



REVISTA PAULISTA DE PEDIATRIA

www.rpped.com.br



ARTIGO DE REVISÃO

Prevalência de sequências do Y e de gonadoblastoma em síndrome de Turner



Alessandra Bernadete Trovó de Marqui*,
Roseane Lopes da Silva-Grecco e Marly Aparecida Spadotto Balarin

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brasil

Recebido em 5 de março de 2015; aceito em 4 de junho de 2015

Disponível na Internet em 9 de outubro de 2015

PALAVRAS-CHAVE

Síndrome de Turner;
Cromossomo Y;
Gonadoblastoma;
Prevalência;
Reação em cadeia
da polimerase;
Disgenesia gonadal

KEYWORDS

Turner syndrome;
Y chromosome;

Resumo

Objetivo: Apresentar a prevalência de sequências do cromossomo Y por técnicas moleculares e de gonadoblastoma em pacientes com síndrome de Turner.

Fontes de dados: Foi feita uma pesquisa bibliográfica no Pubmed, com limite de período entre 2005 e 2014, com os descritores *Turner syndrome* and *Y sequences* (n=26) e *Turner syndrome* and *Y chromosome material* (n=27). Os critérios de inclusão foram artigos que tivessem relação direta com o tema e publicados no idioma inglês ou português. Foram excluídos aqueles que não cumpriram esses critérios e eram do tipo revisão. Após aplicação desses critérios, 14 foram selecionados.

Síntese dos dados: Os principais resultados quanto à prevalência de sequências do cromossomo Y em síndrome de Turner foram: 1 – cerca de 60% dos estudos foram feitos por pesquisadores brasileiros; 2 – a frequência variou de 4,6 a 60%; 3 – os genes *SRY*, *DYZ3* e *TSPY* foram os mais investigados; 4 – a técnica de PCR foi empregada exclusivamente em sete estudos e nos sete restantes, associada à FISH. Nove dos 14 estudos apresentaram informações sobre gonadectomia e gonadoblastoma. Dois estudos relataram a maior prevalência para gonadoblastoma (33%). Cinco dos nove estudos referiram prevalência de 10 a 25% e em dois esse valor foi nulo.

Conclusões: De acordo com os dados apresentados, é indicada a pesquisa molecular para sequências do cromossomo Y em pacientes com ST, independentemente do cariótipo. Naquelas com positividade para essas sequências, é necessária a investigação de gonadoblastoma.

© 2015 Sociedade de Pediatria de São Paulo. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob a licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Prevalence of Y-chromosome sequences and gonadoblastoma in Turner syndrome

Abstract

Objective: To assess the prevalence of Y-chromosome sequences and gonadoblastoma in patients with Turner syndrome using molecular techniques.

DOI se refere ao artigo: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rppede.2015.12.004>

* Autor para correspondência.

E-mail: alessandratrovo@hotmail.com (A.B.T. Marqui).

Gonadoblastoma;
Prevalence;
Polymerase chain
reaction;
Gonadal dysgenesis

Data source: A literature search was performed in Pubmed, limiting the period of time to the years 2005 to 2014 and using the descriptors: Turner syndrome and Y sequences (n=26), and Turner syndrome and Y-chromosome material (n=27). The inclusion criteria were: articles directly related to the subject and published in English or Portuguese. Articles which did not meet these criteria and review articles were excluded. After applying these criteria, 14 papers were left.

Data synthesis: the main results regarding the prevalence of Y-chromosome sequences in Turner syndrome were: 1-about 60% of the studies were conducted by Brazilian researchers; 2-the prevalence varied from 4.6 to 60%; 3-the most frequently investigated genes were *SRY*, *DYZ3* and *TSPY*; 4-seven studies used only PCR, while in the remaining seven it was associated with FISH. Nine of the 14 studies reported gonadectomy and gonadoblastoma. The highest prevalence of gonadoblastoma (33%) was found in two studies. In five out of the nine papers evaluated the prevalence of gonadoblastoma was 10 to 25%; in two of them it was zero.

Conclusions: according to these data, molecular analysis to detect Y-chromosome sequences in TS patients is indicated, regardless of their karyotype. In patients who test positive for these sequences, gonadoblastoma needs to be investigated.

© 2015 Sociedade de Pediatria de São Paulo. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

A síndrome de Turner (ST) é um distúrbio cromossômico com incidência de uma a cada 2.500 meninas; sua etiologia está associada à monossomia total ou parcial do cromossomo X e o diagnóstico é feito pelo exame do cariótipo.^{1,2} Um estudo retrospectivo em 260 pacientes com ST mostrou que o aprimoramento da análise cromossômica promoveu uma modificação da proporção dos tipos de cariótipos observados.³

As pacientes com ST exibem como principais sinais clínicos baixa estatura e disgenesia gonadal. Também podem apresentar implantação baixa de cabelos na nuca, estrabismo, ptose palpebral, palato ogival, micrognatia, pescoço curto e/ou alado, linfedema de mãos e/ou pés, encurtamento de metacarpianos e/ou metatarsianos, deformidade de Madelung, *cubitus valgus*, *genu valgum*, escoliose e múltiplos nevos pigmentados, anomalias cardiovasculares e renais, doenças tireoidianas, deficiência auditiva, hipertensão, osteoporose e obesidade.^{1,2} No entanto, essa síndrome é caracterizada por ampla variabilidade fenotípica, desde pacientes com fenótipo clássico até aquelas quase indistinguíveis da população geral.

