

11216
2 2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

HOSPITAL GENERAL DE LA CIUDAD DE MEXICO

ALTERACIONES ESTRUCTURALES
DEL CROMOSOMA "Y" Y SU
FENOTIPO

T E S I S

QUE PRESENTA EL MEDICO CIRUJANO
SERGIO ALBERTO CUEVAS COVARRUBIAS

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN

G E N E T I C A M E D I C A

1 9 8 7 - 1 9 8 9

ASESOR: DRA. SUSANA H. KOFMAN E

MEXICO, D. F.

1989

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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

INTRODUCCION.....	1
ANTECEDENTES.....	2
El Dimorfismo Sexual.....	2
Evolución de los Cromosomas Sexuales.....	7
Estructura del Cromosoma Y.....	12
La Expresión de los Genes del Cromosoma Y.....	16
Genes del Cromosoma Y.....	29
Heterocromatina del Cromosoma Y.....	32
Herencia Holándrica.....	33
Tinción del Cromosoma Y.....	33
MATERIAL Y METODOS.....	36
Reporte de Casos.....	39
RESULTADOS.....	42
Estudio Citogenético.....	42
Laparotomía e Histología.....	46
DISCUSION.....	53
BIBLIOGRAFIA.....	62

INTRODUCCION

Los trastornos de la diferenciación sexual representan un grupo de padecimientos que nos han permitido conocer el proceso normal de diferenciación sexual de los organismos. Una gran variedad de estas alteraciones han sido reportadas en la literatura y comprende un grupo muy amplio y heterogéneo de padecimientos. Dentro de este grupo encontramos las entidades cuya patología en el desarrollo sexual es producto de anomalías en el cromosoma Y. La importancia atribuida a este cromosoma descansa en el papel crucial que se le ha asignado en la determinación masculina. Sin embargo, todo parece indicar que su rol fundamental lo ejerce a través de un gen que interactúa con genes autosómicos y/o ligados al cromosoma X. Los pocos genes localizados en el cromosoma Y hacen suponer su escasa participación en procesos somáticos.

En el presente estudio se analiza una serie de pacientes en los cuales se han detectado alteraciones estructurales del cromosoma Y y su relación con los aspectos clínicos producidos por éstas. Se intenta ubicar la región de los genes determinantes del testículo y los implicados en procesos somáticos, además de conocer la relación existente entre el tipo de anomalía cromosómica y el grado de afectación en el fenotipo de estos pacientes.

ANTECEDENTES

EL DIMORFISMO SEXUAL

La diferenciación sexual en las especies obedece a un orden evolutivo. Algunos organismos primitivos pueden tener tanto una reproducción sexual como asexual (1), sin embargo, el tipo de reproducción se define según el grado de evolución de éstos. La presencia del dimorfismo sexual en las especies ha sido regulada por diferentes factores según la escala evolutiva (fig. 1).

El primer factor importante en el dimorfismo sexual es el control ambiental, como se ve en algunas especies. En el gusano *Bonellia viridica*, el sexo fenotípico está determinado por la distancia de la larva a la madre. La larva presente en el proboscus de la progenitora se desarrolla como femenina y la que lo hace distante en el agua, como masculina. Aparentemente, la madre secreta una hormona masculinizante dentro del agua (1). Otro ejemplo se ve en el pez rojo *Anthias squamipinnis*, en donde el porcentaje de hembras y machos está determinado por estímulos visuales. Si un tanque contiene sólo hembras, una de ellas sufrirá reversión sexual a un estado masculino. Esto no ocurre si un macho está presente en un tanque contiguo separado por una estructura translúcida (v.gr. un vidrio) (2). En algunas especies, el sexo también puede depender de la edad, en ciertos peces los jóve

**Factor Determinante
(inicio)**

**Genes Determinantes
del Sexo**

**Genes de la
Diferenciación Sexual**

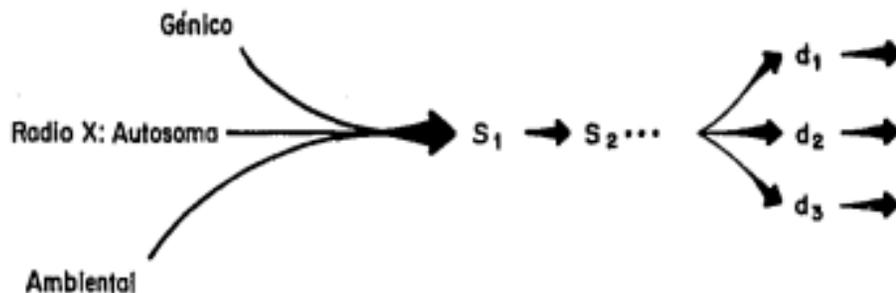


Fig. 1.- Mecanismos de diferenciación sexual en animales. La activación puede ser ambiental, cromosómica o génica a través de genes determinantes del sexo que actúan en "cascada" (S₁-S₂...), cada uno de los cuales activa o inhibe el siguiente gen de la serie. El gen final S actúa sobre los loci d₁, d₂, d₃... responsables de la diferenciación de órganos y estructuras sexuales-

nes son de un sexo y los viejos son el opuesto (3). Así mismo, factores hormonales pueden influir en la diferenciación sexual como en algunos anfibios y peces masculinos, en donde la administración de estradiol causa que las gónadas y genitales se desarrollen en forma femenina (3,4). En los peces Teleosteos se desarrolla un hermafroditismo sincrónico. El pez maduro, presenta ovotestes con fusión bilobular posterior y completa simultáneamente la ovogénesis y la espermatogénesis. Este tipo de hermafroditismo sincrónico requiere de un mecanismo especial de aislamiento y también puede ser visto en las formas protoandros y protoginos de algunas especies (5).

