

A Importância da Análise Histológica Morfométrica Gonadal na Identificação da Gônada Disgenética

**Márcia R. Scolfaro
Izilda A. Cardinalli
Gil Guerra Júnior**

Grupo Interdisciplinar de Estudos da Determinação e Diferenciação do Sexo (GIEDDS), Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP, Campinas, SP.

RESUMO

A disgenesia gonadal parcial (DGP) é um distúrbio da diferenciação sexual caracterizado por testículos disgenéticos bilaterais, derivados dos ductos de Müller e criptorquidismo em pacientes com ambigüidade genital e cariótipo 46,XY. Entretanto, os critérios histológicos diagnósticos de disgenesia gonadal, apesar de existentes, na prática são pouco utilizados. Este artigo apresenta uma detalhada revisão da evolução das modificações da estrutura histológica gonadal durante a vida e os dados histológicos necessários na avaliação de casos com suspeita de disgenesia gonadal. Mostra-se também os achados morfométricos gonadais de 13 crianças com diagnóstico clínico e laboratorial de DGP, porém sem a confirmação histológica numa avaliação inicial. Após estudo morfométrico histológico das gônadas destas crianças, o diagnóstico de DGP foi confirmado em todos os casos. Portanto, devido à variabilidade da análise histológica gonadal, um estudo morfométrico cuidadoso torna-se necessário para o estabelecimento do diagnóstico de DGP. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/2:128-134**)

Descritores: Ambigüidade genital; Criptorquidismo; Gônada disgenética; Histologia; Morfometria

ABSTRACT

Gonadal Dysgenesis and Morphometric Histologic Analysis.

Partial gonadal dysgenesis (PGD) is a sexual differentiation disorder characterized by bilateral dysgenetic testes, persistent Müllerian ducts and cryptorchidism in intersex patients with a 46,XY karyotype. Although the abnormalities observed in dysgenetic testes are well defined, they are not routinely evaluated by the pathologist. This work reviews in detail the gonadal histologic structure evolution during the lifespan and the histologic data necessary to evaluate the cases with gonadal dysgenesis suspected. We also show the morphometric and histologic features of 22 gonads from 13 children with clinical and laboratory diagnosis of PGD, but without histologic confirmation in the first evaluation. These morphometric and histologic findings confirmed the diagnosis of PGD in every patient in the present series. However, gonadal histology was variable and a careful morphometric evaluation may be necessary to establish the diagnosis. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/2:128-134**)

Keywords: Intersex; Cryptorchidism; Dysgenetic gonad; Histology; Morphometry

A Estrutura Gonadal e Suas Modificações Durante a Vida

OS TESTÍCULOS POSSUEM ESTRUTURA dinâmica do nascimento à puberdade e todos os seus componentes sofrem etapas de proliferação e diferenciação antes da puberdade (1). A proliferação das células germinativas pode ser dividida em três etapas, correspondentes aos períodos neona-

*Recebido em 07/11/02
Revisado em 12/03/03
Aceito em 04/04/03*

tal, infância e puberdade, sendo que nesta última fase completa-se a espermatogênese (2). A proliferação das células de Leydig também compõe-se de três etapas, no entanto, correspondentes aos períodos fetal, neonatal e puberal (3). A fase puberal da proliferação das células germinativas e das células de Leydig são correspondentes.

Na fase neonatal, os túbulos seminíferos medem cerca de 60 a 65mm de diâmetro e são totalmente preenchidos por células de Sertoli e células germinativas formando um epitélio pseudoestratificado. Há um predomínio importante de células de Sertoli, com aproximadamente 26 a 28 células por corte tubular (4). Nesta fase existem dois tipos de células germinativas, os gonócitos e as espermatogônias (2). Com 60 a 90 dias de vida, às custas de um aumento das gonadotrofinas hipofisárias e, conseqüentemente, também da testosterona produzida pelas células de Leydig, ocorre uma proliferação das células germinativas, isto é, a transformação dos gonócitos em espermatogônias, de tal forma que no final do sexto mês de vida já não existem mais gonócitos, apenas espermatogônias. Outra característica importante da fase neonatal é a ausência de lúmen tubular, por ausência de fluido intratubular (5).