Mulheres com ST que apresentam material do cromossomo Y têm risco aumentado de desenvolver tumores gonadais, tais como gonadoblastoma e disgerminoma. O gonadoblastoma é um tumor gonadal benigno com um alto potencial de transformação maligna, pode diferenciar-se em disgerminoma invasivo em 60% dos casos e, também, em outras formas malignas de tumores. Cerca de 90% dos pacientes com gonadoblastoma têm material do cromossomo Y em sua constituição genética. Por esse motivo, a detecção de sequências do cromossomo Y, por técnicas citogenéticas e/ou moleculares, em pacientes com ST é de extrema importância clínica. Em casos positivos, tem sido indicada a cirurgia profilática para retirada das gônadas.⁴ Dois estudos retrospectivos publicados recentemente revelaram frequências de material do cromossomo Y em ST por citogenética clássica de 6,6% (4/61)⁵ e 7,6% (12/158).⁶ Em um desses estudos, 4/12 (33%) das pacientes exibiram gonadoblastoma e em duas esse evoluiu para disgerminoma ou teratoma.⁶ Em outro, com 11 pacientes com distúrbios de diferenciação

sexual, sete mostraram fenótipo Turner e cariótipo mosaico de Y em sangue periférico.⁷ Todas as pacientes com ST foram submetidas à gonadectomia e os achados histopatológicos revelaram que quatro delas (57,1%) tinham gonadoblastoma e em dois casos associação desse com disgerminoma.⁷ Ainda em relação à citogenética clássica por bandamento GTG, linfócitos de sangue periférico constituem o material de escolha devido à facilidade de obter esse tecido e a análise é, geralmente, feita em 30 metáfases, o que permite a detecção de 10% de mosaicismo.⁸ Os métodos moleculares têm como vantagem a não necessidade de cultura celular e de apenas uma pequena quantidade de amostra para análise e são mais sensíveis para detecção de baixo mosaicismo, frequente em ST.⁸

Desse modo, o objetivo desta revisão é apresentar a prevalência de sequências do cromossomo Y por técnicas moleculares e gonadoblastoma em pacientes com ST.

Método

Foi feita uma pesquisa bibliográfica no Pubmed, em 24/10/2014, com limite de período entre 2005 e 2014. A [figura 1](#) apresenta o fluxograma dessa busca eletrônica.

Resultados

A [tabela 1](#) apresenta a frequência de sequências do cromossomo Y, identificada por técnicas moleculares, dos 14 estudos selecionados. O cariótipo dessas pacientes encontra-se na [tabela 2](#). A frequência de gonadoblastoma, em pacientes com ST com amplificação positiva para o cromossomo Y, consta sumarizada na [tabela 3](#). Essa apresenta informações sobre gonadectomia e gonadoblastoma em ST em nove dos 14 estudos. Os resultados de cinco estudos não constam na [tabela 3](#)^{3,14,15,17,21} pelos seguintes motivos: 1 – dois estudos não apresentaram informações sobre gonadectomia e gonadoblastoma no texto;^{3,21} 2 – em dois, os pacientes foram agendados para seguimento clínico¹⁷ ou acompanhamento por equipe multidisciplinar composta por biólogo, psicólogo, geneticista, endocrinologista e ginecologista¹⁴ e 3 – no outro estudo, a gonadectomia pro-

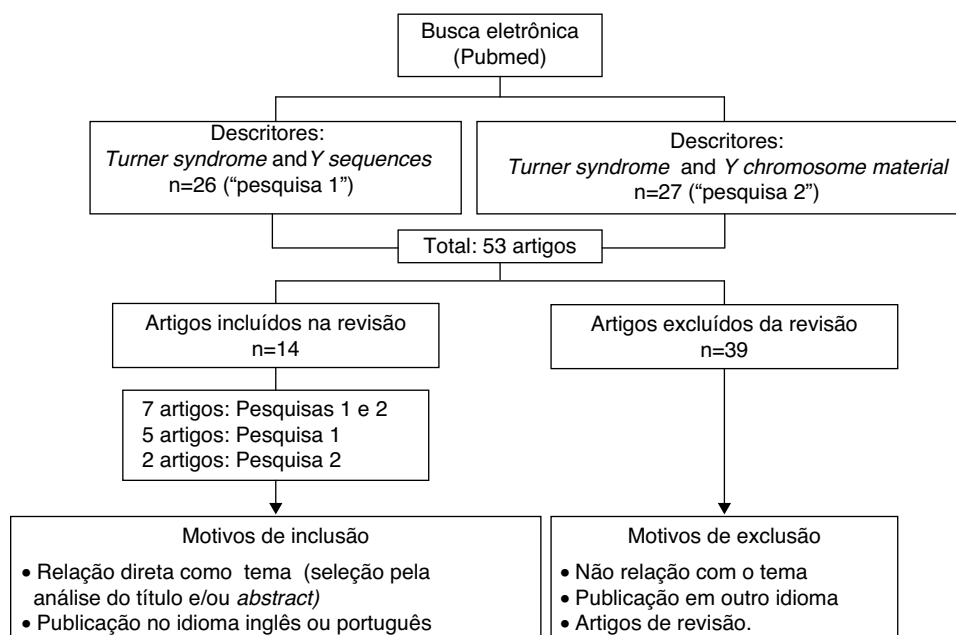


Figura 1 Representação do método e resultados da busca eletrônica.

filática foi oferecida a todas as pacientes que apresentaram seqüências do Y, entretanto, as mesmas optaram por acompanhamento periódico por ultrassonografia e tomografia.¹⁵

Discussão

O presente estudo, do tipo revisão bibliográfica, apresentou a prevalência de seqüências do cromossomo Y e o risco de desenvolvimento de gonadoblastoma em pacientes com ST.

