

29/16



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"CORRELACION FENOTIPO CARIOTIPO EN  
MUJERES CON ALTERACIONES NUMERICAS Y  
ESTRUCTURALES DEL CROMOSOMA X"

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G O**

**P R E S E N T A :**

SILVIA MARIA DEL CARMEN ARENAS DIAZ

FALLA DE CRIGEN



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.

## INDICE

Págs.

I.- <u>INTRODUCCION</u> .....	1
II.- <u>ANTECEDENTES</u> .....	4
Bosquejo Histórico .....	4
Evolución de los cromosomas sexuales .....	8
Inactivación del cromosoma X .....	13
Diferenciación sexual .....	17
a) Dif. genética o cromosómica .....	18
b) Dif. gonadal .....	20
c) Dif. fenotípica .....	28
5.-Alteraciones numéricas y estructurales del X .....	34
Síndrome de Turner .....	36
Mosaicos de síndrome de Turner .....	41
Isocromosomas .....	43
Delección o pérdida .....	45
Translocaciones .....	48
Cromosoma X en anillo .....	49
III.- <u>OBJETIVOS GENERALES Y ESPECIFICOS</u> .....	51
IV.- <u>MATERIAL Y METODO</u> .....	53
V.- <u>RESULTADOS</u> .....	58
VI.- <u>DISCUSION</u> .....	77
VII.- <u>BIBLIOGRAFIA</u> .....	89

## I.- INTRODUCCION

El ser humano, así como todos los organismos vivos, en sus aspectos morfológicos, bioquímicos y conductuales se encuentra regido por factores genéticos y ambientales. Por lo tanto se puede decir que el hombre es el resultado de la interacción herencia-medio.

Desde épocas remotas se ha tratado de determinar el efecto que ejercen cada uno de estos factores en el desarrollo de un individuo, principalmente con respecto al hereditario, sin embargo, los datos que se tenían a la mano para lograr esto eran obtenidos por métodos indirectos, basados en la observación de plantas y animales, debido a que el acceso al cuerpo humano era obstaculizado por motivos de tipo ético, moral o práctico, por lo que muchos de estos conocimientos se extrapolaron al hombre, algunos de los cuales fueron comprobados o rectificadas con los avances en la investigación.

Actualmente la Genética ha tenido un gran desarrollo, y de las especialidades que la conforman, la Genética Médica será el campo donde centraremos el objeto de estudio del presente trabajo.

El interés que se ha experimentado en relación a los padecimientos cuya etiología está dada por un patrón genético, se

refleja en el catálogo de enfermedades mendelianas que en la edición de 1988 cita 4344 de estos padecimientos (1).

#### Enfermedades Hereditarias Distribuidas por Etiología.

	año 1958	año 1988
Autosómico Dominante	295	1443 (1114)
Autosómico Recesivo	89	626 (851)
Ligada al X	38	139 (171)
Total	412	2208 (2136)
	Total para el año 1988	4344

(1) número de entidades cuya etiología no está comprobada.

De los diferentes padecimientos producidos por alteraciones en el complemento cromosómico, abordaremos aquellos que se han relacionado con las alteraciones numéricas y estructurales del cromosoma X, que van a determinar la presencia de anomalías somáticas y del desarrollo sexual.

El tratamiento de estas pacientes está encaminado a inducir desarrollo de caracteres sexuales secundarios y atenuar las alteraciones somáticas, sin embargo, para que el tratamiento sea efectivo se requiere que el diagnóstico se efectúe tempranamente.

En este trabajo se pretende ofrecer a las personas interesadas en el campo de la Genética Humana, una correlación fenotipo-cariotipo en pacientes con alteraciones numéricas y

estructurales del cromosoma X, con el propósito de facilitar su manejo y tratamiento y efectuar una contribución a lo que hasta la fecha se conoce sobre este tema.

## II.- ANTECEDENTES

### Bosquejo Histórico.

Desde épocas remotas el hombre se ha interesado por conocer los factores que determinan el desarrollo y sexo de un individuo. La primer evidencia se remonta al siglo VII A.C., con un escrito acerca del hermafroditismo en las tablas cuneiformes encontradas en las ruinas de la librería Real de Nínive. En ellas se describen además 62 malformaciones y los presagios a la que cada una correspondía. Como un ejemplo de estos tenemos el siguiente (2):

Tabla 34.- "Si una madre da a luz a un niño sin sexo definido, la calamidad y la aflicción se apoderará de la tierra y el dueño de la casa no tendrá felicidad".

Posteriormente se realizaron otras investigaciones pero muchos de los datos eran erróneos, pues se obtenían de la observación en animales, un ejemplo lo constituye el que creyeran que la mujer poseía dos úteros. En el siglo V A.C., Parménides de Elea postulaba que si el individuo se desarrollaba en el útero derecho sería varón (lado asociado con la fuerza y la justicia), mientras que si se desarrollaba en el lado izquierdo el producto sería una mujer (lado asociado con la debilidad y la maldad). Anaxágoras por su parte, proponía que eran los testículos los que

determinaban el sexo de los hijos: el testículo derecho daría origen a varones y el izquierdo a mujeres.

El tema del hermafroditismo se retoma en la disertación de Aristófanes, citada en el Simposium de Platon, en el que declara que la naturaleza humana original estaba constituida por tres sexos: masculino, femenino y una combinación masculino-femenino llamado andrógino. Estos seres tenían forma esférica, cuatro brazos, cuatro piernas y genitales dobles. Eran poderosos y se rebelaron contra los dioses, que para abatirlos los cortaron en dos, dando origen de esta forma al hombre actual. La palabra sexo se conforma a partir de esta versión del origen del hombre, pues deriva del latín *sexus*, que es análoga a *secus* la cual a su vez deriva de *secare* que significa cortar (3).

Después de la época de Platon se sugirió que tanto el hombre como la mujer producían semen y que la predominancia de alguno de los dos determinaría el sexo de los hijos. Empédocles postuló su hipótesis Térmica, mediante la cual el producto sería un varón si la concepción se realizaba en un útero caliente y mujer si se realizaba en un útero frío. Además, este mismo filósofo desarrolló una teoría de la evolución en la que proponía que sólo los individuos bien formados sobrevivían. Otro filósofo griego que también contribuyó con sus observaciones en anatomía y embriología fue Aristóteles, quien describió el aparato reproductor masculino y el femenino, sin embargo no llegó a

comprender su función (2).

Durante los siguientes siglos la investigación no avanzó y no fue sino hasta el siglo XVII D. C., cuando se realizaron estudios que aportaron datos importantes. Algunos de los trabajos más relevantes fueron los de Columbo y Pare que de manera independiente describen casos con alteraciones del desarrollo sexual; Regnier de Graaf propone la transmisión de caracteres hereditarios y describe el folículo de de Graaf en el ovario; y A. van Leeuwenhoek construye el primer microscopio y observa las células sexuales masculinas a las que llama animáculos (4).

En el siglo XIX D.C., los trabajos más importantes en el área son la teoría de la evolución de Darwin y los trabajos sobre hibridación en plantas de Mendel. A fines de este siglo se realizaron las primeras observaciones relativas a los cromosomas sexuales en mamíferos, cuando se estudiaron células germinales femeninas y se observó que los cromosomas eran elementos agrupados en pares iguales, mientras que en las espermatogonias un par estaba integrado por un elemento más pequeño que el otro. En 1902 Mc Clung propone que esta diferencia es el factor determinante del sexo. Estos cromosomas que marcaban la diferencia entre los dos sexos fueron denominados por Wilson como X al de mayor tamaño y Y al más pequeño (5).

El primer intento para determinar el número cromosómico en el hombre se efectuó en 1891 por Hanseman, pero el primer dato

importante lo obtuvo von Winiwarter en 1912, quien contó 47 cromosomas en espermatogonias y 23 en un espermatocito, considerando un número cromosómico de 46 en el hombre y de 47 para la mujer (6).

En 1917 Weiman determina la presencia de cromosomas X y Y en el humano y Evans en 1928 reportó 46 cromosomas en células somáticas (7, 8). En 1921 Painter trabajando con material testicular reconoce el cromosoma Y y deduce que este cromosoma es importante para la determinación del sexo masculino. En su primer reporte este último investigador propone que el número cromosómico humano es de 46 sin embargo, dos años después rectifica a 46 el número de cromosomas para ambos sexos (9, 10).

Este dato permaneció vigente hasta el año de 1956 en que Tjio y Levan estudiando células somáticas reportan un número de 46 cromosomas (11). Esto fue verificado por Ford y Hamerton en diversos tejidos con lo que el complemento diploide humano quedó establecido en 46 cromosomas (12).

Los trabajos de Tjio y Levan dieron las bases para el estudio citogenético de diversos padecimientos, al introducir técnicas que permiten obtener preparaciones cromosómicas de alta calidad (11).

De los padecimientos que afectan el desarrollo sexual los primeros en los que se estableció la alteración cromosómica

fueron el síndrome de Turner, por Ford en 1959 (13) y el síndrome de Klinefelter, por Jacobs en el mismo año (14). La utilización de técnicas de bandeo que producen patrones específicos a lo largo de los cromosomas, se inició con los trabajos de Caspersson (15, 16), quien empleó colorantes fluorescentes para teñir sus preparaciones, obteniendo un patrón de bandas que se conoce como bandas Q. Actualmente se cuenta con varias técnicas que permiten la obtención de diferentes patrones de bandeo (Bandas G, Bandas C, Bandas R) (17, 18, 19), que son técnicas de gran utilidad para el estudio de padecimientos cuya etiología se debe principalmente a alteraciones estructurales de los cromosomas. Gracias a esto, actualmente los trabajos son más precisos y en lo que se refiere a los cromosomas sexuales, se tiene un esquema general del efecto que ejercen en el desarrollo sexual y somático de los individuos.

#### Evolución de los Cromosomas Sexuales

En la actualidad los cromosomas sexuales son diferentes en tamaño y contenido genético, pero originalmente en grupos ancestrales de vertebrados eran un par de autosomas homólogos.

En vertebrados inferiores como los peces teleosteos de los géneros Serranus e Hypoplectrus (Fam. Serranidae) y la especie Rivulus marmoratus (Fam. Cyprinodontidae), no existen mecanismos determinantes del sexo, por lo que cada individuo se puede

desarrollar como un hermafrodita funcional. Este hecho se puede considerar como una evidencia de que en los primeros vertebrados no existía un cromosoma en el que se hubieran acumulado factores determinantes del sexo (20).

En peces, anfibios y reptiles (con excepción de las serpientes) no es posible reconocer en base a la morfología ningún cromosoma sexual. En general, se puede decir que en estos grupos de vertebrados los cromosomas sexuales se encuentran en una etapa primitiva de diferenciación.

Las serpientes presentan los cromosomas sexuales en tres diferentes estados de diferenciación, dependiendo de la familia que se analice.

- En la familia Boidae los cromosomas sexuales son homomórficos y están en una etapa inicial de diferenciación.

- En la familia Colubridae se presenta una inversión pericéntrica en uno de los cromosomas sexuales y aunque ambos son de igual tamaño, uno es un elemento submetacéntrico.

- En las familias Crotalidae, Elapidae y Viperidae existe una gran diferencia de tamaño entre los cromosomas sexuales, debido a la pérdida de material genético por intercambio desigual y se considera que

las serpientes pertenecientes a estas familias son las más evolucionadas.

En hembras de la especie Bungarus fasciatus (Fam. Elapidae), utilizando métodos de ultracentrifugación se han aislado secuencias de DNA satélite proveniente del cromosoma W. Debido a que constituyen el componente de menor densidad y por provenir de esta especie (banded krait), se les denomina secuencias Bkm (banded krait minor). La importancia de este hallazgo radica en que este DNA está conservado en aves y mamíferos, tanto en hembras como en machos, siendo mayor la cantidad presente en el sexo heterogamético. Existen datos que indican que estas secuencias se transcriben y se ha propuesto tentativamente que codifican para un RNA nuclear corto, que podría ser el determinante sexual primario (21). Es importante recordar que tanto en anfibios, reptiles y aves el sexo heterogamético es la hembra (ZW) y el macho es homogamético (ZZ), mientras que en los mamíferos el macho es el sexo heterogamético (XY) y la hembra es homogamética (XX) (22).

Los mamíferos de hoy descienden de un tronco común de protoinsectívoros que durante la especiación dieron lugar a una gran variedad de complementos cromosómicos. El rango del número cromosómico va desde el encontrado en el primate Tarsius bancanus con 80 cromosomas (23) hasta el del roedor Microtus oregoni con 17 (24). Esta gran diversificación de cariotipos parece estar

acompañada por muy pequeños cambios en el contenido génico total. Mandel y cols., fueron los primeros en mostrar que cada núcleo diploide en mamíferos contiene cerca de  $7.0 \times 10^{-7}$  mg de DNA (25) y que por lo tanto la presencia de una cantidad semejante de DNA en las diferentes especies de mamíferos implica que la especiación se llevó a cabo sin ningún cambio perceptible en la cantidad del material genético.

Mientras que los autosomas han experimentado un gran número de rearrreglos, el cromosoma X ha persistido sin cambios sustanciales desde su origen. Algunos de los genes originales del X primitivo han sufrido mutaciones en diferentes direcciones durante el proceso de especiación, sin embargo, muchos de los genes que actualmente se encuentran a lo largo del cromosoma X, realizan la misma función en diferentes especies (26). Este es el caso del gen de la hemofilia A y B, que se presenta tanto en el hombre (27), en el perro (28, 29) y en el caballo (30).

En estudios recientes, Lyon y Hoo (31, 32) proponen otra hipótesis según la cual la formación de los cromosomas sexuales se llevó a cabo mediante la transferencia de material del cromosoma Y al X, tal como se muestra en la figura 1.

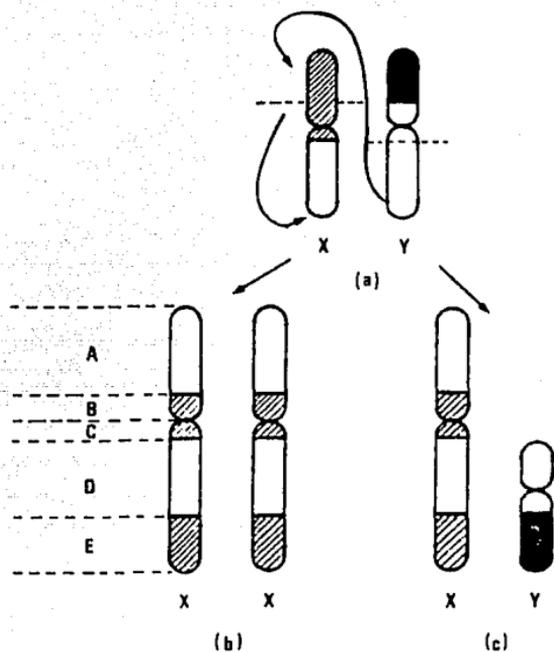


Figura 1.- a) Cromosomas homomórficos en los que se han acumulado genes determinantes de la diferenciación sexual; b) y c) cromosomas sexuales resultantes de la transferencia de material del Y al X, correspondiendo b) al sexo homogamético y c) al heterogamético.

## Inactivación del Cromosoma X

Para la mayoría de los genes existe una relación 1:1 entre la dosis génica y los niveles de expresión. Cuando los genes individuales están presentes en dosis anormales, su efecto en el organismo es menor, sin embargo, cuando un fragmento cromosómico o todo un cromosoma está afectado, las alteraciones en el individuo generalmente son severas (33, 34, 35). Esto implica que el balance cromosómico es necesario para el desarrollo normal.

En el año 1949 el Dr. Murray Barr y su alumno E. G. Bertram, trabajando con células nerviosas de gatas, detectaron la presencia de una masa de cromatina en la periferia de los núcleos, aparentemente adherida a la superficie interna de la membrana (36). Posteriormente Barr identificó este cuerpo cromatinico en las células de la mayoría de los tejidos de hembras de varias especies de mamíferos y actualmente esta estructura recibe el nombre de corpúsculo de Barr, sexocromatina o cromatina X.

La primera evidencia de que el corpúsculo de Barr se origina a partir de uno de los cromosomas X, la obtuvieron Ohno y cols., en el año de 1959 (37). En 1961 varios investigadores trabajando de manera independiente, llegaron a la formulación de una hipótesis que explica la compensación de dosis de genes en la hembra por medio de la inactivación de un cromosoma X. Esta

hipótesis se conoce como hipótesis de Lyon, pues fue Mary Lyon (38) quien la formuló clara y detalladamente, estableciendo lo siguiente:

1.- "En las células somáticas de las hembras de mamíferos, sólo un cromosoma X está activo. El segundo cromosoma X está condensado e inactivo y aparece en las células en interfase como cromatina sexual".

2.- "La inactivación se origina en las primeras etapas de la vida embrionaria".

3.- "El cromosoma X inactivo puede ser indistintamente un X paterno o materno en células diferentes de un mismo individuo, es decir que este proceso es al azar. Una vez establecida en cada una de las células la inactivación de alguno de los dos cromosomas X, esta será conservada como una característica en sus descendientes clones. En términos generales la inactivación es aleatoria y definitiva".

