



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**FRECUENCIA DE LAS ABERRACIONES
CROMOSOMICAS EN UNA POBLACION DE
PACIENTES ATENDIDOS EN LA UNIDAD DE
GENETICA CLINICA DEL HOSPITAL INFANTIL
DE MEXICO "FEDERICO GOMEZ"**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MARIO MONDRAGON ROBLES

MEXICO, D. F.

ENERO, 1985



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice.	Página.
I. Introducción.	1
II. Antecedentes históricos.	3
III. Alteraciones cromosómicas.	10
1.- Alteraciones numéricas.	10
1.1 Euploidias	
1.2 Aneuploidias	
1.2.1 No-disyunción	
1.2.2 Retraso anafásico	
2.- Alteraciones estructurales.	12
2.1 Deleciones o Supresiones	
2.2 Duplicación	
2.3 Inversión	
2.4 Translocación	
2.5 Cambio de posición	
2.6 Inserciones	
2.7 Anillos	
2.8 Isocromosomas	
IV. Identificación y clasificación de los cromosomas humanos.	18
1.- Clasificación en grupos.	19
2.- Parámetros para la clasificación individual.	20
2.1 Patrones de enrollamiento	
2.2 Constricciones secundarias	
2.3 Satélites	
V. Demostración de patrones a lo largo de los cromosomas.	22
1.- Autorradiografía.	23
2.- Técnicas de bandeado.	24
2.1 Bandas-Q	
2.2 Bandas-G	
2.3 Bandas-R	
2.4 Bandas-T	
2.5 Bandas-C	
2.6 Bandas-F	
2.7 Bandas-N	
3.- Significado de las bandas.	27
4.- Mecanismo de tinción en el bandeado.	29
5.- Técnicas de alta resolución.	33
VI. Nomenclatura.	35
1.- Conferencia de París.	35
2.- Cambios recomendados en la nomenclatura de la conferencia de París.	37
3.- Designación de anomalías cromosómicas estructurales por puntos de rompimiento y por composición de bandas.	38
3.1 Sistema corto	

	Página.
3.2 Sistema detallado	
VII. Material y método.	43
1.- Pacientes en los que se realizó el estudio citogenético.	45
VIII. Cultivo de linfocitos.	45
1.- Técnica de cultivo a corto plazo.	45
2.- Técnica de microcultivo.	45
2.1 Cultivo de linfocitos	
2.2 Cosecha de linfocitos	
2.2.1 Acumulación de mitosis	
2.2.2 Tratamiento hipotónico y fijación	
2.2.3 Separación	
3.- Tinción de las laminillas	48
3.1 Tinción homogénea	
3.2 Bandas-G	
IX. Criterios para la clasificación de los resultados del análisis citogenético.	50
X. Resultados.	52
XI. Discusión.	69
XII. Conclusiones.	95
XIII. Bibliografía.	97.

I. INTRODUCCION.

En los países avanzados ha ocurrido una disminución espectacular en la mortalidad de la población durante el último siglo, a lo cual ha contribuido en gran parte el saneamiento ambiental apropiado, aporte de agua, nutrición mejorada, y la introducción de la quimioterapia.

Como consecuencia del control de enfermedades infecciosas y parasitarias como tuberculosis, fiebre amarilla, peste bubónica, etc, se han hecho más evidentes otros padecimientos como son los defectos de nacimiento. Ante este hecho, una cuestión importante, es la de explicar cuáles son las posibles causas que originaron dichos defectos de nacimiento. Esta incógnita se ha ido aclarando mediante la investigación y aplicación de los conocimientos de la Genética, la cual la podemos definir como la ciencia que trata de explicar la forma en que las características anatómicas, fisiológicas y patológicas son transmitidas de una a otra generación; cómo se conservan las similitudes y cómo surgen las diferencias (48). En la actualidad se han identificado 3368 alteraciones genéticas cuyo tipo de herencia sigue un patrón Mendeliano (56). y se espera que en los próximos años este número sea rebasado en forma sorprendente, como se ha hecho desde 1959 a la fecha.

En 1959, Tjio y Leván (89) demostraron que la especie humana tiene 46 cromosomas; la verdadera importancia de este hallazgo, no estuvo tan sólo en el hecho de haber dado una "cifra" más en biología, sino en que pudieron probar que los cromosomas humanos se podían contar con un método que como se vió tres años más tarde permitía detectar alteraciones numéricas y estructurales de los mismos (35). Desde entonces muchos síndromes cromosómicos han sido descritos y las técnicas de citogenética se han perfeccionado.

A la fecha solamente se conocen de 30 a 35 % de las causas de las malformaciones congénitas; el 25 % de éstas son debidas a alteraciones genéticas, y el 10 % restante a factores ambientales. Dentro del amplio porcentaje (65 %) en que se ignoran las causas, deben existir fundamentalmente factores poligénicos y ambientales (33).

Las alteraciones cromosómicas o cromosopatías, constituyen has-

ta ahora el 5 % del 25 % de las malformaciones congénitas debidas a causa genética (34). El diagnóstico exacto de una alteración cromosómica no es simplemente de interés académico o unicamente un instrumento para pronosticar el curso de la condición de los pacientes, sino que además permite predecir el riesgo de recurrencia y con ello orientar a las parejas y al núcleo familiar sobre la posibilidad de que el defecto de nacimiento en cuestión, pueda volver a repetirse en futuros embarazos, lo cual toma gran relevancia por sus implicaciones bio-psico-sociales (45).

II. Antecedentes Históricos.

Como los límites de las ciencias se vuelven imprecisos a medida que éstas progresan y la genética no es una excepción, a principios del presente siglo surge la citogenética por convergencia de dos disciplinas; la genética y la citología.

Como es de interés conocer los hechos que condicionan el surgimiento de una ciencia, se hará una breve remembranza de los hechos históricos más importantes de la citogenética, teniendo en mente dos objetivos; el primero dar un marco de referencia temporal dentro del cual el desarrollo de la citogenética humana pueda ser situado, y el segundo para mostrar brevemente como el desarrollo de la citogenética ha dependido de diferentes avances técnicos.

El inicio histórico del estudio de los cromosomas humanos es paralelo al desarrollo de la citología en general. El primer gran paso que condujo al surgimiento de la citología fué dado en el siglo XVII cuando Antonio Van Leeuwenhoek comunicó sus hallazgos hechos a través de microscopios contruídos por él. Posteriormente en 1665 Robert Hooke (65) introdujó el término de "célula" para referirse al aspecto morfológico de las unidades que constituían el tejido vegetal (corcho) estudiado. Pronto se reconoció a las células como las unidades elementales de la materia viva tanto desde el punto de vista estructural como desde el funcional. En 1831 el biólogo inglés Robert Brown (65) estableció que el componente fundamental y constante de la célula es el núcleo, y en 1839 Purkinje acuñó el término protoplasma para designar la sustancia de la que están formadas las células. En éste mismo año el botánico Schleiden y el zoólogo Schwann postularon la Teoría Celular la cual afirma que todos los organismos independientemente de su grado evolutivo están formados por una o más células. La división celular fué descrita por primera vez en 1855 por Virchow y bajo su aforismo "omnis cellula e cellula" indicaba que todas las células provengan de otras células.

Los principios básicos de la herencia fueron descritos por Gregorio Mendel en 1865 en su trabajo titulado "Experimentos en hibridación de

de plantas" (citado por Engel E.). En 1946 Séquin describió un tipo de retraso mental bajo el término de "idiocia furfuracea". Hoy se considera que esta descripción correspondió a las características fenotípicas descritas en 1865 por Langdon Down (95) y cuya etiología se conocería un siglo más tarde.

En 1871 un químico suizo, Friedrich Miescher aisla el DNA de los leucocitos de pus y de espermatozoides de salmón. De sus análisis concluyó que el núcleo de estas células contenía una sustancia no identificada a la que llamó "nucleína". Debido a sus propiedades ácidas, en 1899 Altmann la llamó "ácido nucleico" (73). En 1875 Strasburger describe la división celular en vegetales, mientras que Walter Flemming lo hace para las células animales, quien además introdujo el término de "mitosis" y "cromatina". En 1887 Weismann al estudiar la división en las células sexuales de insectos descubrió un proceso de división en el que se producía una reducción del número cromosómico, a dicho mecanismo lo llamó "meiosis". Un año después, en 1888 Waldeyer quien hacía algunos años (1863) había introducido el uso de algunos tintes como la hematoxilina, en los estudios microscópicos, acuña el término "cromosoma". En 1900 el trabajo de Mender es redescubierto simultáneamente por 3 botánicos; un holandés, Hugo de Vries; un alemán, Carl Correns; y un austríaco Erich vonTschermak (citado por Gardner E.J.).

En el año de 1905 el inglés Willian Bateson dió el nombre de Genética a la ciencia que trataba sobre la herencia, termino que derivó del Griego y que significa "engendrar" (28), inmediatamente surgieron otros terminos como "haploide" y "diploide" (Strasbur,1907), y "genotipo" y "fenotipo" (Johansen,1908).

Como consecuencia del descubrimiento de los cromosomas y su segregación en la meiosis, el significado de los principios de Mendel se hicieron aparentes, y así en 1902 Walter S. Sutton señaló la relación entre la generación de las células germinales y las conclusiones obtenidas por Mendel. El alto grado de organización en el complemento cromosómico de las células germinales le pareció a Sutton que tenía significado por las siguientes razones; a) el juego cromosómico de las células

germinale presinápticas estaba hecho de dos series equivalentes; una de cada progenitor; b) este proceso de sinapsis consistía en la unión de los pares de cromosomas homólogos; y c) como resultado de la doble división, había una separación y reducción del número cromosómico. Estos hechos observables físicamente -un par de cromosomas, uno proveniente de cada progenitor- condujeron a Sutton a concluir que cada cromosoma agrupa a un conjunto de genes. Este concepto de que los cromosomas son un sistema de genes unidos (Teoría cromosómica) fué experimentalmente verificado y el crédito de este descubrimiento pertenece a Thomas Hunt Morgan quien trabajó con la mosca de fruta Drosophyla melanogaster (24).

La interrogante acerca de que factores determinan el sexo, no fué contestada antes del advenimiento de la genética Mendeliana y el desarrollo de la teoría cromosómica. La primera evidencia observable de un cromosoma sexual, data del año de 1881 cuando Henking, estudió el desarrollo de los espermatozoides de un insecto y observó, durante la meiosis, que un cromosoma no dividido teñido fuertemente se desplazaba a una de las células hijas. Así dos tipos de espermatozoides se formaron, aquellos con y sin este elemento, llamado "X" en su reporte. Luego en 1905 Stevens demostró que en los gusanos de harina, en los cuales ambos sexos poseen un número uniforme de cromosomas, el complemento de los machos incluye un cromosoma pequeño; mientras que todos los cromosomas de las hembras son de un tamaño aproximadamente igual, de estas observaciones él concluyó que un huevo fertilizado por un espermatozoide portador de un cromosoma pequeño debía producir un macho. Al cromosoma análogo al pequeño se le empezó a llamar de diferentes formas; cromosoma especial, cromosoma non o impar, heterocromosoma, alosoma, monosoma, idiosoma, cromatina nucleolar, y finalmente Wilson el 1909 lo llamó cromosoma X, cuya presencia confería un genotipo femenino. Wilson llamó al cromosoma análogo más pequeño que no estaba presente en las hembras y que era el determinante masculino; cromosoma Y (24).

Mientras la mayoría de los investigadores que estudiaban la espermatogénesis de los mamíferos describían el complemento cromosómico se-

xual de los machos como del tipo x_0 , Painter en 1921 señaló que el sistema XY era más común de lo que inicialmente se había pensado, especialmente para la zarigüella y el hombre donde había hecho sus estudios. Posteriormente él mismo confirmó que el número diploide de los cromosomas del hombre era de entre 45 a 48, pero si se tomaba en cuenta que el tipo de cromosomas sexuales era XY, entonces uno podía esperar un número que sería de 46 o 48.

Desde que los cromosomas fueron reconocidos como estructuras significativas se empezaron hacer intentos por contar el número cromosómico en el hombre. Flemming en el año de 1882 había contado de 20 a 28 cromosomas en las células normales de córnea humana (37).

En 1921 Belling describió una técnica de squash para células vegetales, la cual se aplicó al estudio de los cromosomas de tumores humanos (1927).

Poco después de la publicación inicial de Painter, éste se convenció, en 1923, que el número cromosómico de las células somáticas del hombre era de 48, imagen que se estableció y permaneció esencialmente sin cuestionar por más de 30 años.

Durante los años de 1920 no sólo fueron estudiados los primeros cromosomas humanos con el uso de métodos de squash, sino también con métodos de cultivo mejorados. En 1920 Timofejewsky introdujo los cultivos de leucocitos humanos, especialmente para proveer una fuente de cromosomas mitóticos. Una serie notable de contribuciones al estudio de los cromosomas humanos fué hecha durante los años de 1930 por investigadores rusos. Entre éstas se incluyen las siguientes; el desarrollo original de cultivos de leucocitos sanguíneos con el propósito del análisis del cariotipo; el estudio de las células leucémicas en cultivo; el efecto de soluciones hipotónicas en las células mitóticas; observaciones de los cromosomas en la oogénesis; un análisis morfológico de los 10 pares de autosomas más grandes y el estudio de los cromosomas en tumores primarios y con metástasis. Estos trabajos fueron poco conocidos y como se ha argumentado, estos investigadores estuvieron al margen de los descubrimientos que no ocurrieron sino décadas después. Este grupo de investigadores suspendieron sus publicaciones

por circunstancias políticas.

Un trabajo orientado citogenéticamente realizado en Cold Spring Harbor a mediados de 1930, despertó el interés en la colchicina, ampliamente usada como inhibidor mitótico.

El término de Citogenética fué introducido por H.J. Muller en 1927 para designar el estudio de los fenómenos influenciados por los factores genéticos y directamente observables a nivel celular.

La aceptación del DNA como el material de la herencia fué demostrada experimentalmente en 1944 por O.T. Avery y cols. Ellos demostraron que la transmisión de caracteres pueden ser alterados en un organismo cuando se le transfiere DNA de un organismo relacionado pero distinto fenotípicamente, en sus experimentos transformaron pneumococos sin cápsula y no patógenos en pneumococos con cápsula y patógenos al tratarlos con DNA extraído de organismos muertos que tenían las propiedades adquiridas.

En 1949 el Dr. Murray Barr y su colaborador Bertrand, estudiando las neuronas del gato, observaron en el núcleo interfásico de las hembras, la existencia de una pequeña masa de cromatina que se teñía intensamente, en la actualidad se le conoce como corpúsculo de Barr, y su comportamiento fue delineado por Lyon en 1962 bajo la hipótesis que lleva su nombre.

Hasta principios de la década de los años de 1950 el estudio de los cromosomas de las células humanas había sido desalentador e impreciso. A causa de que los cromosomas estaban entrelazados en el núcleo era difícil contarlos y virtualmente imposible estudiarlos en detalle.

Para el año de 1953 F. Crick y J. Watson publican un modelo de la estructura y función de la molécula de DNA (93).

En 1952 el Dr. T.C. Hsu redescubrió el efecto de las soluciones hipotónicas en las células metafásicas, y en 1956 la importancia de este hecho fue puesto en evidencia por dos investigadores, el Dr. Joe Hin Tjio y el Dr. Albert Levan, quienes llevaron a cabo el conteo sistematizado del número de cromosomas en células humanas provenientes de pulmones fetales (47,88,89). Fue entonces cuando se conoció en -

forma precisa que el complemento cromosómico en las células somáticas del hombre es de: 46,XX en las mujeres y de:46,XY en los varones. Estas observaciones se basan en materiales preparados por la combinación y mejoramiento de varias técnicas las cuales ya habían sido usadas con diferentes propósitos de investigación. Los avances técnicos más importantes fueron:

- 1) El uso de la colchicina (alcaloide extraído de Colchicum autumnale) que tiene como efecto específico bloquear las células en metafase al inhibir la formación del huso mitótico e impedir con ello la separación de las cromátides, inhibiendo la división y deteniendo las células en metafase.
- 2) El uso de soluciones hipotónicas hace que las células se hinchen, facilitando la separación de los cromosomas.
- 3) El uso de técnicas de squash, derivada de técnicas para células vegetales en 1930(37,83).

En los años de 1950 gran parte del trabajo sobre anomalías cromosómicas era hecho usando cultivos de fibroblastos provenientes de pequeñas biopsias. En este procedimiento se requerían de 2 a 3 semanas para que un número suficiente de células fuera adecuado para el análisis cromosómico.

Después de la publicación de Tjio y Levan (1956) empezaron a aparecer un gran número de artículos sobre citogenética humana, algunos de ellos anunciaban nuevas técnicas particularmente en relación a los métodos de cultivo de células procedentes de varias fuentes. De éstos la mayor innovación fue el método de cultivo de linfocitos de sangre periférica. El método de squash para las preparaciones cromosómicas, relativamente ineficiente y ocasionalmente incierto aún cuando era practicado por expertos, fue ventajosamente suplantado en las preparaciones de las células de mamíferos por el método air-drying (seca-do al aire) de Rotherles y Seminovich (1958). Un importante proceso técnico fue la introducción de la fitohemaglutinina en 1959 por Hungerford (38), sustancia que tiene por objeto estimular la división de los linfocitos.

Como se ha pensado y como se ha venido reafirmando a través de -- los años, los defectos de nacimiento pueden ser originados por diferentes causas, razón por la cual ha sido necesario intentar su estudio mediante una participación multidisciplinaria. Así 3 años después de -- que Tjio y Levan determinaron de manera definitiva el complemento cromosómico normal en el ser humano, Lejeune y cols. en 1959 establecieron por primera vez la relación de causa-efecto entre una cromosomopatía y un síndrome clínico bien definido, el síndrome de Down; en 1960 Patou y cols. reportaron la trisomía 13 y en este mismo año, Edwards y cols. establecieron la etiología de las manifestaciones clínicas del síndrome -- que lleva su nombre o trisomía 18, sentando con ello la tercera cromosomopatía más frecuente en el hombre (46).

A principios de la década de los años 70, el uso de varios tratamientos y tinciones produjo un nuevo auge en la citogenética al permitir visualizar en los cromosomas mitóticos, patrones de bandas características, facilitando con ello la identificación de los pares homólogos.

III. Alteraciones cromosómicas.

Una nueva era de la genética médica se inició cuando en 1959 Lejeu- y cols demostraron que el número cromosómico en niños con síndrome de Down era de 47 cromosomas, en lugar del número normal de 46 (47). No ha transcurrido mucho tiempo desde entonces, y sin embargo, la contribución de la citogenética clínica al conocimiento de las malformaciones congénitas ha sido muy importante. Se ha demostrado que 1 en 150 a 1 en 200 niños recién nacidos vivos (13,25,28,39,50,61,70,80), el 0.5 %, muestran una alteración cromosómica, así, mismo se ha establecido que dichas alteraciones se presentan en el 5.0 % de los niños nacidos muertos (7,94), lo que representa una frecuencia 10 veces mayor a la presente en niños nacidos vivos. La estadística más sorprendente corresponde a la frecuencia encontrada en fetos abortados espontáneamente, que es del 50 % (40,71), lo cual representa aproximadamente una frecuencia 100 veces mayor a la encontrada en la población de recién nacidos vivos. Estos porcentajes, muestran que las anomalías cromosómicas son en medicina clínica mucho más frecuentes de lo que se creía en un principio.

Se denomina alteración cromosómica a todo cambio numérico o estructural. Las alteraciones cromosómicas se dividen en anomalías numéricas y estructurales, que pueden afectar a los autosomas o a los cromosomas sexuales, y algunas veces a ambos en el mismo cariotipo (27, 55,86).

1.- Alteraciones numéricas.

Las alteraciones numéricas pueden ser causadas por; el fenómeno de no-disyunción, por pérdida durante la anafase (lagging), y mucho más raramente por erros en la fertilización.

1.1 Euploidías.

Cuando el número cromosómico de las células es un múltiplo exacto del número haploide, se dice entonces que es un triploide (3n), tetraploide (4n), etc, estas alteraciones son muy raras en el hombre y se encuentran frecuentemente en embriones abortados espontáneamente, lo

cual indica que son probablemente incompatibles con la vida.

Las euploidias pueden originarse por diversos mecanismos, la triploidía se debe a la falta de una de las divisiones en la maduración en el óvulo que no ha expulsado el corpúsculo polar. La tetraploidía puede ocurrir al no realizarse la primera división del cigoto.

1.2 Aneuploidías.

Cualquier complemento cromosómico cuyo número no sea un múltiplo exacto de n es aneuploide. Algunos tipos de aneuploides son las trisomías ($2n+1$), las monosomías ($2n-1$), etc. Estos tipos de alteraciones pueden ser causadas por diferentes mecanismos;

1.2.1 No-disyunción

Generalmente las aneuploidías se deben al fenómeno de no-disyunción. Este término se refiere al proceso por el cual en la metafase y en la anafase de una división mitótica o meiótica, las 2 cromátidas homólogas (o en la primera división meiótica los 2 cromosomas homólogos) no se separan y, por lo tanto, no pasan equivalentemente a las células hijas. Este proceso de no separamiento o no-disyunción condiciona que una de las dos células hijas tenga un cromosoma extra, mientras que la otra célula hija carece del cromosoma correspondiente.

La no-disyunción puede ser precigótica o postcigótica, si ésta sucede en la meiosis o en mitosis respectivamente.

La no-disyunción precigótica puede ocurrir en espermatocitos u ovocitos, y en la primera o segunda división meiótica.

Si en un individuo se encuentra que todas sus células tienen más o menos del complemento cromosómico normal, se infiere generalmente que dicha condición surgió como una consecuencia de una división anormal en las células germinales de uno de los dos progenitores (a menos que el error haya ocurrido en la primera división celular postcigótica, y una de las líneas celulares no haya progresado). Cuando la no-disyunción ocurre en una de las células de un individuo en desarrollo, y si ambas líneas celulares resultan ser viables, entonces, dos líneas aneuploides estarán presentes en ese individuo, además de la línea celular

normal la cual ya estaba presente. A este fenómeno se le llama mosaicismo, debido a que coexisten líneas celulares con diferente número cromosómico.

1.2.2 Retraso anafásico ("Anaphase lagging")

Un cromosoma puede ser perdido durante la división celular a través de un proceso llamado "retraso anafásico", consistente en que durante la anafase, uno o más cromosomas no emigran hacia los polos, de manera que en la telofase cuando aparece la membrana nuclear, dicho cromosoma o cromosomas quedan excluidos del núcleo y son subsecuentemente perdidos. Mediante este mecanismo se pueden perder cromosomas en algunas células sin la subsecuente ganancia de cromosomas en otras.

2.- Alteraciones estructurales.

Las alteraciones estructurales son el resultado de la ruptura cromosómica seguida por una pérdida del segmento cromosómico y/o la reunión de las partes delecionadas. Los tipos estables son; deleciones, duplicaciones, inversiones, translocaciones e isocromosomas y superan la división celular. Los tipos inestables no superan la división celular y son; dicéntricos, acrocéntricos y anillos.

2.1 Deleciones o Supresiones.

La deleción es la pérdida de un fragmento cromosómico y ésta puede ser estable o inestable dependiendo del número de rompimientos cromosómicos.

En las deleciones estables, se produce una pérdida de un fragmento intersticial como consecuencia de dos rupturas, fig. 1.

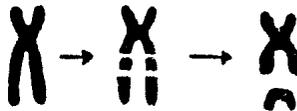


Fig. 1

La porción suprimida se llama fragmento acéntrico debido a que carece de centrómero, y en consecuencia no podrá orientarse en el huso y se perderá en la(s) división(es) subsecuente(s).

La estabilidad de las regiones terminales de los cromosomas sugiere que la mayoría de las deleciones son de tipo intersticial.

Las deleciones inestables son condicionadas cuando se produce un sólo rompimiento en la parte terminal de los brazos. En este estado los brazos tienden a unirse a otros brazos rotos. El hecho más común es que los brazos delecionados se reunan a su posición original (en cuyo caso se producirían alteraciones menores en la secuencia de bases en dichos sitios). Sin embargo, puede haber una "reunión de cromatides hermanas", y la secuencia de este suceso se muestra en la fig. 2.