Con excepción de algunos peces hermafroditas, el mecanismo cromosómico de determinación sexual no existe aún en vertebrados inferiores. Los cromosomas sexuales de peces y anfibios se encuentran en un estado inicial de diferenciación, aún cuando no existe en ellos una morfología reconocible, con excepción de las víboras. La presencia de los cromosomas sexuales en estas especies no define en forma completa el dimorfismo sexual. En los peces *Ambystoma tigrinum* y *Ambystoma mexicanum*, cuando se transplanta ectodermo y mesodermo conteniendo primordios renales y goniales de una hembra a embriones machos, se pueden obtener larvas con ovario de un lado y testículo del otro. De esta manera, el testículo del receptor modifica al ovario injertado hacia testículo y tal transformación continúa incluso después de remover el testículo del huésped. Con este procedimiento se pueden obtener individuos fenotípicamente masculinos con genotipo femenino (5). En *Xenopus laevis*, organismos genéticamente masculinos pueden desarrollar un fenotipo femenino por medio de la administración exógena de sustancias hormonales (5).

El siguiente factor en la determinación sexual es la relación cromosómica sexo:autosomas. El sexo fenotípico depende normalmente de que un organismo sea homogamético o heterogamético. Es interesante hacer notar que en mamíferos el organismo homogamético (XX) corresponde al sexo femenino y el heterogamético (XY) al masculino. Contrariamente, en otras especies, entre ellas aves y reptiles, el organismo homogamético (ZZ) corresponde al sexo masculino y el heterogamético (ZW) a las hembras.

En diferentes especies se ha reconocido que los genes responsables de la diferenciación sexual se encuentran no sólo en los cromosomas sexuales sino también en autosomas. En *Drosophila melanogaster*, los machos son XY y las hembras son XX. El cromosoma Y en esta especie no es determinante de la masculinidad, aunque es necesario para la espermatogénesis. El sexo de las moscas depende de un balance entre los cromosomas X que determinan el sexo femenino y los autosomas que determinan el masculino (6,7). Las moscas con un complemento diploide de autosomas y 2 cromosomas sexuales X son femeninas, las moscas con 3 complementos de autosomas y 2 cromosomas X son llamadas intersexo y las moscas con 2 ó 3 complementos de autosomas pero sólo un cromosoma X son machos (1). Los autosomas son así determinantes masculinos. La existencia de diversos genes que producen reversión sexual sugieren que el tercer par cromosómico contiene los determinantes masculinos (8) y el X, los determinantes femeninos. Sin embargo, no existe una porción exclusiva del cromosoma X responsable de la determinación femenina, debido a que la adición de cualquier fragmento de este cromosoma

ma. a las moscas con monosomía tiene un efecto determinante - femenino. Cuanto mayor sea el fragmento del cromosoma X presente, mayor será la diferenciación femenina (9).

En mamíferos, la presencia o ausencia del cromosoma Y determina el camino de la diferenciación sexual. Cuando éste está presente ocurre la diferenciación masculina independientemente del número de cromosomas X presentes en el genoma. Esto quiere decir, que el factor que determina el dimorfismo sexual en esta especie, se ha vuelto génico.

El estudio de los cromosomas sexuales se inicia con Henkins (10) cuando en 1891 estudiando divisiones de los espermatocitos en la planta *Pyrrhocorus apterus* observó que la primera división del espermatozoides presentaba un cuerpo peculiar de cromatina que se teñía más intensamente que los otros cromosomas por lo que decidió denominarlo X. En 1901 McClung sugiere que este cromosoma pudiera ser responsable de la determinación del sexo masculino y Sutton en 1902 apoyó esta hipótesis. En 1906, Wilson estudiando los insectos del grupo Hemiptero observó que podían ocurrir dos tipos de determinación sexual en los machos, la primera cuando éstos eran portadores de un par de cromosomas desiguales, cuyos miembros pasaban a diferentes células hijas durante la meiosis y la segunda para los machos que tenían un sólo cromosoma de este par. En esta especie los machos pueden entonces tener 2 cromosomas sexuales morfológicamente diferentes o 1 sólo cromosoma sexual. Estos difieren de las hembras que tienen un par de cromosomas iguales. Montgomery en 1906 llamó heterocromosomas a los cromosomas que difie-

gen en los dos sexos y al resto autosomas (1). La designación de cromosomas sexuales como X y Y correspondió a Wilson en -- 1909 y 1911 respectivamente. En el cuadro 1 se muestra una relación cronológica de estos eventos.

EVOLUCION DE LOS CROMOSOMAS SEXUALES

Con excepción de algunos peces hermafroditas, el mecanismo cromosómico de diferenciación sexual no existe en los vertebrados inferiores. Los cromosomas sexuales de algunos peces y anfibios se encuentran aún en un estado inicial de diferenciación con una casi total homología entre ellos.

El conocimiento de la evolución de los cromosomas sexuales, a partir de un par completamente homólogo (1), se apoya en el estudio citogenético de los reptiles y entre ellos específicamente en el de las víboras, en donde encontramos -- tres diferentes estadios de diferenciación de los cromosomas sexuales (Z y W) (11) (fig. 2).

El complemento cromosómico de la mayoría de las víboras comprende 8 pares de macrocromosomas y 10 pares de microcromosomas (12). En la familia más primitiva Boidae, la -- cual incluye a la *Boa constrictor*, el cuarto par corresponde a los cromosomas Z y W y es homonórfico. En esta especie ambos cromosomas se encuentran en un estadio primitivo de diferenciación (5).

