações no fenótipo geralmente ocorrem no DLD e no DLA. Embora a patogênese destas diferenças ainda não tenha sido estabelecida, especula-se que elas possam refletir a influência de outros genes ou mecanismos que servem tanto para acentuar, como melhorar a atividade do gene do RA mutante ( McPHAUL & GRIFFIN, 1999).

Neste estudo, 5 de 10 pacientes (50%) apresentavam hérnia inguinal, concordando com AHMED e colaboradores (2000), os quais descreveram que, em 41% dos casos de CAIS, é a hérnia que leva ao diagnóstico desta patologia e enfatizaram a importância de considerar AIS em qualquer menina com hérnia inguinal. VINER e colaboradores (1997), já relataram uma maior frequência de hérnia, 76% de 29 casos de CAIS. Por outro lado, JANIELLO & ATWELL (1962) e PERGAMENT e colaboradores (1973), reportaram que do grupo de crianças com hérnia, 1–12% delas tinha AIS. Estes autores afirmam que o cariótipo está indicado em todos os casos de hérnia inguinal em meninas.

Há um amplo debate quanto à idade da gonadectomia das pacientes com AIS. Não há consenso entre os autores quanto à melhor idade, se pré-puberal ou pós puberal. No estudo de WISNIEWSKY e colaboradores (2000), 78% das mulheres portadoras de CAIS indicaram que a idade mais apropriada para a remoção das gônadas seria durante a adolescência ou no início da fase adulta, propiciando uma discussão aberta entre a paciente, a família e o médico. No presente estudo, foi unânime a decisão dos pais das pacientes adultas com CAIS sobre a idade da gonadectomia, que preferiram postergá-la até que a feminização estivesse completa. A paciente que foi mais precocemente operada, aos 14 anos de idade, já se apresentava com desenvolvimento mamário completo. Nas 2 crianças, os pais também optaram por aguardar o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários na puberdade.

O desenvolvimento espontâneo das mamas na puberdade pode melhorar a auto-estima da adolescente com CAIS, e a ressecção das gônadas pode ser realizada num clima de discussões e consentimento informado. A favor desta idéia, salienta-se o fato de que há também um bom prognóstico dos tumores testiculares quando o diagnóstico é precoce, e há uma baixa incidência de tumores invasivos antes dos 30 anos (3,6%) (HANDA *et al.*, 1995; QUINT & STRICKLAND, 2001). Para QUINT & STRICKLAND (2001), a paciente adolescente com CAIS apenas necessita saber que o desenvolvimento mamário será normal, mas ela não tem útero e, conseqüentemente, não terá menstruações. Estes autores afirmam ainda que após a adolescência há também necessidade de preparo psicológico da paciente para a gonadectomia, aumento da vagina, terapia de reposição hormonal e aceitação da sua condição de infertilidade.

AHMED e colaboradores (2000) e CASSIO e colaboradores (1990) já preferem que a ressecção das gônadas seja mais precoce, justificando que a menina afetada sofrerá menos stress se não for envolvida em todas as questões que cercam este procedimento. Estes últimos autores argumentam ainda que a gonadectomia deve ser realizada precocemente devido ao aumento da incidência de CIS em pacientes pré-púberes com AIS. Células germinativas atípicas foram descritas por MULLER & SKAKKEBAEK (1984) num testículo criptorquídico que evoluiu para um tumor invasivo 11 anos após, confirmando o potencial pré-canceroso destas células. Além disto, na experiência de CASSIO e colaboradores (1990), o retardo da remoção das gônadas para após o período puberal pode criar problemas de identidade sexual.

Carcinoma *in situ* é um precursor dos tumores de células germinativas dos testículos. As células do CIS são, provavelmente, derivadas de células germinativas primordiais e supostamente estão presentes nos testículos desde o nascimento. O diagnóstico é realizado através de biópsia testicular e com subsequente imunocitoquímica com FAP. Há positividade da FAP no CIS, no seminoma e em outros tipos de tumores de células germinativas, porém é usualmente negativa nas células germinativas.

DIECKMANN & SKAKKEBAEK (1999) observaram CIS em todos os grupos com risco conhecido para o desenvolvimento de tumores testiculares: criptorquidia (2–4%), infertilidade (0–1%), genitália ambígua (25%) e testículo contra-lateral com câncer (5%). De modo oposto, CIS é encontrado em menos de 1% da população masculina normal, e esta prevalência corresponde ao risco normalmente esperado de tumores de testículos em homens. Se o CIS não for extirpado, há uma probabilidade de 50% de progressão para uma neoplasia de células germinativas em 5 anos.

A presença de CIS nos testículos de 3 de 8 pacientes consecutivas com AIS por MULLER & SKAKKEBAEK (1984) aos 2 meses de vida e aos 13 e 14 anos de idade (TABELA 8) geraram a recomendação da realização da biópsia gonadal na ocasião do diagnóstico da AIS. Se a biópsia apresentar carcinoma *in situ* eles advogam gonadectomia imediata. Se a biópsia for realizada na infância e apresentar resultados negativos, deve-se repetir a biópsia na puberdade desde que a exatidão de uma única biópsia não permita saber se a gonadectomia pode ser deixada para o futuro. Esta recomendação de que o paciente faça biópsias seriadas e que a gonadectomia seja baseada no resultado das biópsias, não recebeu aceitação universal. A maior incidência de CIS em gônadas de pacientes com AIS foi descrita por CASSIO e colaboradores (1990), que encontrou CIS em 8 de 9 pacientes com PAIS, destes 5 eram pré-púberes e todos apresentam CIS (TABELA 8).

TABELA 8 – RELATOS DE ESTUDOS DE 8 OU MAIS PACIENTES COM AIS – IDADE DA GONADECTOMIA E PRESENÇA DE TUMORES TESTICULARES

Referência (primeiro autor)	n <sup>o</sup> casos	<20 anos	>20 anos	Tumor Testicular		
				Seminoma	Hamartoma	Outros
Morris, 1963	181	3 casos	37 casos	38	1	1 Teratoma
Muller, 1984	8	8 casos <sup>#</sup>				3 Carcinomas <i>in situ</i>
Cassio, 1990	17	17 casos <sup>#</sup>				8 Carcinomas <i>in situ</i>
Rutgers, 1991	43	?	?	2	27	1 Carcinoma <i>in situ</i> 10 Adenomas de Cel. de Sertoli 1 Tumor do Saco Vitelínico
Lucusa, 1991	14	?	?			Não
Ramani, 1993	23	?	?			Não
Ahmed, 2000	81	54 casos	23 casos		2	
Slowikowska-Hiczer, 2001	10	?	?			Não
Pavan-Senn, 2002	19	1 caso	7 casos	2	3	

NOTA: # Nestes estudos foram avaliadas crianças e adolescentes apenas para a presença de carcinoma *in situ* nas gônadas. Três pacientes com AIS apresentavam CIS em idades precoces, sendo uma aos 2 meses e as outras duas com 13 e 14 anos (MULLER, 1984). O maior achado de CIS testicular em pacientes com AIS foi descrito por CASSIO, *et al.*, 1990, em 7 pacientes pré-púberes com AIS.

Mesmo reconhecendo o maior risco de malignização das gônadas (TABELA 9), como seminoma em pacientes aos 14 anos (HURT, 1989), 15 anos (GRUMBERGER, 1981) e aos 16 anos (HORCHER, 1983), estes autores recomendam também que a gonadectomia seja realizada logo após a feminização puberal. Como suporte adicional para a ressecção gonadal mais tardia, os tumores de células germinativas têm um bom prognóstico e podem ser identificados precocemente com exames de imagem (Ultrassonografia ou Ressonância Nuclear Magnética).

HORCHER e colaboradores (1983) relataram o caso de uma paciente que foi diagnosticada com AIS aos 15 anos de idade. Com base na recomendação de que os pacientes com AIS devem reter a gônada até que haja uma feminização completa na puberdade, optou-se por manter as gônadas e não realizar uma gonadectomia profilática. Quando a paciente atingiu os 16 anos de idade, ela foi submetida à cirurgia devido à dor na região inguinal esquerda. O testículo esquerdo estava parcialmente dentro do canal inguinal e causava dor. O testículo direito que estava livre dentro do abdome; continha um seminoma (TABELA 9).

TABELA 9 – RELATOS DE CASOS DE PACIENTES COM AIS, IDADE DA GONADECTOMIA E AVALIAÇÃO DE TUMORES TESTICULARES

Referência (primeiro autor).	n <sup>o</sup> casos	<20 anos	>20 anos		Tumor Testicular	
			Seminoma	Hamartoma	Outros	
Bjersing, 1977	1		58 anos	1		
Grumberger, 1981	1	15 anos		1		
Horchner, 1983	1	16 anos		1		
Lecca, 1988	2		Sim		1	2 carcinomas embrionários
Hurt, 1989	1	14 anos		1		
Corsan, 1994	1	16 anos				1 Carcinoma <i>in situ</i>
Chantilis, 1994	1		20 anos	1	1	
Handa, 1995	1	17 meses				1 Tumor do Saco Vitelínico
Chen, 2000	1	14 anos			1	
Chatelain, 2000	1	?	?		2	
Quint, 2001	1	16 anos				2 Adenomas de Cel. de Sertoli
Ko, 2001	1	14 anos				1 Adenoma de Cel. de Sertoli

Neste estudo os achados de tumores testiculares benignos e malignos foram semelhantes aos descritos na literatura (TABELA 8), incluindo hamartomas encontrados em 3 pacientes e seminomas em 2. Analisando uma casuística com 43 casos de AIS, RUTGERS & SCULLY (1991) encontraram 27 hamartomas (63%) e 2 seminomas (4,6%). Nódulos de hamartoma substituindo quase todo o parênquima testicular normal foram encontrados numa paciente de 28 anos, a qual possuía um seminoma no testículo contra-lateral (CHANTILIS *et al.*, 1994). Em contraste, numa paciente com CAIS de 50 anos de idade, mesmo 20 anos após a retirada de um seminoma, a outra gônada foi encontrada completamente normal. Os tumores testiculares podem ser bilaterais, tanto simultâneos como seqüenciais – por exemplo - um seminoma pode se desenvolver num testículo vários anos após a remoção do outro (LEFEVRE *et al.*, 1975).