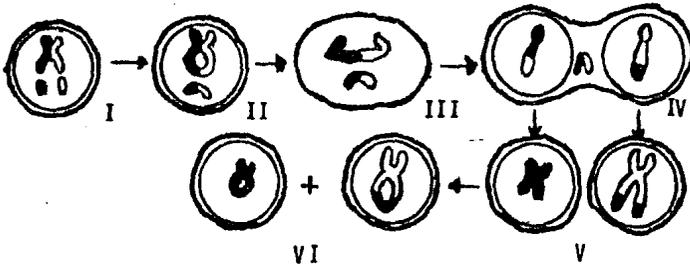


Fig. 2

El rompimiento de ambos brazos de un cromosoma (I) es seguido por la unión de las cromatides hermanas (II) con la formación de un fragmento acéntrico. En la anafase de la siguiente división (III) se formará un puente que se romperá durante la migración de los cromosomas. Así en telofase (IV) dos nuevos cromosomas se formarán en las células hijas, una con material extra y otra con deficiencia de material. El fragmento acéntrico se perderá. Cuando se realice la replicación cromosómica en las células hijas, los cromosomas delecionados originarán dos cromatides cuyas partes terminales tenderán a unirse. Este ciclo de fusión-puente-rompimiento puede repetirse a través de varias generaciones celulares, lo cual conducirá a la muerte y eliminación de las líneas celulares, lo cual constituye un mecanismo de seguridad.

2.2 Duplicación.

Si un doble rompimiento se presenta en ambas cromatides de un cromosoma, como se muestra en la fig. 3, la región entre los dos rompimientos en una cromatide puede insertarse en la otra cromatide en uno

de los puntos de rompimiento originándose una cromatide delesionada para el segmento en cuestión y la otra que posee éste segmento por duplicado.



Fig. 3

2.3 Inversión.

El segmento delecionado situado entre dos rompimientos puede girar 180° y entonces reunirse en sus partes terminales, con la consecuencia de que todo el segmento del cromosoma se ubica en un orden genético inverso, fig. 4a y 4b.

Se pueden distinguir dos clases de inversión; la paracéntrica, fig. 4a, donde ambos rompimientos se ubican en el mismo lado del centrómero, y la pericéntrica, fig. 4b, donde los dos rompimientos se presentan en lados opuestos del centrómero y, por lo tanto, producen generalmente un cambio morfológico del cromosoma.

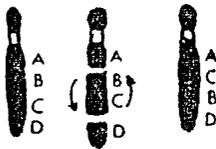


Fig. 4a



Fig. 4b

Las inversiones no afectan cuantitativamente a la célula, ya que la cantidad total y la naturaleza del material genético contenido, permanece igual pero condicionan un "efecto de posición" en las secuencias de bases.

2.4 Translocación.

El termino de translocación indica que un segmento cromosómico se transfiere de su posición normal a otra posición, y pueden distinguirse por lo menos 3 tipos; translocación reciproca (intercambio); inserción; y cambios.

-Translocación reciproca.

Este rearreglo consiste en el intercambio de segmentos entre dos

cromosomas, y su realización requiere de dos rompimientos cromosómicos.

Es posible distinguir un tipo especial de translocación recíproca, la llamada Translocación Robertsoniana o intercambio a nivel de centrómero.

Dos posibles tipos de translocación recíproca se muestran en la fig. 5a y 5b.



Fig. 5a

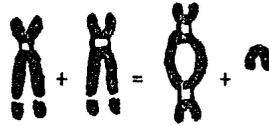


Fig. 5b

Como se muestra en la fig. 5a, los cromosomas implicados pueden cambiar sus fragmentos acéntricos, originando dos nuevos cromosomas (frecuentemente con morfología alterada). El material genético total se mantiene por lo que no afectará la viabilidad de las líneas celulares donde ocurra, y la mitosis no se afectará. En el otro posible rearrreglo, fig. 5b, las dos partes centricas pueden fusionarse y formar un cromosoma dicéntrico, mientras que las partes acéntricas se pierden. Tanto el cromosoma dicéntrico como el acéntrico son inestables en la división celular; el cromosoma acéntrico se perderá, mientras que el cromosoma dicéntrico puede dividirse normalmente, pero también puede surgir un rompimiento en sus dos cromatides, o condicionar no-disyunción, y entonces ambas cromatides pasarán a la misma célula hija. Debido a la inestabilidad en la división celular estas células tienden a desaparecer.

Las translocaciones recíprocas en meiosis originan complicadas figuras en la sinapsis y pueden originar gametos anormales.

- Translocaciones Robertsonianas (Fusión centrica).

Este tipo de translocación ocurre entre dos cromosomas acrocéntricos o telocéntricos. Los rompimientos ocurren muy cerca de los centrómeros, fig. 6. Los dos brazos largos se fusionan para formar un cromosoma nuevo y los brazos cortos se fusionan para formar un metacéntrico pequeño el cual es generalmente perdido, causando una reducción

en el número cromosómico pero no un cambio en el fenotipo.



Fig. 6

2.5 Cambios de posición.

Este tipo de alteración corresponde a una inserción de un segmento de un cromosoma en alguna posición diferente del mismo cromosoma y no produce alteración en la cantidad total pero sí un efecto de posición. Estas alteraciones implican tres rompimientos en un cromosoma por lo que es raro que se presente.

2.6 Inserciones.

Es un tipo de translocación cuya realización requiere tres rompimientos y al igual que los cambios, son menos comunes que otros tipos de translocaciones.

2.7 Anillos.

Estas estructuras se originan cuando se producen dos rompimientos cerca de las partes terminales de un cromosoma, las dos partes finales tienden a unirse y al hacerlo formarán un anillo, fig. 7.

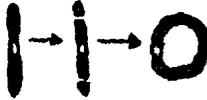


Fig. 7

Estos anillos son estables en la mitosis y producen un par similar de anillos, pero son inestables en la meiosis y, por lo tanto, es improbable que sean transmitidos de progenitores a su descendencia en su forma balanceada original.

2.8 Isocromosomas.

Un isocromosoma es un cromosoma metafásico en el cual los dos brazos son idénticos estructural y genéticamente. Los isocromosomas son el resultado de un único rompimiento a nivel del centrómero, fig. 8 ,

seguida por una replicación del mismo segmento.



Fig. 8

IV. Identificación y Clasificación de los Cromosomas Humanos.

La célula es la unidad anatómico fisiológica de los seres vivos, tanto en procariotes como en eucariotes. La realización de las funciones vitales requiere la coordinación de numerosas estructuras celulares, una de las funciones más importantes es la división celular, lo cual implica una duplicación de sus estructuras seguida de una división celular. Dicha división recibe el nombre de mitosis cuando se realiza en las células somáticas, cuando este proceso origina la formación de gametos, es llamado meiosis.

Los cromosomas son estructuras visibles microscópicamente en células en división y deben su nombre a la propiedad de teñirse con los colorantes básicos.

Cuando las células no están en división, se dice que están en un estado de interfase. La división celular se divide en 4 etapas que son; profase, metafase, anafase y telofase.

Los cromosomas aparecen alargados durante la interfase y su apreciación individual no es posible. Durante la profase, se hacen visibles en el núcleo como finas hebras las cuales progresivamente se acortan. El final de la profase se caracteriza por la desaparición de la membrana nuclear, los cromosomas se arreglan en un plano ecuatorial y dicha disposición se llama placa metafásica. Es en este momento cuando los cromosomas alcanzan su máxima condensación y son más fácilmente observables. En este estado los cromosomas se unen a las fibras del huso mitótico en una región llamada centrómero.

Cuando las células son tratadas con colchicina (inhibidor mitótico), se impide la formación y funcionamiento de las fibras del huso mitótico, impidiendo también el que la célula complete su división. El empleo de una solución hipotónica seguida de una fijación y tinción, permite observar a los cromosomas claramente.

Cada cromosoma metafásico está constituido por brazos idénticos o cromátides, las cuales se ubican una a lo largo de la otra y están unidas a nivel del centrómero.

La primera clasificación formal de los cromosomas humanos fué estructurada en un congreso de citogeneticistas en Denver, Colorado 1960 (18). Esta clasificación se realizó en base al tamaño de los cromosomas y posición del centrómero. Si el centrómero se localiza a la mitad de los cromosomas estos se llaman metacéntricos, si se encuentran desplazados de la parte media, entonces los cromosomas se llaman submetacéntricos, si se localiza cerca del final, entonces se llaman acrocéntricos, y si esta en la parte final reciben el nombre de telocéntricos.

Los 46 cromosomas forman 23 pares en las células femeninas, y 22 pares y dos cromosomas no similares, el X y el Y, en las células masculinas. Este número de 46, es referido como número cromosómico diploide (46).

En este congreso de citogenética, los 23 pares de cromosomas presentes en los humanos se dividieron en 2 grupos; los sexuales o heterocromosomas, XX (en la mujer), XY (en el hombre); y los autosomas, los 22 pares restantes.

1.- Clasificación de los cromosomas en grupos.

Los cromosomas fueron enumerados por su tamaño y posición del centrómero en;

Grupo A; comprende los pares cromosómicos 1, 2 y 3. Son los más grandes y su centrómero está situado aproximadamente en su parte media.

Grupo B; comprende los pares 4 y 5 que son más cortos que el grupo A, pero son los submetacéntricos más grandes.

Grupo C; incluye los pares 6 al 12 y al cromosoma X. Todos son submetacéntricos e indistinguibles unos de los otros.

Grupo D; comprende los pares 13 al 15, todos son acrocéntricos y morfológicamente similares.

Grupo E; contiene los pares 16 al 18. El par 16 es metacéntrico y puede ser distinguido de los pares 17 y 18 los cuales son submetacéntricos medianos.

Grupo F; comprende a 2 pares metacéntricos pequeños, 19 y 20, los

cuales no pueden ser distinguidos uno del otro.

Grupo G; comprende los cromosomas acrocéntricos más pequeños, 21 y 22, los cuales normalmente no pueden ser distinguidos aunque hay ligeras diferencias en tamaño y morfología.

Con esta clasificación basada en técnicas de tinción estándar, el cromosoma X no puede ser distinguido de los cromosomas del grupo C. El cromosoma Y semeja a los cromosomas del grupo G, pero puede normalmente ser distinguido de ellos por bases morfológicas, éste también es variable en tamaño (polimórfico).

2.- Parámetros para la identificación individual.

A parte de esta clasificación de los cromosomas por su tamaño y posición del centrómero, se han considerado otros parámetros que pueden ser usados para la identificación de los cromosomas individuales como son (27);

- 2.1 Patrones de enrollamiento.

Algunas veces los cromosomas en preparaciones muestran un enrollamiento helicoidal. Ohnuki en 1965 (67), describió métodos para mejorar estos patrones y sugirió que la morfología de los giros podía ser una ayuda adicional para la clasificación cromosómica (por ejem., haciendo conteos del número de giros). Sin embargo, mientras dicho enrollamiento es un rasgo constante en algunos cromosomas vegetales, no es suficientemente fácil inducirlo en los cromosomas humanos como para que sirva como método práctico en la identificación cromosómica.

2.2 Constricciones secundarias.

La constricción primaria o centrómero es la región donde se unen las dos cromátidas y la cual tiene un grado menor de tinción como resultado de una menor cantidad de material cromosómico. En algunos individuos los cromosomas muestran áreas constreñidas en sus brazos, éstas son llamadas constricciones secundarias, y aún las más comunes con las de los cromosomas 1, 3, 9, 16 y Y, no están presentes constantemente, y cuando son visualizadas, frecuentemente se presentan en uno de los cromosomas de un par.

2.3 Satélites.

Los cromosomas de los grupos D y G pueden presentar una pequeña estructura al final de los brazos cortos, separadas del resto de las cromátides por una constricción secundaria. Estas estructuras han sido llamadas satélites.

Cuando se realizó la clasificación en Denver en 1960, se pensaba que ciertos cromosomas (pares 13 y 21) siempre eran satelitados, que otros no lo eran (pares 15 y 22), mientras que el par 14 podía o no ser satelitado, sin embargo, se ha demostrado que ninguno o todos los cromosomas de los grupos D y G pueden ser satelitados.

Tanto las constricciones secundarias como los satélites son características que varían de persona a persona, razón por la cual no se han empleado en la identificación de los cromosomas. Sin embargo, ambas características pueden ser heredadas como rasgos estructurales siguiendo un patrón de herencia Mendeliano, de esta forma la principal importancia para el citogeneticista es que pueden ser identificados como marcadores, mostrando en un momento dado si el cromosoma en cuestión es de origen materno o paterno.

V. Demostración de patrones a lo largo de los cromosomas.

Se ha argumentado que las diferentes técnicas empleadas para la identificación individual de los cromosomas humanos reflejan diferencias estructurales o fisiológicas a lo largo de los cromosomas. Estas técnicas son la autorradiografía y las técnicas (especiales de tinción donde los colorantes se emplean después de varios pretratamientos) llamadas de "bando".

1.- Autorradiografía.

Los rasgos básicos de la organización cromosómica y duplicación (semiconservativa) fueron demostrados en 1957 por Taylor y cols (citado por Yunis J.J., 1965) cuando introdujeron la timidina tritiada en su estudio en cromosomas de Vicia faba. La replicación asincrónica del DNA entre los cromosomas fué primeramente reportada en 1959 por Lima de Faria. Con la técnica de autorradiografía se estudiaron los cromosomas de insectos y vegetales y en 1961 Wimber demostró que en los cromosomas humanos al igual que en los cromosomas de otros organismos se presentaban patrones asincrónicos de replicación a lo largos de los diferentes cromosomas (96).

La identificación de los cromosomas con esta técnica se basa en el hecho de que los cromosomas se replican en diferentes momentos durante la fase S del ciclo celular. En esta técnica se usa un compuesto marcado radiativamente que se incorpora al DNA cuando este se replica. Dicho compuesto es generalmente la timidina tritiada; precursor de la timina, el cual es incorporado al DNA. Después de hacer las preparaciones se coloca una película fotográfica que queda expuesta por varios días fuera del alcance de la luz. En esta situación las partículas desprendidas del tritio (isotopo del hidrógeno) al chocar con la película hacen que los granos de plata se precipiten. Como la incorporación de la timina es diferente para los cromosomas, entonces éstos mostrarán diferentes patrones de marcado que permitiran diferenciar algunos de los pares cromosómicos con precisión (27).

Pero esta técnica es laboriosa y no muy útil, ya que hay que cuidar

que el material radiactivo no dañe las películas, el tiempo de exposición de la película es prolongado, la interpretación algunas veces es difícil y no identifica todos los pares como son los de los grupos A, C, y F.

2.- Técnicas de bandeo.

A principios de la década de los años 70, el uso de varios tratamientos y tinciones, produjo un nuevo auge de la citogenética, al permitir visualizar en los cromosomas mitóticos patrones de bandas características, facilitando con ello la identificación de los pares homólogos. Esta mejora en la visualización morfológica ha dado por resultado la descripción de más de 30 nuevos síndromes cromosómicos bien definidos, y 8 padecimientos neoplásicos con un defecto cromosómico constante; en la leucemia mielocítica crónica el 90 % de los pacientes muestran el cromosoma Filadelfia; el linfoma de Burkitt muestra como alteración cromosómica característica una translocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 8 y 14; en el retinoblastoma se encuentra una deleción intersticial del brazo largo del cromosoma 13 quedando implicada la banda 13q14; en la mielomatosis, se ha encontrado en el 75 % de los pacientes un cromosoma marcador supernumerario cuyo rango de tamaño se encuentra entre los cromosomas 1 y 3; en pacientes con poli-citemia vera aproximadamente el 20 % presentan un cromosoma 20 que ha perdido aproximadamente la mitad del brazo largo; en pacientes con meningiomas se ha detectado una pérdida parcial o total del cromosoma 22 y una monosomía del cromosoma 8 en aproximadamente un 90 % y 50 % respectivamente; las trisomías 8 y 14 se han observado consistentemente en la poliposis del colon; y en el cáncer de mama se ha observado líneas celulares con un trisomía parcial de la parte media distal del brazo largo del cromosoma 1 (97).

En 1968 un investigador escandinavo T. Caspersen demostró que un derivado de la acridina; la mostaza de quinacrina, podía producir un patrón específico de bandeo en los cromosomas vegetales y animales. Así en 1970 Caspersen (15) aplicó la misma técnica a los cromosomas humanos y demostró la existencia de un patrón de bandeo específico para ca

da par de cromosomas. Este hallazgo hizo aparecer casi simultáneamente numerosas técnicas de "bandeo cromosómico".

Los cromosomas bandeados consisten de series de bandas claras y obscuras, así que, por definición no hay interbandas. De esta forma una "banda" fué definida como parte de un cromosoma la cual se distingue claramente de sus segmentos adyacentes más claros o más oscuros (69). Estas marcas alternativas y transversales son obtenidas después de que las preparaciones cromosómicas tratadas con métodos especiales, son teñidas. Los patrones de bandeo son característicos para cada cromosoma así como para cada segmento de éstos. Tales técnicas han sido clasificadas en;

2.1 Bandas-Q (Q de "Quinacrina")

En 1970 Casperson describió el primer procedimiento de bandeo para los cromosomas humanos (15). Con esta técnica las preparaciones pueden ser teñidas directamente con colorantes derivados de la quinacrina, obteniéndose bandas de fluorescencia variable cuando son observadas a través de un microscopio de luz ultravioleta. Las bandas Q son similares a las bandas G excepto por la tinción de las regiones pericentroméricas y constricciones secundarias de los cromosomas 1, 9 y 16 las cuales generalmente no son fluorescentes con bandas Q y son teñidas positivamente con las bandas G. Una fluorescencia intensa se observa en la parte media distal del brazo largo del cromosoma Y. Esta fluorescencia también se observa en núcleos interfásicos, lo cual ha servido para identificar al cromosoma Y en este estado, dicha identificación es análoga al cuerpo de Barr presente en las células femeninas normales. Las regiones pericentroméricas del cromosoma 3 y los satélites de los cromosomas acrocéntricos también pueden mostrar una fluorescencia intensa la cual, en el núcleo interfásico, puede algunas veces ser confundida con la fluorescencia del cromosoma Y. Estas áreas teñidas intensamente son polimórficas y son heredadas como caracteres Mendelianos.

Esta técnica a diferencia de la autorradiografía es más sencilla, más rápida y puede identificar cada uno de los pares cromosómicos, pe

ro tiene como desventajas que requiere microscopio de luz ultravioleta, y la fluorescencia se desvanece (27).

2.2 Bandas-G (G de "Giemsa")

En 1971 Summer y cols publicaron la primera de una serie de técnicas que originaban un patrón de bandeo conocido como bandas G.

Las preparaciones cromosómicas pueden ser tratadas con soluciones enzimática, de urea, detergentes, alcalinas o Buffer-bases-sales y posteriormente son teñidas con el colorante de Giemsa. Los patrones de bandas claras y oscuras son muy similares a las bandas Q. Esta técnica a diferencia de la de bandas Q es más sencilla, más barata y el patrón de bandeo es permanente.

Los métodos principalmente usados son la técnica de Giemsa-tripsina de Seabright, 1971 (79), la cual implica una exposición breve de los cromosomas fijados, a soluciones de tripsina diluida antes de la tinción, y la técnica de Summer, 1971, Acido-Salina-Giemsa (ASG), donde la tinción es precedida por la incubación en soluciones calientes.

2.3 Bandas-R (R de "Reverse")

En 1971 Dutrillaux y Lejeune describieron la técnica de bandas R, que es una modificación de la técnica de bandas G. Esta nueva técnica origina un patrón de bandeo inverso al visualizado por las técnicas de bandeo Q y G. De manera que las bandas Q y G que se tiñen negativamente, con esta técnica, se tiñen positivamente y viceversa. La excepción residen en la constricción secundaria del cromosoma 9, la cual se tiñe negativamente con las técnicas de bandas Q y R y se tiñe ligeramente con la técnica de bandas G.

2.4 Bandas-T (T de "Telomeros"- "terminal")

En 1973 Dutrillaux describió una modificación de la técnica de bandas R, mediante la cual únicamente las regiones terminales o teloméricas se teñían intensamente.

Las técnicas de bandas T y R tienen la ventaja de mostrar en forma clara las áreas teloméricas teñidas de los cromosomas, las cuales son generalmente difíciles de visualizar con las técnicas de bandas Q

y G debido a que estas se tiñen ligeramente. Las técnicas de bandas R y T generalmente requieren el uso de microscopios de contraste de fase o de luz ultravioleta.

2.5 Bandas-C (C de "Constitutive heterocromatin")

En 1971 Yunis J. publicó un método en el que se tiñen selectivamente las regiones que contienen heterocromatina constitutiva localizada alrededor del centrómero de todos los cromosomas. Además existe una marcada tinción de las constricciones secundarias de los cromosomas 1, 9, y 16 y del segmento distal del brazo largo del cromosoma Y.

El tamaño de las áreas teñidas por esta técnica puede variar de persona a persona. Estas bandas generalmente son transmitidas a los descendientes en forma inalterada como características Mendelianas. La variación en el tamaño de las bandas C puede corresponder a diferentes cantidades de DNA satélite presente. Aunque las diferencias en la cantidad de esta especie de DNA puede implicar miles de pares de nucleótidos, no se observan efectos fenotípicos en los portadores de tales caracteres polimórficos (96).

2.6 Bandas-F (F de "Feulgen")

En 1974 Yunis J. y cols publicaron una técnica cuyo patrón de bandeado es similar al de las bandas Q y G. Sin embargo, varias regiones teloméricas que son teñidas negativamente con las técnicas de bandas Q y G, se tiñen positivamente con la técnica de bandas F. Además la parte terminal del brazo largo del cromosoma Y, que es altamente fluorescente con la técnica de bandas Q, e intensamente teñida con la técnica de bandas G, es negativa con la técnica de bandas F.

Esta técnica tiene muy poca aplicación práctica debido a que las bandas resultantes carecen de la calidad e intensidad de tinción de las otras técnicas.

2.7 Bandas-N (N de "Nucleolar organizer")

Esta técnica publicada en 1973 por Matsui y Sasaki (53) induce la tinción selectiva de los cromosomas de mamíferos que contienen los loci para los genes ribosomales (organizadores nucleolares). El DNA que

codifica para estas especies de RNA está localizado en las constricciones secundarias de cada uno de los 5 pares de cromosomas de los grupos D y G. La aplicación clínica de esta técnica es muy limitada debido a que no se ha demostrado la existencia de algún síndrome que esté relacionado a una deficiencia en el RNA ribosomal.

3.- Significado de las bandas.

Cuatro clases de compuestos están presentes en los cromosomas; DNA, RNA, proteínas histonas y proteínas no-histonas.

Las proteínas no-histonas están poco caracterizadas y pueden incluir proteínas estructurales y polimerasas. Similarmente, poco se conoce del "RNA cromosómico", especies de RNA asociado con histonas y distinto de otras especies de RNA transitoriamente asociadas con los cromosomas. El DNA y las proteínas histonas asociadas, han sido mucho más estudiadas, comprenden el volúmen del material cromosómico, y estan presentes en aproximadamente una proporción de 1;1. Las histonas se asocian al DNA de manera que condicionan un superenrollamiento del DNA.

Las bandas cromosómicas son producidas en preparaciones fijadas con el fijador metanol-ácido acético; la fijación en formalina, por ejemplo, impide el desarrollo de las bandas G. Se ha encontrado (26) que los núcleos y cromosomas fijados con metanol-ácido acético contienen de 2 a 3 partes de DNA por una parte de proteína, y aunque la exposición de DNA purificado a metanol-ácido acético origina su denaturación, únicamente una cantidad mínima de DNA en la cromatina o cromosomas es denaturalizado en el proceso de fijación.

Cuando los cromosomas fijados con metanol-ácido acético y no teñidos son observados por microscopía de interferencia o de contraste de fase, ningún patrón de bandeo es discernible.

El DNA y sus proteínas asociadas, está altamente enrollado y plegado en el cromosoma metafásico y el DNA de las regiones heterocromáticas retiene este estado compacto en interfase. Estas regiones están estrechamente unidas a proteínas no-histonas, sufren una replicación

tardía del DNA, y en metafase pueden ser diferenciadas como bandas (Q, G y C) que se tiñen positivamente (27). Se ha encontrado que estas bandas son ricas en DNA repetitivo y posiblemente en DNA no activo, mientras que los genes estructurales están preferencialmente localizados en las bandas negativas o teñidas ligeramente (97).