A segunda fase do desenvolvimento testicular caracteriza-se por um período de repouso entre 6 meses e 3 anos e meio. Este período de repouso é interrompido por uma nova fase de proliferação de células germinativas, mas que desta vez se faz de maneira frustra, conhecida como espermatogênese frustra ou incompleta, aparecendo, por isso, grande número de células germinativas degeneradas (6,7). Não se sabe o motivo desta proliferação de células germinativas, visto que não há aumento das concentrações séricas das gonadotrofinas neste período. Ao redor dos três anos de idade, ainda na fase da infância, ocorre uma grande degeneração de células de Leydig; de 18 milhões de células por testículo ao nascimento, haverá em torno de 60 mil células de Leydig por testículo numa criança de 6 anos de idade. Depois do sexto ano, existe um leve incremento dos andrógenos supra-renais, mas as concentrações de testosterona testicular aumentam somente após os 10 anos de idade (5).

A terceira e última fase do desenvolvimento testicular é a fase da adolescência. Ao redor de 9 anos tem início a fase da espermatogênese, coincidindo com a elevação das concentrações de LH, que levará à proliferação das células de Leydig, induzindo as células precursoras *fibroblastos-like* a diferenciarem-se em células de Leydig maduras, que até o final da adolescência atingem 786 milhões por testículo. Também ocorrerá

a maturação das células de Leydig que passam a produzir testosterona (3). Entre 11 e 14 anos de idade, o aumento de testosterona e de FSH levarão à maturação das células de Sertoli, desenvolvimento das células germinativas e aparecimento do lúmen tubular, e aumento global do volume testicular. Antes dos testículos atingirem o tamanho adulto, as epífises ósseas estarão fechadas e as características sexuais secundárias desenvolvidas (8-11).

Por ser um procedimento invasivo, a biópsia testicular tem indicações precisas, sendo útil no diagnóstico de determinados pacientes com ambigüidade genital, em casos de aumento assimétrico e rápido do volume testicular, e quando ocorre pseudopuberdade precoce de origem não supra-renal. Em outras situações, o valor da biópsia testicular é menor ou controverso, como nos casos de criptorquidismo (5).

Nos pacientes com ambigüidade genital, a biópsia gonadal está indicada nos casos (12): de aberrações numéricas ou estruturais de cromossomos sexuais, com ou sem mosaicismo, para diagnóstico diferencial entre Hermafroditismo Verdadeiro e Disgenesia Gonadal; onde exista discordância entre a constituição genotípica e a genitália externa, isto é, gônada palpável com cariótipo 46,XX, para diagnóstico diferencial de Hermafroditismo Verdadeiro e Homem XX; de hipogonadismo hipergonadotrófico, para diagnóstico de Disgenesia Gonadal; onde há assimetria do tamanho e consistência dos testículos; de oligo ou azoospermia; e casos não esclarecidos, especialmente naqueles com cariótipo 46,XY, após extensa investigação.

Nesses casos, além da investigação da etiologia da ambigüidade genital, a biópsia gonadal tem por objetivo, eventualmente, identificar neoplasia gonadal.

A interpretação histológica de testículos pré-puberais nem sempre é fácil de ser realizada, e, portanto, deve envolver a realização de um cuidadoso estudo morfométrico, com avaliação dos dados de diâmetro tubular médio, número de células germinativas, células de Leydig, células de Sertoli, que podem ser medidas por corte tubular, por unidade de área ou por volume testicular (5).

