

Síndrome de Insensibilidade aos Androgénios.

Manifestações clínicas, defeitos moleculares, alterações hormonais e abordagem terapêutica.

Selma B. Souto^{1,4}, Daniel Carvalho-Braga^{2,4}, José Luís Medina^{3,4}

¹ Interna de Formação Específica de Endocrinologia do Serviço de Endocrinologia do Hospital de São João, E.P.E.

² Assistente Hospitalar Graduado do Serviço de Endocrinologia do Hospital de São João, E.P.E.

³ Director do Serviço de Endocrinologia do Hospital de São João, E.P.E.

⁴ Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

RESUMO

A resistência aos androgénios designada por síndrome de insensibilidade aos androgénios, é um distúrbio genético ligado ao cromossoma X, causado por mutações no gene do receptor dos androgénios. Os defeitos neste gene causam uma variedade de fenótipos em indivíduos com cariótipo 46, XY, que vão desde a infertilidade masculina a indivíduos com genitais externos femininos normais. O seu diagnóstico baseia-se na clínica e na investigação hormonal e molecular. A apresentação fenotípica complexa deste síndrome dificulta o seu diagnóstico e o aconselhamento genético das famílias afectadas. Foram identificadas mais de 400 mutações no gene do receptor dos androgénios. Esta revisão foca os aspectos clínicos, as alterações hormonais, os defeitos moleculares e a abordagem terapêutica do síndrome de insensibilidade aos androgénios.

PALAVRAS-CHAVE

Síndrome de insensibilidade aos androgénios; SIA; Ambiguidade genital; Gene do receptor dos androgénios.

SUMMARY

The end-organ resistance to androgens has been designated as androgen insensitivity syndrome (AIS), an X-linked disorder caused by mutations in the androgen receptor (AR) gene. The defects in the AR gene causes a variety of phenotypes in 46,XY individuals, ranging from male infertility to completely normal female external genitalia. Precise diagnosis requires clinical, hormonal and molecular investigation. The complexity of phenotypic presentation of AIS complicates both the diagnostic procedure and genetic counselling of the affected families. More than 400 different AR gene mutations have thus far been reported. This review focuses on the clinical features, molecular pathophysiology and management of AIS.

KEY-WORDS

Androgen insensitivity syndrome; AIS; Ambiguous genitalia; Androgen Receptor Gene.

INTRODUÇÃO

O síndrome de insensibilidade aos androgénios (SIA) é um distúrbio genético ligado ao cromossoma X, caracterizado por defeitos na virilização de indivíduos com cariótipo 46,XY^{1,2}. Resulta de mutações com perda de função no gene do receptor dos androgénios (RA), causando resistência periférica aos androgénios^{1,2}.

Foi descrito pela primeira vez em 1953 por John Morris e nessa altura designado por “síndrome do testículo feminizante”³. Desde 1953 que os mecanismos responsáveis pelo seu desenvolvimento têm sido estudados. Em 1989, foi descoberta a localização exacta do gene humano do RA em Xq11-12⁴.

Os fenótipos clínicos do SIA são divididos em três categorias que reflectem a gravidade da resistência aos androgénios, nomeadamente a insensibilidade completa (SICA), parcial (SIPA) e ligeira (SILA) aos androgénios.

PAPEL DOS ANDROGÉNIOS NO DESENVOLVIMENTO SEXUAL MASCULINO

Até à 6ª semana de gestação, independentemente do sexo cromossómico, os embriões apresentam gónadas primordiais bipotenciais, com genitais externos indiferenciados e dois ductos genitais internos, os ductos de *Wölff* e de *Müller*^{5,6}. Por volta da 6ª ou 7ª semana de gestação, inicia-se a diferenciação da gónada embrionária em testículo, por acção do factor determinante testicular, o gene SRY, localizado no braço curto do cromossoma Y, em conjunto com outros factores codificados por genes localizados nos autossomas ou no cromossoma X⁵. Entre a 9ª e 13ª semanas de gestação, ocorre a diferenciação dos ductos de *Wölff* em epidídimo, canal deferente e vesículas seminais por acção local da testosterona produ-

zida pelas células de *Leydig* fetais, sob a estimulação da gonadotrofina coriônica humana (hCG). Com a diferenciação dos ductos de *Wölff*, ocorre a regressão dos ductos de *Müller* por acção local da hormona anti-Mülleriana (AMH), produzida pelas células de *Sertoli*⁵.

