

Receptores Acoplados à Proteína G: Implicações para a Fisiologia e Doenças Endócrinas

Omar M. Hauache

*Laboratório de Endocrinologia
Molecular, Disciplina de
Endocrinologia, Departamento de
Medicina, Escola Paulista de
Medicina/Universidade Federal de
São Paulo (EPM/UNIFESP),
São Paulo, SP.*

*Recebido em 06/11/00
Revisado em 23/02/01
Aceito em 27/02/01*

RESUMO

A maioria dos hormônios polipeptídicos e mesmo o cálcio extracelular atuam em suas células-alvo através de receptores acoplados à proteína G (GPCRs). Nos últimos anos, tem sido freqüente a identificação e associação causal de mutações em proteínas G e em GPCRs com diversas endocrinopatias, como diabetes insipidus nefrogênico, hipotireoidismo familiar, puberdade precoce familiar no sexo masculino e nódulos tireoidianos hiperfuncionantes. Nesta revisão, abordamos aspectos referentes ao mecanismo de transdução do sinal acoplado à proteína G, e descrevemos como mutações em GPCRs podem levar a algumas doenças endócrinas. Finalmente, comentamos a respeito das implicações diagnósticas e terapêuticas associadas com o maior conhecimento dos GPCRs. (Arq Bras Endocrinol Metab 2001;45/3:228-239)

Unitermos: Receptores acoplados à proteína G; Mutações ativadoras; Mutações inativadoras; Doenças endócrinas

ABSTRACT

The majority of polypeptide hormones and even extracellular calcium signal their target cells through G protein-coupled receptors (GPCRs). Recently, many mutations have been both identified and associated with several endocrine disorders, such as nephrogenic diabetes insipidus, familial hypothyroidism, familial male precocious puberty and sporadic hyperfunctional thyroid nodules. In this review, the G-protein coupled signal transduction mechanism is described. Moreover, the mechanism through which GPCRs' mutations lead to endocrine disease is reviewed. Finally, we will comment on implications for diagnosis and treatment related to increasing research on GPCRs. (Arq Bras Endocrinol Metab 2001;45/3:228-239)

Keywords: G protein-coupled receptors; Activating mutations; Inactivating mutations; Endocrine diseases

Considerações Gerais Sobre a Proteína G, Receptores Acoplados à Proteína G e o Ciclo da GTPase

AS PROTEÍNAS GS INTERMEDIAM A TRANSMISSÃO do sinal entre os receptores acoplados às proteínas Gs (GPCRs) e efetores múltiplos, tais como enzimas e canais iônicos. Os genes que codificam as proteínas Gs são membros de uma superfamília de genes que codificam proteínas que se ligam a nucleotídeos guanina com alta afinidade e especificidade (1). As proteínas Gs são heterotrimeras, constituídas pelas sub-unidades α , β e γ . A sub-unidade α se liga aos nucleotídeos guanina enquanto as sub-unidades β e γ formam um dímero, através de uma ligação não covalente mas suficientemente forte para funcionar como uma unidade (2). Já foram descritos 16 genes para as sub-unidades α , com graus de expressão e especificidade de ligação ao receptor e ao efetor variáveis. As proteínas Gs são intermediárias essenciais para o mecanismo de transdução de sinal, ligando-se a diversos GPCRs, localizados na superfície celular (3).

Aproximadamente 2000 GPCRs já foram clonados desde a clonagem pioneira da rodopsina bovina em 1983 (4) e do receptor β adrenérgico em 1986 (5). Estes receptores são classificados em mais de 100 sub-famílias, de acordo com homologia de seqüência, estrutura dos ligantes e função do receptor. Um grau considerável de homologia de aminoácidos pode ser encontrado entre membros de uma determinada sub-família, mas comparações entre diferentes sub-famílias resultam em pouca ou nenhuma homologia (6).

Os GPCRs podem ser ativados por ligantes como, por exemplo, hormônios, neurotransmissores, fatores de crescimento, odorantes e fótons de luz. Uma vez ativada, a proteína G intermedia o processo de sinalização que é iniciado com a ativação do respectivo GPCR e termina com a resposta mediada pela ação de moléculas efetoras que incluem canais iônicos e enzimas que geram segundos mensageiros, como, por exemplo, a adenilil ciclase, a enzima que gera o segundo mensageiro AMP cíclico. Tais receptores compartilham uma estrutura comum caracterizada por sete domínios transmembranosos, e uma característica funcional que é a ativação da proteína G dependente da ligação do agonista ao GPCR (7). Estruturalmente falando, todos os GPCRs apresentam um domínio extracelular amino-terminal, sete domínios transmembranosos, três alças extracelulares e três alças intracelulares, e um domínio intracelular carboxi-terminal. Cada um dos sete domínios transmembranosos geralmente é composto por cerca de 20 a 27 aminoácidos. Por outro lado, existe uma grande variação de tamanho no que diz respeito aos outros domínios que compõem os GPCRs, o que deve estar associada a uma diversidade estrutural e funcional. Exemplificando, o domínio extracelular amino-terminal pode variar de apenas sete aminoácidos a mais de 600 aminoácidos (6). Diferentes classes de GPCRs ligam-se exclusivamente ou preferencialmente a uma proteína G específica. Diferenças na estrutura e na seqüência dentre os diversos GPCRs possivelmente contribuem para diferenças no reconhecimento de um ligante e no acoplamento específico a uma determinada proteína G.

Na realidade, as diferenças mais marcantes entre os vários GPCRs residem nos sítios de ligação e na forma de ligação e geração do sinal, o que evidencia esta diversidade e ao mesmo tempo favorece a existência de múltiplas abordagens no que diz respeito a aplicações clínicas e voltadas para a indústria farmacêutica. Exemplificando, para ligantes pequenos como as catecolaminas, o sítio de ligação situa-se num "bolso" formado por vários domínios transmembranosos. Para hormônios polipeptídicos, o domínio extra-celular e

uma ou mais alças extracelulares podem estar envolvidos na ligação do agonista. Já para hormônios glicoprotéicos e para o cálcio extracelular, o domínio de ligação parece residir no longo domínio extracelular característico destes receptores, para posterior interação com as alças extracelulares ou com os domínios transmembranosos (figura 1) (6-8). Já o acoplamento à proteína G topograficamente envolve as alças intracelulares e a porção carboxi-terminal intra-celular do receptor.

Um modelo largamente divulgado a respeito do mecanismo funcional dos GPCRs sugere que os GPCRs são proteínas dinâmicas, apresentando conformações diferentes que conseqüentemente podem ou não favorecer o acoplamento da respectiva proteína G. De acordo com este modelo, a ligação de um hormônio agonista estabilizaria a conformação que favorece a ligação com a proteína G, ativando, desta forma, o receptor (3).

