

# Limitaciones en el diagnóstico prenatal del mosaicismo XX/XY

Sofía Medrano, María Emilia Polo, Judith Mincman, Patricia García Stanga, María Eugenia Ducatelli, Irma Coco, Fernando Gismondi, Roberto Coco

Fecunditas Instituto de Medicina Reproductiva afiliado a la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.  
Reproducción 2008;23:171-178

## Resumen

Se comunica el estudio prenatal de un embarazo gemelar dicigótico-dicoriónico logrado con la transferencia de tres embriones originados *in vitro* mediante ICSI por la existencia de un factor masculino. Se extrajo 20 ml de cada uno de los lechos en la semana 16 del embarazo por edad materna avanzada. Ambos resultaron sanguinolentos. Se realizó estudio de aneuploidías por PCR-QF en directo y citogenético convencional en amniocitos cultivados. El estudio por PCR en ambos evidenció constitución masculina con contaminación materna. El estudio cromosómico resultó masculino normal en uno, mientras que el otro resultó en un mosaico XY/XX. Para descifrar el mosaico se utilizaron 14 marcadores ligados al X, 13 marcadores autosómicos y 3 marcadores ligados al HLA. De los ligados al X, 10 permitieron documentar la presencia del X materno, y 5 de ellos tenían el segundo alelo materno en menor proporción que el otro alelo. De los autosómicos, 8 permitieron documentar la presencia de uno de los alelos parentales y 7 de ellos tenían el segundo alelo materno en menor proporción. El mosaico XY/XX puede deberse a tres causas: 1) contaminación celular materna (sangre/decidua), 2) errores en el clivaje mitótico de una cigota XXY, y 3) fecundación tetragamética/trigamética o quimerismo de dos cigotas de diferente sexo. Si bien la biología molecular es una herramienta

diagnóstica, nos permitió descartar el quimerismo pero no el mosaico del pseudo-mosaico originado por contaminación con células maternas.

**Palabras claves:** QF-PCR, diagnóstico prenatal, mosaicismo XY/XY, quimera XY/XY, pseudo-mosaicismo XY/XX, embarazo gemelar, ICSI.

## Limitations in the prenatal diagnosis of XX/XY mosaicism

### Summary

We communicate the prenatal diagnosis of a twin dizygotic-dichorionic pregnancy obtained after the transference of three embryos originated *in vitro* by the ICSI procedure due to a male factor. The amniocentesis was performed in week 16 of the pregnancy, for advanced maternal age. Both fluids were bloody. Part of the amniotic liquid was analysed by QF-PCR for aneuploidies screening. The other part was cultivated for conventional chromosomal study. The QF-PCR evidenced a normal male screening with maternal contamination. The cytogenetic study showed a 46,XY karyotype in one of the fetus and a 46,XY/46,XX mosaicism in the other. In order to decipher the origin of the mosaic a molecular study using 14 STRs linked to X chromosome and 18 STRs linked to autosomic chromosomes was performed. From the analysis of the 14 STRs linked to X chromosome, 10 resulted informative and allowed us to conclude that all of them had an X chro-

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

*mosome of maternal origin, and five of them also had the second maternal allele in smaller proportion than the other one. From the analysis of the 18 STRs linked to autosomic chromosomes, eight of them were informative and allowed to us demonstrate the presence of one of the parental alleles, and in 7 of them the presence of the second maternal allele in smaller proportion than the other. Mosaic XY/XX can be originated by three main causes: 1) maternal cellular contamination (deciduas and/or blood), 2) mitotic post zygotic clivage errors from an abnormal XXY zygote, and 3) tetragametic/trigametic fertilisation or chimerism of two zygotes with different sexual constitution. Although molecular genetic study is an excellent diagnostic tool, the use of such technique was only useful to discard the chimerism, but not differentiate the true mosaic from the pseudo-mosaic originated by maternal cell contamination.*

**Key words:** QF-PCR, prenatal diagnosis, XX/XY mosaicism, XY/XX chimerism, XY/XX pseudo-mosaicism, twin pregnancy, ICSI.