A diferenciação masculina dos genitais externos em pénis, bolsa escrotal e uretra peniana ocorre entre a 9ª e 13ª semanas de gestação e exige concentração adequada de testosterona e a sua conversão em di-hidrotestosterona (DHT), um andrógeno mais potente, por acção da 5 α -redutase a nível dos tecidos-alvo⁵.

Na ausência de concentrações adequadas de testosterona e DHT, ocorre uma falha na masculinização dos genitais, com desenvolvimento de um fenótipo feminino (com clitóris, grandes e pequenos lábios e porção inferior da vagina) ou graus variáveis de ambiguidade genital⁵.

A hormona *insulin-like factor 3* (INSL3) é uma hormona produzida pelas células de *Leydig*, igualmente importante na diferenciação sexual masculina. Este peptídeo está envolvido na primeira fase de descida testicular trans-abdominal. A segunda fase, que ocorre antes do nascimento, é a descida inguino-escrotal, e é androgénio-dependente⁷. A acção dos androgénios nos tecidos-alvo, requer a presença de receptores de androgénios funcionais, que após a ligação, activam a transcrição de genes específicos nos tecidos-alvo. Desta forma, qualquer anomalia na produção ou acção dos andrógenos, entre a 9ª e a 13ª semanas de gestação, num feto com cariótipo 46,XY leva à masculinização incompleta, resultando em pseudo-hermafroditismo masculino⁵.

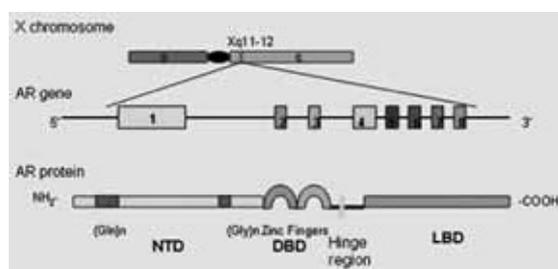
GENE DO RECEPTOR DOS ANDROGÉNIOS

O RA pertence a uma família de factores de transcrição nuclear que inclui entre

outros, os receptores de estrogénios, das hormonas tiroideias, da vitamina D, do ácido retínico, de glicocorticóides, de mineralocorticóides, e da progesterona⁸. Os receptores dos andrógénios, dos glicocorticóides, dos mineralocorticóides e da progesterona fazem parte, por sua vez, de uma sub-família dos factores de transcrição nuclear, que estão agrupados pela sequência homóloga e pela capacidade de activarem a transcrição de genes-alvo através do mesmo elemento de resposta hormonal⁸. Após a formação do complexo hormona-receptor, o RA, interage directamente com os genes-alvo para regular a sua transcrição. Quando ocorre falha do receptor em activar estes genes resulta em resistência hormonal.

O RA possui diferentes domínios funcionais: o domínio de regulação transcricional (amino-terminal), o domínio de ligação ao DNA que contém *zinc fingers*, a região *hinge* e o domínio de ligação ao esteróide (carboxi-terminal) (Figura 1)^{1,8}.

FIGURA 1: Gene humano do receptor de androgénios. Adaptado de Galani e colaboradores¹.



O gene do RA localiza-se no cromossoma X, entre os fragmentos Xq11-12 e possui cerca de 90 kilobases (kb), contendo 8 exons separados por introns cujos tamanhos varia de 0,7 a mais de 26 kb (Figura 1)^{1,8}. O DNA complementar (DNAC) do RA apresenta aproximadamente 2760pb. O exon 1 codifica o domínio activador da transcrição ou aminoterminal, constituído por 555 aminoácidos e possui extensão correspondente a mais de 50% da proteína do RA. Uma característica deste domínio é apresentar repetições de glutaminas (11-31 resíduos) e