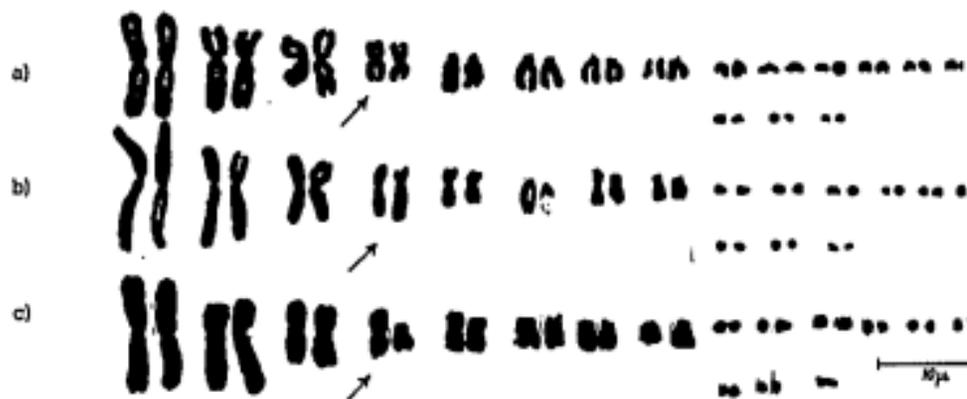


Fig. 2.- Complementos cromosómicos femeninos de 3 especies de serpientes. El cuarto par corresponde a los cromosomas Z y W en diferentes estadios de diferenciación. a) Boiidae (Z y W son homógrafos), b) Colubridae (Z y W difieren por una inversión pericéntrica)- c) Crotalidae (el cromosoma W es más pequeño que el Z). (tomado de Ono, 5).

Cuadro 1.- Relación de eventos cronológicos en el conocimiento de los cromosomas sexuales.

- 1891 Henkins denomina X a uno de los cromosomas del espermatozoide de la planta *Pyrrhocorus apterus*, al observar que teñía más intensamente.
- 1901 McClung sugiere que tal cromosoma está implicado en la determinación del sexo masculino.
- 1902 Sutton apoya la hipótesis de McClung.
- 1906 Wilson detecta en Hemípteros que la diferenciación sexual en machos está determinada por un par de cromosomas desiguales.
- 1906 Montgomery denomina heterocromosomas a los cromosomas que difieren en los dos sexos y al resto autosomas.
- 1909 Wilson designa como X al cromosoma sexual homólogo.
- 1911 Wilson designa como Y al otro cromosoma sexual.

Por otro lado, en muchos de los miembros de la familia Colubridae, que incluye numerosas especies de diversas características, encontramos que los cromosomas Z y W, aún cuando son del mismo tamaño, difieren porque el cromosoma W ha sufrido una inversión pericéntrica convirtiéndose en un cromosoma submetacéntrico. Además, está formado por heterocromatina constitutiva y presenta un patrón de replicación alocíclica (12).

En las familias Crotalidae, Elapidae y Viperidae, que comprenden las especies más evolucionadas de todos los reptiles, el cromosoma W en el sexo femenino es tan pequeño como el observado en las aves. La pérdida de la homología entre ambos cromosomas modificó la forma de apareamiento durante la meiosis. La localización diferente de las secuencias, producto de la inversión pericéntrica, condujo a un entrecruzamiento desigual y probablemente favoreció la pérdida de ciertas regiones, dando la estructura actual de los cromosomas observados en el sexo heterogamético de especies superiores (5) (fig. 3).

El origen de los cromosomas sexuales como consecuencia de la evolución de un par completamente homólogo (13), condicionó forzosamente la similitud de algunas secuencias entre ellos (14-17). Las secuencias que mantuvieron su homología han sido mapeadas en la región telomérica de brazo corto y se denominan secuencias pseudoautosómicas (16-17). Secuencias similares se han encontrado en brazos largos (15). Sin embargo, se ha postulado que la homología de estas secuencias se -

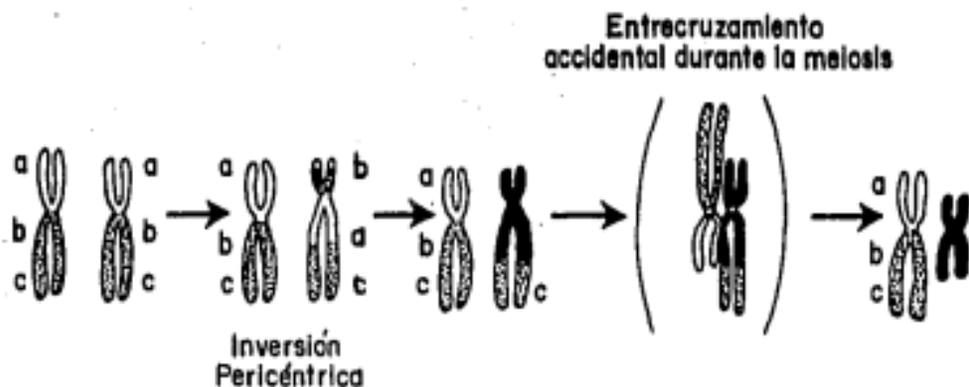


Fig. 3.- Representación esquemática de la evolución filogenética de los cromosomas sexuales a partir de un par de homólogos. a, b y c corresponden a segmentos cromosómicos. La inversión pericéntrica produjo una localización diferente de estos segmentos y el apareamiento accidental meiótico condujo a la pérdida de éstos (modificado de Ohno, 5).

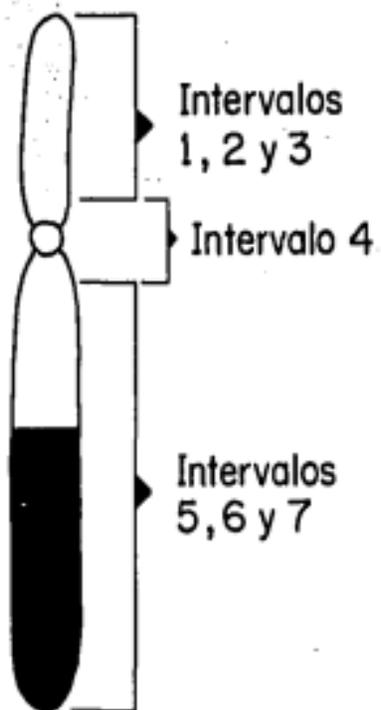


Fig. 5.- Intervalos 1-7 asignados al cromosoma Y humano propuesto por Vergnaud y cols. (21).

ha realizado en un período más reciente en la filogenia de los cromosomas sexuales (14).