Um aspecto funcional essencial no que diz respeito às proteínas Gs é o ciclo da GTPase. As proteínas Gs agem como interruptores, ou *timing switches*. Neste sentido, quando a conformação GDP+sub-unidades α , β e γ está presente, a sub-unidade α está associada com o dímero $\beta\gamma$, o mecanismo de transdução de sinal está "desligado" e a interação com o efector não se concretiza. Uma vez que o agonista se liga ao GPCR, este receptor vai agir cataliticamente no sentido de liberar o GDP que estava fortemente ligado à sub-unidade α , permitindo a ligação do GTP a esta sub-unidade. Esta ligação faz com que a sub-unidade α assuma uma conformação "ligada", o que permite que esta se dissocie do complexo $\beta\gamma$ e que possa modular a atividade do efector. Mesmo as sub-unidades $\beta\gamma$ também podem modular a atividade de determinados efetores. Uma atividade intrínseca da GTPase da sub-unidade α funciona como um regulador de tempo de reação, fazendo com que GDP seja novamente formado e que a sub-unidade α reassuma sua conformação "desligada". Finalizando o ciclo, o heterotrímero α , β e γ se associa novamente, aguardando que o receptor seja mais uma vez ativado para dar início a um novo ciclo (figura 2) (3,9). Vale mencionar que modificações covalentes das sub-unidades α através da ação de toxinas bacterianas como as da cólera e pertussis, assim como diversas mutações ativadoras e inativadoras das sub-unidades α , podem modificar o ciclo da GTPase e conseqüentemente levar a diversos tipos de alterações hormonais que podem ser revisados em artigos específicos (10,11).

Mutações nos GPCRs foram observadas e relacionadas a um amplo espectro de doenças hereditárias

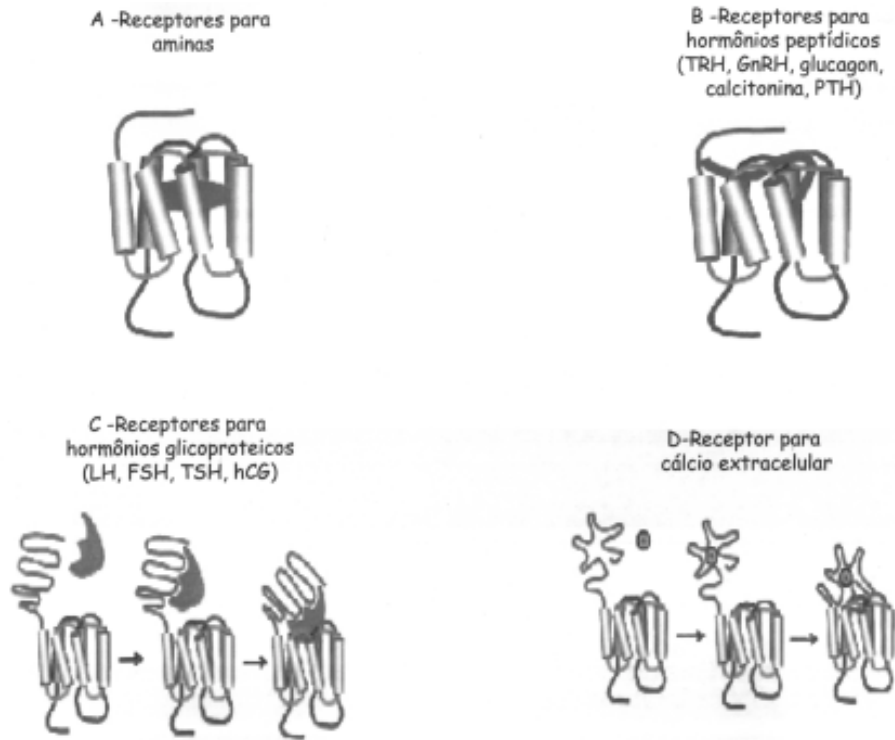


Figura 1. Representação esquemática da estrutura geral de alguns receptores acoplados à proteína G especificamente relacionados à Endocrinologia. De maneira esquemática, estão ilustradas as prováveis interações receptor-agonista de cada grupo [adaptado de Ji HT et al. (6)].

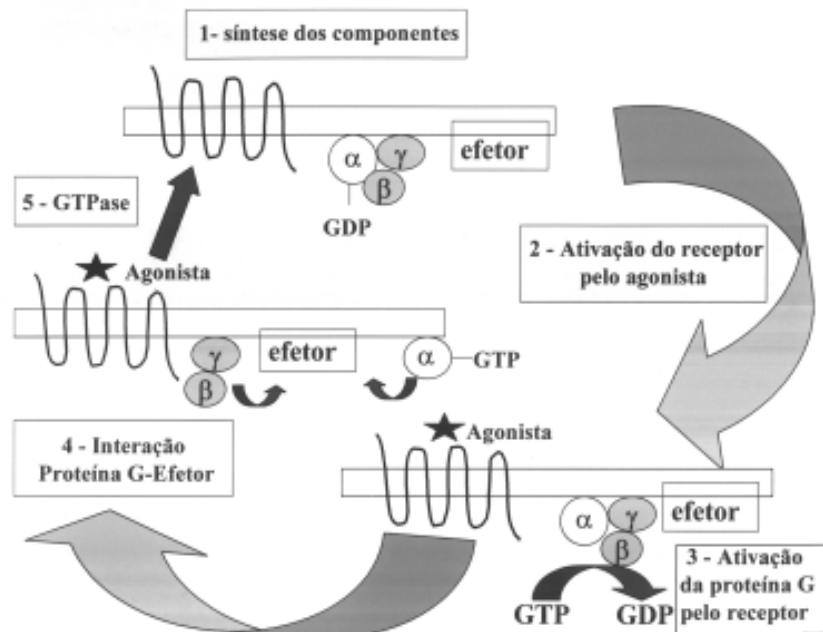


Figura 2. Representação esquemática do ciclo da GTPase-proteína G. Os sítios potenciais nos quais anormalidades implicam em doenças estão numerados de 1 a 5. Em cada figura, o retângulo branco representa a membrana plasmática onde se encontram os sete domínios transmembranais. Acima da membrana plasmática, representamos a área extracelular, e abaixo, a área intracelular [adaptado de Spiegel AM (3)].

e somáticas que variam desde de diferentes tipos de câncer até problemas como infertilidade (6). Estes receptores mutantes podem ser incapazes de gerar um sinal normal ou podem constitutivamente, independente da ligação de uma agonista, gerar um sinal. Além disso, o problema pode estar na expressão inadequada do receptor na superfície celular ou simplesmente pode envolver o impedimento da sua ligação ao agonista (6). A seguir, descreveremos algumas mutações ativadoras e inativadoras de GPCRs diretamente relacionadas com endocrinopatias.

Doenças Endócrinas Decorrentes de Mutações de GPCRs

Teoricamente, mutações em qualquer um dos componentes envolvidos no mecanismo de transdução de sinal acoplado à proteína G podem provocar uma doença. Entretanto, atualmente a grande maioria das doenças está relacionada à presença de mutações nos GPCRs e na sub-unidade α da proteína G. Genericamente, existem três determinantes principais sobre a expressão fenotípica de mutações em proteínas Gs e em GPCRs:

1 – O grau de expressão do gene mutado: neste caso, mutações num gene expresso de maneira difusa, como o G_{α} , devem causar manifestações mais generalizadas do que aquelas causadas por mutações em um gene cuja expressão seja mais restrita (como por exemplo, um determinado receptor);

2 – O tipo de mutação em questão: germinativa (herdada) ou somática (pós-zigótica). Mutações em linhagens germinativas podem causar manifestações em todas as células onde o gene é expresso. Por outro lado, no caso de mutações somáticas, mesmo aquelas que envolvem um gene ubiqüitadamente expresso, serão responsáveis por manifestações que estarão relacionadas às células derivadas do progenitor onde as mutações somáticas originalmente ocorreram;

3 – Ainda quanto ao tipo ou natureza da mutação: genericamente, as mutações podem ser classificadas como causando ganho (ativadoras) ou perda (inativadoras) de função.