O diâmetro tubular médio é um excelente indicador do desenvolvimento do epitélio seminífero. Nos testículos pré-puberais, ele depende principalmente das células de Sertoli e indica se o epitélio seminífero está estimulado pelo FSH e se há resposta adequada a este estímulo. Portanto, ao avaliar o diâmetro tubular, indiretamente também se avaliam as células de Sertoli. O diâmetro tubular tem seu menor valor no quarto ano de vida, aumenta lentamente até os 9 anos, e depois rapidamente até os 15 anos (5).

A anormalidade mais freqüente do diâmetro tubular médio é a hipoplasia tubular. Em algumas situações clínicas, tais como hipogonadismo hipo ou hipergonadotrófico, testículos criptorquídicos ou ectópicos, e resposta anômala das células de Sertoli ao FSH, pode-se observar hipoplasia tubular (13).

Segundo Nistal & Paniagua (5), existem três graus de gravidade da diminuição do diâmetro tubular: leve, quando essa diminuição é de até 10% em relação ao diâmetro tubular médio normal para a idade; marcante, quando a redução está entre 10 e 30%; e grave, quando essa redução é maior que 30%.

O número de células germinativas pode ser avaliado por diferentes métodos. O método que causa maiores dificuldades é a avaliação do número dessas células por testículo, uma vez que envolve obrigatoriamente as medidas cuidadosas dos três eixos do testículo e a avaliação morfométrica do volume intratubular. De maneira mais simples e de uma forma mais freqüente, o número de células germinativas é avaliado por meio do Índice de Fertilidade Tubular (IFT), isto é, o número médio de células germinativas por corte tubular. Na verdade, este índice reflete a porcentagem de cortes tubulares que possuem pelo menos uma célula germinativa. Sabe-se que no recém-nascido ele gira em torno de 68%, isto é, 68% dos cortes tubulares possuem pelo menos uma célula germinativa, caindo para um valor próximo de 50% em uma criança de 3 anos, e depois aumentando gradativamente até um valor de 100% na puberdade (5,6).

Segundo Nistal & Paniagua (5), assim como na hipoplasia tubular, também existem três graus de gravidade de hipoplasia germinal, isto é, de diminuição do número de células germinativas: leve, quando o IFT for maior que 50%, isto é, mais de 50% dos cortes tubulares possuem pelo menos uma célula germinativa; marcante, quando o IFT estiver entre 30 e 50; e grave, quando o IFT for menor que 30.

Geralmente os casos de hipoplasia germinal associam-se a hipoplasia tubular, e ocorrem devido a disgenesia gonadal. A hipoplasia germinal pode ser encontrada nos casos de hipogonadismo hipergonadotrófico, síndrome de Klinefelter, fetos anencefálicos, trissomias do 13, 18 e 21, portadores de válvula de uretra posterior associada com obstrução grave do ducto excretório urinário, e em crianças que se submeteram a tratamento com medicamentos imunossupressores.

O número de células de Sertoli sofre lenta diminuição com o decorrer da idade, sendo que no recém-nascido existem, em média, 26 a 28 células por corte tubular e, na vida adulta, em torno de 10. Porém, entre 4 e 12 anos de idade, ocorre uma lenta

proliferação destas células que, somado ao aumento da largura, comprimento e tortuosidade do túbulo seminífero, são responsáveis pela transformação do epitélio seminífero pseudoestratificado ao nascimento para colunar à puberdade (4). Hiperplasia das células de Sertoli é um sinal bem definido de disgenesia tubular, sendo geralmente detectada no primeiro ano de vida e no período pré-puberal (14).

O cálculo do número de células de Leydig no período pré-puberal é difícil devido à população escassa nesta idade, e pela dificuldade de se selecionar um denominador adequado que expresse a população das células de Leydig (3). Estas células são escassas durante a infância, nos testículos criptorquídicos, no hipogonadismo-hipogonadotrófico, e em alguns casos de pseudo-hermafroditismo masculino (PHM) e fetos anencefálicos (15,16).