En los mamíferos, considerados como las especies más evolucionadas, los cromosomas sexuales muestran una gran diferencia en el sexo heterogamético. El cromosoma X, que se ha conservado durante la evolución, mantiene las secuencias originales, mientras el cromosoma Y ha perdido casi todas estas secuencias conservando algunos genes responsables de la diferenciación sexual masculina.

ESTRUCTURA DEL CROMOSOMA Y

El cromosoma Y es pequeño, acrocéntrico y originalmente se asignó con los cromosomas del grupo G que además incluye a los cromosomas 21 y 22. Suele ser el más grande del grupo y tiene como características que sus brazos largos tienden a acercarse entre sí y no poseer satélites en sus brazos cortos (18). Presenta dos grandes regiones, una eucromática localizada en la totalidad de su brazo corto y en la región proximal de su brazo largo, y que representa la región de los genes activos y la otra heterocromática ubicada en la casi totalidad de la región distal de su brazo largo y hasta la fecha considerada inerte en cuanto a expresión génica se refiere. Replica más tardíamente que los cromosomas acrocéntricos-pequeños, hallazgo que es compatible con su naturaleza heterocromática (19). En ocasiones puede ser observada una constricción secundaria en su brazo largo (10), el cual está compues-

to en su mayoría por heterocromatina constitutiva (fig. 4).

La naturaleza heterocromática del cromosoma Y le confiere una gran variabilidad morfológica, pudiendo ser tan largo como los cromosomas del grupo F o tan pequeño como la mitad de los del grupo G. Este hecho hace suponer la existencia de pocos genes en él. Hasta la fecha no más de 10 genes han sido asignados al cromosoma Y, en cambio se postula la existencia de 240 genes en el cromosoma X, de los cuales 120 ya han sido comprobados (20). El único efecto bien establecido en el cromosoma Y es su papel dominante en la determinación masculina independientemente del número de cromosomas X presentes en el genoma. La introducción de los métodos de bandeo han permitido una mejor identificación de las regiones del cromosoma Y y el análisis de las repercusiones clínicas producidas cuando estas regiones se encuentran implicadas en diversas alteraciones.

El estudio utilizando enzimas de restricción, ha permitido construir un mapa de delección del cromosoma Y. Mediante esta tecnología Vergnaud y cols dividen al cromosoma Y en siete intervalos (21). Los intervalos 1, 2 y 3 están contenidos en Yp, aunque el orden de ellos no está establecido definitivamente. El intervalo 4 contiene al centrómero y los intervalos 5, 6 y 7 se encuentran en Yq. Page y cols proponen subdividir el brazo corto del cromosoma Y en 13 intervalos a partir del mapa de hibridación de Vergnaud (resultados no publicados) (22) (fig. 5).

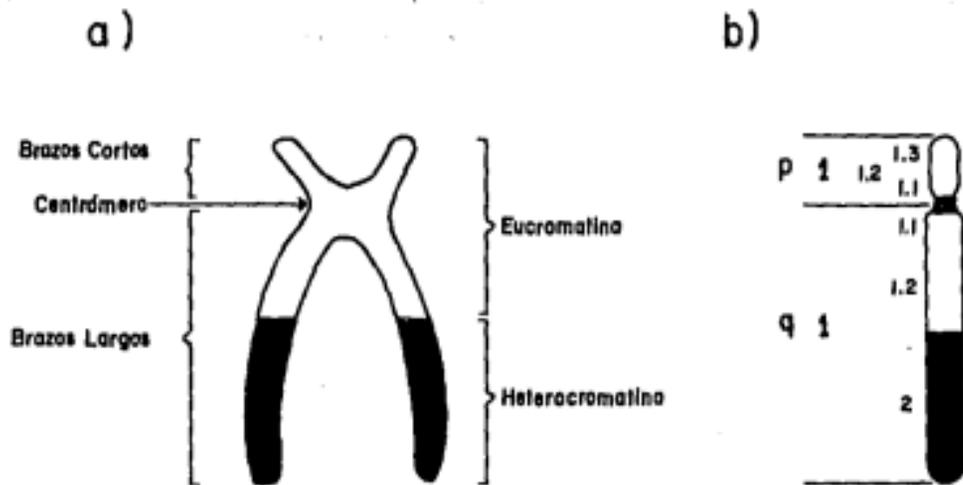


Fig. 4.- a) Representación esquemática del cromosoma Y humano. b) Regiones asignadas por el método de bandas.

LA EXPRESION DE LOS GENES DEL CROMOSOMA Y

DESARROLLO SOMATICO

Como se mencionara anteriormente, existen pocos genes asociados al cromosoma Y responsables de diferentes procesos en el desarrollo somático. Estos han sido relacionados -- principalmente con el crecimiento, maduración esquelética, desarrollo dental y prevención de los estigmas de Síndrome de Turner. Es conveniente señalar, en cuanto a los tres primeros aspectos, que los factores ambientales también juegan un papel importante en el desarrollo del ser humano.

