



Revista de Endocrinología y Nutrición
Vol. 20, No. 1 • Enero-Marzo 2012 • pp 19-24

Artículo original

Mosaicismo de baja proporción del cromosoma X en pacientes con insuficiencia ovárica prematura idiopática

Nitzia López-Juárez,* Julio Mayorga,* María del Carmen Cravioto*

Resumen

Introducción: Dentro de las causas de la insuficiencia ovárica prematura (IOP) se encuentran las alteraciones cromosómicas que incluyen al mosaicismo de baja proporción del cromosoma X. Su frecuencia y significado biológico aún no están esclarecidos.

Objetivo: Estimar la frecuencia y tipo de alteraciones cromosómicas presentes en mujeres con IOP idiopática e identificar las características fenotípicas de las afectadas. **Material y métodos:** Estudio transversal, descriptivo y prolectivo. Se registraron las características clínicas y hormonales de 32 mujeres con IOP idiopática. Se investigó la presencia de alteraciones cromosómicas mediante cariotipo en la sangre periférica, y se estimó su prevalencia. Se describieron las características fenotípicas de los casos con cariotipo anormal. **Resultados:** En 15 casos estudiados con cariotipo se detectaron dos portadoras (13.3%) de mosaicismo 46,XX/45,X con baja proporción de la línea celular 45,X. La proporción de células aneuploides fue de 2% en el caso 1 y de 3% en el caso 2. Mediante fluorescencia de hibridación *in situ* (FISH) se demostró una mayor proporción de células aneuploides (7%) en el primer caso. No se identificó un fenotipo común a las afectadas. La talla, edad a la menarca y duración de la función ovárica fueron diferentes en las dos pacientes. **Conclusiones:** Los mosaicismos 46,XX/45,X podrían explicar el 13.3% de los casos de insuficiencia ovárica prematura idiopática incluidos en esta serie. Si bien la proporción de células 45,X (2 y 3%) encontrada es menor a la que se considera de relevancia clínica ($\geq 5\%$), con base en nuestros resultados no se puede descartar que este hallazgo sea igualmente significativo.

Palabras clave: Insuficiencia ovárica prematura, falla ovárica prematura, mosaicismo 46,XX/45,X.

Abstract

Background: Among the causes of premature ovarian insufficiency (POI) are chromosomal abnormalities, including low-level X chromosome mosaicism. Its frequency and biological significance are not well understood. **Objective:** Estimate the prevalence and types of chromosomal abnormalities in women with idiopathic POI. Identify the phenotypic characteristics of affected patients.

Materials and methods: Cross-sectional, descriptive and prolective study conducted among women with idiopathic premature ovarian insufficiency. Clinical and hormonal characteristics of 32 women with idiopathic POI were collected. The prevalence frequency of chromosomal abnormalities was estimated in karyotypes performed in leucocytes of peripheral blood. The phenotypic characteristics of the cases with abnormal karyotype were described. **Results:** Among 15 cases studied with karyotype two

* Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán».

Este trabajo fue presentado en el LI Reunión Anual de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, celebrada en Guadalajara, Jalisco, en noviembre de 2011.

Recibido: 01-Febrero-2012 Aceptado: 20-Febrero-2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/endocrinologia>

(13.3%) were detected to be carriers of mosaicism 46,XX/45,X, with low proportion of the 45,X cellular line. The proportion of aneuploid cells was 2% in case 1 and 3% in case 2. A higher proportion of aneuploid cells (7%) was detected by fluorescence in situ hybridization (FISH) in case 1. A common phenotype was not identified among the affected women. Their height, age at menarche and duration of ovarian function were different. **Conclusions:** Mosaicisms 46,XX/45,X might explain 13.3% of cases with idiopathic primary ovarian insufficiency included in this series. Even though the proportion of 45,X cells (2 and 3%) found by us is lower than that considered to have clinical relevance ($\geq 5\%$), based on of our findings it is not possible to rule out that it can also be significant.

Key words: Premature ovarian insufficiency, premature ovarian failure, mosaicism 46,XX/45,X.