De acuerdo con este modelo, las mujeres pueden considerarse mosaicos naturales, ya que tienen dos poblaciones celulares, una con el X materno inactivo y la otra con el X paterno. Este mecanismo de inactivación además de establecer una compensación de dosis entre ambos sexos, disminuye el efecto nocivo que ocasiona el exceso de cromosomas X en aquellos individuos con polisomías, al inactivar todos los X supernumerarios, dando lugar

a que el número de cromatinas X sea igual al de cromosomas X del genoma menos uno (39).

El mecanismo de inactivación al azar se pierde cuando uno de los cromosomas X presenta alteraciones estructurales, siendo este el que se inactiva, preservándose el X normal. Cuando esto sucede, la cromatina X tiene una forma y tamaño variable.

Sin embargo, el modelo básico de la hipótesis de Lyon ha sido modificado por estudios recientes de los que se han obtenido los siguientes datos:

- La inactivación se produce en el paso de mórula a blastocisto, se inicia en el trofoectodermo y de aquí se extiende al resto del embrión (40, 41). Se postula que los cambios que acompañan a la diferenciación inducen la compensación de dosis o bien que ambos eventos comparten un mecanismo común (42, 43).

- En marsupiales y euterios existen evidencias de que el X paterno se encuentra preferentemente inactivo antes de que se forme el blastocisto (44, 45). La diferencia entre el X materno y el X paterno estriba en que en el primero el DNA se encuentra metilado en el momento de la fecundación, por lo que al llevarse a cabo el proceso de metilación, este actúa preferentemente sobre el X paterno, por lo que es inactivado (46).

- El cromosoma X inactivo en los ovocitos es reactivado cuando las células entran en meiosis, ya que se requiere la

presencia de los dos cromosomas X activos para que se lleve a cabo la maduración de las células germinales (47, 48).

- Se ha encontrado una región en los brazos cortos del cromosoma X que no está sujeta a la inactivación (p21-pter). Los genes de esta región muestran compensación de dosis parcial y su pérdida tiene serias consecuencias (49).

- Se propone la existencia de un centro de inactivación en los brazos largos del X, cercano al centrómero (q13-q21), a partir del cual se inicia la inactivación y de ahí se extiende a lo largo del cromosoma (50, 51, 52).

- Varias hipótesis se han propuesto para tratar de explicar el proceso de inactivación, sin embargo existen evidencias que apoyan el modelo de la metilación del DNA como el mecanismo que mantiene la inactivación del cromosoma X. Algunos autores reportan una relación inversa entre el grado de metilación del DNA y la actividad transcripcional al utilizar inhibidores de la metilación como inductores de la reactivación de genes anteriormente inactivos (53, 54).

## Diferenciación sexual

La determinación del sexo y la diferenciación sexual de un individuo implican una serie de procesos secuenciales que de manera general se pueden dividir en tres etapas:

- a) - Diferenciación Genética o Cromosómica, que se determina en el momento de la fecundación.
- b) - Diferenciación Gonadal, que va a resultar en el desarrollo de ovarios en la mujer y testículos en el hombre.
- c) - Diferenciación Fenotípica, mediada por hormonas gonadales que inducen la diferenciación del aparato genital, constituido por las estructuras ligadas a la función reproductora, al transporte de los gametos, acoplamiento y gestación (55).

Cada etapa esta regulada por lo menos por 30 genes localizados en los cromosomas sexuales y en los autosomas, que interactúan a través de una serie de mecanismos que incluyen factores organizadores, esteroides sexuales, secreciones peptídicas y receptores tisulares específicos (56).

#### a) - Diferenciación Genética o Cromosómica

En esta etapa de la diferenciación sexual, la fecundación de un óvulo que sólo aporta un cromosoma X por un espermatozoide con un cromosoma X o Y, establece la primera diferencia entre los hombres (XY) y las mujeres (XX). A partir de este evento la diferenciación será producto de una serie de procesos mediados por factores determinantes de la masculinización o feminización, cuyos genes se localizan tanto en los autosomas como en los cromosomas sexuales (55).

Para que se inicie el proceso de masculinización es necesaria la presencia de un cromosoma Y. Utilizando los datos que se han reportado en pacientes con alteraciones estructurales del cromosoma Y, se ha tratado de localizar los genes relacionados con la diferenciación sexual masculina. En base a estos estudios se han obtenido evidencias de que los genes determinantes de la diferenciación testicular se encuentran localizados en los brazos cortos del Y (57, 58, 59) y que algunos genes relacionados con la maduración de las gónadas y la espermatogénesis se encuentran en los brazos largos (60).

Se ha sugerido que algunos genes del brazo corto del cromosoma Y controlan la producción del antígeno H-Y, el cual es una proteína de superficie con capacidad antigénica identificada por Eichwald y Sillmer (61), que sólo se encuentra en las células masculinas y es diseminada en la gónada primitiva por

las células precursoras de las células de Sertoli. Para que el proceso de diferenciación testicular se realice es necesaria la presencia de un receptor membranar para el antígeno.

El sistema génico que controla la síntesis y acción del antígeno H-Y está integrado por genes localizados tanto en los cromosomas sexuales como en autosomas: un gen regulador en el Y (62), un gen represor en los brazos cortos del cromosoma X (63, 64, 65), genes estructurales en un autosoma (63) y se ha propuesto que la expresión del receptor para el antígeno H-Y está controlada por un gen ligado al X (66).

El antígeno H-Y fue inicialmente identificado como un antígeno de transplante específico de los machos y posteriormente fue sugerido como el factor inductor de la gónada primitiva a testículo. Estudios recientes han postulado que el antígeno H-Y responsable de la gonadogénesis y el antígeno presente en los trasplantes no es el mismo. Polani y Adinolfi (67) proponen la existencia de un precursor codificado por un gen autosómico, que es modificado por la acción de un gen ligado al Y o al X, dando como resultado dos productos, uno con propiedades antigénicas y el otro gonadogénicas.

El cromosoma Y posee otros genes adicionales que regulan la espermatogénesis (68), el crecimiento corporal (69), la maduración ósea y dental (70) y la prevención de alteraciones somáticas relacionadas con el síndrome de Turner (71).

La participación del cromosoma X en la diferenciación gonadal es muy importante en ambos sexos. Aún cuando en las mujeres uno de los cromosomas X se encuentra inactivo, durante la meiosis se requiere su reactivación para que la diferenciación ovárica se efectúe y asegurar la fertilidad. En el hombre se ha observado que en el espermatozoido primario se requiere la inactivación del cromosoma X para que la espermatogénesis se lleve a cabo (71).

#### b)- Diferenciación Gonadal

La diferenciación gonadal se inicia en la sexta o séptima semana de vida intrauterina. El primer esbozo de la gónada o cresta genital es una masa compacta de varias capas de células que sobresalen en la cavidad celómica. Estas células se desarrollan a partir del borde superior de la capa visceral del mesodermo epitelial, posteriormente se reduce su conexión con el peritoneo y de esta forma la gónada queda suspendida por una doble membrana llamada mesorquio o mesovario (56).

Las células que integran las crestas genitales son de dos tipos:

- Células pequeñas provenientes del epitelio celómico que darán origen a las células de Leydig y a las células de Sertoli en el testículo o a las células

foliculares en el ovario.

- Células de mayor tamaño, casi esféricas, con núcleos prominentes más o menos vesiculares. Su citoplasma presenta propiedades de tinción Pas + y una gran actividad de la fosfatasa alcalina, lo que indica que se encuentran en un estado activo de intercambio metabólico con los tejidos que las rodean. Estas células reciben el nombre de Células Germinales Primordiales (CGP) y son las precursoras de las células sexuales.

Se ha propuesto que las CGP tienen un origen autónomo y diferente al de las células provenientes del epitelio celómico. En 1950, Witschi en base a sus observaciones en embriones de aves propuso que las CGP se originan a partir del endodermo del saco vitelino y alantoides, aproximadamente el día 22 de vida embrionaria (72, 73), de donde migran a través del endodermo del intestino posterior, pasando por el mesenterio intestinal hasta llegar al primordio de las crestas urogenitales (72). El proceso migratorio se lleva a cabo por dos tipos de movimientos: translación pasiva y desplazamiento ameboide activo. Aunque a la fecha se desconoce el factor o factores que inducen a las CGP a migrar, se piensa que las células somáticas ubicadas en la zona en que se localiza la cresta genital emiten señales que atraen y retienen a las CGP (55).

Una vez que las CGP llegan al primordio gonadal, inician junto con las células somáticas mesenquimatosas y del epitelio celómico un proceso activo de proliferación que dará origen al blastema gonadal, localizado en la región ventral del mesonefros. El blastema se encuentra organizado en dos tipos de tejidos: el constituido por las CGP rodeadas por células somáticas precursoras de las futuras células de Sertoli o de la granulosa; y el tejido estromático, precursor de tejido conectivo, vasos sanguíneos y del tejido intersticial productor de hormonas esteroides (células de Leydig o células de la teca interna y glándulas intersticiales) (55) (fig. 2).

La diferenciación testicular se inicia en etapas tempranas de la vida intrauterina, el evento que marca el inicio del proceso lo constituye la segregación de tejido epitelial de la superficie de la gónada indiferenciada, formando trabéculas o cordones celulares, que están constituidos por las células germinales que se multiplican activamente. Los cordones así formados se fragmentan y cada segmento origina un túbulo seminífero. El mesenquima que inicialmente rodeaba a los cordones sexuales se transforma en una cubierta fibrosa que rodea al testículo denominada tónica albugínea. Entre los cordones sexuales se forma un tejido que contiene a las células de Leydig, productoras de andrógenos. El conducto de Wolff o mesonefros, se

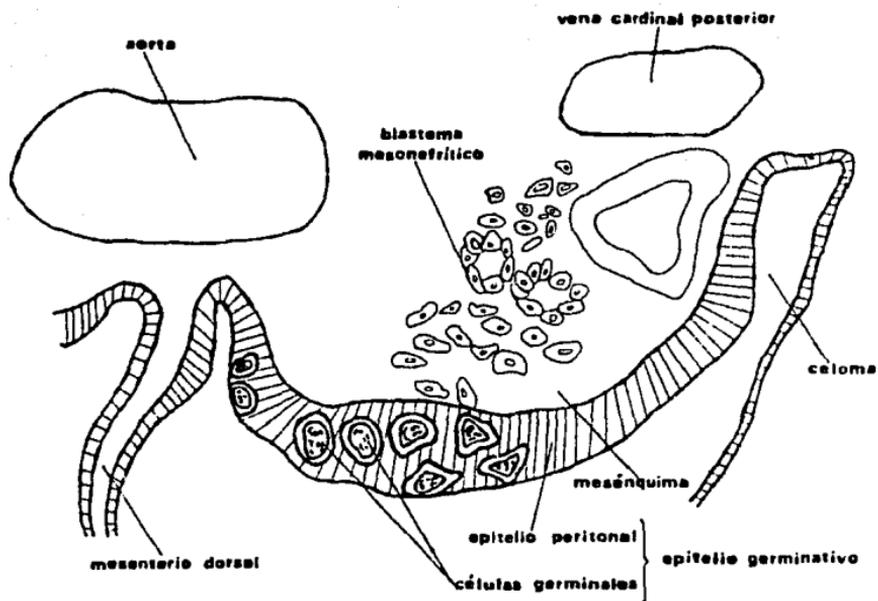


Figura 2.- Organización del blastema gonadal.

diferencia en diversas estructuras para comunicar el testículo con el exterior: en el interior de la gónada se encuentran los tubos mesonéfricos, los tubos seminíferos, los tubuli recti y la rete testis, que se comunica al exterior a través de los vasa efferentia, que se reúnen en el epididimo para continuar por el canal deferente o canal de Wolff (74), (fig 3).

En este proceso de diferenciación sexual masculina, las hormonas esteroides sexuales son factores de suma importancia. Es bien conocido que en casi todos los vertebrados inferiores e incluso en algunos mamíferos como los marsupiales, es posible mediante hormonas inducir reversión sexual de la gónada (74, 75). Sin embargo, en mamíferos euterios, la presencia o ausencia de hormonas esteroides sexuales no afecta la diferenciación sexual masculina, debido a que la síntesis de antígeno H-Y parece ser constitutiva (55).

Las células de Sertoli embrionarias presentan el retículo endoplásmico rugoso muy desarrollado, característica típica de las células secretoras de polipéptidos, mientras que en las células de Leydig el desarrollo del retículo endoplásmico liso indica gran actividad secretora de esteroides. Estas propiedades de las células testiculares constituyen la base de la actividad morfogenética del testículo fetal, que se expresa con la producción de la hormona inhibidora de las estructuras mullerianas (HIM) por las células de Sertoli y la producción de

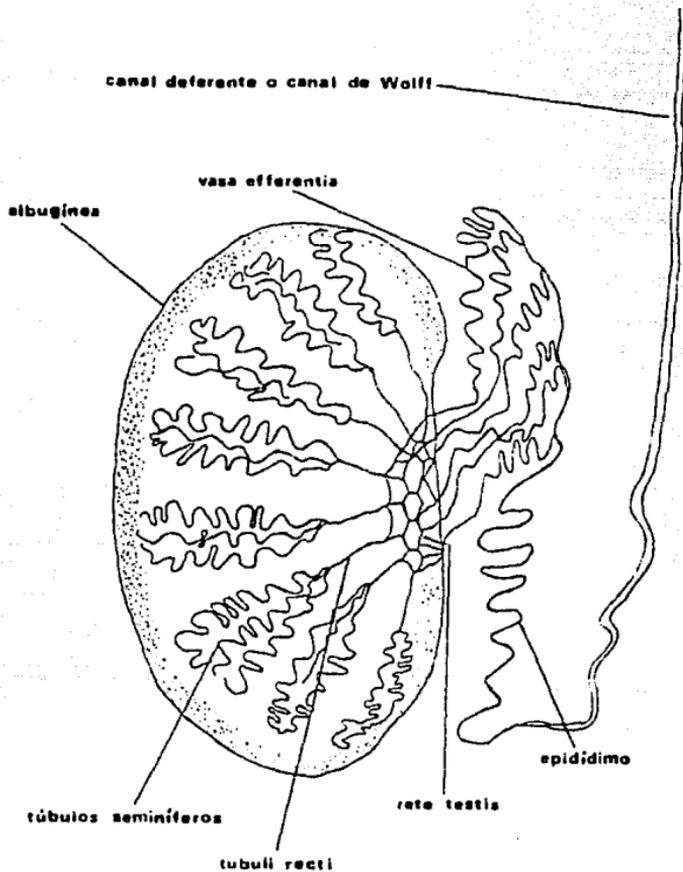


Figura 3.- Organización interna del testículo, en donde se puede observar la anastomosis de los tubulos seminíferos hasta la integración del epidídimo.

Testosterona (T) por las células de Leydig (76, 77, 78).

La diferenciación del ovario a partir de los elementos somáticos de la gónada indiferenciada, se inicia en la novena semana a partir del epitelio germinativo con el desarrollo de cordones sexuales en dirección a la médula. Este crecimiento pronto se hace abortivo y los vestigios de los cordones quedan en el centro del ovario constituyendo la rete ovarii. Un segundo crecimiento produce los cordones de Valentín-Pflüger, constituidos por ovogonias y células del epitelio peritoneal que son las precursoras de las células foliculares y la granulosa. Los dos procesos se encuentran separados por una delgada capa de tejido mesenquimatoso a la que se le denomina albugínea pero que no se desarrolla tanto como en el testículo (74) (fig. 4).

Entre la onceava y doceava semana un número importante de ovogonias entran en la primera profase meiótica y las últimas inician la meiosis a los siete meses. De acuerdo con Byskov y otros autores, la rete ovarii secreta un factor inductor de la meiosis, que explicaría el que las ovogonias que se encuentran en el centro del ovario sean las primeras en entrar en meiosis (79, 80, 81). Se ha propuesto también la existencia de un factor represor de la meiosis tanto en el ovario como en el testículo, sin embargo se desconoce su naturaleza química y mecanismo de acción.

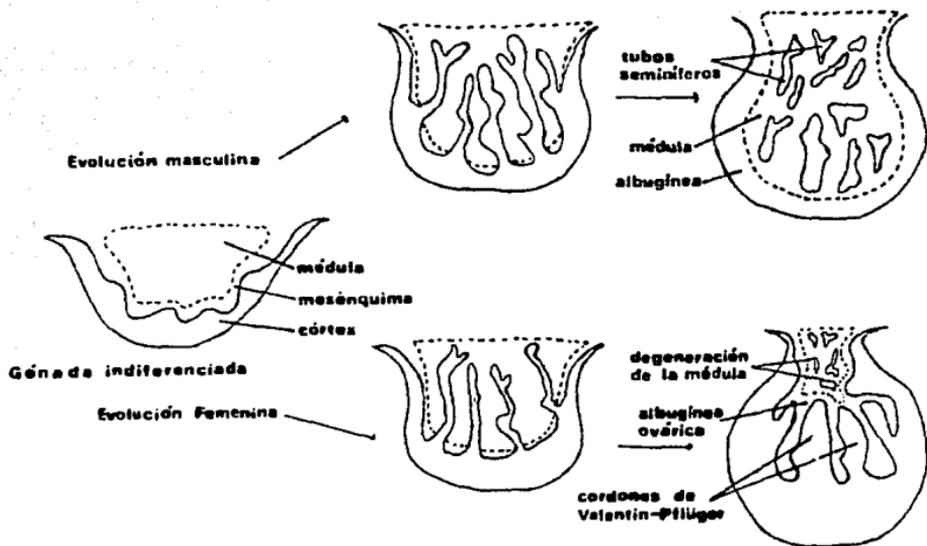


Figura 4.- Evolución del testículo y el ovario a partir de la gónada indiferenciada, se puede observar el desarrollo de la médula en el varón y la corteza en la hembra.