## Introducción

Identificar el sexo del gestante es una inquietud de la mayoría de los padres durante la evaluación ecográfica por una cuestión social y más raramente por implicancias médicas. El mosaico XX/XY es la fórmula cromosómica clásica para identificar al hermafrodita verdadero. Aunque dicha constitución no es la más frecuentemente encontrada, alrededor del 15% de los pacientes con hermafroditismo tienen ese mosaico (Coco 1986, Sivanesan 1982, Freiberg y col 1998).

El hallazgo de un mosaico XX/XY, como también otros tipos de mosaicos, en el diagnóstico prenatal es un problema que merece y debe resolverse casi inmediatamente, pero no siempre es posible (Worton & Stern, 1984). Sin embargo, las probables reflexiones sobre el fenotipo del gestante deberían informarse a los padres para que ellos pue-

dan entender y decidir en consecuencia.

La incidencia de este tipo de mosaico es bajo, alrededor del 0.25% de los diagnósticos prenatales.

La coexistencia de las dos líneas celulares puede deberse a tres razones:

1. Contaminación celular materna (sangre /decidua).
2. Por errores en el clivaje mitótico de una cigota XXY.
3. Por fecundación tetragamética/trigamética o quimerismo de dos cigotas diferentes XX y XY.

Si bien la mayoría de las veces en las gestas concebidas *in vivo* la presencia de la línea celular XX en un producto XY proviene de contaminación materna, cuando el embarazo es conseguido por fecundación *in vitro* con técnicas de reproducción asistida, y si además la ecografía evidencia ambigüedad en los genitales, el mosaico o la quimera podría ser la razón de las dos líneas celulares (Bonthron DT 2004).

Se comunica el estudio prenatal en líquido amniótico de un embarazo gemelar dicigótico-dicoriónico, conseguido a través de la transferencia de tres embriones obtenidos *in vitro* mediante la técnica de reproducción asistida ICSI, por la existencia de un factor masculino.

## Comunicación del caso

La pareja accedió a la amniocentesis por edad materna avanzada sin presentar antecedentes familiares de relevancia. El embarazo gemelar dicigótico-dicoriónico es el producto del primer embarazo logrado por la pareja con un tratamiento ICSI por factor masculino.

La primera evaluación ecográfica a la sexta semana y las posteriores siempre evidenciaron dos sacos gestacionales y sin signos de alarma en ninguno de los dos fetos. La ecografía previa a la amniocentesis a las 16 semanas evidenció que ambos fetos tenían una edad gestacional de 16.1 semanas  $\pm$  1

semana, con actividad cardiaca y cinética fetal presente; líquido amniótico en cantidad adecuada en ambos sacos, placenta anterior, y posterior, bicorial, biamniótica. En los dos fetos se pudo constatar la existencia de genitales masculinos. Se realizó la amniocentesis transabdominalmente y se obtuvieron 20 ml de cada uno de los lechos. La placenta correspondiente al feto rotulado como 1º era posterior, mientras que la del feto rotulado como 2º era anterior.

Ambos líquidos estaban contaminados con sangre. Una parte del líquido amniótico se procesó directamente para la determinación de las aneuploidías en forma ultrarrápida por PCR fluorescente y la otra parte se cultivó por duplicado en frascos para el estudio cromosómico convencional.

### Métodos

El cariotipado de los fetos se realizó de acuerdo con el procedimiento estándar del cultivo de amniocitos en frascos por duplicado. Se analizaron 22 metafases en ambos fetos.

Se extrajo ADN del *pellet* celular de cada uno de los líquidos amnióticos, de los fibroblastos de los amniocitos cultivados en el segundo frasco y en los glóbulos blancos de sangre periférica de la pareja.

En el ADN del *pellet* celular de los líquidos sin cultivo se realizó el análisis de 13 marcadores polimórficos y se comparó con el ADN de los progenitores. Los marcadores correspondieron a los cromosomas autosómicos: 2, 3, 4, 5, 7, 8, 11, 12, 13, 15, 16, 18 y 21. El sexo se analizó con el gen de la amelogenina.

El ADN extraído de las colonias de los amniocitos cultivados fue analizado con los mismos marcadores, además de tres marcadores ligados a HLA (6p) y 14 ligados al cromosoma X.

Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: 95°C por 5 min, 95°C por 30 seg, 55°C por 30 seg, y 72°C por 30 seg por 30 ciclos. Los resultados de los ampli-

cones fueron analizados usando el *software* del *genescan* y *genotyper* del ABI *prism 310*® (*Applied Biosystems*).

### Resultados

1. El estudio de las aneuploidías por PCR en ambos líquidos sin cultivo evidenció a los dos alelos maternos, uno en menor proporción, y a un alelo paterno. El gen de la amelogenina evidenció dos señales. Por lo tanto, se interpretó como fetos masculinos euploides para los cromosomas estudiados contaminados con sangre materna más que la hipótesis de dos fetos triploides.
2. El estudio citogenético evidenció que el feto 1º tenía una constitución homogénea 46, XY (22), mientras que el feto 2º tenía una línea celular 46, XY (13) y otra línea 46, XX (9) en proporciones similares.
3. Los resultados del análisis genético del ADN extraído de las células despegadas de las colonias de los amniocitos cultivados figuran detallados en las Tablas I y II.

**Tabla 1.** STRs ligados al cromosoma X.

Nº	STRs	Madre	Padre	Feto
1	DXS1055 (q11.3 - 11.29)	107	109	111 106 107*
2	DXS1068 (q21.1 - 11.4)	138	138	138 138
3	DXS5456 (q21-22)	116	116	124 116
4	DXS178 (q21.33 - 22)	185	187	189 187 185*
5	DXS5571 (q21-22)	129	143	129 143 129*
6	DXS1191 (q22)	240	244	238 240 244*
7	DXS1120 (q22.2 - 22.3)	149	161	161 161 149*
8	(CAG)n Xq12 - 13	225	225	231 225
9	Frn-V (CGG)n Xq28	304	307	274 307 304*
10	DXS1205 Xq28	183	183	183 183
11	DXS15 Xq28	155	161	155 161 155*
12	DXS1684 Xq28	137	137	137 137
13	DXS8069 Xq27	169	169	166 169
14	DXS8091 Xq27.2	87	102	102 87 102*

De los 14 STRs ligados al X, seis resultaron informativos (los remarcados con cuadrícula), evidenciando el feto solo los alelos correspondientes a la madre y uno de ellos (señalado con el asterisco) en menor proporción.

**Tabla 2.** Marcadores polimórficos de diferentes autosomas y ligados al HLA.

Nº	STRs	Madre		Padre		Feto	
1	TPOLX (2p21-p24)	265	281	270	270	281	270
2	D8S1179 (8p)	122	122	122	122	122	122*
3	FIGA (4q28)	340	348	340	353	340	340*
4	D22S919 (8q23.3 - 32)	128	128	120	127	128	127
5	D2F2PO (5q23.3 - 34)	332	336	336	341	336	336*
6	HLA D (6p)	157	230	279	279	157	279
7	HLA D1 (6p)	187	195	178	193	187	178
8	HLA D5 (6p)	126	130	126	130	126	130*
9	D7S820 (7q21.21 - 22)	215	219	231	231	219	231
10	D8S1179 (8q)	226	234	218	226	226	234*
11	TH01 (1p35.5)	160	160	160	175	160	160*
12	WW4 (12p14)	150	150	158	150	150	150*
13	D13S317 (13q22 - 31)	190	190	175	198	190	198
14	PENTA E (15q)	406	416	416	436	406	406
15	D16S539 (16q24-q27)	277	281	285	289	281	289
16	D18S81 (18q21.3)	299	313	307	307	313	307
17	D21S11 (21q21-q22)	218	226	214	218	218	226*
18	PENTA D (21q)	399	404	408	421	399	404*

De los 18 STRs autosómicos, ocho resultaron informativos (los remarcados con cuadrícula), evidenciando el feto un alelo de cada progenitor en las mismas proporciones, más el otro alelo materno en menor proporción (los marcados con asteriscos).

## Discusión

Si bien en la actualidad las técnicas de biología molecular brindan una nueva herramienta diagnóstica, su aplicación en el mosaico XY/XX permite aseverar o descartar si la fecundación es trigamética o tetragamética (quimeras), pero no permite diferenciar el mosaico originado por errores mitóticos a partir de una cigota XXY del pseudo mosaico debido a contaminación por células maternas (Farber y col, 1989).

