

Anomalía estructural del cromosoma X asociado a falla ovárica prematura

Patricia García Estanga, Judith Mincman, Irma Coco, Fernando Neuspiller,*
Roberto Coco

Fecunditas-Instituto de Medicina Reproductiva afiliado a la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.

* Centro Médico Fertilab.

Reproducción 2008;23:35

Resumen

Objetivo: documentar una nueva anomalía estructural del X pesquisada al evaluar citogenéticamente a una mujer con falla ovárica prematura (POF). **Paciente:** mujer de 39 años de edad con amenorrea secundaria desde los 33 años. Hija única producto del segundo embarazo, terminando el primero en aborto espontáneo de un matrimonio sano no consanguíneo. Edad materna al nacimiento: 42 años. Antecedentes importantes: en primera infancia episodios febriles convulsivos que motivaron varias internaciones; menarca a los 12 años; menstruaciones más o menos regulares hasta los 25 años e irregulares hasta los 33, época en que prácticamente desaparecieron las menstruaciones. Escolaridad primaria completa, aunque con dificultades en los últimos dos años, especialmente en matemáticas. Altura 1.60 m, peso 82.5 kg, características sexuales secundarias femeninas normales. Estudios hormonales FSH, LH, Estradiol, Prolactina y TSH fueron 42.2mU/ml, 38.4mU/ml, 70.93pg/ml, 11.5ng/ml, y 1.53uUI/ml, respectivamente. La ecografía ovárica no evidenció microfolículos. **Métodos:** a) estudios citogenéticos convencionales y por FISH, y b) estudios moleculares por PCR de: Fra-X, STRs X22, DXS1068, DXS1055, DXS1684, DXS15, inactivación preferencial

del X y estudio de filiación. **Resultados:** el estudio citogenético evidenció una duplicación de casi todo el brazo corto desde Xpter hasta Xp11.3 translocado en el brazo largo del mismo X, parcialmente deficiente desde Xq27 hasta Xqter. El cariotipo del padre resultó normal, mientras que el de la madre fallecida se desconoce. El estudio por FISH con las sondas del Kallmann y Xp / Yp evidenció duplicación de dichas zonas en el cromosoma X anómalo. El único alelo Fra-X no coincidió con el del padre. El único alelo del X22 coincidió con uno de los alelos del padre; uno de los alelos DXS1068 y DXS1055 concordó con el padre, el alelo DXS1684 coincidió con el del padre, mientras que el DXS15 no. El estudio de paternidad evidenció coincidencia en uno de los alelos en todos los STRs analizados en el padre y en la propósito. El estudio de inactivación del X en la propósito mostró un patrón netamente preferencial de inactivación, correspondiendo al X anómalo. **Conclusiones:** el presente caso contribuiría con un caso más de POF por deficiencia de la porción distal del brazo largo del X. Si bien el estudio de la pre-mutación Fra-X es indicado por su asociación con POF, la documentación de la existencia de un solo alelo del triplete CGG, como en el presente caso, puede ser indicativo de delección Xqter en la región donde mapean los genes del POF1. Por otro lado, a los fines prácticos la evaluación genética de la falla ovárica con cariotipo aparentemente normal debería incluir el estudio de los alelos Fra-X y

Correspondencia: Roberto Coco
Fecunditas, Larrea 790, 1030. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
E-mail: robertococo@fecunditas.com.ar

su comparación con los de los progenitores. El hallazgo de una premutación, la disminución significativa en el número de repeticiones CGG o la ausencia completa del alelo Fra-X podrían ser los responsables del POF.

Palabras claves: falla ovárica prematura, depleción prematura de folículos ováricos, detención de la foliculogénesis antes de los 40 años, defecto estructural en el cromosoma X, deficiencia parcial de Xqter y duplicación parcial de Xpter, delección del gen FMR1.