Seqüências do cromossomo Y

Dos 14 estudos inclusos nesta revisão, cerca de 60% foram feitos por pesquisadores brasileiros.^{3,9-15} Quatro foram publicados pelo mesmo grupo de pesquisadores⁹⁻¹² e os dois que relataram maior prevalência de seqüências do cromossomo Y analisaram amostras de diferentes tecidos (sangue periférico, células de mucosa oral e raiz de cabelo).^{9,10} Um deles avaliou 20 pacientes com ST e cariótipo 45,X⁹ e o outro, cinco com anomalias cromossômicas, tais como cromossomo marcador, material adicional ou cromossomo em anel.¹⁰ Três estudos⁹⁻¹¹ mostraram que todas as pacientes investigadas apresentaram amplificação para o gene *SRY* e apenas algumas para *DYZ3* e *TSPY*. Esse dado mostra que especialmente o gene *SRY* deve ser investigado em pacientes com ST.⁹⁻¹¹ Em seu estudo publicado em 2010, Bianco *et al.*¹² também avaliaram a expressão gênica (*SRY*, *TSPY*, *SF1*, *WT1*, *DAX1*, *OCT4*, *GATA4*, *FOG2*, *STRA8*) nas gônadas (direita e esquerda) de seis pacientes submetidas à gonadectomia e não observaram diferença na expressão desses genes nesse tecido tanto em pacientes quanto em controles, exceto em um caso em que houve alta expressão dos genes *SRY*, *TSPY* e *OCT4* em ambas as gônadas [cariótipo: 45,X/45,X,add(15)(p11)]. Esses nove genes investigados estão envolvidos na determinação sexual, diferenciação e

tumorigênese gonadal.¹² Nesse estudo,¹² todas as pacientes exibiram amplificação para o gene *SRY*, o que reforça os achados previamente publicados.⁹⁻¹¹ Os estudos apresentados acima empregaram exclusivamente a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) para investigação de seqüências do cromossomo Y em ST⁹⁻¹² e relataram frequências que variaram de 16,3 a 60%.

Dois estudos conduzidos por outro grupo de pesquisadores também usaram a PCR e PCR neste.^{3,13} Um deles analisou seqüências do cromossomo Y em 96 pacientes com ST de um total de 260.³ Essa pesquisa foi indicada somente nos casos com: a) cariótipo 45,X e cromatina X negativa; b) presença no cariótipo de cromossomos marcadores, ou seja, fragmentos cromossômicos de origem indefinida e c) impossibilidade da identificação citogenética da origem de cromossomos em anel. Desse modo, 96 pacientes cumpriram esses critérios e dessas 10 exibiram amplificação positiva para os genes investigados. Nesse mesmo estudo, seis casos de cromossomo Y íntegro haviam sido identificados previamente por citogenética clássica (45,X/46,XY: n=5 e 45,X/47,XXY: n=1). Em um estudo posterior, esses mesmos autores avaliaram 101 pacientes de 260 com ST por PCR e quando positivo, empregaram a técnica de Fish (hibridização *in situ* fluorescente).¹³ Os 101 casos analisados por PCR para seqüências do cromossomo Y apresentaram cariótipo 45,X e corpúsculo de Barr negativo (n=73), cromossomo marcador (n=25) e em anel (n=3).

Duas outras pesquisas referiram os menores valores de frequências do cromossomo Y dentre os estudos conduzidos no Brasil.^{14,15} Em quatro pacientes com ST, a detecção de seqüências do cromossomo Y foi identificada apenas por PCR [cariótipos: 45,X e 46,X,i(Xq)].^{14,15} Assim, a inclusão da técnica de PCR na rotina de investigação na ST seria indicada.¹⁴ Vale destacar que seis estudos brasileiros empre-

Tabela 1 Frequência de sequências do cromossomo Y, identificada por técnicas moleculares, em pacientes com síndrome de Turner

Referência	Método e sequência(s) do cromossomo Y e/ou sonda(s) utilizada(s)	n/Origem	PY	Frequência
Bianco <i>et al.</i> ⁹	PCR: SRY/DYZ3	20/Brasil	7	35,0%
Bianco <i>et al.</i> ¹⁰	PCR: SRY/DYZ3	5/Brasil	3	60,0%
Bianco <i>et al.</i> ¹¹	PCR: SRY/DYZ3/TSPY	87/Brasil	16	18,5%
Bianco <i>et al.</i> ¹²	PCR: SRY/TSPY	104/Brasil	17	16,3%
Barros <i>et al.</i> ³	PCR e PCR nested: SRY/TSPY/DYZ3	96/Brasil	10	10,4%
Barros <i>et al.</i> ¹³	PCR e PCR nested: SRY/TSPY/DYZ3; FISH: DXZ1/DYZ3	101/Brasil	16	15,8%
Araújo <i>et al.</i> ¹⁴	PCR: SRY/ZFY/DYZ1/PABY/DYS1/DYZ3	42/Brasil	2	4,8%
Bispo <i>et al.</i> ¹⁵	FISH: CEP X/CEP Y; PCR multiplex: SRY/TSPY/AMGY/DAZ	74/Brasil	5	6,8%
Mazzanti <i>et al.</i> ¹⁶	PCR: SRY/DYZ3; FISH: CEP 18 SA/X SG/Y SO	171/Itália	14	8,2%
Semerici <i>et al.</i> ¹⁷	PCR: PABY/SRY/DYS14/AMGY/DYZ3/DYS273/DYS280/DYS218/DYS224/DYS209/DYS231/DYS1/YRRM/DYZ1	40/Turquia	2	5,0%
Sallai <i>et al.</i> ¹⁸	RT-PCR: SRY/DDX3Y/HSFY1/TSPY; FISH: whole chromosome painting Y/wcp	130/Hungria	9 (RT-PCR)	6,9%
Cortés-Gutiérrez <i>et al.</i> ¹⁹	PCR: SRY; FISH: CEP-Y	32/México	6 (FISH)	4,6%
Freriks <i>et al.</i> ²⁰	FISH: CEP X/CEP Y/SRY; PCR: Yp (SRY) e Yq (sY84/sY86/sY127/sY134/sY254/sY255); RT-PCR: SRY/DSY14	63/Holanda	3	9,4%
Knauer-Fischer <i>et al.</i> ²¹	FISH: Ycen-1089/1090; PCR Multiplex: Yp11 (GBY: TSPY/SRY), Yq11 (AZFa/AZFb/AZFc)	60/Alemanha	5	7,9%
			7	11,7%