En el presente caso la hipótesis de que el mosaico XX/XY fuera debido a quimerismo queda descartado por dos motivos: 1) porque se realizó procedimiento ICSI en el que se inyecta un solo espermatozoide en el ovocito y no en el cuerpo polar, por lo tanto, la hipótesis de la fecundación del ovocito y primer cuerpo polar por dos espermatozoides con diferentes cromosomas sexuales (quimera tetragamética) se excluye, como así también la posibilidad de fecundación del segundo cuerpo polar por otro es-

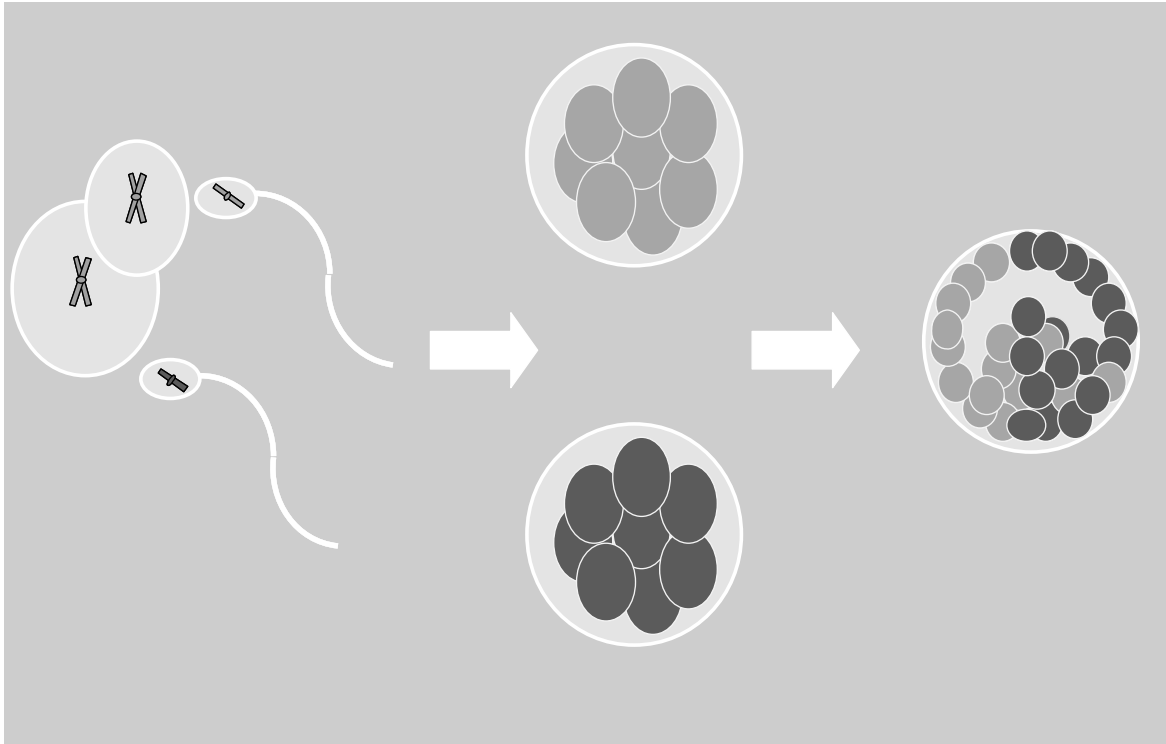
permatozoide con diferente cromosoma sexual (quimera trigamética); y 2) porque el estudio de los marcadores solo evidenció uno de los alelos de cada progenitor. Si bien la transferencia de tres embriones hubiese favorecido la amalgamación de huevos fecundados distintos (quimera primaria), la inexistencia de más de un alelo de los progenitores en el feto descarta también esta posibilidad.

La hipótesis del quimerismo secundario por anastomosis vascular placentaria de dos fetos implantados diferentes (Phelan MC y col, 1998) también queda descartada, ya que los dos fetos resultaron del mismo sexo (Esquemas 1, 2, 3 y 4).