Structural anomaly of X chromosome associated to premature ovarian failure

Summary

We present the finding of a woman with premature ovarian failure (POF) associated to a novel structural anomaly of one of the X chromosome, which implies partial deficiency of the distal part of the long arm of the X, from Xq27 to Xqter, and partial trisomy of almost all short arm of the X chromosome, from Xpter to Xp11.3. The paternal karyotype was normal, the maternal was unknown. As it is well known the association between POF and the pre-mutation Fra-X we performed molecular analysis of pre-mutation Fra-X. The proband showed only one allele noncoincident with the paternal allele. Besides we performed other molecular studies to precise the structural anomaly of the X and to determine the origin of the anomaly. The results of molecular studied allows to us conclude that the chromosomal anomaly was "de novo" during paternal gametogenesis. The present case constitute other case of POF by deficiency of the distal portion of the long arm of the X. Although the study of the pre-mutation Fra-X is indicated by its association with POF, the documentation of only one allele of the triplet CGG as in the present case, is indicative of Xqter deletion, involving the region where are located the POF genes. On the other hand, to the practical point of view in all women with normal

karyotype and POF should be studied for pre-mutation FRA-X. Either the absence of one allele of the triplet CGG, or an allele with more than 45 repeats could produce POF.

Key words: *premature ovarian failure, premature depletion of ovarian follicles, arrest folliculogenesis before the age 40 y. o., structural defect of X chromosome, partial deficiency Xqter-partial duplication of Xpter, deletion of FMR1 gene.*

Introducción

Se define como falla ovárica prematura (POF) a la pérdida de la función ovárica antes de los 40 años luego de un desarrollo puberal normal (Coulam, 1982). Su incidencia está estimada en 0.1% en mujeres entre 30 y 39 años, y en un 1% en mujeres entre 40 y 49 años. En general, previo a instalarse la falla ovárica prematura la edad de la menarca y los ciclos menstruales son normales. Establecida la amenorrea los niveles de gonadotropinas y estradiol corresponden a los de las mujeres menopáusicas. Si bien dentro de las causas etiológicas de la POF figuran los desórdenes genéticos, inmunológicos, metabólicos e iatrogénicos, tales como cirugías o daños del tejido ovárico debido a las radiaciones o quimioterapia, la mayoría son idiopáticas (Coulam y col, 1983).

Dentro de las causas cromosómicas, la monosomía total o parcial del X y las translocaciones recíprocas involucrando o no al X son las más conocidas (Davis y col, 2000).

Se comunica el hallazgo de una duplicación parcial de casi todo el brazo corto del cromosoma X conjuntamente con la deficiencia de la porción distal del brazo largo del X en una mujer que consultó por infertilidad y falla ovárica prematura.

Paciente y métodos

La paciente nos fue referida a los 39 años de edad para evaluación citogenética por

presentar una amenorrea secundaria desde los 33 años.

Es única hija de un matrimonio sano y no consanguíneo producto del segundo embarazo, terminando el primero en aborto espontáneo del primer trimestre. Edad materna al nacimiento: 42 años. Tiene como antecedente importante en primera infancia episodios febriles convulsivos que motivaron varias internaciones. Menarca a los 12 años. Relata que tuvo menstruaciones más o menos regulares hasta los 25 años e irregulares a hasta los 33 años, edad en que prácticamente desaparecieron las menstruaciones. Escolaridad primaria completa, aunque con dificultades en los últimos dos años, especialmente en matemáticas.

Mide 160.0 cm y pesa 82.5 kg. Características sexuales secundarias femeninas normales.

Estudios hormonales FSH, LH, Estradiol, Prolactina y TSH fueron 42.2 mU/ml, 38.4mU/ml, 70.93 pg/ml, 11.5 ng/ml, y 1.53 uUI/ml, respectivamente.

Ecografía ginecológica: evidenció a ambos ovarios de similar tamaño 17x13 mm sin microfolículos.

Estudios citogenéticos

a) Convencional

Linfocitos de sangre periférica estimulados con PHA fueron cultivados a 37°C durante 72 hs en medio Ham F10 suplementado con suero fetal bovino para la obtención de las placas metafásicas de acuerdo a Moorhead y col, 1960. GTG *banding* fue realizado con tripsina-giensa (Comings, 1978), y R *banding* RFA por fluorescencia con naranja de acridina (Dutrillaux y Lejeune, 1971).

b) Molecular por FISH

Las preparaciones cromosómicas fueron hibridadas con las siguientes sondas de Vysis®:

- La del locus del Kallmann en Xp22.3 próxima al gen SHOX.

- La Tel Xp/Yp.

Estudios moleculares por PCR

El ADN genómico de la paciente y el padre fue extraído a partir de sangre periférica siguiendo el protocolo de *Wizard, Genomic DNA purification Kit de Promega*.

