



DISGENESIA GONADAL COM FENÓTIPO FEMININO COM OU SEM SÍNDROME DE TURNER: TUMORES GONADAIS E PRESENÇA DE SEQÜÊNCIAS MOLECULARES DO CROMOSSOMO Y



Beatriz Amstalden Barros & Gil Guerra-Júnior

Departamento de Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas, CP 6111
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Apoio:
CNPq (bolsa BAB & GGJ) e
FAPESP
(Projeto individual 07/00520-3)

RESUMO

Introdução: Nos últimos 15 a 20 anos, novos conhecimentos no diagnóstico e na terapêutica da ST mudaram sua visão esterotipada e o seu prognóstico. **Objetivo:** Avaliar a evolução do diagnóstico citogenético da ST no Laboratório de Citogenética Humana da FCM - UNICAMP entre 1970 e 2008. **Casuística e Métodos:** Foram avaliados todos os cariótipos realizados a partir de cultura de linfócitos de sangue periférico colhidos neste período em relação ao resultado do cariótipo, ano da realização do exame, número de metáfases analisadas e resultado do estudo molecular das seqüências de cromossomo Y. **Resultados:** Dos 260 casos incluídos, 108 apresentaram cariótipo 45,X; 88 aberrações estruturais; e 58 mosaicos. Houve aumento significativo do diagnóstico da ST no decorrer dos anos, e associado ao número da contagem de metáfases, houve diminuição dos casos 45,X e aumento das aberrações estruturais. O estudo dos marcadores moleculares do cromossomo Y foi realizado em 96 casos e positivo em 10. **Conclusões:** Observou-se um incremento na quantidade e na qualidade dos casos diagnosticados de ST com o decorrer dos 39 anos.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Todos os casos com diagnóstico citogenético de ST, realizados pelo Laboratório de Citogenética Humana do Departamento de Genética Médica desde 1970 até maio de 2008, foram avaliados.

A avaliação consistiu do levantamento do resultado do cariótipo, do ano da realização do exame, do número de metáfases analisadas, e da realização e do resultado do estudo molecular de seqüências do cromossomo Y. Todos os cariótipos avaliados foram realizados em cultura de linfócitos de sangue periférico e os resultados foram divididos em: 45,X; mosaicismos sem aberração estrutural de cromossomos sexuais; aberração estrutural de cromossomos sexuais com ou sem mosaicismo; e presença de cromossomo Y íntegro. Os resultados foram divididos em quatro etapas: 1ª: de 1970 a 1980: análise citogenética por meio de coloração convencional, sem bandas, ou com técnicas de bandas incipientes, e freqüentemente a contagem de metáfases não ultrapassava a 16; 2ª: de 1981 a 1988: análise citogenética por técnica de bandas G ou Q, e número de metáfases analisadas variava entre 16 e 32; 3ª: de 1989 a 1994: após a criação do Grupo Interdisciplinar de Estudos da Determinação e Diferenciação do Sexo (GIEDDS), com aumento do número de casos avaliados e da contagem de metáfases para mais que 32, freqüentemente em 50; e 4ª: a partir de 1995: pesquisa molecular de seqüências de DNA do cromossomo Y por meio de hibridização com sondas específicas (*SRY*, *TSPY* e *DYZ3*) para os casos com: a) cariótipo 45,X e cromatina X negativa; b) presença no cariótipo de cromossomos "marcadores"; c) impossibilidade da identificação citogenética da origem de cromossomos em anel.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (nº 434/2006). Os dados estão em Tabelas com valores absolutos e em porcentagem e na análise estatística foi utilizado o teste de Qui-Quadrado com nível de significância abaixo de 5%.

RESULTADOS

De 260 pacientes com ST entre 1970 e 2008, 19 (7,3%) foram diagnosticadas entre 1970 e 1980, 41 (15,8%) entre 1981 e 1988; 46 (17,7%) entre 1989 e 1994; e 154 (59,2%) a partir de 1995. Foi significativo o aumento no diagnóstico de ST no decorrer destas 4 etapas ($\chi^2_{(3)} = 18,62$; $p = 0,0003$).

Entre os 260 casos de ST, predominaram os cariótipos 45,X (108 casos = 41,5%), seguidos pelas aberrações estruturais com ou sem mosaicismo (88 casos = 33,8%), pelos mosaicos sem aberração estrutural (58 casos = 22,3%) e cariótipos com cromossomo Y (6 casos = 2,3%). Dentre as aberrações estruturais, predominaram o isocromossomo de braço longo do cromossomo X [18 casos com 46,X,i(Xq)]; 27 casos com 45,X/46,X,i(Xq); e mais 4 casos com cariótipos diversos] e os cromossomos "marcadores" (24 casos com 45,X/46,X,+mar; e mais 3 casos com cariótipos diversos).