Introducción

La insuficiencia ovárica prematura (IOP) es una condición que ocurre en mujeres menores de 40 años, con una prevalencia que varía entre 0.5 y 1.4%.¹ Se caracteriza por períodos de amenorrea de cuatro o más meses de duración que pueden alternarse con otras irregularidades menstruales e incluso con ciclos regulares. Durante los períodos de amenorrea, las concentraciones de la hormona estimulante del folículo (FSH) se incrementan en el suero, sin que necesariamente alcancen valores propios de la condición postmenopáusica.^{2,3} El proceso es evolutivo y finaliza cuando la amenorrea se prolonga más allá de 12 meses y las concentraciones de la FSH son ≥ 40 UI/L. Esta etapa de la insuficiencia ovárica prematura se denomina falla ovárica o menopausia prematura (FOP) y se puede considerar que es permanente, aunque se han informado casos aislados de recuperación.³ La frecuencia y características con las que la sintomatología asociada a la menopausia natural se presenta en la insuficiencia ovárica prematura no han sido investigadas.

La etiología de la insuficiencia ovárica prematura es diversa. Se puede originar por causas iatrogénicas o en forma espontánea. Las causas iatrogénicas son bien conocidas e incluyen la administración de fármacos citotóxicos para quimioterapia u otros fines, la radioterapia y la extirpación quirúrgica de los ovarios. En contraste, en el 90% de los casos de insuficiencia ovárica prematura espontánea, la etiología no logra ser detectada (idiopática). Dentro de las causas identificables en el 10% de los casos restantes se encuentran diferentes defectos genéticos²⁻⁴ y procesos autoinmunes tanto órgano-específicos⁵ como de tipo sistémico con afección glandular.^{3,6} La prevalencia de estas patologías varía ampliamente en los estudios publicados, y seguramente está en función del tipo de pacientes y de los objetivos de la atención brindada en los servicios que han llevado a cabo las investigaciones. Así, en series

independientes de casos de FOP se ha informado la presencia de alteraciones del cromosoma X (numéricas o estructurales) en 10% de las pacientes,⁷ la premutación en el gen FMR1 (por sus siglas en inglés: *fragile X mental retardation 1*) en el 6%^{8,9} y los procesos autoinmunes que afectan a las células esteroidogénicas en aproximadamente el 4%.^{5,6}

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán» es un sitio de referencia de mujeres con IOP, tanto iatrogénica como espontánea. Por tal motivo, consideramos pertinente llevar a cabo el presente estudio, cuyo objetivo fue investigar la existencia de alteraciones cromosómicas en mujeres con IOP idiopática y describir las características fenotípicas de las afectadas.

Material y métodos

Fue un estudio transversal, descriptivo y prolectivo que se realizó en la población de pacientes con IOP atendida en el Departamento de Biología de la Reproducción, durante el período comprendido del 1 de noviembre de 2006 al 31 de enero de 2012.

Se incluyeron todas las mujeres con diagnóstico de IOP, FOP o menopausia prematura de causa idiopática, sin limitaciones con respecto a su edad actual ni al tiempo transcurrido desde el diagnóstico. Se excluyeron los casos de IOP iatrogénica y los asociados a padecimientos autoinmunes sistémicos u órgano-específicos.

Previamente a la consulta de seguimiento preestablecida, se revisó el expediente clínico de cada paciente a fin de extraer en forma sistemática la información correspondiente a su historia ginecológica, características clínicas y resultados del estudio de cariotipo. Los expedientes fueron revisados por los investigadores participantes en el estudio, utilizando criterios establecidos por consenso. Durante la consulta se recabó la información faltante y se actualizó la concerniente al peso, paridad y existencia de otras enfermedades que pudieran descartar el diagnóstico de IOP

idiopática. Se solicitó cariotipo a las pacientes que aún no lo tenían, o bien, tenían un estudio previo con resultados limitados o insuficientes para el diagnóstico. Cuando fue necesario, se realizaron estudios hormonales destinados a confirmar el diagnóstico de insuficiencia ovárica y/o los indicados para descartar padecimientos asociados a la IOP que no hubieran sido investigados o registrados en el expediente.