Maduración Esquelética. - La maduración esquelética está aparentemente relacionada con genes en el cromosoma Y. - Individuos con genotipo 45, X muestran un retardo mínimo en el desarrollo óseo comparado con los individuos 46, XX, y el genotipo 47, XXY tiene una edad ósea similar al genotipo 46, XY (23). Según Tanner, el cromosoma Y causa retardo en el desarrollo óseo independientemente de cuantas cromosomas X estén presentes en el genoma (24). La edad ósea en pacientes -- con dos cromosomas Y se menciona como normal o retardada, aunque rara vez ha sido reportada (25,26). En un caso con cromosoma dic(Yq) Buhler refiere retardo en el desarrollo óseo (23) y lo mismo informa Lonberg en una paciente con fenotipo femenino e i(Yq) (27). De estos dos últimos casos podemos inferir

que los factores que influyen en la edad ósea están situados en los brazos largos del cromosoma Y (Yq).

Crecimiento Corporal.- El crecimiento corporal parece estar influenciado por genes autosómicos, ligados al X y ligados al Y (28). Los pacientes con síndrome de Turner (45,-X) son de talla baja, en cambio los adultos con síndrome de Klinefelter (47, XXY) son en promedio más altos que los hombres normales (24). Los hombres con línea celular 47, XYY presentan como signo más constante una talla mayor que la de la población en general y se considera que el 30% de los individuos de 1.93 m y más de estatura tienen este genotipo (29). Diversas alteraciones estructurales del cromosoma Y han sido observadas y relacionadas con su fenotipo, permitiendo inferir la ubicación posible de los genes responsables del crecimiento corporal. En 1966, Jacobs y Ross propusieron que los genes en el cromosoma Y que controlan el crecimiento se encuentran en brazos largos (30). No obstante; la información obtenida en diferentes pacientes con anomalías estructurales del cromosoma Y son contradictorias. Existen referencias de deleciones de Yp con talla baja (31) o estatura normal (23, 30) y también casos con duplicación (32) o deleción del brazo largo (33-35) con estatura normal o baja. Estos datos sugieren que los factores que promueven el crecimiento corporal se encuentran tanto en brazos cortos como en brazos largos del cromosoma Y.

Desarrollo Dental.- La dificultad para determinar el desarrollo dentario estriba en la poca información que se

encuentra en la literatura, principalmente en la pediátrica, de pacientes con alteraciones del cromosoma Y. El tamaño de los dientes en los hombres es usualmente mayor que en las mujeres. La aparición de los dientes permanentes en pacientes con genotipo 47, XYY es más tardía que en los individuos 46, XY, y tanto los dientes permanentes como los deciduos son más largos en los primeros (36,37). Estos hallazgos sugieren una influencia directa del cromosoma Y en la regulación del tamaño de los dientes. Recientemente Alvesalo sugiere la ubicación de este gen en la región Yq11 y lo simboliza TD (tamaño dental) (38).

Estigmas de Síndrome de Turner. - La presencia de los estigmas del síndrome de Turner (45, X) puede ser causada por la ausencia parcial o completa de uno de los cromosomas sexuales. Generalmente, los signos son menos severos en mosaicos y deleciones que en las monosomías completas. De manera interesante, el fenotipo de síndrome de Turner puede prevenirse o atenuarse con la presencia de una línea celular con cromosoma Y. Numerosas evidencias han sugerido que la presencia de los factores que previenen los estigmas de síndrome de Turner se localizan en la región proximal de los brazos cortos del cromosoma Y. En aquellos casos informados con pérdida de esta región, como algunos genotipos $i(Yq)$ (27), los pacientes presentan este cuadro clínico. Contrariamente, en aberraciones estructurales del cromosoma Y, donde el brazo corto está conservado, v.gr. $i(Yp)$ y $Yq-$ (23,39), el fenotipo es normal.

Espermatogénesis.- La localización en el cromosoma Y de factores que influyen en la espermatogénesis está basada en el hallazgo de 6 pacientes con azoospermia que presentaban pérdida de la región distal eucromática del brazo largo del cromosoma Y, muy cercana a la región heterocromática (40). -- Los autores asumen que la delección abarca un fragmento de la eucromatina de Yq (banda Yq11) junto con la heterocromatina.- Este factor implicado en la espermatogénesis ha sido denominado tercer factor de azoospermia (sp-3) o más recientemente -- FAZ (factor de azoospermia). Varios casos con delección de Yq y azoospermia han sido reportados en la literatura (32).

DESARROLLO SEXUAL

Numerosas hipótesis se han postulado para tratar de explicar la función del cromosoma Y en la diferenciación masculina. Entre ellas, las más importantes han sido el antígeno H-Y, las secuencias Bkm, el factor determinante del testículo y finalmente el locus de la diferenciación gonadal.

Antígeno H-Y.- Indudablemente, el principal efecto atribuido al cromosoma Y es su capacidad de dirigir el desarrollo de la gónada indiferenciada hacia testículo. En condiciones normales, su presencia determina que un embrión se desarrolle como masculino y en su ausencia como femenino. Considerando esto, podemos deducir que deben existir en el cromosoma Y uno o más genes cuyos productos determinen en forma directa o indirecta los diferentes aspectos del dimorfismo ----

sexual. El camino para identificar tal producto se inicia con el descubrimiento en ratones de un antígeno débil de histocompatibilidad detectado al realizar experimentos de trasplante. Esto fue llevado a cabo hace más de 30 años por Eichwald y -- Silger y el antígeno fue denominado H-Y por Billingham y Silvers en 1960 (41,42). El antígeno H-Y sólo es expresado en varones y su presencia fue determinada al realizar trasplantes de tejido de machos a hembras singénicas. Este antígeno está presente en casi todas las células de los mamíferos machos y es secretado por las células de Sertoli (43-45). Inicialmente, fue reconocido como un antígeno de membrana asociado a la β_2 -microglobulina (41,46,47). Su expresión es compleja y parece estar determinada por lo menos por tres genes ubicados tanto en el Y, X y algún autósoma, además del gen para su receptor en el cromosoma X (23,48). El antígeno H-Y fue considerado como el principal inductor de la diferenciación de la gónada primitiva hacia testículo (41,45). Sin embargo, su rol como factor determinante del testículo fue puesto en duda con una serie de hallazgos posteriores. La presencia de dos antígenos, uno responsable del rechazo de trasplantes y el otro reconocido serológicamente (41), así como la dificultad de reconocer adecuadamente las variaciones normales, la designación de los errores en el control experimental y la falta de métodos adecuados para asignar las diferencias cuantitativas, pusieron en duda su función como determinante del testículo (49). Recientemente, se ha informado diferenciación masculina en una cepa de ratones XY con antígeno H-Y negativo (50), demostrándose que éste no es responsable de la diferenciación testicular. Además, se ha logrado ubicar en el cromosoma Y la re