Las ovogonias se dividen activamente de manera que a los cinco o seis meses existen aproximadamente cinco millones en ambos ovarios. Una vez que los cordones de Valentin-Pflüger se fragmentan, cada ovocito se rodea de células foliculares constituyendo el folículo de Graaf. La formación de los folículos alcanza un máximo entre las semanas 20 y 25, evento que coincide con la mayor concentración de Hormona Folículo Estimulante (HFE). Después de esta etapa un gran número de folículos degenera, fenómeno denominado atresia folicular, quedando cerca de dos millones de folículos en el momento del nacimiento (82).

Si por algún motivo los ovocitos desaparecen antes o durante la foliculogénesis, la diferenciación ovárica no se efectúa y la gónada queda como una estructura indiferenciada de aspecto embrionario (83).

#### c)- Diferenciación Fenotípica

Durante las primeras 8 semanas de gestación el desarrollo embrionario de los genitales internos y externos es idéntico en ambos sexos. El tracto genital que dará lugar a los genitales externos se encuentra integrado por dos sistemas de conductos: los conductos de Wolff o mesonéfricos y los conductos de Müller o paramesonéfricos. El tubérculo genital, pliegues genitales y el

engrosamiento labioescrotal constituyen los precursores embrionarios de los genitales externos.

El mecanismo que inicia el proceso de diferenciación fue determinado experimentalmente por Jost (84, 85), quien observó que cuando la gónada se diferencia a testículo, sus secreciones hormonales inducen el desarrollo del fenotipo masculino. En cambio, el desarrollo del fenotipo femenino no se encuentra mediado por secreciones ováricas y se lleva a cabo aún cuando las gónadas han sido extirpadas, lo que constituye una evidencia de la supuesta inactividad endócrina del ovario fetal.

En el desarrollo del fenotipo masculino la involución de los conductos de Muller se inicia entre la octava y la novena semana, concluyendo al final del tercer mes. Este proceso se encuentra mediado por la hormona fetal inhibidora de las estructuras mullerianas (HIM), secretada por las células de Sertoli. Se sabe que esta hormona tiene efecto local y que requiere de una cercanía anatómica entre el tejido testicular y los conductos mullerianos para que se lleve a cabo la regresión. Sin embargo, Nathalie Josso (86) utilizando cultivo de órganos ha demostrado que la hormona puede actuar a distancia. La actividad inhibitoria de la HIM se presenta durante toda la vida fetal, disminuye después del nacimiento, y se ha detectado hasta los diez años de edad. La influencia que ejercen las hormonas masculinas sobre la diferenciación de los genitales internos se pone de manifiesto en

fenómenos como el Free-Martin, ampliamente estudiado en parejas de gemelos dicigotos de bóvidos de diferente sexo, en los que la anastomosis de las placentas permite el intercambio de hormonas sexuales masculinas, que actúan sobre las estructuras müllerianas del feto femenino, dando por resultado que su desarrollo sexual se altere y presente un fenotipo masculino (87).

Una vez que se ha iniciado la síntesis de la HIM, las células intersticiales del testículo fetal se diferencian en células de Leydig productoras de testosterona, cuyo efecto virilizante se ejerce sobre los conductos de Wolff, los que se diferencian a epididimo, vasos deferentes, vesícula seminal y conducto eyaculador. Las células de Leydig alcanzan un máximo de actividad al final del tercer mes de gestación, reduciéndose paulatinamente hasta desaparecer por completo en el primer mes de vida postnatal (55).

La síntesis de testosterona en el testículo fetal, al igual que en el adulto se lleva a cabo a partir del acetato, utilizando al colesterol como producto intermedio. Sin embargo, en la vida adulta la producción de testosterona va a estar mediada por la presencia de hormona luteinizante (HL), mientras que durante la vida fetal, debido a que el sistema neuroendócrino no se encuentra suficientemente desarrollado para producir HL, la síntesis de andrógenos está regulada por una glicoproteína, la gonadotropina coriónica sintetizada por la placenta (88).

La testosterona (T) actúa a nivel local y es secretada a la circulación donde se une a proteínas circulantes (globulina transportadora de hormonas sexuales) (89). Una vez que la T ingresa en el citoplasma de las células es transformada en 5-alfa-dihidrotestosterona (DHT), proceso mediado por una enzima extragonadal la 5-alfa-reductasa. Tanto la T como la DHT se unen en el citosol a un receptor específico para andrógenos (codificado por un gen localizado en el cromosoma X) y posteriormente el complejo entra al núcleo, donde interactúa con la cromatina, para expresar su efecto androgénico a través de la síntesis de proteínas.

Se ha propuesto que la T induce la diferenciación de los conductos de Wolff y que la DHT es responsable de la virilización de los genitales externos. Bajo la acción de esta última hormona los pliegues genitales se alargan y fusionan para dar origen al pene y la uretra, los engrosamientos labioescrotales constituyen el escroto, que alojará a los testículos en el momento de su descenso y estimula el desarrollo de la próstata, que es un órgano derivado del seno urogenital (90) (fig. 5).

El ovario desempeña un papel pasivo en la diferenciación sexual femenina, sin embargo, recientemente Josso ha llevado a cabo estudios en los que observó que la HIM no es una molécula exclusivamente masculina, sino que es producida por las gónadas de ambos sexos. Las células de Sertoli y de la granulosa

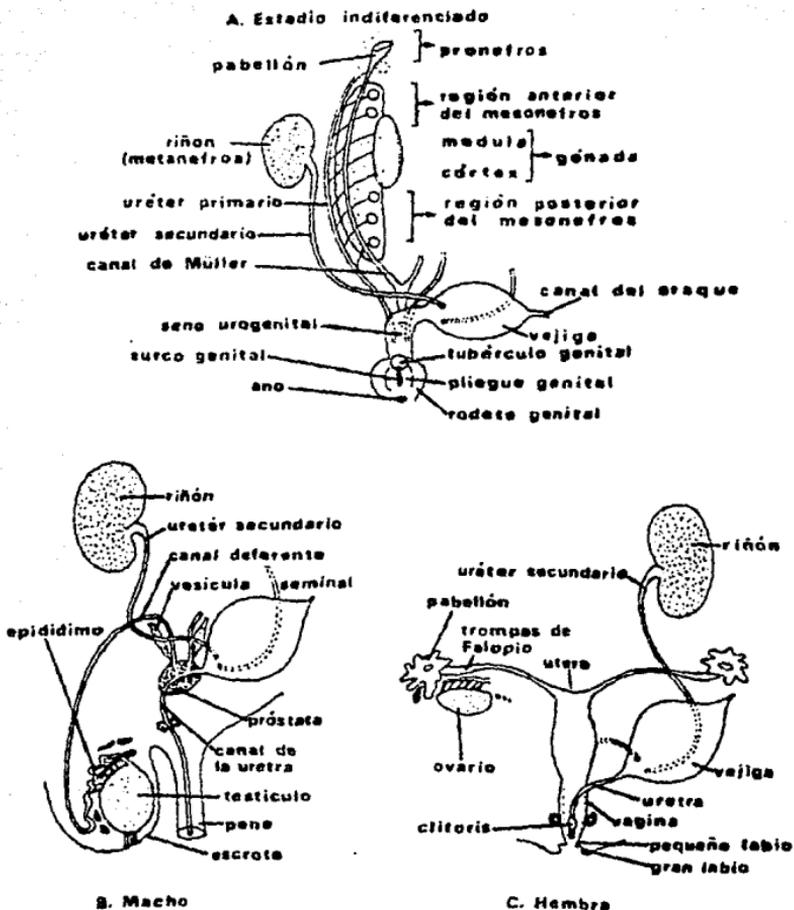


Figura 5.- Desarrollo de genitales internos y externos tanto en el varón y en la hembra a partir de un estadio indiferenciado.

presentan varias similitudes, una de ellas es la producción de HIM, pero mientras que 1 g de testículo fetal y neonatal produce 3  $\mu$ g de la hormona, los folículos ováricos liberan sólo 0.0012  $\mu$ g. Sin embargo, la actividad en ambos sexos es idéntica en concentraciones iguales de la hormona. La HIM es sintetizada en grandes cantidades por las células de Sertoli del testículo fetal en etapas tempranas del desarrollo, cuando los ductos mullerianos son sensibles a su efecto. En cambio las células de la granulosa se diferencian más tardíamente, cuando los ductos mullerianos se han hecho resistentes al efecto de la hormona lo que permite su diferenciación en trompas de Falopio, útero y porción superior de la vagina (91).

Utilizando técnicas de hibridización se ha mapeado el gen que codifica para la producción de la HIM en los brazos cortos del cromosoma 19 (91).

Por otra parte, en individuos femeninos la ausencia de T y DHT, ocasiona que los conductos de Wolff no se desarrollen y los genitales externos se feminicen: el tubérculo genital da origen al clitoris, los engrosamientos labioescrotales a los labios mayores y los pliegues genitales a los labios menores. La invaginación del seno urogenital origina la porción inferior de la vagina (55, 74, 90) fig 5.

## Alteraciones numéricas y estructurales del cromosoma X

Las alteraciones cromosómicas se clasifican en numéricas y estructurales. En las primeras existe un exceso o un déficit de cromosomas como consecuencia de una disyunción defectuosa durante la primera o segunda división meiótica en las células germinales, o durante las primeras divisiones mitóticas en el cigoto, en este último caso dando origen a mosaicos. En las alteraciones estructurales la morfología cromosómica se altera debido a la ruptura en uno o más cromosomas, en los que el rearrreglo de los extremos libres da origen a las diferentes anomalías (fig 6).

La frecuencia de anomalías cromosómicas en recién nacidos es de aproximadamente de 1:160 (92, 93), de las que 36% corresponde a los cromosomas sexuales y 65% a los autosomas. Cuando se toman en cuenta los abortos espontáneos del primer trimestre (10% de las gestaciones) (94, 95), se ha calculado que aproximadamente uno de cada veinte productos es portador de una anomalía cromosómica, correspondiendo una quinta parte a alteraciones en los cromosomas sexuales. Existen datos que muestran que las monosomías autosómicas manifiestan mayor letalidad en las primeras etapas de la embriogénesis y no han sido observadas en recién nacidos vivos, en cambio la monosomía X es relativamente frecuente. En abortos de etapas tempranas solo el 0.8% de los productos presentan monosomías autosómicas, mientras que el 99.2% tienen monosomía X (96).

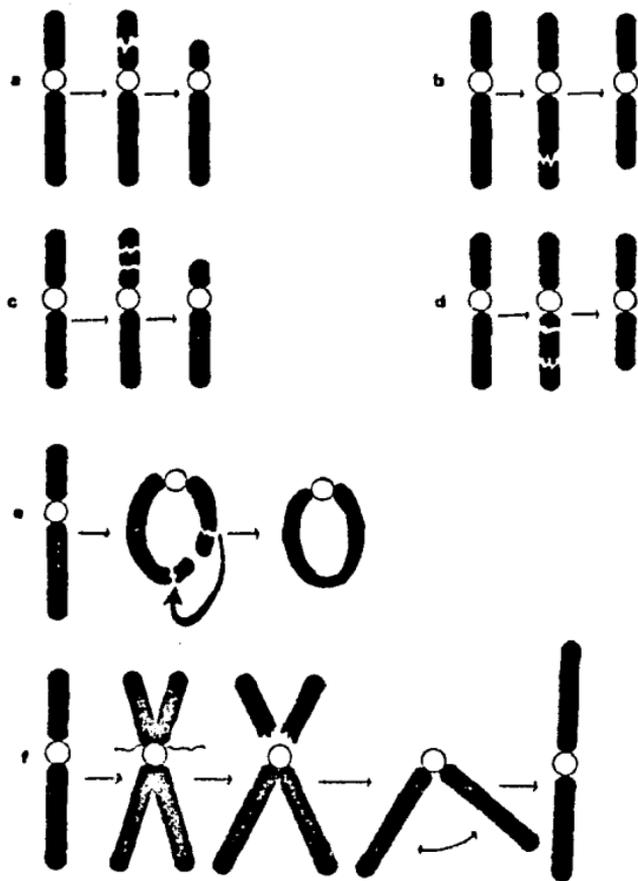


Figura 6.- Alteraciones estructurales de los cromosomas: a) deleción de brazos cortos; b) deleción de brazos largos; c) deleción intersticial de brazos largos; d) deleción intersticial de brazos cortos; e) formación de un cromosoma en anillo; f) formación de un isocromosoma para brazos largos.

Las alteraciones de los cromosomas sexuales por lo general tienen como consecuencia fallas en el desarrollo gonadal, esterilidad y la presencia de anomalías somáticas.

#### Síndrome de Turner

En 1938 Turner describió siete individuos en los que las características patológicas más importantes eran la talla baja, infantilismo sexual, pterigium coli y cubitus valgus (97). Posteriormente, en 1959 Ford relacionó el cariotipo 45, X, al padecimiento descrito por Turner (13).

El complemento cromosómico 45, X es, la única monosomía que en estado completo es compatible con la vida. La frecuencia con que se presenta este complemento es de 1:8000 en recién nacidos. Cuando se toman en cuenta otros cariotipos compatibles con el síndrome de Turner la frecuencia es de 1:2500 (98), sin embargo la frecuencia real de producción es mayor y se calcula que el 10% de todos los abortos espontáneos tienen constitución 45, X. Menos del 1% de los cigotos sobrevive y la mortalidad de los productos es particularmente alta en las semanas 10 y 15 de vida intrauterina (98).

El complemento cromosómico 45,X se origina por un error en la disyunción en la gametogénesis paterna o materna o durante las primeras divisiones mitóticas del cigoto. En ocasiones el estudio

del grupo sanguíneo Xg de los individuos 45,X y sus padres pueda revelar el origen del único cromosoma X que posee el paciente, en 78% de los casos proviene de la madre y en 22% del padre (99). A diferencia de lo que ocurre en otros padecimientos como el síndrome de Down, se ha observado que existe un efecto inverso de la edad materna y que la mayor frecuencia se presenta en madres jóvenes (100).

Los caracteres fenotípicos más importantes en los individuos con síndrome de Turner son:

- Fenotipo femenino.
- Disgenesia gonadal con ausencia de caracteres sexuales secundarios.
- Talla baja.
- Anormalidades somáticas asociadas.

Dentro de las anormalidades somáticas asociadas más frecuentes en este padecimiento están el cuello corto con implantación baja del cabello en la nuca, nevos pigmentados, coartación de la aorta, defecto septal ventricular o aorta bivalva (101), riñón en herradura (102), cubitus valgus, cuarto metacarpiano y metatarsiano cortos y dermatoglifos anormales (103). La asociación entre el cuello alado y las enfermedades cardíacas sugiere una relación patogénica (104). El hecho de que

estas patologías se encuentren asociadas no indican que una sea necesariamente resultado de la otra, sino que puede existir otro factor o factores que de manera directa o indirecta influyan para que los defectos cardiacos y el cuello alado se presenten juntos frecuentemente (101, 105).

Se ha postulado que las alteraciones somáticas y las gonadales en este padecimiento tienen una patogénesis común que afecta principalmente a los tejidos de origen mesodérmico (106).

El diagnóstico de este síndrome se puede establecer en el momento del nacimiento por la presencia de edema en manos y pies y pliegues de piel en la región posterior del cuello y por deficiencias en el sistema linfático.

Aunque el fenotipo de estas pacientes es femenino, al llegar al período puberal la mayoría de ellas no presentan menarca ni desarrollo de caracteres sexuales secundarios. Las gónadas en el adulto están representadas por estrias fibrosas sin células germinales, sin embargo, Singh y Carr llevaron a cabo estudios comparando gónadas de embriones 45,X y normales y observaron que a los tres meses no existía una diferencia importante entre ambos (107). Estos resultados sugieren que las CGP migran hacia los surcos gonadales pero la mayoría degenera durante la formación de los ovocitos y los pocos que alcanzan a desarrollarse rápidamente se vuelven atrésicos (108). Existen datos que indican que se necesitan los dos cromosomas X normales para que el desarrollo de

los ovocitos sea normal, Fitzgerald (109) propone la existencia de genes de efecto múltiple, localizados en varias partes del cromosoma X que influyen en la atresia de las células germinales en el ovario; la ausencia de un cromosoma X daría lugar a la atresia completa de los ovocitos y las gónadas quedarían como estrias fibrosas (110).