Se analizaron por QF-PCR:

- Las repeticiones del triplete CGG del gen FMR1 (Fra-X).
- La región pseudoautosómica PAR2 con el STR X22.
- La región Xp11.4-Xp11.3 con los STRs: DXS1068 y DXS1055.
- La región distal Xq28 con los STRs: DXS1684 y DXS15.
- Inactivación preferencial del X con las repeticiones CAG del gen AR luego de digestión enzimática con HpaII.
- Estudio de paternidad.

Primers utilizados en las PCRs:

• Fra-X

F 5' vic-AGC CCC GCA CTT CCA
CCA CCA GCT CCT CCA 3'
R 5' GCT CAG CTC CGT TTC GGT
TTC ACT TCC GGT 3'

• PAR 2

X22F 5' *pet*- TAA TGA GAG TTG GAA
AGA AA 3'
X22R 5' CCC ATT GTT GCT ACT
TGA GA 3'

• Región Xp11.4-Xp11.3

DXS1068F 5' *vic*-ATT ATG ACT AAG
GTT CTA GGG ACA C 3'
DXS1068R 5' CTG AGA ACA CGC
TGT TTT TTA C 3'
DXS1055F 5' CTC TAT GGG ATA
CAC TGT TCT GGG 3'
DXS1055R 5' *ned*- GGA ATG CAT
CCC CAT CAT TAA 3'

• Xq28

DXS1684F 5' *fam*- AGC ACC CAG
TAA GAG ACT GAA C 3'

DXS1684R 5' CCT CAG TGG CAA
CCA CTG AAG 3'

DXS15F 5'*fam*- AGC ACA TGG TAT
AAT GAA CCT CCA CG 3'

DXS15R 5' CAG TGT GAG TAG CAT
GCT AGC ATT TG 3'

- **Estudio de paternidad**
Kit de Promega GenePrint STR System.
- **Repeticiones CAG e inactivación del X**
165-hAR-CAG-F 5'*fam*-GTG CGC
GAA GTG ATC CAG AA 3'
392-hAR-CAG-R 5'TAG CCT GTG
GGG CCT CTA CG3'

Con el estudio de los alelos CAG previo y post-digestión enzimática con la enzima HpaII, la que digiere segmentos no metilados, o sea, el X activo.

Los productos amplificados fueron analizados por electroforesis capilar usando un ABI prism TM 310 Genetic Analyser de Applied Biosystems, usando el software GeneScan.

Resultados

a) Estudio citogenético:

El análisis con bandas G mostró un cro-

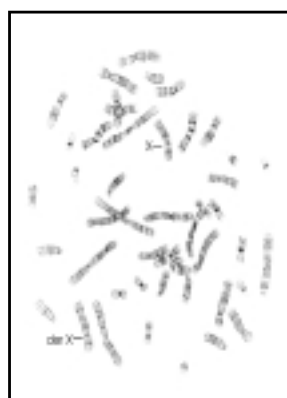
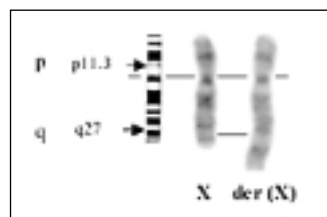


Figura 1. Metafase bandeada G y cariotipo parcial mostrando los dos cromosomas X: 46,X,der(X),(Xpter/EXq27:Xp11.3/EXpter).



mosoma X estructuralmente anormal con deficiencia-duplicación parcial de ambos brazos: duplicación de casi todo el brazo corto desde Xpter hasta Xp11.2 y deficiencia desde Xq27-28 hasta Xqter.

Cariotipo 46,X,der(X)t(X;X),(p11.3;q27). (Figura 1)

El cariotipo del padre fue normal. El de la madre fallecida no fue posible.

El bandeado R con naranja de acridina reveló en todas las células analizadas al cromosoma X estructuralmente anormal con un patrón de replicación tardío (inactivo). (Figura 2)

b) Estudio por FISH:

Con las sondas de Kallmann y tel Xp/Yp evidencia la duplicación de dichas zonas en ambos brazos del X anómalo (Figuras 3 y 4 respectivamente).

c) Estudio molecular por PCR:

• Fra X

La propósito presentó un único alelo del triplete CGG (Fra-X) de 276 bp (19 repeticiones). El padre presentó un alelo de 303 bp (28 repeticiones). Ambos alelos con un número normal de repeticiones para Fra-X. El único alelo del triplete FRA-X que se evidenció en la propósito no es coincidente con el alelo paterno. (Figura 5)

Figura 2. Metafase parcial bandeado R con naranja de acridina evidenciando al der(X) con un patrón de replicación tardía (inactivo).