Disgenesia Gonadal: Um Diagnóstico Histológico

O pseudo-hermafroditismo masculino disgenético, atualmente denominado disgenesia gonadal parcial (DGP), incompleta ou atípica, é caracterizado pela presença de cariótipo 46,XY em indivíduos com diferenciação testicular parcial e ambigüidade genital. A genitália interna consiste de combinação de derivados dos ductos de Wolff e Müller (17). Existe risco de transformação neoplásica das gônadas para, particularmente, gonadoblastoma, ou até seminomas e disgerminomas (18,19). A opção de definição do sexo é a feminina, desde que em idade precoce e com reconstrução da genitália externa e remoção das gônadas e dos derivados dos ductos de Wolff.

A DGP é considerada, por alguns autores, uma variante da disgenesia gonadal pura ou completa XY de herança recessiva ligada ao cromossomo X ou autossômica dominante com expressão limitada ao sexo masculino. Ambas as formas, completa e parcial (ou incompleta), podem ocorrer na mesma família (20-22). Em apenas cerca de 10% dos casos observam-se mutações no gene *SRY* destes pacientes, em especial quando os casos têm recorrência familiar ou quando estão associados à disgenesia gonadal pura ou completa XY (23,24).

Tipicamente, os pacientes apresentam concentrações séricas de testosterona baixas, sem acúmulo dos seus precursores e, dependendo da gravidade da disgenesia testicular, a concentração do hormônio anti-mülleriano (HAM) pode ser baixa ou indetectável (25-27).

O cariótipo observado com maior freqüência é o 46,XY. Contudo, linhagens celulares múltiplas, incluindo a linhagem celular monossômica do X,

podem ser detectadas, e as características somáticas da síndrome de Turner, tal como baixa estatura, pescoço alado, *cubitus valgus* e malformação renal, podem estar presentes. De fato, alguns autores também consideram a DGP uma variante da disgenesia gonadal mista, que é definida como a coexistência de gônada "em fita" e testículos disgenéticos em indivíduos com constituição cromossômica 45,X/46,XY (28-32).

A ambigüidade genital que se acompanha de gônadas disgenéticas pode não somente ser decorrente de mosaicismo cromossômico, como no caso da disgenesia gonadal mista (45,X/46,XY), ou ser observada em indivíduos de sexo genético masculino sem aberrações cromossômicas visíveis ao microscópio óptico, como na DGP. Existem, ainda, quadros sindrômicos que se acompanham de anomalias da diferenciação gonadal, e que permitiram, nos últimos anos, a identificação de genes envolvidos na cascata da diferenciação testicular. Entre eles estão a displasia campomélica (mutações no gene *SOX9* no locus *CMPD1* em 17q24.3-q25.1) (33,34), a síndrome de Denys-Drash (mutações constitucionais quase sempre não herdadas no gene *WT-1* em 11p13) (35,36) e a monossomia 9p (37,38).

Em todos esses casos de distúrbios da diferenciação gonadal, a histologia das gônadas é variável, consistindo, freqüentemente, de túbulos seminíferos

pobremente desenvolvidos rodeados por estroma tipo ovariano. Contudo, o desenvolvimento gonadal pode variar de diferenciação testicular aparentemente normal à gônada "em fita", e o critério para o diagnóstico etiológico de disgenesia gonadal ou testicular, apesar de existir na literatura, como visto anteriormente, nem sempre é aplicado.

A Experiência do GIEDDS – UNICAMP

Não existem estudos relatando a freqüência da disgenesia gonadal parcial, porém, apesar de ser considerada rara, é fundamental o diagnóstico correto devido ao alto risco de transformação neoplásica da gônada disgenética (10 a 25%) e à necessidade de gonadectomia profilática (39-41).

