

Mutações Ativadoras do Gene do Receptor do Hormônio Luteinizante em Meninos com Testotoxicose

Ana Claudia Latronico

RESUMO

A testotoxicose é uma forma rara de puberdade precoce familiar em meninos com herança autossômica dominante. Os caracteres sexuais secundários ocorrem geralmente antes dos 4 anos de idade. Nesta condição, níveis puberais de testosterona estão associados a níveis suprimidos ou pré puberais de gonadotrofinas. Diversas mutações ativadoras de linhagem germinativa no exon 11 do gene do receptor do LH têm sido descritas em meninos com testotoxicose. O estudo molecular de 8 meninos brasileiros com testotoxicose evidenciou 5 diferentes mutações, sendo três delas identificadas exclusivamente no Brasil: Ala568Val, Leu457Arg e Leu368Pro, localizadas, respectivamente, na terceira alça intracelular e nas hélices transmembranas III e I do receptor do LH. A mutação Ala568Val foi identificada em 42,8 % das famílias brasileiras. Mulheres portadoras de mutações ativadoras, mães ou irmãs de meninos com testotoxicose, não desenvolvem puberdade precoce e apresentam função reprodutiva normal. Duas mulheres brasileiras, incluindo uma menina em idade pré puberal, com mutações ativadoras do receptor do LH eram assintomáticas e apresentaram perfil hormonal normal. Mutações ativadoras somáticas do gene do receptor do LH foram recentemente identificadas em 3 meninos com tumores das células de Leydig. Contudo, um estudo recente não evidenciou tais mutações em 4 tumores de células de Leydig, 3 tecomas e 4 tumores de Sertoli-Leydig. Em conclusão mutações ativadoras germinativas e somáticas do gene do receptor do LH causam puberdade precoce e tumores das células de Leydig, respectivamente. Enquanto mutações semelhantes no sexo feminino não determinam fenótipo anormal. (Arq Bras Endocrinol Metab 2001;45/1:58-63)

Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento e Laboratório de Hormônios e Genética Molecular, Departamento de Clínica Médica, Disciplina de Endocrinologia e Metabologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

Unitermos: Puberdade precoce; LH; Receptor; Gonadotrofinas; Tumores gonadais.

ABSTRACT

Testotoxicosis is a rare form of familial precocious puberty in boys with autosomal dominant inheritance. Secondary sexual features usually occur before 4 years of age. In this condition, testosterone are elevated with suppressed or prepubertal gonadotropin levels. Several germline activating mutations in exon 11 of the LH receptor gene have been described in boys with testotoxicosis. The molecular analysis of 8 Brazilian boys with testotoxicosis revealed 5 different mutations, 3 of them identified exclusively in Brazil: Ala568Val, Leu457Arg, and Leu368Pro, located in the third intracellular loop and in the III and I transmembrane helices, respectively. The Ala568Val mutation was found in 42.8% of the Brazilian families. Women with activating mutations, mother or sisters of boys with testotoxicosis, did not develop precocious puberty and showed normal reproductive function. Two Brazilian women, including a prepubertal girl with activating mutations, were asymptomatic and had normal hormonal profile. Somatic activating mutations of the LH receptor gene were recently identified in 3 boys with Leydig cell tumors. However, a recent report did not find such mutations in 4 Leydig tumors, 3 tecomas and 4

*Recebido em 29/01/01
Aceito em 31/01/01*

Sertoli-Leydig tumors. In conclusion, germline and somatic activating mutations of the LH receptor gene cause male precocious puberty and Leydig cell tumors, respectively. In contrast, similar mutations in females do not cause any abnormal phenotype. (Arq Bras Endocrinol Metab 2001;45/1:58-63)

Keywords: Precious puberty; LH; Receptor; Gonadal tumors.

APUBERDADE PRECOCE FAMILIAL de acometimento restrito ao sexo masculino, também conhecida como testotoxicose ou pela sigla FMPP (*familial male-limited precocious puberty*), é uma forma rara de desenvolvimento isossexual precoce em meninos (1-3). Esta condição genética de herança autossômica dominante é caracterizada por níveis elevados de testosterona, independentes da regulação do eixo hipotálamo-hipofisário (2,3). Portanto, níveis puberais de testosterona estão associados a valores pré-puberais ou mesmo suprimidos das gonadotrofinas, indicando uma anormalidade de origem testicular (1,2).