glicinas (16-27 resíduos)⁹, cuja importância exacta não está completamente esclarecida, porém repetições semelhantes são encontradas em vários factores de transcrição. A expansão da repetição de poliglutaminas para 40-65 resíduos está associada à atrofia muscular espinhal/bulbar ou doença de Kennedy. Esta expansão parece não afectar a afinidade de ligação aos andrógénios, mas pode causar diminuição na actividade transcricional do receptor, talvez como resultado da redução nos níveis do RNA mensageiro (RNAm) e da proteína do RA, identificada em pacientes com este tipo de expansão¹⁰. Foi proposto que a actividade transcricional do RA é inversamente proporcional à extensão de repetição de glutaminas. Alguns estudos epidemiológicos demonstraram que indivíduos com menor extensão da repetição de glutaminas têm maior risco de desenvolvimento de cancro de próstata e geralmente apresentam doença mais avançada ao diagnóstico¹¹. Os exons 2 e 3 codificam o domínio de ligação ao DNA, que possui cerca de 70 aminoácidos. O domínio de ligação ao DNA contém dois íões zinco, cada um ligado ao enxofre de 4 cisteínas, produzindo uma estrutura de hélice-alça-hélice que interage com sequências específicas de DNA, denominadas elementos de resposta hormonal. O primeiro e o segundo *zinc fingers* são codificados pelo exon 2 e 3, respectivamente. O domínio de ligação ao DNA determina a especificidade da interacção do RA com o DNA. Três aminoácidos na base do primeiro *zinc finger* são conservados entre os receptores de andrógénios, glicocorticóides, mineralocorticóides e progesterona e ligam-se às sequências de nucleotídeos amplificadoras da transcrição, os elementos de resposta hormonal, localizadas em regiões próximas ou na sequência de genes-alvo. O segundo *zinc finger* possui aminoácidos que estabilizam a ligação do DNA ao receptor, participam na dimerização do RA, e juntamente com a região *hinge*, no transporte do citoplasma para o

núcleo celular¹⁰. A região 5' do exon 4 codifica a região *hinge*, que contém um sinal de localização nuclear necessário para a translocação do complexo andrógeno/ receptor do citoplasma para o seu local de acção nuclear^{8,9}. A porção 3' do exon 4 e os exons 5, 6, 7 e 8 codificam o domínio de ligação aos andrógenos, que contém cerca de 290 aminoácidos e representa 30% da proteína do RA. Este domínio é responsável pela ligação aos andrógenos, e participa na activação transcricional, na dimerização do receptor e interage com proteínas inibitórias (HSP)¹⁰. O RNAm do RA foi identificado pela técnica de *Northern Blot* em inúmeros tecidos humanos, incluindo testículo, próstata, fibroblastos de tecido genital, fígado e linhagens celulares de cancro de próstata e de mama⁸.

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O SIA representa provavelmente a causa mais frequente de pseudo-hermafroditismo masculino^{12,13}. Os indivíduos afectados apresentam cariótipo 46,XY, com testículos não completamente descidos e genitais externos femininos ou parcialmente masculinizados. Como referido anteriormente, está tradicionalmente dividido em três categorias de acordo com o fenótipo dos genitais: síndrome de insensibilidade completa (SICA), parcial (SIPA) e ligeira (SILA) aos androgénios.

SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE COMPLETA AOS ANDROGÉNIOS

A forma completa do SIA é relativamente rara, tendo uma prevalência estimada de 1 em cada 20 400 recém nascidos do sexo masculino⁶. O seu fenótipo é o de um indivíduo do sexo feminino, apesar do cariótipo 46,XY e da formação de testículos normais, que produzem concentrações adequadas de testosterona para a idade e normalmente metabolizada em DHT².

A apresentação típica é a de uma adolescente fenotipicamente do sexo feminino, sem ambiguidade sexual ao nascimento, com desenvolvimento mamário normal, escassez ou ausência de pêlos púbicos e axilares e com amenorreia primária^{1,2,8}. O diagnóstico diferencial nesta idade é efectuado com disgenesia gonadal completa, ou síndrome de Swey, no qual ocorre menor desenvolvimento mamário e baixa estatura². A idade do desenvolvimento mamário nestes doentes não foi objecto de estudo de muitos investigadores, porém, alguns autores, reportam algum atraso, sendo coincidente com a idade da puberdade nos rapazes^{8,14}. Por outro lado, um estudo retrospectivo de 9 indivíduos pos-pubertários com SICA sugere que a puberdade ocorre em idade semelhante às raparigas normais¹⁵.