Recentemente, reavaliamos os dados histológicos de 22 gônadas de 13 crianças apresentando ambigüidade genital, cariótipo 46,XY, genitália interna com derivados Mülllerianos, predomínio dos valores de FSH em relação ao LH, baixa resposta da testosterona ao teste agudo com hCG e valores baixos de hormônio anti-Mülleriano. Na sua maioria, estas gônadas apresentavam laudo histológico inicial de testículos normais pré-puberais. As lâminas foram revistas e realizado um cuidadoso estudo morfométrico, com resultados apresentados na tabela (42).

Tabela 1. Dados morfométricos e histológicos das gônadas provenientes de crianças com disgenesia gonadal parcial e cariótipo 46,XY (ref. 42).

Caso	idade ¹	Túbulos ²	DTM ³	GHT ⁴	IFT ⁵	GHG ⁶	NSC ⁷	HCS ⁸
1	11	D = 110	52,3	Marcante	12	Grave	28	(+)
2	122	E = (-)		"em fita"		"em fita"		"em fita"
3	36	D = 69	29,1	Grave	0	Grave	19	(+)
		E = 104	35,8	Grave	15	Grave	22	(+)
4	16	E = 117	49,6	Marcante	10	Grave	29	(+)
5	16	D = 102	46,8	Marcante	78	Normal	23	(+)
		E = 101	49,1	Marcante	97	Normal	24	(+)
6	108	D = 99	59,5	Leve	6	Grave	29	(+)
		E = (-)		"em fita"		"em fita"		"em fita"
7	84	D = 104	39,4	Grave	111	Normal	21	(+)
8	19	D = 126	54	Marcante	68	Normal	19	(+)
		E = 116	52,4	Marcante	166	Normal	19	(+)
9	26	D = 42	38,3	Grave	50	Grave	26	(+)
		E = (-)		"em fita"		"em fita"		"em fita"
10	27	D = 98	43,9	Marcante	0	Grave	18	Normal
		E = (-)		"em fita"		"em fita"		"em fita"
11	36	D = 104	49,6	Marcante	33	Marcante	30	(+)
		E = 115	53,1	Marcante	45	Marcante	33	(+)
12	37	D = 98	49,2	Marcante	0	Grave	37	(+)
		E = 80	43,4	Marcante	10	Grave	32	(+)
13	51	D = 66	64,1	Normal	115	Normal	24	(+)
		E = (-)		"em fita"		"em fita"		"em fita"

¹ = idade em meses na época da biópsia gonadal; ² = número de túbulos examinados: D = gônada direita; E = gônada esquerda; (-) = ausência de túbulos seminíferos; ³ = DTM = diâmetro tubular médio (mm); ⁴ = GHT = gravidade da hipoplasia tubular; ⁵ = IFT = índice de fertilidade tubular (%); ⁶ = GHG = gravidade da hipoplasia germinal; ⁷ = NSC = número de células de Sertoli por corte tubular; ⁸ = HCS = hiperplasia de células de Sertoli; (+) = presente.

A confirmação diagnóstica de DGP é baseada nos achados anatomopatológicos, desde vários graus de disgenesia testicular bilateral até testículos quase “normais” ou gônadas que sugerem gônadas “em fita” (43). Embora as anormalidades observadas nos testículos disgenéticos sejam bem definidas (5), há dificuldades no estabelecimento desse diagnóstico devidas à necessidade de exame morfométrico cuidadoso e da experiência do profissional responsável pelo exame.

O diâmetro tubular médio das gônadas analisadas foi variável, de normal a acentuadamente diminuído, mas com predomínio de hipoplasia tubular marcante a grave, observada em 15 das 17 gônadas. Ainda que existam dificuldades técnicas na avaliação do diâmetro tubular médio, estes dados indicam a necessidade desta medida ser avaliada nas biópsias testiculares, quando houver suspeita clínica de disgenesia gonadal, independente da localização da gônada.