RUTGERS & SCULLY (1991) encontraram 27 hamartomas (63%) e 2 seminomas (4,6%). Hamartomas de testículos em pacientes com AIS são freqüentemente descritos (LECCA *et al.*, 1988; CHANTILIS *et al.*, 1994; CHATELAIN *et al.*, 2000; AHMED *et al.*, 2000). CHEN e colaboradores (2000) descreveram uma paciente com 14 anos de idade com hamartoma gonadal e com testículo contra-lateral normal (TABELA 8). A imunocitoquímica para FAP e para RA foram negativas. Esta paciente optou por manter a gônada contra-lateral até se beneficiar da feminização puberal. A hiperestimulação do LH pode gerar hiperplasia de células de Leydig que é freqüentemente vista em pacientes com CAIS. É possível que os hamartomas também sejam decorrentes desta hiperestimulação do LH (QUIGLEY *et al.*, 1995).

Num estudo de 181 casos de AIS, MORRIS & MAHESH, em 1963 (citados por QUIGLEY *et al.*, 1995), encontraram uma incidência de 22% de tumores gonadais malignos. A maioria era seminoma, mas também apresentavam um teratoma maligno e um tumor de células de Sertoli–Leydig. Destas pacientes com tumores gonadais, uma era adolescente, duas estavam entre 20 e 30 anos e as demais estavam com 30 anos ou mais (TABELA 8).



O caso de neoplasia mais precoce numa paciente com AIS foi descrito por HANDA e colaboradores (1995), um tumor de saco vitelínico no testículo esquerdo de uma paciente de 17 meses de vida, 4 meses após o diagnóstico de AIS ser realizado devido à herniorrafia e à biópsia do testículo (TABELA 9). Um caso de seminoma metastático numa paciente de 14 anos de idade foi descrito por HURT e colaboradores (1989), sendo considerado o tumor de células germinativas mais precoce em pacientes com AIS (TABELA 9).

Numa análise global da literatura dos casos de tumores em pacientes com AIS, (TABELAS 8 e 9) as pacientes pré-púberes podem apresentar CIS (MULLER & SKAKKEBAEK, 1984; CASSIO *et al.*, 1990), e não há nenhuma descrição de tumores de células germinativas até os 14 anos (HURT *et al.*, 1989). Os tumores mais freqüentemente encontrados e apresentados na tabela 9 foram seminomas (47) e hamartomas (38). Estes tumores geralmente ocorrem após os 20 anos de idade. Em três estudos (TABELA 8) não foram encontrados tumores em pacientes com AIS (LUKUSA *et al.*, 1991; RAMANI *et al.*, 1993; SLOWIKOSWKA-HICZER, 2001).

Para calcular o potencial de desenvolvimento de tumores gonadais em pacientes com AIS, MANUEL e colaboradores (1976) combinaram uma série de 23 casos de pacientes sem tumores com 82 casos da literatura médica e determinaram que a probabilidade de desenvolvimento de tumores era de 3,6% aos 25 anos e de 33% aos 55 anos. Concluíram que “se um risco menor que 4% for aceitável, pode ser considerado um atraso na remoção das gônadas até aproximadamente 30 anos”.

Não encontramos alterações na densidade mineral óssea das pacientes avaliadas antes da gonadectomia. Uma das pacientes que foi submetida à segunda gonadectomia, apenas após os 51 anos de idade, apresentava níveis de densidade mineral óssea normais. Não dispomos da DMO atual das pacientes. Estudos de MARCUS e colaboradores (2000) demonstraram que as pacientes com CAIS apresentam DMO normal, porém em níveis inferiores (z-escore: -1,5) do que as pacientes com PAIS, mesmo antes da gonadectomia ser realizada, sugerindo um papel direto do androgênio sobre a massa óssea.

SMITH e colaboradores (1994) demonstraram que a DMO de um homem com resistência aos estrogênios, devido à mutação no gene do receptor estrogênico, estava abaixo da média para a mulher normal, sugerindo que os estrogênios tenham um papel chave na mineralização óssea de homens e mulheres. Além disto este homem continuava crescendo aos 28 anos de idade com idade óssea de 15 anos (SMITH *et al.*, 1994). Há o caso de uma paciente pseudo-hermafrodita feminina devido a uma mutação no gene da aromatase que não apresentou o crescimento puberal e tinha atraso na maturação óssea até que fosse feito tratamento com estrogênio (CONTE *et al.*, 1994). Estes achados sugerem que a falta de estrogênios no início da adolescência causa um atraso na maturação óssea tanto em homens como em mulheres. Como as pacientes com CAIS com gônadas intactas apresentam um crescimento normal na puberdade que é semelhante ao de mulheres normais (ZACHMANN *et al.*, 1986), porém inferior ao dos homens, é sugerido que os estrogênios são importantes para a maturação óssea no início da adolescência.

Após a gonadectomia há uma diminuição da massa óssea (MIZUNUMA *et al.*, 1998), e a terapia de reposição estrogênica aumenta a massa óssea em pacientes com AIS gonadectomizados. A terapia de reposição com estrogênio é obrigatória após a castração das pacientes com AIS para prevenir a perda óssea. Observou-se que a manutenção de uma DMO adequada (SOULE *et al.*, 1995; MUNOZ-TORRES *et al.*, 1995) não era alcançada com doses geralmente usadas para mulheres na pós-menopausa (0,625 mg de estrogênios conjugados). MIZUNUMA e colaboradores (1998) utilizaram uma dose de 1,25 mg de estrogênios conjugados em duas pacientes gonadectomizadas com AIS e obtiveram uma boa resposta terapêutica, com aumento da DMO.

Ainda não há protocolos apropriados para definir o início e a dosagem da terapia de reposição hormonal em meninas com AIS que foram submetidas à gonadectomia precoce, as quais diferem de outras adolescentes hipogonádicas (por exemplo as pacientes com Síndrome de Turner). Para assegurar o crescimento acelerado na puberdade é aconselhável que se inicie a reposição hormonal aos 11 anos de idade óssea (ZACHMANN *et al.*, 1986). É importante monitorizar estas meninas quanto ao desenvolvimento esquelético, incluindo o estirão puberal, estatura adulta e mineralização óssea.

Todas as pacientes adultas com CAIS, com exceção de uma que é freira, são ou foram sexualmente ativas com parceiros masculinos, e, em algumas delas, a dilatação vaginal após coito repetido obteve sucesso na ampliação vaginal sem necessidade de intervenção cirúrgica, uma observação que foi descrita previamente (MOEN, 2000; BOEHMER *et al.*, 2001). Apesar do sucesso da dilatação vaginal mecânica neste estudo (n=5), a cirurgia plástica de vagina forneceu satisfação para aquelas com atividade sexual regular, como descrito por HENSLE & REILEY, (1998). Nosso número limitado de casos de vaginoplastia, uma neovagina com enxerto de pele da coxa e outra com sigmóide, não nos permite realizar um julgamento do melhor procedimento entre a cirurgia ou a dilatação vaginal mecânica crônica. Duas razões comuns encontradas para termos mais pacientes que preferiram a dilatação vaginal mecânica crônica à cirurgia foram o medo do desconforto da cirurgia ou de complicações no pós-operatório. Além disso, os bons resultados obtidos por aquelas que fizeram apenas a dilatação vaginal mecânica crônica, desencorajaram a decisão pela vaginoplastia. Numa análise da reconstrução vaginal com segmento intestino sigmóide em várias condições de intersexo, a vaginoplastia apresentou poucas complicações e propiciou uma boa qualidade de vida às pacientes. As pacientes adultas referiram que a adolescência seria a época ideal para a vaginoplastia (PARSONS *et al.*, 2002).

A maioria das pacientes com CAIS neste estudo desconhecia as bases clínicas de sua doença. Neste contexto foi possível avaliar os costumes sociais e de casamento, além do sexo designado e infertilidade. Tanto o casamento, quanto os costumes familiares das mulheres com CAIS são totalmente consistentes com a designação do sexo feminino ao nascimento. As mulheres com CAIS estavam totalmente integradas com os afazeres domésticos e a sua estrutura econômica. A falta ou a escassez de pêlos pubianos, a falta de menstruações, a infertilidade e uma vagina curta e em fundo cego são preocupações comuns às pacientes com CAIS, criando obstáculos de fundo emocional para um relacionamento saudável com seus parceiros (WARNE *et al.*, 1998).

Esta situação dificulta, porém não impediu de serem notadas características tipicamente femininas nas pacientes deste estudo: mesmo sexo fenotípico, identidade sexual feminina idêntica a de suas irmãs e primas, interesse similar em sua aparência feminina e interesse somente por parceiros heterossexuais, confirmando observações já feitas por outros autores em pacientes com CAIS com altos níveis de testosterona plasmática (MASICA *et al.*, 1971; EHRHARDT & MEYER-BAHLBURG, 1979).