Os indivíduos com a forma completa do SAI, têm uma excelente feminização na puberdade, com mamas normais ou aumentadas, contornos corporais femininos e ausência de acne, devido à produção de estrogénios pelos testículos e pela aromatisação periférica da testosterona^{5,6}.

Em alguns casos, a suspeita de SICA ocorre na infância, na presença de edemas ou hérnias inguinais bilaterais¹. As hérnias inguinais bilaterais são raras nas meninas, e em 1 a 2 % dos casos representam SICA².

Alguns indivíduos têm suspeita de SICA antes do nascimento, quando a amniocentese revela um cariótipo 46,XY e a ecografia pré-natal mostra genitais externos femininos².

Os doentes com SICA, podem apresentar uma vagina em fundo cego, estando habitualmente ausentes as estruturas derivadas dos ductos de *Wolff*, tais como epidídimo, vasos deferentes e vesículas seminais e ausência de próstata^{2,16}. As estruturas derivadas dos ductos de *Müller* ocorrem igualmente com pouca frequência em doentes com SICA¹⁷⁻¹⁹. Porém, num estudo de *Rutgers* e *Scully*, os derivados dos ductos de *Müller*, tais como pequenas trompas de falópio, foram detectadas em um terço dos 43 casos

estudados²⁰. Num outro estudo que incluiu 11 doentes com SICA, apenas um doente com 14 anos e meio, que apresentava a mutação p.L881P exibia uma trompa de Falópio unilateral²¹.

Em alguns doentes existe história familiar de um familiar do sexo feminino com hérnia inguinal corrigida na infância, com cariótipo 46,XY. Porém, um terço dos doentes não tem história familiar e apresentam-se com mutações *de novo*.

SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE PARCIAL AOS ANDROGÉNIOS

Devido à grande variabilidade de manifestações clínicas e à existência de formas subtis ou atípicas de resistência aos androgénios, tais como a infertilidade masculina, a prevalência da forma parcial de SIA é desconhecida²².

Os diferentes fenótipos reflectem a gravidade da subvirilização. Os indivíduos com SIPA com um fenótipo feminino, apresentam clitoriomegalia discreta, com fusão parcial dos pequenos lábios e pêlos púbicos na puberdade. Na apresentação com fenótipo masculino os indivíduos apresentam micropénis, hipospádia perineal e criptorquidia (esta forma é igualmente designada de síndrome de *Reifenstein*)^{1,8,23}.

Nos doentes com SIPA, as estruturas derivadas dos ductos de *Wolff* podem estar parcialmente ou completamente desenvolvidas, dependendo do fenótipo bioquímico do RA e os testículos estão frequentemente não descidos, localizando-se na região inguinal ou no escroto/grandes lábios²⁴.

Os indivíduos com SIPA têm habitualmente ginecomastia e testículos com um número reduzido de células germinativas, com conseqüente azoospermia e podem mais tarde, na puberdade, desenvolver carcinoma *in situ*²⁴.

SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE LIGEIRA AOS ANDROGÉNIOS

As formas ligeiras de SIA foram detectadas em estudos de infertilidade masculina, que sugeriam defeitos na acção dos androgénios^{2,25}. Verificou-se que em alguns homens com oligospermia, com testosterona normal e LH elevada existia uma mutação no gene do RA que conferia resistência aos androgénios. O SILA pode manifestar-se igualmente por ginecomastia isolada no jovem adulto provavelmente com história prévia de hipospádias *minor* corrigidas na infância.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de SIA deve ser suspeito em qualquer criança com cariótipo 46,XY que apresenta ambiguidade genital ou fenótipo feminino, na qual a resposta da testosterona e DHT ao teste de estimulação com hCG é normal para o sexo masculino. Em alguns casos existe história familiar que sugere hereditariedade ligada ao cromossoma X. A ecografia pélvica confirma a presença de testículos.

A confirmação do diagnóstico pode ser efectuada pela demonstração da ligação anormal dos androgénios ao RA em cultura de fibroblastos da pele dos genitais ou pela identificação da mutação inactivadora no gene do RA^{6,9}.