- PAR 2

Con el STR X22 (PAR 2) el único alelo de la propósito (202 bp) coincide con uno de los alelos paternos (202 y 231 bp). (Figura 6)

- Región Xp11.4-Xp11.3

El STR DXS1068 de brazo corto del X evidenció dos alelos en la propósito (132 y 139 bp) y uno fue coincidente con el único alelo del padre (132 bp). (Figura 7)

Figura 3. Metafase hibridada con sonda para Kallmann (la señal verde es de centrómero de X y la señal roja corresponde al locus específico para Kallmann). En el der X se observa la duplicación del locus para Kallmann (señal roja en ambos brazos).

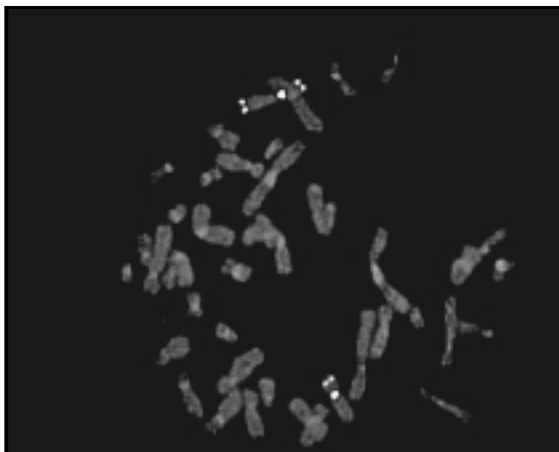
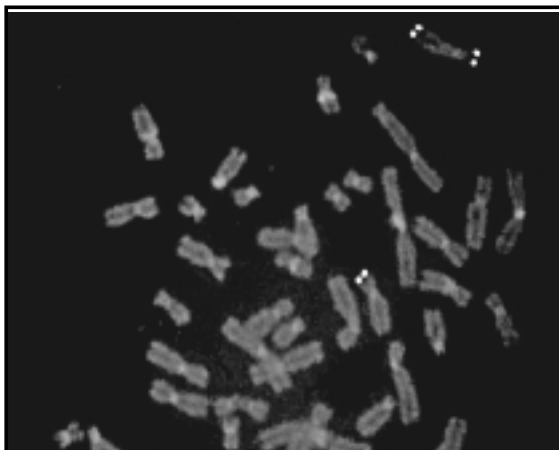


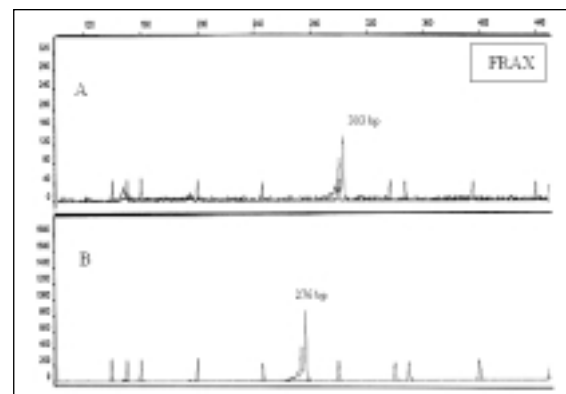
Figura 4. Metafase hibridada con sonda Tel Xp/Yp. En el der X se observa la duplicación de la región telomérica Xp (señal verde en ambos brazos).



Se observó una relación 2:1 de los alelos, correspondiendo la proporción 2 al alelo paterno.

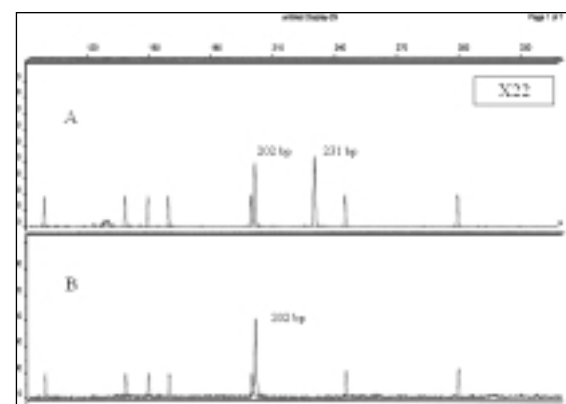
El STR DXS1055 también de brazo corto del X evidenció dos alelos en la propósito (107 y 111 bp) y uno fue coincidente con el único alelo del padre (111 bp), (Figura 8). Se observó una relación 1:1 de los alelos.