PY, pacientes com sequência Y; PCR, Polimerase Chain Reaction – Reação em Cadeia da Polimerase; SRY, sex-determining region on the Y chromosome ou sex related region Y; Fish, Fluorescence in situ hybridization – Hibridização *in situ* fluorescente; RT-PCR, Real-time PCR; DDX3Y, DEAD/H box polypeptide, Y-chromosome; HSFY1, heat-shock transcription factor, Y-linked; AZF, azoospermia factor; CEP X, X-specific centromeric probe; CEP Y, Y-specific centromeric probe; GBY, gonadoblastoma Y gene; TSPY, testis-specific protein Y-encoded ou testis specific protein Y.

Tabela 2 Cariótipos determinados por citogenética convencional (GTG) nas pacientes com sequências do cromossomo Y identificadas por técnicas moleculares

Referência	Cariótipos
Bianco <i>et al.</i> ⁹	45,X: n=7
Bianco <i>et al.</i> ¹⁰	45,X/46,X,+mar: n=2; 45,X/45,X,add(15)(p11): n=1
Bianco <i>et al.</i> ¹¹	45,X: n=12; 45,X/46,X,+mar: n=2; 45,X/45,X,add(15)(p11): n=1; 45,X/46,X,r(?): n=1
Bianco <i>et al.</i> ¹²	45,X: n=12; 45,X/46,X,+mar: n=2; 45,X/45,X,add(15)(p11): n=1; 45,X/46,X,r(?): n=1; 45,X/47,XXX: n=1
Barros <i>et al.</i> ³	45,X/46,X,+mar: n=5; 45,X: n=3; 45,X/46,X,r(?): n=2
Barros <i>et al.</i> ¹³	45,X: n=3; 45,X/46,XY: n=5; 45,X/46,X,+mar: n=5; 45,X/46,X,r(?): n=2; 45,X/47,YYY: n=1
Araújo <i>et al.</i> ¹⁴	45,X: n=2
Bispo <i>et al.</i> ¹⁵	45,X/46,XY: n=2; 45,X: n=1; 45,X/46,XY: n=1; 46,X,i(Xq): n=1
Mazzanti <i>et al.</i> ¹⁶	45,X/46,XY: n=6; 45,X: n=2; 45,X/46,X,idel(Y): n=3; 45,X/46,X,+mar: n=2; 45,X/46,XY/46,X,idel(Y): n=1
Semerici <i>et al.</i> ¹⁷	45,X: n=2
Sallai <i>et al.</i> ¹⁸	45,X: n=3; 45,X/46,XY: n=3; 45,X/46,X,+mar: n=2; 45,X/46,X,del(Xq): n=1
Cortés-Gutiérrez <i>et al.</i> ¹⁹	45,X/46,X,+mar: n=1; 45,X/46,XY: n=1; 45,X: n=1
Freriks <i>et al.</i> ²⁰	45,X: n=5
Knauer-Fischer <i>et al.</i> ²¹	45,X: n=2; 45,X/46,X,idel(Y)(q11.2): n=2; 46,X,i(X)(q10): n=1; 46,X,del(X)(q12 ou q13.1): n=1; 46,X,der(X)t(X;Y)(p22.3;q11.21): n=1

Tabela 3 Frequência de gonadoblastoma em pacientes com síndrome de Turner e sequências do cromossomo Y

Referência	PY/P total	PG/PY	PG operadas	% com gonadoblastoma	Idade da PG (anos)
Bianco <i>et al.</i> ⁹	7/20	4/7 (57,1)	1	25,0	16
Bianco <i>et al.</i> ¹⁰	3/5	3/3 (100)	0	0	–
Bianco <i>et al.</i> ¹¹	16/87	11/16 (68,7)	2	18,2	16 e 19 ^a
Bianco <i>et al.</i> ¹²	17/104	12/17 (70,6)	2	16,7	16 e 19 ^a
Barros <i>et al.</i> ¹³	16/101	16/16 (100)	3	18,8	15,9 ^b (OCT4+: GE); 18,2 ^b (OCT4+: GD); 17,7 ^b (OCT4+: GD e GE)
Mazzanti <i>et al.</i> ¹⁶	14/171	12/14 (85,7)	4	33,3	7,64 e 2,8: GBB ^b 15,9 e 11,6: GBM ^b
Sallai <i>et al.</i> ¹⁸	9/130	9/9 (100)	1	11,1	5,5 ^b
Cortés-Gutiérrez <i>et al.</i> ¹⁹	3/32	3/3 (100)	1	33,3	10
Freriks <i>et al.</i> ²⁰	5/63	4/5 (80)	0	0	–

PY/P total, pacientes com sequência Y em relação ao total de pacientes; PG/PY, pacientes com gonadoblastoma em relação às pacientes com sequência Y; PG operadas, pacientes com gonadoblastomas submetidas à cirurgia; Pac, paciente; OCT4, *octamer-binding transcription factor 4*; G, gônada; D, direita; E, esquerda; GBB, gonadoblastoma bilateral; GBM, gonadoblastoma monolateral.