La incubación de cromosomas fijados en metanol-ácido acético en una solución salina (2 SSC a 60°C) por una o más horas antes de teñirlos con Giemsa, es un procedimiento estándar en la mayoría de las técnicas de bandas G, pero no en las técnicas de bandas Q. Esta incubación no causa cambio alguno en la masa cromosómica hidratada o en el contenido o en la hipercromicidad del DNA. Sin embargo, cuando las preparaciones hidratadas de tales cromosomas no teñidos son observados al microscopio de luz o electrónico, los cromosomas se observan como estructuras indiferenciadas, aplanadas o colapsadas. Después de la exposición a Giemsa, o Quinacrina, ciertas regiones de los cromosomas se expanden y muestran bordes transversales originados por la unión de los colorantes. Estas regiones son las bandas G y Q, las regiones no teñidas permanecen en un estado colapsado. Hay buena evidencia de que el material teñido en las bandas es DNA.

Los tratamientos post-fijación necesarios para el desarrollo de bandas no resultan en cambios detectables en la composición cromosómica, pero parecen alterar la estructura cromosómica preferencialmente en ciertas regiones, esto impide muy probablemente la unión de los colorantes al DNA en ciertas regiones. Puede ser que no sea la accesibilidad del DNA al colorante lo que está afectado, pero si una alteración en las relaciones entre las fibras de DNA, o un cambio en la conformación del DNA, en estas regiones, que reduce su capacidad de unión al colorante.

4.- Mecanismos de tinción en el bandeo.

Puesto que el colorante se une al DNA, entonces parecería que la obstaculización en la unión del colorante es necesaria para dar patrones de bandeo que deben ser una consecuencia de una alteración en la organización de las proteínas no-histonas en esas regiones no teñidas.

Unicamente unos pocos colorantes producen patrones de bandeo (excepto aquellos con cargas positivas únicas) por lo que la estructura molecular de los colorantes es muy importante. Además, ya que la mayoría de los patrones obtenidos con bandas Q y G son idénticos, es altamente probable que dichos patrones sean manifestaciones de la misma organización estructural.

Se piensa que la Mostaza de Quinacrina (MQ), fig. 9, se une al DNA cromosómico por;

a) intercalación del núcleo aminoacridina en la doble hélice de DNA
 b) formación de enlaces covalentes entre un grupo básico presente en la cadena alifática (cadena abierta) con una guanina del DNA presente en la misma doble hélice o en una doble hélice adyacente

y c) formación de enlaces iónicos entre los átomos de nitrógeno en estado reducido con los grupos fosfato del DNA.

La Quinacrina al igual que la MQ se intercala en la doble hélice del DNA, tiene la misma fluorescencia y se une iónicamente a los grupos fosfato, pero no puede formar enlaces covalentes debido a que no posee el grupo básico.

La Quinacrina muestra un patrón de bandeo cualitativamente similar al de la MQ aunque cuantitativamente es menos eficiente en cromosomas metafásicos de vegetales y humanos. Estas observaciones indican que el modo primario de unión de ambos compuestos es probablemente por intercalación de los núcleos de aminoacridina en la doble hélice de DNA y que la unión del grupo básico de la MQ a la guanina del DNA debe ser un modo de unión secundario (59). La intercalación entre la Quinacrina y el DNA no depende de la presencia de sitios con bases específicas en el DNA (2,66). Esto sugiere que la Quinacrina puede unirse

Figura 9. Fluorocromos de aminoacridina.

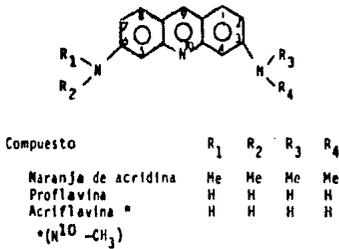
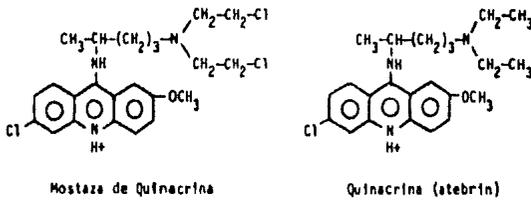
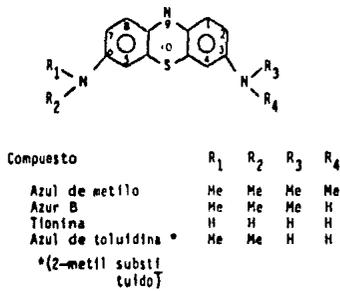


Figura 10. Cromoforos de aminofenotiazina (mostrados en forma reducida).



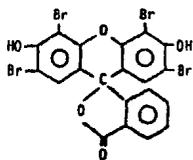
más fuertemente cuando los grupos fosfato del DNA están separados la distancia correcta para unirse con los dos grupos amino de la molécula colorante. El bandeo diferencial del colorante puede por lo tanto ser una consecuencia de la diferencia en el esparcimiento o accesibilidad de los grupos fosfato del DNA a lo largo de los cromosomas.

El método de fluorescencia de la MQ brinda 2 tipos de información cuando es aplicado a los cromosomas metafásicos humanos; (a) un bandeo de identificación (presente en todos los cromosomas metafásicos normales de todos los individuos); (b) una tinción polimórfica variable (presente en ciertos cromosomas metafásicos de un individuo pero variable de persona a persona)(58).

Se ha observado que las aminoacridinas tales como la acriflavina y la proflavina, fig. 9, producen el bandeo de identificación (tipo a), pero no producen la tinción polimórfica fluorescente (tipo b), por lo menos en el cromosoma Y. Esto puede ser debido a razones relacionadas a la estructura terciaria del DNA con los fluorocromos aminoacridínicos que poseen la cadena alifática en la posición 9 para la visualización de la fluorescencia tipo b en los cromosomas humanos.

El caso del colorante de Giemsa, una mezcla de azul de metilo, figura 10, y eosina, básicamente, fig. 11, un nuevo compuesto se forma in situ sobre los cromosomas, el cual es de color magenta y consiste de 2 moléculas de azul de metilo por una de eosina (26). El azul de metilo puede intercalarse entre las bases y parecería que 2 moléculas

Figura 11. Eosina (tetrabromo fluoresceína) (68)



adyacentes intercaladas puedan estar unidas por una única molécula de eosina. Además de los sitios de unión, se requiere una distancia correcta.

Ni la eosina pura, ni el azul de metilo puro dan el bandeo observado con el colorante de Giemsa, pero los análogos demetilados (presentes en las muestras impuras de azul de metilo) llamados Azur B, Tionina, y Azul de toluidina, fig. 10, originan tal bandeo, aunque no el mismo.

Las diferentes consideraciones sugieren que las moléculas de colorante unen longitudinalmente sitios separados, conjuntandos en forma estrecha por el apareamiento del DNA, y que el rearrreglo espacial de los sitios de los cromosomas está influenciado por proteínas no-histonas que contienen enlaces disulfato.

Se cree que el bandeo cromosómico sería consecuencia de;

- 1.- una unión del colorante reducido a regiones donde las fibras están suficientemente separadas para impedir la unión por las moléculas del colorante (26).
- 2.- la presencia de uno o más protones en los grupos amino exocíclicos en las posiciones 3 y 6 del sistema anular tricíclico (59).

El hecho de que el DNA en los cromosomas fijados es un estado nativo excluye la denaturación-renaturación como un mecanismo para el bandeo G. En el caso de las bandas C las cuales contienen DNA repetitivo rico en adenina (A) y timina (T), fluoresce pobremente con quinacrina, en contraste a la alta fluorescencia asociada con el DNA rico en AT en solución. En estas regiones heterocromáticas el DNA está compactado y firmemente unido a proteínas ácidas (no-histonas); esto influencia la conformación del DNA y de aque los sitios de unión para las moléculas de los colorantes. Por lo tanto las bandas C son el resultado de interacciones de DNA-proteínas más que la reasociación del DNA altamente repetitivo (44).

Un apoyo a lo antes dicho, lo son las fotografías electrónicas de metafases y profases; éstas muestran que la estructura básica de un

cromosoma es una fibra cromatínica de aproximadamente 200 Å de diámetro arreglada en asa horizontales en las bandas G positivas teñidas en oscuro y en asas con un orden predominantemente de fibras longitudinales en las bandas G "negativas" teñidas ligeramente (97).

Como se puede apreciar, el mecanismo bioquímico fundamental de los patrones de bandeo observados en los cromosomas aún no ha sido elucidado, aunque es muy probable que dichos patrones reflejen interacciones locales entre ácidos nucleicos y proteínas.

5.- Técnicas de alta resolución.

Los cromosomas metafásicos han jugado un papel relevante en la identificación etiológica de muchos síndromes clínicos. Este estado mitótico ha sido ampliamente usado antes y después de la introducción de las técnicas de bandeo.

El número de bandas "mayores", es decir, las bandas vistas comúnmente en el análisis cromosómico rutinario es de aproximadamente 82 en el hombre por complemento haploide (78). De acuerdo con la "Conferencia para Estandarización en Citogenética Humana", celebrada en París en 1971 (69), el número de bandas que pueden ser observadas al microscopio de luz en cromosomas metafásicos es de 350 por complemento haploide. Sit (82) publicó tres diferentes niveles de diferenciación de bandas G, los cromosomas "extendidos" (en profase tardía y con tripnización ligera), los "estandard" (en metafase, con un número aproximado de bandas al mostrado en la conferencia de París), y los "comunes" (en metafase y con sobre-tripsinización se observa el patron de bandeo visto en estudios rutinarios), los cuales muestran diferentes números de bandas como resultado de la combinación de la técnica y el estado de contracción de los cromosomas. Yunis J. (97) desarrolló una técnica en la que los cultivos se sincronizan con amitopterin y son expuestos a colcemida* por un tiempo breve lo cual permite obtener

* Análogo sintético de la colchicina, la colcemida (CIBA), diacetilmetil colchicina, es de 30 a 40 veces menos tóxico que la colchicina (27).

altos porcentajes (15 %) de cromosomas prometafásicos y metafásicos. Bajo microscopio de luz, los cromosomas en metafase temprana muestran de 320 a 554 bandas por juego haploide, en cromosomas prometafásicos el número de bandas observadas es de 555 a 842, y en cromosomas en profase tardía se visualizan de 645 a 1526 bandas (cariotipos referidos como de "mil bandas").

El estudio de bandas G en cromosomas humanos en profase media se ha hecho posible con el uso combinado de amitopterín (para la sincronización de cultivos de linfocitos para obtener un alto índice mitótico), actinomicina D y bromodeoxyuridina (para inhibir la condensación cromosómica), y de laminillas mantenidas en ácido acético a baja temperatura para mejorar la separación de los cromosomas, con lo cual el número de bandas asciende a 2000 por complemento haploide (98).

Este incremento en la resolución permitirá en análisis rutinarios reconocer defectos mínimos y facilitar la localización exacta de puntos de rompimiento involucrados en los rearrreglos estructurales. Además estas técnicas pueden ser usadas clínicamente para descubrir defectos cromosómicos no detectados.

La visualización de un mayor número de bandas en los cromosomas extendidos no necesariamente implica que los cromosomas más contraídos están compuestos de bandas múltiples fusionadas, aunque esto puede ser posible. Si los detalles del bandeo son el resultado de la combinación de una técnica y el estado de contracción de los cromosomas, más que un estado puramente natural de los cromosomas per se, entonces los conceptos de "fusiones" de bandas en los cromosomas metafásicos o bandas "divididas" en cromosomas profásicos, producidos por las diferentes técnicas deben tener únicamente una relevancia cualitativa (82).

VI. Nomenclatura.

Después de la publicación de la primera técnica de bandeo, se hizo evidente la necesidad de un sistema de nomenclatura para la identificación de los cromosomas, regiones y subregiones de estos. En 1971 se realizó en París una Conferencia (89) para la Estandarización en Citogenética Humana, en la cual se acordó usar los terminos de bandas G, Q,R y C por las razones antes mencionadas

1.- Conferencia de París.

Los símbolos sugeridos en 1966 en la Conferencia de Chicago fueron conservados con ligeras modificaciones y algunos símbolos fueron , adicionados, Tabla 1.

Los patrones de bandeo obtenidos en cada par cromosómico fueron usados para construir un idiograma del cariotipo humano, es decir, una representación esquemática del complemento cromosómico con bases estadísticas. Así una banda se define como una parte de un cromosoma claramente distinguible de sus partes adyacentes por mostrar una coloración más oscura o más clara.

Ciertos "rasgos morfológicos distintivos y constantes que son de ayuda importante en la identificación de un cromosoma" fueron seleccionados como "marcas". Los centromeros, telomeros y algunas bandas bien definidas fueron incluidas en esta definición. Los brazos de los cromosomas fueron divididos en "regiones", una región fué definida como "cualquier área" de un cromosoma que se ubica entre dos marcas. Los brazos cromosómicos que no presentan alguna marca se les considera que están constituidos de una sola región. En cada cromosoma, el centrómero sirve como un punto de referencia para la numeración de las regiones y las bandas. Los brazos de los cromosomas fueron primero divididos en regiones de acuerdo a las marcas elegidas por la Conferencia de París. En cada brazo, la región más cercana al centromero fué identificada como la número 1, y las otras regiones, si había, fueron numeradas consecutivamente hacia las partes distales de los telómeros; las bandas presentes dentro de cada región fueron, en consecuencia, numera

Tabla 1. Símbolos de nomenclatura de la Conferencia de Chicago.

A-G	los grupos cromosómicos
1-22	el número de los autosomas
X,Y	los (cromosomas sexuales) heterocromosomas
/	separa líneas celulares en la descripción de un mosaico
?	cromosoma o estructura no identificable
*	cromosoma explicado en el texto
ace	acentrico
cen	centromero
dic	dicentrico
end	endorreduplicación
h	constricción secundaria o teñida negativa
i	isocromosoma
inv	inversión
mar	cromosoma marcador
p	brazo corto de un cromosoma
pat	de origen paterno
q	brazo largo de un cromosoma
r	cromosoma en anillo
s	satélite
t	translocación
repeated	duplicación de una estructura cromosómica

Símbolos adicionales recomendados en la Conferencia de París.

del	delección
der	derivado
dup	duplicación
ins	inserción
inv ins	inserción invertida
rep	translocación recíproca (a)
rec	cromosoma recombinante
rob	translocación Robertsoniana ("fusión centrada") (a)
tan	translocación en tandem (a)
ter	terminal ("pter" parte final del brazo corto) ("qter" parte final del brazo largo)
:	rompimiento (sin reunión como en la delección terminal)
::	rompimiento y unión
→	de-a

(a) opcional, cuando se desea una mayor precisión que la dada por el uso de t recomendado por la Conferencia de París.

das siguiendo las mismas reglas aplicadas a las regiones.

Usando las sugerencias de la Conferencia de París, cualquier banda o segmento particular de un cromosoma puede ser fácilmente identificado, y únicamente 3 datos son requeridos; el símbolo del brazo (p ó q), y los números de la región y la banda. Ningún espacio o puntuación es usado y el orden de los datos no puede ser cambiado. Por ejemplo, 6p23 indica la banda número 3 de la región 2 en el brazo corto del cromosoma 6. Cuando una banda metafásica se subdivide en sub-bandas en estados mitóticos más tempranos, la designación de la banda es seguida por un punto decimal y las sub-bandas son numeradas secuencialmente, empezando con la sub-banda más cercana al centrómero.

2.- Cambios recomendados en la Nomenclatura de la Conferencia de Chicago.

- Cuando los signos + y - son colocados antes del número de un cromosoma, indica la pérdida o ganancia de todo el cromosoma en cuestión. Cuando éstos son colocados después de un cromosoma significa un incremento o decremento en la longitud del cromosoma. Los incrementos o decrementos en la longitud de las constricciones secundarias, o regiones teñidas negativamente, deben ser distinguidas de los incrementos o decrementos en la longitud, propia a otras alteraciones estructurales, colocando el símbolo h entre el símbolo para el brazo y el signo + o - (ejem. 16qh+).

- Todos los símbolos para los rearrreglos se colocan antes de la designación del (los) cromosoma(s), y el cromosoma(s) modificado(s) siempre debe ser colocado en parentesis, ejem.; r(18), i(Xq), dic(Y).

- si dos o más cromosomas han sido alterados, se usa un punto y coma (;) para separar sus designaciones. Si uno de los cromosomas rearrreglados es un cromosoma sexual, entonces éste debe escribirse primero; si los cromosomas involucrados son autosomas, entonces el cromosoma que tiene el número cromosómico menor siempre se especifica primero, ejem.; t(X;3), t(2;5).

3.- Designación de anomalías cromosómicas estructurales por puntos de rompimiento y por composición de bandas.

La designación de anomalías estructurales puede ser hecha por dos sistemas; el "sistema corto" y el "sistema detallado". En el primer sistema la naturaleza del rearrreglo y el punto o puntos de rompimiento son identificados por sus bandas (o regiones) en las cuales ocurrió el rompimiento; en el segundo sistema se define cada cromosoma anormal en termino de su composición de bandas. Los dos sistemas son complementarios, aunque el sistema corto es el más fácil de entender y el más frecuentemente usado.

3.1 Sistema corto.

En este sistema los cromosomas alterados estructuralmente son definidos únicamente por sus puntos de rompimiento. Se indica en primer lugar el número de cromosomas, seguido por la constitución cromosómica sexual; en seguida se describe el símbolo que representa la anomalía cromosómica, seguido entre paréntesis el número(s) del cromosoma(s) implicado(s) y en segundo paréntesis, el número de las bandas donde ocurrieron los rompimientos. Por ejem.; 46,XY,t(2;6)(q34;p12) indica un cariotipo masculino de 46 cromosomas, con una translocación recíproca involucrando los cromosomas 2 y 6 donde los puntos de rompimiento han ocurrido en el brazo largo del cromosoma 2, región 3, banda 4, y en el brazo corto del cromosoma 6, región 1, banda 2. Notese que en el segundo paréntesis los números cromosómicos no han sido repetidos.

- Rearreglos de dos rompimientos.

Cuando ambos brazos de un único cromosoma están implicados en rearrreglos de 2 rompimientos, el punto de rompimiento del brazo corto siempre es especificado antes del punto de rompimiento del brazo largo; ejem.; inv(2)(p21q31) define una inversión pericentrica en el cromosoma No. 2 con puntos de rompimiento en las bandas 2p21 y 2p31. Cuando los dos rompimientos se presentan dentro de un mismo brazo, el punto de rompimiento más próximo al centromero se especifica primero, ejem.; inv(2)(p13p12) define una inversión paracentrica en el brazo corto del cro

mosoma No. 2 con puntos de rompimiento en las bandas 2p13 y 2p23.

- Rearreglos de tres rompimientos.

Cuando una inserción entro de un único cromosoma ocurre, el punto de rompimiento en el cual el segmento cromosómico se insertó siempre es especificado primero. Los restantes puntos de rompimiento son especificados de la misma manera que en los rearreglos de 2 rompimientos, es decir, el punto de rompimiento más cercano al segmento insertado es especificado a continuación y el punto más distal al último. Los terminos "proximo" y "distal" se refieren aquí a las posiciones de los puntos de rompimiento después del rearreglo y no necesariamente a sus posiciones originales. Por ejem.; inv ins(2)(q13p23p13) define una inserción invertida en el cromosoma No.2 del segmento del brazo corto ubicado entre las bandas 2p13 y 2p23 en el brazo largo en la banda 2q13. Como la inserción es invertida, la banda 2p23 es ahora proximal y la banda 2p13 es ahora distal al centrómero.

- Rearreglos afectando a dos o más cromosomas.

Los puntos de rompimiento son especificados en el mismo orden, al igual que lo son los cromosomas involucrados, y un punto y coma es usado para separar los puntos de rompimiento (nunca se usa puntuación para separar los puntos de rompimiento en el mismo cromosoma). Por ejem.; rcp(2;5)(q21;q31) define una translocación reciproca entre los dos brazos largos de los cromosomas Nos. 2 y 5 con puntos de rompimiento en las bandas 2q21 y 5q31.

3.2 Sistema detallado.

En este sistema los cromosomas alterados estructuralmente son definidos por su composición de bandas. Los principios usados en el sistema corto son mantenidos en el presente sistema, excepto que una descripción abreviada de la composición de bandas del (los) cromosoma(s) rearrreglado(s) es especificada dentro del último paréntesis, en lugar de únicamente puntos de rompimiento.

La descripción se inicia en la parte final del brazo corto y termina en la parte final del brazo largo, con la identificación de bandas

en el orden en el cual se presentan en el cromosoma modificado. Si el rearreglo está confinado a un único cromosoma, el número cromosómico no se repite en la descripción del bandeo. Si más de un cromosoma está involucrado, las bandas terminales cromatídicas son identificadas con el número cromosómico apropiado.

Si en un rearreglo cromosómico, ningún segmento del brazo corto está presente al final de cualquier brazo, la descripción del cromosoma modificado estructuralmente se inicia en la parte final del brazo largo con el cromosoma cuyo número sea el menor.

Cuando más de un cromosoma este involucrado, las descripciones cromosómicas se hacen en el mismo orden numérico al de los cromosomas involucrados en el rearreglo. En el caso especial de una translocación recíproca no balanceada entre el brazo largo de un cromosoma y el brazo corto de otro, los cromosomas derivados que portan el centromero perteneciente al cromosoma con número menor es descrito primero.

Ejemplos de alteraciones cromosómicas más frecuentes;

- Uso de los signos + y -.

- 47,XY,+G Cariotipo masculino con 47 cromosomas, indicando un cromosoma adicional del grupo G.
- 45,XY,-21 Cariotipo femenino con 45 cromosomas y pérdida de un cromosoma No. 21.
- 47,XX,+14p+ Cariotipo femenino con 47 cromosomas, incluyendo un cromosoma adicional No. 14 el cual tiene un incremento en la longitud del brazo corto.
- 45,XX,-D,-G,+t(DqGq) Cariotipo femenino con una translocación Robertsoniana balanceada entre un cromosoma del grupo D y otro del grupo G. La segunda fórmula es una forma abreviada de la primera. Los cariotipos no balanceados deben ser escritos completamente, como en la siguiente fórmula.
- 6 45,XX,t(DqGq)
- 46,XX-13,+t(13q;21q) Cariotipo femenino con una translocación no balanceada entre los cromosomas Nos. 13 y 21; el brazo largo del cromosoma No. 21 está presente por triplicado.

- Cambios de longitud de las constricciones secundarias.

- 46,XY,16qh+ Cariotipo masculino con 46 cromosomas, mostrando un incremento en la longitud de la constricción secundaria del brazo largo del cromosoma número 16.

- Cromosomas anormales estructuralmente;

- 46,XX,r(18) Cariotipo con 46 cromosomas, incluyendo un anillo del cromosoma número 18.
- 46,XX,i(Xq) Cariotipo femenino con 46 cromosomas, incluyendo un cromosoma X normal y un isocromosoma para el brazo largo del otro cromosoma X.
- 46,X,dic(Y) Cariotipo con 46 cromosomas, un cromosoma X y un cromosoma Y dicentrico.

En los siguientes ejemplos se muestran el sistema corto y el sistema detallado.

46,X,i(Xq)

46,X,i(qter → cen → qter)

Isocromosoma. Los puntos de rompimiento están o son muy cercanos al centrómero y no pueden ser definidos. Ambos brazos están completos y separados por el centrómero.

46,XX,del(1)(q21)

46,XX,del(1)(pter → q21:)

Delección terminal. Los dos puntos (:) indican un rompimiento en la banda 1q21 y delección del segmento distal del brazo largo. El cromosoma modificado consiste de un brazo corto completo del cromosoma No. 1 y parte del brazo largo ubicado entre el centrómero y la banda 1q21.

46,XX,del(1)(q21q31)

46,XX,del(1)(pter → q21::q31 → pter)

Delección intersticial. Los cuatro puntos (::) indican rompimiento y unión de las bandas 1q21 y 1q31 del brazo largo del cromosoma No. 1. El segmento ubicado entre estas bandas ha sido delecionado.

46,XY,inv(2)(p13p14)

46,XY,inv(2)(pter → p24::p13 → p24::p13 → qter).

Inversión paracéntrica. Los rompimientos y uniones han ocurrido en las bandas 2p13 y 2p24 en el brazo corto del cromosoma No. 2. El segmento ubicado entre estas dos bandas está aún presente pero invertido, como se indica por el orden opuesto de las bandas con respecto al centrómero en este segmento del cromosoma modificado.

