

Estudio Citogenético en Individuos con Síndrome de Klinefelter

CÉSAR PAZ Y MIÑO,^{1,2} J. CHRISTIAN PÉREZ,¹ VERÓNICA DÁVALOS,¹ RAMIRO BURGOS,¹ MERCEDES DEL POZO,¹ MARÍA EUGENIA SÁNCHEZ,² CARLOS JULIO TOBAR,² LIGIA OCAMPO,³ PAOLA E. LEONE.²

¹ Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana, Departamento de Ciencias Biológicas, ² Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica, ³ Laboratorio de Genética, SOLCA, Quito-Ecuador.

RESUMEN. El Síndrome de Klinefelter (SK) afecta a aproximadamente 1 de cada 1000 varones nacidos vivos y se produce por la presencia de más de un cromosoma X. Si bien el cariotipo característico de este desorden es 47,XXY existen otras variantes menos comunes. En este estudio se presenta el análisis citogenético realizado en linfocitos de sangre periférica de veinte y tres individuos afectados de SK, con el objeto de determinar las variantes de este desorden genético. Se encontró que el 69,6% de individuos afectados presentan el cariotipo 47,XXY; el 17,4% presentó mosaicos: 46,XY/47,XXY; y el restante 13% otras variantes: 46,XY/47,XXY,+microcromosoma(?); 48,XXYY; 49,XXXXY. Se determinó además, que dos individuos afectados presentaban carcinoma de células escamosas. Se comparan estos datos con los reportados en otros trabajos y se presenta una revisión de la literatura sobre el significado e incidencia de las variantes 49,XXXXY y 47,X,i(Xq). (*Metro Ciencia* 7(3): 12-16; 1998)

Palabras clave: Síndrome de Klinefelter, Cromosoma X, Mosaicismo, Alteraciones genéticas.

ABSTRACT. Klinefelter syndrome occurs in about 1/1000 male births and it is identified by the addition of an X chromosome. Although the 47,XXY is the most common karyotype seen in Klinefelter syndrome, there are also other variations. In our study we present the cytogenetic analysis of 23 patients whose white cells (peripheral blood) were analyzed in order to determine the variations of this genetic alteration. We found that 69,6% of affected patients had the 47,XXY karyotype; 17,4% had mosaics: 46,XY/47,XXY; and the rest 13% other variations: 46,XY/47,XXY,+microchromosome(?); 48,XXYY; 49,XXXXY. Also we determine that two affected individuals presented squamous cell carcinoma. We compared our results with the ones published in other studies and we present a review of literature about significance and incidence of 49,XXXXY and 47,X,i(Xq) variations. (*Metro Ciencia* 7(3): 12-16; 1998)

Key Words: Klinefelter syndrome, X chromosome, Mosaicism, Genetic alterations.

INTRODUCCIÓN

En 1942, el Dr. Harry Klinefelter describió un síndrome que afectaba a los varones y se iniciaba después de la adolescencia; se caracterizaba por la presencia de testículos pequeños, virilización de grado diverso, aspermia, ginecomastia, retraso mental, aumento de las gonadotropinas urinarias y, en el examen histológico, hialinización de los tubos seminíferos y un acúmulo o agrupación de células de Leyding.¹ No fue sino hasta 1956 en que otros investigadores reportaron que muchos individuos con esta condición tenían 47 cromosomas en cada célula en lugar del número normal de 46.²

Actualmente se conoce que el Síndrome de Klinefelter (SK) es un desorden genético de diferenciación sexual en los varones, caracterizado por la presencia de al menos dos cromosomas X y uno Y.^{3, 4, 5} Es decir, debido a una anomalía en los cromosomas sexuales, los cuales tienen una variedad de genes relacionados con dicho evento.⁶

Dirección para correspondencia: Dr. César Paz y Miño, Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias y Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica, Apartado 17-01-2148, Teléfono 593 2 565627, extensión 1193, Fax 593 2 509680. e-mail: cpazymino@puceuo.puce.edu.ec, Quito-Ecuador.