^a Idade no diagnóstico.

^b Idade na gonadectomia.

garam exclusivamente a técnica de PCR para investigação de sequências do cromossomo Y. As vantagens dessa técnica incluem: 1 – rapidez de execução, 2 – baixo custo, 3 – processamento de diversas amostras simultaneamente, 4 – aplicabilidade em rastreamento (*screening*) de um grande número de pacientes e 5 – alta sensibilidade no reconhecimento do mosaïcismo. O emprego da técnica de PCR para investigação de 14 sequências do cromossomo Y identificou uma prevalência de 5%,¹⁷ valor semelhante àquele referido por um estudo que analisou apenas seis sequências.¹⁴

As técnicas de Fish e PCR foram, concomitantemente, empregadas em vários estudos.^{15,16,18-21} Um deles, publicado em 2005, identificou uma frequência de aproximadamente 6% por citogenética clássica (10/171) e 8% por análise molecular (14/171).¹⁶ Em outro estudo¹⁹ o bandamento GTG revelou três casos positivos: cariótipos 45,X/46,X,mar; 45,X/46,XY e 45,X. A análise por Fish em linfócitos revelou: 1) que o cromossomo marcador era o Y, 2) confirmou o cromossomo Y identificado previamente por citogenética clássica e 3) não identificou material do cromossomo Y, respectivamente. A análise de Fish de tecido gonadal mostrou que o cromossomo Y estava presente em 57; 46 e 26% das células, respectivamente. A pesquisa por PCR/SRY em linfócitos e gônadas foi positiva nos três casos. O caso considerado Y negativo em linfócitos por GTG e Fish (45,X) apresentou positividade para o SRY por PCR/linfócitos. Diante disso, os autores sugeriram: 1 – o emprego da PCR, além da análise citogenética convencional, para descartar a possibilidade de mosaïcismo oculto do cromossomo Y e 2 – o uso da técnica de Fish somente após um resultado positivo para PCR, pois ela é dispendiosa e laboriosa.¹⁹ Além de Fish, a técnica de PCR em tempo real (RT-PCR) também foi aplicada.^{18,20} O primeiro estudo¹⁸ identificou mosaïcismo do cromossomo Y, por análise citogenética convencional, em três das 130 pacientes investigadas (cariótipos: 45,X/46,XY n=3). Duas pacientes exibiram mosaïcismo de todo o cromossomo Y enquanto a outra, apenas de parte do Y. Por RT-PCR, nove pacientes apresentaram positividade para o

Y. Das quatro sondas específicas do cromossomo Y usadas na técnica de RT-PCR, duas (SRY e TSPY1) estão no braço curto do cromossomo Y (Yp) e duas (DDX3Y e HSFY1) no braço longo (Yq). Seis pacientes tiveram amplificação para as quatro sequências, três para duas sequências (SRY e TSPY1) ou três (SRY, TSPY1 e DDX3Y), ou seja, três pacientes não mostraram complicações do gene HSFY1 e uma delas exibiu perda da região DDX3Y, o que sugere deleção de Yq. A análise por Fish confirmou positividade para o Y em seis casos. Desse modo, a frequência de sequências do cromossomo Y foi de 2,3%; 4,6% e 6,9% pelas técnicas de banda GTG, FISH e RT-PCR, respectivamente. No estudo de 2013²⁰ com 162 pacientes com ST, 75 tinham cariótipo 45,X e dessas 63 concordaram em fazer investigações moleculares adicionais. Sequências do Y foram identificadas por Fish em cinco pacientes em amostras de células orais, mas não em linfócitos de sangue periférico por PCR. A análise por RT-PCR revelou a presença de SRY e DYS14 em duas delas.²⁰ Em outro estudo, o uso combinado de PCR e Fish permitiu a identificação de uma frequência de aproximadamente 12% de sequências do cromossomo Y em ST. Das sete pacientes com sequências do Y,²¹ quatro não o apresentavam no cariótipo.

Em suma, no presente estudo a frequência de sequências do cromossomo Y em pacientes com ST variou de 4,6% a 60%. Segundo a literatura, essa prevalência é de 0% a 61%.¹⁹ Essa diferença pode ser devida aos seguintes fatores: critérios de seleção das pacientes, tamanho da amostra, metodologia e marcadores do cromossomo Y usados. Quando o tecido analisado foi somente sangue periférico, a prevalência de sequências do Y variou de 4,6% a 18,5%.^{11-18,21} No entanto, nos estudos nos quais mais que um tecido foi avaliado, essa prevalência foi ainda maior.^{9,10} Os genes SRY, DY3 e TSPY foram os mais amplamente investigados. O gene SRY está localizado no braço curto do cromossomo Y (Yp11.3) e o DY3 na região pericentromérica em Yp12. Ambos os genes desempenham papel na determinação sexual e na estabilidade cromossômica, respectivamente.²² O TSPY (*testis-specific protein Y encoded*), localizado no loco do gonadoblastoma no cromossomo Y (GBY), em Yp11.2, está envolvido no