A orientação sexual é usualmente heterossexual em concordância com o fenótipo e sexo de criação femininos (MASICA *et al.*, 1971). Algumas mulheres com CAIS deste estudo estão casadas, adotaram crianças e mostraram ser excelentes mães numa situação que já foi anteriormente bem descrita (MONEY *et al.*, 1984). A soma de todas estas características permite classificar a paciente com CAIS como inteiramente feminina.

Parece não ser ainda possível precisar quando ocorre o período crítico da diferenciação cerebral nos seres humanos, se pré-natal e/ou pós-natal, ou ainda quando se torna imprescindível uma ação androgênica ao nível cerebral para causar uma alteração permanente do controle do comportamento sexual masculino. Seja qual for este período, ele não acontece nas pacientes com CAIS. Além do componente hormonal a nível cerebral, valorizam-se também os estímulos psicossociais influenciados pela criação pós-natal também tipicamente feminina (EHRHARDT & MEYER-BAHLBURG, 1979).

Mesmo não sendo objetivo do presente estudo, ainda não foi esclarecido qual fator seria mais importante na determinação do comportamento sexual, o endócrino, o psicológico ou o social, e se haveriam outros fatores humorais, além dos androgênios, capazes de interferir em grupos neuronais que parecem controlar o comportamento sexual. Embora não seja apropriado para entender o comportamento sexual humano, um modelo animal interessante é o canto dos pássaros que depende da ação do androgênio no sistema nervoso central associado a uma forma de comportamento aprendido de um macho da mesma espécie para que se fixe permanentemente no macho um cântico capaz de atrair a fêmea da mesma espécie (ARNOLD, 1980).

Todavia ainda não é possível atribuir uma importância quantitativa da influência destes fatores no comportamento sexual (WILSON, 1999).

Não foi encontrado nenhum caso de homossexualismo neste estudo, porém WISNIEWSKY e colaboradores (2000) relatam o único caso encontrado na literatura de uma paciente com CAIS que se sentia incapaz de realizar o ato sexual por ter uma vagina curta e, embora nunca tenha tido atividade heterossexual, ela experimentou grande satisfação com atividade homossexual, apesar de que, em sua adolescência, ela apresentava fantasias sexuais heterossexuais.

A ausência de androgenização no período fetal nas pacientes com CAIS é uma situação oposta pela qual passam as pacientes 46,XX portadoras de hiperplasia adrenal congênita (MONEY *et al.*, 1984). O fenômeno homossexual ou bissexual é freqüentemente observado nas pacientes com hiperplasia adrenal congênita. Se o mesmo critério for aplicado para as pacientes com CAIS, estas pacientes são heterossexuais no concernente à genitália externa e ao sexo de criação (feminino), e podem ser consideradas homossexuais conforme o critério do sexo cromossômico (46,XY) e do sexo gonadal (testicular) (MONEY *et al.*, 1984). BERENBAUM e colaboradores (2000) propõem que o comportamento masculino nas mulheres com hiperplasia adrenal congênita e as brincadeiras masculinas nas crianças com hiperplasia adrenal congênita são decorrentes, principalmente, dos altos níveis de androgênios no período pré-natal e não do período pós-natal.

Estudos em animais confirmam a hipótese do "*imprinting cerebral*", o qual seria um período crítico para o desenvolvimento do cérebro masculino na vida intra-uterina (RUBINOW & SCHMIDT, 1996). Em estudos experimentais com animais está bem estabelecido que se a fêmea for exposta a altos níveis de androgênios intra-útero, ela vai exibir um comportamento tipicamente masculino com preferência sexual por outras fêmeas (GOY *et al.*, 1988; WALLEN, 1996).

Em contraste com a libido, a qual não é sexualmente dimórfica, a identidade sexual é fundamentalmente diferente em homens e mulheres. Frequentemente os estudos quanto à identidade sexual, são realizados em pacientes com distúrbios endocrinológicos, particularmente em indivíduos com anormalidades do desenvolvimento sexual (WILSON, 1999). Mulheres com disgenesia gonadal geralmente apresentam fenótipo, identidade sexual e comportamento sexual femininos. Sendo que estas mulheres apresentam baixas concentrações de estrogênios, estes parecem apresentar apenas um papel mínimo na identidade sexual (EHRHARDT *et al.*, 1970).

As pacientes deste estudo referiram desejo sexual normal, mas não foi possível identificar a situação de sua libido. Muito embora existam evidências de que os androgênios tenham um papel importante no estímulo da libido (efeito “ativacional”) durante toda vida sexual em mulheres e homens, isto não fica restrito a um efeito “organizacional” que acontece uma vez na vida como do “*imprinting cerebral*”. A idéia de que mulheres com CAIS podem apresentar libido normal (WISNIEWSKY *et al.*, 2000) não é tão clara, se realmente fosse comprovada a necessidade de estímulo androgênico para tal efeito.

A maioria das mulheres portadoras da mutação C576F expressou seu medo de ter uma criança com CAIS. SLIJPER e colaboradores (2000) descreveram que as mulheres portadoras de mutações que causam AIS apresentam sentimentos de culpa por serem mães de crianças portadoras de AIS.

Ainda é bastante debatida a questão sobre “contar a verdade” para todas as pacientes com CAIS e seus familiares. O consenso geral é de revelar a doença e fornecer sistemas de apoio às pacientes ao invés de encobrir a verdade, e a paciente vir a descobrir por meios inapropriados a doença, sem um sistema de apoio adequado (NATARAJAN, 1996; SLIJPER *et al.*, 2000). Nunca foi fácil para os médicos explicar aos pais e pacientes com CAIS a respeito da doença, principalmente quando descobrem que possuem um cromossomo Y.

No estudo de SLIJPER e colaboradores (2000), eles concluíram que em pacientes adultas com CAIS a presença do cromossomo Y parece causar um sentimento de vergonha e uma influência negativa sobre a aceitação do corpo feminino. Porém algumas mulheres com CAIS dizem que isto não é o mais ofensivo (WARNE, *et al.*, 1998). Elas falam que o maior problema é o segredo, levando a isolamento com falta de informação e apoio. As principais questões para elas são: falta de menstruação, ausência de pilificação pubiana e de odor corporal, tamanho da vagina, e a preocupação sobre como serão percebidas por seus parceiros em suas experiências sexuais. A falta de menstruações e a incapacidade de ficarem grávida são fatores que diminuem a auto-estima de mulheres com CAIS (WISNIEWSKY *et al.*, 2000). Para a maioria das meninas a idade sugerida para esta explicação é entre 12 e 13 anos. Os pais são também encorajados a contar toda a verdade sobre o diagnóstico numa idade precoce (WARNE *et al.*, 1998).

Após reativação de laços familiares e de receberem informações a respeito da CAIS, algumas pacientes afetadas e portadoras necessitaram interferência médica constante e apoio emocional; a procura por suporte emocional também foi referida por 80% das mulheres com CAIS em outro estudo (WISNIEWSKY *et al.*, 2000).

Na família em estudo muitas mulheres aparentadas tiveram um papel chave na coleta de informações sobre a genealogia e, sobretudo, em determinar quais das suas parentes com CAIS não teriam estrutura emocional para receber todas as informações sobre CAIS. O papel destas mulheres também foi crucial na dinâmica de um aconselhamento genético informal. Iniciativas similares ocorrem na Inglaterra, onde tais mulheres coletam e coordenam as informações, recriando um novo senso da família sobre a questão médica, e ajudando a traduzir o diagnóstico científico em linguagem leiga (RICHARDS, 1996).

## 4 CONCLUSÕES

Este estudo apresenta o maior número de pacientes com CAIS na mesma família e os fatores mais importantes foram:

- 1) A mutação encontrada, C576F do *AR*, é responsável pela AIS na família estudada;
- 2) algumas das pacientes com CAIS apresentaram pelo menos um fenótipo diferente, pilificação pubiana esparsa (Tanner P2), sugerindo que um mecanismo independente de androgênios, ainda desconhecido, parece ter alguma influência sobre o crescimento dos pêlos;
- 3) a longevidade de algumas pacientes com CAIS sem cirurgia, a melhora da auto-estima durante a puberdade devido ao desenvolvimento mamário espontâneo, o bom prognóstico dos tumores testiculares quando o diagnóstico é precoce, a facilidade da remoção da gônada, a baixa incidência de tumores invasivos antes dos 30 anos (4%) sugerem que a retirada das gônadas deve ser realizada após o período puberal;
- 4) a dilatação mecânica da vagina foi o método de ampliação vaginal preferido quando comparado com a vaginoplastia. O tratamento não cirúrgico obteve sucesso em atingir um tamanho razoável da vagina em 4 de 5 pacientes após um período de 2 a 4 anos;
- 5) o comportamento sexual das pacientes com CAIS é completamente feminino, o que é consistente com a idéia de que a completa falta de androgênios induz a feminização de indivíduos XY; e
- 6) algumas pacientes apresentam estigmatização por apresentarem falta de menstruações, escassez de pilificação pubiana, infertilidade e uma vagina curta e necessitam apoio psicológico em longo prazo.



**ANEXOS**

**ANEXO 1 – CARTA DA COMISSÃO DE ÉTICA**

Curitiba, 28 de junho de 2.001.