Muitas das doenças provocadas por mutações nos GPCRs são doenças endócrinas. A maioria das endocrinopatias pode ser classificada como decorrente de hiper ou hiposecreção de um ou mais hormônios. Seguindo esta linha de raciocínio, mutações inativadoras em GPCRs em geral ocasionam doenças caracterizadas por hiposecreção hormonal, enquanto que mutações ativadoras geralmente estão relacionadas a excesso de secreção hormonal. Mutação inativadora de determinado GPCR causará resistência

hormonal com um fenótipo clínico que se assemelha ao fenótipo causado pela deficiência do hormônio que normalmente ativa o receptor correspondente ou receptores. A resistência hormonal causada por mutações inativadoras de GPCRs é caracterizada por níveis circulantes aumentados do hormônio agonista correspondente. Já as mutações ativadoras levam a uma condição que se assemelha à hipersecreção do hormônio que normalmente ativa o GPCR envolvido, mas na realidade os níveis circulantes deste hormônio estarão suprimidos, refletindo assim a hipersecreção autônoma da glândula alvo (12).

Finalmente, uma variedade de polimorfismos em genes que codificam os GPCRs foram identificados. Em alguns casos, variações de seqüência de DNA que alteram a seqüência de aminoácidos foram descritas, mas o significado funcional destas alterações ainda é objeto de estudo, especialmente em doenças complexas que muito provavelmente envolvem uma herança poligênica. Como exemplos destes estudos, citamos a associação de um polimorfismo na região codificadora do gene do receptor β 3-adrenérgico em relação ao diabetes mellitus do tipo 2 e à obesidade, e o polimorfismo do gene do receptor de glucagon relacionado à susceptibilidade ao desenvolvimento de diabetes mellitus do tipo 2 (12).

A – Doenças Endócrinas Causadas por Mutações Inativadoras (tabela 1)

Diversas doenças podem ser provocadas por mutações que podem prejudicar a função dos GPCRs mediante alteração em diferentes passos do ciclo de ativação (figura 2). Mutações inativadoras germinativas nos receptores dos hormônios adrenocorticotrófico (ACTH), tireoestimulante (TSH), liberador de TSH (TRH), liberador de hormônio de crescimento (GHRH), folículo-estimulante (FSH), luteinizante (LH) e vasopressina V_2 foram identificadas como causas de resistência para seus respectivos hormônios. No caso do receptor sensível ao cálcio extracelular (CaR), mutações inativadoras germinativas levam a uma diminuição da sensibilidade ao cálcio extracelular.

Mutações inativadoras de ambos os alelos do receptor de ACTH (MCR-2) causam uma resistência adrenocortical ao ACTH com conseqüentes manifestações de deficiência isolada de glicocortióide, caracterizada por hipoglicemia e infecções freqüentes, além de deficiência na produção de andrógenos adrenais (13,14). O receptor adrenocortical de ACTH (MCR-2) é um dos vários receptores que compõem a família dos receptores da melanocortina, cujos outros integrantes são o MCR-1 (cujo ligante é o MSH) e três outros

Tabela 1. Doenças endócrinas causadas por mutações inativadoras de receptores acoplados à proteína G.

| Receptor | Doença |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| ACTH | Resistência familiar ao ACTH |
| TSH | Hipotiroidismo familiar |
| GHRH | Deficiência familiar isolada de GH |
| FSH | Falência ovariana hipergonadotrófica |
| LH | Pseudohermafroditismo masculino |
| CaR | Hipercalcemia familiar benigna |
| | Hiperparatiroidismo severo neonatal |
| V ₂ (vasopressina) | Diabetes insipidus nefrogênico |
| TRH | Hipotiroidismo central |
| PTH/PTHrp | Condrodisplasia de Blomstrand |

receptores (MCR3-5) (15). A hiperpigmentação observada nos casos de resistência familiar ao ACTH reflete uma estimulação dos receptores de MSH localizados na pele por níveis circulantes elevados de ACTH (15). Várias mutações pontuais já foram descritas no receptor de ACTH, sendo estas responsáveis pela deficiência familiar de glicocorticóide em muitas (porém não em todas) famílias estudadas (16,17). Recentemente, foi demonstrado que diversas mutações associadas com a deficiência familiar de glicocorticóide resultam em prejuízo da resposta máxima de AMP cíclico ou perda da sensibilidade para a geração do AMP cíclico. De qualquer forma, existe uma variação considerável no que diz respeito ao fenótipo, mesmo em pacientes que possuem a mesma mutação (18).

O fenótipo esperado decorrente de mutações inativadoras do gene do receptor do TSH deve estar relacionado a uma síndrome de resistência ao TSH, assemelhando-se ao observado em pacientes com mutações no próprio gene do TSH. Uma mutação inativadora num resíduo de prolina altamente conservado localizado no quarto domínio transmembranoso do receptor de TSH foi identificada como causa do hipotiroidismo resistente ao TSH no camundongo *hyt* (19). Pacientes com mutações em ambos alelos exibem um grau de hipotiroidismo proporcional à extensão da perda de função. Portadores (heterozigotos) podem ser normais ou podem apresentar um aumento discreto do TSH plasmático (20). Ilustrando este fato, uma forma de hipotiroidismo congênito de herança autossômica recessiva foi relatado em três irmãs nas quais foram encontradas mutações pontuais distintas localizadas no domínio extracelular do receptor de TSH. Cada irmã afetada herdou um alelo paterno mutado (Isoleucina167Asparagina) e um alelo materno mutado (Prolina162Alanina) que, em conjunto (heterozigosidade

composta), foram suficientes para causar uma marcante alteração laboratorial (TSH bastante elevado com hormônios tiroidianos normais), mas individualmente (ou seja, no pai e na mãe) estão apenas relacionados a um TSH levemente aumentado (21). Casos familiares de mutações inativadoras do receptor de TSH foram identificadas em programas de rastreamento do hipotiroidismo congênito em Bruxelas e artigos recentes reforçam a presença de mutações que geram perda de função do receptor do TSH como uma possível causa de hipotiroidismo congênito (22-25).

Collu e cols. (26) descreveram o caso de um menino com diagnóstico de hipotiroidismo central isolado, realizado aos 9 anos de idade. O estudo do gene do receptor de TRH deste paciente revelou que o mesmo era um heterozigoto composto, tendo herdado um alelo com uma mutação paterna e o outro alelo com uma mutação proveniente da mãe.