Todos los datos se integraron en una base de datos validada. Se llevó a cabo un análisis descriptivo, utilizando medidas de tendencia central y dispersión para las variables dimensionales y porcentajes para las variables nominales o categóricas.

Resultados

Durante el período del estudio se identificaron 158 pacientes con diagnóstico de insuficiencia ovárica prematura, falla ovárica prematura o menopausia prematura. De ellas, 126 fueron excluidas por presentar IOP de causa iatrogénica o autoinmune, incluyéndose en el análisis 32 mujeres de tipo idiopático (*Figura 1*). Al momento del estudio, las características clínicas de las pacientes con IOP idiopática fueron las siguientes (media $\pm$ DE): Edad 44.7 ± 10.0 años, peso 66.3 ± 15.3 kg, talla 1.55 ± 0.06 m e índice de masa corporal (IMC) 27.4 ± 5.2 kg/m². En los cuadros I y II se resumen sus antecedentes ginecológicos dentro de los que se encuentran: edad a la menarca 12.9 ± 1.5 años, edad a la menopausia (último sangrado) 30.5 ± 7.5 años, duración de la función ovárica 16.9 ± 7.9 años y tiempo transcurrido desde la menopausia 14.0 ± 9.8 años.

En 15 de las 32 pacientes (47%) se tuvieron resultados de cariotipo. Sólo en dos de ellas (13.33%) se detectaron anomalías cromosómicas consistentes en mosaicismo 46,XX/45,X con baja proporción de la línea celular 45,X. Los datos clínicos de estas pacientes son los siguientes:

Caso 1: Paciente de 34 años. Tuvo desarrollo normal de caracteres sexuales secundarios, sin presentar proporciones eunucoides ni signos de síndrome de Turner. Menarca a los 12 años, ciclos regulares hasta los 26 años de edad. Posteriormente con irregularidades menstruales con períodos de amenorrea de duración variable hasta los 33 años, cuando presentó el último episodio de sangrado. Vida sexual activa desde los 16 años, pero nunca logró embarazarse pese a que no utilizaba anticonceptivos. Dos años antes del último sangrado se detectó por primera vez FSH mayor

a 40 UI/L, lo cual se confirmó en cuantificaciones posteriores. A los 33 años se realizó el cariotipo en 100 metafases, en leucocitos de sangre periférica. Se encontraron dos líneas celulares, 46,XX en 98% de las células y 45,X en el restante 2%. En el estudio de hibridación *in situ* fluorescente (FISH, Fluorescence *in situ* hybridization), se observó una mayor proporción de células con monosomía (7.4%) (*Cuadro III*). Actualmente recibe terapia hormonal.

Caso 2: Paciente de 50 años de edad, estudiada a los 19 años. Tuvo desarrollo normal de caracteres sexuales secundarios, sin presentar proporciones eunucoides ni signos de síndrome de Turner. Presentó un único sangrado endometrial a los 17 años, seguido de amenorrea. Vida sexual activa desde los 25 años. A los 26 años se detectó por primera vez FSH mayor a 40 UI/L, lo cual se confirmó en cuantificaciones posteriores. Asimismo, se realizó el cariotipo en 10 metafases en leucocitos de sangre periférica. Se encontraron dos líneas celulares, 46,XX en 97% de las células y 45,X en el restante 3% (*Cuadro III*). No se realizó el estudio FISH debido a que actualmente su edad es superior a los 40 años. Actualmente recibe terapia hormonal.