Ilmo (a) (s) Sr. (a)( s)  
**CARLA CLAÚDIA PAVAN SENN**  
**Nesta**

Prezado(a) Senhor(a):

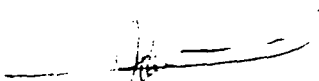
Comunicamos que o Projeto de pesquisa "SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE ANDROGÊNICA COMPLETA - ASPECTOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E IDENTIFICAÇÃO DA MUTAÇÃO DO RECEPTOR", está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Resolução nº 196/96 do Ministério da Saúde.

**Protocolo CEP-HC nº 360.070/2001-06**

O referido projeto foi apresentado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, em reunião realizada no dia 26 de junho de 2.001.

Sendo o que se apresenta para o momento, subscrevo-me,

Atenciosamente



**Prof. Dr. Renato Tambara Filho**  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em  
Seres Humanos do Hospital de Clínicas – UFPR

**ANEXO 2 – CARTA DE ESCLARECIMENTO**

## CARTA DE ESCLARECIMENTO

Você ou sua filha estão sendo convidadas a participar de um estudo sobre Síndrome de Insensibilidade Androgênica Completa (CAIS). O objetivo desta pesquisa é avaliar os aspectos clínicos, comportamentais, laboratoriais e moleculares dos pacientes com CAIS.

Caso você participe da pesquisa, será necessário fazer exames de sangue, consulta médica e entrevista com psicóloga. Os benefícios esperados são o melhor entendimento do CAIS, diagnóstico molecular da síndrome, avaliação quanto a melhor época para realizar gonadectomia, acompanhamento com psicóloga e médicos especializados.

A sua participação neste estudo é voluntária. Você tem a liberdade de recusar a participar do estudo, ou, se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado. As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos médicos que executam a pesquisa e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.

Caso haja concordância de sua parte, favor assinar o termo de consentimento anexo.

Atenciosamente,

Dr. Bonald Cavalcante Figueiredo

Dra Carla Cláudia Pavan Senn

.....  
Assinatura do responsável.

**ANEXO 3 – DECLARAÇÃO DE TERMO DE CONSENTIMENTO**

## DECLARAÇÃO DE TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que fui suficientemente informado (a) a respeito dos objetivos da pesquisa e natureza dos procedimentos citados.

Declaro que a paciente .....faz parte do estudo intitulado: **“Síndrome de Insensibilidade Androgênica Completa: Mutação do Gene do Receptor Androgênico, Aspectos Clínicos, Comportamento Sexual e Tumores Gonadais numa Grande Família Brasileira”**.

Eu entendi que sou livre para interromper minha participação, ou de minha filha, no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete o tratamento com o meu médico.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

.....  
Local e Data

.....  
Assinatura do responsável

.....  
Endereço

**ANEXO 4 – AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL**



## AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL

1 – Imagem corporal: as participantes eram questionadas quanto ao nível de satisfação com sua aparência física. Quando insatisfeitas, eram questionadas quais características físicas contribuía para esta insatisfação.

2 – Auto-percepção como masculinas ou femininas: as participantes eram questionadas quanto masculinas ou femininas elas se consideravam durante sua infância, adolescência e na vida adulta.

3 – Orientação Sexual: as participantes eram questionadas quanto a atração sexual, fantasias sobre sexo, ou participação em atividades sexuais com homens (orientação sexual feminina heterossexual), com mulheres (orientação sexual feminina homossexual), ou ambas (orientação sexual feminina bissexual) durante a adolescência e a vida adulta.

4 – Casamento e maternidade: dados sobre casamento e adoção de crianças foram questionados.

5 – Satisfação com o sexo de criação: as participantes eram questionadas quanto ao seu grau de satisfação em ser uma mulher.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARNISALO, P.; PALVIMO, J.J. & JANNE, O.A. CREB-binding protein in androgen receptor-mediated signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; 95:2122–2127.
- ABU, E. O.; HORNER, A.; KUSEC, V.; TRIFFITT, J.T. & COMPSTON, J.E. The localization of androgen receptors in human bone. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82: 3493–3497.
- ADACHI, M.; TAKAYANAGI, R.; TOMURA, A.; IMASAKI, K.; KATO, S.; GOTO, K.; YANASE, T.; IKUYAMA, S. & NAWATA, H. Androgen-insensitivity syndrome as a possible coactivator disease. *N Engl J Med*, 2000; 343: 856–862.
- AHMED, S.F., CHENG, A.; DOVEY, L.; HAWKINS, J.R.; MARTIN, H.; ROWLAND, J.; SHIMURA, N.; TAIT, A.D. & HUGHES, I.A. Phenotypic features, androgen receptor binding, and mutational analysis in 278 clinical cases reported as androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000; 85:658–665.
- AHSAN, M.K.; URANO, Y.; KATO, S.; OURA, H. & ARASE, S. Immunohistochemical localization of thyroid hormone nuclear receptors in human hair follicles and in vitro effect of L-triiodothyronine on cultured cells of hair follicles and skin. *J Med Invest*, 1998; 44: 179–184.
- ALEN, P.; CLAESSENS, F.; SCHOENMAKERS, E.; SWINNEN, J.V.; VERHOEVEN, G.; ROMBAUTS, W. & PEETERS B. Interaction of the putative androgen receptor-specific coactivator ARA<sub>70</sub>/ E1E1 $\alpha$  with multiple steroid receptors and identification of an internally deleted E1E1 $\beta$  isoform. *Mol Endocrinol*, 1999; 13: 117–128.
- ALLEN, L.S.; HINES, M.; SHRYNE, J.E. & GORSKI, R.A. Two sexually dimorphic cell groups in the human brain. *J Neurosci*, 1989; 9(2): 497–506.

- ANDREW, S.E.; GOLDBERG, Y.P. & HAYDEN, M.R. Rethinking genotype and phenotype correlations in polyglutamine expansion disorders. **Hum Mol Genet**, 1997; 6: 2005–2010.
- ARNOLD, A.P. Sexual differences in the brain. **Am Sci**, 1980; 80: 165–173.
- AZZIZ, R.; CARMINA, E. & SAWAYA, M.E. Idiopathic Hirsutism. **Endo Reviews**, 2000; 21(4): 347–362.
- BAARENDS, W.M.; VAN HEKNIBD, M.J.L.; POST, M.; VAN DER SCHOOT, P.J.C.M.; HOOGERBRUGGE, J.W.; DE WINTER, J.P.; UILENBROEK, J.T.J.; KARELS, B.; WILMING, L.G.; MEIJERS, J.H.C.; THEMEN, A.P.N. & GROOTEGOED, J.A. A novel member of the transmembrane serine/threonine kinase receptor family is specifically expressed in the gonads and in mesenchymal cells adjacent to the Müllerian duct. **Development**, 1994; 120: 189–197.
- BALE, P.M.; HOWARD, N.J. & WRIGHT, J.E. Male pseudohermaphroditism in XY children with female phenotype. **Pediatr Pathol**, 1992; 12: 29–49.
- BANGSBOLL, S.; QVIST, I.; LEBECH, P.E. & LEWINSKY, M. Testicular feminization syndrome and associated gonadal tumors in Denmark. **Acta Obstet Gynecol Scand**, 1992; 71(1): 63–6.
- BARBULESCU, K.; GESERICK, C.; SCHUTTKE, I.; SCHLEUNING, W-D. & HANDLER, B. New androgen response elements in the murine Pem promoter mediate selective transactivation. **Mol Endocrinol**, 2001; 15: 1803–1816.
- BARTHOLD, J.S.; KUMASI-RIVERS, K.; UPADHYAY, J.; SHEKARRIZ, B. & IMPERATO-MCGINLEY, J. Testicular position in the androgen insensitivity syndrome: implications for the role of androgens in testicular descent. **J Urol**, 2000; 164: 497–501.
- BENZ, D.J.; HAUSSLER, M.R.; THOMAS, M.A.; SPEELMAN, B. & KOMM, B.S. High affinity androgen binding and androgen regulation of alpha 1 procollagen and transforming growth factor beta steady state messenger ribonucleic acid levels in human osteoblast-like osteosarcoma cells. **Endocrinol**, 1991; 128: 2723–2730.

- BERENBAUM, S.A.; DUCK, S.C. & BRYK, K. Behavioral effects of prenatal versus postnatal androgen excess in children with 21-hydroxylase-deficient congenital adrenal hyperplasia. **J Clin Endocrinol Metab**, 2000; 85: 727–733.
- BERTELLONI, S.; BARONCELLI, G.I.; FEDERICO, G.; CAPPA, M.; LALA, R. & SAGGESE, G. Altered bone mineral density in patients with complete androgen insensitivity syndrome. **Horm Res**, 1998; 50: 309–314.
- BILEZIKIAN, J.P.; MORISHIMA, A.; BELL, J. & GRUMBACH, M.M. Increased bone mass as a result of estrogen therapy in a man with aromatase deficiency. **N Engl J Med**, 1998; 339: 599–603.
- BLOK, G.J.; DE BOER, H.; GOOREN, L.J. & VAN DER VENN, E.A. Growth hormone substitution in adult growth hormone-deficient men augments androgen effects on the skin. **Clin Endocrinol (Oxf)**, 1997; 47: 29–36.
- BOEHMER, A.L.M.; BRINKMANN, A.O.; NIERMEIJEI, M.F.; BAKKER, L.; HALLE, D.J.J. & DROP, S.L.S. Germ-line and somatic mosaicism in the androgen insensitivity syndrome: implications for genetic counseling. **Am J Hum Genet**, 1997; 60: 1003–1006.
- BOEHMER, A.L.M.; BRÜGGENWIRTH, H.; VAN ASSENDELFT, C.; OTTEN, B.J.; VERLEUN-MOOIJMAN, M.C.T.; NIERMEIJER, M.F.; BRUNNER, H.G.; ROUWÉ, C.W.; WAELKENS, J.J.; OOSTDIJK, W.; KLEIJER, W.J.; VAN DER KWAST, T.H.; VROEDE, M.A. & DROP, S.L.S. Genotype *Versus* Phenotype in Families with Androgen Insensitivity Syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, 2001; 86: 4151–4160.
- BRADLEY, S.J.; OLIVER, G.D.; CHERNICK, A.B. & ZUCKER, K.J. Experiment of nurture: ablation penis at 2 months, sex reassignment at 7 months, and a psychosexual follow-up in young adulthood. **Pediatrics**, 1998; 102: 91–95.
- BRAUNSTEIN, G.D.; RASIR, J. & WADE, M.E. Presence in normal human testes of a chorionic-gonadotropin-like substance distinct from human luteinizing hormone. **N Engl J Med**, 1975; 293: 1339–1343.