gión que codifica para el antígeno H-Y en un locus distinto al que corresponde al factor determinante del testículo (51). El primero se ha ubicado en la región proximal de brazo largo (52), mientras que el segundo se ha asignado a la región distal del brazo corto, adyacente a las secuencias pseudoautosómicas (51). Aunque el antígeno H-Y no está implicado en la de terminación del testículo, existe evidencia de su participación en la espermatogénesis (53).

Secuencias Bkm. - Es conveniente mencionar en este a apartado otro de los factores que ha sido relacionado con la diferenciación sexual, las secuencias Bkm, formadas por un -- componente de ADN de menor densidad y denominadas así por ser encontradas en la víbora Banded krait (Banded krait minor). - Aisladas en un inicio en las víboras femeninas de la familia Elapidae y posteriormente en diversas especies, parecían estar ligadas íntimamente con la determinación del sexo (12). - Las secuencias Bkm están constituidas por ADN altamente repetitivo incluido en el ADN satélite tipo IV y están compuestas por los tetranucleótidos GATA/GACA que podrían codificar para leucina, serina, isoleucina y tirosina (52,54). Se han asocia do fundamentalmente en la determinación del sexo heterogamético (12,55) y se encuentran ampliamente distribuidas en el ge noma de los diferentes organismos. En el ratón se han observa do preferentemente en los cromosomas X, Y y 17 y se ha visto en esta especie que hibridizan con la región Sxr (factor de - reversión sexual) que determina que los embriones XX se desarrollen fenotípicamente como masculinos (ratones con rever sión sexual). Este factor es producto de un rearrreglo del cro

mosoma Y y consiste en la duplicación de una región localizada cerca del centrómero y transpuesta al extremo distal condicionando un cromosoma Y aberrante. En esta región se realiza el entrecruzamiento con el cromosoma X durante la meiosis (52). De aquí podemos inferir que la región transpuesta del cromosoma Y incluyendo las secuencias determinantes del testículo -- (tdy) pueden ser transferidas al cromosoma X (52). Esta región es visible citogenéticamente e incluye secuencias ricas en los nucleótidos GATA/GACA, por lo que las secuencias Bkm llegaron a asociarse con la determinación del sexo. Sin embargo, no hay evidencia definitiva que apoye su participación en el dimorfismo sexual en el ser humano (57). En nuestra especie estas secuencias han sido encontradas en los cromosomas 6, 11 y X pero ausentes en el Y. Este dato descarta su participación en la determinación sexual en el hombre (56).

Factor Determinante del Testículo. - En el cromosoma Y deben existir uno o más genes cuyos productos determinen directa o indirectamente los aspectos del dimorfismo sexual. La naturaleza bioquímica de este supuesto factor determinante del testículo (FDT) ha sido objeto de muchas especulaciones y cuestionamientos. Posiblemente todas las diferencias bioquímicas entre hombres y mujeres han sido atribuidas a la expresión del factor identificado como FDT (22). A pesar de los escasos conocimientos de los eventos bioquímicos y celulares regulados por el FDT, Page y cols (22) clonaron el gen que codifica para el FDT, mediante determinaciones precisas de su localización cromosómica. La existencia de varias anomalías estructurales del cromosoma Y humano han hecho posible cons--

truir un mapa de delección por hibridación con sondas de ADN - del cromosoma Y y localizar la región del FDT en este mapa -- (fig. 6).

El estudio con ADN recombinante de los hombres XX - con reversión sexual (hombres estériles con genotipo femenino y fenotipo masculino) y de su contraparte las mujeres XY, permitieron un mejor estudio del factor determinante del testículo. Vergnaud y cols estudiaron un grupo de pacientes, en su mayoría hombres XX, mediante sondas de ADN del Y y encontraron en la mayor parte de ellos (80%) secuencias de ADN en la región distal del brazo corto de un cromosoma X que parecían contener el gen determinante del testículo (21). Dicha región se encuentra adyacente a las secuencias pseudautosómicas (52). Recientemente, Page y cols clonaron un segmento del cromosoma Y de 230 kb el cual parecía contener todo o una parte del gen del FDT. Estas secuencias se encuentran altamente conservadas en la evolución, con una gran homología en el cromosoma Y de todos los mamíferos examinados y sorprendentemente también se localizan en el cromosoma X (22). Se considera que parte de estas secuencias comprenden al intervalo 1A2 y están presentes en el genoma de la mayoría de los hombres XX y ausentes en algunas mujeres XY (52,58). El intervalo 1A2 está compuesto de aproximadamente 140 kb, lo que correspondería al 0.2% del cromosoma Y. Page supone que sólo una fracción de estas 140 kb constituye actualmente las secuencias que codifican para el FDT (fig. 7). El producto de este gen parecería corresponder a una proteína de 404 aminoácidos con 13 repeticiones de cisteína-cisteína-histidina-histidina, con 28-30 residuos-