46,XY,inv(2)(p21q31).

46,XY,inv(2)(pter → p21::q31 → p21 → ::q31 → qter).

Inversión pericéntrica. Los rompimientos y uniones han ocurrido en la banda 2p21 en el brazo corto y en la banda 2q31 en el brazo largo del cromosoma No. 2. El segmento ubicado entre estas dos bandas está invertido.

46,XY,r(2)(p21q31)

46,XY,r(2)(p21q31)

Cromosoma en anillo. Los rompimientos han ocurrido en la banda -- 2p21 en el brazo corto y en la banda 2q31 en el brazo largo del cromosoma

soma No.2. Con deleción de los segmentos distales de estas bandas. Note la omisión de 2 y 4 puntos.

46,XY,dic(Y)(q12)

46,XY,dic(Y)(pter→q12::q12→pter)

Cromosoma dicéntrico. El rompimiento y la unión ha ocurrido en la banda Yq12 en las cromátides hermanas para formar un cromosoma dicéntrico.

46,XY, t(2;5)(q21;q31)

46,XY, t(2;5)(2pter→2q21::5q31→5qter;5pter→5q31::→2q21→2qter).

Translocación recíproca. Los rompimientos y uniones han ocurrido en las bandas 2q21 y 5q31 en los brazos largos de los cromosomas 2 y 5 respectivamente. Los segmentos distales de estas bandas se han intercambiado entre los dos cromosomas. Note que el cromosoma derivado con el número menor (2) es designado primero.

46,XY, t(2;5)(p12;q31).

46,XY, t(2;5)(2qter→2p12::5q31→5pter;5pter→5q31::2p12→2pter).

Translocación recíproca. Los rompimientos y uniones han ocurrido en la banda 2p12 en el brazo corto y en la banda 5q31 del brazo largo de los cromosomas Nos. 2 y 5 respectivamente. Los segmentos distales a estas bandas han sido intercambiados entre los cromosomas. Note que el cromosoma derivado que posee el centrómero No. 2 no tiene el segmento terminal del brazo corto y, por lo tanto, su descripción se inició con el brazo largo y el que tiene el número más bajo.

45,XX, t(13;14)(p11;q11).

45,XX, t(13;14)(13qter→13p11::14q11→14qter).

Translocación Robertsoniana. Los rompimientos y uniones han ocurrido en la banda 13p11 en el brazo corto y en la banda 14q11 en el brazo largo de los cromosomas Nos. 13 y 14 respectivamente. El segmento distal de la banda 14q11 se ha translocado al cromosoma No. 13 a la banda 13p11. El resto del cromosoma 14 con su centrómero, ha sido perdido junto con el segmento original distal a 13p11, es decir ---- 13pter→13p11.

45,XX t(13q14q)

45,XX t(13;14) (13pter→cen→14qter).

Translocación Robertsoniana. El rompimiento ha ocurrido en o cerca del centrómero en los cromosomas Nos. 13 y 14. El rearreglo cromosómico presenta los brazos largos de ambos cromosomas separados por un centrómero cuyo origen puede haber sido de cualquier cromosoma. Ambos brazos cortos se han perdido.

VII. Material y Método.

Se realizó el análisis cromosómico en 145 niños después de una exploración e historia clínica, actividades que fueron realizadas por la Unidad de Genética Clínica en el Hospital Infantil de México (HIP) durante el período comprendido entre el 1ro de Mayo de 1983 al 30 de Abril de 1984. La edad de los pacientes estuvo comprendida entre 1 día después del nacimiento hasta 18 años con un promedio de 3.8 años.

El estudio cromosómico se realizó en linfocitos obtenidos del cultivo de sangre periférica siguiendo el método propuesto por Moohead (60) con algunas modificaciones.

Las laminillas fueron procesadas para obtener bandas-G. En los casos cuya finalidad era descartar alguna aberración del cromosoma X fueron precedidos siempre por el estudio de la cromatina sexual; en células de descamación de la mucosa oral siguiendo el procedimiento de Sanderson A.R., 1960 (citado por Yunis J.J., 1965) modificado.

- Pacientes en los que se realizó el estudio citogenético:

A) En recién nacidos vivos;

1.- Para confirmar el diagnóstico de una determinada cromosomopatía;

1.1 Para la trisomía 21;

a) cuando existió una historia positiva para este síndrome.

b) cuando la madre fué menor de 30 años.

c) cuando el afectado fué el primero-segundo hijo de una pareja menor de 30 años.

1.2 Para otras trisomías menos frecuentes, así como para aquellos casos "atípicos".

2.- Cuando estuvieron presentes tres o más malformaciones congénitas que involucraron diferentes órganos o sistemas.

3.- Cuando hubo genitales ambiguos.

4.- Cuando el paciente presentó un peso subnormal para la

edad gestacional y éste estuvo asociado a signos dismórficos.

5.- Cuando se sospechó la presencia de síndromes de anomalías recientemente definidas.

B) De lactantes a adolescentes;

1.- Con retraso en el crecimiento y desarrollo, asociado a signos dismórficos menores, que hicieron al paciente diferente de sus familiares.

2.- En casos de criptorquidia, hipospadias, testículos pequeños y/o ginecomastia en varones.

3.- En casos de niñas con talla baja y/o amenorrea primaria.

C) En circunstancias especiales;

1.- En parejas menores de 30 años cuyo único hijo con trisomía 21 haya fallecido sin habersele practicado cariotipo.

2.- Para detectar cromosoma Filadelfia (Ph; delección de la mitad del brazo largo del cromosoma 22, que generalmente se transloca a la parte terminal del brazo largo del cromosoma 9), para confirmar o integrar el diagnóstico de ciertas enfermedades como la leucemia mielocítica crónica.

3.- En padecimientos tales como;

-anemia de Fanconi -xeroderma pigmentoso

-ataxia telangiectasia -síndrome de Bloom

en los que hay inestabilidad estructural del DNA, que da como consecuencia rearreglos cromosómicos.

VIII. Cultivo de linfocitos.

El análisis cromosómico se efectuó con el cultivo de linfocitos - sanguíneos estimulados con fitohemaglutinina. Las células mitóticas, linfocitos-T (32), se obtuvieron en la etapa de metafase por la acción de colcemida y los cromosomas fueron dispersados mediante el uso de una solución hipotónica. Las células se fijaron con una solución metanol-acido acético (Fijador Carnoy) y se esparcieron sobre un porta - objetos.

1.- Técnicas de cultivo a corto plazo.

Las técnicas que utilizan un agente mitogénico para estimular la división celular de los leucocitos de la sangre periférica se describen dentro de los cultivos a corto plazo, siendo necesaria la aplicación de los procedimientos generales para el cultivo de tejidos.

Existen dos métodos de cultivo de sangre periférica, uno que utiliza plasma separado por sedimentación llamado macrocultivo y otro que utiliza sangre total aplicada en gotas denominado microcultivo. Para el desarrollo de este trabajo se utilizó este último método, cuyos pasos se describen a continuación.

2.- Técnica de microcultivo.

La muestra de sangre se toma de una vena periférica o por capilaridad, asepticamente. Estas son procesadas según la técnica de Moorhead (60) con algunas modificaciones. Es necesario para cada caso por lo menos 1.0 ml de sangre que permanece en jeringa previamente heparinizada (heparina amoniacal) hasta el momento de su cultivo.

2.1 Cultivo de linfocitos.

En tubos de cultivo de 5.0 ml con tapón, esteriles y conteniendo 4.0 ml de medio de cultivo se añadieron de 8 a 10 gotas de sangre total, homogenizada con agitación suave.

Se ajusta el Ph a 7.0-7.2 y se mantiene en este rango con HCL al 0.1 N o con CO₂.

En la práctica el medio de cultivo se prepara en lotes de 100 ml que son mantenidos en refrigeración a 4.0° C.

Composición del medio de cultivo;

- Medio de cultivo RPMI o MEM.....	81.5 ml
- Suero bovino fetal.....	15.0 ml
- Solución de fitohemaglutinina liofilizada, reconstituida con agua destilada.....	1.0 ml
- Solución de antibiótico y antimicótico (penicilina y estreptomycin) liofilizada, reconstituida con agua destilada.....	1.0 ml
- Solución de L-glutamina liofilizada, re- constituida con agua destilada.....	1.0 ml
- Solución de heparina amoniacal (equivalen- te a 1000 usp unidades por ml de heparina sodiacal).....	0.5 ml

Los tubos cerrados y sellados conteniendo medio de cultivo y las gotas de sangre añadidas se colocan cuidadosamente en posición inclinada dentro de una estufa a 37.0° C y se mantienen sin perturbar un lapso de 72 horas.

2.2 Cosecha de linfocitos.

2.2.1 Acumulación de mitosis.

Transcurridas 72 horas de incubación (87), se procede a detener el ciclo celular en metafase con la aplicación de 0.01 ml de colcemida a los cultivos en una concentración de 0.01 mg/ml. Los tubos se vuelven a incubar a la misma temperatura por un período de 1 1/2 hrs. Pasado este tiempo de exposición a la colcemida los medios se tratan como sigue.

2.2.2 Tratamiento hipotónico y fijación.

Se remueven las células del fondo del tubo de cultivo por agitación y se centrifuga a 900 rpm usando tubos cónicos de centrifuga de 40.0 ml.

Se desecha la mayoría del medio sobrenadante con la ayuda de una pipeta Pasteur, se rompe la sedimentación y después lentamente se resuspenden las células en 4.0 ml de solución hipotónica cuya composición es de KCl al 0.075 M con un Ph de 7.0 y una temperatura de 37.0° C, se agita y se vuelve a centrifugar a 900 rpm ahora durante 8 min.. Se desecha parte del sobrenadante (aproximadamente 2.0 ml) y se rompe la sedimentación, posteriormente se agregan 4.0 ml de fijador (3 par-

tes de metanol más una de ácido acético) cuidando de adicionarlo por las paredes del tubo. Se homogeniza la solución y se centrifuga a 900 rpm durante 4 min., se desecha lo más posible de sobrenadante dejando a proximadamente 0.5 ml de solución, y el "boton" de células no alterado en el fondo del tubo de la centrifuga. Se agregan otros 4.0 ml. de fijador al sobrenadante, se rompe el boton por agitación con pipeta Pasteur y se centrifuga nuevamente a 900 rpm durante 4 min. Se retira el sobrenadante hasta dejar aproximadamente 0.5 ml de solución a la que se le agregan 0.5 ml de fijador, solución final en la que se resuspenden las células.

2.2.3 Separación.

La separación de las células sobre las laminillas puede ser hecha inmediatamente concluida la fijación o después de cierto tiempo, o aún después de varios días (si los tubos se mantuvieron en refrigeración).

Las laminillas previamente marcadas y pre-limpiadas, se mantienen hasta el momento en metanol para tener una superficie libre de grasas, se pasan a un recipiente conteniendo agua a 4.0° C. Se toma una laminilla y se sacude el exceso de agua para permitir solamente una delgada película de agua. Con una pipeta Pasteur conteniendo las células suspendidas en fijador, se dejan caer 3 gotas separadas a lo largo de la laminilla desde una altura de 5 a 10 cm. Finalmente estas laminillas son "lavadas" con solución fijadora.

El secado de las laminillas se realiza en un lapso de 30 a 60 segundos al aire.

Aunque la mayoría de los detalles no se consideran críticos, las metafases bien extendidas parecen depender de las fuerzas de tensión de la superficie implicadas durante el secado de las laminillas. Consecuentemente los cambios sucesivos de fijador, el buen lavado de las laminillas, y la rapidez del secado son factores importantes en el logro de una buena separación y unión de las células y cromosomas a la superficie de la laminilla.

3.- Tinción de las laminillas.

3.1 Tinción homogénea.

La tinción puede hacerse inmediatamente después de la obtención de las laminillas, si éstas se pasan rápidamente por la flama de un mechero, aunque es más conveniente realizarla después de que éstas han estado sometidas a un proceso de deshidratación por un período de 72 hrs a 37° C.

El colorante principalmente usado es la solución de Giemsa, la cual es preparada en diferentes formas dependiendo del fabricante.

La composición de la solución madre usada fué la siguiente;

- colorante de Wright 0.3 g
- colorante de Giemsa 0.2 g
- alcohol metílico 99.5 ml

Otros colorantes usados son orceína, azul de toluidina, azul unna, violeta de cristal, etc.

Una segunda solución empleada fué la siguiente;

- 5.0 ml de solución Buffer de fosfatos 15 M
a pH de 7.9 ± 0.02 a 25° C.
- 95.0 ml de agua destilada.

La solución de colorante de Giemsa que se usa o solución trabajo , se prepara tomando 1.0 ml de solución madre mezclada con 4.0 ml de la solución Buffer diluida. Esta nueva solución Giemsa-Buffer se agita y se agrega a la superficie de la laminilla. Posteriormente se enjuaga con agua común durante unos segundos, se seca por aereamiento a temperatura ambiente y en seguida se observa la microscopio de luz.

3.2 Bandas-G

El patrón característico de bandas transversales puesto de manifiesto con el colorante de Giemsa después de un tratamiento especial de las laminillas es obtenido por diferentes técnicas. La mayoría de éstas pueden agruparse en una de las dos siguientes clases;

- a) bandas-G obtenidas por el empleo de enzimas de acción proteolítica.
- b) bandas-G obtenidas por tratamiento iónico; técnica ASG (ácido-salina-Giemsa o alcalina-salina-Giemsa).

El método practicado consiste en el empleo de solución de tripsina, siguiendo el método de Seabright (79) con algunas modificaciones.

Preparación de soluciones;

Solución I;

- 5.0 g de tripsona Difco (1;250)
- 0.5 ml de NaOH al 1.0 N
- 1.0 litro de agua destilada

Solución II;

- 18.28 g de NaCl
- 0.86 g de KCl
- 0.23 g de NaHPO_4
- 6.9 g de Trizma (81)(Buffer) a Ph de 7.9
- 1.0 litro de agua destilada

mezclar solución I con solución II, en una relación 1;1, el Ph deber ser de 7.2 a 7.3.

Congelar en alicuotas de 7.0 ml.

Solución A;

- 50.0 ml de NaCl (9g/l), con Ph de 7.0 a 37.0° C.

Solución B;

- 7.0 ml de la mezcla de solución I y II (alícuota congelada), aforada a 50 ml con NaCl (9 g/litro de agua) a 37.0° C.

Las laminillas previamente deshidratadas (de preferencia) durante un lapso de 72 hrs a 37.0° C se introducen a una caja Koplein que contiene la solución B de tripsina a una temperatura de 37.0° C durante 1 min. a 3 min.. Se enjuaga en la solución salina (solución A) y se tñe con la solución de trabajo de Giemsa (solución de Giemsa-Buffer empleada para la tinción homogénea), durante 2 a 6 min. a temperatura ambiente. Si no se obtiene el bandeo deseado, se aumenta o disminuye el tiempo de acción de la tripsina así como del colorante según nuestra experiencia.

IX. Criterios para la clasificación de los resultados del análisis citogenético.

La descripción del análisis cromosómico fué basada en la nomenclatura de la Conferencia de París propuesta en 1971 y modificada en 1975.

Para fines de poder comparar nuestros resultados, se recopilaron 15 estudios realizados en poblaciones referidas para análisis citogenético. Los resultados de tales estudios (Tablas 7,8,9 y 10), al igual que los del presente trabajo están ordenados bajo los mismos criterios que a continuación se mencionan;

a) las anomalías consideradas como dobles alteraciones cromosómicas comprenden aquellas donde las dos alteraciones sean in dependientes y no condicionen un mismo cuadro, ejem;

46,XX ó XY,t(13;14)+21

b) en los casos incluidos bajo el término de "Otras translocaciones" están aquellas translocaciones que no condicionen una trisomía 21,18,13 u otra.

c) los mosaicos no son considerados como doble alteración.

d) en los síndromes caracterizados por presentar inestabilidad cromosómica y, por lo tanto, en los que se pueden encontrar diferentes tipos de alteraciones cromosómicas (numéricas, estructurales o ambas) no son considerados como dobles alteraciones.

e) la clasificación de Alteraciones en heterocromosomas (cromosomas sexuales) fué tomada de Armendares S. y cols,1976 (4).

f) en los casos con intersexo fenotípico en los que el fenotipo o sexo asignado no correspondió con el genotipo, y que se demostró la existencia de un síndrome de feminización testicular o la presencia de varones XX, han sido tomados como alteraciones cromosómicas.

g) los casos en los que se encontró únicamente polimorfismo no han sido considerados como alteraciones cromosómicas.

h) las frecuencias de alteraciones cromosómicas indicadas en la

Tabla 7, son una modificación de las reportadas en los trabajos originales (Tablas 15 y 16). En esta modificación se han excluido hasta donde ha sido posible aquellos casos reportados que corresponden a; abortos, adultos o personas fenotípicamente normales donde no se sospechó una alteración cromosómica.

Estos criterios y modificaciones tienen como objetivo unificar en lo posible las diferentes poblaciones analizadas para poder realizar comparaciones entre ellas así como para obtener la incidencia que comprenda a las 16 poblaciones constituidas por infantes referidos para estudio citogenético.

X. Resultados.

El estudio citogenético en el período 1983-84 comprendió a 145 pacientes de los cuales en 77 (53.1 %) se encontró alguna anomalía cromosómica o bien un cariotipo no correspondiente a su sexo. Al clasificar los resultados obtenidos, se pudo distinguir dos grandes grupos que fueron; 1) Alteraciones de los autosomas, y 2) Alteraciones de los cromosomas sexuales, los cuales se muestran en la Tabla 2.

1.- Alteraciones en autosomas.

Aneuploidías.

a) Trisomía 21.

De los 77 casos con alteración cromosómica en 46 (59.4 % de la población total) se halló la presencia de una trisomía 21, de estos en 43 (55.8 %); 18 mujeres y 25 varones, el tipo de trisomía fué libre, fig. 12, de los 3 casos restantes (2.6 %); una niña y dos varones presentaron una translocación que en dos de ellos fué 21;21 con las siguientes fórmulas cromosómicas; 46,XY,t(21;21)(q11;q11)+21, fig. 13, y 46,XX,t(21;21)(q22;q22)+21, fig. 14. En el último la translocación fué 14;21 cuya fórmula cromosómica correspondiente fué; 46,XY,t(14;21)(q11;q11)+21, fig. 15. El estudio citogenético de los padres comprobó que éstas correspondían a translocaciones de novo.

b) Trisomía 18.

En 6 casos que corresponden al 7.8 % de todas las alteraciones cromosómicas, se encontró la presencia de una trisomía 18. En todos fué de tipo libre y de sexo femenino; 47,XX+18, fig. 16.

c) Trisomía 13.

En un solo caso (1.3 %) se encontró un cromosoma 13 supernumerario, su fórmula cromosómica fué; 47,XY+13, fig. 17.

d) Otras trisomías.

Un cuarto tipo de trisomía observada se presentó en un caso (1.3 %), también fué de tipo libre y correspondió a una niña; 47,XX+9 (trisomía 9), fig. 18.

Alteraciones Estructurales.

a) Deleciones "simples".

Se estudiaron dos casos cuyo fenotipo era sugestivo del síndrome de cri-du-chat. El cariotipo en ambas pacientes fué; 46,XX,5p- , figura 19.

b) Trisomía parcial.

Un varón estudiado reveló en el análisis citogenético una trisomía parcial del brazo corto de una de los cromosomas 9; 46,XY,9p+. Este caso representa el 1.3 % de todas las alteraciones cromosómicas, fig. 20.

c) Otras translocaciones.

En un caso se encontró una translocación balanceada que fué de tipo familiar; 45,XY,t(13;14)(q11;q11), fig. 21. Los portadores de ésta fueron el padre y uno de los hermanos del propositus.

d) Alteraciones no específicas.

De los pacientes referidos con el diagnóstico de anemia de Fanconi en 3 de ellos (3.9 %), todos hermanos, se detectó la presencia de patrones citogenéticos anormales que correspondieron a rompimientos , brechas y otras alteraciones , fig. 22.

2.- Alteraciones en cromosomas sexuales.

El análisis de aquellos pacientes en los que se sospechó una alteración de los cromosomas sexuales, mostró la presencia de ésta en 16 casos, lo que representa el 20.1 % de la totalidad de casos estudiados cromosómicamente.

Aneuploidias.

a) Sin cromosoma Y.

La alteración del complemento sexual correspondiente a la fórmula cromosómica 45,X (síndrome de Turner), fig. 23, se encontró en 4 casos, que correspondió al 5.2 % de la población estudiada.

b) Con cromosoma Y.

Se detectó a un paciente (1.3 %) cuya cromatina X mostró tres corpúsculos de Barr. El análisis del cariotipo indicó la presencia de una variante del síndrome de Klinefelter; 49.XY+XXX, fig. 24.

Mosaicos.

a) Sin cromosoma Y.

Hubo un caso (1.3 %) en el que se detectaron 2 líneas celulares, una normal XX, y otra en la que había ausencia de uno de los cromosomas X; 46,XX/45,X.

b) Con cromosoma Y.

En este grupo quedó comprendido un caso 46,XY/45,X, que correspondió al 1.3 % de la totalidad de alteraciones cromosómicas.

Alteraciones estructurales del cromosoma X.

a) Sin mosaico.

En una niña con talla baja proporcionada somáticamente en la que la cromatina X resultó positiva pero donde el corpúsculo de Barr era más pequeño, se detectó un isocromosoma del brazo largo de uno de los dos cromosomas X; 46,X,i(Xq), fig. 25.

Complemento normal.

En este grupo se han incluido aquellos casos referidos por intersexo fenotípico y cuyo cariotipo no correspondió al sexo fenotípico asignado. De los 8 casos encontrados los resultados fueron los siguientes;

a) 5 (6.5 %) mostraron una fórmula cromosómica 46,XY y un síndrome de feminización testicular.

b) 3 (3.9 %) mostraron una fórmula cromosómica 46,XX y fueron varones fenotípicamente.

Tipo de alteración	Sexo Fenotípico				Total	
	♀		♂			
	No.casos	%	No.casos	%	No.casos	%
En autosomas						
+21	18	23.4	25	32.4	43	55.8
t(14;21)(q11;q11)+21			1	1.3	1	1.3
t(21;21)(q11;q11)+21			1	1.3	1	1.3
t(21;21)(q22;q22)+21	1	1.3			1	1.3
+18	6	7.8			6	7.8
+13			1	1.3	1	1.3
+9	1	1.3			1	1.3
5p-	2	2.6			2	2.6
t(13;14)(q11;q11)			1	1.3	1	1.3
9p+			1	1.3	1	1.3
rompimientos			3	3.9	3	3.9
total					61	79.2
En heterocromosomas						
45,X	4	5.2			4	5.2
49,XXXXY			1	1.3	1	1.3
46,XX/45,X	1	1.3			1	1.3
46,XY/45,X			1	1.3	1	1.3
46,X,t(Xq)	1	1.3			1	1.3
46,XY	5	6.5			5	6.5
46,XX			3	3.9	3	3.9
total					16	20.8
TOTAL	39	50.7	38	49.3	77	100.0

Tabla 2. Tipos y frecuencias de las diferentes alteraciones cromosómicas encontradas de 1963-84 en el HIM.

