

Homem XX: Relato de Três Casos na Faixa Etária Pediátrica

artigo original

RESUMO

São apresentados três pacientes com a condição clínica conhecida como "homem XX", rara na faixa etária pediátrica, caracterizada por um fenótipo masculino (em geral não associado a ambigüidade genital), testículos, porém cariótipo 46,XX. O diagnóstico costuma ser feito no adulto devido à esterilidade; na faixa etária pediátrica, ele é feito nos casos com ambigüidade genital ou ginecomastia. Na maioria dos pacientes é detectado o gene *SRY* (*Sex-determining Region of the Y chromosome*), o que explica a diferenciação testicular, porém em 20% dos casos ele está ausente, o que torna evidente que a determinação gonadal é um processo dependente de múltiplos genes e fatores de transcrição. O diagnóstico de apenas 3 casos em dois serviços de referência num período de quase 30 anos indica sua raridade entre os casos de anomalias da diferenciação sexual. (Arq Bras Endocrinol Metab 2005;49/1:79-82)

Descritores: Diferenciação sexual; Homem XX; Infertilidade; Intersexo; Sexo reverso; Testículo

ABSTRACT

XX Male: 3 Case Reports During Childhood.

We report on three patients with the clinical condition known as "XX male", which is uncommon in the pediatric age group. Patients have a male phenotype (usually without ambiguous genitalia) and testes; however, the karyotype is 46,XX. The diagnosis is usually made in adult life due to infertility; it may also be done by the pediatrician when there is ambiguous genitalia or gynecomastia. The *SRY* gene (*Sex-determining Region of the Y chromosome*) is detected in most cases, thus explaining the origin of testicular development; however, it is absent in 20% of the cases, thus indicating that gonadal determination is a complex process which depends on the interaction of many genes and transcription factors. The finding of only 3 cases in two reference services in a 30-year period indicates the rarity of this disorder among intersex cases. (Arq Bras Endocrinol Metab 2005;49/1:79-82)

Keywords: Infertility; Intersex; Sex differentiation; Sex reversal; Testes; XX male

A CONDIÇÃO CLÍNICA CONHECIDA como Homem XX (OMIM 278850), descrita em 1964 por De la Chapelle, é uma entidade rara que incide em 1:20.000 recém-nascidos do sexo masculino (1). A maioria dos pacientes (80%) não apresenta ambigüidade genital; assim sendo, este é um diagnóstico dificilmente feito na faixa etária pediátrica. Eventualmente, o diagnóstico pode ser feito na época da puberdade, uma vez que 1/3 dos pacientes desenvolvem ginecomastia. Esses pacientes apresentam, em geral, diminuição da pilosidade facial e tendência à distribuição feminina de pêlos pubianos. Os testículos têm pequeno volume, e o aspecto histológico

Durval Damiani
Dulce Rondina Guedes
Daniel Damiani
Vaê Dichtchekian
José Rodrigues Coelho Neto
Andréa Trevas Maciel-Guerra
Gil Guerra-Júnior
Maricilda Palandi de Mello
Nuvarte Setian

Unidade de Endocrinologia
Pediátrica (Durval D, DRG, VD,
JRCN & NS) – Instituto da
Criança – Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo
(ICR – FMUSP); Universidade de
Santo Amaro (Daniel D)
(UNISA), São Paulo, SP; e Grupo
Interdisciplinar de Estudos da
Determinação e Diferenciação do
Sexo (ATM-G, GG-J & MPM) da
Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade de Campinas
(GIEDDS – FCM – UNICAMP),
Campinas, SP.

Recebido em 29/09/04

Aceito em 14/11/04

assemelha-se ao da síndrome de Klinefelter. Com relação à estatura, esta tende a ser intermediária entre a masculina e a feminina.

Os dutos de Wolff desenvolvem-se em estruturas masculinas (epidídimo, deferente, vesícula seminal, ductos ejaculatórios) e os ductos de Müller sofrem apoptose, resultado da atuação do hormônio anti-mülleriano produzido pelas células de Sertoli. A secreção de testosterona pelas células de Leydig costuma ser normal.

A detecção do gene *SRY* (*Sex-determining Region on the Y chromosome*) em 80% dos pacientes elucidou o motivo pelo qual, na ausência do cromossomo Y, a gônada bissexual se diferencia em testículo. Os 20% que apresentam ambigüidade genital em geral não apresentam o *SRY* e parecem fazer parte de um grande espectro que tem, de um lado, as mulheres normais, 46,XX, com ovários normais quanto a estrutura e função, passa por uma grande faixa em que coexistem tecido ovariano e testicular (hermafroditas verdadeiros) e culmina com o homem XX, onde somente tecido testicular se desenvolve (2).