Figura 5. Electroferograma de FRA X.



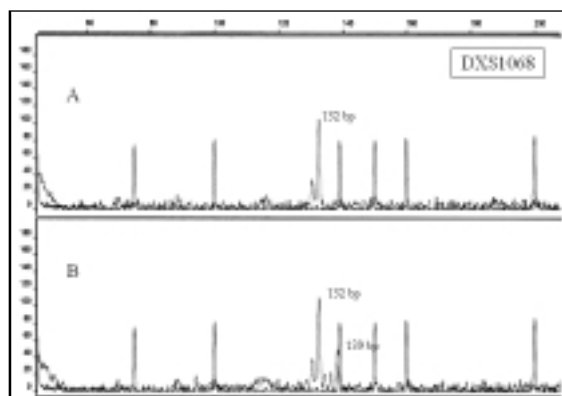
En el panel A se observa un solo pico verde de 303 bp correspondiente al padre. En el panel B se observa un solo pico verde de 276 bp correspondiente a la propósito y no coincidente con el alelo paterno. Los picos de color naranja corresponden a un marcador de peso molecular.

Figura 6. Electroferograma de PAR 2 (X22).



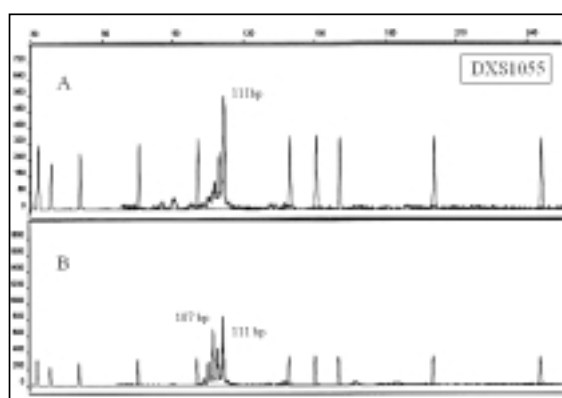
En el panel A se observan dos picos rojos de 202 bp y 231 bp correspondiente al padre. En el panel B se observan solo pico rojo de 202 bp correspondiente a la propósito y coincidente con el alelo paterno. Los picos de color naranja corresponden a un marcador de peso molecular.

Figura 7. Electroferograma correspondiente a Xp del STR DXS1068.



El panel A corresponde al padre: se observa un solo pico verde de 132 bp. El panel B corresponde a la propósito: se observan dos picos verdes de 132 bp y 137 bp, siendo el primero coincidente con el alelo paterno. Los picos de color naranja corresponden a un marcador de peso molecular.

Figura 8. Electroferograma correspondiente a Xp (STR DXS1055).



En el panel A correspondiente al padre se observa un solo pico negro de 111 bp. En el panel B de la propósito se observan dos picos negros de 107 bp y 111 bp, siendo el último coincidente con el alelo paterno. Los picos de color naranja corresponden a un marcador de peso molecular.

• Xq28

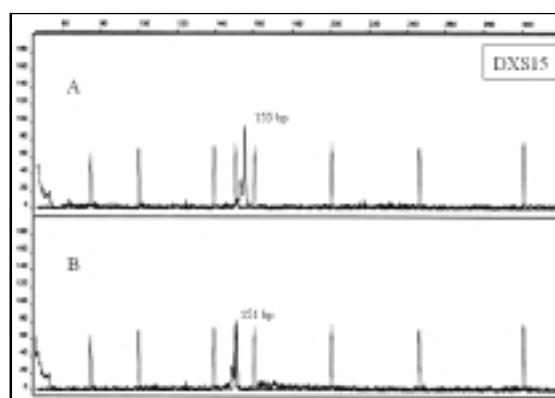
El STR DXS1684 de la porción distal de brazo largo de X evidenció un solo alelo en la propósito (137 bp) coincidente con el alelo paterno. (Figura 9)

El STR DXS15 también de la porción distal de brazo largo de X evidenció un solo alelo en la propósito (150 bp) no coincidente con el alelo paterno (155 bp). (Figura 10)