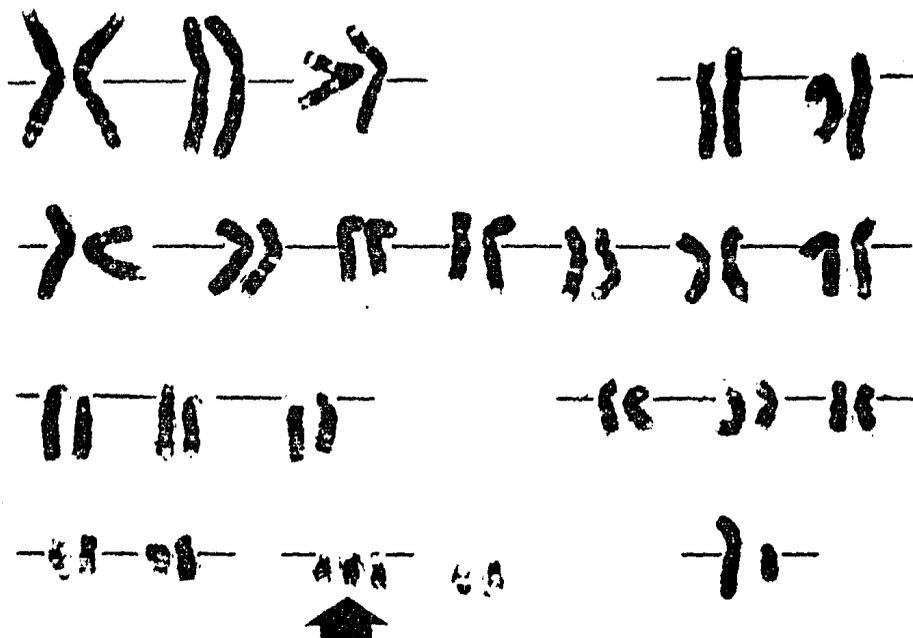
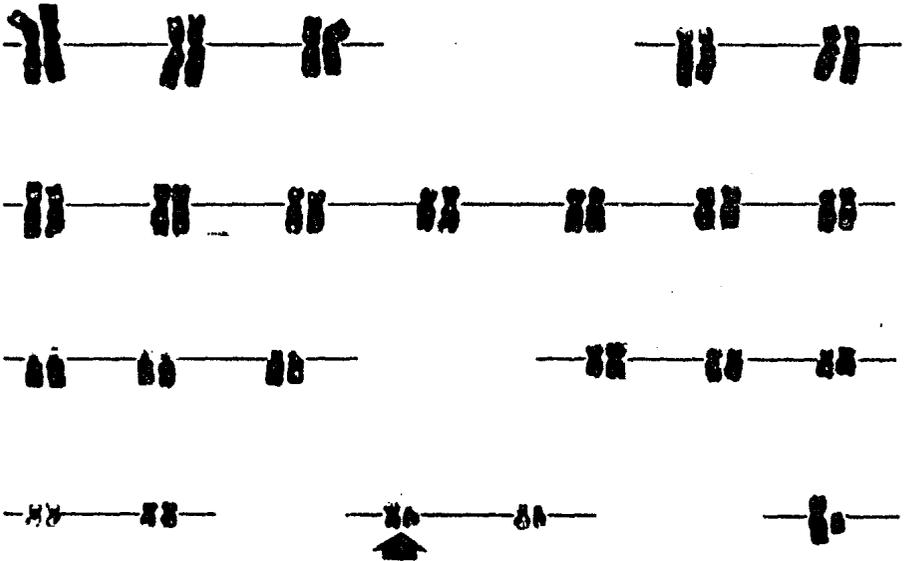


Fig. 12. Cariotipo de un paciente masculino con síndrome de Down o trisomía 21 libre o "regular" ; 47,XY+21.



UNIDAD DE GENETICA CLINICA
HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO

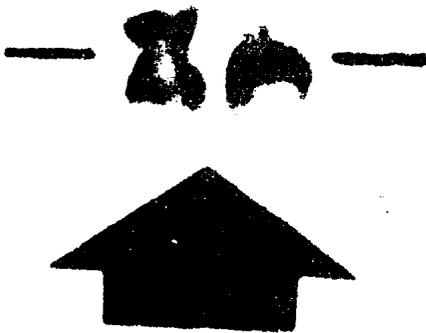


Fig. 13. Cariotipo de un paciente masculino con síndrome de Down o trisomía 21 por translocación entre los brazos largos de los cromosomas 21;

46,XY,t(21;21)(q11;q11)+21.

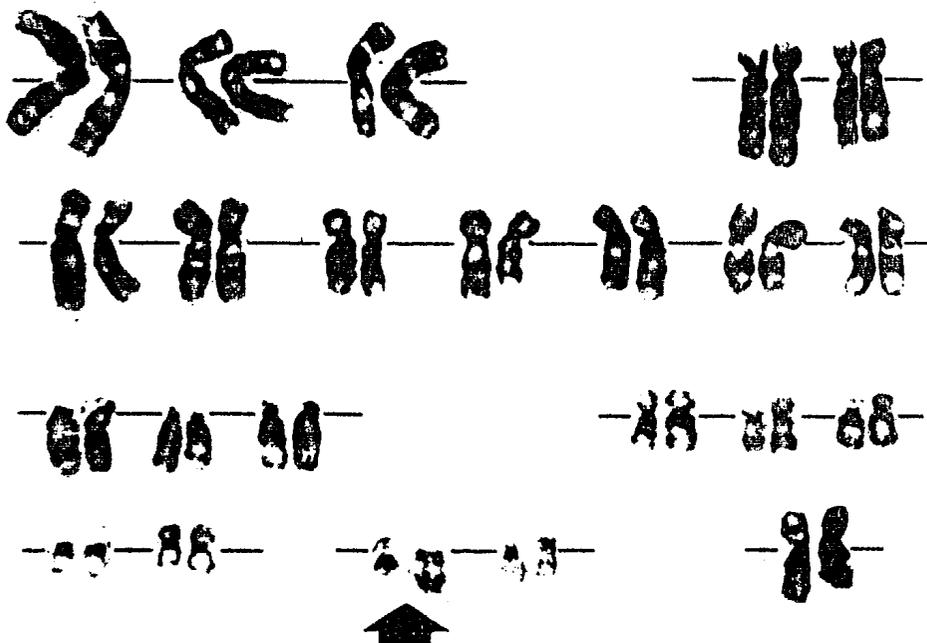


Fig. 14. Cariotipo de una paciente con síndrome de Down o trisomía 21 por translocación en tre los brazos largos de los cromosomas 21;

46,XX,t(21;21)(q22;q22)+21.

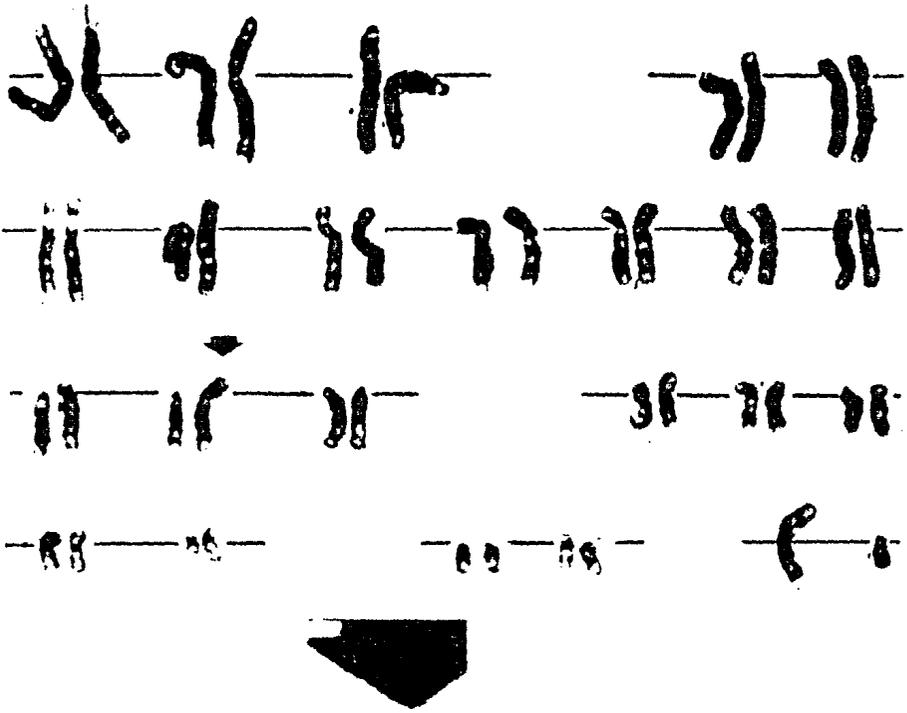
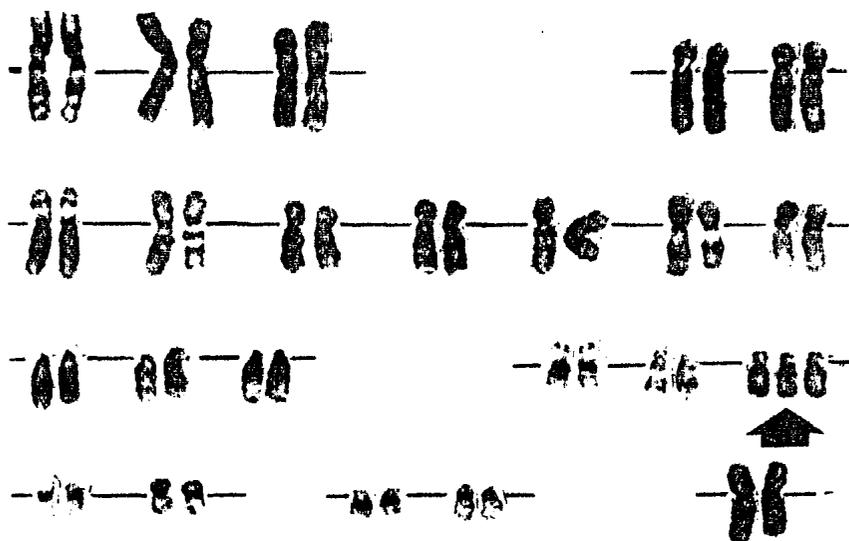


Fig. 15. Cariotipo de un paciente masculino con síndrome de Down o trisomía 21 por translocación entre los cromosomas 14 y 21;

$46,XY,t(14;21)(q11;q11)+21.$



Fig. 16. Cariotipo y cariograma de una paciente femenina mostrando una trisomía 18 o síndrome de Edwards; 47,XX+18.



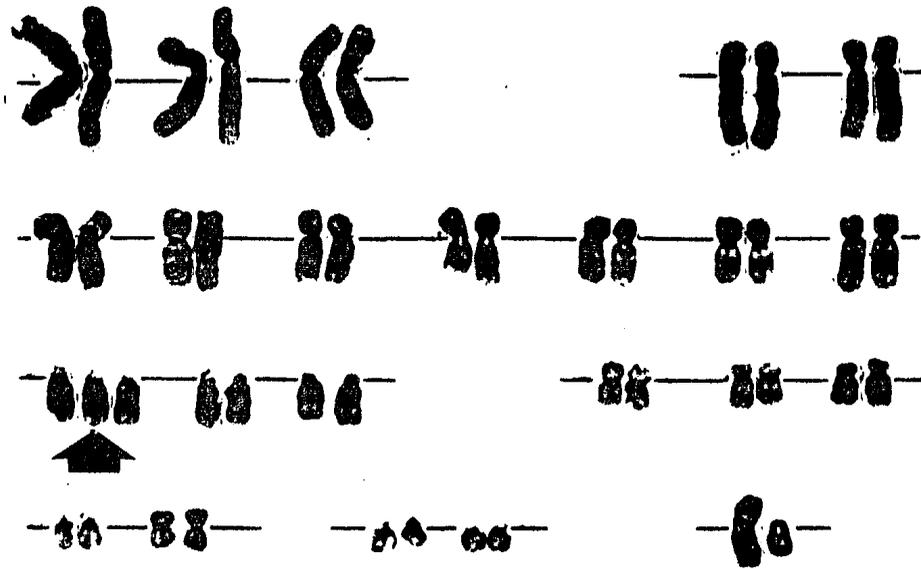


Fig. 17. Cariotipo perteneciente a un paciente masculino con síndrome de Patou o trisomía 13; 47,XY+13.

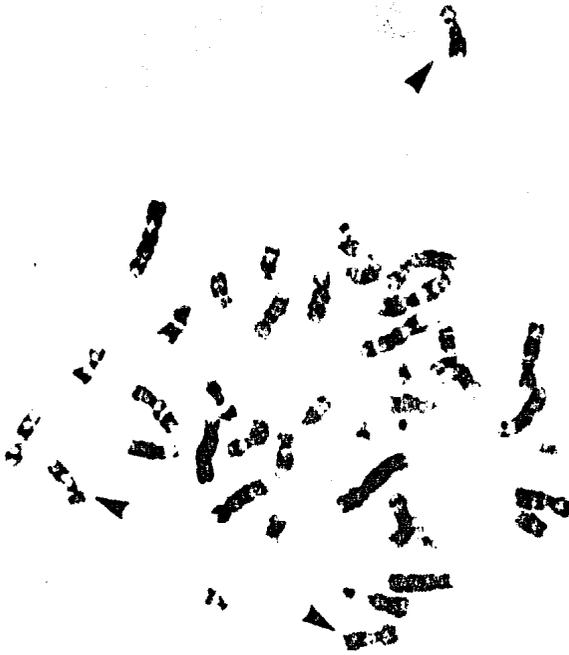
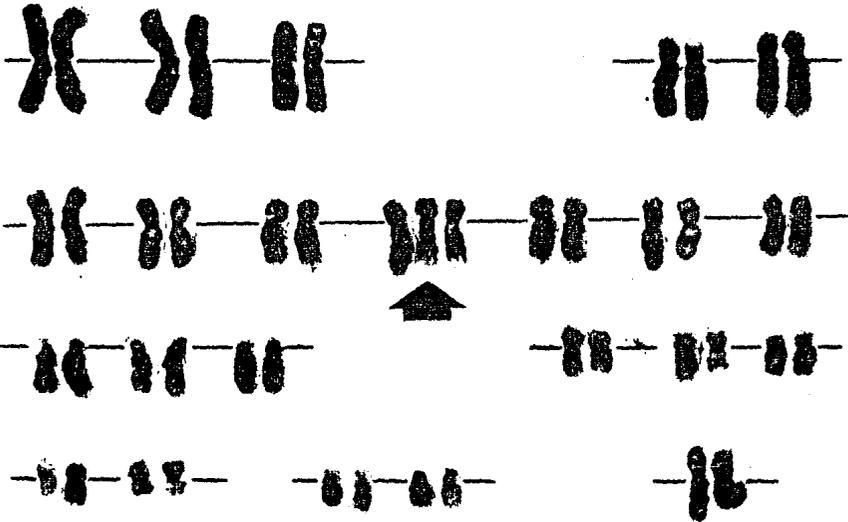


Fig. 18.
Cariotipo y
cariograma de una
paciente femenina
mostrando una tri-
somia del cromoso-
ma 9; 47,XX+9.



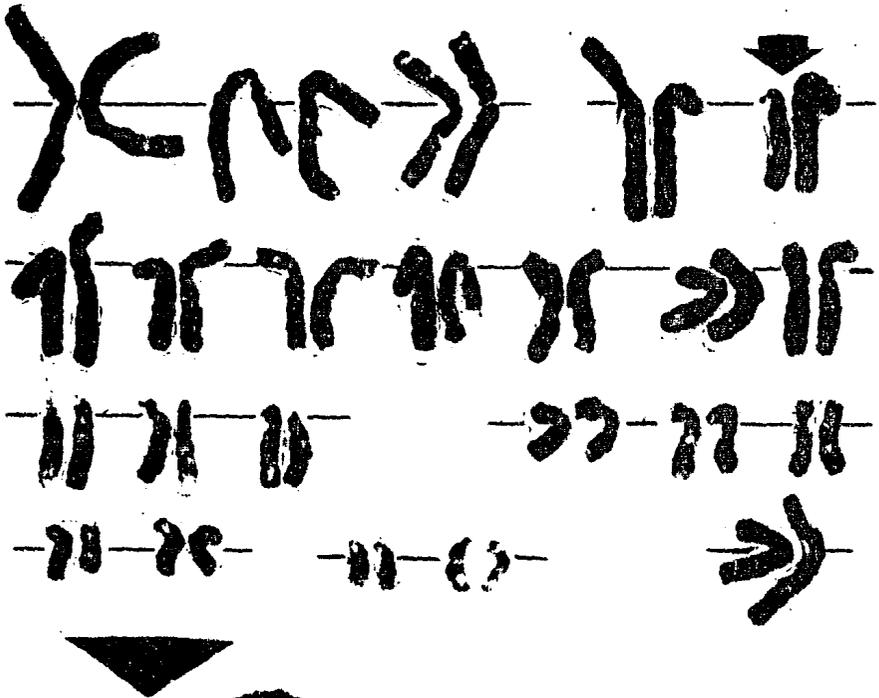


Fig. 19. Cariotipo correspondiente a una niña con síndrome de cri-du-chat o 5p-;

46,XX,5p-

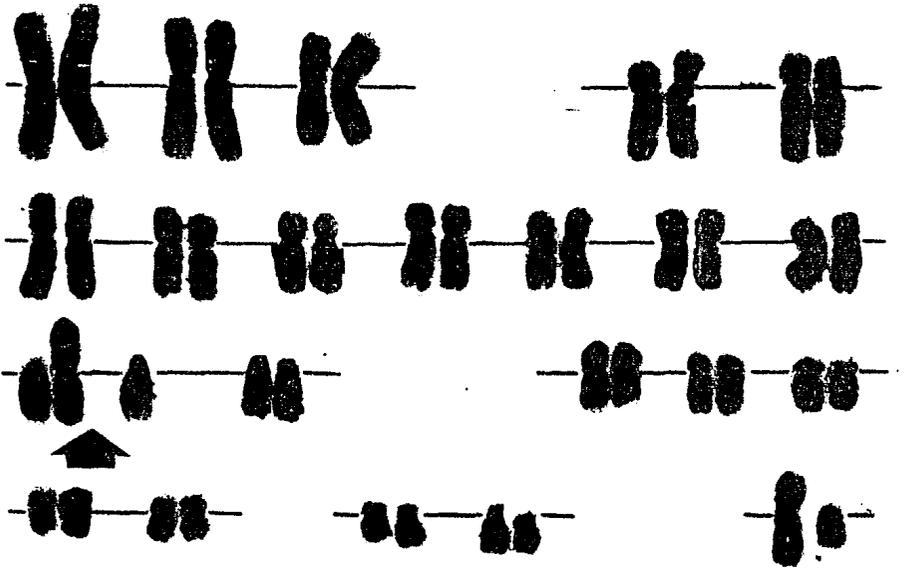


Fig. 21. Cariotipo perteneciente a un paciente masculino con una translocación Robertsoniana entre un cromosoma 13 y un 14;

45,XY,t(13;14)(q11;q11).



Fig. 22. Cariotipo de un paciente masculino con anemia de fanconi, mostrando rompimientos en cromátides.

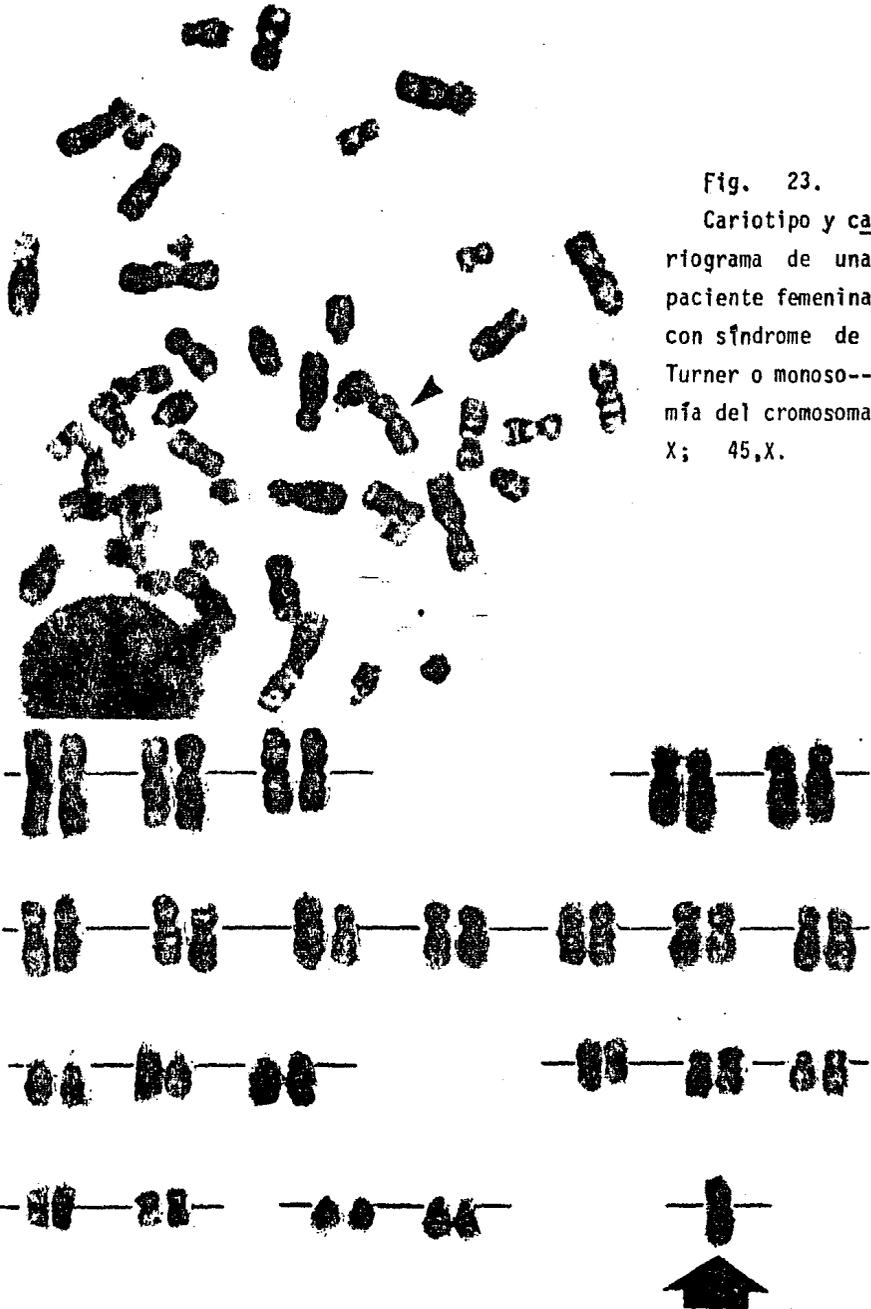


Fig. 23.

Cariotipo y ca-
riograma de una
paciente femenina
con síndrome de
Turner o monoso-
mía del cromosoma
X; 45,X.

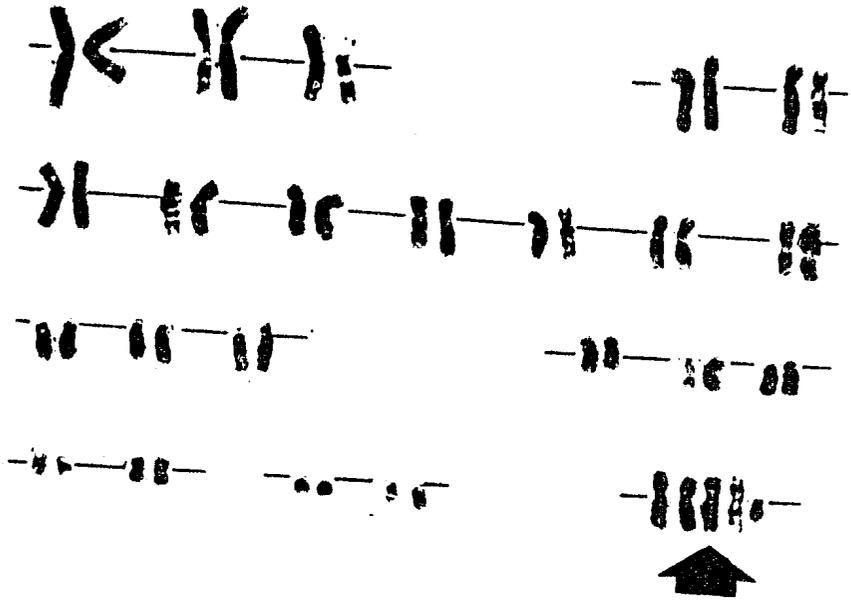


Fig. 24. Cariograma y cariotipo de un paciente con una variante del síndrome de Klinefelter; 49,XXXXY.