Therkelsen, em 1964 (3), já aventava a hipótese de que uma translocação entre os cromossomos X e Y faria com que genes do Y responsáveis pela determinação testicular pudessem ser transferidos para o X aparentemente normal, mas que, na verdade, funcionaria como um “cavalo-de-troia” e desencadearia a diferenciação do testículo. A quantidade de material do cromossomo Y translocada sobre o cromossomo X paterno varia desde a maior parte do braço curto até um minúsculo segmento adjacente à região pseudo-autossômica, e em 1/3 dos casos os pontos de quebra localizam-se dentro de uma região de 140kb que inclui o gene da proteína-quinase no cromossomo Y (PRKY) e no X (PRKX). PRKX e PRKY apresentam 94% de homologia e orientação idêntica nos cromossomos sexuais (4).

Muito mais difícil, porém, é o entendimento de como a diferenciação testicular pode se dar em um indivíduo sem o cromossomo Y e sem o gene *SRY*, o que ocorre em 20% dos casos de homens XX. Esse fato indica que genes autossômicos e/ou ligados ao X devem fazer parte de um mecanismo muito mais amplo de determinação gonadal do que inicialmente se supunha (5).

Uma vez que todos os homens XX são estéreis, é no momento da investigação da causa da esterilidade que o diagnóstico acaba sendo feito, ao ser detectado o cariótipo 46,XX em um indivíduo com fenótipo masculino. Embora em humanos a presença de dois cromossomos X seja necessária para a oogênese (que está, portanto, ausente nas mulheres XY), esta é

incompatível com a espermatogênese; acredita-se, ainda, que os genes determinantes da espermatogênese encontram-se no cromossomo Y (6).

O estudo de homens XX, bem como de hermafroditas verdadeiros 46,XX (que também desenvolvem tecido testicular sem apresentarem cromossomo Y e, na sua grande maioria, sem apresentar *SRY*), pode permitir uma melhor compreensão acerca dos mecanismos envolvidos na determinação gonadal, ou seja, na transformação da gônada indiferenciada em testículo ou ovário. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi apresentar as características clínicas e laboratoriais de 3 homens XX diagnosticados durante a infância.

PACIENTES E MÉTODOS

São apresentados três pacientes com o diagnóstico de Homem XX acompanhados na Unidade de Endocrinologia Pediátrica do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da FMUSP (casos 1 e 2) e no Grupo Interdisciplinar de Estudo da Determinação e Diferenciação do Sexo (GIEDDS) da FCM – UNICAMP (caso 3). Em nenhum dos casos havia consangüinidade.

Foram verificados retrospectivamente os seguintes dados: idade e queixa principal na 1ª consulta, características dos genitais externos e dos condutos genitais internos (por ultrassonografia), localização e biópsia das gônadas, resultado do cariótipo, e dosagens de testosterona total basal e após estímulo com gonadotrofina coriônica.

Nos três casos foi coletado sangue para extração de DNA de linfócitos periféricos pela técnica *salting out* ou por digestão com proteinase K e extração com fenol (7,8). O DNA extraído foi amplificado utilizando oito pares de *primers* nos casos 1 e 2 e três pares no caso 3, com o objetivo de estudar várias regiões do cromossomo Y.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada usando 100-500ng de DNA genômico, 200µM de dNTP, 15pmol de cada *primer*, 2,5 unidades de Taq polimerase (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden), 50mM KCl, 1,5mM MgCl₂ e 10mM Tris-HCl, pH 9,0 preenchendo um volume de 50µL. A reação de amplificação consistiu em um ciclo de 5 minutos a 94°C, seguido por 40 ciclos de 1 minuto a 72°C e um ciclo final de extensão a 72°C por 5 minutos, utilizando um termocirculador (Gene ATaq Controller, Pharmacia LKB, Uppsala, Sweden; 9700, PE Applied Biosystems, Perkin-Elmer Corporation, Foster City, CA). Um DNA de controle positivo (masculino) e um negativo (feminino) foram

utilizados. Em todos os pacientes foram feitos ciclos com os *primers* Ea/Eb, que amplifica uma região conservada de 317bp no SRY (*HMG Box*), e NTF/TSPY-C, que amplifica um fragmento de 418bp nos éxons 2-4 do gene TSPY.