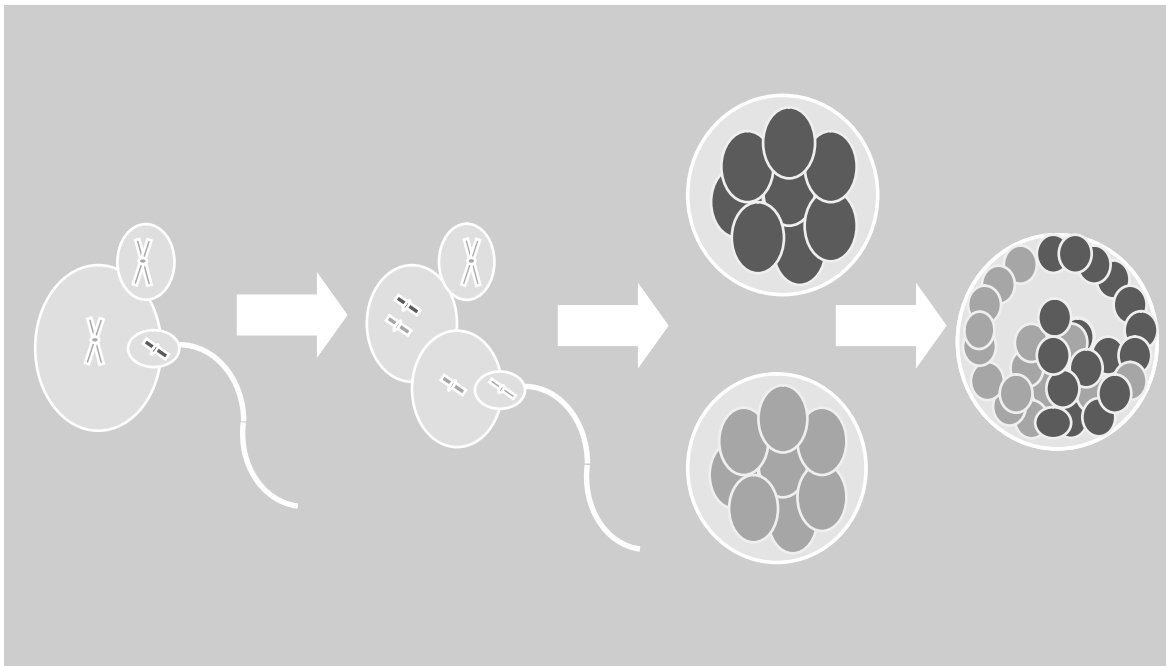
Los resultados de los marcadores en el feto 2° sí pueden concordar con la hipótesis del mosaico originado a partir de un error en el primer clivaje de una cigota anormal XXY (Esquemas 5 y 6). Pero los efectos de una contaminación celular materna también muestran los mismos resultados. Como su nombre lo indica, si fuera por contaminación se trataría de un feto con constitución masculina normal, pero si fuera un mosaico verdadero, el fenotipo podría corresponder al de un varón o al de una mujer con genitales normales o ambiguos.

La imposibilidad de diferenciar el mosaico de la contaminación materna desde el punto de vista del laboratorio, y por ende el no poder predecir acerca de la ambigüedad de los genitales, nos obliga a no olvidar las normativas aconsejadas para la toma de material para los diagnósticos prenatales (*Guidelines for handling amniotic fluid and chorionic villus material*, 2005) y a siempre antes de la cosecha de los cultivos, analizar los tipos de colonias para descartar la existencia de colonias de explantos de tejido de probable origen materno aunque el líquido no haya sido sanguinolento. En el presente caso ambos líquidos eran sanguinolentos y ambos frascos de cultivo de amniocitos correspondientes al feto 2° evidenciaban zonas con colonias de probable origen materno. Este hecho, sumado a que la ecografía