Neste estudo, observou-se que o IFT estava alterado em 11 de 17 gônadas avaliadas. Das 6 gônadas com IFT normal, 5 possuíam diâmetro tubular médio diminuído e uma normal. Não existe explicação para o fato do IFT ser normal nestas 6 gônadas. Estes achados sugerem que a medida do diâmetro tubular médio pode ser melhor indicador de disgenesia testicular que o IFT.

O número de células de Sertoli estava aumentado em todas as 17 gônadas dos pacientes avaliados neste estudo, exceto em um paciente com número normal. A única gônada avaliada (a gônada direita do caso 10) que não apresentou aumento do número de células de Sertoli foi biopsiada aos 27 meses de idade do paciente, o que pode, em parte, justificar o fato de não ter sido observada a hiperplasia das células de Sertoli. Esta hiperplasia é mais freqüentemente observada no primeiro ano de vida e na fase pré-puberal.

Finalmente, é importante enfatizar que, em 22 gônadas avaliadas, somente 5 lembravam grosseiramente gônadas “em fita”, e todas encontravam-se do lado esquerdo, semelhante aos hermafroditas verdadeiros, onde existe também um predomínio de ovário e ovotestis do lado esquerdo (44-46).

Em conclusão, os achados histológicos das gônadas destes 13 casos de DGP, apesar de variáveis, confirmaram o diagnóstico clínico. A avaliação morfométrica, incluindo particularmente a medida do diâmetro tubular médio, pôde ser útil para confirmar e refinar o diagnóstico histológico nestes casos de disgenesia gonadal.

REFERÊNCIAS

1. Vilar O. Histology of the human testis from neonatal period to adolescence. *Adv Exp Med Biol* 1970;10:95-111.
2. Müller J, Skakkebaek NE. Fluctuations in the number of germ cells during late foetal and early postnatal periods in boys. *Acta Endocrinol* 1984;105:271-4.
3. Nistal M, Paniagua R, Regadera J, Santamaria L, Amat P. A quantitative morphologic study of human Leydig cells from birth to adulthood. *Cell Tissue Res* 1986;246:229-36.
4. Cortes D, Müller J, Skakkebaek NE. Proliferation of Sertoli cells during development of the human testis assessed by stereological methods. *Int J Androl* 1987;10:589-96.
5. Nistal M, Paniagua R. Non-neoplastic diseases of the testis. In: Bostwick DG, Eble JN, editors. *Urologic surgical pathology*. St. Louis: Mosby; 1996. p.468-565.
6. Müller J, Skakkebaek NE. Quantification of germ cells and seminiferous tubules by stereological examination of testicles from 50 boys who suffered from sudden death. *Int J Androl* 1983;6:143-56.
7. Paniagua R, Nistal M. Morphological and histometric study of human spermatogonia from birth to the onset of puberty. *J Anat* 1984;139:535-52.
8. Burr FM, Sizonenko PC, Kaplan SL, Grumbach MM. Hormonal changes in puberty. I. Correlation of serum luteinizing hormone and follicle stimulating hormone with stages of puberty, testicular size, and bone age in normal boys. *Pediatr Res* 1970;4:25-35.
9. Zachman M, Prader A, Kind HP, Häfliger H, Budliger H. Testicular volume during adolescence. Cross-sectional and longitudinal studies. *Helv Paediatr Acta* 1974;29:61-72.
10. Daniel WA, Feinstein RA, Howard-Peebles P, Baxley WD. Testicular volumes of adolescents. *J Pediatr* 1982;101:1010-2.
11. Nielsen CT, Skakkebaek NE, Richardson DW, Darling JA, Hunter WM, Jorgensen M, et al. Onset of the release of spermatozoa (spermarche) in boys in relation to age, testicular growth, pubic hair, and height. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:532-5.
12. Savage MO. Clinical aspects of intersex. In: Brook CGD, editor. *Clinical Paediatric Endocrinology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1989. p.38-56.
13. Nistal M, Paniagua R, Abaurrea MA, Santamaria L. Hyperplasia and the immature appearance of Sertoli cells in primary testicular disorders. *Hum Pathol* 1982;13:3-12.
14. Nistal M, Abaurrea MA, Paniagua R. Morphological and histometric study of human Sertoli cells from birth to the onset of puberty. *J Anat* 1982;134:351-63.
15. Doshi N, Surti UI, Szulman AE. Morphologic anomalies in triploid liveborn fetuses. *Hum Pathol* 1983;14:716-23.