Os caracteres sexuais secundários aparecem freqüentemente nos primeiros quatro anos de vida nos meninos com testotoxicose (1-3). O fenótipo, caracterizado pelo aumento testicular, virilização exagerada e aceleração do crescimento linear e da idade óssea, é decorrente do aumento da produção androgênica pelas células de Leydig hiperplasiadas (3). Na década de 80, a evidência da anomalia testicular bilateral induziu à hipótese de uma ativação das células de Leydig por imunoglobulinas com atividade semelhante ao LH (1,2). Contudo, a análise do soro dos pacientes com testotoxicose pela técnica de imunofluorescência indireta e a realização de bioensaios não foram capazes de comprovar a existência de qualquer fator peptídeo com função semelhante ao LH (2). Somente no início da década de 90, o mecanismo genético específico da testotoxicose foi esclarecido por Shenker e cols. (3), quando a troca de um único nucleotídeo, adenina (A) por guanina (G), no gene do receptor do LH resultou na substituição do aminoácido aspartato por glicina na posição 578 (mutação Asp578Gly) do receptor do LH em 8 famílias americanas com testotoxicose. Neste estudo, os autores demonstraram que células mamíferas que expressavam transitoriamente o DNA complementar contendo a mutação Asp578Gly, apresentavam um aumento significativo da produção de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) na ausência do LH, em relação às células que expressavam o DNA complementar do receptor selvagem, indicando pela

primeira vez uma atividade autônoma das células de Leydig e, portanto, que a testotoxicose é causada por mutações germinativas ativadoras do gene do receptor LH (3).

O RECEPTOR DO LH

Os hormônios hipofisários LH e FSH pertencem à família dos hormônios glicoprotéicos, que também inclui os hormônios tireotrófico (TSH) e a gonadotrofina coriônica (hCG). Os hormônios glicoprotéicos são compostos por duas cadeias unidas por pontes de hidrogênio. A cadeia alfa possui uma seqüência comum aos 4 hormônios, enquanto a cadeia beta é característica de cada hormônio glicoprotéico e confere a especificidade de ligação aos receptores. Os efeitos dos hormônios glicoprotéicos são mediados por receptores localizados na membrana plasmática, que ativam a enzima adenil ciclase através da ligação à proteína Gs.

O LH e o hCG exercem seus efeitos biológicos através de um único receptor localizado na membrana citoplasmática (4). O receptor maduro do LH/hCG é um polipeptídeo de 674 aminoácidos, caracterizado por uma estrutura composta de três domínios: o extenso domínio extracelular aminoterminal, o domínio intermediário composto de sete segmentos helicoidais de propriedade hidrofóbica, interligados por 3 alças extracelulares e 3 alças intracelulares, e o curto domínio intracelular carboxi-terminal (4,5). Aproximadamente metade dos aminoácidos do receptor do LH está presente no domínio hidrofílico extracelular aminoterminal. Este domínio contém diversas repetições de leucina envolvidas com a interação peptídica. De fato, a expressão isolada do domínio amino-terminal do receptor do LH em células transfectadas, é suficiente para ligação com os agonistas (LH ou hCG) com a mesma afinidade quando comparada à do receptor completo (5).

O GENE DO RECEPTOR DO LH

Minegishi e cols. (4), em 1990, isolaram e seqüenciaram o DNA complementar do receptor humano do LH/hCG (LH/hCG-R). O gene humano do LH/hCG-R está localizado no braço curto do cromossomo 2 (2p21) e sua organização estrutural do gene do LH-R caracteriza-se por 11 exons e 10 introns (4,5). Os primeiros 10 exons codificam a maior parte do domínio amino-terminal extracelular do receptor, enquanto o extenso exon 11 (>1000pb) codifica aproximadamente 50 resíduos do domínio

extracelular, os sete segmentos do domínio transmembranoso e toda a região intracitoplasmática carboxiterminal do receptor do LH (5).

A íntima semelhança estrutural e topográfica entre os genes dos receptores do LH, FSH e TSH reforça a teoria de um gene ancestral comum. Alinhados, estes genes apresentam maior semelhança na porção transmembranosa e carboxiterminal (aproximadamente 70% de homologia) comparado à porção aminoterminal (aproximadamente 42% de homologia) (5).