O assim chamado "*little mouse*" apresenta um nanismo por deficiência de GH causado por uma mutação inativadora num resíduo altamente conservado no domínio extracelular do receptor de GHRH, caracterizada pela troca do aminoácido ácido aspártico na posição 60 por uma glicina (27). Em humanos, a deficiência isolada familiar de GH pode ser causada por uma mutação no próprio gene do GH. Entretanto, em algumas famílias, esta doença não está ligada ao locus do gene do GH. Assim como no "*little mouse*", numa destas famílias com importante deficiência de GH, duas crianças que não apresentavam mutações no receptor de GH e não respondiam à administração a curto prazo ou mesmo crônica de GHRH, apresentaram uma mutação pontual homozigótica (Glutamato72stop) no receptor de GHRH. Estes pacientes responderam bem à terapia convencional com GH (28). Posteriormente, outras descrições de mutações

no receptor de GHRH foram identificadas (29,30), destacando-se a descrição de uma nova mutação numa família brasileira (31).

Mutações inativadoras do receptor de FSH são responsáveis pelo desenvolvimento de disgenesia ovariana hipergonadotrófica. O reconhecimento de que alguns casos de disgenesia ovariana apresentam herança autossômica recessiva e estão ligados ao cromossomo 2p (onde está o sítio do gene do receptor de FSH) levou à identificação de uma mutação pontual homozigótica (troca de alanina na posição 189 por um resíduo de valina, no domínio extra-celular) no receptor de FSH de indivíduos afetados (32). Este estudo foi iniciado através da investigação de uma população finlandesa, onde um total de 75 pacientes portadoras de falência ovariana hipergonadotrófica foram estudadas (33). Estudos posteriores reforçaram que esta mutação é mais freqüente na população finlandesa, não ocorrendo com a mesma freqüência em populações de Singapura, Suíça e Dinamarca (34). Esta mutação não foi encontrada num grupo de pacientes brasileiras portadoras de falência ovariana prematura (35). Clinicamente, mulheres que têm esta mutação na forma homozigótica apresentam um cariótipo XX normal, desenvolvimento puberal normal com genitália interna e externa normais, desenvolvimento variável dos caracteres sexuais secundários e amenorréia primária (36). A resistência ao FSH na puberdade leva a uma parada da maturação folicular, com ovários pouco desenvolvidos. Mulheres heterozigotas são clinicamente assintomáticas. Homens homozigóticos para esta mutação inativadora foram identificados em famílias afetadas, mas as conseqüências fenotípicas são variáveis no que diz respeito ao comprometimento da espermatogênese, sem casos de infertilidade observados. Esta variação fenotípica nos homens reforça observações anteriores de que o FSH não é absolutamente necessário para a espermatogênese (33,35). Recentemente, novas mutações do gene do receptor de FSH foram descritas e estudadas (37).

Uma mutação inativadora homozigótica do receptor de LH, caracterizada pela substituição de uma alanina na posição 593 por uma prolina, resíduo localizado na junção do sexto domínio transmembranoso com a terceira alça extracelular, foi identificada em 2 irmãos, filhos de um casamento consanguíneo, e portadores de pseudohermafroditismo masculino (38). Ambos apresentavam-se como fenótipo feminino e cariótipo 46 XY com hipoplasia de células de Leydig causadas por falta de responsividade ao LH. A irmã 46,XX apresentava-se amenorréica (39). Formas mais leves podem ocorrer, manifestando-se como hipogo-

nadismo hipergonadotrófico e micropênis. Uma mutação homozigótica localizada no sétimo domínio transmembranoso do receptor de LH foi identificada num paciente do sexo masculino que apresentava micropênis e resistência ao hCG (40). Recentemente, um caso de hipogonadismo masculino, caracterizado por retardo puberal, testículos pequenos e atraso na maturação óssea foi descrito num paciente cujo estudo revelou uma deleção homozigótica do exon 10 do receptor de LH (41). Nas mulheres, o fenótipo é variável: em estudo de sete irmãs de pacientes portadores de pseudohermafroditismo masculino devido à resistência ao LH, Arnhold e cols. (42) observaram que mulheres com resistência ao LH podem apresentar desenvolvimento mamário espontâneo associado a amenorréia primária ou secundária, infertilidade e níveis elevados de LH, aumento da razão LH/FSH e ovários normais ou císticos. Gradativamente, mais mutações inativadoras do receptor de LH estão sendo descritas (43,44).

Com a clonagem do gene do receptor sensível ao cálcio extracelular por Brown e cols. em 1993 (45), rapidamente e sucessivamente foram identificadas diversas mutações neste receptor (46). Tais mutações, quando associadas com perda de função do receptor, podem ser responsáveis por dois fenótipos: quando herdadas de forma autossômica dominante, a doença em questão é a hipercalemia hipocalciúrica familiar benigna, que via de regra é assintomática. A segunda doença é extremamente grave e pode ser letal caso não diagnosticada e tratada a tempo: é o hiperparatiroidismo neonatal severo, cuja herança na maior parte das vezes é autossômica recessiva (47).

O diabetes insipidus nefrogênico (DIN) é caracterizado pela incapacidade de concentrar a urina apesar de uma secreção elevada de vasopressina. Existem pelo menos duas formas familiares, herdadas de forma autossômica recessiva (cerca de 10% dos casos) e ligada ao X (cerca de 90% dos casos) (48). A forma autossômica recessiva é explicada por mutações inativadoras no gene da aquaporina-2 (AQP2), que codifica um transportador de água de membrana em túbulo renal, sendo este o alvo distal da ação do AMP cíclico estimulada pela vasopressina. O gene do receptor humano de vasopressina V₂, AVPR2, localiza-se na região cromossômica Xq28, constituindo-se num óbvio candidato para a gênese molecular de casos com DIN ligado ao X (49). Atualmente, já foram identificadas mais de 150 diferentes mutações inativadoras do receptor acoplado à proteína G AVPR2 em diversas famílias com DIN ligado ao X, sendo que a incidência estimada desta doença em Quebec é de 8,8 por milhão

em nascidos vivos do sexo masculino (50). Muitas destas mutações até hoje descritas ocorreram em famílias brasileiras (51,52). Pacientes do sexo masculino que têm uma destas mutações no gene do receptor AVPR2 apresentam um fenótipo caracterizado por episódios precoces de desidratação, hipernatremia e hipertermia, já na primeira semana de vida (53).

Recentemente, Jobert e cols. (54) encontraram uma associação entre a condrodysplasia de Blomstrand (doença genética letal caracterizada por um quadro de maturação óssea endocondral avançada) e uma mutação inativadora do receptor de PTH/PTHrp (substituição de G por A no nucleotídeo 1176) que resultou na deleção dos primeiros 11 aminoácidos do exon 5, correspondendo ao quinto domínio transmembranoso deste receptor. Na realidade, esta forma de condrodysplasia nada mais é do que uma imagem em espelho da condrodysplasia de Jansen que está associada a mutações ativadoras do mesmo receptor (55).