16. Nistal M, González-Peramato P, Paniagua R. Congenital Leydig cell hyperplasia. **Histopathology** 1988;12:307-17.
17. Rafjer J, Mendelsohn G, Arnheim J, Jeffs RD, Walsh PC. Dysgenetic male pseudohermaphroditism. **J Urol** 1978;119:525-7.
18. Troche V, Hernandez E. Neoplasia arising in dysgenetic gonads. **Obstet Gynecol Sur** 1986;41:74-9.
19. Krasna IH, Lee ML, Smilow P, Sciorra L, Eierman L. Risk of malignancy in bilateral streak gonads: the role of the Y chromosome. **J Pediatr Surg** 1992;27:1376-80.
20. Berkovitz GD, Fechner PY, Zacur HW, Rock JA, Snyder III HM, Migeon JC, et al. Clinical and pathologic spectrum of 46,XY gonadal dysgenesis: its relevance to the understanding of sex differentiation. **Medicine** 1991;70:375-83.
21. Marcantonio SM, Fechner PY, Migeon JC, Perlman EJ, Berkovitz GD. Embryonic testicular regression sequence: a part of the clinical spectrum of 46,XY gonadal dysgenesis. **Am J Med Genet** 1994;49:1-5.
22. Assumpção JG, Benedetti CE, Maciel-Guerra AT, Guerra Júnior G, Baptista MTM, Scolfaro MR, et al. Novel mutations affecting SRY-DNA binding activity: the HMG box N65H associated with 46,XY pure gonadal dysgenesis and the familial non-HMG box R30I associated with different phenotypes. **J Mol Med** 2002;80:782-90.
23. Berta P, Hawkins JR, Sinclair AH, Taylor A, Griffiths BL, Goodfellow PN, et al. Genetic evidence equating SRY and testis-determining factor. **Nature** 1990;348:448-50.
24. Hawkins JR, Taylor A, Berta P, Leveilliers J, Van der Auwera B, Goodfellow PN. Mutational analysis of SRY: nonsense and missense mutations in XY Sex reversal. **Hum Genet** 1992;88:471-4.
25. Rey RA, Belville C, Nhou-Fékété C, Michel-Calemard L, Forest MG, Lahlou N, et al. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum antimüllerian hormone measurement. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:627-31.
26. Stuchi-Perez EG, Lukas-Croisier C, Castro M, Baptista MTM, Scolfaro MR, Marques-de-Faria AP, et al. Evaluation of the tubular and interstitial functions of the testis in 46,XY patients with ambiguous genitalia. **J Pediatr Endocrinol Metab** 2000;13:605-12.
27. Stuchi-Perez EG, Guerra Júnior G. Hormônio anti-mülleriano: revisão e contribuição para a investigação das ambigüidades genitais. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2000;44:425-33.
28. Donahoe PK, Crawford JD, Hendren WH. Mixed gonadal dysgenesis: pathogenesis and management. **J Pediatr Surg** 1979;14:287-300.
29. Robboy SJ, Miller T, Donahoe PK, Jahre C, Welch WR, Haseltine FP, et al. Dysgenesis of testicular and streak gonads in the syndrome of mixed gonadal dysgenesis. Perspective derived from clinicopathologic analysis of twenty-one cases. **Hum Pathol** 1982;13:700-16.
30. Chang HJ, Clark RD, Bachman H. The phenotype of 45,X/46,XY mosaicism: an analysis of 92 prenatally diagnosed cases. **Am J Med Genet** 1990;46:156-67.