MUTAÇÕES ATIVADORAS DO RECEPTOR DO LH

Após a identificação da primeira mutação ativadora do gene do receptor do LH em 1993, diversas mutações foram identificadas em mais de 60 famílias com testotoxicose (3,5-18). Todas as mutações ativadoras identificadas em meninos com testotoxicose, até o momento, estão localizadas no exon 11 do gene do receptor LH (5-7).

Um extenso estudo molecular de 32 famílias com testotoxicose, procedentes dos Estados Unidos, Hong Kong, Canadá e Escócia, demonstrou que a mutação Asp578Gly é a mais freqüente nos meninos americanos com testotoxicose familiar, representando 78 a 90% dos casos (6). A região compreendida entre os nucleotídeos 1624 a 1741 do gene do receptor do LH, correspondente ao intervalo entre o quinto e o sexto segmentos transmembranosos da proteína, foi a região mais acometida pelas mutações ativadoras (6). Recentemente, Kremer e cols. (7) identificaram 7 mutações diferentes

no gene do receptor LH em 12 de 17 meninos com testotoxicose (8 casos familiares e 9 esporádicos) de origem principalmente européia. As 7 mutações identificadas neste estudo foram previamente publicadas, sugerindo um limitado repertório de mutações ativadoras do receptor do LH no continente europeu (7). Duas mutações foram identificadas neste estudo mais de uma vez: a mutação Met398Thr identificada em 2 famílias alemãs e em 1 família italiana e a mutação Iso542Leu identificada em 4 famílias holandesas (7). Em contraste ao estudo americano, a mutação Asp578Gly não foi identificada nas 17 famílias de origem européia, sugerindo que a mutação Asp578Gly apresenta um forte efeito de gene fundador nos EUA (7).

MUTAÇÕES DO GENE DO RECEPTOR DO LH EM MENINOS BRASILEIROS

Nos últimos seis anos realizamos o estudo clínico e molecular de 8 meninos (I-VIII) com diagnóstico de testotoxicose, pertencentes a 7 famílias brasileiras (5,8-10,19). Quatro deles (I, III, IV e VII), foram submetidos à avaliação clínica e molecular na Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; dois (V e VI) foram clinicamente avaliados pela Unidade de Endocrinologia Pediátrica da Universidade Estadual de Campinas, e outros dois (II, VIII), pelo Instituto Materno Infantil de Pernambuco, e encaminhados para o nosso serviço para estudo mole-

Tabela 1. Características clínicas e hormonais de 8 pacientes brasileiros com testotoxicose.

Caso No.	IC (anos)	IO (anos)	Estatura (cm)	DP	Testículos (cm) ^a	Teste do GnRH				
						Testo (ng/dL)	LH basal (U/L)	LH pico (U/L)	FSH basal (U/L)	FSH pico (U/L)
I	5,9	13	144,2	+5,9	D: 3,6; E: 3,4	*164	1,3*	8,4*	3*	5*
II	6,4	13	136	+3,7	D: 3,5; E: 3,5	180	<0,6	1	<1	2
III	2,5	6	115	+6,9	D: 2,0; E: 2,0	392	<0,6	<0,6	<1	<1
	7,3	14	153	+5,2	D: 3,0; E: 3,2	975	<0,6	<0,6	<1	<1
IV	2,8	6	105,5	+2,9	D: 2,5; E: 2,6	569	<0,6	1,7	<1	1,4
V	3,4	6	103	+1,2	D: 3,0; E: 3,0	193	<0,6	0,7	<1	1,6
VI	2,4	4	93,4	+0,8	D: 2,5; E: 2,5	240	<0,6	0,6	<1	1,5
VII	7,9	13,5	142,5	+2,8	D: 3,0; E: 3,2	265	<0,6	13	<1	8,3
VIII	4,1	6	107	+1,2	D: 2,8; E: 3,0	104	<0,6	1,0	<1	1,6
Valores pré-puberis normais										
RIA*						<30	<5	6-18	<5	5-11
IFMA						<14	<0,6-0,7	0,7-9,6	<1-3	1-9,7
Valores puberais normais										
RIA*						240-1030	5-20	18-46	5-20	5-11
IFMA						200-950	1,4-9,2	12-29,7	1,0-12	2,6-7,8

IC: idade cronológica; IO: idade óssea; DP: desvio padrão para altura; ^a maior diâmetro. D: direito; E: esquerdo. Testo: testosterona. Pacientes V e VI são irmãos.

cular. Os dados clínicos e hormonais desses 8 pacientes estão apresentados na tabela 1.