- BUZELIN, F.; KARAM, G.; MOREAU, A.; WETZEL, O. & GAILLARD, F. Testicular tumor and the acquired immunodeficiency syndrome. *Eur Urol*, 1994; 26(1): 71-6.
- CARANI, C.; QIN, K.; SIMONI, M.; FAUSTINI-FUSTINI, M.; SERPENTE, S.; BOYD, J.; KORACH, K.S. & SIMPSON, E.R. Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med*, 1997; 337(2): 91-5.
- CARROL, P.R.; MORSE, J.; KODURU, P.P.K. & CHAGANTI, R.S. Testicular germ cell tumor in patient with Klinefelter syndrome. *Urology*, 1988; 31: 72-74.
- CASSIO, A.; CACCIARI, E.; D'ERRICO, A.; BALSAMO, A.; GRIGIONI, F.W.; PASCUCCI, M.G.; BACCI, F.; TACCONI, M. & MANCINI, A.M. Incidence of intratubular germ cell neoplasia in androgen insensitivity syndrome. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1990; 123: 416-22.
- CHANG, Y.T.; MIGEON, C.J. & BROWN, T.R. Human androgen insensitivity due to androgen receptor gene point mutations in subjects with normal androgen receptor levels but impaired biological activity. In: 73rd ANNUAL MEETING OF THE ENDOCRINE SOCIETY, 1991, Washington DC. *Program of the 73rd Annual Meeting of The Endocrine Society*, 1991; p 37.
- CHANTILIS, S.J., MCQUITTY, D.A., PREMINGER, G.M. & MARSHBURN, P.B. Laparoscopic removal of gonads containing an occult seminoma in a woman with complete androgen resistance. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*, 1994; 1: 277-82.
- CHATELAIN, D.; RICARD, J.; CHIGHI, C.; COLOMBAT, M.; LECLERCQ, F.; CORDONNIER, C.; POUZAC, M.; SEVESTRE, H. & CONTIER, M.F. Plurifocal testicular hamartomas and testicular feminization syndrome. *Ann Pathol*, 2000; 20(6): 605-8.

- CHEN, C-P.; CHERN, S-R.; WANG, T-Y.; WANG, W.; WANG, K-L. & JENG, J-L. Androgen receptor gene mutations in 46,XY females with germ cell tumors. **Hum Repr**, 1999; 14: 664–670.
- CHEN, C-P.; CHERN, S-R.; CHEN, B-F.; WANG, W. & HWU, M.H. Hamartoma in a pubertal patient with complete androgen insensitivity syndrome and R(831)X mutation of androgen receptor gene. **Fertility and Sterility**, 2000; 182–183.
- CHU, J.; ZHANG, R.; ZHAO, Z.; AOU, W.; HAN, Y.; QI, Q.; ZHANG, H.; WANG, J.C.; TAO, S.; LIU, X. & LUO, Z. Male fertility is compatible with an Arg(840)Cys substitution in the *AR* in a large Chinese family affected with divergent phenotypes of *AR* insensitivity syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, 2002; 87: 347–351.
- COALLER, M.L. & HINES, M. Human behavioral sex differences: a role for gonadal hormones during early development. **Psych Bull**, 1995; 118: 55–107.
- COLLINS, G.M.; KIM, D.U.; LOGRONO, R.; RICKERT, R.R.; ZABLOW, A. & BREEN J.L. Pure seminoma arising in androgen insensitivity syndrome (testicular feminization syndrome): a case report and review of the literature. **Mod Pathol**, 1993; 6: 89–93.
- COLVARD, D.S.; ERIKSEN, E.F.; KEETING, P.E.; WILSON, E.M.; LUBAHN, D.B.; FRENCH, F.S.; RIGGS, B.L. & SPELSBERG, T.C. Identification of androgen receptors in normal human osteoblast-like cells. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 1989; 86(3): 854–7.
- COMAISH, J.S. The thyroid and hair growth. **Semin Dermatol**, 1985; 4: 4–8.
- CONTE, F.A.; GRUMBACH, M.M.; ITO, Y.; FISHER, C.R. & SIMPSON, E.R. A syndrome of female pseudohermaphroditism, hypergonadotropic hypogonadism and multicystic ovaries with missense mutations in the gene encoding aromatase (p450arom). **J Clin Endocrinol Metab**, 1994; 78: 1287–1292.

- CORSAN, G.H.; JOW, W.; KARACAN, M. & QASIN, S. Laparoscopic gonadectomy in complete androgen insensitivity syndrome. **J Am Assoc Gynecol Laparosc**, 1994; 2(1): 87–9.
- CORTES, D.; THORUP, J.M. & VISFELDT, J. Cryptorchidism: aspects of fertility and neoplasms. A study including data of 1,335 consecutive boys who underwent testicular biopsy simultaneously with surgery for cryptorchidism. **Horm Res**, 2001; 55: 21–7.
- DE SOUZA, A.Z.; MARIANGELA, M.; PERIN, P.M.; FILHO, F.M. & PERIN, L.F. Surgical treatment of congenital uterovaginal agenesis: Mayer–Rokitansky–Kuster–Hauser syndrome. **Int Sug**, 1987, 72: 45–7.
- DIAMOND, M. & SIGMUNDSON, H.K. Sex reassignment at birth. Long–term review and clinical implications. **Arch. Ped and Adol Med**, 1997; 151: 298–304.
- DIECKMANN, K.P. & SKAKKEBAEK, N.E. Carcinoma in situ of the testis: review of biological and clinical features. **Int J Cancer**, 1999; 83: 815–22.
- DITTMANN, R.W.; KAPPES, M.H.; KAPPERS, M.E.; BORGER, D.; STEGNER, H.; WILLIG, R.H. & WALLEES, H. Congenital adrenal hyperplasia II: gender–related behaviors and attitudes in female salt–wasting and simple–virilizing patients. **Psychoneuroendocrinology**, 1990; 15: 421–434.
- EBLING, F.J.G. Hair follicles and associated glands as androgen targets. **Clin Endocrinol Metab**, 1986; 15: 319–339.
- EHRHARDT, A.; GREENBERG, N. & MONEY, J. Female gender identity and absence of fetal gonadal hormones: Turner’s syndrome. **Johns Hopkins Med J**, 1970; 126: 237–248.
- EHRHARDT, A.A. & MEYER–BAHLBURG, H.F.L. Prenatal sex hormones and the developing brain: effects on psychosexual differentiation and cognitive function. **Ann Rev Med**, 1979; 30: 417–430.

- FONGER, J.D.; FILLER, R.M.; RIDER, W.D. & THOMAS, G.M. Testicular tumors in maldescendend testes. **Can J Surg**, 1981; 24: 353–355.
- FREEDMAN, L.P. Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. **Endocr Rev**, 1992; 13: 129–145.
- FREINKEL, R.K. & FREINKEL, N. Hair growth and alopecia in hypothyroidism. **Arch Dermatol**, 1972; 106: 349–345.
- GERMAN, J.; SIMPSON, J.L.; MORILLO–CUCCI, G.; PASSARGE, E. & DE MAYO, A.P. Testicular feminization and inguinal hernia. **Lancet**, 1973; 1: 891.
- GOODMAN, L.V. & LEDBETTER, S.R. Secretion of stromelysin by cultured dermal papilla cells: differential regulation by growth factors and functional role in mitogen-induced cell proliferation. **J Cell Physiol**, 1992; 151(1): 41-9.
- GORSKI, R.A. Sexual differentiation of the brain. **Hosp Pract**, 1978; 13(10): 55–62.
- GOTTLIEB, B.; PINSKI, L.; BEITEL, L.K. & TRIFIRO, M. Androgen Insensitivity. **Am J Med Genet**, 1999; 89: 210–217.
- GOTTLIEB, B. Androgen Receptor Gene Mutation Database. 2002. <http://ww2.mcgill.ca/androgendb/AR23C.pdf>. Acesso em 10 de março de 2002.
- GOY, R.W.; BERCOVITCH, F.B. & McBRAIR, M.C. Behavioral masculinization is independent of genital masculinization in prenatally androgenized female rhesus macaques. **Horm Behav**, 1988; 22:552–571.
- GRIFFIN, J.E. & WILSON, J.D. The syndromes of androgen resistance. **N Engl J Med**, 1980; 198–209.
- GRIFFIN, J.E. Androgen resistance - the clinical and molecular spectrum. **N Engl J Med**, 1992; 326(9): 611-8.