31. Rohatgi M, Gupta DK, Menon PS, Verma IC, Mathur M. Mixed gonadal dysgenesis and dysgenetic male pseudohermaphroditism – a critical analysis. **Ind J Pediatr** 1992;59:487-500.
32. Borer JG, Nitti VW, Glassberg KI. Mixed gonadal dysgenesis and dysgenetic male pseudohermaphroditism. **J Urol** 1995;153:1267-73.
33. Kwok C, Weller PA, Guioli S, Foster JW, Mansour S, Zuffardi O, et al. Mutations in SOX9, the gene responsible for campomelic dysplasia and autosomal sex reversal. **Am J Hum Genet** 1995;57:1028-36.
34. Mansour S, Hall CM, Pembrey ME, Young ID. A clinical and genetic study of campomelic dysplasia. **J Med Genet** 1995;32:415-20.
35. Manivel JC, Sibley RK, Dehner LP. Complete and incomplete Drash syndrome: a clinicopathologic study of five cases of a dysontogenetic-neoplastic complex. **Hum Pathol** 1987;18:80-9.
36. Hastie ND. Dominant negative mutations in the Wilms tumour (*WT1*) gene cause Denys-Drash syndrome – proof that a tumour-suppressor gene plays a crucial role in normal genitourinary development. **Nature Genet** 1992;1:293-5.
37. Veitia R, Nunes M, Brauner R, Doco-Fenzy M, Joanny-Flinnois O, Jaubert F, et al. Deletions of distal 9p associated with 46,XY male to female sex reversal: definition of the breakpoints at 9p23.3-p24.1. **Genomics** 1997;41:271-4.
38. Veitia R, Nunes M, Quintana-Murci L, Rappaport R, Thibaud E, Jaubert F, et al. Swyer syndrome and 46,XY partial gonadal dysgenesis associated with 9p deletions in the absence of monosomy 9p syndrome. **Am J Hum Genet** 1998;63:901-5.
39. Scully RE. Gonadoblastoma: a review of 74 cases. **Cancer** 1970;25:1340-56.
40. Scully RE. Neoplasia associated with anomalous sexual development and abnormal sex chromosomes. **Pediatr Adolesc Endocrinol** 1981;8:203-17.
41. Verp MS, Simpson JL. Abnormal sexual differentiation and neoplasia. **Cancer Genet Cytogenet** 1987;25:191-218.
42. Scolfaro MR, Cardinalli IA, Stuchi-Perez EG, De Mello MP, Assumpção JG, Baptista MTM, et al. Morphometry and histology of gonads from 13 children with dysgenetic male pseudohermaphroditism. **Arch Pathol Lab Med** 2001;125:652-6.
43. Maciel-Guerra AT, Guerra Júnior G. **Menino ou menina? Os distúrbios da diferenciação do sexo**. São Paulo: Manole; 2002.
44. Van Niekerk WA, Retief AE. The gonads of human true hermaphrodites. **Hum Genet** 1981;58:117-22.

45. Krob G, Braun A, Kuhnle U. True hermaphroditism: geographical distribution, clinical findings, chromosomes and gonadal histology. *Eur J Pediatr* **1994**;153:2-10.
46. Guerra Jr G, De Mello MP, Assumpção JG, Morcillo AM, Marini SHVL, Baptista MTM, et al. True hermaphrodites in the southeastern region of Brazil: a different cytogenetic and gonadal profile. *J Pediatr Endocrinol Metab* **1998**;11:519-24.

Endereço para correspondência:

Gil Guerra Júnior
Rua Giuseppe Máximo Scolfaro 371, casa 18
13083-100 Campinas, SP
Tel/Fax: (019) 3788-7322
e.mail: gilguer@fcm.unicamp.br