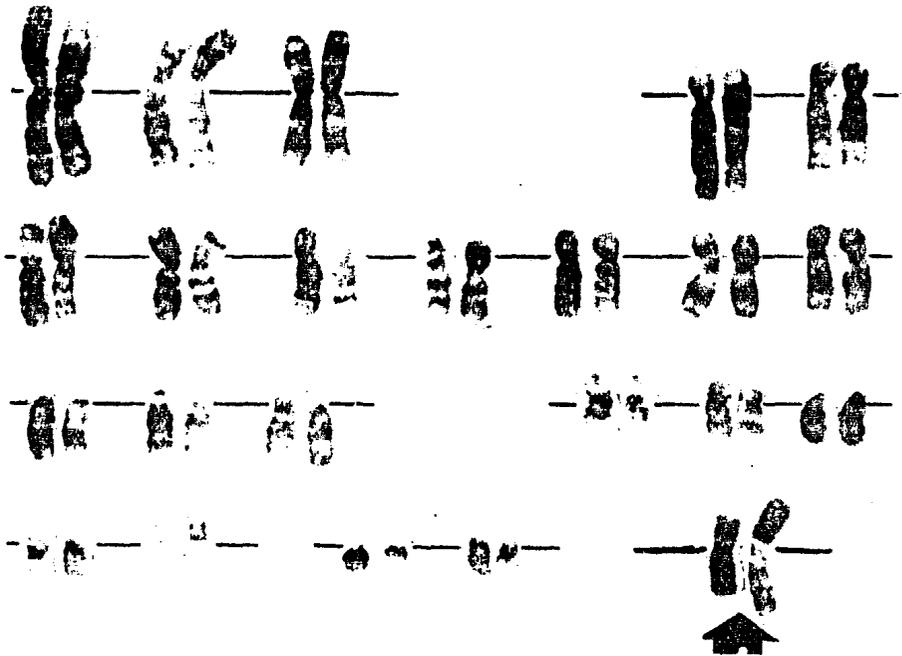


Fig. 25. Cariotipo correspondiente a una niña con una variante del síndrome de Turner: isocromosoma de brazo largo de uno de los cromosomas X;
46,X,i(Xq).



XI. Discusión.

La investigación citogenética ha demostrado que las anomalías cromosómicas son causa frecuente e importante de abortos de repetición, retraso mental, desarrollo sexual anormal y múltiples anomalías congénitas todo lo cual ha ayudado a establecer los criterios para la realización del análisis cromosómico. En México no hay reportes que conjunten los hallazgos citogenéticos de diferentes poblaciones infantiles referidas para estudio citogenético, es por ello que este trabajo está orientado en este sentido y tiene como objetivos; (a) determinar si la incidencia de alteraciones cromosómicas encontrada en la Unidad de Genética Clínica del HIM varía a lo largo de 5 años, (b) poner de manifiesto si las alteraciones cromosómicas, tanto en número como en estructura, son diferentes a las encontradas en otros laboratorios nacionales y extranjeros, y (c) obtener con la conjunción de los diferentes estudios en poblaciones infantiles referidas una frecuencia para las alteraciones cromosómicas en general.

El análisis de las incidencias de cada uno de los 4 años que precedieron al período 1983-84, Tabla 3, indica por una parte que no ha sido constante y por otra que se ha incrementado en los últimos años sin que aparentemente el número de pacientes analizados disminuyera, esto pone de manifiesto que la población estudiada estuvo sometida a criterios selectivos perfeccionados.

El amplio rango de diferencia (25.5 %) que existe entre el valor mínimo y el máximo en las frecuencias de alteraciones cromosómicas detectadas, evidencia que los hallazgos encontrados en un año podrían no ser suficientemente adecuados como referencia para estudios prospectivos realizados en otras poblaciones infantiles referidas así como tampoco sería adecuada la comparación, con los resultados de algún otro que haya abarcado un mayor tiempo y una población infantil referida mayor. Es por esta razón que los resultados obtenidos en el período 1983-84, se han conjugado con los obtenidos en el mismo laboratorio 4 años antes, Tabla 4, de tal manera que los datos correspondientes a un período de 5 años (1979-84), son en este sentido más confiables para

	1979-80	1980-81	1981-82	1982-83	1983-84	1979-83	1979-84
Total de propositus	152 (100)	125 (100)	120 (100)	116 (100)	145 (100)	513 (100)	659 (100)
mujeres fenotípicamente	72 (47.4)	57 (45.6)	62 (51.6)	59 (50.9)	74 (51.0)	250 (48.7)	324 (49.2)
hombres fenotípicamente	80 (52.6)	68 (54.4)	58 (48.4)	57 (49.1)	71 (49.0)	263 (51.3)	334 (50.8)
Total de propositus sin alt. cromosómica.	110 (72.4)	76 (62.4)	74 (61.7)	54 (46.6)	68 (46.9)	315 (61.4)	384 (58.4)
Total de propositus con alt. cromosómica.	42 (27.6)	47 (37.6)	46 (38.3)	62 (53.4)	77 (53.1)	198 (38.6)	274 (41.6)
Total de propositus con alt. en autosomas.	33 (78.6)	38 (80.9)	34 (73.9)	47 (75.8)	61 (79.2)	152 (76.8)	213 (77.7)
Total de propositus con alt. en heterocromosomas.	9 (21.4)	9 (19.1)	12 (26.1)	15 (24.2)	16 (20.6)	45 (22.7)	61 (22.3)

Tabla 3. Número de pacientes estudiados e incidencia general de alteraciones cromosómicas detectadas en cada año durante un lapso de cinco años. Los números entre parentesis corresponden a los porcentajes.

Alteraciones en autosomas	1979-83	%	1983-84	%	1979-84	%
Trisomía 21	132	67.0	46	59.7	178	65.0
Trisomía 18	2	1.0	6	7.8	8	2.9
Trisomía 13	2	1.0	1	1.3	3	1.1
Otras trisomías	-		1	1.3	1	0.4
Deleciones "simples"	6	3.0	2	2.6	8	2.9
Otras translocaciones	3	1.5	1	1.3	4	1.5
Otro	7	3.6	4	5.2	11	4.0
total	152	77.2	61	79.2	213	77.7
Alteraciones en heterocromosomas	45	22.8	16	20.8	61	22.3
Total de alteraciones cromosómicas	197	100.0	77	100.0	274	100.0

Tabla 4. Frecuencias de alteraciones en autosomas y heterocromosomas con respecto a la incidencia total de alteraciones cromosómicas en diferentes períodos en un lapso de 5 años.

poder ser comparados con los reportados por otros estudios.

El estudio cromosómico efectuado en el lapso de 5 años (1979-84) comprendió a 658 pacientes de edad infantil cuyo sexo fenotípico correspondió al 49.2 % para individuos femeninos y al 50.8 % para individuos masculinos. Esta relación de 1:1 se observó durante cada uno de los 5 años, Tabla 3.

La incidencia de alteraciones cromosómicas en el período de 5 años fué de 41.6 % que correspondió a 274 niños de los 658 referidos, Tabla 4. Las Tablas 5 y 6 indican las frecuencias y fórmulas cromosómicas de los 274 niños que presentaron anomalía cromosómica.

En la Tabla 7 se refieren diversas investigaciones efectuadas en poblaciones infantiles referidas para estudio citogenético, las Tablas 8 y 9 muestran un análisis más detallado derivado de los estudios mencionados en la Tabla 7.

La recopilación de varios estudios, Tabla 7, muestra que la frecuencia de alteraciones cromosómicas encontrada en infantes referidos para estudio citogenético es del 30 %; frecuencia que comparada con la obtenida en el Hospital Infantil de México (HIM) en el período de 5 años (41.6 %) es menor, dicha diferencia se acentúa si se compara

Tipo de alteración	♀	♂	Número total	%
Aneuploidías				
+21	57	105	162	} 178 83.6
t(14;21)(q11;q11)+21	6	4	10	
t(21;21)(q11;q11)+21	2	3	5	
t(21;21)(q22;q22)+21	1		1	
+18	8	8	8	
+13	1	2	3	} 3 1.4
+9	1		1	} 1 0.5
Deleciones "simples"				
5p-	2	1	2	} 8 3.7
4p-			1	
18p-	1	1	1	
21p-			1	
22p-	1		1	
14p-	1		1	
22q- 9p+	1		1	
Otras translocaciones				
t(13;14)(c11;q11)		2	2	} 4 1.9
t(3;12)(q29;q13)		1	1	
t(0p;14p)		1	1	
Otro				
rompimientos	1	6	7	} 11 5.1
9p+		1	1	
8p+	1		1	
PI	1	1	1	
+ pequeño metacentrico	1		1	
Total	85	129	213	100.0

Tabla 5. Tipos y frecuencias de las anomalías en cromosomas autosómicos en 213 pacientes encontrados en el período de 1979-84 en el HIM.

Tipo de alteración	No. total	%	
Aneuploidías			
a) Sin cromosoma Y	45, X	24	} 39.3
b) Con cromosoma Y	49, XXXXY	3	
	47, XXY	1	
	47, XYY	1	} 8.2
Mosaicos			
a) Sin cromosoma Y	46, XX/45, X	4	} 6.8
b) Con cromosoma Y	46, XY/45, X	2	
	47, XXY/48, XXXY/49, XXXXY	1	} 6.5
	46, XY/46, XX	1	
Alteraciones estructurales del cromosoma Y			
a) Sin mosaico	46, X,r(X)	2	} 13.1
	46, X, f(Xq)	5	
	46, XY, t(Xp::21p)	1	
b) Con mosaico	46, X, r(X)/45, X	1	} 3.3
	46, X, f(Xq)/45, X	1	
Alteraciones estructurales del cromosoma X			
a) Sin mosaico	- - - - -		} 1.6
b) Con mosaico	46, XYq-/45, X	1	
Complemento normal			
a) mujer	46, XY	7	} 11.5
b) varón	46, XX	6	
Total		61	100.0

Tabla 6. Tipos y frecuencias de las alteraciones en heterocromosomas en 61 pacientes encontrados en el período de 1979-84 en el HIM.

Cita	Tiempo años (período)	No. de casos y índice	No. de casos índice con alt. crom.	Alteración en:		Aut.-Aut.	Aut.-Het.	Total
				Aut.	Het.			
Harkany J. 1964	3 (1961-1963)	218	63 (28.9)	51 (81)	12 (19)	—	—	63 (100)
Destine M.L. y cols 1966	4	998	80 (13.4)	63 (81.25)	14 (17.5)	—	1 (1.25)	80 (100)
Armederos S. y cols 1976	10 (1965-1975)	2242	764 (34.1)	600 (78.5)	160 (20.9)	2 (0.3)	2 (0.3)	764 (100)
Dharwad R.S. y cols 1977	?	447	126 (28.2)	93 (73.8)	32 (25.4)	1 (0.8)	—	126 (100)
Zieff S. y cols 1978	6 (1971-1977)	579	152 (26.3)	141 (92.8)	11 (7.2)	—	—	152 (100)
Ram S.V. y cols 1980	6 (1974-1979)	334	92 (27.5)	73 (79.3)	17 (18.5)	1 (1.1)	1 (1.1)	92 (100)
Kinter R.H. y cols 1980	3 (1977-1979)	140	60 (42.9)	57 (95.0)	3 (5.0)	—	—	60 (100)
Méhes K. y cols 1981	4 (1978-1981)	285	89 (31.2)	76 (85.4)	13 (14.6)	—	—	89 (100)
Nielsen J.D. y cols 1981	12 (1967-1978)	616	206 (33.4)	167 (81.1)	39 (18.9)	—	—	206 (100)
Nielsen J.D. y cols 1981	12 (1967-1978)	6417	1426 (22.2)	1231 (86.3)	195 (13.7)	—	—	1426 (100)
Carnvalga A. y cols 1981	10 (1971-1980)	2122	802 (38.0)	763 (95.1)	39 (4.8)	—	—	802 (100)
Nielsen J.D. y cols 1982	12 (1967-1978)	368	104 (28.2)	85 (81.7)	17 (16.3)	1 (1.0)	1 (1.0)	104 (100)
Konstolanyi G. 1982	8 (1973-1980)	692	199 (28.7)	165 (82.9)	34 (17.1)	—	—	199 (100)
Armederos S. y cols 1982	14 (1966-1981)	573	181 (31.6)	139 (76.8)	42 (23.2)	—	—	181 (100)
Relief A.E. y cols 1983	3 (1977-1979)	2129	866 (40.7)	840 (97.0)	26 (3.0)	—	—	866 (100)
Este estudio 1984	5 (1979-1984)	658	274 (41.6)	213 (77.7)	61 (22.3)	—	—	274 (100)
Gran Total		18418	5498 (29.8)	4739 (86.3)	736 (13.4)	8 (0.1)	6 (0.1)	5489 (100)

Tabla 7. Incidencia general de alteraciones cromosómicas en 16 poblaciones de infantes referidos para estudio citogenético.
Los números entre parentesis corresponden a los porcentajes.

Cita	T-21	T-18	T-13	Otras trisomías	Deleciones "parigra"	Otras translocaciones	Anillos	Otro	Total
Warkany J. 1964	38 (74.5)	7 (13.7)	1 (2.0)	—	—	—	—	5 (9.8)	51 (100)
Destine M.L. y cols 1966	62 (93.0)	4 (6.1)	—	—	—	—	—	—	66 (100)
Arrendares S. y cols 1976	215 (85.0)	27 (4.5)	8 (1.3)	3 (0.5)	19 (3.1)	15 (2.3)	4 (0.7)	16 (2.6)	606 (100)
Dharwad N.S. y cols 1977	64 (67.4)	6 (6.3)	4 (4.2)	—	9 (9.5)	1 (1.0)	—	11 (11.6)	95 (100)
Zieff S. y cols 1978	129 (91.5)	1 (0.7)	2 (1.4)	2 (1.4)	2 (1.4)	2 (1.4)	—	3 (2.1)	141 (100)
Ran S.V. y cols 1980	62 (81.6)	1 (1.3)	—	1 (1.3)	—	2 (2.6)	1 (1.3)	9 (11.8)	76 (100)
Winter R.M. y cols 1980	48 (84.2)	3 (5.2)	1 (1.8)	1 (1.8)	3 (5.2)	—	—	1 (1.8)	57 (100)
Méhes K. y cols 1981	53 (82.9)	—	—	—	—	—	13 (17.1)	—	76 (100)
Nielsen J.D. y cols 1981	120 (71.8)	13 (7.8)	3 (1.8)	—	—	—	31 (8.6)	—	167 (100)
Nielsen J.B. y cols 1981	936 (76.0)	45 (3.7)	15 (1.2)	—	—	—	235 (49.1)	—	1231 (100)
Carnevale A. y cols 1981	668 (89.1)	9 (1.2)	4 (0.5)	1 (0.1)	29 (3.9)	15 (2.0)	3 (0.4)	21 (2.8)	750 (100)
Nielsen J.D. y cols 1982	60 (68.2)	10 (11.4)	2 (2.3)	1 (1.1)	4 (4.5)	6 (8.6)	1 (1.1)	4 (4.5)	88 (100)
Kosztolanyi G. 1982	140 (84.9)	8 (4.8)	5 (3.0)	1 (0.6)	1 (0.6)	—	—	10 (5.5)	165 (100)
Arrendares S. y cols 1982	127 (91.4)	4 (2.9)	1 (0.7)	—	6 (4.3)	1 (0.7)	—	—	139 (100)
Retief A.E. y cols 1983	669 (79.6)	65 (7.7)	15 (1.8)	—	—	—	91 (10.9)	—	840 (100)
Iste estudio 1984	178 (83.6)	8 (3.7)	3 (1.4)	1 (0.5)	8 (3.7)	4 (1.9)	—	11 (5.2)	213 (100)
Gran Total	3879 (81.5)	211 (4.4)	64 (1.3)	11 (0.2)	81 (1.7)	45 (0.9)	9 (0.2)	461 (9.7)	4761 (100)

Tabla 8.. Tipos y frecuencias de alteraciones autosómicas en 16 poblaciones infantiles referidas para estudio citogenético. Les cifras correspondientes a alteraciones que no están especificadas para un grupo determinado (es decir, una cifra que abarque diferentes entidades; Otras trisomías, Deleciones "parigra", etc.) están incluidas en el grupo Otro.
Los números entre parentesis corresponden a los porcentajes.

Cita	Aneuploidias		Mosaico		Alta estruc. del crom.X		Alta estruc. del crom.Y		mujer 46,XY	varón 46,XX	Total
	Sin crom.Y	Con crom.Y	Sin crom.Y	Con crom.Y	Sin mosaico	Con mosaico	Sin mosaico	Con mosaico			
Barkany J. 1964	2 (16.6)	—	2 (16.6)	2 (16.6)	—	—	—	—	6 (90.0)	—	12 (100)
Deatino M.L. y cols 1966	11 (73.3)	2 (13.3)	—	—	—	—	—	—	2 (13.3)	—	13 (100)
Arnedades S. y cols 1976	65 (40.1)	25 (15.4)	18 (11.1)	13 (8.0)	6 (3.7)	4 (2.5)	1 (0.6)	4 (2.5)	8 (4.9)	18 (11.1)	162 (100)
Dharwad N.S. y cols 1977	10 (31.3)	8 (25.0)	5 (15.6)	3 (9.4)	2 (6.3)	—	—	—	4 (12.5)	—	32 (100)
Zieff A. y cols 1978	3 (27.3)	—	3 (27.3)	1 (9.1)	2 (18.2)	1 (9.1)	—	—	—	1 (9.1)	7 (100)
Rap J.V. y cols 1980	6 (33.3)	7 (38.9)	—	—	1 (5.6)	3 (16.6)	—	—	—	1 (5.6)	18 (100)
Winter R.M. y cols 1980	1 (33.3)	2 (66.6)	—	—	—	—	—	—	—	—	3 (100)
Miles K. y cols 1981	S. Turner S. Klinefelter Genitales ambiguos										13 (100)
Nielsen J.D. y cols 1981	S. Turner S. Klinefelter XYY XXY Otro 46,XX (mujer)										19 (100)
Nielsen J.D. y cols 1981	S. Turner S. Klinefelter XYY XXY Otro 46,XY (mujer)										195 (100)
Carnevale A. y cols 1981	18 (62.3)	7 (11.5)	7 (11.5)	7 (11.5)	2 (6.9)	2 (6.3)	—	—	—	1 (1.6)	61 (100)
Nielsen J.D. y cols 1982	6 (33.3)	2 (11.1)	—	—	—	3 (16.7)	2 (11.1)	—	1 (5.6)	—	18 (100)
Koestelari G. 1982	14 (41.2)	8 (23.5)	8 (23.5)	2 (5.9)	—	—	3 (8.9)	—	—	—	34 (100)
Arnedades S. y cols 1982	21 (50.0)	8 (19.0)	4 (9.5)	1 (2.4)	4 (9.5)	2 (4.8)	—	2 (4.8)	—	—	42 (100)
Notief A.E. y cols 1983	S. Turner S. Klinefelter Otro										26 (100)
Este et al 1984	4 (39.3)	2 (18.2)	4 (36.6)	2 (18.2)	2 (18.2)	2 (18.2)	—	1 (8.3)	7 (58.3)	6 (50.0)	61 (100)
Gran total	201 (42.8)	74 (15.8)	47 (10.0)	33 (7.0)	26 (5.5)	21 (4.5)	5 (1.1)	7 (1.5)	28 (6.0)	27 (5.7)	469 (100)

Tabla 9. Tipos y frecuencias de alteraciones heterocromosómicas en 16 poblaciones de infantes referidas para estudio citogenético. Las alteraciones que se encuentran incluidas en los recuadros se excluyeron de la suma del Gran total exclusivamente para las alteraciones heterocromosómicas. Los números entre paréntesis corresponden a los porcentajes.

con la incidencia correspondiente al período 1983-84 del HIM que fué del 53.1 %.

Los hallazgos cromosómicos de todos los estudios recopilados fueron divididos de acuerdo al tipo y número de cromosomas afectados, en alteraciones en; (1) un autosoma: aut.; (2) un heterocromosoma: het.; (3) dos autosomas: aut.-aut.; (4) un autosoma y un heterocromosoma; aut.-het.; (5) en los heterocromosomas: het.-het.. Este último grupo se excluyó debido a que ningún paciente mostró alteraciones en ambos cromosomas sexuales.

En la incidencia que comprende los 16 estudios recopilados, se muestra que los dos primeros grupos (aut. y het.) comprenden la totalidad de los pacientes afectados cromosómicamente y que los dos grupos restantes representan tan solo el 0.1 % cada uno, del total de las alteraciones cromosómicas y el 1.0 % en aquellos estudios donde se encontraron, lo cual significa que son fenómenos sumamente raros.

La incidencia de alteraciones cromosómicas encontrada en el HIM durante el período de 5 años, Tabla 7, no está condicionada en forma casi exclusiva por alteraciones en autosomas, como es el caso de los estudios hechos por Retief A.E. y cols o Winter R.M. en los cuales las alteraciones en autosomas correspondieron al 97 % y al 95 % respectivamente. Por el contrario, el estudio de Armendares y cols, 1982, al igual que éste mostraron una incidencia del 76.8 % y 77.7 % respectivamente, lo cual es menor que cualquiera de los restantes estudios, y menor a la incidencia obtenida para los 16 estudios, que fué del 86.3 %, Tabla 7.

Es posible que los resultados de este estudio se separen de las frecuencias obtenidas para los 16 estudios debido a que se trata de una población pequeña. Sin embargo de los 16 estudios recopilados, en 10 la población fué menor a la del presente estudio y en los 5 restantes fué mayor. Tal vez el tiempo de duración del estudio juegue un papel importante ya que se esperaría que mientras mayor sea el número de paciente y mayor sea el período de estudio, los resultados se aproxima

men más a la "realidad". Esto se hace aparente con las frecuencias obtenidas en el HIM para cada uno de los 5 años del estudio, incidencias que en forma individual varían más en comparación a la obtenida para las 16 poblaciones. Esta observación puede no estar de acuerdo con los resultados obtenidos por Nielsen J.D. y cols, 1981, quien analizó una población referida para estudio citogenético de 6417 en un lapso de 12 años y cuya incidencia del 22.2 % fué menor a la de las 16 poblaciones. Sin embargo, hay que hacer notar que este estudio comprendió un país (Dinamarca) a excepción de 2 condados lo cual hace suponer la existencia de menor uniformidad de criterios selectivos para la realización del estudio cromosómico.

En los 16 estudios se trabajó básicamente con cultivo de linfocitos-T. La técnica de bandeo, en especial el método de bandas-G, fué utilizado en 14 estudios, en los 2 restantes (Warkany J. y Destine M. L.) se utilizó tinción standard (homogénea). Es interesante hacer notar que en uno de ellos (Destine M.L.) la frecuencia de alteraciones cromosómicas encontrada fué del 13.4 % que corresponde a la incidencia más baja reportada en los 16 estudios.

Lo anterior pone de manifiesto que la incidencia encontrada en las diferentes poblaciones infantiles estudiadas varía, dependiendo de la cantidad del muestreo, del tiempo de duración del estudio, de la técnica de tinción empleada, de los criterios selectivos y muy probablemente de las edades seleccionadas para realizar el estudio.

Es poco probable que el nivel socio-económico de la población haya condicionado una mayor frecuencia de alteraciones cromosómicas. Al respecto Armendares y cols (4) han reportado que sus investigaciones hechas en pacientes con desnutrición proteico-calórica avanzada muestran anomalías cromosómicas significativamente más frecuentes en comparación con los testigos. Sin embargo, hay que hacer notar que las alteraciones cromosómicas fueron de los siguientes tipos; gaps, isogaps, fracturas, dicéntricos, fragmentos, etc, que no fueron constantes para un cromosoma, así como tampoco estuvieron presentes

en todas las células analizadas. En este sentido podemos descartar que la desnutrición haya sido una causa directa de las alteraciones cromosómicas detectadas ya que estas no correspondieron a los tipos antes mencionados, y las reportadas fueron por una parte constantes para el cromosoma(s) implicado(s) y por otra no se observaron en ningún caso (excepto una trisomía 21) la presencia de varias líneas celulares. Además otros investigadores (77,85) no han encontrado diferencias significativas en la proporción de aberraciones cromosómicas entre niños desnutridos y bien nutridos. El hecho de obtener en un mismo laboratorio y con los mismos investigadores resultados contradictorios en grupos de niños desnutridos (10), hace pensar que es posible que la desnutrición avanzada no se acompañe de una mayor frecuencia de anomalías cromosómicas, sino que como hace notar Thorburn M. y cols (85), debe haber algún o algunos factores que sean los responsables de las alteraciones observadas en alguno de los estudios, como pueden ser deficiencias de algunos aminoácidos u otros elementos nutricionales y no la desnutrición global por sí misma. Al respecto Betancourt M. y cols (11) estudiaron en animales de laboratorio (Ratus norvegicus) el efecto de dietas proteicas deficientes de aminoácidos específicos, como la metionina y el triptofano (Maíz) demostrando que las alteraciones cromosómicas halladas en los organismos desnutridos no pueden ser debidas a la deficiencia de estos aminoácidos. Keek y col (41) investigaron la influencia de la composición del medio de cultivo y mostraron que los rompimientos cromatídicos y cromosómicos observados en pacientes con anemia de Fanconi se presentan con mayor frecuencia en medios con una concentración baja en L-cisteína y L-ácido ascórbico.