Si bien el cariotipo característico del SK es 47,XXY; existen otras variaciones menos comunes como 48,XXYY; 48,XXXXY; 49,XXXXY; y mosaicos XY/XXY. Todos estos son considerados variantes del SK.² El que se caracterice al SK por uno o varios cromosomas X extras significa que es de diagnóstico citogenético.⁴

El SK ocurre con una frecuencia aproximada de uno por cada 1000 varones nacidos vivos^{4, 7-11} y 1 por cada 300 abortos espontáneos.⁷ Otros estudios han reportado que aproximadamente uno de cada 500 individuos de la población general sufre SK.^{1, 12}

Mediante investigaciones citogenéticas y moleculares combinadas, se ha encontrado que alrededor de la mitad de los casos se originan por errores en la meiosis paterna I, un tercio por errores en la meiosis materna I, y el resto, por errores en la meiosis II o un error mitótico postcigótico que genera mosaicismo.⁷ La edad materna avanzada está relacionada solamente con los casos asociados a errores en la meiosis materna I, pero no en otras circunstancias.⁷

La apariencia física de los individuos con SK es normal hasta la pubertad, cuando resultan obvios los signos de

hipogonadismo; los testículos permanecen pequeños y las características sexuales secundarias continúan subdesarrolladas.^{7, 11} A pesar de no existir caracteres físicos asociados al SK en la niñez, lo cual impide en muchos casos su diagnóstico temprana, muchos niños con SK demuestran un déficit cognoscitivo en el proceso verbal.¹⁰ Además, los individuos con SK pueden presentar problemas educacionales (65%) y una integración psicosocial insuficiente.⁷

En la forma típica, las manifestaciones sobresalientes de los individuos con SK son: testículos pequeños, diversos grados de virilización, azoospermia, ginecomastia, retraso mental y gonadotropinas urinarias elevadas.^{1,8} La característica externa de estos pacientes es su talla alta y delgadez, con piernas relativamente largas.⁷ Además, casi siempre son infértiles,⁷ por esta razón el 10-20% de varones que se atienden por infertilidad corresponde a individuos con SK.^{4, 8}

Los individuos que tienen un linaje celular con múltiples X parecen sufrir un grado más intenso de deficiencia mental,^{1, 11, 12} una notable reducción de las células germinales y una mayor incidencia de criptorquidea,¹ es decir, en general se presenta un fenotipo más anormal con mayor dimorfismo, desarrollo sexual más defectuoso y deterioro mental más grave.⁷

Según registros, en el Ecuador las anomalías numéricas más frecuentes de los cromosomas sexuales son: XO, XXY, XXX, XYY. Estos datos reportan los siguientes porcentajes en cuanto a aberraciones cromosómicas de los gonosomas con fenotipo masculino: 47,XXY en el 40%; 47,XYY en el 20% y hermafroditismo verdadero 46,XX/46,XY en el 20% de los casos.¹³

Otros estudios estadísticos realizados en nuestro país, reportan que la frecuencia de cromosomopatías sobre un total de 12.112 nacidos vivos (1989) es de 0,25%, del cual 0,01% corresponde a SK.⁹ Hasta 1994, según el Registro Nacional Colaborativo de Alteraciones Cromosómicas Humanas, del total de gonosomopatías, que suman 135, diez corresponden a SK y sus variantes, lo cual representa el 8,18%.⁹

En el Ecuador se han realizado pocos estudios relacionados con el SK y en particular existen pocos reportes sobre la citogenética de este síndrome. Por este motivo el presente trabajo tiene por objeto analizar la incidencia de las diferentes variantes del SK en nuestra población.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se presenta el estudio citogenético de un total de veinte y tres individuos cuyas características correspondieron a SK o cuya consulta médica fue por hipogonadismo, infertilidad o talla alta sin otra patología.

Preparaciones citogenéticas. Se extrajeron 3ml de sangre periférica con heparina sódica. Para el análisis citogenético se realizó un cultivo de linfocitos agregando 0,5ml de la muestra de sangre en 5ml de un medio normal que contiene RPMI 1640, suplementado con suero fetal bo-

vino (13%), penicilina-estreptomina (1,5%), fitohemaglutinina (10%), L-glutamina (0,5%) y Hepes Buffer (1,5%). Cada muestra de sangre fue cultivada por 72 horas a 37°C. Una hora antes de la cosecha se agregaron 150ul de colcemida a cada cultivo. La cosecha se la llevó a cabo bajo condiciones estándares: choque hipotónico (KCl), fijador de Carnoy y extensión. La preparación cromosómica fue teñida con una solución de Giemsa al 5% y bandeado GTG (giemsa tripsina).