Por lo general las pacientes con síndrome de Turner y sus variantes presentan amenorrea y esterilidad, sin embargo, en la literatura se reportan casos de mujeres con síndrome de Turner que experimentan desarrollo sexual espontáneo. El primer caso data del año 1960 (111), en el que una mujer de talla baja, con un complemento cromosómico 45, X pero buen desarrollo sexual dió a luz un hijo normal. A la fecha pocos casos aislados se han detectado (112, 113), algunos de ellos incluyen mujeres con desarrollo sexual secundario espontáneo y cariotipo 45,X, en las que la constitución cromosómica se estableció en varios tejidos sin evidencia de mosaicismo, aunque no debe descartarse esta posibilidad (114). Las mujeres con síndrome de Turner, función ovárica y embarazos satisfactorios, desarrollan en una etapa temprana síntomas menopáusicos que inducen el cese de la fase fértil. Es importante destacar la necesidad de realizar estudios en mujeres 45,X con menarca espontánea debido a que su fertilidad es muy reducida, el periodo reproductivo corto y las posibilidades de aborto elevadas (115). La explicación que se propone para el hecho de encontrar mujeres con este padecimiento

y desarrollo sexual, es que ocasionalmente subsistan células germinales hasta la edad puberal o que existan mosaicos en el ovario que no pueden ser reconocidos con las técnicas habituales (116).

La ausencia de desarrollo ovárico en el síndrome de Turner ocasiona una síntesis inadecuada de hormonas esteroides sexuales, los niveles de gonadotropinas séricas se encuentran elevados (117) y en ocasiones las altas concentraciones de hormona luteinizante inducen un incremento en la síntesis de andrógenos por las estrías lo que produce hipertrofia del clitoris (96).

Un recurso importante para el estudio del efecto de la monosomía X en el fenotipo de los individuos con síndrome de Turner, lo constituyen los gemelos monocigotos en los que sólo un miembro del par se encuentra afectado. Hasta el año de 1982 existían once reportes de estos casos, en los que el error se debe a una disyunción anormal en etapas tempranas del desarrollo embrionario en uno de los productos (118).

El tratamiento que se aplica a estas pacientes está encaminado a sustituir la falla hormonal y se recomienda iniciarlo a los doce o trece años, utilizando estrógenos conjugados o etinil estradiol. Para asegurar el desarrollo de caracteres sexuales secundarios y menstruación se administran estrógenos y progesterona. En lo que se refiere a la talla baja, la utilidad de los esteroides sintéticos es controversial (118) y

la administración de hormona del crecimiento no es efectiva pues sus niveles son normales y existen evidencias de que la corta estatura se debe a anomalías histológicas en las epifisis de los huesos largos similares a las encontradas en la acondroplasia (106). En México se han hecho estudios utilizando oxandrolona y se ha observado que la estatura se incrementa de manera significativa y que puede ser administrada en la pubertad (120).

El complemento 45,X no es el único compatible con un fenotipo de síndrome de Turner, en diversas investigaciones se han informado los siguientes cariotipos: mosaicos 45,X/46,XX, 45,X/46,XY, alteraciones estructurales tales como isocromosomas de brazos largos 46,Xi(Xq), mosaicos con isocromosomas 45,X/46,Xi(Xq), delección de brazos cortos 46,XdelXp, delección de brazos largos 46,XdelXq, translocaciones X:X, translocaciones X:autósoma y cromosoma X en anillo (119).

#### Mosaicos de síndrome de Turner

Después del complemento 45,X, los mosaicos son la causa más frecuente de anomalías cromosómicas relacionadas al síndrome de Turner y cerca de 20% de los casos estudiados con problemas de amenorrea primaria y talla baja corresponden a esta alteración (119).

Un mosaico se define como la coexistencia en un mismo individuo de dos o más líneas celulares con un número cromosómico

diferente y siempre se originan después de la formación del cigoto. El cariotipo que se detecta regularmente es 45,X/46,XX, y otras combinaciones son escasas pero con implicaciones clínicas importantes (45,X/46XX/47,XXX; 45,X/46,Xi(Xq), etc.) (111).

Las características somáticas en los mosaicos muestran un amplio espectro fenotípico que va desde el síndrome de Turner clásico hasta las de una mujer casi normal. La severidad de las anomalías dependerá de la proporción y localización de cada una de las líneas celulares (122).

Nielsen (123) reporta que en mujeres con mosaicos, aproximadamente 20% presenta desarrollo sexual y menstruación espontánea. Un caso representativo es el de una mujer con un mosaico 45,X (13%)/46,XX (87%), que refería ciclos menstruales normales y 14 embarazos (124).

La variación fenotípica presente en mujeres con mosaicos ocasiona que algunas veces pasen desapercibidas, lo que implica que la frecuencia real de producción debe ser más elevada de lo que hasta ahora se ha registrado (98).

Otro tipo de mosaicos que es necesario mencionar son los que tienen fórmulas asociadas al cromosoma Y, los casos son raros pero las implicaciones clínicas que presentan son importantes. En esta categoría se han colocado a aquellos individuos con los siguientes complementos cromosómicos: 45,X/46,XY; 45,X/47,XXY;

45,X/ 46,XY/ 47,XXY (125). El fenotipo varía desde el de una mujer con síndrome de Turner hasta el de un hombre con testículos disgenéticos, con estadios intermedios de ambigüedad genital (126). Las gónadas se desarrollan de forma variable y se han encontrado estrias bilaterales, testículos disgenéticos bilaterales o un testículo disgenético en un lado y una estria contralateral. Es posible que estos mosaicos se originen por la presencia de cromosomas Y estructuralmente anormales que pueden ser eliminados durante la división celular (125).

En pacientes con estos mosaicos existe una elevada tendencia (20%) a desarrollar tumores gonadales, y como medida preventiva se recomienda la remoción quirúrgica de las gónadas o estrias fibrosas. La neoplasia que se presenta con más frecuencia es el gonadoblastoma, integrado por células germinales, células de Sertoli y estroma (106, 127, 128).

#### Isocromosomas

Los isocromosomas se originan cuando el centrómero se divide en dirección perpendicular a su eje longitudinal en vez de hacerlo paralelamente, por lo que al replicarse el cromosoma está integrado por dos brazos idénticos fig 6. Es la anomalía estructural más frecuente del cromosoma X y aproximadamente 50% de todas las alteraciones detectadas corresponden a isocromosomas

de brazos largos (129).

Con la aplicación de técnicas de bandeado (bandas C) se ha visto que los isocromosomas pueden ser monocéntricos (67.4%) o dicéntricos (32.6%), estos últimos son más inestables lo que trae como consecuencia que durante la división celular se pierdan y se originen mosaicos.

El isocromosoma generalmente se inactiva constituyendo el corpúsculo de Barr que en estos casos es más grande de lo normal y bipartido.

En los casos de isocromosomas para brazos largos que han sido reportados, se menciona la presencia de amenorrea primaria, infantilismo sexual, talla baja y algunas anomalías somáticas del S. de Turner (130). En algunos casos aislados se ha reportado menstruación espontánea (131) y en general las anomalías somáticas características del síndrome de Turner, con excepción de pterigium colí (119, 132).

Therman y colaboradores, proponen que no existen isocromosomas para brazos cortos y que los casos así informados en la literatura corresponden a deleciones parciales de los brazos largos (133). Estos investigadores, proponen la existencia del centro de inactivación en los brazos largos del cromosoma X, lo que explicaría la letalidad en productos con isocromosomas para brazos cortos, puesto que la inactivación en este caso sería

preferencial para el cromosoma X normal, quedando activo el cromosoma constituido unicamente por brazos cortos (133).

#### Delección o Pérdida

Las delecciones o pérdidas de un segmento cromosómico, pueden ser terminales con un solo sitio de ruptura o intersticiales, cuando el fragmento perdido se encuentra entre dos puntos de ruptura, como en la mayoría de los casos fig. 6.

Las delecciones de brazos cortos del cromosoma X (XXp-) son anomalías raras que frecuentemente se encuentran asociadas con otras líneas celulares. Las pacientes con delecciones en los extremos de los brazos cortos, en la región p21-pter, presentan talla baja, evidencias de función ovárica y características somáticas del síndrome de Turner, cuando la delección es más extensa, de p11-pter el fenotipo corresponde al del síndrome de Turner clásico (134, 135).

Las delecciones de brazos largos (Xq-) son alteraciones raras, en los pocos casos que se han estudiado 54.8% tienen menstruación espontánea con actividad ovárica, talla cercana a la normal, desarrollo sexual secundario y baja incidencia de anomalías somáticas asociadas (136). Si los casos de delecciones para brazos largos se analizan con técnicas de bandeado se observa que cuando la ruptura es cercana a la banda q21, se produce

amenorrea primaria y en la mitad de los casos estigmas del síndrome de Turner, si la ruptura se encuentra entre q22 y la región terminal se presenta unicamente amenorrea primaria (134). Un caso muy interesante fue reportado por de la Chapelle y cols., en 1975 (137), en donde una ruptura intersticial de la banda q13 a la banda q26 da como resultado la presencia de función ovárica normal con estigmas turnerianos. Estos datos sugieren que los genes necesarios para la función gonadal se encuentran en los brazos largos, cercanos a q13 o distales a q26, mientras que la ausencia de los genes comprendidos entre estas dos bandas determinan la presencia de estigmas turnerianos (134). Sin embargo, de acuerdo con las observaciones hechas por Dewhurst (138) en cuatro pacientes, los genes relacionados con el desarrollo ovárico se encuentran cercanos al centrómero tanto en el brazo largo como en el corto. Wyss en base a una observación personal y a los casos reportados en la literatura, postuló que los genes relacionados con la función ovárica se localizan en la región proximal de los brazos cortos y en la región distal de los brazos largos, mientras que el material responsable de los caracteres somáticos está distribuido a lo largo de los brazos cortos y en la región media de los largos de q21 a q26, (fig 7) (134). Por otra parte, Sarto et al., proponen que la integridad de la región q13-q27, es necesaria para la función ovárica, debido a que rupturas en esta zona producen disgenesia gonadal.

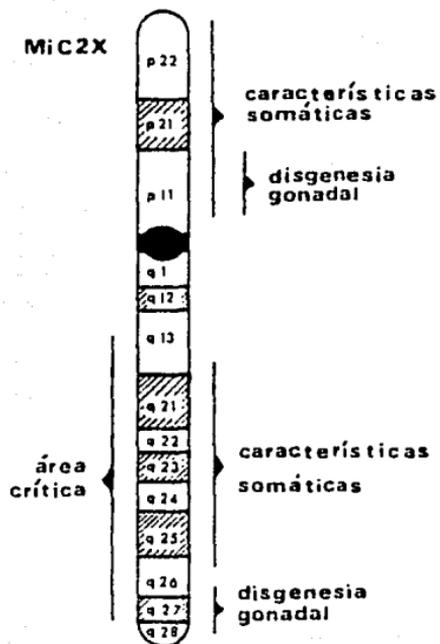


Figura 7.- Esquema en donde se representa el mapa de la distribución de los genes cuya ausencia determinan la presencia alteraciones somáticas, disgenesia gonadal y las regiones que abarca el Área crítica.

Es importante aclarar que aunque estos estudios se han hecho con técnicas que permiten obtener datos bastante exactos, no se puede descartar la posibilidad de que una deleción terminal de brazos largos se confunda con una intersticial, pues el patrón de bandeo que se produce en ambas es muy parecido (139).

### Translocaciones

Las translocaciones se caracterizan por el intercambio recíproco de fragmentos entre cromosomas no homólogos, fig. 6. Las translocaciones del cromosoma X pueden ser de tres tipos:

- Translocación balanceada X-Autosoma.- La manifestación más importante en este caso es la amenorrea primaria, que se produce cuando la ruptura se encuentra entre q13-q27, que de acuerdo con la hipótesis de Sarto et al., (140) constituye el área crítica necesaria para la función ovárica normal, debido a que las rupturas en esta zona producen disgenesia gonadal. En la mayoría de estos casos se observa una inactivación selectiva sobre el cromosoma X normal (141).
- Translocaciones no balanceadas X-autosoma.- Se pueden distinguir tres categorías fenotípicas dependiendo del origen del material perdido, que puede ser del cromosoma X, del autosoma o de ambos. El patrón de

inactivación en estas condiciones varía en los diferentes tejidos del individuo; 1) en algunos tejidos se inactiva el cromosoma X afectado y el autosoma; 2) en otros sólo la porción translocada del X es inactivada; 3) en ocasiones la inactivación selecciona al cromosoma X normal; o 4) bien puede ser al azar (134).

- Translocación X-X.- Los cromosomas resultantes de este tipo de translocación son grandes, de replicación tardía, frecuentemente dicéntricos pero con sólo un centrómero funcional. Las pacientes con esta alteración no presentan estigmas de Turner, pero sí fallas en la función ovárica (134).

#### Cromosoma X en Anillo

El cromosoma X en anillo se origina cuando ambos brazos del cromosoma sufren una ruptura, el material terminal se pierde y los extremos se unen dando lugar a la morfología cromosómica característica en esta alteración, fig 6. Esta anomalía es particularmente inestable y generalmente se encuentra formando parte de un mosaico. El grado de expresión de los caracteres asociados al síndrome de Turner dependerá de la proporción de células 45, X que constituyan el mosaico y de la cantidad de

material perdido al formarse el anillo (142). En la mayoría de los pacientes se presenta talla baja, y escasos estigmas del síndrome de Turner. Se ha informado que la tercera parte de mujeres con cromosoma X en anillo presentan menstruación espontánea y desarrollo de caracteres sexuales secundarios.

### III.- OBJETIVOS GENERALES Y ESPECIFICOS

#### Objetivos generales

Los objetivos generales de este trabajo son establecer en mujeres con amenorrea y/o talla baja una correlación entre las características fenotípicas y los cariotipos que las producen, con el fin de brindar un documento de consulta que permita:

- a) Conocer las principales alteraciones numéricas y estructurales del cromosoma X presentes en nuestro medio.
- b) Hacer del conocimiento de las personas encargadas de trabajar con estas pacientes, el tipo de alteraciones que las caracterizan.
- c) Efectuar una contribución sobre la información que hasta ahora se conoce sobre el efecto que ejerce el cromosoma X en el desarrollo sexual y somático de los individuos.

### Objetivos específicos.

- a) Determinar el cariotipo en una población femenina que presente problemas de amenorrea primaria, talla baja y/o estigmas de Turner y hacer su descripción fenotípica.
- b) Establecer una correlación Fenotipo-Cariotipo, que permita asociar las variaciones físicas en cada uno de los individuos con la alteración cromosómica presente.
- c) Discutir los resultados obtenidos para la población estudiada con los reportados en la literatura.
- d) Establecer un protocolo de investigación para continuar con el estudio de estas pacientes.
- e) Instituir tratamiento a las pacientes en edades prepuberales.
- f) Intentar la formación de grupos interdisciplinarios para el estudio adecuado y completo de esta patología.

#### IV. - MATERIAL Y METODO

El grupo objeto del presente estudio quedó constituido por 117 pacientes que presentaron amenorrea y/o alteraciones somáticas como talla baja y ausencia de caracteres sexuales secundarios, referidas al Servicio de Genética del Hospital General de la Secretaría de Salud, durante el periodo 1980-1987.

De cada una de ellas se elaboró una historia personal, que incluyó la historia familiar, el árbol genealógico, y los resultados de la exploración física.

Para el análisis citogenético las preparaciones cromosómicas se obtuvieron utilizando la técnica modificada de Moorhead y cols., (1960) (143) para cultivos de leucocitos en sangre periférica, la cual se describe a continuación:

1.- Toma de sangre periférica en condiciones estériles en jeringa heparinizada,

2.- Colocar 7-9 gotas de sangre en 5 ml de medio de cultivo (0.5 ml de suero de ternera fetal (10%) + 4.5 ml de medio de cultivo Mc Coy 5A + penicilina 2,000 U/ml + estreptomicina 275 g/ml + 0.2 ml de fitohemaglutinina M). Preparar dos frascos para cada paciente.

3.- Incubar durante 70 hs- 70 hs y media a 37 ^ grados centígrados . Adicionar 0.5 ml de solución de colchicina al 0.2% (en agua destilada estéril) e incubar por 1.5 - 2 h a 37 grados centígrados.

4.- Vaciar el contenido de cada frasco a un tubo de centrifuga de 15 ml y centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min.

5.- Decantar el sobrenadante y resuspender el botón. Agregar 5 ml de solución hipotónica (KCl 0.075 M) a 37 grados centígrados agitando en el vortex. Dejar reposar durante 20 min a 37 grados centígrados.

6.- Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min. Decantar el sobrenadante y agregar gota a gota y en el vortex 5 ml de fijador fresco (metanol-ácido acético 3:1). Dejar reposar 30 min a temperatura ambiente.

7.- Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min, eliminar el sobrenadante y resuspender en 5 ml de fijador. Centrifugar nuevamente. Repetir esta operación cuantas veces sea necesario para obtener un botón blanco y un sobrenadante transparente (5 veces aproximadamente).

8.- Para hacer las preparaciones decantar el sobrenadante y adicionar 10 gotas de fijador para resuspender. Tomar con la pipeta Pasteur y dejar caer 2-3 gotas sobre cada laminilla

perfectamente limpia y desengrasada desde una altura de 10-15 cm.  
Dejar secar al aire.