Se ha sugerido por una parte que la ausencia de rompimientos cromosómicos pueda deberse a componentes que poseen un efecto protector, y por otra a sustancia que puedan cambiar la permeabilidad de las membranas celulares o que inhiban los procesos de autorreparación del DNA incrementado la acción de agentes clastógenos, por lo que no se puede afirmar que la desnutrición sea básicamente un factor causal

"per se" del aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas.

Alteraciones en autosomas.

Como se muestra en las Tablas 4 y 8 la alteración cromosómica más frecuentemente encontrada en este estudio, al igual que en los 15 restantes, correspondió a la trisomía 21, tanto para las alteraciones en general como para las alteraciones en autosomas.

La incidencia de la trisomía 21 con respecto a las alteraciones en autosomas, en este estudio fué del 83.6 % lo cual es muy similar a los 16 estudios que es del 81.5 %, Tabla 8.

De gran interés es el síndrome de Down por ser el más frecuente. Este síndrome está asociado a un cromosoma 21 supernumerario, sin embargo, se han reportado casos de niños que presentan un fenotipo de síndrome de Down; pseudo-mongolismo (56), con complementos cromosómicos normales, y que se hereda en forma autosómica recesiva.

El cromosoma supernumerario puede presentarse de en varias formas. El tipo primeramente descubierto y el más común es la trisomía libre o "regular", presente en este estudio en un 90.5 % de todos los pacientes con trisomía 21, Tabla 10. Una segunda forma citogenética que condiciona este síndrome es debida a una translocación de tipo Robertsoniano con un cromosoma del grupo D, generalmente el No. 14. En este estudio se encontraron únicamente dos tipos de translocaciones, 14;21 y 21;21 (Tablas 11 y 12) que corresponden a una frecuencia del 9 % del total de los pacientes con trisomía 21, incidencia que al igual que la de Warkany J, son las mayores en los 16 estudios recopilados, Tabla 10.

Otras fórmulas que condicionan el síndrome de Down es la presencia de un mosaico, que en este estudio únicamente se encontró en un paciente (0.6 % de las personas con trisomía 21).

Como se muestra en la Tabla 10, la proporción de estas 3 fórmulas tiende a ser similar para los 16 estudios.

Como se ha hecho notar la incidencia de esta trisomía con respecto al sexo es diferente. De Grouchy J. (17) ha indicado una rela --

Cita	Tipos de Trisomía-21			Total
	Libre	Posnico	Translocación	
Warkacy J. 1974	27 (71.1)	3 (7.9)	8 (21.0)	38 (100)
Destigne M.L. y cols 1966	57 (92.0)	2 (4.8)	2 (3.2)	62 (100)
Arredizares S. y cols 1976	477 (92.6)	15 (2.9)	23 (4.5)	515 (100)
Dharrico N.S. y cols 1977	51 (79.7)	9 (14.1)	4 (6.2)	64 (100)
Zieff S. y cols 1978	124 (96.1)	1 (0.8)	4 (3.1)	129 (100)
Far S.V. y cols 1950	57 (91.9)	3 (4.9)	2 (3.2)	62 (100)
Winter F.M. y cols 1950	46 (95.8)	-	2 (4.2)	48 (100)
Wéber J. y cols 1981	-	-	-	-
Nielgen J.L. y cols 1981	-	-	-	-
Nielgen J.L. y cols 1981	-	-	-	-
Carpovale A. y cols 1961	63 (64.5)	18 (22.7)	19 (23.8)	100 (100)
Nielgen J.L. y cols 1982	57 (95.0)	1 (1.7)	2 (3.3)	60 (100)
Konziolary G. 1982	127 (65.8)	3 (2.1)	10 (7.1)	140 (100)
Arredizares S. y cols 1977	117 (92.1)	5 (3.9)	5 (3.9)	127 (100)
Pattif A.F. y cols 1983	-	-	-	-
Fate ... 1974	151 (92.4)	1 (0.6)	16 (9.0)	178 (100)
Gran Total	1912 (92.4)	22 (1.1)	97 (4.6)	2031 (100)

Tabla 10. Tipos de trisomías-21 en 12 poblaciones de embarazos referidos para estudio citogenético.
Los números entre paréntesis como porcentajes de trisomías.

ción de $3 \frac{0}{2} 0$, esta misma proporción se obtuvo en el presente estudio, Tabla 11.

Aunque el cuadro clínico de los pacientes con síndrome de Down por translocación es el mismo que el condicionado por una trisomía libre, el significado del riesgo de recurrencia para la transmisión por individuos fenotípicamente normales, difiere para cada fórmula citogenética. El riesgo general de engendrar otro niño con síndrome de Down si la familia ya tuvo un niño con este síndrome es cerca del 0.5 % si la madre tiene 35 años o menos (Mikkelsen M., 1979, citado por Anneren G. y cols).

Tipos de trisomías	1979-80		1980-81		1981-82		1982-83		1983-84		1979-84	Total	%	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂				
Libre	8	16	11	23	9	17	11	23	18	25	57	104	161	90.4
mosaico	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	0.6
translocación familiar	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	2	1	3	1.7
novo	-	2	2	-	2	-	2	2	1	2	7	6	13	7.3
Total											66	112	178	100.0
												2	3	

Tabla 11. Frecuencias de los casos índice con trisomía 21.

Tipo de translocación	1979-80		1980-81		1981-82		1982-83		1983-84		1979-84	Total	%	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂				
de novo														
+t(21;21)	-	2	1	-	-	-	1	-	1	1	3	3	6	37.50
+t(14;21)	-	-	1	-	2	-	1	2	-	1	4	3	7	43.75
familiar														
+t(14;21)	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	2	1	3	18.75
Total											9	7	16	100.0

Tabla 12. Tipos y frecuencias de los casos índice con trisomía 21 por translocación.

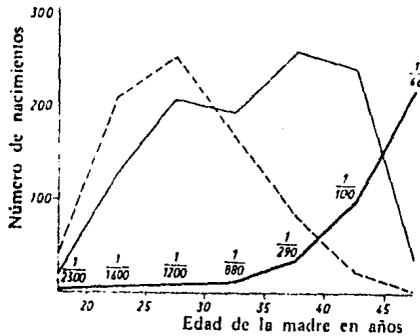
La posibilidad teórica de un portador balanceado de engendrar un hijo con trisomía 21 es de uno en tres de la descendencia viable, pero el riesgo real es menor y difiere dependiendo si el portador es el padre o la madre. Si el padre es el portador 21/D, la posibilidad de que tenga un niño afectado con el síndrome de Down es del 5 %, si por lo contrario la madre es la portadora de la translocación 21/D, entonces el riesgo de que engendre un hijo con este síndrome es del 20 % (9).

Una translocación de gran importancia es la 21/21 debido a que los padres portadores de esta translocación tienen un riesgo de repetición del 100 % de procrear hijos con este síndrome.

El síndrome de Down es una de las cromosomopatías donde los pacientes pueden ser divididos no sólo por el tipo de trisomías que pre-

sentan, sino también por la edad de los padres a la que fueron concebidas. En este sentido pueden ser divididos en 2 grupos principales. El primer grupo de pacientes provenientes de padres mayores de 35 años, consiste en pacientes donde la edad de los padres es el factor causal fundamental mientras que en el segundo grupo, los pacientes provenientes de padres menores de 35 años, la edad de los padres parece tener un efecto insignificante. De Grouchy (17) ha mostrado que en los pacientes con trisomía 21 provenientes de padres de edad avanzada, la no-disyunción se presenta en el 40 % en el padre y en el 60 % en la madre.

Se ha demostrado que la frecuencia de este síndrome está muy relacionada con la edad materna. La fig. 25, indica que el riesgo de que un niño nasca con trisomía 21 se incrementa exponencialmente con la edad materna. La curva de distribución de edades maternas es bimo-



Frecuencia del mongolismo y edad gestante de la madre
(según COLLMANN y STOLLER, 1962)

--- Totalidad de nacimientos (en millones)
 - - - Mongólicos
 — Frecuencia relativa

Fig. 25. Tomada de Wunderlich Ch. (95).

dal, con un pico a los 28 años y otro a los 37 años. El primer pico corresponde a los casos esporádicos o translocaciones heredadas. El segundo pico se correlaciona fuertemente con la edad materna. Hay que

hacer notar que el primer pico de la gráfica varía dependiendo de la población que se estudie. En países como el nuestro este primer pico se presenta a edades más tempranas (15 a 20 años) lo cual obedece a que la reproducción se inicia a edades menores.

Algunos factores que pueden contribuir a que los padres jóvenes tengan un hijo con síndrome de Down pueden ser; la presencia de un mosaico en alguno de los progenitores; una tendencia genéticamente determinada a la no-disyunción (1) o por influencias ambientales desconocidas que pueden ser el factor más importante que cauce nacimientos de niños con síndrome de Down en padres jóvenes. Al respecto se ha demostrado (57) como la incidencia poblacional de síndrome de Down durante un lapso de 25 años ha variado en períodos de 5 años. Otro estudio (31) que comprendió un lapso de 10 años demuestra la existencia de un efecto estacional para la no-disyunción de los cromosomas sexuales y por lo menos para el cromosoma número 21 presentes en productos provenientes de madres menores de 35 años. Los resultados de ambos estudios apoyan la hipótesis de que factores ambientales pueden estar presentes en la etiología de las aneuploidias. Sin embargo, existen reportes que contradicen la existencia de una predisposición en la asociación de los cromosomas acrocéntricos (21), y el efecto de variaciones estacionales (36).

La segunda cromosomopatía de tipo autosómico que aparece con mayor frecuencia es la trisomía 18. La incidencia obtenida (3.7 % con respecto a las anomalías en autosomas. Tabla 7) fué muy similar a la obtenida en las 16 poblaciones analizadas (4.4 %), pero se alejó notablemente de la de otros estudios como la de Warkany J. y cols., 1964, y Nielsen J. y cols., 1982, cuya frecuencia fué de un 13.7 % y 11.4 % respectivamente. Es probable que estas diferencias puedan deberse a que estos investigadores tuvieron acceso a estudiar niños recién nacidos, ya que como se sabe esta trisomía no es compatible con la vida extrauterina, razón por la cual los pacientes mueren generalmente en los primeros 6 meses de vida.

Como se ha mencionado por varios autores, en la trisomía 18 predomina el sexo femenino, De Grouchy (17) señala que la relación es de 4 ♀/1 ♂. En el presente estudio los 8 casos encontrados correspondieron al sexo femenino.

Se han dado varias posibles explicaciones al respecto; es posible que los fetos trisómicos del sexo masculino tengan mayor riesgo de ser abortados que los femeninos. De ser así el aborto de varones con trisomía 18 debe ocurrir en etapas muy tempranas de la gestación, antes de la décima semana, ya que la mayor parte de los estudios citogenéticos realizados en abortos espontáneos se han efectuado en el material recolectado entre la décima y la décimoquinta semana de gestación sin que se haya observado incremento de varones con trisomía 18. Otra posibilidad es que la muerte de los individuos del sexo masculino con trisomía 18 ocurra en etapas mucho más tardías del embarazo y se presenten como mortinatos. Finalmente otra explicación podría ser la de una fertilización selectiva, es decir que el espermatozoide portador de un cromosoma X y un cromosoma 18 extra tenga cierta ventaja fertilizante sobre el espermatozoide normal (Hamerton J.L.,1971, citado por Armendarés S.,1976).

En la Tabla 13, se puede observar como la edad no parece ser un factor relevante en la aparición de esta trisomía, aunque De Grouchy manifiesta la existencia de una distribución bimodal con dos picos, uno en 25 a 30 años y el otro en 40 a 45 años.

Edad mat a la concep.	Sem. de gest.	Anen. de aborto	Gesta No.	Parto No.	Resp. y llord al nacer	Peso al nacer
18 (años)	38	?	I	Dist.	?	2400 (g)
18	40	no	I	Eut.	no	1700
20	40	no	II	Eut.	no	2300
27	42	no	II	Dist.	no	2300
29	40	?	I	Dist.	no	1900
37	38	?	XIII	Dist.	no	2000
38	39	no	II	Dist.	no	2000
41	7	si	XIII	Dist.	si	2600

Tabla 13. Pacientes con trisomía 18 encontrados en el período 1979-84.

El tiempo de gestación está aparentemente dentro de los límites normales (40 a 42 semanas). El peso promedio de 2150 g es bajo y la mayo

ría de los partos fueron distócicos.

El mayor número de casos con trisomía 18 fuéron observados durante el período 1983-84, Tabla 4.

El síndrome de Patau o trisomía 13 es la tercera trisomía más frecuente encontrada en el ser humano. Su frecuencia es menor a la de la trisomía 21 y muy similar a la de la trisomía 18, Tabla 14.

Tipo de alteración.	Frecuencia por nacidos vivos en la población en general.
T-21	1 en 700
T-18	1 en 8000
T-13	1 en 4000 a 1 en 10 000
5p ⁻	1 en 50 000
4p ⁻	?, menos común que el 5p ⁻
S. de Turner	0,4 en 1000 mujeres
S. de Klinefelter	1,8 en 1000 varones
Varón XX	1,0 en 10 000 varones
47,XXY	1,1 en 1000 varones

Tabla 14. Tomada de De Grouchy (17)

De esta trisomía se encontraron 3 casos, en los que el tipo fué libre. La frecuencia con que se encontró; 1.4 % de las alteraciones en autosomas, es básicamente la misma a la presente en los diferentes estudios y a la obtenida para los 16 trabajos (1.3 %), Tabla 8.

Al igual que en la trisomía 18 los pacientes mueren a edades tempranas y a diferencia de ésta no se ha observado el predominio de algún sexo.

Las restantes alteraciones cromosómicas en los autosomas se presentaron con una incidencia menor, Tabla 8. Sin embargo, las alteraciones más frecuentes correspondieron al grupo de deleciones, y en este trabajo, en todos los casos, la pérdida de material cromosómico fué del brazo corto (a excepción del cromosoma Filadelfia).

Otro grupo importante dentro de las alteraciones de los autosomas correspondió al de "rompimientos"; alteraciones estructurales presentes en pacientes referidos con diagnóstico de anemia de Fanconi.

Este padecimiento sigue un patrón de herencia Mendeliano (autosómico recesivo), y las altas tasas de rompimientos cromosómicos indican

la existencia de alteraciones en los mecanismos de autorreparación del DNA.

El único caso de cromosoma Filadelfia, fué encontrado en una paciente referida con el diagnóstico de leucemia mieloblástica aguda. Los casos en los que solo hubo rompimientos cromosómicos correspondieron en su totalidad a pacientes con anemia de Fanconi.

La evidencia de alteraciones cromosómicas en estos pacientes confirma el diagnóstico. Beger y cols (8) han postulado que las anomalías cromosómicas como son clonas, duplicaciones parciales, deleciones, etc, pueden pertenecer a un estado preleucémico largo (2 1/2 años) que antecede a una leucemia aguda franca.

Alteraciones en heterocromosomas.

La incidencia de alteraciones en heterocromosomas mostrada por Dharmdeo N.S.(1977), Armendares y cols (1982), Armendares S. y cols (1976), y el presente estudio fueron las más altas y superiores al 20 % en comparación al 13.4 % que corresponde a la frecuencia obtenida para las 16 poblaciones, Tabla 7. Esta diferencia es de gran importancia si se considera que la detección de anomalías en estos cromosomas no condicionan cambios fenotípicos notables.

El síndrome que con mayor frecuencia se encontró fué el de Turner. Esta alteración es generalmente diagnosticada clínicamente en niñas recién nacidas a pre-escolares por presentar talla baja y alteraciones típicas características.

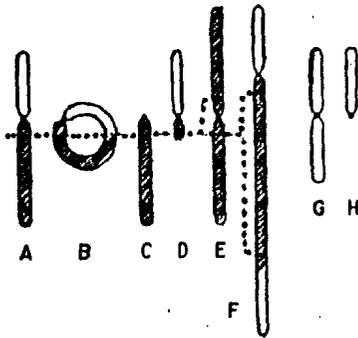
En este estudio el 65 % de las niñas presentaron cromatina X negativa con un cariotipo 45,X el 35 % restante mostró una cromatina positiva, donde uno de los cromosomas X correspondió a un isocromosoma, a un anillo, o a varios tipos de mosaicos, Tabla 6.

En las monosomías 45,X se han propuesto (30) varios mecanismos para explicar la causa de esta alteración. Estos son; (a) la fertilización de un óvulo carente de un cromosoma X, por un espermatozoide con un cromosoma X; (b) la fertilización de un óvulo normal por un espermatozoide carente de un cromosoma X; (c) el desarrollo de una lí

nea 45,X posterior a un error postcigótico, con un embrión constituido en su totalidad por esta línea o con células 45,X que fueron las únicas detectadas, este mecanismo puede ser el resultado de un retraso en la anafase; y (d) la pérdida de un cromosoma X entre la singamia y la fusión de los pronúcleos. El mecanismo (a) no puede suceder más que para una minoría de las monosomías 45,X debido a que el cromosoma X presente en la mayoría es de origen materno, en una relación 2;1. A parte de este dato no existen otros que puedan orientar sobre el mecanismo de la gran mayoría de las monosomías 45,X aunque se ha sugerido que los mecanismos (b) y (c) como los más probables.

El síndrome de Turner puede ser condicionado no solo por la falta de un cromosoma X en todas las células o en algunas de éstas (mosaicos) sino también por diferentes alteraciones estructurales en uno de los dos cromosomas X, y es de interés hacer notar que en todas estas alteraciones siempre se conserva el brazo largo (q) en forma total o parcial. Al respecto Therman E. y cols (84) han sugerido que en el cromosoma X existe un "centro de inactivación" o "elemento controlador de la condensación del cromosoma X". Esta hipótesis esta basada en dos tipos de observaciones; 1) los cromosomas X anormales que tienen el mencionado centro por duplicado, forman cuerpos de Barr bipartidos, y 2) todos los cromosomas X anormales poseen el mencionado centro (ha excepción de 2 únicos casos reportados, que al parecer representan una identificación errónea de un cromosoma Xq- como un i(Xp)), Fig. 26.

De acuerdo con esta hipótesis, los cromosomas X que carecen del centro de inactivación o elemento controlador de la inactivación no formarían corpúsculos de Barr y permanecerían genéticamente activos, lo cual condicionaría un desbalance genético. Esto sería muy probablemente una condición letal y de esta forma se explicaría una ausencia total de rearrreglos como son i(Xp) o Xq-. Mattei y cols (54,56) han reafirmado la hipótesis antes mencionada y han demostrado que el cromosoma X posee únicamente un centro de inactivación el cual está situado entre las bandas Xq11-2 y Xq211.



A-H. Diagram showing location of hypothetical Barr body condensation center (cross line) on Xq. A: normal X; B-E: frequently observed types of abnormal X chromosomes [B: r(X); C: tel(Xq); D: Xq-; E: q(Xq)]; F: del(Xq-) with inactivated centromere; G, H: types for whose occurrence there is no conclusive evidence [G: (Xp); H: tel(Xp)]

Fig. 26. Tomado de Therman E. y cols (84).

A pesar de la estatura baja de las pacientes con síndrome de Turner, existe una correlación entre la altura alcanzada y la de sus parientes, lo cual sugiere que los genes responsables de la variación de la altura entre la población normal deben estar localizados principalmente en los autosomas (12).

La talla baja puede deberse a varios factores como son carencias nutricionales, patrones familiares o étnicos, enfermedades sistémicas, algunas condiciones heredadas genéticamente y varias cromosomopatías. Phadke M.A. y cols (72) reportan que en 241 pacientes estudiados por talla baja, el 41.5 % presentó alteraciones cromosómicas, encontrándose básicamente 2 grupos; uno formado por personas con trisomía 21 (28.2 %), y el otro por pacientes con síndrome de Turner (11.2 %). El restante 2 % de pacientes mostraron formas de alteraciones cromosómicas menos comunes como son deleciones no sospechadas clínicamente.

La ganancia o pérdida de material genético está asociada con un retraso en el crecimiento prenatal en todas las condiciones descritas excepto para aquellas que implican un cromosoma Y adicional. Después del nacimiento persiste este patrón y es observado en la mayoría de las alteraciones cromosómicas. En contraste a lo observado en otras anor-

malidades cromosómicas, la altura media alcanzada por pacientes adultos con trisomía 21 (mujeres: 141 cm, varones : 151 cm) indica que es independiente de la altura media de los progenitores.

Los cromosomas sexuales se comportan en forma diferente y una proporción significativa de individuos altos se observa cuando hay un cromosoma X o Y adicional especialmente en el último caso. La altura media en los varones XX adultos es (162 cm) menor que la de los varones XY (170 cm) pero mayor que la de las mujeres XX (149,75). Sin embargo, el peso bajo al nacimiento no es un rasgo sugestivo de una alteración cromosómica. Méhes K. y col (52) al estudiar un grupo de 37 niños recién nacidos e inmaduros, fenotípicamente normales, y con un peso promedio de 758 g (con un rango de 490 a 980 g) y con una edad gestacional promedio de 24.2 semanas (con un rango de 20 a 28 semanas) encontraron, utilizando diferentes técnicas de bandedo, que todos los infantes tuvieron cariotipos normales. Esto sugiere que los niños recién nacidos fenotípicamente normales aún con una edad gestacional temprana tienen probablemente un cariotipo normal, y que la ganancia o pérdida de material genético está asociada no solo a retardo en el crecimiento intrauterino sino también a signos dismórficos, además de que impide ganar peso y talla postnatalmente.

El número de pacientes con cromosomas sexuales supernumerarios encontrados en este estudio fué un total de 6, Tabla 6, lo cual es muy bajo si se considera que sus incidencias, Tabla 14, son muy similares a la del síndrome de Turner.

La baja frecuencia con la que se detectan estos casos en edades infantiles es que no hay como regla general características fenotípicas sugestivas, excepto en individuos XYY en edad reproductiva, en los que la talla es mayor, aproximadamente el 60 % presenta una altura de 185 cm o más.

Un aspecto de gran relevancia lo constituye el hecho de poder conocer la existencia de posibles causas ambientales que puedan influir en la aparición de alteraciones cromosómicas. En este sentido los estudios retrospectivos pueden orientarnos sobre la existencia de algu--

nos de estos factores. Nielsen J. y cols (64) al estudiar 11,148 niños nacidos vivos consecutivamente, hace resaltar el hecho de que las madres de 93 niños con anomalías cromosómicas tomaron más frecuentemente compuestos como son: drogas estrogénico-gestantes, psicotrópicos antes del embarazo; preparaciones férricas y sulfamidas durante el primer trimestre del embarazo.

Los resultados indican que las drogas estrogénico-gestantes tomadas dentro de los 2 a 6 meses antes del embarazo pueden incrementar la frecuencia de la no-disyunción y de este modo, el riesgo de tener un hijo con una anomalía cromosómica aneuploide. La no-disyunción puede ser debida a tratamientos con compuestos férricos o sulfamidas durante el primer trimestre. Por otra parte se observó que la frecuencia del tipo sanguíneo AB, Rh+ fué mayor en las madres de niños con alteraciones cromosómicas, especialmente translocaciones balanceadas y de novo, así mismo las madres de niños con anomalías de los cromosomas sexuales tuvieron una mayor frecuencia del tipo sanguíneo B, Rh-. Al respecto se desconoce si las personas con un determinado tipo sanguíneo puedan tener un riesgo aumentado de tener niños con alteraciones cromosómicas.

Finalmente, varios pacientes no incluidos en los resultados con signos sugestivos de una anomalía cromosómica, mostraron un cariotipo aparentemente normal caracterizado por la presencia de algún cromosoma polimórfico (*). Se desconoce hasta que grado estos polimorfismos puedan incrementar el riesgo a la no-disyunción, a anomalías cromosómicas, a malformaciones o a abortos. Pero se ha demostrado que los portadores de 9qh+ pueden tener un riesgo aumentado a la no-disyunción, y que el Yq+ puede incrementar el riesgo de abortos.