Se analizaron un total de 20 metafases por individuo.¹⁴ Las aberraciones cromosómicas existentes se las clasificó de acuerdo al "Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana".¹⁵

RESULTADOS

Los veinte y tres individuos analizados fueron diagnosticados citogenéticamente como SK. Las diferentes variantes encontradas en el cariotipo de estos individuos se presentan en la Tabla 1. El cariotipo característico 47,XXY (Figura I) fue el más común encontrándose en

TABLA I RESULTADO CITOGÉNÉTICO DE INDIVIDUOS CON SÍNDROME DE KLINEFELTER

RESULTADO CITOGÉNÉTICO	NÚMERO DE INDIVIDUOS	PORCENTAJE %
47,XXY	16	69,6
46,XY/47,XXY	4	17,4
46,XY/47,XXY, +microcromosoma(?)	1	4,34
48,XXYY	1	4,34
49,XXXXY	1	4,34

dieciséis individuos (69,6%); el porcentaje restante (30,4%) correspondió a algunas de las diferentes variantes que se encuentran en este desorden genético. Dentro de estas variantes la incidencia más alta correspondió al tipo mosaico 46,XY/47,XXY; el cual se presentó en cuatro individuos (17,4%). Un cuarto individuo también presentó tipo mosaico; pero, además, se encontró la presencia de un microcromosoma del cual no se pudo deter-

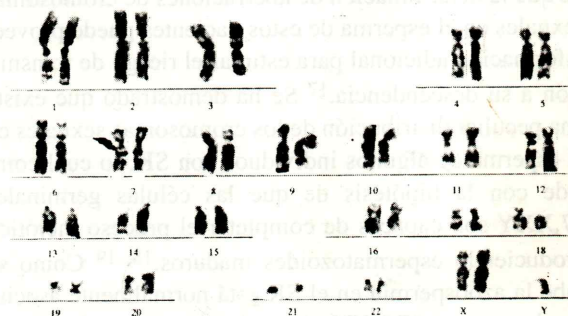


FIGURA I.- Cariotipo 47,XXY

minar su grupo cromosómico: 46,XY/47,XXY,+microcromosoma(?). En un individuo se encontró el cariotipo 48,XXYY y en otro el cariotipo 49,XXXXY. Cada uno de estos últimos tres casos representa el 4,34% del total. Un hallazgo importante fue que dos individuos diagnos-

ticados como SK presentaron carcinomas de células escamosas. El primero, tipo mosaico, presentó cáncer de células mediastinales, mientras que el segundo, con cariotipo 47,XXY puro, presentó cáncer de vejiga.

DISCUSIÓN

El objetivo de nuestro estudio fue determinar la incidencia de las diferentes variantes del SK en nuestra población. En este contexto el porcentaje más alto encontrado en nuestro trabajo (69,6%) corresponde al cariotipo 47,XXY reportado por otros estudios como el más común.² La segunda incidencia más alta encontrada corresponde a mosaicismo (17,4%); este porcentaje se aproxima bastante al 15% reportado por Thompson, et al; 1996.⁷ Sin embargo de estas similitudes con otros trabajos, también se observan diferencias con lo reportado por Jackson L, et al; 1979;⁴ la incidencia de las diferentes variantes según ese estudio es la siguiente: 47,XXY: 82%; 48,XXXY: 3%; 49,XXXXY: <1%; mosaicos: 8%; otros: 6%. Es notorio, al comparar con estos datos, el alto porcentaje de mosaicos obtenido en nuestro estudio y la baja incidencia del cariotipo 47,XXY.