B – Doenças Endócrinas Causadas por Mutações Ativadoras (tabela 2)

A ativação constitutiva (isto é, independente da ligação ao respectivo agonista) proveniente de mutações somáticas do gene do receptor de TSH está causalmente associada com adenomas tiroidianos hiperfuncionantes ou tóxicos (56). Mutações ativadoras germinativas deste mesmo receptor levam ao hipertireoidismo familiar não auto-imune (57,58). Num país como a Bélgica, onde a disponibilidade de iodo é moderadamente baixa, a maior causa de adenomas tóxicos únicos de tiróide é a presença de mutações ativadoras do receptor de TSH (20). Como é esperado no caso de hiperfunção autônoma tiroídiana, o TSH encontra-se suprimido. Uma revisão recente abordou todas as mutações ativadoras do receptor de TSH descritas até hoje: 15 mutações germinativas em 14 códons e 94 mutações somáticas em 15 códons já foram relatadas (59). Vale também ressaltar um caso descrito de hipertireoidismo gestacional familiar decorrente de um receptor de TSH mutado e com sensibilidade aumen-

tada aos níveis de gonadotrofina coriônica humana (60). Recentemente, anormalidades genéticas envolvendo o receptor de TSH foram associadas com tumorigênese benigna e maligna da tiróide. Na realidade, mutação do receptor de TSH foi encontrada em poucos casos de carcinoma diferenciado de tiróide e, desta forma, o papel das alterações dos mecanismos AMP cíclico-dependentes relacionados ao receptor de TSH ainda precisam ser esclarecidos (61).

Gromoll e cols. (62) descreveram o caso de um paciente de 28 anos de idade, que havia sido hipofisectomizado há 8 anos e posteriormente tratado com sessões de radioterapia devido a um adenoma hipofisário cromóforo. Este paciente evoluiu para panhipopituitarismo e foi suplementado com glicocorticóide, tiroxina e testosterona. As gonadotrofinas circulantes eram indetectáveis e a concentração sérica de testosterona era normal, decorrente da reposição hormonal. Apesar destes antecedentes, o volume testicular deste paciente encontrava-se no limite superior da normalidade, com espermatogênese e fertilidade preservadas e motilidade e morfologias dos espermatozoides levemente comprometidas. Estes dados compatíveis com espermatogênese gonadotrofina-independente levaram à investigação e ao encontro de uma mutação constitutivamente ativadora do receptor de FSH (Asn567Gly) localizada na terceira alça intracelular. Este caso representa a única descrição de mutação ativadora do receptor de FSH, mas o estudo funcional é questionado em estudos posteriores.

No que diz respeito ao receptor de LH, diversas mutações ativadoras já foram descritas. Ainda quanto à frequência de mutações, na realidade chega a ser surpreendente a marcante diferença entre os receptores de LH e FSH. Talvez as mutações em ambos os receptores até ocorram com a mesma frequência, mas é possível que mutações ativadoras do receptor de FSH não resultem em algum fenótipo específico (63) (exceto o caso descrito anteriormente). Mutações ativadoras do receptor de LH resultam em puberdade precoce familiar masculina ou testotoxicose, que é uma

Tabela 2. Doenças endócrinas causadas por mutações ativadoras de receptores acoplados à proteína G.

| Receptor | Doença |
|-----------|---|
| TSH | Nódulos tiroidianos hiperfuncionantes esporádicos Hipertireoidismo familiar não auto-imune |
| FSH | Espermatogênese independente de gonadotrofinas |
| LH | Puberdade precoce familiar masculina Tumor das células de Leydig |
| CaR | Hipocalcemia autossômica dominante |
| PTH/PTHrp | Condrodisplasia metafisária de Jansen |

doença de herança autosômica dominante onde os meninos afetados apresentam sinais de virilização geralmente em torno dos 4 anos de idade ou mesmo antes. Entretanto, esta doença pode ocorrer esporadicamente na forma de nova mutação germinativa (64). Compatível com o quadro de hiperfunção gonadal autônoma, as gonadotrofinas encontram-se suprimidas. Indivíduos portadores de testotoxicose e pertencentes a nove diferentes famílias apresentavam em comum a presença da mutação D578G localizada no sexto domínio transmembranoso do receptor de LH, capaz de ativar constitutivamente este receptor (65,66). Esta mutação é a causa mais comum de testotoxicose familiar e esporádica nos Estados Unidos (64-66). Entretanto, diversas outras mutações já foram descritas até hoje, sendo que a maioria destas concentra-se no sexto domínio transmembranoso do receptor de LH (67). O LH por si só é suficiente para desencadear a esteroidogênese na células de Leydig, mas ambos LH e FSH são necessários para ativar a esteroidogênese ovariana. Desta forma, uma inativação inapropriada apenas do LH não deveria causar puberdade precoce em mulheres. De fato, nenhuma evidência de hiperandrogenismo ovariano subclínico foi encontrada em uma mulher portadora da mutação D578G (68). O primeiro caso de tumor de células germinativas testiculares foi publicado em 1998 (69), referindo-se a um paciente com diagnóstico de puberdade precoce familiar masculina diagnosticada aos 27 meses de idade. Este mesmo paciente teve um diagnóstico de seminoma testicular realizado aos 35 anos de idade, tendo sido identificada uma mutação ativadora do gene do receptor de LH (Asp578Gly). Além deste caso, Liu e cols. (70) relataram a presença da mutação somática Asp564H no gene deste mesmo receptor, detectada no tecido de adenomas de células de Leydig de três meninos sem parentesco (esta mutação não foi encontrada no tecido adjacente normal ou mesmo em células sanguíneas). Desta forma, níveis elevados de testosterona de início na infância aparentemente predispõem ao desenvolvimento de tumores testiculares, o que indica que pacientes com puberdade precoce familiar masculina devem ser seguidos a longo prazo (71).

Muitos dos casos rotulados com o diagnóstico de hipoparatiroidismo idiopático podem, na verdade, ter como base uma mutação ativadora do receptor sensível ao cálcio extracelular. Neste contexto, a doença é chamada de hipocalcemia autossômica dominante (46,47).

Uma rara causa de nanismo, denominada condrodisplasia metafisária de Jansen, está associada com hipercalcemia independente de PTH, o que é com-

patível com uma ativação constitutiva do receptor de PTH, simulando o efeito de níveis aumentados de PTH. De fato, 3 mutações inativadoras do gene do receptor de PTH/PTHrp (H223R, T410P e I458R) já foram descritas em 11 pacientes não relacionados portadores desta doença, confirmando esta associação causal (55,72-74). A identificação desta associação (assim como a associação entre condrodisplasia de Blomstrand e inativação deste mesmo receptor) tem implicações para a melhor compreensão da importância biológica do receptor de PTH/PTHrp no que diz respeito ao desenvolvimento esquelético humano, além do papel que exerce na regulação homeostática mineral.

GPCRs: Perspectivas para o Diagnóstico e Tratamento de Endocrinopatias

A identificação de mutações naturais nos GPCRs e mesmo nas sub-unidades α das proteínas Gs e a associação causal destas mutações com diversas endocrinopatias sem dúvida alguma em muito contribuiu para a melhor compreensão de aspectos estruturais e funcionais destes receptores e destas proteínas sinalizadoras. Além disso, diversos aspectos da fisiologia endócrina são constantemente atualizados através de novas descobertas nesta área. Entretanto, para a grande maioria das endocrinopatias, o diagnóstico funcional ainda depende das medidas das concentrações dos hormônios considerados relevantes para determinada situação, e o tratamento ainda se baseia na reposição do(s) hormônio(s) deficiente(s) ou na correção clínica ou cirúrgica de um estado de hipersecreção hormonal.