desenvolvimento de gonadoblastoma e sua expressão foi detectada nesse tecido e em testículo.²³⁻²⁵ Quanto à técnica, sete estudos^{3,9-14,17} empregaram unicamente a PCR para investigação de sequências do cromossomo Y em ST e nos sete estudos restantes também Fish.^{13,15,16,18-21} Um achado intrigante foi relatado por um desses estudos que referiu negatividade para sequências do Y em todos os 56 casos, inclusive nos cinco positivos por FISH/células bucais.²⁰ Esse resultado contradiz aqueles publicados na literatura que recomendam o uso da PCR na investigação de sequências do cromossomo Y em ST. Os autores atribuem essa sensibilidade baixa à dificuldade de detectar mosaicismos inferiores a 10%.²⁰ Mosaicismos cromossômicos são definidos como a presença de duas ou mais linhagens celulares diferentes em um mesmo indivíduo resultante de não disjunção pós-zigótica. Quando esse ocorre em células já diferenciadas, o mosaicismo pode ser confinado a um ou poucos tecidos.²⁶ Nesse sentido, a investigação de sequências do cromossomo Y em tecidos com diferentes origens embrionárias é aconselhada, como, por exemplo, as células de mucosa oral, que podem ser facilmente obtidas por procedimentos não invasivos.

De nosso conhecimento, há apenas um estudo de revisão com enfoque nas características clínicas e genéticas da ST, mosaicismos, cromossomo Y e risco de tumor gonadal.⁸ Os dados apresentados nesse estudo apontaram: 1 – que a detecção de sequências do cromossomo Y em ST, independentemente do cariótipo, é necessária para prevenir o desenvolvimento de gonadoblastoma e 2 – a técnica de PCR deve ser empregada devido à alta sensibilidade, baixo custo e fácil execução.

Após a confirmação da ST pela citogenética, sugere-se a inclusão da técnica de PCR como complementação para detecção de sequências do cromossomo Y nessas pacientes. Essa técnica molecular é mais sensível e pode detectar a presença de material do cromossomo Y.

Gonadoblastoma

O gonadoblastoma, frequentemente observado na segunda década de vida, é um tumor gonadal benigno com um alto potencial de transformação maligna.⁴ É uma lesão com bom prognóstico, pode diferenciar-se em tumor de células germinativas, como disgerminomas, e em menor frequência em teratomas, carcinoma embrionário, tumor de saco vitelínico e coriocarcinoma.¹³ Esse tumor está presente principalmente em mulheres com disgenesia gonadal e aproximadamente 95% delas têm material do cromossomo Y em seu genoma. Portanto, a detecção dessas sequências por técnicas citogenéticas e/ou moleculares tem sido estimulada para nortear a indicação profilática de cirurgia para retirada das gônadas nesse grupo de pacientes, uma vez que não são, em geral, tumores metastáticos e pela possibilidade de cura com a sua retirada.⁴ Mulheres com ST exibem disgenesia gonadal e, portanto, a detecção de sequências do cromossomo Y nessas pacientes é de extrema importância clínica.

A maior prevalência para gonadoblastoma nessa revisão foi 33%^{16,19} e está de acordo com outros estudos.^{6,27} Esse valor foi identificado em uma pesquisa recente e as quatro pacientes com ST tinham cariótipo 45,X/46,XY.⁶ Em duas delas, foi observado um disgerminoma (idade na cirurgia:

11,25 anos) e um teratoma (15 anos). Nas duas pacientes com gonadoblastoma apenas, a idade na cirurgia em anos foi 1,5 e 11,7.⁶ Outro estudo publicado recentemente relatou incidência de 35,3% de gonadoblastoma.²⁸ Vinte pacientes com ST exibiram sequências do cromossomo Y de um total de 217 e 17 delas foram submetidas à gonadectomia.²⁸ Uma frequência ainda maior foi relatada por Alvarez-Nava *et al.*,²⁹ que investigaram 52 pacientes, detectaram quatro com sequências do cromossomo Y (7,7%), todas foram submetidas à gonadectomia e duas apresentaram gonadoblastoma (50%). Cinco estudos referiram incidências de 10% a 25%.^{9,11-13,18} Estudos prévios têm relatado frequências de 7%-10%³⁰ e 16,7%.³¹ Esses achados evidenciam que a frequência de gonadoblastoma é variável e pode ser reflexo de uma investigação precoce.

Nos estudos conduzidos por Bianco *et al.*,⁹⁻¹² os resultados obtidos foram: 1 – uma paciente 45,X com gonadoblastoma bilateral e amplificação positiva para o gene *SRY* nos três tecidos analisados;⁹ 2 – duas pacientes com gonadoblastoma bilateral [45,X: *SRY*+ e 45,X/46,X,r(?): *SRY*+*DYZ3*+];¹¹ 3 – duas pacientes com gonadoblastoma bilateral [45,X: *SRY*+ e 45,X/46,X,r(?): *SRY*+].¹² Apesar de não ter sido identificado paciente com gonadoblastoma, o estudo histopatológico das gônadas de uma paciente revelou hiperplasia celular e luteoma estromal.¹⁰ Estudos posteriores também mostraram pacientes com esses achados histopatológicos.^{11,12}

Outro gene associado à gonadoblastoma é o *OCT4* (*octamer-binding transcription factor 4*),^{12,13} também conhecido como *OCT3* ou *POU5F1*. Esse gene é considerado um marcador de tumores de células germinativas, tais como gonadoblastoma, disgerminoma, seminoma e outros, e sua expressão foi detectada por imuno-histoquímica em 100% dos casos de gonadoblastoma.³² O estudo publicado em 2010 mostrou alta expressão dos genes *SRY*, *TSPY* e *OCT4* em ambas as gônadas de uma paciente com resultado positivo por PCR (*SRY*+ e *TSPY*+).¹² Outro estudo revelou que a análise imuno-histoquímica para *OCT4* foi positiva em três casos (cariótipos: 45,X/46,XY: n=2 e 45,X/46,X,+mar: n=1), resultado sugestivo de tumor de células germinativas (gonadoblastoma ou carcinoma *in situ*).¹³ Nessa pesquisa, os 16 casos com sequências do Y foram submetidos à gonadectomia bilateral e as gônadas direita e esquerda avaliadas por coloração convencional com hematoxilina & eosina (H&E) e imuno-histoquímica para *OCT4*. Neoplasia gonadal não foi detectada em alguma das 32 gônadas avaliadas por H&E; entretanto, quatro gônadas (12%) de três pacientes (19%) exibiram positividade para *OCT4*, o que sugere a existência de tumores das células germinativas.¹³ Por esse motivo, esses autores recomendam um estudo histopatológico específico em gônadas, tais como imuno-histoquímica com *OCT4* para avaliar o risco real de desenvolvimento de tumores gonadais em pacientes com ST e sequências do cromossomo Y.^{12,13}