Os níveis de testosterona foram puberais em todos os 8 pacientes com testotoxicose e variaram de 104 a 975ng/dL. Os níveis de LH e FSH basais foram pré-puberais em todos os 8 meninos (19). O teste de GnRH evidenciou níveis pré-puberais de gonadotrofinas em 6 meninos (I, II, IV, V, VI, VIII). O paciente III apresentou níveis totalmente suprimidos de LH e FSH em duas diferentes ocasiões (idades ósseas: 6 e 14 anos) (9,19). Neste caso, os níveis extremamente elevados de testosterona resultaram provavelmente na supressão completa das gonadotrofinas hipofisárias, mesmo quando a idade óssea era muito avançada. Em contraposição, o paciente VII apresentou níveis puberais de LH (13UI/L) após estímulo com GnRH. A evidência de supressão completa das gonadotrofinas com agonista de GnRH (leuprolide), associada à persistência de concentrações elevadas de testosterona, indicou maturação secundária do eixo hipotálamo-hipofisário devido a exposição androgênica crônica neste menino (10). O tratamento combinado com drogas inibidoras da síntese ou da ação da testosterona e agonista de GnRH é recomendado nestes casos.

O seqüenciamento do exon 11 do gene do receptor do LH nos 8 meninos com diagnóstico clínico e hormonal de testotoxicose evidenciou 5 diferentes mutações (tabela 2), sendo três delas apenas evidenciadas em meninos brasileiros: Ala568Val, Leu457Arg e Leu368Pro (8-10). A mutação Ala568Val é a mais freqüente mutação no Brasil, tendo sido identificada em 43% das famílias estudadas. Um dos pacientes com testotoxicose estudado (VII) apresentou esta mutação Ala568Val em estado homozigótico (10). Este achado inédito na literatura foi recentemente esclarecido pela análise de microsatélites localizados no braço curto do cromossomo 2 e de polimorfismos internos ao gene do receptor do LH. O estado em homozigose neste menino foi deter-

minado pela dissomia uniparental maternal, isto é, os dois alelos para este locus gênico foram transmitidos apenas pela mãe.

MULHERES COM MUTAÇÕES ATIVADORAS DO LHR

Mulheres portadoras de mutações ativadoras do receptor do LH não desenvolvem puberdade precoce e apresentam função reprodutiva normal (3). Um estudo hormonal detalhado foi realizado em uma mulher assintomática com 36 anos, portadora da mutação Gly578Asp na sexta hélice transmembrana do receptor do LH (20). A paciente era mãe de dois pacientes com testotoxicose que foram estudados com idades de 2,4 e 3,5 anos. Os níveis basais de LH, FSH e andrógenos foram normais, assim como, após administração de agonistas de GnRH e dexametasona, indicando ausência de hiperandrogenismo ovariano nesta mulher (20).

O estudo hormonal de duas pacientes brasileiras femininas portadoras de mutações do gene do receptor do LH (mãe e irmã dos pacientes IV e II, respectivamente; tabela 2), evidenciou níveis normais de gonadotrofinas, estrógenos e andrógenos, confirmando a ausência de fenótipo nas mulheres com mutação ativadora do gene do receptor do LH (19).

MUTAÇÕES SOMÁTICAS DO GENE DO RECEPTOR DO LH

Recentemente, Liu e cols. (21) descreveram uma mutação somática ativadora, Asp578His, localizada na sexta hélice transmembrana do receptor do LH em três meninos não relacionados com puberdade precoce independente de gonadotrofinas devido a tumores das células de Leydig. Esta mutação determinou ativação concomitante das vias do AMPc e da quinase protéica C (PKC) em estudo funcional com células transfectadas (21). Esta dupla ativação é peculiar, podendo justificar o fenótipo caracterizado pela transformação

Tabela 2. Mutações do receptor do LH identificadas em 8 meninos brasileiros com testotoxicose.