- GRIFFIN, J.E.; MCPHAUL, M.C.; RUSSELL & D.W., WILSON, J.D. The androgen resistance syndromes: steroid 5 $\alpha$ -reductase II deficiency, testicular feminization, and related disorders. In: **Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic and molecular basis of inherited disease. Vol II. New York: McGraw-Hill, Inc., 1995; 2967-2998.**
- GRIFFIN, J.E. & WILSON, J.D. Tumors testiculares. Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: **Wilson JD, Foster DW (eds) Willians Textbook of Clinical Endocrinology, 9<sup>th</sup> Edition, Saunders, Philadelphia, 1998; 819-875.**
- GRIGOR, K.M. A new classification of germ cell tumours of the testis. **Eur Urol**, 1993; 23(1): 93-100.
- GRUMBACH, M.M. & CONTE, F.A. Disorders of sex differentiation. In: **Wilson JD, Foster DW (eds) Willians Textbook of Endocrinology, 8<sup>th</sup> Edition, Saunders, Philadelphia, 1991; 853-951.**
- GRUMBERGER, W. The problem of extirpation of gonads in "testicular feminization syndrome". **Gebustshilfe Frauenheilkd**, 1981, 41(9): 627-629.
- HASS, G.G.Jr. Antibody-mediated causes of male infertility. **Urol Clin North Am**, 1987; 14: 539-550.
- HAINSWORTH, J.D. & GRECO, F.A. Testicular germ cell neoplasms. **Am J Med**, 1983; 75(5): 817-32.
- HANDA, N.; NAGASAKI, A.; TSUNODA, M.; OHGAMI, H.; KAWANAMI, T.; SUEISHI, K. & NAGOSHI, M. Yolk sac tumor in a case of testicular feminization syndrome. **J Pediat Surger**, 1995, 30:1366-1368.
- HARBISON, M.D.; MAGID, M.J.; JOSSO, N.; MININBERG, D.T. & NEW, M.I. Anti-Müllerian hormone in three intersex conditions. **Ann Genet**, 1991; 34: 226-232.

- HEADINGTON, J.T. Transverse microscopic anatomy of the human scalp. A basis for a morphometric approach to disorders of the hair follicle. **Arch Dermatol**, 1994; 120: 449–456.
- HELLWINKEL, O.J.; BULLK, K.; HOLTERHURS, P.M.; HOMBURG, N.; STRUVE, D. & HIORT, O. Complete Androgen Insensitivity caused by a splice site donor mutation in intron 2 of the human androgen receptor gene resulting in an exon 2–lacking transcript with premature stop–codon and reduced expression. **J Steroid Biochem Mol Biol**, 1999; 68: 1–9.
- HENDERSON, B.E.; BENTON, B.; JING, J. & PIKE, M.C. Risk factors for cancer of the testis in young men. **Int J Cancer**, 1979; 23: 589–602.
- HENSLE, T.W. & REILEY, E.A. Vaginal replacement in children and young adults. **J Urology**, 1998; 159: 1035–1038.
- HIORT, O.; SINNECKER, G.H.; HOLTERHUS, P.M.; NITSCHKE, E.M. & KRUSE, K. Inherited and de novo androgen receptor gene mutations: investigation of single–case families. **J Pediatr**, 1998; 82: 939–943.
- HIORT, O. & HOLTERHUS, P.M. Molecular basis of male sexual differentiation. **Eur J Clin Endocrinol**, 2000; 142: 101–110.
- HIORT, O.; HOLTERHUS, P.M.; HORTER, T.; SCHULZE, W.; KREMKE, B.; BALS–PRASCH, M.; SINNECKER, G.H.G. & KRUSE, K. Significance of mutations in the androgen receptor gene in males with idiopathic infertility. **J Clin Endocrinol Metab**, 2000; 85: 2810–2815.
- HOLTERHUS, P.M.; BRUGGENWIRTH, H.T.; HIORT, O.; KLEINKAUF–HOUCKEN, A.; KRUSE, K.; SINNECKER, G.H.G. & BRINKMANN, A.O. Mosaicism due to a somatic mutation in the androgen receptor gene determines phenotype in androgen insensitivity syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, 1997; 82: 3584–3589.

- HORCHER, E.; GRUNBERGER, W. & PARSchALK, O. Classical seminoma in a case of testicular feminization syndrome. **Prog Pediatr Sug**, 1983; 16: 139–141.
- HORTON, R.; PASUPULETTI, V. & ANTONIPILLAI, I. Androgen induction of steroid 5 $\alpha$ -reductase may be mediated via insulin-like growth factor-I. **Endocrinology**, 1993; 133: 447–451.
- HORWITZ, K.B.; JACKON, T.A.; BAIN, D.L.; RICHER, J.K.; TAKIMOTO, G.S. & TUNG, L. Nuclear receptor coactivators and corepressors. **Mol Endocrinol**, 1996; 10: 1167–1677.
- HURT, W.G.; BODURTHA, J.N.; MCCALL, J.B. & ALI, M.M. Seminoma in pubertal patient with androgen insensitivity syndrome. **Am J Obstet Gynecol**, 1989; 161: 530–1.
- HUTSON, J.M.; TERADA, M.; ZHOU, B. & WILLIAMS, M.P. Normal testicular descent and the etiology of cryptorchidism. **Adv Anat Embryol Cell Biol**, 1996; 132: 1-56.
- IKONEN, T.; PALVIMO, J. & JANEN, O.A. Interaction between the amino and carboxyl-terminal regions of the rat androgen receptor modulates transcriptional activity and is influenced by nuclear receptor coativators. **J Biol Chem**, 1997; 272: 29821–29828.
- JANIELLO, G. & ATWELL, J.D. Prevalence of testicular feminization. **Lancet**, 1962; 1:329.
- JANKOVIC, S.M. & JANKOVIC, S.V. The control of hair growth. **Dermatol Online J**, 1998;4:2.
- KASPERK, C.; FITZSIMMONS, R.; STRONG, D.; MOHAN, S.; JENNINGS, J.; WERGEDAL, J. & BAYLINK, D.J. Studies of the mechanism by which androgens enhance mitogenesis and differentiation in bone cells. **J Clin Endocrinol Metab**, 1990; 71: 1322–1329.

- KNOKE, I.; ALLERA, A. & WIEACKER, P. Significance of the CAG repeat length in the androgen receptor gene (*AR*) for the transactivation function of an M780I mutant AR. **Hum Genet**, 1999; 104(3): 257–61.
- KO, H.M.; CHUNG, J.H.; LEE, J.H.; CHOI, I.S.; JUHNG, S.W. & CHOI, C. Androgen receptor gene mutation associated with complete insensitivity syndrome and Sertoli cell adenoma. **Int J Gynecol Pathol**, 2001; 20(2): 196–199.
- KULA, K. Sexual differentiation of the human brain. **Przegl Lek**, 2000 57: 41–4.
- KUMAR, R. & THOMPSON, E.B. The structure of nuclear hormone receptors. **Steroids**, 1999; 64: 310–319.
- KUNKEL, L.M.; SMITH, K.D.; BOYER, S.H.; BORGAONKAR, D.S.; WACHTEL, S.S.; MILLER, O.J.; BREG, W.R.; JONES JR, H.W. & RARY, J.M. Analysis of human Y-chromosome-specific reiterated DNA in chromosome variants. **Proc Natl Acad Sci USA**, 1977; 74: 1245–1249.
- LA SPADA, A.R.; WILSON, E.M.; LUBAHN, D.B.; HARDING, A.E. & FISHBECK, K.H. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. **Nature**, 1991; 352: 77–79.
- LANGE, P.H.; MCINTIRE, K.R.; WALDMANN, T.A.; HAKALA, T.R. & FRALEY, E.E. Serum alpha fetoprotein and human chorionic gonadotropin in the diagnosis and management of nonseminomatous germ-cell testicular cancer. **N Engl J Med**, 1976; 295(22): 1237–40.
- LECCA, U.; PARODO, G.; FIORE, R. & MARTINO, E. Embryonal carcinoma in two cases of androgen insensitivity syndrome: clinical, endocrinological and pathological features. **Eur J Gynaecol Oncol**, 1988; 9(6): 489–496.
- LEFEVRE, R.E.; LEVIN, H.S.; BANOWSKY, L.H.; STRAFFON, R.A.; STEWART, B.H. & HEWITT, C.B. Bilateral testicular tumors of germ cell origin. **J Urol**, 1975; 114: 556–559.

- LEVIN, H.S. Tumors of the testis in intersex syndromes. *Urol Clin of North America*, 2000; 27:543–551.
- LeVAY, S. A difference in hypothalamic structure between heterosexual and homosexual men. *Science*, 1991; 253(5023): 1034–7.
- LYON, M.F. & HAWKES, S.G. X-linked gene for testicular feminization in the mouse. *Nature*, 1970; 227(5264): 1217-9.
- LOBACCARO, J.M.; BELON, C.; LUMBROSO, S.; LOEWNICZACK, G.; CARREPIGEON, F.; JOB, J.C.; CHAUSSAIN, J.L.; TOUBLANC, J.E. & SULTAN, C. Molecular prenatal diagnosis of partial androgen insensitivity syndrome based on the Hind III polymorphism of the androgen receptor gene. *Clin Endocrinol*, 1994; 40: 295–296.
- LUBHAN, D.B.; BROWN, T.R.; SIMENTAL, J.A.; HIGGS, H.N.; MIGEON, C.J.; WILSON, E.M. & FRENCH, F.S. Sequence of the intron/exon junctions of the coding region of the human androgen receptor gene and identification of a point mutation in a family with complete androgen resistivity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; 86: 9534–9538.
- LUKUSA, T.; FRYNS, J.P.; KLECZKOWSKA, A. & VAN DER BERGHE, H. Role of gonadal dysgenesis in gonadoblastoma induction in 46,XY individuals. The Leuven experience in 46,XY pure gonadal dysgenesis and testicular feminization syndromes. *Genet Counts*, 1991; 2(1): 9–16.
- LUMBROSO, R.; BEITEL, L.K.; VASILIOU, D.M.; TRIFIRO, M.A. & PINSKY, L. Codon–usage variants in the polymorphic (GGN)<sub>n</sub> trinucleotide repeat of the human androgen receptor gene. *Hum Genet*, 1997; 101: 43–46.
- MAHTANI, M.M.; LAFRENIERE, R.G.; KRUSE, T.A. & WILLARD, H.F. An 18-locus linkage map of the pericentromeric region of the human X chromosome: genetic framework for mapping X-linked disorders. *Genomics*, 1991; 10(4): 849-57.