Ainda em relação a pesquisas que relataram maior prevalência de gonadoblastoma, uma delas referiu duas pacientes com gonadoblastoma monolateral (cariótipos: 45,X e 45,X/46,X,+mar) e duas com gonadoblastoma bilateral (cariótipos: 45,X/46,XY)¹⁶ e outra, uma paciente 45,X/46,XY com gonadoblastoma.¹⁹ No estudo publicado em 2010, a cirurgia profilática foi feita em todas as nove pacientes com material do cromossomo Y antes dos

20 anos e uma delas, uma menina de cinco anos, a paciente mais jovem do estudo, exibiu gonadoblastoma bilateral sem qualquer sinal clínico.¹⁸ Essa paciente apresentou cariótipo 45,X/46,XY (GTG), wcpY +⁹³ (Fish) e positividade para todas as sequências específicas do Y (*SRY*, *TSPY1*, *DDX3Y* e *HSFY1*). A histologia de tecido ovariano não revelou gonadoblastoma em quatro das pacientes submetidas à gonadectomia.²⁰

Um estudo histopatológico recente revelou tumores nas gônadas em seis de 11 pacientes (56%), incluindo quatro de sete (57%) com ST.⁷ Duas pacientes com ST exibiram gonadoblastoma nas gônadas direita e esquerda [cariótipos e idade na gonadectomia, respectivamente: 45,X/45,X,t(15;Y)(p11.2;q11.2) e dois anos e 11 meses; 45,X/46,XY e 10 anos e três meses]. Gonadoblastoma associado à disgerminoma foi observado em apenas uma gônada (direita em uma paciente e esquerda na outra) em outras duas pacientes (cariótipos 45,X/46,XY e 46,X,+der(15)/46,XY e idades: 11 anos e seis meses e 15 anos e quatro meses, respectivamente). A paciente mais jovem com ST submetida à gonadectomia tinha apenas dois anos.⁷

De acordo com os dados apresentados, pode-se concluir que é indicada a pesquisa molecular para sequências do cromossomo Y em pacientes com ST, independentemente do cariótipo, como complementação ao diagnóstico citogenético. A técnica sugerida é a PCR por ser de baixo custo, sensível, rápida e possibilitar o rastreamento de várias sequências do cromossomo Y simultaneamente. Também seria adequada a análise de um segundo tecido, além de sangue periférico. Naquelas pacientes com positividade para as sequências do cromossomo Y, é necessária a investigação de gonadoblastoma.

Financiamento

O estudo não recebeu financiamento.