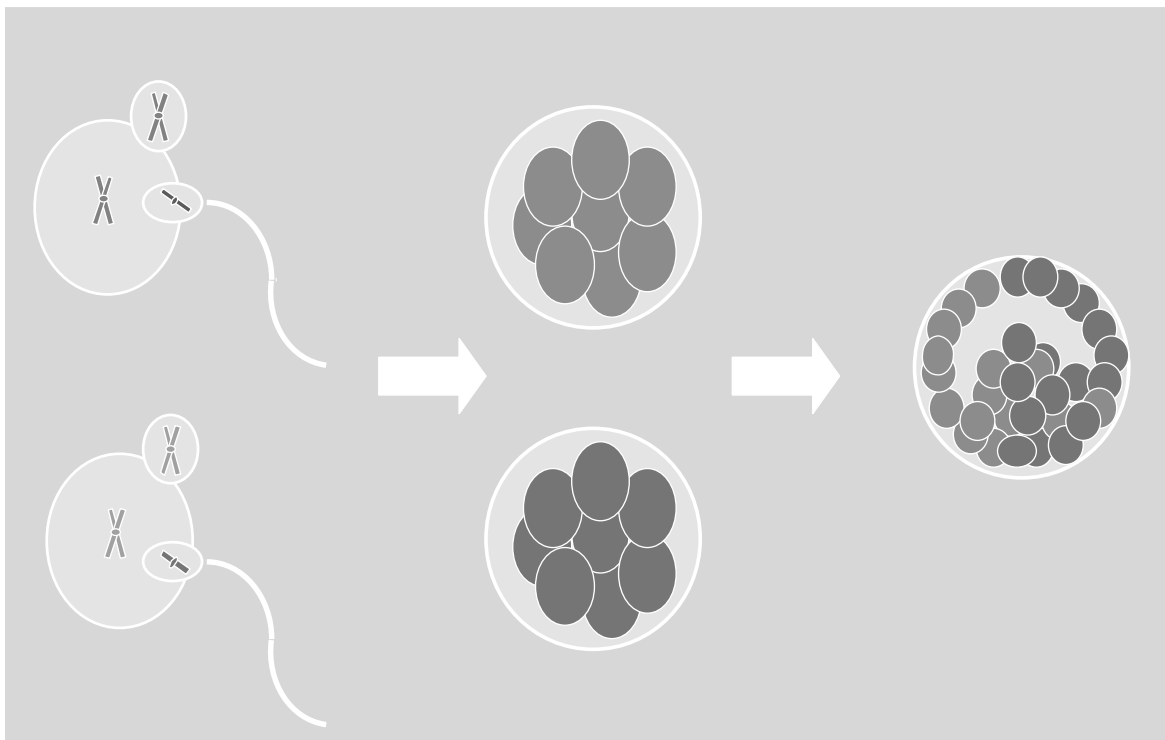
**Esquema 1. Fecundación tetragamética:** el ovocito y el cuerpo polar son fecundados por dos espermatozoides de diferente sexo.



**Esquema 2. Fecundación trigamética:** el ovocito es fecundado por un espermatozoide de un determinado sexo y el segundo cuerpo polar es fecundado por otro espermatozoide de sexo contrario.