• Repeticiones CAG e inactivación del X

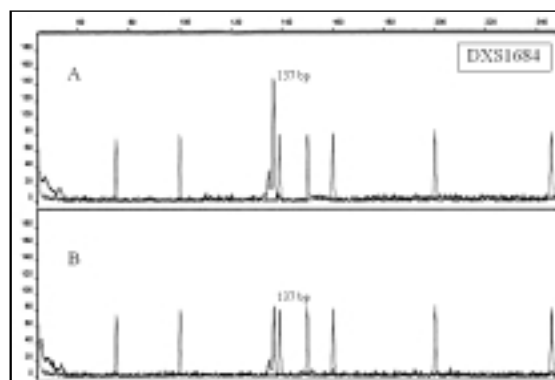
La amplificación del triplete CAG previo a la digestión enzimática en el padre evidenció un solo alelo de 197 bp, mientras que en la propósito evidenció dos alelos de 197 y 213 bp (Figura 11a). Posterior a la digestión no se observó ningún alelo inactivo en el padre, ya que el único X que posee es activo. En la propósito se evidenció un solo alelo correspondiente al alelo paterno de 197 bp. (Figura 11b)

Figura 9. Electroferograma de Xq (STR DXS15).



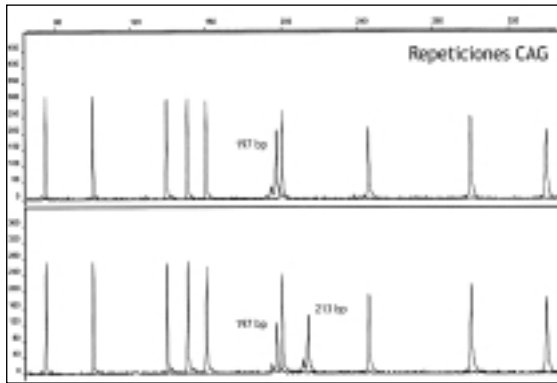
En el panel A correspondiente al padre se observa un solo pico azul de 155 bp. En el panel B correspondiente a la propósito se observa un solo pico azul de 151 bp no coincidente con el alelo paterno. Los picos de color naranja corresponden a un marcador de peso molecular.

Figura 10. Electroferograma de Xq (STR DXS1684).



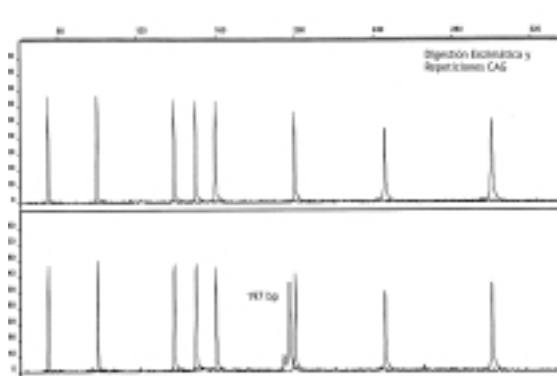
En el panel A correspondiente al padre se observa un solo pico azul de 137 bp. En el panel B correspondiente a la propósito se observa un solo pico azul de 137 bp coincidente con el alelo paterno. Los picos de color naranja corresponden a un marcador de peso molecular.

Figura 11a. Electroferograma de las repeticiones CAG del gen AR previo a la digestión enzimática.



En el panel A correspondiente al padre se observa un solo pico azul de 197 bp. En el panel B correspondiente a la propósito se observan dos picos azules de 197 y 213 bp, siendo el primero coincidente con el alelo paterno.

Figura 11b. Resultados para las repeticiones CAG luego de la digestión enzimática con *Hpa II*.



En el panel A correspondiente al padre no se observa ningún pico inactivo, concordando el resultado con el único X activo que posee el padre. En el panel B correspondiente a la propósito, a diferencia de la figura 11a, se observa un solo pico azul de 197 bp correspondiente al X que se encuentra inactivo en la propósito y es coincidente con el alelo paterno. Los picos de color naranja corresponden a un marcador de peso molecular.

• Estudio de paternidad

El estudio de paternidad evidenció coincidencia en uno de los alelos en todos los STRs analizados en el padre y en la propósito.

Discusión

La anomalía estructural de un cromosoma X con duplicación de la mayor parte del brazo corto pegado en el brazo largo distal-

mente deletado es un evento raro. En los pocos casos comunicados la talla alta fue el estigma físico sobresaliente.

En la parte distal del brazo corto de ambos cromosomas sexuales mapea el gen SHOX, el cual tiene implicancia en el desarrollo pondoestatural (Rao y col, 1997). Además, en la región distal del brazo largo del cromosoma X, en Xq28, se encuentran una serie de genes que tienen implicancia en el desarrollo ovárico (Pruett y col, 2000).