Classicamente, os indivíduos em idade pós-pubertária portadores de SIA apresentam níveis séricos elevados de LH e concentrações normais ou elevadas de FSH, estrógenios e testosterona, comparativamente aos homens normais. Os estudos efectuados em recém-nascidos e crianças com a forma completa de SIA revelaram que os níveis séricos de LH e testosterona não estão acima do normal nesta faixa etária⁸. A produção de estrógenios pelo testículo e pela aromatisação periférica da testosterona está elevada em cerca de duas vezes quando compa-

rada à de homens normais. A relação entre os níveis sanguíneos de testosterona e DHT está significativamente elevada, porém não compatível com os níveis encontrados na deficiência de 5 α -reductase tipo 2⁸.

ABORDAGEM TERAPÊUTICA

Existem vários aspectos a considerar na abordagem terapêutica, nomeadamente o grau de resistência, o risco de desenvolvimento de tumores gonadais, a necessidade de cirurgia e o aconselhamento genético.

SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE COMPLETA AOS ANDROGÉNIOS

Nos indivíduos com a forma completa, com genitais externos femininos normais e que cresceram como mulheres não há qualquer dúvida quanto à atribuição do sexo feminino¹. Uma vez que a feminização destes indivíduos ocorre em parte pela acção dos androgénios testiculares e em parte pela conversão periférica de androgénios em estrogénios, opta-se frequentemente, pela remoção testicular após a puberdade quando a feminização está completa.

A razão para a gonadectomia pós-pubertária é o risco de malignização testicular, que é rara antes da puberdade. *Goulis* e colaboradores descreveram um caso de hamartoma testicular bilateral num indivíduo de 18 anos com SICA, portador da mutação R831X do gene do RA²⁶.

A gonadectomia pré-pubertária está indicada se testículos inguinais forem fisicamente ou esteticamente desconfortáveis e se a herniorrafia inguinal for necessária. Neste caso, está indicada a terapêutica de substituição com estrogénios para iniciar a puberdade e manter a feminização. Em alguns casos, é necessária a realização de dilatações vaginais para evitar a dispareunia.

SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE PARCIAL AOS ANDROGÉNIOS

Nas formas de SIPA com fenótipo feminino, a abordagem é semelhante ao SICA, com excepção de que se preconiza a gonadectomia pré-pubertária para evitar o desconforto do crescimento da clitoromegalia na puberdade¹. Nos casos de ambiguidade genital ou fenótipo masculino, a escolha do sexo é um processo complexo que requer a abordagem de uma equipa multidisciplinar, devendo ser solucionado o mais rapidamente possível. Para além das considerações anatómicas e cirúrgicas, a escolha do sexo masculino envolve terapêutica com testosterona.

SÍNDROME DE INSENSIBILIDADE LIGEIRA AOS ANDROGÉNIOS

Nos indivíduos com infertilidade, o objectivo terapêutico principal é a promoção da espermatogénese¹.

ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Cerca de 70% das mutações no gene RA são hereditárias e de transmissão ligada ao cromossoma X¹. As mutações *de novo* representam 30% dos casos de mutações RA, sendo o risco de transmissão muito baixo, com excepção das mutações *germline* de novo da mãe. Nesta circunstância, a presença de mosaicismo germinativo celular pode ser assumida e o risco de transmissão é elevado²⁷. Porém, a possibilidade de mosaicismo *germline* não pode ser excluída em nenhum caso de mutação de novo do gene RA, de modo que é necessária precaução no aconselhamento genético destas famílias.