- MANUEL, M.; KATAYAMA, K.P. & JONES JR. H.W. The age of occurrence of gonadal tumors in intersex patients with a Y chromosome. **Am J Obstet Gynecol**, 1976; 124: 239–300.
- MARCUS, R.; LEARY, D.; SCHNEIDER, D.L.; SAHNE, E.; FAVUS, M. & QUIGLEY, C.A. The contribution of testosterone to skeletal development and maintenance: Lessons from the androgen insensitivity syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, 2000; 85: 032–1037.
- MARSHALL, A.H.E. & DAYAN, A.D. An immune reaction in man against seminomas, dysgerminomas, pinealomas, and the mediastinal tumours of similar histological appearance? **Lancet**, 1964; 2: 1102-1104.
- MASICA, D.N.; MONEY, J. & EHRHARDT, A.A. Fetal feminization and female gender identity in the testicular feminizing syndrome of androgen insensitivity. **Arch Sex Behav**, 1971; 1: 131–142.
- McINDOE, A. Treatment of congenital absence and obliterative conditions of vagina. **Brit. J Plast Surg**, 1950; 2: 254.
- McINTOSH, I.; HAMOSH, A. & DIETZ, H.C. Nonsense mutations and diminished mRNA levels. **Nat Genet**, 1993; 4: 219.
- McPHAUL, M.J.; MARCELLI, M.; ZOPPI, S.; GRIFFIN, J.E. & WILSON, J.D. Genetic basis of endocrine disease. 4. The spectrum of mutations in the androgen receptor gene that causes androgen resistance. **J Clin Endocrinol Metab**, 1993; 76(1): 17-23.
- McPHAUL, M. Molecular defects of the androgen receptor. **J Steroid Biochem Mol Biol**, 1999; 69: 315–322.
- McPHAUL, M. & GRIFFIN, J.E. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of the human androgen receptor. **J Clin Endocrinol Metab**, 1999; 84: 3435–3450.
- MELO, K.F.; LATRONICO, A.C.; COSTA, E.M.; BILLERBECK, A.E.; MENDONÇA, B.B. & ARNHOLD, I.J. A novel point mutation (R840S) in the androgen receptor in a Brazilian family with partial androgen insensitivity syndrome. **Hum Mutat**, 1999; 14(4): 353.

- MEYER-BAHLBURG, H.F.L. Gender identity development in intersex patients. **Child Adolesc Psychiatric Clin N Am**, 1993; 2: 501–512.
- MEYER-BAHLBURG, H.F.L. Gender assignment in intersexuality. **J Psychol Hum Sex**, 1998; 10: 1–21.
- MIGEON, B.R.; BROWN, T.R.; AXELMAN, J. & MIGEON, C.J. Studies of the locus for androgen receptor: localization on the human X chromosome and evidence for homology with the Tfm locus in the mouse. **Proc Natl Acad Sci USA**, 1981; 78(10): 6339–43.
- MIGEON, C.J. & WISNIEWSKI, A.B. Sexual differentiation: from genes to gender. **Horm Res**, 1998; 50: 245–251.
- MIZUNUMA, H.; SODA, M.; OKANO, H.; KAGAMI, I.; MIYAMOTO, S.; OHSAWA & IBUKI, Y. Changes in bone mineral density after orchidectomy and hormone replacement in individuals with androgen insensitivity syndrome. **Human Reprod**, 1998; 13: 2816–2818.
- MOEN, M.H. Creation of a vagina by repeated coital dilation in four teenagers with vaginal agenesis. **Acta Obstet Gynecol Scand**, 2000; 79:149–150.
- MOLLER, M.B.; d'AMORE, F. & CHRISTENSEN, B.E. Testicular lymphoma: a population-based study of incidence, clinicopathological correlations and prognosis. The Danish Lymphoma Study Group, LYFO. **Eur J Cancer**, 1994; 30A: 1760–11764.
- MONEY, J.; HAMPSON, J.G.; & HAMPSON, J.L. Hermaphroditism: recommendations concerning assignment of sex, change of sex, and psychologic management. **Bull Johns Hopkins Med**, 1957; 97:284–300.
- MONEY, J.; EHRHARDT, A.A & MASICA, D.N. Fetal feminization induced by androgen insensitivity in the testicular feminizing syndrome: effect on marriage and maternalism. **Johns Hopkins Med J**, 1968; 123: 160–67.

- MONEY, J.; SCHWARTZ, M. & LEWIS, V. Adult erotosexual status and fetal hormonal masculinization and demasculinization: 46,XX congenital virilizing adrenal hyperplasia and 46,XY androgen-insensitivity syndrome compared. **Psychoneuroendocrinology**, 1984; 9: 405–414.
- MONEY, J. In: **Sex errors of the body and related syndromes: a guide to counseling children, adolescents, and their families**. 2<sup>nd</sup> ed. Baltimore, MD: Paul H. Brookes Publishing Co; 1994.
- MOSTOFI, F.K. Pathology of germ cell tumors of testis: a progress report. **Cancer**, 1980; 45: 1735–1754.
- MORISHIMA, A.; BRUMBAACH, M.M.; SIMPSON, E.R.; FISHER, C. & QIN, K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. **J Clin Endocrinol Metab**, 1995; 80: 3689–3598.
- MORRIS, J.M. The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphrodites. **Am J Obstet Gynecol**, 1953; 65: 1192–1211.
- MULLER, J. & SKAKKEBAEK, N.E. Testicular carcinoma in-situ in children with androgen insensitivity (testicular feminization) syndrome. **Br Med J**, 1984; 288: 1419–20.
- MUNOZ-TORRES, M.; JODAR, E.; QUESADA, M. & ESCOBAR-JIMENEZ, F. Bone mass in androgen-insensitivity syndrome: response to hormonal replacement therapy. **Calcif Tissue Inst**, 1995; 57: 94–96.
- NATARAJAN, N. Medical ethics and truth telling in the case of androgen insensitivity syndrome. **Can Med Assoc J**, 1996; 154: 568–570.
- NITSCHKE, E.M. & HIORT, O. The Molecular Basis of Androgen Insensitivity. **Horm Res**, 2000; 54: 327–333.



- ONG, Y.C.; WONG, H.B.; ADAIKAN, G. & YONG, E.L. Directed pharmacological therapy of ambiguous genitalia due to an androgen receptor gene mutation. **Lancet**, 1999; 354: 1444–1445.
- ORWOLL, E. & KLEIN, R. Osteoporosis in men: epidemiology, pathophysiology, and clinical characterization. In: MARCUS, R.; FELDMAN, D.; KELSEY, J., eds. **Osteoporosis**. San Diego: Academic Press, 1996; 724–784.
- PARSONS, J.K.; GEARHART, S.L. & GEARHART, J.P. Vaginal reconstruction utilizing sigmoid colon: Complications and long-term results. **J Pediatr Surg**, 2002; 37(4): 629–33.
- PERGAMENT, E.; HEIMLER, A. & SHAH P. Testicular feminization and inguinal hernia. **Lancet**, 1973; 2:740–741.
- PHILPOTT, M.P.; SANDERS, D.A. & KEALEY, T. Effects of insulin and insulin-like growth factors on cultured human hair follicles: IGF-I at physiologic concentrations is an important regulator of hair follicle growth in vitro. **J Invest Dermatol**, 1994; 106: 391–396.
- PINKERTON, C.R. Malignant germ cell tumours. In: Plowman N, Pinkerton CR, eds. **Paediatric oncology—Clinical practice and controversies**. London: Chapman and Hall, 1992.
- PINSKY, L.; BEITEL, L.K.; KAZEMI-ESFARJANI, P.; LUMBROSO, R.; VASILIOU, D.M.; SHKOLNY, D.; ABDULLAH, A.A.R.; GOTTLIEB, B. & TRIFFIRO, M.A. Lessons from androgen receptor gene mutations that cause androgen resistance in humans. **Frontiers Endocrinol**, 1996; 20: 95–114.
- QUIGLEY, C.A.; DE BELLIS, A.; MARSCHKE, K.B.; EL-AWADY, M.K.; WILSON, E.M. & FRENCH, F.S. Androgen receptor defects: historical, clinical and molecular perspectives. **Endocr Rev**, 1995; 16: 271–321.
- QUINT, E.H. & STRICKLAND, J.L. Management Quandary: Testicular Feminization. **J Pediatr Adoles Gynecol**, 2001; 14: 99–100.