O seqüenciamento do gene SRY foi feito usando o *ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit* (PE Applied Biosystems). Os fragmentos seqüenciados foram analisados pelo *ABI Prism 310/PE analyzer* (Biosystems, Foster City).

RESULTADOS

Os resultados estão apresentados nas tabelas 1 e 2.

DISCUSSÃO

Em Serviços de Endocrinologia Pediátrica, o diagnóstico de homem XX é bastante raro. Em dois serviços de referência para anomalias de diferenciação sexual, num período bastante longo, apenas três casos foram detectados; nesse mesmo período, foram diagnosticados 36 casos de hermafroditismo verdadeiro nos dois serviços. Sua prevalência é, portanto, de 0,5 a 1% de todos os casos de anomalias da diferenciação sexual.

O diagnóstico acaba sendo feito pela presença de ginecomastia, como ocorreu no caso 3, ou por ambigüidade genital, como no caso 2. Curiosamente, no paciente 1, portador de síndrome de Down, o cariótipo foi feito não pela ambigüidade genital, pois apresentava genitália externa masculina normal, mas juntamente com a confirmação citogenética da síndrome de Down; o cariótipo 47,XX,+21 levantou a suspeita de tratar-se de hermafroditismo verdadeiro ou de homem XX, este último confirmado pela ausência de tecido ovariano.

Tabela 2. Pesquisa de marcadores moleculares do cromossomo Y em três pacientes com diagnóstico de homem XX.

Região estudada	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3
PAR-1	+	-	NR
TSPY	+	-	-
AMGL	-	-	NR
DYZ-3	-	-	-
DYS280	-	-	NR
DYS1	-	-	NR
DYZ1	-	-	NR
SRY	+	-	-

+ : presente, - : ausente; NR : não avaliada

Quanto ao *SRY*, o primeiro caso apresentado pode ser explicado por translocação entre cromossomos X e Y, com material cromossômico adicional sobre o braço curto de um dos cromossomos X. Neste paciente, o ponto de quebra localiza-se na região de 140kb que inclui a proteína-quinase do Y (PKRY) e do X (PRKX), um *hot-spot* para recombinação entre regiões homólogas nos cromossomos X (Xp22.3) e Y (4,9). Este paciente só foi diagnosticado por ser portador de Síndrome de Down, já que sua genitália externa não era ambígua. Esta associação nunca foi descrita na literatura, podendo tratar-se de coincidência dessas duas situações clínicas ou haver alguma relação entre elas ainda desconhecida. Ao exame anátomo-patológico, os testículos desse paciente eram disgenéticos, apesar de terem apresentado resposta adequada de testosterona ao estímulo com gonadotrofina coriônica.

Já os pacientes 2 e 3, nos quais o *SRY* está ausente em sangue periférico (no caso do paciente 2, também nas gônadas), podem ser incluídos no grupo de 20% dos homens XX *SRY*-negativos. O paciente 2 apresentava genitália ambígua; pode-se supor, portanto, que faça parte do espectro que inclui os hermafroditas verdadeiros 46,XX *SRY*-negativos (2). O paciente 3, por sua vez, apresentava ginecomastia,

Tabela 1. Dados clínicos, laboratoriais e citogenéticos em três pacientes com diagnóstico de homem XX.

Paciente	1	2	3
Idade	16 meses	8 meses	13 anos
Genitália externa	masculina	ambígua	masculina, com microrquídia*
Gônadas	testículos tópicos [#]	testículos tópicos	testículos tópicos [#]
T basal/pós hCG	< 10/250	10/730	30/NR
T/DHT	3,5	5,5	NR
Condição associada	Síndrome de Down	Nenhuma	Nenhuma
Derivados Müller	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Cariótipo	47,XX, +21	46,XX	46,XX
SRY	positivo	negativo**	negativo

* também apresentava ginecomastia; # disgenesia tubular à biópsia gonadal;

T: testosterona (ng/dL); DHT: dihidrotestosterona; NR: exame não realizado;

** SRY pesquisado também na gônada

microrquidia (testículos disgenéticos) e atraso puberal; seus níveis hormonais caracterizavam um hipogonadismo hipergonadotrófico.

Portanto, dois dos três pacientes apresentavam testículos disgenéticos, um *SRY*-positivo e outro negativo. No paciente *SRY*-positivo, o resultado normal do seqüenciamento afasta a possibilidade de alguma mutação nesse gene ter determinado a disgenesia testicular, pois mutações no *SRY* têm sido responsabilizadas por 20% das disgenesias gonadais em pacientes com cariótipo 46,XY.