En cuanto a las otras variantes, por ser una muestra reducida (veinte y tres individuos), no hemos tomado cada una de ellas como un porcentaje de incidencia en la población sino que hemos reunido a los tres individuos con cariotipos diferentes en una única subclase denominada otras variantes del SK. Considerando este hecho, el 13% de los individuos con SK no presentan el cariotipo característico 47,XXY ni mosaico 46,XY/47,XXY, sino otras variantes, lo cual se aproxima al 10% reportado por otros estudios.⁴

Como se ha mencionado, dentro del SK el cariotipo en mosaico más frecuente es 46,XY/47,XXY, probablemente como consecuencia de la pérdida de un cromosoma X en una concepción XXY durante una división postcigótica temprana.^{7, 16} Es muy importante realizar análisis citogenéticos de individuos con SK en mosaicos ya que la determinación de aberraciones de cromosomas sexuales en el esperma de estos pacientes puede proveer información adicional para estimar el riesgo de transmisión a su descendencia.¹⁷ Se ha demostrado que existe una peculiar distribución de los cromosomas sexuales en el esperma de algunos individuos con SK, lo cual coincide con la hipótesis de que las células germinales 47,XXY son capaces de completar el proceso meiótico produciendo espermatozoides maduros.^{18, 19} Como se sabe la azoospermia en el SK está normalmente asociada al cariotipo 47,XXY puro mientras que en la oligospermia usualmente está presente el cariotipo en mosaico 46,XY/47,XXY. Sin embargo la oligospermia severa y espermatogénesis focal también ha sido reportado en individuos 47,XXY.²⁰

Aunque considerado como una condición benigna, el SK está asociado con algunos tipos de malignidades, inclu-

yendo neoplasma de células germinales mediastinales.⁵ Así, los individuos con SK parecen tener un riesgo incrementado de desarrollar cáncer, especialmente de mama y tumores de células germinales, pero raramente desórdenes hematológicos malignos;²¹ sólo se han reportado 13 casos de linfoma maligno en pacientes con SK, lo cual sugiere que no existe asociación entre SK y malignidades hematológicas sino que son sólo encuentros al azar y no como sugieren algunos autores que el cariotipo 47,XXY puede ser un factor de predisposición para el desarrollo de malignidades hematológicas.²¹ En este contexto nuestro hallazgo de dos individuos afectados de SK con cáncer de tipo escamo celular, puede estar relacionado con estos reportes, especialmente el primero de los dos casos; éste presentó cáncer de células mediastinales, lo cual posiblemente esté ligado al SK pues se ha reportado que tumores de células germinales extragonadales sí están significativamente asociados con el SK.²² La razón para esto es poco clara pero puede envolver una propensión inusual de las células germinales aneuploides extragonadales a sufrir degeneración maligna.²² Por otro lado, el segundo individuo presentó cáncer de vejiga, el cual probablemente no esté asociado al SK y sea solamente un encuentro coincidente, pues si bien ocurre un riesgo elevado de desarrollar tumores de células germinales mediastinales en el periodo de adolescencia temprana hasta la edad de 30 años, la incidencia total de cáncer no es incrementada según un estudio de 696 individuos con SK.²³

Con respecto al cáncer de mama, se ha reportado que la tasa de prevalencia en individuos con SK podría alcanzar el 7,5%, una tasa mucho más alta al 3% reportado anteriormente.²⁴ Considerando esto, el riesgo de desarrollar cáncer de mama en varones con SK está incrementado en 50 veces en relación a varones normales²⁴ y no únicamente en 20 veces como se creía anteriormente.⁴ Una de las variantes del SK es la presencia del isocromosoma Xq. Se calcula que entre el 0,3 y 0,9% de varones con polisomías del cromosoma X tienen este síndrome con la variante de un isocromosoma Xq, es decir constitución cromosómica 47,X,i(Xq),Y.²⁵ Los pacientes con isocromosoma Xq son similares a individuos con SK en características como infertilidad, masculinización decrecida, ginecomastia y elevados niveles de hormona luteinizante y hormona folículo estimulante.²⁶ Pueden diferir en tener una inteligencia promedio y una estatura normal a corta;²⁶ parece ser entonces que la presencia del isocromosoma Xq en individuos con SK está asociado con la falta de incremento en la estatura.²⁷ Estos hallazgos indican que copias extra del brazo largo del X tienen expresión fenotípica, aún cuando sean activados sólo en el desarrollo temprano.²⁶

El cariotipo 49,XXXXY es una forma rara de SK.²⁸ En nuestro estudio se encontró un individuo con esta variación. Una observación inesperada en los pacientes