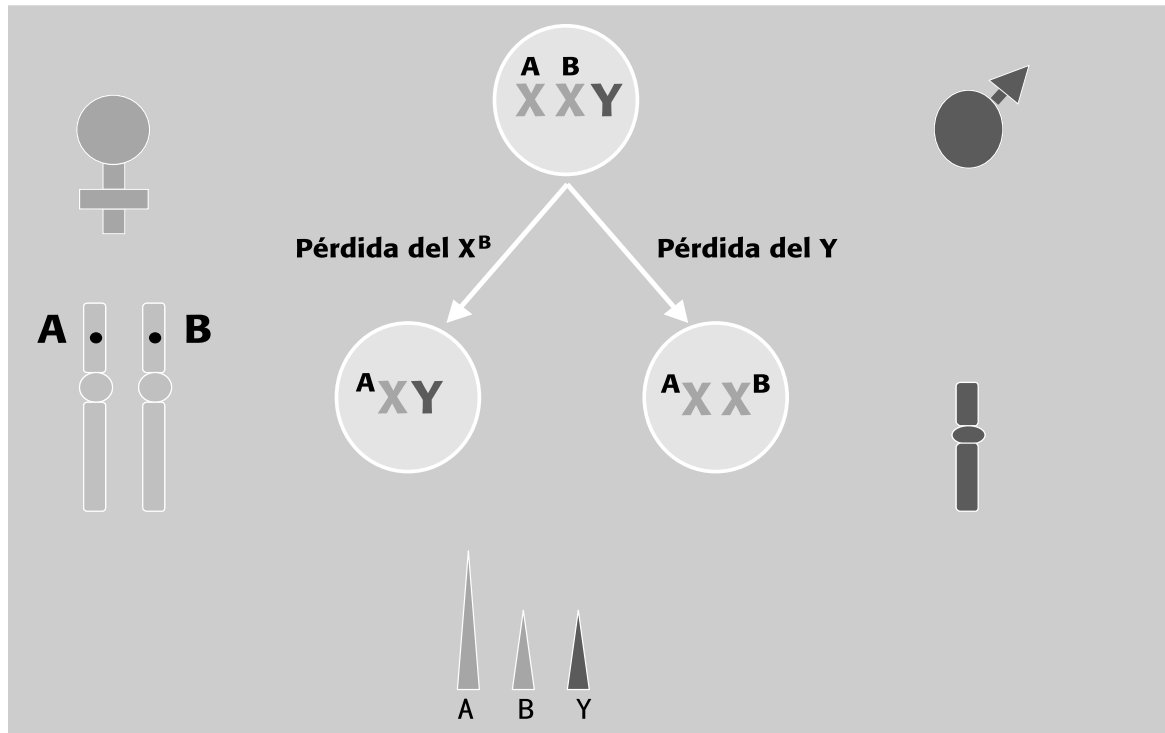
**Esquema 3. Fusión de dos cigotas:** fusión de dos ovocitos fecundados por dos espermatozoides de diferente sexo.



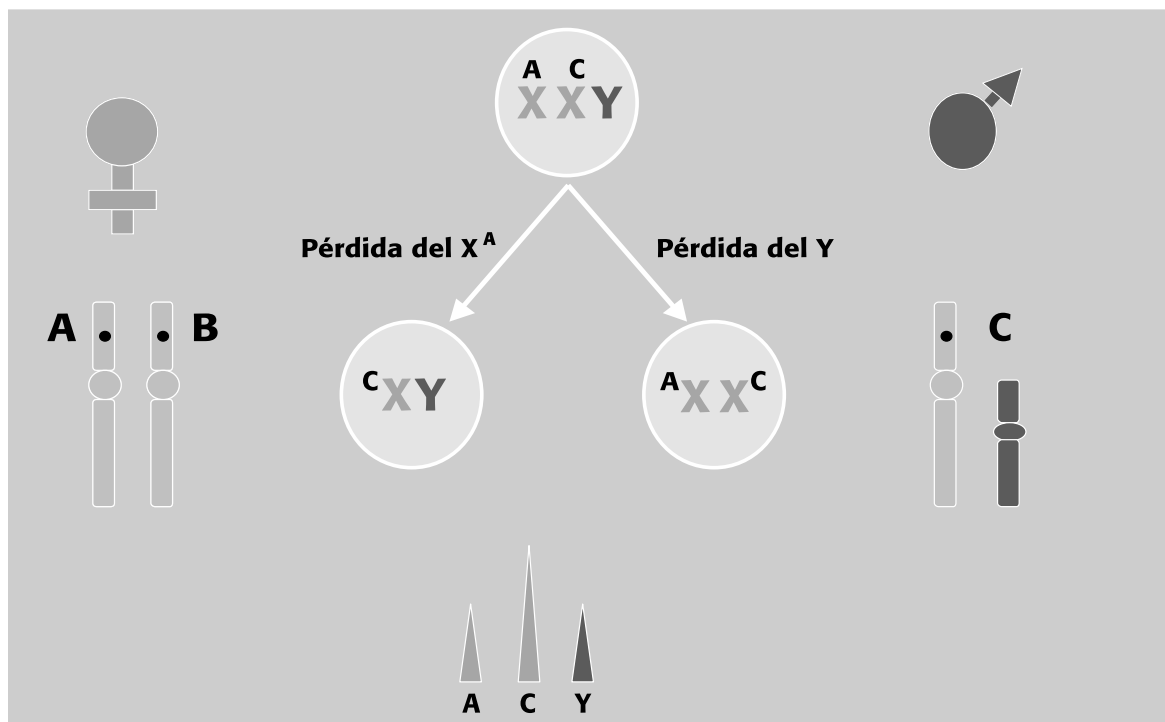
**Esquema 4. Anastomosis vascular placentaria:** intercambio de células entre dos fetos de diferente sexo.