Em 1987, De La Chapelle aventou várias hipóteses para explicar a presença de testículos em homens XX na ausência do cromossomo Y: a existência de um pequeno fragmento de Y capaz de promover a determinação testicular que não seria detectado pelas técnicas empregadas até então ou a ocorrência de determinação testicular por outros mecanismos que não incluiriam a ação do então chamado fator de diferenciação testicular (TDF). Essa última situação incluía a presença de mosaicismo envolvendo uma linhagem celular contendo o cromossomo Y, que desencadearia a determinação testicular mas não seria detectável por ser limitada ao tecido gonadal ou por ser eliminada durante o desenvolvimento, e a mutação em um gene autossômico ou ligado ao X que se tornaria um gene determinante de testículo (10).

Quanto a essa última hipótese, se considerarmos que a tendência intrínseca da gônada seja a de diferenciação masculina e que este processo encontrasse usualmente reprimido, o *SRY* poderia funcionar como um desrepressor; na ausência desse gene, uma mutação no repressor poderia criar a condição de diferenciação testicular com *SRY* ausente (11,12).

Portanto, apesar do *SRY* ser a principal chave na diferenciação testicular, um grande grupo de evidências indica que o controle da gonadogênese é ainda um processo muito complexo, devendo haver um número indefinido de genes autossômicos ou ligados ao X nessa cascata de transcrição. O conhecimento desses fatores de uma forma mais completa pode auxiliar sobremaneira a compreensão destes verdadeiros enigmas da diferenciação sexual (13).

AGRADECIMENTOS

Os estudos com marcadores moleculares das diversas regiões do cromossomo Y em dois dos pacientes (casos 1 e 2) foram realizados pela Dra. Ângela Morganti e Érica Cristina P. Bertelli.

REFERÊNCIAS

1. De La Chapelle A, Hortling H, Niemi M, Wennstrom J. XX sex chromosomes in a human male: first case. **Acta Med Scand (suppl) 1964**;412:25-38.
2. Abbas N, Toubalnc J, Boucekine C, Toubalnc M, Affara NA, Job JC, et al. A possible common origin of Y negative human XX males and XX true hermaphrodites. **Hum Genet 1990**;84:356-60.
3. Therkelsen AJ. Sterile male with the chromosomal constitution 46,XX. **Cytogenetics 1964**;3:207-18.
4. Schiebel K, Winkelmann M, Mertz A, Xu X, Page DC, Weil D, et al. Abnormal XY interchange between a novel isolated protein kinase gene, PRKY, and its homologue, PRKX, accounts for one third of all (Y+) XX males and (Y-) XY females. **Hum Mol Genet 1997**;6:1985-9.
5. McLean HE, Warne GL, Zajac JD. Intersex disorders: shedding light on male sexual differentiation beyond *SRY*. **Clin Endocrinol 1997**;46:101-8.
6. Vogt P, Edelmann A, Kirch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. **Hum Mol Genet 1996**;5:933-43.
7. Miller AS, Dykes DD, Polesdy KF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Res 1988**;16:1215-7.
8. De Araujo M, Sanches MR, Suzuki LA, Guerra Jr G, Farah SB, De Mello MP. Molecular analysis of CYP21 and C4 genes in Brazilian families the classical congenital adrenal hyperplasia. **Braz J Med Biol Res 1996**;29:1-13.
9. Plöchi E, Vlasak L, Rittinger O, Bergendi E, Štopar M, Kurnik P, et al. Clinical, cytogenetic and molecular analysis of three 46,XX males. **J Pediatr Endocrinol Metabol 1999**;12:389-95.
10. De La Chapelle A. The Y-chromosomal and autosomal testis-determining genes. **Development 1987**;101:33-8.
11. Hiorf O, Holterhus PM. The molecular basis of male sexual differentiation. **Eur J Endocrinol 2000**;142:101-10.
12. Kolon TF, Ferrer FA, McKenna PH. Clinical and molecular analysis of XX sex reversed patients. **J Urol 1998**;160:1169-72.
13. MacLaughlin DT, Danahoe PK. Mechanisms of disease: sex determination and differentiation. **N Engl J Med 2004**;350:367-78.

Endereço para correspondência:

Durval Damiani
Rua Bela Cintra 2117, apto 9
01415-002 São Paulo, SP
E-mail: durvald@iconet.com.br