49,XXXXY es que el fenotipo resulta similar en muchos aspectos al del síndrome de Down. Esto se opone al punto de vista sostenido de que el fenotipo del síndrome de Down dependió estrictamente de la triple dosis de genes en el cromosoma 21 y sugiere en su lugar un retraso más general en el desarrollo relacionado con desequilibrio cromosómico.⁷

Un aspecto importante en los individuos que presentan SK es su personalidad. Se sabe que aunque la incidencia de desórdenes en la personalidad pueden estar fuertemente asociados con este síndrome, ninguna personalidad tipo específica parece especialmente característica del SK.²⁹ Se sugirió a finales de los 70's que los síntomas neurológicos asociados al SK deberían ser básicamente considerados como eventos coincidentes no relacionados a la anormalidad cromosómica.³⁰ Un hallazgo importante, sin embargo, es que la pubertad precoz parece ocurrir más frecuentemente en individuos con SK que lo esperado al azar, sin embargo existen sólo pocos reportes de estos casos.³¹

La forma más común de tratamiento a pacientes con SK envuelve la administración de depotestosterona, una forma sintética de testosterona, por inyección una vez al mes. La dosis necesita ser incrementada gradualmente y administrada más frecuentemente si los individuos tienen más edad.² El tratamiento por lo general resulta en una progresión normal del desarrollo físico y sexual, incluyendo crecimiento de vello púbico, un incremento en el tamaño del pene y escroto (pero no de los testículos), crecimiento de barba, agravamiento de la voz y un incremento en la masa y fuerza muscular.²

La causa más común para que se realice un cariotipo a un individuo con SK es el hipogonadismo y/o infertilidad,³² ya en etapas muy desarrolladas. Muy pocos casos se diagnostican tempranamente debido a la ausencia de características acentuadas en la etapa de niñez de los afectos. En Francia se ha reportado que tan sólo el 39% de los casos son diagnosticados antes de la pubertad.³³ Los resultados del presente estudio demuestran la importancia de realizar estudios citogenéticos en estos individuos. Es por ello que todos los esfuerzos se deben encaminar hacia un diagnóstico temprano del SK, de preferencia prenatal, que permita aplicar un tratamiento y consejo genético adecuados según el caso.