Em 39 dos 260 cariótipos foram analisadas 16 metáfases, enquanto que em 45 a contagem foi de 17 a 32 (em geral 32) e em 176 foi superior a 32 (em geral 50).

O estudo de marcadores moleculares do cromossomo Y foi feito em 96 casos, sendo positivo em 10: 5 em 20 casos 45,X/46,X,+mar; 3 em 70 casos 45,X; 2 em 3 casos 45,X/46,X,r(?) e negativo 3 casos [45,X/46,X,i(Xq)/46,X,+mar/47,X,i(Xq),+mar; 45,X/46,X,+mar/47,XX,+mar e 45,X/46,XX/47,XX,+mar].

Com o passar dos anos, observou-se a diminuição progressiva na freqüência de cariótipos 45,X, exceção da última etapa, e um aumento na freqüência de aberrações estruturais. Os mosaicismos sem aberração estrutural mantiveram uma freqüência similar em todas as etapas. A diferença no número de 45,X foi significativamente maior para as aberrações estruturais ($\chi^2(3) = 17,66$; $p = 0,0005$), o que não ocorreu em relação aos mosaicos sem aberração estrutural ($\chi^2(3) = 1,64$; $p = 0,65$) (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição, segundo o tipo de cariótipo encontrado e a época do atendimento, de 260 pacientes com ST.

Época	Cariótipo								
	45,X		mosaicos sem aberração estrutural		aberrações estruturais		Y íntegro		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	n
1970 a 1980	12	63	7	37	0	0	0	0	19
1981 a 1988	20	49	8	19	9	22	4	10	41
1989 a 1994	12	26	10	22	22	48	2	4	46
1995 a 2008	64	41	33	21	57	37	0	0	154
Total	108		58		88		6		260

Comparando a extensão da análise do número de metáfases com o resultado do cariótipo verificou-se que em 27 das 108 (25%) pacientes com cariótipo 45,X, houve a análise de um pequeno número de metáfases (< 16), o que não ocorreu para os mosaicos sem aberração estrutural (8/58 =

14%) e para as aberrações estruturais com ou sem mosaicismo (4/88 = 4%) (Tabela 2). Observou-se aumento do número de casos com mosaicismo e aberração estrutural associados com o passar dos anos e o aumento da contagem de metáfases (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição, segundo a extensão da análise cromossômica, o resultado do cariótipo e a época de atendimento, de 260 pacientes com ST.

Época Metáfases	Cariótipo															
	45,X				Mosaico sem aberração estrutural				Aberrações estruturais				Y íntegro			
	70-80	81-88	89-94	≥95	70-80	81-88	89-94	≥95	70-80	81-88	89-94	≥95	70-80	81-88	89-94	≥95
< 16	12	15	0	0	7	1	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0
17 a 32	0	3	6	0	0	4	3	0	0	4	17	2	0	4	2	0
> 33	0	2	6	64	0	3	7	33	0	2	5	54	0	0	0	0
Total	12	20	12	64	7	8	10	33	0	9	22	57	0	4	6	0

DISCUSSÃO

Nos últimos anos vem sendo desmontada a imagem estereotipada da ST: não há mais cariótipo clássico nem fenótipo clássico, de forma que o diagnóstico deve ser buscado ativamente, tanto do ponto de vista clínico quanto citogenético.

O diagnóstico citogenético da ST vem evoluindo e modificando-se substancialmente ao longo dos anos. Com a implantação efetiva das técnicas de bandamento cromossômico "surgiram" as aberrações estruturais e diminuição dos casos 45,X. A partir de 1989 houve nova queda na freqüência de cariótipos 45,X e um aumento na freqüência de aberrações estruturais porque foram introduzidas a pesquisa sistemática de meninas com baixa estatura, atendidas no Ambulatório de Pediatria do Hospital de Clínicas e o aumento do número de metáfases analisadas por cariótipo.

As modificações foram significativas: as pacientes são atualmente menos baixas, e os laudos de cariótipo 45,X mais rigorosos, com a detecção de mosaicismo em maior número de casos. Isso ocorreu porque a probabilidade de encontrar ao menos uma célula com uma constituição cromossômica diversa da 45,X depende, em teoria, apenas da freqüência das linhagens celulares em mosaico e do número de células analisadas.

Outro resultado mostra que a procura de seqüências moleculares de cromossomo Y em casos selecionados de ST está justificada pela freqüência encontrada e pela associação com risco de neoplasia gonadal, como já mostrado por outros autores 18-21.

Pode-se concluir que os aprimoramentos ocorridos no Serviço de Genética Clínica, em especial no Laboratório de Citogenética Humana, no decorrer destes 39 anos, permitiram o aumento do número de casos diagnosticados de ST e melhor a qualidade do resultado citogenético.