En cuanto a la técnica de tinción, en todos los casos se aplicaron las técnicas de bandas G y C (6), que se describen a continuación:

#### Bandas G

Las preparaciones cromosómicas se secan al aire y se dejan envejecer durante una semana. Se colocan las laminillas por aproximadamente 30-45 segundos en una solución que contiene 3 ml de solución de tripsina al 1% + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8 en baño maría a 37 grados centígrados. Los tiempos de tripsina deben probarse para cada caso.

Se lavan con solución salina isotónica y posteriormente en agua corriente. Se tiñen durante un minuto en Giemsa (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8). Lavar con agua corriente y secar.

Se observan al microscopio y se localizan las metafases bien bandeadas y con cromosomas separados para analizarlas. Algunas veces el análisis se facilita recurriendo a la fotografía.

### Solución de tripsina al 1%

Se disuelve un gramo de tripsina en 100 ml de amortiguador de fosfatos 0.01 M a pH 6.8 libre de calcio y magnesio (con EDTA al 0.02%). Agitar durante 5-6 h en agitador magnético. Filtrar y fraccionar en alícuotas pequeñas (5-10 ml) para guardar congelada.

### Bandas C

- 1.- Colocar las laminillas en HCl 0.2N por 15-30 minutos.
- 2.- Lavar con agua destilada a la temperatura ambiente.
- 3.- Colocarlas en Ba(OH) a 37 grados centígrados por 15-30 minutos.
- 4.- Lavar con agua destilada a 37 grados centígrados.
- 5.- Posteriormente se colocan en 2XSSC a 60 grados centígrados durante 2 h.
- 6.- Enjuagar en agua destilada a 60 grados centígrados, secar las laminillas y teñirlas inmediatamente con Giemsa 1:10 durante 2-3 minutos en solución amortiguadora de fosfatos.

Los reactivos utilizados en esta técnica se preparan de la siguiente forma:

HCl 0.2 N

1.75 ml de HCl (37%) en 100 ml de agua destilada

Ba(OH) 0.065 M

1.1039 gr de Ba(OH) en 100 ml de agua destilada

2XSSC

8.82 gr de citrato de sodio y 17.53 gr de NaCl en 1,000 ml de agua destilada.

Solución amortiguadora de fosfatos

6.63 gr de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 2.56 gr de  $\text{Na}_2\text{PO}_4$  en 1,000 ml de agua destilada.

Una vez teñidas las laminillas se analizaron al microscopio 11 metafases de cada paciente y en los casos de mosaicos se contaron 50 metafases para determinar la proporción de las líneas celulares. Se fotografiaron tres mitosis por caso para estructurar los cariotipos. Finalmente se procedió a la realización de la correlación fenotipo-cariotipo.

## V.-RESULTADOS

El estudio citogenético de las 117 pacientes dió los siguientes resultados: 31 con síndrome de Turner 45,X (26.5%), 18 mosaicos de síndrome de Turner 45,X/46,XX (12.8%), 3 con mosaicos con tres líneas celulares (2.5%), 2 con mosaicos de Turner con una línea 46,XY (1.7%), 4 mosaicos para isocromosoma de brazos largos 45,X/46,Xi(Xq) (3.4%), 1 mosaico para isocromosoma de brazos largos 46,XX/46,Xi(Xq) (0.8%), 3 isocromosomas para brazos largos 46,Xi(Xq) (2.5%), 2 casos con deleción de brazos cortos 46,XdelXp (1.7%), 1 deleción de brazos largos 46,XdelXq (0.8%), 1 translocación X-autosoma 46,XtX:3 (0.8%) y 54 pacientes con un complemento cromosómico normal 46,XX (46.1%), (tabla 1).

Para el análisis sólo se tomaron en cuenta a las pacientes que presentaron un complemento cromosómico anormal.

Posteriormente se procedió a realizar la correlación de las pacientes con complementos cromosómicos anormales con respecto a sus características clínicas. Uno de los principales rasgos observados en este grupo y que constituyó uno de los criterios de selección de las muestra fue la talla baja. En la tabla 2 se muestra en relación a la talla que esta varía dependiendo del cariotipo, así, en el complemento 45,X la estatura promedio es la más baja, 1.26m observándose un incremento gradual que alcanza

1.54m, como ocurre en la paciente con la translocación X:3. Estos promedios se calcularon tomando en cuenta unicamente a los casos postpuberales, 52 de la 63 pacientes con complementos anormales.

Otra característica que se describe en la tabla 2 es la correspondiente a la edad de las pacientes, así como la de sus padres en el momento de la concepción. En todos los complementos cromosómicos anormales la edad de consulta es posterior a la pubertad, entre los 17 y 22 años. Como puede observarse, en relación con la edad materna y paterna, en general esta no se encuentra en los extremos de la vida reproductiva.

En los 52 casos en edad postpuberal se evaluó clínicamente el desarrollo sexual. En ellas la principal alteración detectada fue la amenorrea, que se presentó en 46 casos, mientras que en otros cuatro que correspondieron a mosaicos 45,X/46,XX y una con deleción de brazos cortos (Xp-), se observó una menarca espontánea. De las otras características observadas como desarrollo mamario, y presencia de vello púbico y axilar, podemos concluir que en general estas pacientes presentaron ausencia del desarrollo de sus características sexuales secundarias, datos que se pueden resumir en la tabla 3.

De las alteraciones somáticas asociadas, se tomaron en cuenta las más frecuentes en la literatura. De estas, doce características fueron elegidas, las cuales son las siguientes: pabellones auriculares mal implantados, paladar alto,

implantación baja del cabello, cuello corto, pterigium coli, torax ancho, cubitus valgus, cuarto metacarpiano corto, clinodactilia, nevos pigmentados, cardiopatías y retraso psicomotor (tabla 4). Por considerar de interés los hallazgos observados en las tablas 5 y 6 se muestran los datos clínicos y citogenéticos de las pacientes con mosaicos 45,X/46,XX, para su posterior discusión.

En relación a las pacientes con isocromosoma de brazo largo, tres presentaron un complemento 46,Xi(Xq) (línea pura) y cinco mosaicos, uno con un complemento 46,XX/46,Xi(Xq) y los restantes a 45,X/46,Xi(Xq), con la línea monosómica en proporciones variables (tabla 7). Al aplicar la técnica de bandas C en estos casos se observó la presencia de isocromosomas dicéntricos en tres de ellas (37.5% de los ocho casos), y cinco monocéntricos (62.5% restante). Estas frecuencias son intermedias a las informadas por de la Chapelle (130), que reporta 10-15% para isocromosomas dicéntricos y 85-90% para monocéntricos, por otra parte Otto (130) informa un 67.4% y 32.6% respectivamente, (tabla 7). Las frecuencias para las alteraciones somáticas asociadas y el desarrollo sexual de estas pacientes se observan en las tablas 8 y 9 respectivamente.

Los cariotipos de las pacientes con complementos 45,X; 45,X/46,XY; con isocromosoma 1(Xq); 46,X(Xp-); 46,X(Xq-); y 46,XtX:3, se observan en las figuras 8 a la 14.

Tabla 1.- Resultado del estudio citogenético en las 117 pacientes.

Cariotipo	No. de casos	Porcentaje General de cariotipos detectados	Porcentaje de alteraciones del cromosoma X
46,XX	54	46.16	—
45,X	31	26.50	49.20
45,X/46,XX	15	12.82	23.80
45,X/46,XX/47,XXX	3	2.56	4.76
45,X/46,XY	2	1.70	3.17
45,X/46,Xi(Xq)	4	3.42	6.34
46,XX/46,Xi(Xq)	1	0.86	1.60
46,Xi(Xq)	3	2.56	4.76
46,X del (Xp)	2	1.70	3.17
46,X del (Xq)	1	0.86	1.60
46,X t(X:3)	1	0.86	1.60
<b>TOTAL</b>	<b>117</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

Tabla 2.- Edad y talla promedio de cada grupo de pacientes y edad promedio de los padres.

Número de casos	Constitución Cromosómica								
	45, X	45, X/46, XX	45, X/46, XX/467, XXX	45, X/46, XY	45, X/46, Xi(Xq)	46, Xi(Xq)	46, X del (Xp)	46, X del (Xq)	46, X t(Xi3)
	24	13	2	2	4	3	2	1	1
Talla $\bar{x}$ y (s)	1.26	1.31	1.43	1.29	1.31	1.37	1.34	1.42	1.54
Edad $\bar{x}$	17.5	17.6	19.0	17.0	22.7	21.6	21.3	20.0	20.0
Edad Materna $\bar{x}$	27.5	28.0	22.0	26.0	23.6	36.6	17.5	22.0	34.0
Edad Paterna $\bar{x}$	34.4	34.9	31.0	35.0	25.0	48.3	21.0	27.0	28.0

\* Sólo se tomó en cuenta a las pacientes postpuberales (52 de las 63 pacientes con cariotipo anormal).

Tabla 3.- Desarrollo sexual en cada grupo de pacientes.

	Constitución Cromosómica								
	45, X	45, X/46, XX	45, X/46, XI/47, XXI	45, X/46, XY	45, X/46, XI(Xq)	46, XI(Xq)	46, X del (Xp)	46, X del (Xq)	46, X t(Xr3)
No. de Casos	24	13	2	2	4	3	2	1	1
Amenorrea Primaria	24	9	2	2	4	3	1	1	1
Menarca Espontánea	-	4	-	-	-	-	1	-	-
Desarrollo Masculino	1	3	-	-	-	2	1	1	-
Presencia Vello Público	5	6	-	1	-	2	1	1	-
Presencia Vello Axilar	1	2	-	-	-	1	1	1	-

Sólo se tomó en cuenta a las pacientes en edad postpuberal.

Tabla 4.- Frecuencia de alteraciones somáticas en cada grupo de pacientes

	Constitución Cromosómica									
	45, X	45, X/46, XX	45, X/46, XX/47, XXX	45, X/46, XY	46, XX/46, X1(Xq)	45, X/46, X1(Xq)	46, X1(Xq)	46, X del (Xp)	46, X del (Xq)	46, X t(X;3)
Número de Casos	31	15	3	2	1	4	3	2	1	1
Talla Baja	31	13	2	2	1	4	3	2	1	-
Cuello Corto	23	9	3	2	-	1	2	2	1	-
Implantación Baja del Cabello	19	9	1	2	-	2	2	2	1	1
Cubitus valgus	21	4	2	1	-	2	2	2	1	-
Paladar alto	11	5	-	1	1	1	2	1	-	-
Torax Ancho	13	4	1	1	-	-	2	1	1	-
Pabellones Auric. mal implantados	10	2	-	1	1	-	1	-	-	-
Pterigium coli	9	2	-	-	-	-	-	1	-	-
4g Metacarpiario Corto	5	4	-	2	-	1	1	-	1	-
Nevus Pígeentados	4	1	1	2	-	2	1	1	1	-
Retraso Psic.	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-
Cardiopatías	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinodactilia	3	5	-	1	-	1	-	1	-	-

Tabla 5.- Desarrollo sexual en mosaicos 45,X/46,XX.

Cariotipo	Amenorrea	Menarca espontá.	Desarrollo mamario	Presencia vello púb.	Presencia vello axi.
1.- 45,X (96%) /46,XX (4%)	+	-	-	-	-
2.- 45,X (94%) /46,XX (6%)	+	-	-	+	-
3.- 45,X (92%) /46,XX (8%)	+	-	-	+	-
4.- 45,X (87%) /46,XX (13%)	+	-	-	-	-
5.- 45,x (70%) /46,XX (30%)	+	-	-	-	-
6.- 45,X (35%) /46,XX (65%)	+	-	-	+	-
7.- 45,X (35%) /46,XX (67%)	+	-	-	-	-
8.- 45,X (22%) /46,XX (78%)	-	+	-	+	-
9.- 45,X (20%) /46,XX (80%)	-	+	+	-	-
10.- 45,X (16%) /46,XX (84%)	+	-	-	-	-
11.- 45,X (16%) /46,XX (84%)	+	-	-	-	-
12.- 45,X (12%) /46,XX (88%)	+	-	-	-	-
13.- 45,X (12%) /46,XX (88%)	-	+	+	+	+
14.- 45,X (8%) /46,XX (92%)	-	+	+	+	+
15.- 45,X (8%) /46,XX (92%)	-	+	+	+	+

Tabla 6.- Frecuencia de signos clínicos en pacientes con mosaicos 45,X/46,XX.

Caso	Talla (a)	Cuello corto	Imp. Baja baja del cabello	Cubitus valgus	Paladar alto	Torax ancho	Pab. Auric. mal implant.	Pterigium coli	4o Metacarpiano corto	Nevos Pigeon.	Retraso Psico.	Cardiopat.	Clinodac.
1	1.26	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1.29	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
3	1.28	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	1.33	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	1.48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1.25	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
7	1.39	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-
8	1.48	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
9	1.29	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
10	1.30	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
11	1.14	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12	1.46	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
13	1.38	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
14	1.05	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+
15	1.29	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+

Tabla 7.- Hallazgos Citogenéticos en pacientes con isocromosomas

Caso	Cariotipo	No. de Centrómeros
1	46, Xi (Xq)	monocéntrico
2	46, Xi (Xq)	monocéntrico
3	46, Xi (Xq)	dicéntrico
4	46, XX (67%) / 46, Xi (Xq) (33%)	monocéntrico
5	45, X (36%) / 46, Xi (Xq) (64%)	monocéntrico
6	45, X (10%) / 46, Xi (Xq) (90%)	monocéntrico
7	45, X (38%) / 46, Xi (Xq) (62%)	dicéntrico
8	45, X (92%) / 46, Xi (Xq) (8%)	dicéntrico

Tabla 8.- Frecuencia de signos clínicos en pacientes con i(Xq)

Caso	Talla (m)	Paladar alto	Implantación baja del cabello	Cúbitus valgus	Cuello corto	Nevos pigmentados	Torax ancho	Pabellones auric. mal implantados	4o metacarpiano corto
1	1.30	+	+	+	+	+	+	+	-
2	1.37	+	+	-	+	-	+	-	+
3	1.36	+	-	+	-	-	-	-	-
4	0.97	+	-	-	-	-	-	+	-
5	1.41	-	+	-	-	+	-	-	-
6	1.23	+	+	+	+	+	-	-	-
7	1.27	-	-	-	-	-	-	-	+
8	1.32	-	-	+	-	-	-	-	-

Tabla 9.-Desarrollo sexual en pacientes con i(Xq)

Caso	Edad	Amenorrea	Desarrollo mamario	Vello púbico	Vello axilar
1	28	+	+	-	-
2	20	+	+	+	-
3	17	+	-	+	+
4*	6				
5	34	+	-	+	-
6	18	+	-	-	-
7	16	+	-	-	-
8	21	+	-	-	-

\* No se tomó en cuenta, debido a la edad de la paciente.



Figura 8.- Cariotipo de una paciente con complemento cromosómico 45,X.

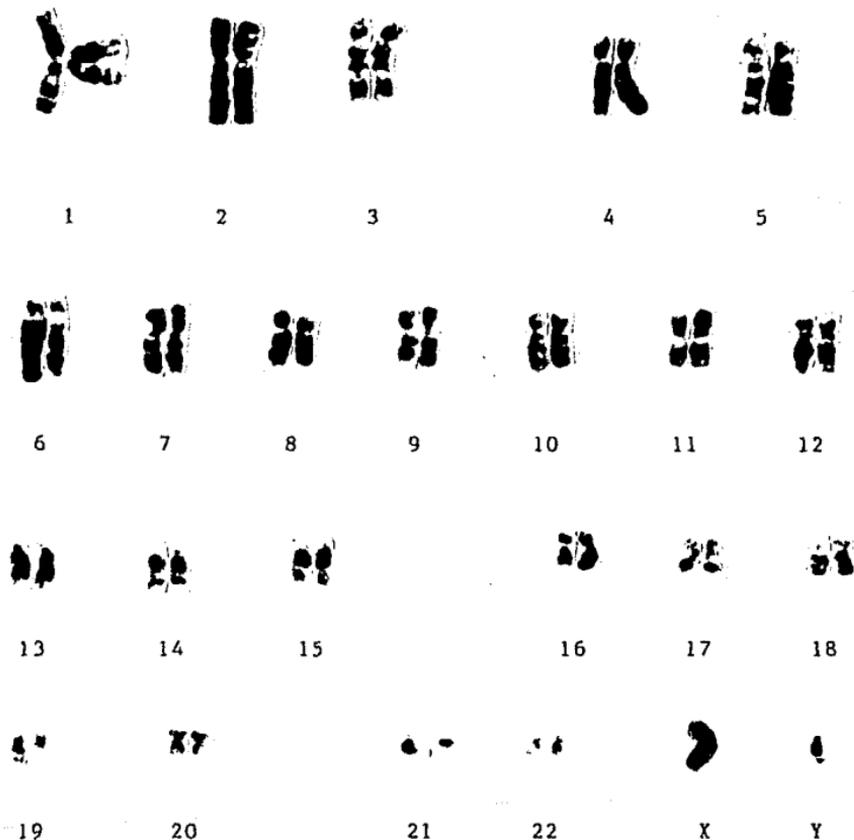


Figura 9.- Línea con cromosoma Y en una de las pacientes con mosaico 45,X/46,XY.