Caso nº	Mutação	Posição	Estado Alélico	Herança	Familiares com Mutação	Referência
I	Ala568Val	3ª alça intracelular	Heterozigose	Desconhecida*	-	8
II	Ala568Val	3ª alça intracelular	Heterozigose	Familiar	Mãe e irmã	9
III	Leu457Arg	Hélice III	Heterozigose	de novo	-	9
IV	Thr577Ile	Hélice VI	Heterozigose	Familiar	Mãe	19, 14
V	Leu368Pro	Hélice I	Heterozigose	Familiar	Mãe	10
VI	Leu368Pro	Hélice I	Heterozigose	Familiar	Mãe	10
VII	Ala568Val	3ª alça intracelular	Homozigose	Familiar	Mãe	10
VIII	Met571Leu	Hélice VI	Heterozigose	-	-	13

* Criança adotada. Pacientes V e VI são irmãos.

neoplásica, em relação às mutações descritas em pacientes com testotoxicose (21).

O estudo realizado por Giacaglia e cols. (22) de quatro tumores das células de Leydig, três tecomas e quatro tumores Sertoli-Leydig pelas técnicas de eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE) e seqüenciamento automático, não evidenciou mutações no exon 11 do gene do receptor do LH. A discrepância entre os achados de Liu e cols. (21) e de Giacaglia e cols. (22) podem ser decorrentes do número limitado de pacientes estudados, não permitindo afastar a possibilidade de existirem mutações incomuns em nosso meio. Como as mutações relatadas por Liu e cols. (21) nos três pacientes são caprichosamente idênticas, a possibilidade de que sejam limitadas a uma faixa etária ou a um quadro clínico específico ainda não é clara.

CONCLUSÃO

A recente determinação em humanos da estrutura molecular das gonadotrofinas e de seus respectivos receptores desencadeou uma série de estudos relacionando mutações genéticas às diversas patologias do eixo de regulação gonadal. O estudo de estados patológicos raros, como a testotoxicose, constituiu ferramenta preciosa no esclarecimento da fisiologia gonadal. Mutações germinativas ativadoras do gene do receptor do LH foram relacionadas com o quadro de puberdade precoce familiar, enquanto que mutações somáticas ativadoras foram relacionadas ao aparecimento de tumores das células de Leydig no sexo masculino. Mulheres portadoras de mutações germinativas ativadoras do gene do receptor do LH se apresentam assintomáticas, sem evidência clínica e hormonal de puberdade precoce, ovários policísticos e hiperandrogenismo.