(*)

Cromosomas polimórficos (43);

- en satélites de los cromosomas de los grupos D y G (Ds+ y Gs+). Cuando estos son aproximadamente el doble de largo en comparación a los satélites más largos de cualquier cromosoma en el grupo concerniente.
- en las constricciones secundarias de los cromosomas 1, 9, y 16 (1qh+, 9qh+, 16qh+) cuando la constricción en uno de los cromosomas del par es por lo menos el doble del largo en comparación a la otra constricción.
- en el cromosoma Y, cuando la longitud de este cromosoma y del grupo F son medidas, el cromosoma Y se considera largo (Yq+) cuando el índice Y/F es 1.00 , y pequeño cuando este índice está debajo de 0.70.

Cita	Original		Modificación	
	Casos índice estudiados	Casos índice con alt. crom.	Casos índice estudiados	Casos índice con alt. crom.
Barkany J. 1964	276	68 (24.6)	218	63 (28.9)
Destine M.L. y cols 1966	600	82 (13.7)	598	80 (13.4)
Armedaras S. y cols 1976	2243	743 (33.1)	2242	764 (34.1)
Dharndeo S.S. y cols 1977	451	130 (28.8)	447	126 (28.2)
Zieff S. y cols 1978	579	152 (26.3)	—	—
Ram S.V. y cols 1980	357	97 (27.2)	334	92 (27.5)
Ainter S.W. y cols 1980	140	60 (42.9)	—	—
Metz F. y cols 1981	322	92 (28.6)	285	89 (31.2)
Nielsen J.L. y cols 1981	616	206 (33.4)	—	—
Nielsen J.L. y cols 1981	4417	1416 (22.1)	6417	1426 (22.2)
Carnevale A. y cols 1981	2122	809 (38.1)	2122	807 (38.0)
Kosztolanyi G. 1982	692	199 (28.7)	—	—
Nielsen J.D. y cols 1982	368	104 (28.2)	—	—
Armedaras S. y cols 1982	573	181 (31.6)	—	—
Hettief A.E. y cols 1983	2129	656 (40.7)	—	—

Tabla 15. Incidencia de alteraciones cromosómicas reportadas y modificadas en 15 poblaciones infantiles. Los números entre paréntesis corresponden a los porcentajes.

Cita	Modificación	Artículo original	Modificación
Warkany J. 1964	Se excluyó un grupo formado por 58 personas fenotípicamente normales, familiares de los afectados. En este grupo había 5 con alteración cromosómica. Estos 58 pacientes al ser excluidos en la modificación, hizo que el número de infantes estudiados pasara a 218 y el número con alteración cromosómica pasó de 68 a 63.	58	0
Deatine M.L. y cols 1966	Se excluyeron dos pacientes del grupo de personas con síndrome de Klinefelter por ser adultos.	3	1
Armedares S. y cols 1966	Anormalidades del cromosoma X a) 46,XXp..... 4 46,X,i(Xq)/45,X 2 46,X,r(X)/45,X 1 46,X,i(Xq)..... 2 46,X,dic(Xq)/45,X 1 Mosaico sin cromosoma Y el caso excluido (46,XX/45,X/47,XXE) correspondió a una madre portadora del grupo de intersexo; se incluyó este grupo. 46,XX ("varón").....16 46,XY ("mujer")..... 7 46,XI (sexo fenotípico ?).... 2 46,XY (sexo fenotípico ?).... 1 Del número de casos índice estudiados (2243), se excluyó a una madre portadora de un mosaico lo que hizo que el número se redujera a 2242 y el número de casos índice con alteración cromosómica pasó de 743 a 742, esta cifra disminuyó en 4 debido a que las anomalías de cromosoma X reportadas son 10 y no 14. Finalmente a los 738 pacientes se le adicionaron 26 del grupo de intersexo, por lo tanto, el número de pacientes índice considerados con alteración cromosómica fué de 764.	14 19 0	10 18 26
Dharwadec M.S. y cols 1977	Se excluyó a: abiertos 2 madres portadoras 2	2 2	0 0
Ram S.V. y cols 1980	Se excluyeron a: -un grupo de pacientes con abortos de repetición (en los que no se encontró alteración cromosómica alguna) -personas adultas; dos con S. de Turner; dos con S. Klinefelter; y una madre portadora	18 5	0 0
Méhes K. y cols 1981	Se excluyó el grupo de personas con abortos de repetición (en el que había tres personas con alteración cromosómica), por lo tanto, el número de 322 disminuyó a 285, y el número con alteración cromosómica se redujo en 3; de 92 a 89.	37	0
		cont:	

Cita	Modificación	Artículo original	Modificación
Mieloen J.D. y cols 1981	Total de anomalías cromosómicas; Existe un error de adición de: T-13,15;T-18,45;Tz21,935;Otro,127, que da como resultado 1123 y no 1113.	1416	1426
Carnevale A. y cols 1981	Cromosomas extra no identificados. Hubo 9 cromosomas extra no identificados, de los cuales 7 se presentaron como única anomalía, uno presentó: 47,XI,5p ⁺ ,+marc; y el otro se presentó en un paciente que tenía además anomalía cromosómica del complemento sexual; 48,XII,+marc.	9	7
	Translocación familiar; 46,XY,der(5),t(5;14)	6	7
	Aneuploidía sin cromosoma Y		
	anomalías estructurales del cromosoma X	5	5
	mosaico	5	3
	varón XX	0	1
	anomalías estructurales del cromosoma X; 46,X,i(Xq) 2 45,X/46,X,i(Xq) 1 46,XX,p ⁻ 1 45,X/46,X,r(X) 1		
	Mosaico sin cromosoma Y; 45,X/46,XX 2 45,X/46,X,+marc 1		
	De los 809 casos con alteración cromosómica 4 pacientes fueron contados como 8 (46,XY,5p ⁺ ,+marc; 48,XXY+marc; 45,X/46,X,r(X); 45,X/46,X,i(Xq)), por lo que solo hubo 805 pacientes afectados cromosómicamente, a los que se le añadieron 2 pacientes (una translocación familiar y un varón XX), por lo tanto el número de pacientes considerados con alteración cromosómica fue de 807.		

Table 16. Tipos de modificaciones realizadas en las incidencias reportadas para las diferentes poblaciones analizadas.

XII. Conclusiones.

- El aspecto relevante de la investigación citogenética en la práctica médica lo constituye la posibilidad de impartir Consejo Genético prospectivo y retrospectivo.

- En el análisis cromosómico se ha avanzado considerablemente en los últimos años, surgiendo nuevos métodos de estudio para detectar finas alteraciones cromosómicas, aún prenatalmente; con el análisis de las células presentes en el líquido amniótico, cuya importancia en la medicina preventiva es de gran valor.

- Al comparar las frecuencias de las diferentes alteraciones cromosómicas encontradas en el presente estudio, se observó que son similares a las reportadas por diferentes caísticas tanto nacionales como extranjeras independientemente de su origen étnico, esto parece indicar que el surgimiento de las anomalías cromosómicas quizá no está condicionado por factores genéticos ni por factores ambientales, lo que permite suponer que los resultados en investigaciones futuras en niños referidos para estudio cromosómico serán similares a los obtenidos en los 16 trabajos analizados. Sin embargo, se debe considerar que el desarrollo de nuevas técnicas, así como el incremento de factores ambientales capaces de dañar el material genético o los mecanismos relacionados con él, pueden influir para que en un futuro la incidencia de alteraciones cromosómicas sea mayor a la encontrada en la actualidad.

- El conocimiento e identificación de alteraciones cromosómicas en humanos, ha contestado muchas preguntas, pero ha dado lugar a otras más. Es evidente, que resta mucho por investigar en cuanto a los factores etiológicos de las mismas, así como elaborar cuadros clínicos de numerosas anomalías cromosómicas descritas. Estas actividades forman parte de un campo que requiere del tiempo y la colaboración de diferentes especialidades, para que los logros que puedan alcanzarse beneficien con creces a la población humana.

XIII. Bibliografía.

- 1.- Alfi O.S., Chan G.R. and Azen P.S. (1980). Evidence for contro of nondisjunction in man. Am. J. Hum. Genet. 32;477-483.
- 2.- Allison J.L., O'Brien R.L. and Hahn F.E. (1965). DNA reaction with chloroquine. Science; 149(3688);1111-1113.
- 3.- Annerén G., Wahlström J. and Tommerup N. (1984). Marker chromosomes in parents to children with Down's syndrome. Clinical Genetics, 25;140-147.
- 4.- Armendares S., Salamanca F., y Frenk S. (1974). Estado actual de los conocimientos del efecto de la nutrición sobre el material genético. Gac. Méd. Méx., 107(4);367-376.
- 5.- Armendares S., Salamanca F., Buentello L., Sánchez J., Nava S., Cantú M.M. (1976). Experiencia de diez años de trabajo en un laboratorio de citogenética médica. Rev. Invest. Clín. (Méx.), 28; 113-122.
- 6.- Armendares S., Buentello L., Nava S. y Salamanca F. (1982). Experiencia de un laboratorio privado de citogenética médica. Rev. Invest. Clín. (Méx.), 34;19-25.
- 7.- Bauld R., Grant R., Sutherland R., and Bain D. (1974). Chromosome studies in investigation of stillbirths and neonatal deaths. Arch. Chil., 49;782-788.
- 8.- Berger R., Bernheim A., Le Coiat M., Vecchione D., and Schaison G. (1980). Chromosomal studies of leukemic and preleukemic Fanconi's anemia patients. Hum. Genetics ,56;59-62.
- 9.- Bergsma D. (1977). Birth defects compendium. The National Foundation-March of Dimes. Alan R. Liss, Inc., New York, Second edition, 215-216.
- 10.- Betancourt M., De la Rosa J.M., Cravioto J. y Tovar B. (1973). Efectos de radiación ionizante sobre el cultivo de linfocitos de niños desnutridos. Bol. méd. Hosp. Inf. (Méx.), 30;899.
- 11.- Betancourt M., Hernández G., y Cravioto J. (1979). Deficiencia de aminoácidos esenciales y producción de aberraciones cromosómicas. Rev. invest. Clín. (Méx.), 31;45-52.
- 12.- Brook C.G.D., Mürset G., Zachmann M. and Prader A. (1974). Growth in children with 45,XO Turner's syndrome. Arch. Dis. Chil., 49; 789-795.
- 13.- Buckton K.E., O'riodan M.L., Ratcliffe S., Sligh J., Mitchell M., McBeath S., Keay A.J., Barr D., and Shorth M. (1980). A G-band study of chromosomes in liveborn infants. Ann. Hum. Genet. Lond., 43; 227-239.

- 14.- Carnevale A., Blanco B., Frias S., Castillo J. y Vázquez V. (1981). La citogenética en pediatría. Rev. Invest. clín. (Méx.), 33; 175-181.
- 15.- Casperson T., Zech L., Johansson C., and Modest E.J. (1970). Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. Chromosoma (Berl.), 30(2); 215-227.
- 16.- Centerwall W.R., and Murdoch J.L. (1975). Human chromosomes analysis. Am. Fam. Physic., 11(4); 76-89.
- 17.- De Grouchy J. and Turleau C. (1977). Clinical atlas of human chromosomes. A Wiley Medical Publication, U.S.A.
- 18.- Denver Conference. (1960). Lancet, 1, 1063-1065.
- 19.- Destine M.L. and Motelson P.L. (1966). Modern cytogenetics techniques. Clinical Pediatrics, 5(4); 217-224.
- 20.- Dharmdeo N.S. (1977). Cytogenetics study of individuals suspected of chromosome anomalies. Clinical Pediatrics, 16(7); 619-622.
- 21.- Donahue R.P. and Jacobs A.P. (1982). Chromatid associations in acrocentric chromosomes evidence against nonrandomness. Am. J. Hum. Genet., 34; 961-965.
- 22.- Ejaide B.R. and Opitz J.M. (1973). Clinical cytogenetics. Postgraduate Medicine, pte 1, 63(2); 179-183.
- 23.- Ejaide B.R. and Opitz J.M. (1978). Clinical cytogenetics. Postgraduate Medicine, pte 2, 83(3); 207-214.
- 24.- Engel E. (1977). One hundred year of cytogenetic studies in health and disease. Am. J. Men. Deficiency, 82(2); 109-116.
- 25.- Evans H.J. (1977). Chromosome anomalies among livebirths. J. Med. Genet., 14; 309-312.
- 26.- Evans H.J. (1973). Molecular architecture of human chromosomes. Br. med. Bull., 29(3); 196-202.
- 27.- Ford E.H.R. (1973). Human chromosomes. Academic Press, London.
- 28.- Friederich U. and Nielsen J. (1973). Chromosome studies in 5,049 consecutive newborn children. Clinical Genetics, 4; 333-343.
- 29.- Gardner E.J. (1980). Principios de Genética. Ed. Limusa, Quinta edición, México.
- 30.- Garron C.D. and Lindsten J. (1978). "Epidemiology of chromosome abnormalities in man". Am. J. Epidemiol., 107(3); 257-258.
- 31.- Goad W.B., Robinson A. and Puck T.T. (1976). Incidence of aneuploidy in a human population. Am. J. Hum. Genet., 28; 62-68.
- 32.- Greaves M.F., Janossy G. and Doen Huff M. (1974). Activation of human T and B lymphocytes by polyclonal mitogens. Nature, 248; 698-701.

- 33.- González R.M.(1975). Malformaciones congénitas. Gac. Méd. Méx., 109(6);357-358.
- 34.- González R.M.(1975). Los factores genéticos como agentes causales. Gac. Méd. Méx., 109(6);383-386.
- 35.- González R.M.(1982). Introducción a la Genética Clínica. Academia Nacional de Medicina. Ed. Méndez Cervantez, México.
- 36.- Gummere G.R., Huelther C.A., and Gartside P.S.(1982). An analysis for temporal variation in Down's syndrome births in Ohio, 1970-1979. Am. Hum. Genet., 34;1003-1012.
- 37.- Hungerford D.A.(1978). Some early studies of human chromosomes, 1879-1955. Cytogenet. Cell. Genet., 20;1-11.
- 38.- Hungerford D.A., Donnelly A.J., Nowell P.C. and Beck S.(1959). The chromosome constitution of a human phenotypic intersex. Am. J. Hum. Genet.
- 39.- Jacobs P.A.(1972). Chromosome mutations; frequency at birth in human. Humangenetik, 16;137-140.
- 40.- Kajii T., Ferrer A., Niikawa N., Takahara H., Ohana K. and Avirachn S. (1980). Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. Hum. Genet., 56;87-98.
- 41.- Keek M., and Emerit K.(1979). The influence of culture medium composition on the incidence of chromosomal breakage. Hum. Genet. 50;277-283.
- 42.- Kosztolányi G.(1982). A diagnostic survey of patients referred for chromosome analysis. Acta Paediatrica Academiae Scientiarum Hungaricae, 23(1);35-40.
- 43.- Krag-Olsen B., Nielsen J., Diral M., Holm V., Heahr J., Rasmussen N.H., Videbech P. and Yana-Gisawa S.(1980). Chromosome variants in child referred for examination from two paediatric departments during a 12-year-period. Hum. Genet., 56;67-69.
- 44.- Kurnit D.M.(1974). DNA helical content during the C-banding procedure. Cytogenet. Cell Genet., 13;313-329.
- 45.- Laustenberg A.A., and Shapiro L.R.(1974). An introduction to cytogenetics in medicine and chemistry. Journal of Oral Medicine, 29(3);64-68.
- 46.- Lawler S.D. and Reeves B.(1976). Chromosome studies in man; past achievements and recent advances. Journal of Clinical Pathology, 29(27);569-582.
- 47.- Levan A.(1978). The back ground to the determination of human chromosome number.. Am. J. Obstetric Gynecol., 130(6);725-726.
- 48.- Lesch N.W.y Edelson E.(1980). La herencia. Edamex, segunda edición, México.

- 49.- Leste W.(1974). Chromosomes aberrations in full-term low birth weight neonates. Humangenetik,21; 13-16.
- 50.- Lin C.C.,and Gedeon M.M.,Griffith P.,Smink W.K.,Newton D.R.,Wilkie L.,and Sewell L.M.(1976). Chromosome analysis on 930 consecutive newborn children using quinacrine fluorescent technique. Hum. Genet.,31;315-328.
- 51.- Méhes K. and Bajnóczky K. (1981). Incidence of mayor chromosomal abnormalities. Clinical Genetics,19;75-76.
- 52.- Méhes K. and Bajnóczky K.(1982). Normal chromosomes in liveborn neonates weighing less than 1000 g. Act. Paed. Acad. Sci. Hung.,23(1);41-44.
- 53.- Matsui S.I. and Sasaki M.(1973). Differential staining of nucleolus organisers in mammalian chromosomes. Naturae ,246 (5429);148-150.
- 54.- Mattei M.G., Mattei J.F.,Vidal I. and Girand F.(1981). Structural anomalies of the X chromosome and inactivation center. Hum. Genet.,56;401-418.
- 55.- McKermott A.(1975). Cytogenetics of man and others animals. Chaaman and Hall, London.
- 56.- McKisick V.A.(1983). Mendelian inheritance in man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive, and X-linked phenotypes. 6th ed.,The Johns Hopkins University, U.S.A.
- 57.- Mikkelsen M. and Stene J.(1972). The effect of maternal age in the incidence of Down's syndrome. Humangenetik,16;141-146.
- 58.- Modest J.E.(1972). Fluorescent banding agents. Chromosome identification, technique and applications in biology and medicine. Proceeding of the twenty-third Nobel Symposium. Academic Press, U.S.A.,323-326.
- 59.- Modest J.E. and Sengupta S.K.(1972). Chemical correlates of chromosome banding. Proceeding of the twenty-third Nobel Symposium. Academic Press, U.S.A.,327-334.
- 60.- Moorhead P.S.,Newell P.C.,Mellman W.J.,Battips D.M. and Hungerford D.A.(1960). Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. EXP. Cell. Res.,20;613-616.
- 61.- Nielsen J., Hansen K.B.,Sillensen L.,and Videbech P.(1981). Chromosome abnormalities in newborn children. Hum. Genet., 59; 194-200.
- 62.- Nielsen J.,Krag-Ulsen B.,Diral M.(1981). Chromosome examination of children, in two Danish counties, born during the period 1967-1978. Hereditas,94(1);129-134.
- 63.- Nielsen J.,Krag-Olsen B.,Diral M.(1982). Chromosome abnormalities in children, in two Danish counties, born during the

- period 1967-1978. *Hereditas*,98;195-210.
- 64.- Nielsen J.,Hansen K.B.,Sillensen I.,and Videbech P.(1982). Chromosome abnormalities in newborn children. Aetiological aspects, *Hereditas*,96;109-117.
- 65.- Nutsch W.(1975). *Botánica general*. Ed. Omega S.A.,Barcelona, 43.
- 66.- O'Brien R.L.,Olenick J.G.,and Hahn F.E.(1966). Reactions of Chloroquine, and Quinacrine with DNA and their effects on the DNA and DNA polymerase reactions. *Proc. natn. Acad. Sci.,U.S.A.*, 55(6);1511-1517.
- 67.- Ohnuki Y. (1965). *Nature*,208(5013);916-917.
- 68.- Packer J. and Vaughan J.(1958). A modern approach to organic chemistry. Oxford at the Clarendon Press. England, 805.
- 69.- Paris conference(1972). Standardization in Human cytogenetics. *Birth Defects*,3(7);1-46.
- 70.- Patil R.S.,Lubs H.A.,Brown J., Cohen M.,Gerald P.,Hecht F. y cols (1977). Incidence of major chromosome abnormalities in children. *Cell. Genet.*,18;302-306.
- 71.- Pawlowitzki I.H.(1972). Frequency of chromosome abnormalities in abortions. *Humangenetik*,16;131-136.
- 72.- Phadke M.A.,Muralik G.S.,Sainani G.S.,Phake M.S.,Kate S.L. and Knedkar U.A.(1978). A study of dwarfism with special reference to chromosomal aberrations. *Indian Pediatrics*,15(5);409-412.
- 73.- Portugal F.H. and Cohen J.S.(1979). A century of DNA. The MIT Press, 4th printing,U.S.A.
- 74.- Ram S.V. and Dosk H.(1980). Incidence of major chromosomal abnormalities in a referred population for suspected chromosomal aberrations; a report of 357 cases. *Clin. Genet.*,17;305-308.
- 75.- Racliffe S.G.,(1981).Effect of chromosome abnormalities in human growth. *Brt. Med. Bull.*,37(3);291-295.
- 76.- Retief A.E.,Benstein R.,Grace H.J.,Nelso M.M.,Jansen S., Benjamin M., and Bester R. (1983). A 3-years cytogenetic survey of 9661 patients in South Africa. *S. A. Med. J.*,63;48-53.
- 77.- Sadasivan G. and Raghuram T.C.(1973). Chromosomal aberrations in malnutrition. *Lancet*,2;574.
- 78.- Schnedl W.(1972). Giemsa banding techniques. Chromosome identification, technique and applications in biology and medicine , Proceeding of the twenty-third Nobel Symposium. Academic Press, U.S.A.,34-37.
- 79.- Seabright M.(1971). A rapid banding technique for human chromosomes, *Lancet*, 2;971-972.

- 80.- Sergovich F.,Valentine G.H.,Chen T.L.,Kinch R.A.H.,and Smouth M.S.(1969). Chromosome aberrations in 2159 consecutive new born children. New Engl. J. Med.,280(16);851-855.
- 81.- Sigma chemical company (1982). Biochemical and organic coupounds. 190-192,891-897. February.
- 82.- Sit K.H.(1980). Three levels of G-band differentiation. Clin. Genet.,18(1);65-78.
- 83.- Tep litz R.L.(1976). Laboratory contributios to human cytogene tics. J.A.M.A. 236(4);376-378.
- 84.- Therman E.,Sarto G.E.,and Patau K.(1974). Center for Barr body condensation on the proxomal part of the human Xq; a hypotesis. Chromosoma (berl),44;361-366.
- 85.- Thorburn M., Hutchinson S.,Alleyne G.(1972). Chromosome abnrrior malities in malnourish children. Lancet,1;591.
- 86.- Thomson J.S.,Thompson M.W.(1981). Genética Médica. Salvat, segunda ed., España.
- 87.- Tice R.,Thorne P. and Sghneider E.L.(1979). Bisak analysis of the phytoemagglutin-induced proliferatoin of human peripher al lymphocytes. Cell. Tissue Kinet,12;1-9.
- 88.- Tjio H.J.and Levan A. (1956). The chromosome number of man. Hereditas,42;1-6.
- 89.- Tjio H.J. (1978). The chromosome number of man. Am. J. Obste tric Gynecol.,130(6);722-724.
- 90.- Warkany J.,Weinstein E.D.,Soukup S.W.,Rubinstein J.H.,and Curless M.C.(1964). Chromosome analyses in a children's hospital. Pediatrics,33;290-305.
- 91.- Warkany J.,Weinstein E.D.,Soukup S.W.,Rubinstein J.H.,and Curless M.C.(1964). Chromosome analyses in a children's hospital. Pediatrics,33;451-465.
- 92.- Watson J.D. and Crick F.H.C.(1953). Molecular structure of nucleic acid. Nature,171;737-738.
- 93.- Winter R.M.,Ridler M.A.C. and Mckewn J.A.(1980). A diagnostic survey of infants referred for chromosome analysis in neonatal period. Br. Med. J.,201;1045-1047.
- 94.- Worton R.G.(1977).Chromosome abnormalities;a mayor cause of birth defects,stillbirth and spontaneous abortion.Can. Med. Assoc. J., 117(8);849-851.
- 95.- Wunderlich Ch.(1972).El niño mongólico.Ed.Científico-Médica, Barcelona, 6.
- 96.-Yunis J.J.(1965). Human chromosome methodology. Academic Press, U.S.A.,91-110.

- 97.- Yunis J.J. and Chandle M.E.(1977). The chromosomes of man-clinical and biology significance. Am. J. Pathol.88(2); 466-495.
- 98.- Yunis J.J.(1981). Mid-prophase Human Chromosomes. The attainment of 2000 bands. Hum. Genet.,56;293-298.
- 99.- Zieff S. and Nelson M.M.(1978). Six years' experience in children's hospital Genetic clinic. S. A. Med. J.,54;639-642.