BIBLIOGRAFÍA

- Goodman R: Transtornos Genéticos. Barcelona, Salvat Editores, 1973; 632, 661-662.
- Klinefelter Syndrome and Associates: Information About Klinefelter Syndrome. World Wide Web, Roseville, 1997.
- Lacadena J: Genética. Madrid, 3a.ed, A.G.E.S.A., 1981; 1168, 1185.
- Jackson L, Schimke R: Clinical Genetics. New York, John Wiley & Sons, 1979; 50-51, 112, 305, 309.
- Aizenstein I, Hibbeln J, Sagireddy B, Wilbur A, O'Neil H: Klinefelter's syndrome associated with testicular microlithiasis and mediastinal germ-cell neoplasm. J Clin Ultrasound. 1997; 25(9): 508-10.
- Namiki M, Koh E: Disorders of sex chromosome. Nippon Rinsho, 1997; 55(11): 2963-2968.
- Thompson M, McInnes R, Willard H: Genética Médica. Barcelona, 4a.ed, Masson, 1996; 226-228.
- Egozcue J, Antich J, Ballesta F, Goyanes V, Izquierdo L, Tamarillas M, Tavares A: Genética Médica. Barcelona, Espax, 1976; 261-265.
- Paz-y-Miño C: Genética Humana. Quito, Fundación Simón Bolívar, 1994; 62.
- Rovet J, Netley C, Keenan M, Bailey J, Stewart D: The psychoeducational profile of boys with Klinefelter Syndrome. J Learn Disabil, 1996; 29(2): 180-96.
- Cummings M: Herencia Humana. Madrid, 3a.ed, Interamericana McGraw-Hill, 1995; 168.
- Ayala F, Kiger J: Genética Moderna. Barcelona, Omega, 1984; 588-590.
- Paz-y-Miño C, Leone P: Situación y Perspectivas de Desarrollo de la Genética Humana en el Ecuador. Quito, Fundación Simón Bolívar, 1997; 29.
- Barch M, Knutsen T, Spurbeck J: The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. Philadelphia, 3a.ed, Lippincott - Raven, 1991; 85.
- ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Memphis, Mitelman F (ed); S. Karger, Basel, 1995.
- Strachan T, Read A: Human Molecular Genetics. New York, Wiley-Liss, 1996; 475.
- Kruse R, Guttenbach M, Schartmann B, Schubert R, van der Ven H, Achmid M, Propping P: Genetic counseling in a patient with XXY/XXXY/XY mosaic Klinefelter's syndrome: estimate of sex chromosomal aberrations in sperm before intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril, 1998; 69(3): 482-5.
- Foresta C, Galeazzi C, Bettella A, Stella M, Scandellari C: High incidence of sperm sex chromosomes aneuploidies in two patients with Klinefelter syndrome. J Clin Endocrinol Metab, 1998; 83(1): 203-5.
- Estop A, Munné S, Cieply K, Vandermark K, Lamb A, Fisch H: Meiotic products of a Klinefelter 47,XXY male as determined by sperm fluorescence in situ hybridization analysis. Hum Reprod, 1998; 13(1): 124-7.
- Tournaye H, Staessen C, Liebaers I, Van Assche E, Debroey P, Boudouelle M, Van Steirteghem A: Testicular sperm recovery in nine 47,XXY Klinefelter patients. Hum Reprod, 1996; 11(8): 1644-9.
- Humphreys M, Lavery P, Morris C, Nevin N: Klinefelter syndrome and non-Hodgkin lymphoma. Cancer Genet Cytogenet, 1997; 97(2):111-3.
- Schimke R, Madiban C, Silver B, Fabian C, Stephens R: Choriocarcinoma, thyrotoxicosis, and the Klinefelter syndrome. Cancer Genet Cytogenet, 1983; 9(1): 1-7.
- Hasle H, Mellemegaard A, Nielsen J, Hansen J: Cancer incidence in men with Klinefelter syndrome. Br J Cancer, 1995; 71(2): 416-20.
- Hultborn R, Hanson C, Köpf I, Verbiéné I, Warnhammar E, Weimarck A: Prevalence of Klinefelter's syndrome in male breast cancer patients. Anticancer Res, 1997; 17(6D): 4293-7.
- Arps S, Koske-Westphal T, Meinecke P, Meschede D, Nieschlag E, Harprecht W, Steuber E, Back E, Wolff G, Kerber S, Held K: Isochromosome Xq in Klinefelter syndrome: report of 7 new cases. Am J Med Genet, 1996; 64(4): 580-2.
- Donlan M, Dolan C, Metcalf M, Bradley C, Salk D: Trisomy Xq in a male: the isochromosome X Klinefelter syndrome. Am J Med Genet, 1987; 27(1): 189-94.
- Richer C, Bleau G, Chapdelaine A, Murer-Orlando M, Lemieux N, Cadotte M: A man with isochromosome Xq Klinefelter syndrome with lack of height increase and normal androgenization. Am J Med Genet, 1989; 32(1): 42-4.
- Velidedeoglu H, Demir Z, Bozdogan M, Coskunfirat O, Kurtay A, Türkgüven Y: Uncommon Klinefelter's variant (49,XXXXY) with cleft palate. Ann Plast Surg, 1997; 39(2):

- 213-5.
29. Barker T, Black F: Klinefelter syndrome in a military population. Electroencephalographic, endocrine, and psychiatric status. Arch Gen Psychiatry, 1976; 33(5): 607-10.
30. Boltshauser E, Meyer M, Deonna T: Klinefelter syndrome and neurological disease. J Neurol, 1978; 22 219(4): 253-9.
31. von Mühlendahl K, Heinrich U: Sexual precocity in Klinefelter syndrome: report on two new cases with idiopathic central precocious puberty. Eur J Pediatr, 1994; 153(5): 322-4.
32. Abramsky L, Chapple J: 47,XXY (Klinefelter syndrome) and 47,XYY: estimated rates of and indication for postnatal diagnosis with implications for prenatal counseling. Prenat Diagn, 1997; 17(4): 363-8.
33. Battin J, Malpuech G, Nivelon J, Garandeau P, Freycon F, Sultan C, Bost M, Simonin G, Bouquier J, Rochiccioli P, et al: Klinefelter syndrome in 1993. Results of a multicenter study on 58 cases and review of the literature. Ann Pediatr (Paris), 1993; 40(7): 432-7.