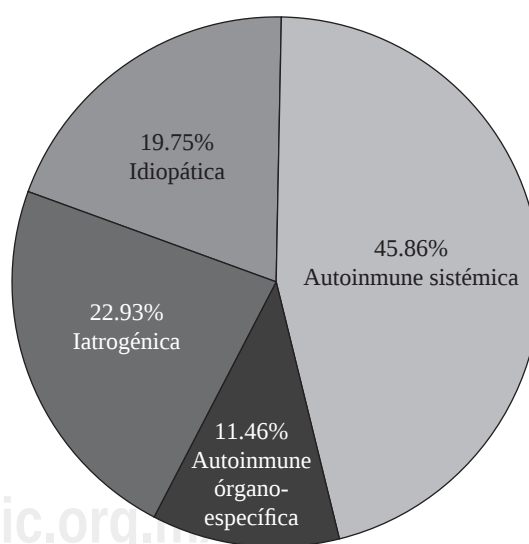


Figura 1. Proceso de selección de las pacientes con insuficiencia ovárica prematura idiopática. El grupo de causa iatrogénica incluye a las pacientes que recibieron quimioterapia, radioterapia o cirugía ovárica. El grupo de enfermedades autoinmunes sistémicas incluye a pacientes con lupus eritematoso generalizado, artritis reumatoide y otras enfermedades del tejido conectivo, mientras que el de enfermedades autoinmunes órgano-específicas corresponde a los casos con padecimientos que afectan a la glándula tiroidea y/o suprarrenal.

Cuadro I. Características clínicas de 122 pacientes con insuficiencia ovárica prematura, de acuerdo con el grupo asignado.

	Autoinmune sistémica n = 72	Autoinmune órgano-específica n=18	Idiopática n=32	p
Edad (años)				
Media $\pm$ DE	41.3 $\pm$ 7.4	42.8 $\pm$ 11.6	44.7 $\pm$ 10.0	
Mediana	39.3	36.5	44.8	0.31
Rango	17-60	20-59	21-61	
Peso (kg)				
Media $\pm$ DE	61.8 $\pm$ 13.3	58.9 $\pm$ 11.1	66.3 $\pm$ 15.3	
Mediana	60.5	57.4	66.7	0.15
Rango	35-112	33-85	39-121	
Talla (m)				
Media $\pm$ DE	1.55 $\pm$ 0.07	1.55 $\pm$ 0.06	1.55 $\pm$ 0.06	
Mediana	1.55	1.55	1.54	0.95
Rango	1.40-1.72	1.43-1.64	1.44-1.70	
Índice de masa corporal (kg/m ²)				
Media $\pm$ DE	25.6 $\pm$ 4.5	25.1 $\pm$ 3.9	27.4 $\pm$ 5.2	
Mediana	25.0	23.5	27.6	0.23
Rango	15.2-38.5	21.2-36.5	21.0-43.3	
Distribución por índice de masa corporal, n (%)				
> 18 - < 25	34 (47)	10 (55)	12 (38)	
$\geq$ 25 - < 30	25 (35)	5 (28)	13 (40)	0.20
$\geq$ 30	13 (18)	3 (17)	7 (22)	

Cuadro II. Características clínicas de 32 pacientes con insuficiencia ovárica prematura idiopática.

	Media $\pm$ DE	Rango
Edad (años)	44.7 $\pm$ 10.0	21-61
Edad a la menarca (años)	12.9 $\pm$ 1.5	11-17
Edad a la menopausia (años)	30.5 $\pm$ 7.5	14-39
Duración de la función ovárica (años)	16.9 $\pm$ 7.9	1-27
Vida sexual activa, n (%)	26 (81)	
Antecedente de embarazo, n (%)	12 (38)	
Número de embarazos, n (%)		
1	4 (13)	
2	7 (22)	
3	1 (3)	
FSH al diagnóstico, IU/L*	63.5 $\pm$ 39.0	11-182
FSH confirmatoria, IU/L†	56.3 $\pm$ 32.2	17-149
Cariotipo§	15 (47)	
46,XX	13 (41)	
46,XX/45,X0	2 (6)	

Abreviaturas: FSH = hormona estimulante del foliculo. * Valores de 29 pacientes. † Concentración promedio de dos determinaciones de FSH en 20 pacientes. § Realizado en 30 o más metafases en leucocitos de sangre periférica.