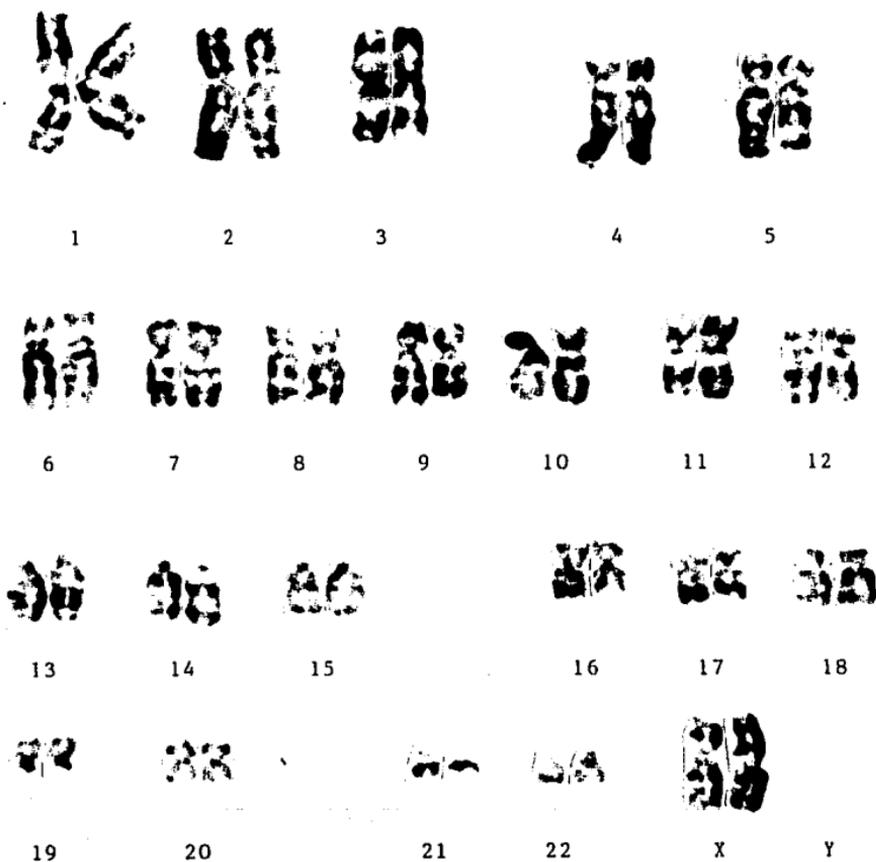


Figura 10.- Cariotipo del complemento 46,X1(X<sub>0</sub>).



Caso 1 : 46,Xi(Xq)



Caso 2 : 46,Xi(Xq)



Caso 3 : 46,Xidic(Xq)



Caso 4 : 46,XX/46,Xi(Xq)



Caso 5 : 45,X/46,Xi(Xq)



Caso 6 : 45,X/46,Xi(Xq)



Caso 7 : 45,X/46,Xidic(Xq)



Caso 8 : 45,X/46,Xidic(Xq)

Figura 11.- Cariotipos parciales de las ocho pacientes con isocromosoma para brazos largos teñidos con las técnicas para bandas C y G.



Figura 12.- Complemento cromosómico de una de las pacientes con deleción de brazos cortos 46,X(Xp-)

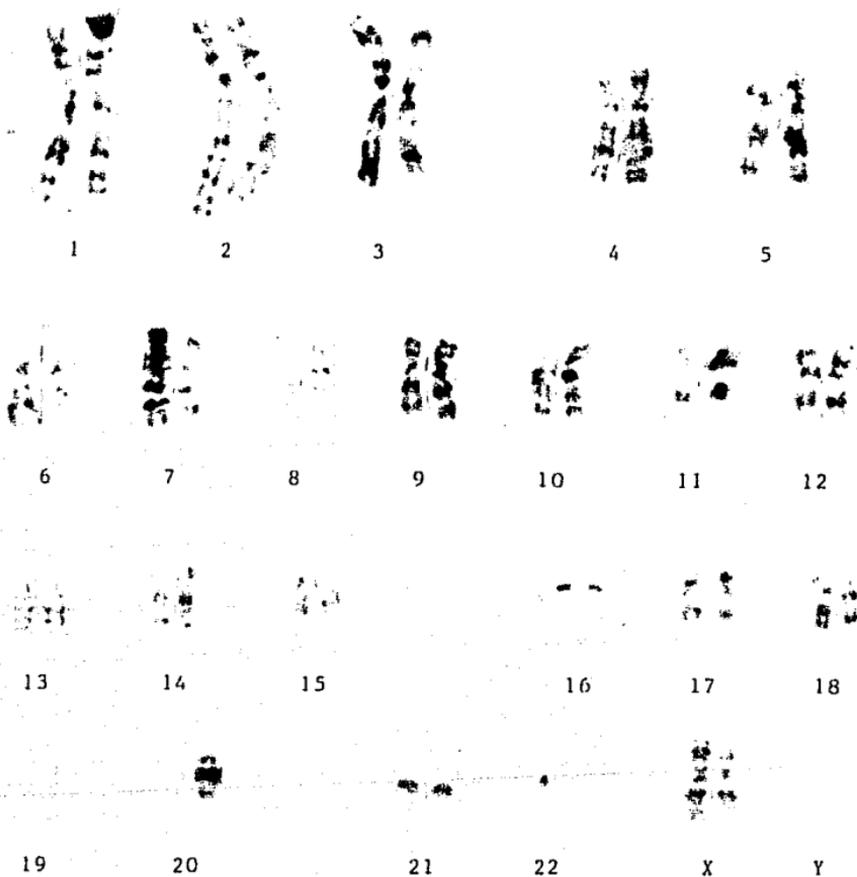


Figura 13.- Complemento cromosómico de la paciente con deleción de brazos largos 46,X(Xq-)

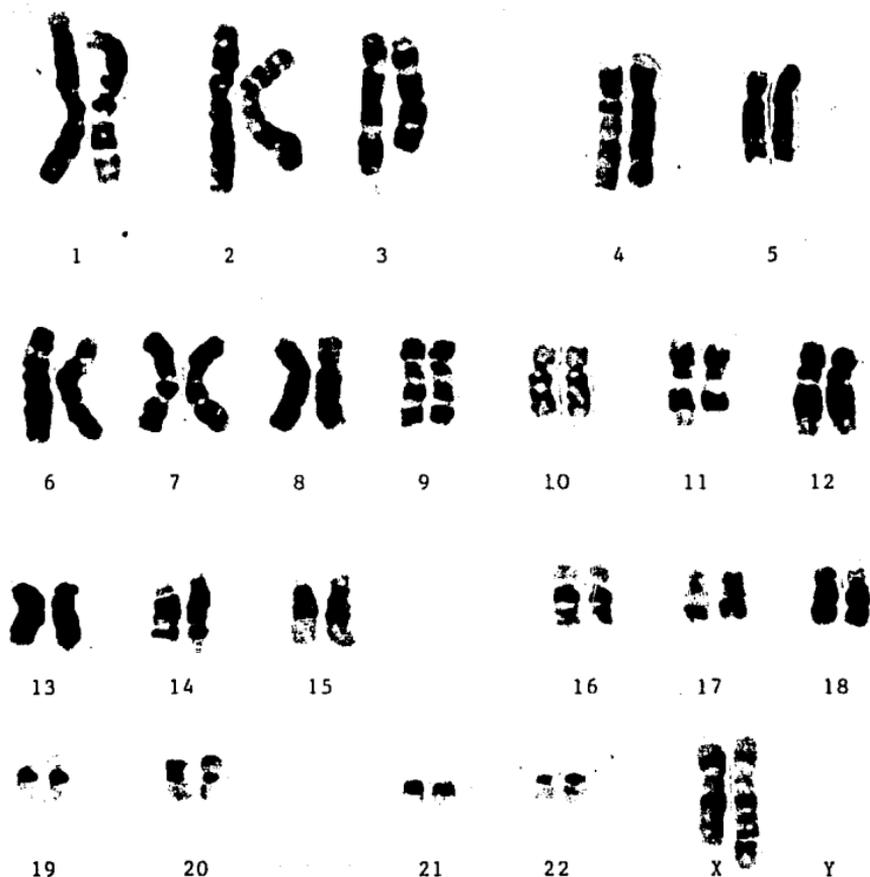


Figura 14.- Complemento cromosómico de la paciente con la translocación X:3.

## VI.- DISCUSION

De acuerdo a la literatura 33% de mujeres con amenorrea y ausencia de caracteres sexuales secundarios presentan alteraciones del cromosoma X (129). Sin embargo, en nuestra población el porcentaje de las mujeres estudiadas con amenorrea y alteraciones cromosómicas es 53%, (63 de 117 mujeres estudiadas por amenorrea y/o talla baja). De estas, 49% corresponden a pacientes con un complemento 45,X o síndrome de Turner clásico, 32% a diferentes mosaicos con una línea 45,X y el 19% a alteraciones estructurales del X, frecuencias que concuerdan con las informadas en otros estudios.

El análisis fenotípico se llevó a cabo en las 63 pacientes con alteraciones numéricas y estructurales del cromosoma X. El desarrollo sexual se evaluó en las 52 pacientes en edad postpuberal, que principalmente consultaron por amenorrea y ausencia de caracteres sexuales secundarios.

En relación con la edad materna en el momento de la concepción, en la literatura se menciona que el síndrome de Turner se presenta preferentemente en madres jóvenes, sin embargo, para la mayoría de nuestras pacientes la edad materna no se encontró en los extremos de la vida reproductiva, excepto para las pacientes con complemento 46,Xi(Xq) y la paciente con 46,Xt(X:3), cuyas edades correspondían a 36 y 34 años

respectivamente. Para la edad paterna no existen reportes que indiquen si existe alguna relación con la frecuencia de producción del síndrome. En este estudio sólo para una paciente con isocromosoma la edad paterna era avanzada.

De acuerdo con los datos obtenidos y los informados en la literatura, las alteraciones presentes en el síndrome de Turner y sus variantes se pueden dividir en tres componentes principales: disgenesia gonadal con un desarrollo deficiente de caracteres sexuales secundarios, talla baja y malformaciones somáticas asociadas.

#### Disgenesia Gonadal

De las 52 pacientes en edad postpuberal, 47 presentaron amenorrea y sólo 4 pacientes con mosaicos 45,X/46,XX y una con cariotipo 46,Xdel(Xp), refirieron menarca espontánea. En 8 pacientes se observó desarrollo mamario, en 16 escaso vello púbico y en 7 escaso vello axilar. Estas tres características se presentaron generalmente disociadas, principalmente en el complemento 45,X, sin embargo en 2 pacientes con mosaicos 45,X/46,XX se encontró telarca y pubarca en una y pubarca telarca, menarca espontánea y desarrollo mamario en la otra.

Con respecto a las pacientes con mosaicos 45,X/46,XX/47,XXX, el desarrollo sexual fue nulo, ambas refirieron amenorrea y ausencia de caracteres sexuales secundarios. En la literatura se han descrito varias pacientes con este tipo de mosaicos, en las que se ha reportado función ovárica, desarrollo sexual secundario y fertilidad con escasas alteraciones somáticas (119). En base a lo anterior nuestras pacientes con esta anomalía no son compatibles con las informadas en otros trabajos y presentan un fenotipo similar al del síndrome de Turner clásico.

Para el complemento 45,X/46XY se estudiaron dos pacientes con fenotipo femenino que acudieron por amenorrea. Es importante recordar que los individuos con este complemento cromosómico presentan un amplio rango de variación fenotípica, desde el masculino con testículos disgenéticos, hasta el femenino con estrias gonadales y estigmas de Turner, siendo el más común la forma intermedia con ambigüedad de genitales internos y externos y asimetría gonadal (125). Una vez que se determinó el cariotipo en estas pacientes, fueron canalizadas para su evaluación endocrinológica y realización de laparotomía para remoción de gónadas, en virtud de el elevado riesgo de malignización de estas en individuos con este cariotipo.

En 3 pacientes con 46,Xi(Xq) y en una con 45,X/46Xi(Xq) se encontraron caracteres sexuales secundarios: una sólo presentó desarrollo mamario, otra desarrollo mamario y escaso vello

púbico, la tercera escaso vello púbico y axilar y la última escaso vello púbico. En la literatura se informa que las mujeres con cariotipos que incluyen isocromosoma de brazos largos cursan con disgenesia gonadal y ausencia de caracteres sexuales secundarios, aunque se han mencionado casos aislados con menarca espontánea. Los datos obtenidos de nuestras pacientes con isocromosoma de brazos largos concuerdan con los informados en otros trabajos (119, 129, 130, 132).

En nuestras pacientes con  $46, Xdel(Xp11-pter)$  se observaron fenotipos discordantes: en una de ellas, los datos eran congruentes con el síndrome de Turner y la paciente refirió amenorrea y ausencia de caracteres sexuales secundarios, mientras que en la otra ocurrió menarca espontánea, desarrollo mamario y escaso vello púbico y axilar aun cuando la deleción abarca todo el brazo corto ( $p11-pter$ ). Estos datos no concuerdan ni con la otra paciente referida con el mismo cariotipo ni con la mayoría de los casos de deleción de brazo corto con función ovárica informados en la literatura (137, 139). Fitzgerald, Donald y McCormick (109) han sugerido que sólo las pacientes con deleciones distales del brazo corto, de  $p21-pter$ , presentan función ovárica, pero que en casos de deleción prácticamente total de  $Xp$  ( $p11-pter$ ), como en nuestras pacientes, el fenotipo es similar al síndrome de Turner clásico. Diferentes autores han sugerido la existencia de genes responsables de la disgenesia gonadal en  $Xp11$  (134, 139, 144). La presencia de función ovárica

en nuestra paciente quien ha perdido el brazo corto del X no puede explicarse de acuerdo con el mapeo mencionado. Sin embargo debido a que los estudios se llevaron a cabo sólo en sangre periférica, existe la posibilidad de un rearrreglo o de un mosaico no detectado en otros tejidos.

Los estudios llevados a cabo en pacientes con alteraciones de los brazos largos del X han permitido a autores como Sarto (140) y de la Chapelle (137) postular que los genes de la función ovárica se encuentran cercanos a q13 y/o distales a q26 (en q27-28), y que además es necesaria la integridad morfológica de una zona crítica localizada en (q13-q26), para que la función ovárica sea normal (140). En nuestras pacientes con anomalías estructurales del brazo largo del X se observó lo siguiente: en la paciente con cariotipo 46,Xdel(Xq22-qter) amenorrea, desarrollo mamario y escaso vello púbico y axilar, datos que concuerdan con los informados para deleciones de Xq si se considera que los genes responsables de la disgenesia gonadal se encuentran en q27-q28. Para la paciente con 46,XtX:3, se observó únicamente disgenesia gonadal sin ningún otro dato compatible con síndrome de Turner, lo que es congruente con la teoría de la zona crítica mencionada anteriormente. De estos dos casos se deduce que la pérdida de material dentro de la zona que va de q13 a q28 conduce a disgenesia gonadal y escasas alteraciones somáticas asociadas, mientras que un rearrreglo sin pérdida de material

(como en nuestra paciente con la translocación), produce únicamente disgenesia gonadal.

La presencia de alteraciones en el desarrollo sexual en mujeres con aberraciones numéricas y estructurales del X, se ha tratado de explicar en base al ciclo de inactivación-reactivación del X. Como se mencionara en el capítulo de antecedentes, existe un periodo en la ovogénesis en el que los dos cromosomas X deben estar activos. La reactivación del X inactivo se lleva a cabo antes del inicio de la meiosis y la ausencia de un fragmento o de todo un cromosoma X afecta el desarrollo de los ovocitos dando lugar a un estado de desequilibrio que conduce a su degeneración, quedando la gónada representada por una estria fibrosa.

#### Talla Baja

Una de las principales características de las pacientes con síndrome de Turner y sus variantes es la talla baja. La talla promedio para las pacientes con síndrome de Turner y sus variantes en la literatura es de 1.42m (119, 125, 129, 139), mientras que en nuestras pacientes es de 1.32m. Si estos datos se comparan, se observa que la talla es más baja en nuestra población, pero debe tenerse en cuenta que se trata de una población étnica y socioeconómicamente diferente a las reportadas. En relación con esta alteración se puede establecer

una correlación positiva entre la talla y el cariotipo, siendo la más baja para el complemento 45,X con un promedio de 1.26m. Como se observa en la tabla 2, la talla se incrementa en el resto de los complementos cromosómicos. Las tallas observadas para la delección de Xq, mosaicos 45,X/46,XX/47,XXX y para la translocación X:3 fueron de 1.42m, 1.43m y 1.54m respectivamente, de estas las dos primeras se pueden considerar como ligeramente bajas de acuerdo con los datos reportados en los archivos de investigación médica del IMSS (145), en donde la talla más baja para mujeres postpuberales es de 1.46m +/- 6.7cm (para la tercera percentila). En base a lo anterior la talla de la paciente con la translocación no se puede considerar como baja de acuerdo a las características étnicas de la población estudiada.