BIBLIOGRAFIA

1. Galani, A., et al., *Androgen insensitivity syndrome: clinical features and molecular defects*. Hormones (Athens), 2008. 7(3): p. 217-29.
2. Hughes, I.A. and A. Deeb, *Androgen resistance*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2006. 20(4): p. 577-98.
3. Morris, J.M., *The syndrome of testicular feminization in male pseudohermaphrodites*. Am J Obstet Gynecol, 1953. 65(6): p. 1192-1211.
4. Brown, C.J., et al., *Androgen receptor locus on the human X chromosome: regional localization to Xq11-12 and description of a DNA polymorphism*. Am J Hum Genet, 1989. 44(2): p. 264-9.
5. Kupfer, S.R., C.A. Quigley, and F.S. French, *Male pseudohermaphroditism*. Semin Perinatol, 1992. 16(5): p. 319-31.
6. Melo, K.F., et al., [*Androgen insensitivity syndrome: clinical, hormonal and molecular analysis of 33 cases*]. Arq Bras Endocrinol Metabol, 2005. 49(1): p. 87-97.
7. Hutson, J.M. and S. Hasthorpe, *Testicular descent and cryptorchidism: the state of the art in 2004*. J Pediatr Surg, 2005. 40(2): p. 297-302.
8. Quigley, C.A., et al., *Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives*. Endocr Rev, 1995. 16(3): p. 271-321.
9. Kronenberg HM, M.S., Polonsky K, Larsen PR, editor, *Williams Textbook of Endocrinology*. 11th ed: Saunders.
10. Hiipakka, R.A. and S. Liao, *Molecular mechanism of androgen action*. Trends Endocrinol Metab, 1998. 9(8): p. 317-24.
11. Chamberlain, N.L., E.D. Driver, and R.L. Miesfeld, *The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function*. Nucleic Acids Res, 1994. 22(15): p. 3181-6.
12. Ahmed, S.F. and I.A. Hughes, *The genetics of male undermasculinization*. Clin Endocrinol (Oxf), 2002. 56(1): p. 1-18.
13. Savage, M.O., et al., *Endocrine studies in male pseudohermaphroditism in childhood and adolescence*. Clin Endocrinol (Oxf), 1978. 8(3): p. 219-31.
14. Morris, J.M. and V.B. Mahesh, *Further Observations on the Syndrome, "Testicular Feminization"*. Am J Obstet Gynecol, 1963. 87: p. 731-48.
15. Papadimitriou, D.T., et al., *Puberty in subjects with complete androgen insensitivity syndrome*. Horm Res, 2006. 65(3): p. 126-31.
16. Bale, P.M., N.J. Howard, and J.E. Wright, *Male pseudohermaphroditism in XY children with female phenotype*. Pediatr Pathol, 1992. 12(1): p. 29-49.
17. Swanson, M.L. and E.H. Coronel, *Complete androgen insensitivity with persistent mullerian structures. A case report*. J Reprod Med, 1993. 38(7): p. 565-8.
18. Dodge, S.T., M.S. Finkelston, and K. Miyazawa, *Testicular feminization with incomplete Mullerian regression*. Fertil Steril, 1985. 43(6): p. 937-8.
19. Ulloa-Aguirre, A., et al., *Incomplete regression of mullerian ducts in the androgen insensitivity syndrome*. Fertil Steril, 1990. 53(6): p. 1024-8.
20. Rutgers, J.L. and R.E. Scully, *The androgen insensitivity syndrome (testicular feminization): a clinicopathologic study of 43 cases*. Int J Gynecol Pathol, 1991. 10(2): p. 126-44.
21. Galani, A., et al., *Sex-reversed phenotype in association with two novel mutations c.2494delA and c.T3004C in the ligand-binding domain of the androgen receptor gene*. Fertil Steril, 2008. 90(5): p. 2008 e1-4.
22. Aiman, J. and J.E. Griffin, *The frequency of androgen receptor deficiency in infertile men*. J Clin Endocrinol Metab, 1982. 54(4): p. 725-32.
23. Ferlin, A., et al., *Male infertility and androgen receptor gene mutations: clinical features and identification of seven novel mutations*. Clin Endocrinol (Oxf), 2006. 65(5): p. 606-10.
24. Melo, K.F., et al., *Clinical, hormonal, behavioral, and genetic characteristics of androgen insensitivity syndrome in a Brazilian cohort: five novel mutations in the androgen receptor gene*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. 88(7): p. 3241-50.
25. Gottlieb, B., et al., *Molecular pathology of the androgen receptor in male (in)fertility*. Reprod Biomed Online, 2005. 10(1): p. 42-8.
26. Goulis, D.G., et al., *R831X mutation of the androgen receptor gene in an adolescent with complete androgen insensitivity syndrome and bilateral testicular hamartomata*. Hormones (Athens), 2006. 5(3): p. 200-4.
27. Kohler, B., et al., *Androgen insensitivity syndrome: somatic mosaicism of the androgen receptor in seven families and consequences for sex assignment and genetic counseling*. J Clin Endocrinol Metab, 2005. 90(1): p. 106-11.