Conflitos de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Sybert VP, McCauley E. Turner's syndrome. *N Engl J Med*. 2004;351:1227-38.
2. Santos V, Marçal M, Amaral D, Pina R, Lopes L, Fonseca G. Turner syndrome. From child to adult... A multidisciplinary approach. *Acta Med Port*. 2010;23:873-82.
3. Barros BA, Maciel-Guerra AT, De Mello MP, Coeli FB, Carvalho AB, Viguetti-Campos N, et al. A inclusão de novas técnicas de análise citogenética aperfeiçoou o diagnóstico cromossômico da síndrome de Turner. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009;53:1137-42.
4. Lipay MV, Bianco B, Verreschi IT. Gonadal dysgenesis and tumors: genetic and clinical features. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2005;49:60-70.
5. Mohamed S, Roche EF, Hoey HM. Mode of initial presentation and chromosomal abnormalities in Irish patients with Turner syndrome: a single-centre experience. *J Pediatr Endocrinol Metab*; Epub 2014.
6. Kanakatti Shankar R, Inge TH, Gutmark-Little I, Backeljauw PF. Oophorectomy versus salpingo-oophorectomy in Turner syndrome patients with Y-chromosome material: clinical experience and current practice patterns assessment. *J Pediatr Surg*. 2014;49:1585-8.
7. Matsumoto F, Shimada K, Ida S. Tumors of bilateral streak gonads in patients with disorders of sex development containing y chromosome material. *Clin Pediatr Endocrinol*. 2014;23:93-7.
8. Oliveira RM, Verreschi IT, Lipay MV, Eça LP, Guedes AD, Bianco B. Y chromosome in Turner syndrome: review of the literature. *Sao Paulo Med J*. 2009;127:373-8.
9. Bianco B, Lipay MV, Melaragno MI, Guedes AD, Verreschi IT. Detection of hidden Y mosaicism in Turner's syndrome: importance in the prevention of gonadoblastoma. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2006;19:1113-7.
10. Bianco B, Lipay MV, Guedes AD, Verreschi IT. Clinical implications of the detection of Y-chromosome mosaicism in Turner's syndrome: report of 3 cases. *Fertil Steril*. 2008;90(1197):e17-20.
11. Bianco B, Lipay M, Guedes A, Oliveira K, Verreschi IT. SRY gene increases the risk of developing gonadoblastoma and/or nontumoral gonadal lesions in Turner syndrome. *Int J Gynecol Pathol*. 2009;28:197-202.
12. Bianco B, Oliveira KC, Guedes AD, Barbosa CP, Lipay MV, Verreschi IT. OCT4 gonadal gene expression related to the presence of Y-chromosome sequences in Turner syndrome. *Fertil Steril*. 2010;94:2347-9.
13. Barros BA, Moraes SG, Coeli FB, Assumpção JG, De Mello MP, Maciel-Guerra AT, et al. OCT4 immunohistochemistry may be necessary to identify the real risk of gonadal tumors in patients with Turner syndrome and Y chromosome sequences. *Hum Reprod*. 2011;26:3450-5.
14. Araujo C, Galera MF, Galera BB, Silvestre FG, Medeiros SF. Molecular identification of chromosome Y sequences in Brazilian patients with Turner syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2008;24:713-7.
15. Bispo AV, Burégio-Frota P, Oliveira dos Santos L, Leal GF, Duarte AR, Araújo J, et al. Y chromosome in Turner syndrome: detection of hidden mosaicism and the report of a rare X;Y translocation case. *Reprod Fertil Dev*. 2014;26:1176-82.
16. Mazzanti L, Cicognani A, Baldazzi L, Bergamaschi R, Scarano E, Strocchi S, et al. Gonadoblastoma in Turner syndrome and Y-chromosome-derived material. *Am J Med Genet A*. 2005;135:150-4.
17. Semerci CN, Satioglu-Tufan NL, Turan S, Bereket A, Tuysuz B, Yilmaz E, et al. Detection of Y chromosomal material in patients with a 45,X karyotype by PCR method. *Tohoku J Exp Med*. 2007;211:243-9.
18. Sallai A, Sólyom J, Dobos M, Szabó J, Halász Z, Ságodi L, et al. Y-chromosome markers in Turner syndrome: screening of 130 patients. *J Endocrinol Invest*. 2010;33:222-7.
19. Cortés-Gutiérrez EI, Herrera-Bartolo R, Dávila-Rodríguez MI, Palacios-Saucedo GC, Vargas-Villarreal J, Romero-Villarreal JB. Molecular detection of cryptic Y-chromosomal material in patients with Turner syndrome. *Oncol Rep*. 2012;28:1205-10.
20. Freriks K, Timmers HJ, Netea-Maier RT, Beerendonk CC, Otten BJ, van Alfen-van der Velden JAEM, et al. Buccal cell FISH and blood PCR-Y detect high rates of X chromosomal mosaicism and Y chromosomal derivatives in patients with Turner syndrome. *Eur J Med Genet*. 2013;56:497-501.
21. Knauer-Fischer S, Besikoglu B, Inta I, Kneppo C, Vogt PH, Bettendorf M. Analyses of Gonadoblastoma Y (GBY)-locus and of Y centromere in Turner syndrome patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2015;123:61-5.
22. Harley VR, Clarkson MJ, Argentaro A. The molecular action and regulation of the testis-determining factors, SRY (sex-determining region on the Y chromosome) and SOX9 [SRY-related high-mobility group (HMG) box 9]. *Endocr Rev*. 2003;24:466-87.

23. Salo P, Kääriäinen H, Petrovic V, Peltomäki P, Page DC, de la Chapelle A. Molecular mapping of the putative gonadoblastoma locus on the Y chromosome. *Genes Chromosomes Cancer*. 1995;14:210–4.
24. Tsuchiya K, Reijo R, Page DC, Distèche CM. Gonadoblastoma: molecular definition of the susceptibility region on the Y chromosome. *Am J Hum Genet*. 1995;57:1400–7.
25. Hildenbrand R, Schröder W, Brude E, Schepler A, König R, Stutte HJ, et al. Detection of TSPY protein in a unilateral microscopic gonadoblastoma of a Turner mosaic patient with a Y-derived marker chromosome. *J Pathol*. 1999;189:623–6.
26. Maciel-Guerra AT, Paulo JD, Santos AP, Guaragna-Filho G, Andrade JG, Siviero-Miachon AA, et al. The use of fluorescence in situ hybridization in the diagnosis of hidden mosaicism: apropos of three cases of sex chromosome anomalies. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2012;56:545–51.
27. Canto P, Kofman-Alfaro S, Jiménez AL, Söderlund D, Barrón C, Reyes E, et al. Gonadoblastoma in Turner syndrome patients with nonmosaic 45,X karyotype and Y chromosome sequences. *Cancer Genet Cytogenet*. 2004;150:70–2.
28. Zelaya G, López Marti JM, Marino R, García de Dávila MT, Gallego MS. Gonadoblastoma in patients with ullrich-turner syndrome. *Pediatr Dev Pathol*. 2014;18:117–21.
29. Alvarez-Nava F, Soto M, Sánchez MA, Fernández E, Lanes R. Molecular analysis in Turner's syndrome. *J Pediatr*. 2003;142:336–40.
30. Gravholt CH, Fedder J, Naeraa RW, Müller J. Occurrence of gonadoblastoma in females with Turner syndrome and Y chromosome material: a population study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:3199–202.
31. López M, Canto P, Aguinaga M, Torres L, Cervantes A, Alfaro G, et al. Frequency of Y chromosomal material in Mexican patients with Ullrich-Turner syndrome. *Am J Med Genet*. 1998;76:120–4.
32. Cheng L, Sung MT, Cossu-Rocca P, Jones TD, MacLennan GT, De Jong J, et al. OCT4: biological functions and clinical applications as a marker of germ cell neoplasia. *J Pathol*. 2007;211:1–9.