Discusión

En este artículo presentamos los resultados preliminares de un estudio en curso cuyo objetivo es estimar la prevalencia y tipo de alteraciones

cromosómicas en mujeres con insuficiencia ovárica prematura espontánea, de causa idiopática. Hasta el momento se han detectado dos casos con mosaicismo del cromosoma X, mediante cariotipo en leucocitos de sangre periférica. La proporción de células con monosomía X, del 2 y 3%, respectivamente, podría corresponder al denominado mosaicismo de baja proporción; sin embargo, su significado biológico es incierto. Así para algunos autores, nuestro hallazgo sería irrelevante por considerar que el mosaicismo de baja proporción con implicaciones clínicas es aquel que contiene de 5 a 10% de células aneuploides 45,X.^{7,10-12} Esta noción se basa en el dato de que en mujeres eumenorreicas con fertilidad probada se ha detectado la monosomía 45,X en proporciones menores al 5%.¹¹ Desafortunadamente no se ha investigado si las pacientes con IOP con monosomía 45,X menor al 5% en cariotipo convencional pueden tener una mayor proporción de células aneuploides en otras líneas celulares o cuando se estudian con técnicas más sensibles como el FISH. En apoyo a esta posibilidad, está la paciente número 1 de nuestro estudio; en ella, la proporción de células 45,X fue de 2% en cariotipo y de 7% con FISH. Este dato sugiere que la anormalidad cromosómica detectada por el cariotipo

Cuadro III. Características clínicas de dos pacientes con mosaicismo de baja proporción del cromosoma X.

	Caso 1	Caso 2
Edad al estudio (años)	34	50
Edad a la menarca (años)	12	17
Edad a la última menstruación (años)	33	19
Duración de la función ovárica (años)	21	2
Vida sexual activa	Sí	Sí
Antecedente de embarazo	No	No
Talla (m)	1.55	1.70
Peso (kg)	69	68
Índice de masa corporal (kg/m ²)	29	24
FSH al diagnóstico (IU/L)	50	46
FSH confirmatoria (IU/L)	81	77
Cariotipo	46,XX (98%), 45,X (2%)*	46,XX (97%), 45,X (3%)†
Fluorescencia de hibridación <i>in situ</i> .	X (7.4%); XXX (2%); XX (90.6%)§	

* Realizado en 100 metafases en leucocitos de sangre periférica. † Realizado en 10 metafases en leucocitos de sangre periférica. § Realizado en 100 núcleos en interfase en leucocitos de sangre periférica.

convencional sí se relaciona causalmente con la insuficiencia ovárica. Se requerirán más estudios para ratificar o descartar la hipótesis.

Otro aspecto de relevancia para nuestro estudio es el conocimiento reciente de que el cromosoma X puede perderse a lo largo de la vida, aun en mujeres sanas, encontrándose mayor prevalencia de monosomía a partir de los 40 años de edad. En mujeres mayores de 50 años se ha descrito hasta 3.1% de células 45,X.^{13,14} A ese respecto, hay que mencionar que los cariotipos de nuestras pacientes afectadas se realizaron a edades menores de 40 años.

No se observó el mismo fenotipo en las dos mujeres afectadas, quienes mostraron diferencias importantes en la talla, la edad de la menarca y la rapidez con la que se instaló la falla ovárica. Una posible explicación a tales diferencias es que el cariotipo de la paciente 1 se realizó en 100 metafases y el de la paciente 2 sólo en 10. Se sabe que la sensibilidad del cariotipo para identificar alteraciones cromosómicas depende del número de metafases estudiadas¹⁵ y por lo tanto, no podemos descartar que la paciente 2 sea portadora de un mosaico de mayores proporciones. Esta hipótesis ya no puede ser explorada adecuadamente debido a que la edad actual de la paciente es de 50 años.