REFERÊNCIAS

1. Schedewie HK, Reiter EO, Beitins IZ, Seyed S, Wooten VD, Jimenez JF, et al. Testicular Leydig cell hyperplasia as a cause of familial sexual precocity. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;52:271.
2. Rosenthal SM, Grumbach MM, Kaplan SL. Gonadotropin-independent familial sexual precocity with premature Leydig and germinal cell maturation (familial testotoxicosis): effects of a potent luteinizing hormone-releasing factor agonist and medroxyprogesterone acetate therapy in four cases. *J Clin Endocrinol* 1983;57:571-9.
3. Shenker A, Laue L, Kosugi S, Merendino Jr. JJ, Minegishi T, Cutler Jr. GB. A constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty. *Nature* 1993;365:652-4.
4. Minegishi T, Nakamura K, Takakura Y, Miyamoto K, Y H, Y I, et al. Cloning and sequencing of human LH/hCG receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Comm* 1990;172:1049-54.
5. Latronico AC, Segaloff D. Naturally occurring mutations of the luteinizing-hormone receptor: Lessons learned about reproductive physiology and G protein-coupled receptors. *Am J Hum Genet* 1999;65:949-58.
6. Laue L, Chan W-C, Hsueh A, Kudo M, Hsu SY, Wu S, et al. Genetic heterogeneity of constitutively activating mutations of the human luteinizing hormone receptor in familial male-limited precocious puberty. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1995;92:1906-10.
7. Kremer H, Martens JW, van Reen M, Verhoef-Post M, Wit JM, Otten BJ, et al. A limited repertoire of mutations of the luteinizing hormone (LH) receptor gene in familial and sporadic patients with male LH-independent precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1136-40.
8. Latronico AC, Anasti J, Arnhold IJP, Mendonca BB, Domenice S, Albano MC, et al. A novel mutation of the luteinizing hormone receptor gene causing male gonadotropin-independent precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2490-4.
9. Latronico AC, Abell AN, Arnhold IJP, Liu X, Lins TSS, Brito VN, et al. A unique constitutively activating mutation in the third transmembrane helix of the luteinizing hormone receptor causes sporadic male gonadotropin independent precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2435-40.
10. Latronico AC, Shinozaki H, Guerra G, Pereira MAA, Marini SHVL, Baptista MTM, et al. Gonadotropin-independent precocious puberty due to luteinizing hormone receptor mutation in Brazilian boys: a novel constitutively activating mutation in the first transmembrane helix. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4799-805.
11. Kraaij R, Post M, Kremer H, Milgrom E, Epping W, Brunner HG, et al. A missense mutation in the second transmembrane segment of the luteinizing hormone receptor causes familial male precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3168-72.
12. Gromoll J, Partsch C-J, Simoni M, Nordhoff V, Sippell WG, Nieschlag E, et al. A mutation in the first transmembrane domain of the lutropin receptor causes male precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:476-80.
13. Kosugi S, Van Dop C, Geffner ME, Rabl W, Carel JC, Chaussain JL, et al. Characterization of heterogeneous mutations causing constitutive activation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty. *Hum Mol Gen* 1995;4:183-8.
14. Kremer H, Mariman E, Otten BJ, Moll GW Jr., Stoeljinja GB, Wit JM, et al. Conseggregation of missense mutations of the luteinizing hormone receptor gene with familial male-limited precocious puberty. *Hum Mol Genet* 1993;2:1779-83.
15. Yano K, Hidaka A, Saji M, Polymeropoulos MH, Okuno A, Kohn LD, et al. A sporadic case of male-limited precocious puberty has the same constitutively activating point mutation in luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor gene as familial cases. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1818-23.
16. Yano K, Kohn LD, Saji M, Kataoka N, Okuno A, Cutler GB Jr. A case of male-limited precocious puberty caused

-
- by a point mutation in the second transmembrane domain of the luteinizing hormone choriogonadotropin receptor gene. **Biochem Biophys Res Commun** 1996;220:1036-42.
17. Evans BAJ, Bowen DJ, Smith PJ, Clayton PE, Gregory JW. A new point mutation in the luteinizing hormone receptor gene in familial and sporadic male limited precocious puberty: genotype does not always correlate with phenotype. **J Med Genet** 1996;33:143-7.
 18. Kawate N, Kletter GB, Wilson BE, Netzloff ML, Menon KMJ. Identification of constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in a family with male limited gonadotropin independent precocious puberty (testotoxicosis). **J Med Genet** 1995;32:553-4.
 19. Latronico AC, Lins TSS, Brito VN, Arnhold IJP, Mendonca BB. The effect of distinct activating mutations of the luteinizing hormone receptor gene on the pituitary-gonadal axis in both sexes. **Clin Endocrinol** 2000;53:609-13.
 20. Rosenthal IM, Refetoff S, Rich B, Barnes RB, Sunthorntheprarakul T, Parma J, et al. Response to challenge with gonadotropin-releasing hormone agonist in a mother and her two sons with a constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor - A clinical research center study. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:3802-6.
 21. Liu G, Duranteau L, Carel JC, Monroe J, Doyle DA, Shenker A. Leydig-cell tumors caused by an activating mutation of the gene encoding the luteinizing hormone receptor. **N Engl J Med** 1999;341:1731-6.
 22. Giacaglia LR, Kokek MBF, Carvalho FM, Fragoso MCBV, Mendonca BB, Latronico AC. No evidence of somatic activating mutations on gonadotropin receptor genes in sex cord stromal tumors. **Fertil Steril** 2000;74:992-5.

Endereço para correspondência:

Ana Claudia Latronico
Hospital das Clínicas, Disciplina de Endocrinologia, FMUSP
Caixa Postal 3671
01.060-970 São Paulo, SP
FAX: (011) 30830626
e.mail: anacl@usp.br