- RAMANI, P. Testicular intratubular germ cell neoplasia in children and adolescents with intersex. **Am J Sug Pathol**, 1993; 17(11): 1124–1133.
- RANDALL, V.A. Androgens and human hair growth. **Clin Endocrinol (Oxf)**, 1994; 40: 439–457.
- REINER, W.G. Assignment of sex in neonates with ambiguous genitalia. **Curr Opin Pediatr**, 1999; 11: 363–365.
- RICHARDS, M. The troubled Helix: Social and psychological implications of the new human genetics. In: **Families, kinship and genetics Marteau T and Richards M (eds) Cambridge University Press**, 1996; 249–271.
- RODIEN, P.; MEBARKI, F.; MOWSZOWICZ, J.; CHAUSSAIN, J-L.; YOUNG, J.; MOREL, Y. & SCHAISON, G. Different phenotypes in a family with androgen insensitivity caused by the same M780I point mutation in the androgen receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab**, 1996; 81: 2994–2998.
- RUBINOW, D.R. & SCHMIDT, P.J. Androgens, brain, and behavior. **Am J Psychiatry**, 1996; 153:974–984.
- RUTGERS, J.L. & SCULLY, R.E. The androgen insensitivity syndrome (testicular feminization): a clinicopathologic study of 43 cases. **Int J Gynecol Pathol**, 1991; 10(2): 126–44.
- SANCHEZ-MARTIN, R.; MOLINA, E.; CERDA, J.; NAVASCUES, J.A.; BARRIENTOS, G.; ROMERO, R. & VAZQUEZ, J. Sigmoid neovagina: apropos of 2 cases. **Cir Pediatr**, 1999; 12: 83–87.
- SINNECKER, G.H.; HIORT, O.; NISCHE, E.M.; HOLTERHUS, P.M. & KRUSE, K. Functional assessment and clinical classification of androgen sensitivity in patients with mutations of the androgen receptor gene. Germany Collaborative Intersex Study Group. **Eur J Pediatr**, 1997; 156: 7–14.

- SLIJPER, F.M.E.; FRETTS, P.G.; BOEHMER, A.L.M.; DROP, S.L.S. & NIERMEIJER, M.F. Androgen Insensitivity Syndrome (AIS): Emotional reactions of parents and adult patients to the clinical diagnosis of AIS and its confirmation by androgen receptor gene mutations analysis. **Horm Res**, 2000; 53: 9–15.
- SLOWIKOSWKA–HILCZER, J., WALCZAK–JERDRZEUSKA, R. & KULA, K. Immunohistochemical diagnosis of preinvasive germ cell cancer of the testis. **Folia Histochem Cytobiol**, 2001; 39(2): 67–72.
- SMITH, E.P.; BOYD, J.; FRANK, G.R.; TAKAHASHI, H.; COHEN, R.M.; SPECKER, B.; WILLIAMS, T.C.; LUBAHN, D.B. & KORACH, K.S. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen receptor gene in a man. **N Engl J Med**, 1994; 331: 1056–1061.
- SOULE, S.G.; CONWAY, G., PRELEVIC, G.M.; PRENTICE, M.; GINSBURG, J. & JACOBS, H.S. Osteopenia as a feature of the androgen insensitivity syndrome. **Clin Endocrinol**, 1995; 43: 671–675.
- SPENCER, J.A.; WATSON, J.M.; LUBAHN, D.B.; JOSEPH, D.R.; FRENCH, F.S.; WILSON, E.M. & GRAVES, J.A. The androgen receptor gene is located on a highly conserved region of the X chromosomes of marsupial and monotreme as well as eutherian mammals. **J Hered**, 1991; 82(2): 134–139.
- STEPHENS, J.D. Prenatal diagnosis of testicular feminisation. **Lancet**, 1984; 2(8410): 1038.
- SULTAN, C.; LUMBROSO, S.; POUJOL, N.; BELON, C. & LOBACCARO, J.M. Mutations of androgen receptor gene in androgen insensitivity syndromes. **J Steroid Biochem Mol Biol**, 1993; 46: 519–530.
- SWAAB, D.F. & FLIERS, E. A sexually dimorphic nucleus in the human brain. **Science**, 1985; 228(4703): 1112–1115.
- TALERMAN, A. Endodermal sinus (yolk sac) tumor elements in testicular germ-cell tumors in adults: comparison of prospective and retrospective studies. **Cancer**, 1980; 46(5): 1213–7.

- TANAKA, S.; HAJI, M.; NISHI, Y.; YANASE, T.; TAKAYANAGI, R. & NAWATA, H. Aromatase activity in human osteoblast-like cells. **J Clin Endocrinol Metab**, 1993; 52: 107–109.
- TRAPMAN, J. Molecular basis of androgen insensitivity. **Steroids**, 1996; 61: 172–175.
- ULBRIGHT, TM. Testis risk and prognostic factors. The pathologist's perspective. **Urologic Clin of North Amer**, 1999; 3: 612–627
- ULLOA-AGUIRRE, A.; CARRANZA-LIRA, S.; MENDES, J.P.; ANGELES, A.; CHAVEZ, B. & PEREZ-PALACIOS, G. Incomplete regression of Müllerian ducts in the androgen insensitivity syndrome. **Fertil Steril**, 1990; 53: 1024–1028.
- UNO, H. Biology of hair growth. **Semin Reprod Endocrinol**, 1986; 4: 131–141.
- VINER, R.M.; TEOH, Y.; WILLIAMS, D.M.; PATTERSON, M.N. & HUGHES, I.A. Androgen insensitivity syndrome: a survey of diagnostic procedures and management in the UK. **Arch Dis Child**, 1997; 77: 305–9.
- WALLEN, K. Nature needs nurture: the interaction of hormonal and social influences on the development of behavioral sex differences in rhesus monkeys. **Horm Behav**, 1996; 30: 364–378.
- WARNE, G.L.; ZAJA, D. & MacLEAN, H.E. Androgen insensitivity syndrome in the era of molecular genetics and the internet: a point of view. **J Ped Endocrinol & Metabol**, 1998; 11:3–9.
- WEIDEMANN, W.; PETERS, B.; ROMAL, G.; SPINDLER, K.D. & SCHWEIDERT, H.U. Response to androgen treatment in a patient with partial androgen insensitivity and a mutation in the deoxyribonucleic acid-binding domain of the androgen receptor. **J Clin Endocrinol Metab**, 1998; 83: 1173–1176.
- WILSON, J.D. The role of androgens in male gender role behavior. **Endocr Rev**, 1999; 20: 726–737.

- WISNIEWSKI, A.B.; MIGEON C.J.; MEYER-BAHLBURG, H.F.L.; GEARHART, J.P., BERKOVITZ, G.D.; BROWN, T.R. & MONEY, J. Complete androgen insensitivity syndrome: long term medical, surgical, and psychosexual outcome. **J Clin Endocrinol Metab**, 2000; 85: 2664–2669.
- WYSOCKA, B.; SERKIES, K.; DEBNIAL, J.; JASSEM, J. & LIMON, J. Sertoli cell tumor in androgen insensitivity syndrome – A case report. **Gynecol Oncol**, 1999; 75: 480–483.
- YEH, S. & CHANG, C. Cloning and characterization of a specific coactivator ARA<sub>70</sub> for the androgen receptor in human prostate cells. **Proc Natl Acad Sci USA**, 1996; 93: 5517–5521.
- ZACHMANN, M.; PRADER, A.; SOBEL, E.H.; CRIGLER, J.F. JR.; RITZEN, E.M.; ATARES, M. & FERRANDEZ, A. Pubertal growth in patients with androgen insensitivity: indirect evidence for the importance of estrogens in pubertal growth of girls. **J Pediatr**, 1986; (Pt 1): 649–647.
- ZAVALA-POMPA, A.; RO, J.Y.; EL-NAGGAR, A.; ORDÓÑEZ, N.G.; AMIN, M.B.; PIERCE, P.D. & AYALA, A.G. Primary carcinoid tumor of testis. Immunohistochemical, ultrastructural, and DNA flow cytometric study of three cases with a review of the literature. **Cancer**, 1993; 72(5): 1726-32.
- ZENTENO, J.C.; CHAVEZ, B.; VILCHIS, F. & KOFMAN-ALFARO, S. Phenotypic heterogeneity associated with identical mutations in residue 870 of the androgen receptor. **Horm Res**, 2002; 57(3–4): 90–3.
- ZHANG, Z.F.; VENA, J.E.; ZIELEZNY, M.; GRAHAM, S.; HAUGHEY, B.P.; BRASURE, J. & MARSHALL, J.R.. Occupational exposure to extreme temperature and risk of testicular cancer. **Arch Environ Health**, 1995; 50: 13–18.
- ZHU, Y-S.; CAI, L-Q.; CORDERO, J.J.; CANOVATCHEL, W.J.; KATZ, M.D. & IMPERATO-MCGINLEY, J.I. A novel mutation in the CAG triplet region of exon 1 of androgen receptor gene causes complete androgen insensitivity syndrome in a large kindred. **J Clin Endocrinol and Metab**, 1999; 84: 1590–1594.

ZOPPI, S.; MARCELLI, M.; DESLYPERE, P-P.; GRIFFIN, J.E.; WILSON, J.D. & McPHAUL, M.J. Amino acid substitutions in the DNA-binding domain of the human androgen receptor are a frequent cause of receptor-binding positive androgen resistance. **Mol Endocrinol**, 1992; 6: 409-415.

ZUCKER, K.J.; BRADLEY, S.J.; OLIVER, G.; BLAKE, J.; FLEMING, S. & HOOD, J. Psychosexual development of women with congenital adrenal hyperplasia. **Horm Behav**, 1996; 30: 300-318.