Dentro de las fortalezas de nuestro estudio se puede mencionar que el diagnóstico de IOP idiopática está suficientemente sustentado, con la posibilidad de ser ratificado a lo largo del seguimiento de las pacientes. Otra fortaleza se refiere al hecho de que 13 de los 15 cariotipos incluidos

en esta serie (86.7%) fueron efectuados en 30 o más metafases cuando las pacientes eran menores de 40 años. En relación a las limitaciones del estudio, hay que señalar que 16 de las 17 pacientes a las cuales aún no se les practica el cariotipo son actualmente mayores de 40 años y, por ende, los resultados que pudieran obtenerse serán más difíciles de interpretar. Así mismo, no en todas las pacientes se cuenta con información para analizar retrospectivamente las características de las alteraciones menstruales que precedieron a la amenorrea, la sintomatología presentada a lo largo del proceso de agotamiento de la función ovárica y los resultados de exámenes hormonales y/o metabólicos realizados en etapas tempranas. No obstante, consideramos que algunos de estos datos son recuperables y que con la incorporación de nuevos casos estaremos en condiciones de contestar un número mayor de interrogantes.

Bibliografía

1. Luborsky JL, Meyer P, Sowers MF, Gold EB, Santoro N. Premature menopause in a multiethnic population study of the menopause transition. *Hum Reprod* 2003; 18: 199-206.
2. Nelson L. Primary ovarian insufficiency. *N Engl J Med* 2009; 360: 606-614.
3. De Vos M, Devroey P, Fauser B. Primary ovarian insufficiency. *Lancet* 2010; 376: 911-921.
4. Rebar RW, Erickson GF, Yen SSC. Idiopathic premature ovarian failure: clinical and endocrine characteristics. *Fertil Steril* 1982; 37: 35-41.
5. Bakalov VK, Anasti JN, Calis KA, Vanderhoof VH, Premkumar A, Chen S et al. Autoimmune oophoritis as a mechanism of follicular dysfunction in women with 46,XX

- spontaneous premature ovarian failure. *Fertil Steril* 2005; 84: 958-965.
6. Nelson L, Covington S, Rebar R. An update: spontaneous premature ovarian failure is not an early menopause. *Fertil Steril* 2005; 83: 1327-1332.
 7. Kim TJ, Anasti JN, Flack MR, Kimzey LM, Defensor RA, Nelson LM. Routine endocrine screening for patients with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1997; 89: 777-779.
 8. Wittenberger M, Hagerman R, Sherman S, McConkie-Rosell A, Welt CK, Rebar RW et al. The FMR1 premutation and reproduction. *Fertil Steril* 2007; 87: 456-465.
 9. Marozzi A, Vegetti W, Manfredini E, Tibiletti MG, Testa G, Crosignani PG et al. Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. *Hum Reprod* 2000; 15: 197-202.
 10. Gersak K, Veble A. Low-level X chromosome mosaicism in women with sporadic premature ovarian failure. *Reprod Biomed Online* 2011; 22: 399-403.
 11. Lakhal B, Braham R, Berguigua R, Bouali N, Zaouali M, Chaieb M et al. Cytogenetic analyses of premature ovarian failure using karyotyping and interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) in a group of 1,000 patients. *Clin Genet* 2010; 78: 181-185.
 12. Devi A, Metzger D, Luciano A, Benn P. 45,X/46,XX mosaicism in patients with idiopathic premature ovarian failure. *Fertil Steril* 1998; 70: 89-93.
 13. Stone J, Sandberg A. Sex chromosome aneuploidy and aging. *Mutat Res* 1995; 338: 107-113.
 14. Guttenbach M, Koschorz B, Bernthaler U, Grimm T, Schmid M. Sex chromosome loss and aging: *In situ* hybridization studies on human interphase nuclei. *Am J Hum Genet* 1995; 5: 1143-1150.
 15. Hook EB. Exclusion of chromosomal mosaicism: tables of 90, 95 and 99% confidence limits and comments on use. *Am J Hum Genet* 1977; 29: 94-97.

Correspondencia:

Dra. María del Carmen Cravioto GalindoDepartamento de Biología de la Reproducción
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
«Salvador Zubirán».

Vasco de Quiroga Núm. 15, Col. Sección XVI,

Delegación Tlalpan, 14000, México, D.F.

Teléfono: 55 5487 0900, extensión: 2415

E-mail: maria.craviotog@quetzal.innsz.mx

mcravioto@prodigy.net.mx