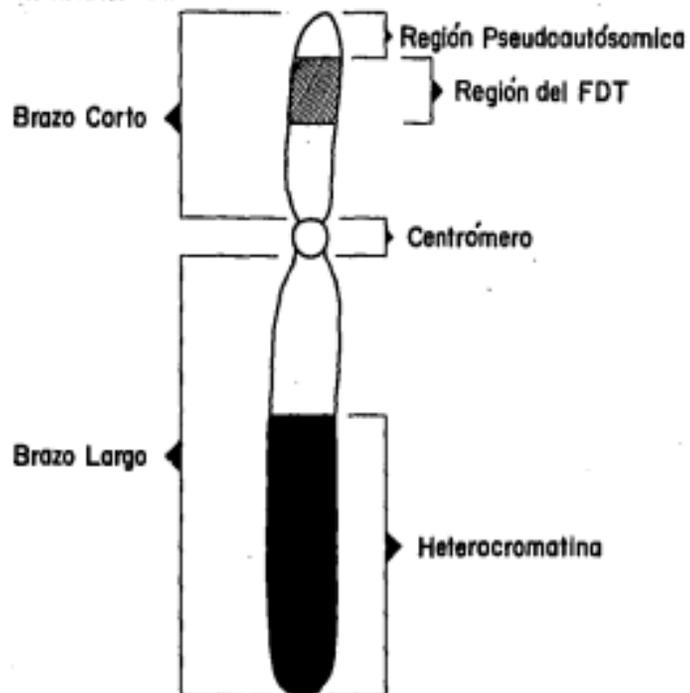


Fig. 6.- Esquema del cromosoma y hasta donde se muestra la región del factor determinante del testículo adyacente a la región pseudoautosómica en el extremo distal del brazo corto.

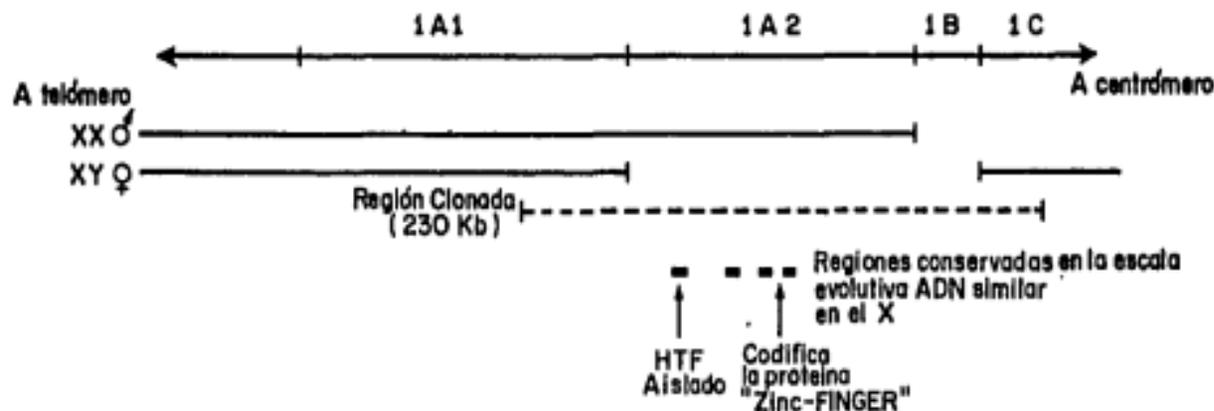


Fig. 7.- Brazo corto del cromosoma Y donde se muestran los intervalos 1A1, 1A2, 1B y 1C. El intervalo 1A2 se ha encontrado en el cromosoma X de la mayoría de los varones XX y ausente en algunas mujeres XY. Este incluye la región que codifica para el factor determinante del testículo cuyo producto parecería corresponder a una proteína específica (ver texto). La línea discontinua señala la región clonada por Page y cols de 230 kb. HTF es una secuencia rica en G-C (tomada de McLaren, 52).

en un rearrreglo tetrahédrico con un ión zinc en el centro que le confiere múltiples dominios y la clasifica dentro de la familia de las "finger protein". Se ha postulado que tal proteína se une a los ácidos nucleicos en forma específica comportándose como un regulador génico (52,59).

Como se ha mencionado previamente, secuencias de ADN similares a las descritas por Page y cols en el cromosoma Y se encuentran también en el cromosoma X de todos los mamíferos examinados. El alto grado de conservación evolutiva descarta que estas regiones de los cromosomas X y Y sean pseudogenes. Para explicar esta homología se han propuesto 4 hipótesis (22): 1) que la proteína codificada por el X no esté implicada en la determinación sexual de la gónada, 2) que los loci de los cromosomas X y Y sean antagonistas y codifiquen para factores reguladores negativos o positivos uniéndose a la misma secuencia determinante del testículo, 3) que los loci de los cromosomas X y Y actúen en forma cooperativa codificando para subunidades de una estructura polimérica requerida para la determinación del testículo, heterodímera para el hombre y homodímera para la mujer, y 4) que los loci de los cromosomas X y Y sean funcionalmente intercambiables, estando el locus del cromosoma X sujeto al proceso de inactivación. De esta manera, el sexo gonadal estaría determinado por el número total de loci expresados, uno para la mujer y dos para el hombre (22). Esta última hipótesis se basa en el modelo de inactivación del cromosoma X y el efecto de dosaje génico para explicar el dimorfismo sexual.

Locus de la Diferenciación Gonadal.- Actualmente, - la hipótesis que trata de explicar el dimorfismo gonadal está relacionada con la inactivación del cromosoma X. Las secuencias homólogas encontradas tanto en el cromosoma X como en el Y se denominan locus de la diferenciación gonadal (LDG). Estas secuencias mantienen su transcripción en ambos cromosomas en el sexo heterogamético y conducen la diferenciación de la gónada primitiva hacia testículo por efecto de dosis. En el caso del sexo homogamético (XX), la inactivación del cromosoma X produce una distribución monomodal del producto del gen y la gónada se diferencia hacia ovario (60,61). Una situación análoga parece existir en ciertos insectos en los cuales la inactivación de un complemento haploide de cromosomas conduce hacia la masculinidad (60).