Para tratar de explicar la talla baja en mujeres con alteraciones numéricas y estructurales del X, se han propuesto varias hipótesis, entre las que destacan las siguientes: 1) efecto heterocromático, que supone que la talla puede estar relacionada con la cantidad de heterocromatina facultativa presente (139), sin embargo, se ha observado que las delecciones del brazo corto tienen más efectos deletéreos sobre la talla que las delecciones del brazo largo, lo que sugiere que los genes que determinan la estatura se encuentran distribuidos en la región media del brazo corto y cercanos al centrómero en los brazos largos (134), 2) un periodo de desequilibrio génico normal entre hombres y mujeres, antes de la formación del blastocisto, cuando

los dos X de la mujer se encuentran activos, por lo que la ausencia total o de un fragmento del X afecta el desarrollo normal del individuo y 3) la hipótesis que sugiere la presencia de regiones en el cromosoma X que deben permanecer activas en el cromosoma X inactivo y que son probablemente homólogas a regiones del brazo corto del Y. De acuerdo con lo anterior, la ausencia de estas regiones en cualquiera de los cromosomas sexuales se traduce en un estado de desequilibrio que afecta el desarrollo. La talla baja asociada con la monosomía X, parece indicar la existencia de genes que están relacionados con el control del crecimiento somático tanto en el cromosoma X como en el Y (144).

#### Malformaciones Sómicas Asociadas

Las alteraciones sómicas en nuestras pacientes se consideraron de acuerdo a su frecuencia en el complemento 45,X, confirmando que la presencia de una línea monosómica es un factor determinante en la incidencia de estas malformaciones. Sin embargo, en los casos con mosaicos 45,X/46,XX la correlación no es tan clara, ya que en las pacientes con una elevada proporción de la línea 45,X, se esperaba que las alteraciones sómicas fueran más severas. Como se observa en la tabla 6, las pacientes 1, 3 y 5 con una mayor proporción de la línea 45,X tienen pocas alteraciones, mientras que las pacientes 13 y 14 son las más afectadas. Debe tenerse en cuenta que el cariotipo sólo se

determinó en sangre periférica y no puede descartarse la posibilidad de que las proporciones varíen en diferentes tejidos.

Las características fenotípicas de nuestras pacientes con isocromosomas de brazos largos son similares a las del síndrome de Turner clásico, con excepción del cuello alado, datos que concuerdan con los informados en la literatura (127, 132).

Al igual que en mosaicos 45,X/46,XX, en los casos 45,X/46,Xi(Xq) se esperaría que la línea 45,X llevara a un fenotipo más severamente afectado que en pacientes 46,Xi(Xq). Sin embargo, como se observa en la tabla B, la paciente 1 con cariotipo 46,Xi(Xq) presenta más alteraciones somáticas que las pacientes que presentan una gran proporción de células 45,X, lo que hace evidente la imposibilidad de establecer una correlación fenotipo-cariotipo.

En la paciente con mosaico 46,XX/46,Xi(Xq) la presencia de la línea normal podría aminorar las alteraciones somáticas, a pesar de que acudió a consulta por talla baja, sin embargo, debido a que aún está en edad prepuberal no fue posible evaluar su desarrollo sexual.

Para tratar de explicar las alteraciones somáticas, se han propuesto varias hipótesis, algunas de las cuales se mencionaron anteriormente. Entre ellas dos teorías son las que presentan mayores posibilidades de justificar la presencia de alteraciones

somáticas, la primera se refiere al periodo de desequilibrio genético normal entre hombres (1 X) y mujeres (2 X), que ocurre en las primeras etapas de la gestación, por lo que la pérdida de un cromosoma X tendría efectos deletéreos. Sin embargo se ha visto que las anomalías asociadas con el síndrome de Turner se originan después de la sexta semana de la concepción, más o menos veinte días después de que se observa el corpúsculo de Barr en embriones humanos. La otra posible explicación y que ya fue mencionada para la talla baja, se basa en la ausencia de regiones en el cromosoma X que deben permanecer activas (144).

En varios trabajos se ha intentado correlacionar las características fenotípicas con regiones específicas del cromosoma X, principalmente en pacientes con deleciones de diferentes segmentos. Los datos obtenidos son confusos y contradictorios, por lo que algunos autores concluyen que no es posible establecer una correlación entre el cariotipo y el fenotipo. Sin embargo, Therman (146) en base a sus propias investigaciones divide el fenotipo en tres subgrupos: Xp-, i(Xq), Xq-. Cuando la deleción afecta los brazos cortos del X en la región Xp21-pter, las pacientes presentan talla baja, gónadas normales y ninguna de las alteraciones somáticas asociadas. Cuando el fragmento perdido se extiende a todo el brazo corto o

en casos de isocromosoma de Xq, se observa talla baja, disgenesia gonadal y casi todas las estigmas del síndrome de Turner. Cuando la región pérdida abarca de Xq22-qter, la talla es normal, existe disgenesia gonadal y escasas alteraciones somáticas. En cambio si la región afectada se extiende de Xq13 a Xqter aumenta el número de alteraciones somáticas (146).

En base a lo anterior es posible atribuir la talla baja al desequilibrio de la región distal no inactivada de Xp y la disgenesia gonadal al efecto que ocasionan las alteraciones del cromosoma X sobre el desarrollo de los ovocitos. Sin embargo no es posible explicar de manera satisfactoria la etiología de las alteraciones somáticas, habiéndose sugerido que la ausencia de la región "b", propuesta por Therman en la región proximal de Xp, podría explicar la presencia de las malformaciones congénitas. Sin embargo no se ha detectado una región correspondiente en el cromosoma Y, lo que implicaría que la expresión normal de este segmento tendría que ser diferente en hombres y mujeres (144).

Teysier, Bajolle y Caron (147), concluyen que a pesar de que la disgenesia gonadal, la talla baja y las alteraciones somáticas se presenten juntas en los pacientes con síndrome de Turner y sus variantes, son entidades disociadas y hacen falta más estudios del cromosoma X, para interpretar el origen de estas anomalías.

Para finalizar se considera que este trabajo cumplió con los objetivos planteados inicialmente, recopilando los datos clínicos

y citogenéticos en mujeres con problemas de amenorrea y/o talla baja. Se desea que estos resultados sean de utilidad para los profesionistas que estudian a este tipo de pacientes permitiendo por lo tanto que su tratamiento sea el más adecuado. Se espera también que este trabajo motive en un futuro no muy lejano el establecimiento de un grupo interdisciplinario, para el estudio integral de las mujeres con este tipo de anomalías y brindarles así una ayuda más rápida y eficaz. Con respecto al establecimiento de un grupo interdisciplinario para el estudio de mujeres con este tipo de anomalías, actualmente se cuenta con la cooperación de varios servicios del hospital, así como de otras instituciones.

## VII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Mc Kusick, V. A. (1988). Mendelian inheritance in man: Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes. 6th Ed. Johns Hopkins. Baltimore.
- 2.- Vallet, L. y I. Porter. (1979). Genetic mechanism of sexual development. Academic Press. New York.
- 3.- Wachtel, Stephen S. (1983). H-Y Antigen and the biology of sex determination. Ed. Grune et Stratton. New York. 302
- 4.- Nora, J. y Fraser C. (1980). Genética Médica. Ed. Prensa Médica Mexicana. Mexico. 49-67, 178-192.
- 5.- Mittwoch, U. (1967). Sex Chromosomes. Academic Press. New York. 306 pp.
- 6.- Cervantes, A. P. (1983). Estructura molecular de los cromosomas humanos: Su correlación con las técnicas de bandeado y su aplicación a la clínica. Tesis profesional. Fac. Química, U.N.A.M.. 315 pp.
- 7.- Ford, E., H., R. (1973). Human Chromosomes. Academic Press. New York.
- 8.- Bartalos, M. y Baramki, T., A. (1967). Medical Cytogenetics. - William and Wilkins Co. Baltimore.
- 9.- Painter, T., S. (1921). The Y chromosome in mammals. Science 53:503-504.
- 10.- Painter, T., S. (1923). Studies in mammalian spermatogenesis: II. The spermatogenesis of man. J. Exp. Zool. 37:291-335.
- 11.- Tjio, S., H., Levan, A. (1956). The chromosome number of man. Hereditas. 42:1-6.
- 12.- Ford, C., E. y Hamerton, J., L. (1956). The chromosome number of man. Nature 178:1020-1023.
- 13.- Ford, C. E., Jones, K. W., Polani, P. E., de Almeida, J. C. y Briggs, I. H. (1959). A sex chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). Lancet 2:711.

- 14.- Jacobs, P. A. y Strong J. A. (1959). A case of Human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* 183:302-303.
- 15.- Caspersson, T., A., Zech, L., Johansson, C. y Modest, E., J. (1970). Identification of human chromosome by DNA - binding fluorescent agents. *Chromosoma*. 30:215-227.
- 16.- Caspersson, T., A., Zech, L. y Johansson, C. (1970). Analysis of human metaphase chromosomes set by aid of DNA-binding fluorescent agents. *Exp. Cell. Res.* 62:490-492.
- 17.- Sumner, A. T., Evans, H. J. y Buckland, R. A. (1971). New technique for distinguishing between human chromosome. *Nature, New Biol.* 232:31-32.
- 18.- Schnedl, W. (1974). Banding patterns human chromosomes visualized by Giemsa staining after various pretreatments. In *Methods in Human Cytogenetics*. Schwarzacher, H. G. ang Wolf, V. ed. Sringer-Verlag. New York. 95-117.
- 19.- Nyhan, William L. y Sakati, N. O. (1978). *Genetic and Malformation Syndromes in Clinical Medicine*. Ed. Medical Publisher. Chicago.
- 20.- Ohno, S. (1967). Sex Chromosomes and Sex-linked Genes. Ed. Springer-Verlag. New York.
- 21.- Jones, K. W. y Singh, L. (1981). Conserved repeated DNA sequences in vertebrate sex chromosomes. *Hum. Genet.* 58:46-53.
- 22.- Gardner, E. J. (1982). Principios de Genética. Ed. Limusa. México.
- 23.- Klinger, H. P. (1963). The somatic chromosomes of some primates (Tupia glis, Nycticebus concang, Tarsius bancanus, Cercocebus aterrimus, Symphalangus syndactylus). *Cytogenetics*, 2:140-151.
- 24.- Ohno, S., Jainchill, J. y Stenius, C. (1963). The creeping vole (Microtus oregoni) as a gonosomic mosaic. I. The Y/XY constitution of the male. *Cytogenetics* 2:232-239.
- 25.- Mandel, P., Metai, P. y Cuny, S. (1950). Les quantites d'acide desoxypentose-nucleique par leucocyte chez diverses especes de mammiferes. *C. R. Acad. Sci. Paris.* 231:1172-1174.

- 26.- Ohno, S., W. Becak, y Becak, M. L. (1964). X-autosome ratio and the behavior pattern of individual X-chromosomes in placental mammals. *Chromosoma*, 15:14-30.
- 27.- Mc Kusick, V. A. (1962). On the X-chromosome of man. *Quart. Rev. Biol.* 37: 69-175.
- 28.- Hutt, F. B., Rickard, C. G. y Field, R. A. (1963). Sex-linked hemophilia in dogs. *J. Hered.* 39: 3-9.
- 29.- Mustard, J. F., Roswell, H. C., Robinson, G. A., Hoeksema, T. D. y Downie, H. G. (1960). Canine hemophilia B (Christmas disease). *Brit. J. Haemat.* 6: 259-266.
- 30.- Nossel, H. L., Archer, R. K. y Mac Farlane, R. G. (1962). Equine hemophilia: report of a case and its response to multiple infusions of heterospecific AHG. *Brit. J. Hemat.* 8: 335-342.
- 31.- Lyon, M. F. (1974). Evolution of X-chromosome inactivation in mammals. *Nature* 250: 651-653.
- 32.- Hoo, J. J. (1975). Cytogenetic evidence for evolution of X-chromosome inactivation. *Lancet* i. 1299-1300.
- 33.- Gorlin, R. J. (1977). Classical chromosome disorders. In *New Chromosomal Syndromes*, ed. J. J. Yunis, pp. 59-117. New York. Academic.
- 34.- Lewandowski, R. C. Jr. y Yunis, J. J. (1977). Phenotypic mapping in man. In *New Chromosomal Syndromes*. ed. J. J. Yunis. New York. Academic.
- 35.- Sandler, L. y Hecht F. (1973). Selective silencing of eukaryotic DNA. *Science* 189:426-433.
- 36.- Barr, M. L. y Bertram, E. G. (1949). A morphological distinction between neurones of the male and females, and the behavior of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature* 163: 676-677.
- 37.- Ohno, S., Kaplan, W. D. y Kinoshita, R. (1959). Formation of the sex chromatin by a single X-chromosome in liver cells of *Rattus norvegicus*. *Exp. Cell Res.* 18: 415-418.
- 38.- Lyon, M. F. (1961). Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *Nature* 190:372-373.
- 39.- Gartler, S. M. y Riggs, A. D. (1983). Mammalian X-chromosome inactivation. *Ann. Rev. Genet.* 17:155-190.

- 40.- Monk, M. (1978). Biochemical studies on X-chromosome activity in preimplantation mouse embryos. In Genetic Mosaics and Chimeras in Mammals. ed. L. B. Russell, pp. 239-246. New York: Plenum.
- 41.- Monk, M. y Harper, M. I. (1979). Sequential X chromosome inactivation coupled with cellular differentiation in early mouse embryos. *Nature* 281: 311-313.
- 42.- Martin, G. R., Epstein, C. J., Travis, B., Tucker, G., Yatiziv, S., Martin, D. W. Jr., Clift, S. y Cohen, S. (1978). X-chromosome inactivation during differentiation of female teratocarcinoma stem cells in vitro. *Nature* 271: 329-333.
- 43.- McBurney, M. W. y Strutt, B. J. (1980). Genetic activity of X chromosomes in pluripotent female teratocarcinoma cells and their differentiated progeny. *Cell* 21: 357-364.
- 44.- Tagaki, N. y Sasaki, M. (1975). Preferential inactivation of the paternally derived X chromosome in the extraembryonic membranes of the mouse. *Nature* 256: 640-642.
- 45.- Tagaki, N. (1978). Preferential inactivation of the paternally derived X chromosome in mice. In Genetic Mosaics and Chimeras in Mammals, ed. L. B. Russell. New York, Plenum: pag. 341-360.
- 46.- Chandra, H. S. y Brown, S. W. (1975). Chromosome imprinting and the mammalian X chromosome. *Nature* 253: 165-168.
- 47.- Ohno, S., Klinger, H. P. y Atkin, N. B. (1962). Human oogenesis. *Cytogenetics* 1: 42-51.
- 48.- Witschi, E. (1957). Sex chromatin and differentiation in human embryos. *Science* 126:1288-1290.
- 49.- Gartler, S. M. y Cole, R. E. (1981). Recent developments in the study of mammalian X-chromosome inactivation. In mechanisms of Sex Differentiation in Animals and Man. ed. C. R. Austin, R. G. Edwards, pp.: 113-143. London/New York: Academic.
- 50.- Summitt, R. L., Tipton, R. E. Wilroy, R. S. Jr., Martens, P. R. y Phelan, J. P. (1978). X-autosome translocation: a review. *Birth Defects: Orig. Art. Ser.* 14 (6C):219-247.
- 51.- Therman, E. y Patau, K. (1974). Abnormal X chromosomes in man: origin, Behavior and effects. *Humangenetik* 25: 1-16.

52. - Therman, E., Sarto, G. E. y Patau, K. (1974). Center for Barr body condensation on the proximal part of the human Xq: a hypothesis. *Chromosoma* 44: 361-366.
53. - Riggs, A. D. (1975). X inactivation, differentiation and DNA methylation. *Cytogenetic. Cell. Genet.* 14: 9-25.
54. - Sager, R. y Kitchin, R. (1975). Selective silencing of eukaryotic DNA. *Science* 189: 426-433.
55. - Kofman-Alfaro, S., Merchant-Larios, H. y Perez-Palacios, G. (1982). *Diferenciación Sexual: 1 Bases Biológicas Del Dimorfismo Sexual.* *Rev. Invst. Clin. (Mex.)* 24: 349-359.
56. - *Introducción a la Embriología y a la Fisiología de la Reproducción.* (1982). Recopilador Fernanda Ruiz Dura. Impreso en el taller de reproducción de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M., México.
57. - Jacobs, P. A. y Ross, A. (1966). Structural abnormalities of the Y chromosome in man. *Nature (London)* 210: 352.
58. - Book, J. S., Eilon, G., Halbrecht, I., Komlos, L. y Shabtay, F. (1973). Isochromosome Y and female phenotype. *Cil. Genet.*, 4: 410.
59. - Rosenfeld R. G., Luzzatti, L., Hintz, R. L., Miller, O. J., Koo, G. C. y Wachtel, S. S. (1979). Sexual and somatic determinants of the human Y chromosome: Studied in a 46 Xy phenotypic female. *A. J. Hum. Genet.* 31 :458.
60. - Siebers, J. W., Vogel, W., Hepp, H., Bolze, H. y Dittrich, A. (1973). Structural aberrations of the Y chromosome and the corresponding phenotype. *Hum. Genet.* 19: 57.
61. - Eichwald, E. J. y Silmsler, C. R. (1955). Untitled communication transplant. *Bull.* 2: 148.
62. - Muller, U., Aschmoneit, I., Zenzes, M. T., y Wolf, U. (1978). Binding studies of H-Y antigen in rat tissues. Indications for a gonadal-specific receptor. *Hum. Genet.* 43: 151.
63. - Wachtel, S. S., Koo, G. C., Ohno, S., Gropp, A., Dev, U. G., Tantravahi, R., Miller, D. A. y Miller, O. J. (1976). H-Y antigen and the origin of XY female wood lemmings (*Myopus schisticolor*). *Nature* 264: 638.