Apesar disso, neste aspecto de diagnóstico e tratamento de doenças endócrinas, é fácil notar uma mudança cujo ritmo só tende a crescer com o passar do tempo. Exemplos não faltam: no caso do diabetes insipidus nefrogênico ligado ao X, atualmente já é possível o estudo de investigação de mutações no gene do receptor da vasopressina. Isto pode ser de extrema utilidade no caso de quisermos determinar se uma mulher clinicamente assintomática é portadora desta mutação, o que implicaria na avaliação de risco de seus futuros filhos apresentarem a doença. Neste caso, estes poderiam ser testados imediatamente no período pós-natal ou até mesmo no pré-natal para determinar se são afetados. Neste caso, a reposição apropriada de fluidos pode ser iniciada imediatamente para prevenir qualquer grau de desidratação (53). Outro exemplo refere-se à identificação de mutações do gene do receptor sensível ao cálcio (cromossomo 3q) para auxiliar em caso de eventuais dúvidas no diagnóstico dife-

rencial de hipercalcemia hipocalciúrica familiar benigna (FHH) e hiperparatireoidismo primário (HPP). No caso da FHH, paratireoidectomia não é indicada, mas nos casos de HPP, este procedimento cirúrgico muitas vezes deve ser realizado. A grande maioria das mutações identificadas até hoje em pacientes com FHH situa-se no cromossomo 3q onde está localizado o gene do receptor sensível ao cálcio extracelular (46).

Outra linha promissora de pesquisa está relacionada à associação entre mutações em GPCRs e a transformação celular e conseqüente e potencial formação de tumores, conforme tem sido descrito em alguns casos envolvendo mutações ativadoras do gene do receptor de TSH e tumores tireoidianos (56,61). Exemplificando, o papel do receptor de ACTH na formação de tumores adrenocorticais tem sido alvo de alguns estudos. O seqüenciamento direto de toda a região codificadora do gene do receptor de ACTH proveniente de adenomas e carcinomas adrenocorticais não revelou a presença de mutações constitutivas ativadoras, indicando que este mecanismo não é freqüente na tumorigênese adrenocortical humana (75). Entretanto, Reincke e cols. (76) demonstraram que uma deleção do gene do receptor de ACTH pode estar envolvida na gênese de alguns tumores adrenocorticais, contribuindo para a inadequada diferenciação celular (77).

Terapeuticamente falando, a partir do momento em que é identificada uma associação entre determinada doença e a presença de mutações em GPCRs, abre-se uma enorme avenida para a pesquisa de drogas que potencialmente consigam atuar neste receptor, modulando sua resposta para mais ou para menos, conforme a necessidade. Exemplificando, as drogas calcimiméticas e calciolíticas atuam diretamente no receptor sensível ao cálcio extracelular (CaR). As calcimiméticas (78) são capazes de ativar o CaR, diminuindo assim a secreção de PTH, o que implica numa droga muito atraente para o controle da secreção de PTH em alguns casos de hiperparatireoidismo primário e urêmico. Por outro lado, as calciolíticas (79) aumentam a secreção de PTH, sendo desta forma alvos atuais de estudos para o uso terapêutico para osteoporose, visto que o próprio PTH, em níveis fisiológicos, é comprovadamente anabólico para a massa óssea (80).

Em conclusão, gostaríamos de enfatizar o quanto esta área de pesquisas relacionada a diversas endocrinopatias resultantes de alterações estruturais e funcionais de GPCRs e/ou de suas respectivas proteínas Gs tem avançado rapidamente, e desta forma contribuído para a melhor compreensão de mecanismos fisiológicos e patogênicos que compõem a endocrinologia como um todo. Com o tempo e com a deter-

minação tridimensional da estrutura destes receptores, seguindo-se o exemplo recente do receptor da rodopsina (81), tal compreensão seguramente vai atingir um nível ainda mais completo.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Allen M. Spiegel (*National Institutes of Health*, Bethesda, U.S.A.) pela oportunidade de estudo no NIH. Agradeço também à FAPESP, pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Spiegel AM, Jones TL, Simonds WF, Weinstein LS. **G Proteins**. Austin: RG Landes, 1994.
2. Farfel Z, Bourne HR, Iiri T. The expanding spectrum of G protein diseases. **N Engl J Med** 1999;340:1012-20.
3. Spiegel AM. Mutations in G proteins and G protein coupled receptors in endocrine disease. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:2434-42.
4. Nathans J, Hogness DS. Isolation, sequence analysis, and intron-exon arrangement of the gene encoding bovine rhodopsin. **Cell** 1983;34:807-14.
5. Dixon RA, Kobilka BK, Strader DJ, Benovic JL, Dohlman HG, Frielle T, et al. Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. **Nature** 1986;321:75-9.
6. Ji TH, Grossmann M, Ji I. G Protein-coupled Receptors. I. Diversity of receptor-ligand interactions. **J Biol Chem** 1998;273:17299-302.
7. Vaughan M. G Protein-coupled Receptors. Minireview Series. **J Biol Chem** 1998;273:17297-98.
8. Gether U, Kobilka BK. G Protein-coupled Receptors. II. Mechanism of agonist activation. **J Biol Chem** 1998;273:17979-82.
9. Iiri T, Farfel Z, Bourne HR. G-protein diseases furnish a model for the turn-on switch. **Nature** 1998;394:35-8.
10. Spiegel AM, Weinstein LS, Shenker A. Abnormalities in G protein-coupled signal transduction pathways in human disease. **J Clin Invest** 1993;92:1119-25.
11. Hamm HE. The many faces of G protein signaling. **J Biol Chem** 1998;273:669-72.
12. Spiegel AM. Introduction to G-protein coupled signal transduction and human disease. In: Spiegel AM, ed. **G proteins, Receptors, and Disease**. 1st ed. New Jersey: Humana Press, 1998:1-22.
13. Tsigos C, Arai K, Hung W, Chrousos GP. Hereditary isolated glucocorticoid deficiency is associated with abnormalities of the adrenocorticotropin receptor gene. **J Clin Invest** 1993;92:2458-61.
14. Weber A, Toppari J, Harvey RD, Klann RC, Shaw NJ, Ricker AT, et al. Adrenocorticotropin receptor gene mutations in familial glucocorticoid deficiency: relationships with clinical features in four families. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:65-71.