En este reporte presentamos una mujer con talla normal y falla ovárica prematura con una anomalía estructural del X que se interpretó como ocurrida de novo en la gametogénesis del padre. El estudio citogenético evidenció una deficiencia-duplicación parcial de ambos brazos de uno de los cromosomas X con duplicación de casi todo el brazo corto desde Xpter hasta Xp11.3 y deficiencia Xqter desde Xq27 hasta Xqter. El cariotipo del padre fue normal. El de la madre fallecida no fue posible. La duplicación parcial Xp fue corroborada por FISH con las sondas Kallmann y Tel Xp/Yp, indicando la triple dosis del PAR1-SHOX genes. A diferencia de los trabajos previos reportando talla alta por la triplicación del SHOX, la paciente tiene una talla normal correspondiente a la talla genética de los padres. Como la propósito tuvo desarrollo puberal espontáneo, la talla normal en nuestra paciente concordaría con la hipótesis de Ogata, en la que la triplicación del SHOX en ausencia de estrógenos sería la responsable de la talla alta (Ogata y col, 2000). Sin embargo, a pesar de tener un desarrollo sexual normal, la paciente previo a consultar por esterilidad relata ciclos irregulares primeramente y amenorrea secundaria posteriormente. Es conocido que para el desarrollo ovárico normal son necesarios dos cromosomas X normales. La paciente presenta una amenorrea secundaria de larga data y tiene un X estructuralmente anormal que implica duplicación de casi

todo el brazo corto con deficiencia de la porción distal del brazo largo.

Si bien la etiología del POF es compleja, la exclusión de desórdenes autoinmunes, radiaciones y quimioterapia en el presente caso favorece a la anomalía del X como la causante del trastorno. De hecho, la asociación de POF con anomalías del X ha sido comunicada varias veces (Schlessinger y col, 2002). Mientras que las trisomías parciales o completas del X no tienen tanta influencia con la fertilidad, las deficiencias completas o parciales sí la reducen y acortan la vida reproductiva, siendo la severidad del trastorno reproductivo proporcional al segmento deficiente de X, desde Xpter/Xqter hasta el centromero. Skibsted y col, en 1984 fueron los primeros en documentar que la región crítica para la función ovárica normal abarcaba desde Xq13 hasta Xq26-q28. Sobre esos hallazgos y otros posteriores se postularon dos *loci* para POF ligados al X: el POF1 localizado en Xq26-q28 y el POF2 en Xq13.3-q22 (Tharapel y col, 1993 y Powell y col, 1994). Marozzi y col, en el 2000 con el estudio de 6 portadoras de rearrreglos del X concluyeron que la zona POF1 abarcaba Xq26.2 hasta q28. Posteriormente Eggermann y col en el 2005 estrechan aún más la zona desde Xq27.2 hasta q28.

Siendo reconocida la asociación de Fra-X y POF, y además porque el estudio citogenético de la propósite involucraba dicha región, se analizaron las repeticiones CGG del gen FMR1. Dicho estudio evidenció un solo alelo en la propósite, el cual difería del alelo paterno. Este hallazgo, a pesar de no haber podido estudiar a la madre, nos permitió inferir que la anomalía estructural del X ocurrió durante la gametogénesis del padre, al igual que el caso comunicado por Ogata y col en el 2000. Esta inferencia fue sostenida por los resultados del estudio de 5 marcadores ligados al X: el X22 que mapea en Xq/Yq, DXS1684 y el DXS15 que ma-

pean en Xq28; y los marcadores DXS1068 Y DXS1055 que mapean en Xp11.3-p11.4.

De los marcadores de brazo corto usados, el DXS1055 evidenció dos alelos en la propósite, en la proporción 1:1; mientras que el DXS1068 dos alelos en la proporción 2:1, coincidiendo el que está en doble proporción con el alelo paterno; por lo tanto, estos hallazgos refuerzan la hipótesis del origen paterno del cromosoma X anormal y del punto de rotura en Xp11.3.

De los marcadores de brazo largo usados, el DXS15 mostró un solo alelo no coincidente con el paterno, por lo tanto, el alelo materno debe haber tenido 151 bp. Los marcadores DXS1684 y X22 evidenciaron un solo alelo en la propósite pero coincidente con el alelo paterno; probablemente la madre haya tenido los mismos alelos.