- 64.- Bernstein, R., Koo, G. C., Wachtel, S. S. (1980). Abnormality of the X chromosome in human 46 XY female siblings with dysgenetic ovaries. *Science* 207: 768.
- 65.- Wolff, U., Fraccaro, M., Mayerova, A., Hecht, T., Maraschio, P., Hameister, H. (1980). A gene controlling H-Y antigen on the X chromosome. Tentative assignm by deletion mapping to Xp 223. *Hum. Genet.* 54: 149.
- 66.- Wolff, U. (1981). Genetic aspects od H-Y antigen. *Hum. Genet.* 58: 25.
- 67.- Polani, P. E. y Adinolfi, M. (1983). The H-Y antigen and its function: a review and a hypothesis. *J. Immunogenet.* 10:85-102.
- 68.- Tiepolo, L. y Zuffardi, O. (1976). Localization of factors controlling spermatogenesis in the non fluorescent portion of the Y chromosome long arm. *Hum. Genet.* 34: 119.
- 69.- Tanner, J. M. (1959). Genes on the Y chromosome influencing male maturation in man. *Lancet*, 11: 141.
- 70.- Alvesalo, L. y Kari, M. (1977). Size of decidious teeth in 47 XYY males. *Am. J. Genet.* 29: 486.
- 71.- Gordon, J. W. y Ruddle, F. H. (1981). Mammalian gonadal determination and gametogenesis. *Science* 211: 1265.
- 72.- Witschi, E. (1956). Development of vertebrates. Saunders. Philadelphia.
- 73.- Houillon, C. (1977). Embriologia. ed. Omega. Barcelona, pp.184
- 74.- Houillon, C. (1978). Sexualidad. ed. Omega. Barcelona, pp. 202.
- 75.- Balinsky, B. I. (1978). Introducción a la Embriologia. ed. Omega. Barcelona. pp. 644.
- 76.- Merchant-Larios, H. (1975). The onset testicular differentiation in the rat: an ultrastructural study. *Am. J. Anat.* 145: 319.
- 77.- Magre, S. y Jost, A. (1980). The initial phases of testicular organogenesis in the rat: an electron microscopy study. *Arch. Anat. microsc. Morphol. experimen.* 69: 297.

- 78.- Guraya, S. S. (1980). Recent progress in the morphology, histochemistry, biochemistry and physiology of developing mammalian testis. *Intl. Rev. Cytol.* 62: 187.
- 79.- Biskov, A. G. y L. Saxon. (1976). Induction of meiosis in fetal mouse testis in vitro. *Develop. Biol.* 52:193.
- 80.- Mistkowska, E. T. y Tarkowski, A. K. (1970). Behavior of germ cells and sexual differentiation in late embryonic and early postnatal chimera mouse chimaeras. *J. Embryol. Exp. Morph.* 23: 395.
- 81.- McLaren, A., Chandley, A. C. y Kofman-Alfaro, S. (1972). A study of meiotic germ cells in the gonads of foetal mouse chimeras. *J. Embryol. Exp. Morph.* 27: 515.
- 82.- Jirasek, J. E. (1976). Principles of reproductive embryology. In: Disorders of sexual differentiation (J. L. Sipsom Ed.) Academic Press, New York.
- 83.- Merchant-Larios, H. (1978). Ovarian differentiation. In: The vertebrate ovary (E. R. Johns Ed.). Plenum Press, New York.
- 84.- Jost, A. (1953). Problems of fetal endocrinology. The gonadal and hypophyseal hormones. *Rec. Progr. Horm. Res.* , 8: 379.
- 85.- Jost, A., Vigier, B., Prepin, J., Perchellet, J. P. (1973). Studies on sex differentiation in mammals. *Rec. Progr. Horm. Res.* , 29: 1.
- 86.- Josso, N., Picard, J. Y., Tran, D. (1977). The antimullerian hormone. *Rec. Prog. Horm. Res.* 33:117.
- 87.- Vigier, B., Picard, J. Y., Bezaud, J. y Josso, N. (1981). Antimullerian hormone: A local or long distance morphogenetic factor. *Hum. Gen.* , 58: 85.
- 88.- Niemi, M., Ilonen, M. y Hervonen, A. (1967). Histochemistry and fine structure of the interstitial tissue in the human fetal testis. In: Endocrinology of the testis. G. E. W. Wilstenholme and M. O'Connor, Eds. Little Brown Co., Boston.
- 89.- Anderson, D. D. (1974). Sex hormone binding globulin. *Clin. Endocrinol.* , 3:69.
- 90.- Hamilton, W. J., Boyd, D. y Mossman, H. W. (1964). Embriologia Humana. Edit. Inter-Médica, México. pp:523.

- 91.- Josso, N. (1986). Antimullerian Hormone: New perspectives for a sexist molecule. *Endocrin. Rev.* 7(4):421-433.
- 92.- Hook, E. B. y Hamerton, J. L. (1977). The frequency of chromosome abnormalities detected in consecutive newborns studies. Differences between studies. Results by sex and by severity of phenotypic involvement. In Hook, E. B. & Porter, I. H. Population Cytogenetics. Studies in Humans. Academic Press. Inc. New York. pag. 63.
- 93.- Jacobs, P. A. (1978). Population Surveillance. A cytogenetic approach. In Morton, N. E. & Chung, C. S. Genetic Epidemiology, Academic Press Inc., New York. pag. 463.
- 94.- Boue, A. y Boue, J. (1977). Chromosome abnormalities and abortion. In Coutinho, E. M. & Fuchs, F. Physiology and Genetics of Reproduction. Part B. Plenum Press, New York. pag. 317.
- 95.- Kajii, T. (1973). Banding analysis of abnormal karyotypes in spontaneous abortion. *Am. J. Hum. Genet.* 25: 539.
- 96.- Kofman, S., Mutchinick, O., Valdéz, E. y Pérez-Palacios, G. (1984). Diferenciación Sexual II. Anomalías de los cromosomas sexuales y alteraciones de la diferenciación gonadal. *Rev. Invest. Clin. (Mex.)* 36:53-70.
- 97.- Turner, H. H. (1938). A syndrome of infantilism, congenital webbed neck and cubitus valgus. *Endocrinology* 23:566.
- 98.- Hook, E. B. y Warburton, D. (1983). The distribution of chromosomal genotypes associated with Turner's syndrome livebirth. Prevalence rates and evidence for diminished fetal mortality and severity in genotypes associated with structural X abnormalities or mosaicism. *Hum. Genet.* 64: 24-27.
- 99.- Sanger, R., Tippett, P. y Gavin, J. (1971). Xg groups and sex abnormalities in people of Northern European ancestry. *J. Med. Genet.* 8:417.
- 100.-Kajii, T. y Dhama, K. (1979). Inverse maternal age effect in monosomy X. *Hum. Genet.* 51:147.
- 101.-Van der Hauwaert, L. G., Fryns, J. P., Dumoulin, M. y Logghe, N. (1978). Cardiovascular malformations in Turner's and Noonan's syndrome. *British Heart Journal* 40:500-509.

- 102.-Lituak A. S. y Rousseau T. G. (1978) The association of significant renal anomalies with Turner's syndrome. *J. Urol.* 120(6): 671-672.
- 103.-Egozcue J., Antich, J., Ballesta, F., Goyanes, V., Izquierdo, L., Tamparillas, M. y Tavares, A. (1978). *Genética Médica*. 1a. Ed. España. pag. 253-259.
- 104.-Simpson, J. L. (1975). Gonadal dysgenesis and abnormalities of human sex chromosomes: Current status of phenotypic-karyotypic correlations. *Birth Defects*. 11(4):23-59.
- 105.-Clark, E. B. (1984). Neck web and congenital heart defects: A pathogenic association in 45,X Turner syndrome? *Teratology* 29:355-361.
- 106.-Boczkowski, K., Mikkelsen, M. y Poulsen, H. (1978). Turner syndrome with rare karyotypes. *Clin Genet*, 13:409-414.
- 107.-Sing, R. F. y Carr, D. H. (1966). The anatomy and histology of XO human embryos and fetuses. *Anat. Rec.* 155:369.
- 108.-Groll Michael, M. D. y Murray Cooper, M. D. (1976). Menstrual function in Turner's syndrome. *Obst. and Gynecol.* 47(2):225-226.
- 109.-Fitzgerald, P. H., Donald, R. A. y McCormick, P. (1984). Reduced fertility in women with X chromosome abnormality. *Clin. Genet.* 21:36-52.
- 110.-Haseltine, F. P. y Ohno, S. (1981). Mechanism of gonadal differentiation. *Science* 211:1272.
- 111.-Bahner, F., Schwarz, G., Hornden, D. G., Jacobs, P. A., Hienz, H. A. y Walter, K. (1960). A woman with XO sexual chromosomal constitution. *The Lancet*: July 9:100-101.
- 112.-Muran, D. y Jolly E. E. (1982). Pregnancy and gonadal dysgenesis. *J. Obstet. Gynecol.* 3(2):87-88.
- 113.-Magnin, G., Rethore, M. Q. y Bethoux, J. P. (1977). Phenotypes turnerian et menstruations spontanees. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 6(8):1095-1100.
- 114.-Lisker, R., Jimenez, R., Larrea, F., Mutchinik, D., Ruz, L., Medina, J. M. y Pérez-Palacios, G. (1979). Cytogenetic and endocrine studies in a 45,X female subject with spontaneous sexual development. *Am J. Obstet. Gynecol.* 133(2):133-149.

- 115.-Ioan, D., Duca Marinescu D., Cioltei A. y Maximilian C. (1978). Three women with 45,X/46,XX mosaic and multiple spontaneous abortions. Rev. Roum. Med. Ser. Endocrinol. 16(2):139-141.
- 116.-Reyes, F. I., Koh, K. S. y Falman, C. (1976). Fertility in woman with gonadal dysgenesis. Am. J. Obstet. Gynecol. 126(6):668-670.
- 117.-Levine, J. R., Lynn Loriaux, D. y Cutler, G. B. Jr. (1983). Developmental changes in neuroendocrine regulation of gonadotropin secretion in gonadal dysgenesis. J. Clin. Endocrinol. Metab. 57:288-293.
- 118.-Weiss, E., Loevy, H. y Saunders, A. (1982). Monozygotic twins discordants for Ullrich-Turner syndrome. Am. J. Med. Genet. 13(4):389-399.
- 119.-Grumbach, M. M., y Conte, F. A. (1981). Disorders of sex differentiation. In: Textbook of Endocrinology (R. H. Williams, Ed.). W. B. Saunders Co. Philadelphia, pp. 423.
- 120.-Armendares, S. (1978). Efecto de la oxandrolona sobre el crecimiento en pacientes con síndrome de Turner. Rev. Invest. Clin. (Mex.). 30:343.
- 121.-Zancio, L., Povia, P. y Amantea, P. (1978). Kariological variations in Turner's syndrome. Minerva Gynecol. 30(10):817-820.
- 122.-Sarkar, R. y Marimuthu, K. M. (1983). Association between the degree of mosaicism and the severity of syndrome in Turner Mosaics and Klinefelter mosaics. Clin. Genet. 24:420-428.
- 123.-Nielsen, L. B., Boczkowski, K., Mikkelsen, M., Dahl, G. y Andersen, E. (1982). Partial Turner's syndrome in four girls with Xq duplication and Xp deficiency. Hum. Genet. 61:12-17.
- 124.-Ayuso, M. Carmen, Jose Bello, M., Benitez, J., Sanchez Cascos, A. y Mendoza, G. (1984). Two fertile Turner women in a family. Clin. Genet. 26:591-596.
- 125.-Kofman, S., Perez-Palacios, G., Medina, M., Escobar, N., Garcia, M., Ruz, L., Mutchinick, O. y Lisker, R. (1981). Clinical and endocrine spectrum in patients with 45,X/46,XX karyotype. Hum. Genet. 58:373.

- 126.-Pincheira, J. V., Bustos-Obregon, E., Pumarino, H. y Santos, M. A. (1983). 45,X0/49,XXXXY Mosaicism in a male with stigmata of Turner's syndrome. *Clin. Genet.* 24:384-388.
- 127.-Goldstein, A., Hansknecht, R., Hsu, L. Y. y Brendler, H. (1970). Sex chromosomes mosaicism in three sibs. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 107(1):108-115.
- 128.-Fayez, J. A. y Jonas, H. S. (1978). Virilization in Turner syndrome. *Obstetrics and Gynecology* 52(4):490-492.
- 129.-Davidenkova, E. F., Verlinskaja, D. K. y Mashkova, M. V. (1978) Structural Aberrations of the X Chromosome in Man. *Hum. Genet.* 41:269-279.
- 130.-Otto, P. G., Vianna-Morgante, A. M., Otto, P. A. y Wajntal, A. (1981) The Turner Phenotype and the different types of Human X Isochromosome. *Hum. Genet.* 57:159-164.
- 131.-Kjessler, B. y Farham M. (1978) Delayed Diagnosis in a case of Secondary Amenorrhea caused by a long arm Isochromosome X1(Xq). *Int. J. Fertil.* 23(4):305-308.
- 132.-Larizza, D., Abbati, G., Lorini, R., Salvatori, A. y Severi, F. (1982). Turner phenotype and different types of human X-isochromosome. *Hum. Genet.* 62:93.
- 133.-Therman, E., y Sarto, G. E. (1983). Inactivation center on the human X chromosome. in *Cytogenetics of the mammalian X chromosome. Part A: Basic mechanisms of X chromosome behavior.* ed A. A. Sandberg. pp. 315-325, A.R. Liss, New York.
- 134.-Wyss, D., DeLozier, C. D., Danielli, J. y Engel, E. (1982) Structural Anomalies of the X Chromosome: personal observation and review of non-mosaic cases. *Clin. Genet.* 21:145-159.
- 135.-Leichtman, D. A., Schmikel, R. D. y Gelehrter, T. D. (1978) Familial Turner Syndrome. *Ann. Intern. Med.* 89(4):473-476.
- 136.-Skibsted, Lillin, Westh, H. y Niebuhr, E. (1984) X long-arm Deletions. A review of non-mosaic cases studied with banding techniques. *Hum. Genet.* 67:1-5.
- 137.-De la Chapelle, A., Schroeder, J., Haahtela, T. y Aro, P. (1975). Deletion mapping of the human X chromosome. *Hereditas.* 80:113-120.

- 138.-Dewhurst, J. (1981) Gonadal Dysgenesis and X Chromosome Deletion. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 88:944-949.
- 139.-Goldman, B., Polani, P. E., Daker, M. G. y Angell, R. R. (1982) Clinical and Cytogenetic aspects of X-Chromosome deletions. *Clin. Genet.* 21:36-52.
- 140.-Sarto, G. E., Therman, E. y Patau, K. (1973). X inactivation in man: a woman with t(Xq-;12q+). *Am. J. Hum. Genet.* 25:262-270.
- 141.-Kerillova, E. A. y Baranowskaya, L. I. (1982) The balanced t(1:X) translocation in a woman with gonadal dysgenesis. *Genetika.* 18(9):1544-1549.
- 142.-Berkovitz, G., Stamberg, J., Plotnick, L. P. y Lanes, R. (1983) Turner Syndrome patients with a ring X Chromosome. *Clin. Genet.* 23:447-453.
- 143.-Moorhead, P. S., Nowell, R. C., Mellman, W. J., Battips, D. M. y Hungerford, D. A. (1960). Chromosome preparations of leucocytes cultured from peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 20:613.
- 144.-Epstein, Ch. J. (1986). The consequences of chromosome imbalance. Principles, mechanisms and models. Ed. Cambridge University Press. E.U.A.
- 145.-Archivos de investigación médica. Somatometría pediátrica. (1975). 6 sup. 1. Ed. Jose Luis Mateos Gómez. I.M.S.S. México.
- 146.-Therman, E. (1983). Mechanisms through which abnormal X-chromosome constitutions affect the phenotype. In *Cytogenetics of the mammalian X chromosome, Part B: X chromosome anomalies and their clinical manifestations.* ed. A. A. Sandberg, pp 159-173. A. R. Liss, New York.
- 147.-Teyssier, J. R., Bajolle, F. y Caron J. (1981). Complete deletion of long arm of X chromosome in woman without Turner syndrome. *Lancet* 1:1158-9.