**Esquema 5. Mosaico por error meiótico materno seguido de errores mitóticos:** origen de una cigota anormal XXY por error meiótico materno seguido de pérdida de un cromosoma X y de un cromosoma Y en el primer clivaje mitótico.



**Esquema 6. Mosaico por error meiótico paterno seguido de errores mitóticos:** origen de una cigota anormal XXY por error meiótico paterno seguido de pérdida de un cromosoma X y de un cromosoma Y en el primer clivaje mitótico.



evidenció dos fetos de sexo masculino sin signos de alarma, muestra que la hipótesis más económica en eventos para el origen del mosaico XX/XY es una contaminación materna, más que a una serie de errores meióticos y mitóticos. La pareja fue informada de las limitaciones en las implicancias del diagnóstico del mosaico XX/XY y que la casuística sobre el mosaico XX/XY señala que la mayoría son por contaminación materna.

#### Referencias

- Bonthron DT. XX/XY chimaerism after IVF. Prenat Diagn 2004;24(7):578.
- Cocco R. Disgenesias Gonadales en Fisiopatología de la Pubertad. Editores C Bergadá y MA Rivarola. Editorial Ergon, Buenos Aires 1986. p137-161.
- Farber CM, Georges M, De Boeck G, Verhest A, Simon P, Verschraegen-Spaec M, Vassart G. Demosntration of spontaneous XX/XY chimerism by DNA fingerprinting. Hum Genet 1989;82(2):197-198.
- Freiberg AS, Blumberg B, Lawce H, Mann J. XX/XY chimerism encountered during prenatal diagnosis. Pren Diagn 1998;8(6):423-426.
- Phelan MC, Geer JS, Blackburn WR. Vacular anastomoses leading to amelia and lentis aplasia in a dizygotic twin pregnancy. Clin Genet 1998;53(2):126-130.
- Sivanesan S: The true hermaphroditism with XX/XY mosaicism. J Singapore Pediatr Soc 1982;24(3-4):159-163.
- Sikkema-Raddatz, Birgit. Quality assesment of prenatal cytogenetic diagnosis: some guidelines for handling amniotic fluid and chorionic villus material. Tesis de Doctorado, Universidad de Groningen, Holanda. Febrero de 2005. Apoyo financiero de Cambrex Bio Science. Pag. 1-150 Impresión: Ponsen & Looyen BV, Wageningen. ISBN: 90-367-2206-3.
- Worton RG, Stern R: A Canadian collaborative study of mosaicism in amniotic fluid cell cultures. Pren Diagn 1984;4:131-144.



**HALITUS**  
INSTITUTO MÉDICO  
*"En el Inicio de la vida y después..."*  
Dir. Méd. Dr. R. Sergio Páqualini

**» DEPARTAMENTOS MEDICOS**  
GINECOLOGÍA | OBSTETRICIA | ESTERILIDAD Y TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA | LABORATORIO ESPECIALIZADO EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA  
DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE PREIMPLANTACIÓN - DGP | HEMATOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN | PATOLOGÍA MAMARIA  
PATOLOGÍA CERVICAL | GINECOLOGÍA INFANTIL/JUVENIL Y PROCREACIÓN RESPONSABLE | UROGINECOLOGÍA | ENDOSCOPIA GINECOLÓGICA  
DISFUNCIÓNES SEXUALES FEMENINAS | DISFUNCIÓNES SEXUALES MASCULINAS | ANDROLOGÍA | UROLOGÍA | GENÉTICA | NUTRICIÓN  
EMBUZACIÓN Y TERAPIA ENDOVASCULAR | PSICOLOGÍA | ECOGRAFÍA, ECO-DOPPLER Y ECOGRAFÍA 4D  
CLIMATERIO, MENOPAUSIA Y OSTIOPOROSIS | DERMATOLOGÍA Y ESTÉTICA

| WWW.HALITUS.COM | 5273-2000 CONTACT CENTER | MARCELO T. DE ALVEAR 2084 - CP1122 - BS AS - ARGENTINA |