15. Mountjoy KG, Robbins LS, Mortrud MT, Cone RD. The cloning of a family of genes that encode the melanocortin receptors. **Science** 1992;257:1248-51.
16. Tsigos C. Isolated glucocorticoid deficiency and ACTH receptor mutations. **Arch Med Res** 1999;30:475-80.
17. Wu SM, Stratakis CA, Chan CHY, Hallermeier KM, Bourdony CJ, Rennert OM, et al. Genetic heterogeneity of adrenocorticotropin (ACTH) resistance syndromes: identification of a novel mutation of the ACTH receptor gene in hereditary glucocorticoid deficiency. **Mol Genet Metab** 1998;64:256-65.
18. Elias LL, Huebner A, Pullinger GD, Mirtella A, Clark AJ. Functional characterization of naturally occurring mutations of the human adrenocorticotropin receptor: poor correlation of phenotype and genotype. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:2766-70.
19. Stein As, Oates EL, Hall CR, et al. Identification of a point mutation in the thyrotropin receptor of the *hyt/hyt* hypothyroid mouse. **Mol Endocrinol** 1994;8:129-38.
20. Vassart G. Hypo- and hyperthyroidism caused by mutations of the TSH receptor. In: Spiegel AM, ed. **G proteins, Receptors, and Disease**. 1st ed. New Jersey: Humana Press, 1998:119-38.
21. Sunthornthevaakul T, Gottschalk ME, Hayashi Y, Refetoff S. Resistance to thyrotropin caused by mutations in the thyrotropin-receptor gene. **N Engl J Med** 1995;155-60.
22. Abramowicz M, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. **J Clin Invest** 1997;99:3018-24.
23. Tonacchera M, Agretti P, Pinchera A, Rosellini V, Perri A, Collecchi P, et al. Congenital hypothyroidism with impaired thyroid response to thyrotropin (TSH) and absent circulating thyroglobulin: evidence for a new inactivating mutation of the TSH receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:1001-8.
24. Nogueira CR, Nguyen LQ, Coelho-Neto JR, Arseven OK, Jameson JL, Kopp P, et al. Structural analysis of the thyrotropin receptor in four patients with congenital hypothyroidism due to thyroid hypoplasia. **Thyroid** 1999;9:523-9.
25. Biebermann H, Liesenkotter KP, Emeis M, Oblanden M, Gruters A. Severe congenital hypothyroidism due to a homozygous mutation of the beta TSH gene. **Pediatr Res** 1999;46:170-3.
26. Collu R, Tang J, Castagne J, Lagace G, Masson N, Huot C, et al. A novel mechanism for isolated central hypothyroidism: inactivating mutations in the thyrotropin-releasing hormone receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:1561-5.
27. Godfrey P, Rahal JO, Beamer WG, Copeland NG, Jenkins NA, Mayo KE. GHRH receptor of *little mice* contains a missense mutation in the extracellular domain that disrupts receptor function. **Nat Genet** 1993;4:227-32.
28. Wajnrajch MP, Gertner JM, Harbison MD, Chua SC Jr, Leibel RL. Nonsense mutation in the human growth-hormone releasing hormone receptor causes growth failure analogous to the *little mouse*. **Nat Genet** 1996;12:88-90.
29. Baumann G, Maheshwari H. Severe growth hormone (GH) deficiency caused by a mutation in the GH-releasing hormone receptor gene. **Acta Paediatr Suppl** 1997;423:33-8.
30. Netchine I, Talon P, Dastot F, Vitaux F, Goossens M, Amselem S. Extensive phenotypic analysis of a family with growth hormone (GH) deficiency caused by a mutation in the GH-releasing hormone receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:432-6.
31. Salvatori R, Hayashida CY, Aguiar-Oliveira MH, Phillips JA 3rd, Souza AH, Gondo RG, et al. Familial dwarfism due to a novel mutation of the growth hormone-releasing hormone receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:917-23.
32. Aittomäki K, Lucena JL, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen J, Gromoll J, et al. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. **Cell** 1995;82:959-68.
33. Aittomäki K. The genetics of XX gonadal dysgenesis. **Am J Hum Genet** 1994;54:844-51.
34. Jiang M, Aittomaki K, Nilsson C, Pakarinen P, Iitia A, Torresani T, et al. The frequency of an inactivating point mutation (566C->T) of the human follicle-stimulating hormone receptor gene in four populations using allele-specific hybridization and time-resolved fluorometry. **J Clin Endocrinol Metab** 1998;83:4338-43.
35. da Fonte Kohek MB, Batista MC, Russell AJ, Vass K, Giacaglia LR, Mendonça BB, et al. No evidence of the inactivating mutation (C566T) in the follicle-stimulating hormone receptor gene in Brazilian women with premature ovarian failure. **Fertil Steril** 1998;70:565-7.
36. Aittomaki K, Herva R, Stenman UH, Juntunen K, Ylostalo P, Hovatta O, et al. Clinical features of primary ovarian failure caused by a point mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:3722-6.
37. Touraine P, Beau I, Gougeon A, Meduri G, Desroches A, Pichard C, et al. New natural inactivating mutations of the follicle-stimulating hormone receptor: correlations between receptor function and phenotype. **Mol Endocrinol** 1999;13:1844-54.
38. Kremer H, Kraaij R, Toledo SP, Post M, Fridman JB, Hayashida CY, et al. Male pseudohermaphroditism due to a homozygous missense mutation of the luteinizing hormone receptor gene. **Nat Genet** 1995;9:160-4.
39. Toledo SP, Brunner HG, Kraaij R, Post M, Dahia PL, Hayashida CY. An inactivating mutation of the luteinizing hormone receptor causes amenorrhea in a 46,XX female. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:3850-4.
40. Latronico AC, Anasti J, Arnhold IJ, Rapaport R, Mendonça BB, Bloise W, et al. Brief report: testicular and ovarian resistance to luteinizing hormone caused by inactivating mutations of the luteinizing hormone-receptor gene. **N Engl J Med** 1996;334:507-12.
41. Gromoll J, Eiholzer U, Nieschlag E, Simoni M. Male hypogonadism caused by homozygous deletion of exon 10 of the luteinizing hormone (LH) receptor: differential action of human chorionic gonadotropin and LH. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:2281-6.
42. Arnhold IJ, Latronico AC, Batista MC, Izzo CR, Mendonça BB. Clinical features of women with resistance to luteinizing hormone. **Clin Endocrinol** 1999;51:701-7.