El estudio de inactivación del X en la propósite mostró un patrón netamente preferencial de inactivación, correspondiendo al X anómalo. Este hallazgo explicaría el fenotipo prácticamente normal presente en la paciente, concordando con lo ampliamente reconocido en la literatura respecto de la inactivación preferencial de los X estructuralmente anormales.

Conclusión

El presente caso contribuiría con un caso más de POF por deficiencia de la porción distal del brazo largo del X. Si bien el estudio de la pre-mutación del gen FMR1 es indicado por su asociación con POF, la documentación de la existencia de un solo alelo del triplete CGG, como en el presente caso, puede ser indicativo de delección Xqter en la región donde mapean los genes del POF1. Por otro lado, a los fines prácticos la evaluación genética de la falla ovárica con cariotipo aparentemente normal debería incluir el estudio de los alelos Fra-X y su comparación con los de los progenitores. El hallazgo de una premutación, la disminución significativa en el número de repeti-

ciones CGG o la ausencia completa del alelo Fra-X podrían ser los responsables del POF.

Referencias

- Comings DE**, Limon J, Ledochowski A, Tsou KC. Mechanisms of chromosome banding. XI. The ability of various acridine derivatives to cause Q-banding. *Exp Cell Res* 1978;117:451-455.
- Coulam CB**, Stringfellow S, Hoefnagel D. Evidence for a genetic factor in the etiology of premature ovarian failure. *Fertil Steril* 1983;40:693-695.
- Coulam CB**. Premature gonadal failure. *Fertil Steril* 1982;38:645-655.
- Davis CJ**, Davison RM, Payne NN, Rodeck CH, Conway GS. Female sex preponderance for idiopathic familial premature ovarian failure suggests an X chromosome defect: opinion. *Hum Reprod* 2000;15:2418-2422.
- Dutrillaux B**, Lejeune JA. New technic of analysis of the human karyotype. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* 1971;272:2638-2640.
- Eggermann T**, Meschede D, Schuler H, Palm S, Glaser D, Horsthemke B, Eggermann K, Haverkamp F, Zerres K. Premature ovarian failure associated with a small terminal Xq deletion: narrowing the POF1 region down to Xq27.2/Xq27.3-qter. *Clin Genet* 2005;67:434-437.
- Marozzi A**, Manfredini E, Tibiletti MG, Furlan D, Villa N, Vegetti W, Crosignani PG, Ginelli E, Meneveri R, Dalpra L. Molecular definition of Xq common-deleted region in patients affected by premature ovarian failure. *Hum Genet* 2000;107:304-311.
- Moorhead PS**, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613-616.
- Ogata T**, Kosho T, Wakui K, Fukushima Y, Yoshimoto M, Miharu N. Short stature homeobox-containing gene duplication on the der(X) chromosome in a female with 45,X/46,X, der(X), gonadal dysgenesis, and tall stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2927-2930.
- Powell CM**, Taggart RT, Drumheller TC, Wangsa D, Qian C, Nelson LM, White BJ. Molecular and cytogenetic studies of an X;autosome translocation in a patient with premature ovarian failure and review of the literature. *Am J Med Genet* 1994;52:19-26.
- Prueitt RL**, Ross JL, Zinn AR. Physical mapping of nine Xq translocation breakpoints and identification of XPNPEP2 as a premature ovarian failure candidate gene. *Cytogenet Cell Genet* 2000;89:44-50.
- Rao E**, Weiss B, Fukami M, Rump A, Niesler B, Mertz A, Muroya K, Binder G, Kirsch S, Winkelmann M, Nordsiek G, Heinrich U, Breuning MH, Ranke MB, Rosenthal A, Ogata T, Rappold GA. Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat Genet* 1997;16:54-63.
- Schlessinger D**, Herrera L, Crisponi L, Mumm S, Percesepe A, Pellegrini M, Pilia G, Forabosco A. Genes and translocations involved in POF. *Am J Med Genet* 2002;111:328-333.
- Skibsted L**, Westh H, Niebuhr E. X long-arm deletions. A review of non-mosaic cases studied with banding techniques. *Hum Genet* 1984;67:1-5.
- Tharapel AT**, Anderson KP, Simpson JL, Martens PR, Wilroy RS Jr, Llerena JC Jr, Schwartz CE. Deletion (X)(q26.1-->q28) in a proband and her mother: molecular characterization and phenotypic-karyotypic deductions. *Am J Hum Genet* 1993;52:463-471.