43. Wu SM, Hallermeier KM, Laue L, Brain C, Berry AC, Grant DB, et al. Inactivation of the luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor by an insertional mutation in Leydig cell hypoplasia. **Mol Endocrinol** 1998;12:1651-60.
44. Martens JW, Verhoef-Post M, Abelin N, Ezabella M, Toledo SP, Brunner HG, et al. A homozygous mutation in the luteinizing hormone receptor causes partial Leydig cell hypoplasia: correlation between receptor activity and phenotype. **Mol Endocrinol** 1998;12:775-84.
45. Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, et al. Cloning and characterization of an extracellular Ca⁽²⁺⁾-sensing receptor from bovine parathyroid. **Nature** 1993;366:575-80.
46. Brown EM. Physiology and pathophysiology of the extracellular calcium-sensing receptor. **Am J Med** 1999;106:238-53.
47. Brown EM, Pollak M, Hebert SC. The extracellular calcium-sensing receptor: its role in health and disease. **Ann Rev Med** 1998;49:15-29.
48. Bichet DG. Nephrogenic diabetes insipidus. **Am J Med** 1998;105:431-42.
49. Birnbaumer M, Seibold A, Gilbert S, Ishido M, Barberis C, Antaramian A, et al. Molecular cloning of the receptor for human antidiuretic hormone. **Nature** 1992;357:333-5.
50. Arthus MF, Lonergan M, Crumley MJ, Naumova AK, Morin D, de Marco LA, et al. Report of 33 novel AVPR2 mutations and analysis of 117 families with X-linked nephrogenic diabetes insipidus. **J Am Soc Nephrol** 2000;11:1044-54.
51. Friedman E, Bale AE, Carson E, Boson WL, Nordenskjold M, Ritzen M, et al. Nephrogenic diabetes insipidus: an X-chromosome-linked dominant inheritance pattern with a vasopressin type 2 receptor gene that is structurally normal. **Proc Natl Acad Sci USA** 1994;91:8457-61.
52. Rocha JL, Friedman E, Boson W, Moreira A, Figueiredo B, Liberman B, et al. Molecular analysis of the vasopressin type 2 receptor and aquaporin-2 receptor in Brazilian kindreds with nephrogenic diabetes insipidus. **Hum Mut** 1999;14:233-9.
53. Bichet DG. Nephrogenic diabetes insipidus and vasopressin receptor mutations. In: Spiegel AM, ed. **G proteins, Receptors, and Disease**. 1st ed. New Jersey: Humana Press, 1998:139-52.
54. Jobert AS, Zhang P, Couvineau A, Bonaventure J, Roume J, Le Merrer M, et al. Absence of functional receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide in Blomstrand chondrodysplasia. **J Clin Invest** 1998;102:34-40.
55. Schipani E, Kruse K, Jüppner H. A constitutively active mutant PTH-PTHrP receptor in Jansen-type metaphyseal chondrodysplasia. **Science** 1995;268:98-100.
56. Parma J, Duprez L, Van Sande J, Cochaux P, Gervy C, Mockel J, et al. Somatic mutations in the thyrotropin receptor gene cause hyperfunctioning thyroid adenomas. **Nature** 1993;365:649-51.
57. Kopp P, Van Sande J, Parma J, Duprez L, Zuppinger K, Jameson JL, et al. Congenital non-autoimmune hyperthyroidism caused by a neomutation in the thyrotropin receptor gene. **N Engl J Med** 1995;332:150-4.
58. Van Sande J, Parma J, Tonacchra M, Swillens S, Dumont J, Vassart G. Somatic and germline mutations of the TSH receptor gene in thyroid diseases. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:2577-85.
59. Farid NR, Kascur V, Balazs C. The human thyrotropin receptor is highly mutable: a review of gain-of-function mutations. **Eur J Endocrinol** 2000;143:25-30.
60. Rodien P, Brenont C, Raffin Sanson M-L, Parma J, Van Sande J, Costagliola S, et al. Familial gestational hyperthyroidism caused by a mutant thyrotropin receptor hypersensitive to human chorionic gonadotropin. **N Engl J Med** 1998;339:1823-6.
61. Russo D, Arturi F, Chiefari E, Filetti S. Thyrotropin receptor: a role for thyroid tumorigenesis? **Forum (Genova)** 1999;9:166-75.
62. Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. An activating mutation of the follicle-stimulating hormone autonomously sustains spermatogenesis in a hypophysectomized man. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:1367-70.
63. Nordhoff V, Gromoll J, Simoni M. Constitutively active mutations of G protein-coupled receptors: the case of the human luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone receptors. **Arch Med Res** 1999;30:501-9.
64. 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.
65. Skenker A, Laue L, Kosuge S, Merendino JJ Jr., Minegishi T, Cutler GB Jr. A constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty. **Nature** 1993;365:652-4.
66. Kremer H, Mariman E, Otten BJ, Moll GW Jr, Stoelinga GB, Wit JM, et al. Cosegregation of missense mutations of the luteinizing hormone receptor gene with familial male-limited precocious puberty. **Hum Mol Genet** 1993;2:1779-83.
67. Themmen AP, Martens JW, Brunner HG. Activating and inactivating mutations in LH receptors. **Mol Cell Endocrinol** 1998;145:137-42.
68. 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.
69. Martin MM, Wu SM, Martin ALA, Rennert OM, Chan WY. Testicular seminoma in a patient with a constitutively activating mutation of the luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor. **Euro J Endocrinol** 1998;13:101-6.
70. Liu G, Duranteau L, Carel JC, Monroe J, Doyle DA, Shenker A. Leydig-cell tumor caused by an activating mutation of the gene encoding the luteinizing hormone receptor. **N Engl J Med** 1999;341:1731-6.
71. Wu SM, Leschek EW, Rennert OM, Chan WY. Luteinizing hormone receptor mutations in disorders of sexual development and cancer. **Front Bio Sci** 2000;5:D343-52.
72. Schipani E, Langman CB, Parfitt AM, Jensen GS, Kikuchi

- S, Kooh SW, et al. Constitutively activated receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide in Jansen's metaphyseal chondrodysplasia. **N Engl J Med** 1996;335:708-14.
73. Minagawa M, Arakawa K, Takeuchi S, Minamitani K, Yasuda T, Niimi H. Jansen-type metaphyseal chondrodysplasia: analysis of PTH/PTH-related protein receptor messenger RNA by the reverse transcriptase-polymerase chain method. **Endocr J** 1997;44:493-9.
74. Schipani E, Langman C, Hunzelman J, Le Merrer M, Loke KY, Dillon MJ, et al. A novel parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor mutation in Jansen's metaphyseal chondrodysplasia. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:3052-7.
75. Latronico AC, Reincke M, Mendonça BB, Arai K, Mora P, Allolio B, et al. No evidence for oncogenic mutations in the adrenocorticotropin receptor gene in human adrenocortical neoplasms. **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:875-7.
76. Reincke M, Mora P, Beuschlein F, Arit W, Chrousos GP, Allolio B. Deletion of the adrenocorticotropin receptor gene in human adrenocortical tumors: implication for tumorigenesis. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:3054-8.
77. Latronico AC. Role of the ACTH receptor in adrenocortical tumor formation. **Braz J Med Biol Res** 2000;33:1249-52.
78. Nemeth EF, Fox J. Calcimimetic compounds: a direct approach to controlling plasma levels of parathyroid hormone in hyperparathyroidism. **Trends Endocrinol Metab** 1999;10:66-71.
79. Gowen M, Stroup GB, Dodds RA, James IE, Votta BJ, Smith BR, et al. Antagonizing the parathyroid calcium receptor stimulates parathyroid hormone secretion and bone formation in osteopenic rats. **J Clin Invest** 2000;105:1595-604.
80. Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Roberson P, Parfitt AM, Manolagas SC. Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone. **J Clin Invest** 1999;104:439-46.
81. Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, Behnke CA, Motoshima H, Fox BA, et al. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor. **Science** 2000;289:739-45.

Endereço para correspondência

Omar M. Hauache
Disciplina de Endocrinologia – EPM/UNIFESP
Rua Pedro de Toledo 781 – 12º andar
04039-032 São Paulo, SP
Fax: (11) 5084-5231
e.mail: ohauache-endo@pesquisa.epm.br