Región Pseudoautosómica.- El apareamiento durante la meiosis de los cromosomas X y Y en el ser humano es diferente al de los autosomas. Ocurre en forma término-terminal entre Xpter y Ypter y la sinapsis incluye el 95% de Yp y el 27% de Xp. Debido a que los cromosomas X y Y llevan un segmento homólogo de ADN en Xpter y Ypter, durante la meiosis ocurre una recombinación entre las cromátidas de ambos cromosomas (13,16). Los loci en esta región distal, cuya forma de herencia se ha sugerido igual a la de los autosomas se han denominado pseudoautosómicos (fig. 8). Algunas de estas secuencias están constituidas por ADN altamente repetitivo (16). El único gen estructural identificado en el cromosoma Y que tiene su homólogo en el cromosoma X es el antígeno de superficie MIC2, cuyos nombres para los cromosomas X y Y son MIC2X y MIC2Y respectivamente (62). Otras secuencias homólogas han si

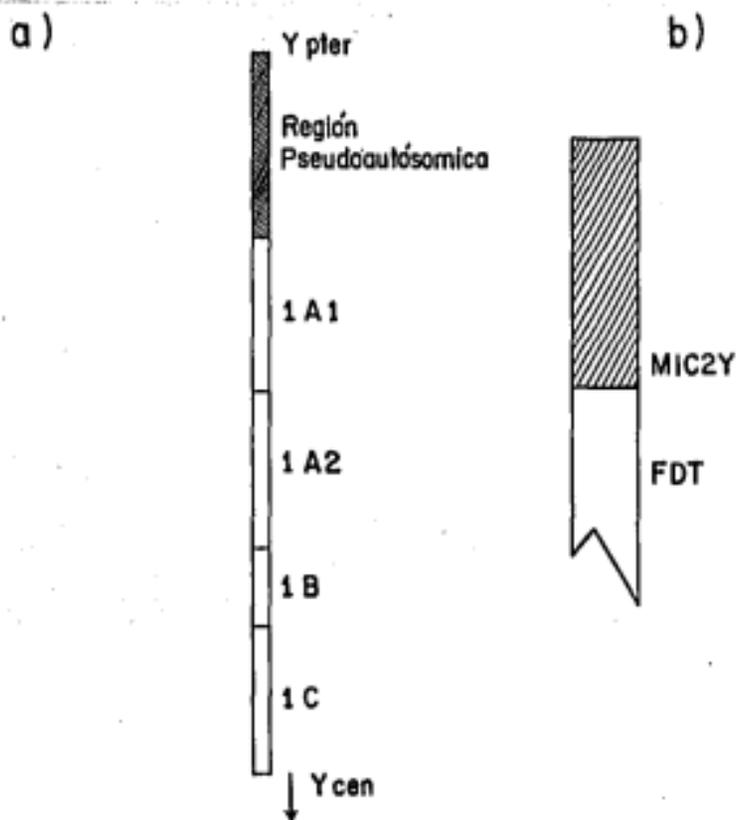


Fig. 8.- a) Región pseudoautosómica del cromosoma Y. b) Único gen estructural asignado a esta región, MIC2Y.

do identificadas en brazos largos fuera de la región de apareamiento (15), lo que apoyaría el origen de los cromosomas sexuales a partir de un par de cromosomas homólogos (5). Sin embargo, existe la posibilidad de que esta similitud haya ocurrido en una época más reciente en la filogenia de los cromosomas sexuales (14).

GENES DEL CROMOSOMA Y

Para un mejor entendimiento de la ubicación de los genes del cromosoma Y, es conveniente hacer una breve sinopsis de lo que actualmente se conoce al respecto.

La siguiente relación se refiere a la localización de los distintos genes asignados en el cromosoma Y y va de brazo corto (Ypter) a brazo largo (Yqter) (fig. 9).

En la región más distal del brazo corto se encuentran los genes pseudoautosómicos que corresponden a secuencias homólogas entre los cromosomas X y Y probablemente con un patrón de herencia semejante al de los autosomas. Algunas de estas secuencias están constituidas por ADN altamente repetitivo (16). Actualmente los únicos genes homólogos identificados en esta región de los cromosomas X y Y corresponde a MIC2X y MIC2Y que codifican para un antígeno de superficie (62). Adyacente a esta región, se encuentra el gen determinante del testículo (22). Los estigmas del síndrome de Turner --

son prevenidos por gen o genes presentes en los brazos cortos en una región más próxima al centrómero (23). En la región -- proximal de brazo largo se encuentra el gen que codifica para el antígeno H-Y, un antígeno débil de histocompatibilidad que en un inicio se consideró como responsable de la diferenciación del testículo, hecho actualmente descartado (51). Los -- pseudogenes para la sintetasa de arginino-succinato y para la actina han sido ubicados en el brazo largo del cromosoma Y -- (20). La regulación del tamaño de los dientes probablemente se debe a un gen asignado a la región Yq11 y se ha simbolizado TD (tamaño dental) y más recientemente CCY (control de crecimiento del Y) (38). Se ha sugerido la existencia de factores reguladores de la espermatogénesis en la región más distal de la eucromatina de brazos largos en la banda Yq11 y se han denominado sp-3 (tercer factor de azoospermia) o más recientemente FAZ por factor de azoospermia o factor de fertilidad (63). En esta misma banda Yq11 se ha asignado el pseudogen de la sulfatasa de esteroides (64). Es probable la existencia de uno o más genes implicados en el crecimiento localizados en la región Yq12 y simbolizados EST (estatura) (20). Algunos autores asignan además factores de crecimiento en brazos cortos (23). La región más distal del brazo largo del cromosoma Y está constituida por heterocromatina y aún cuando ha sido implicada en diversos procesos ésto no es concluyente -- (fig. 9).

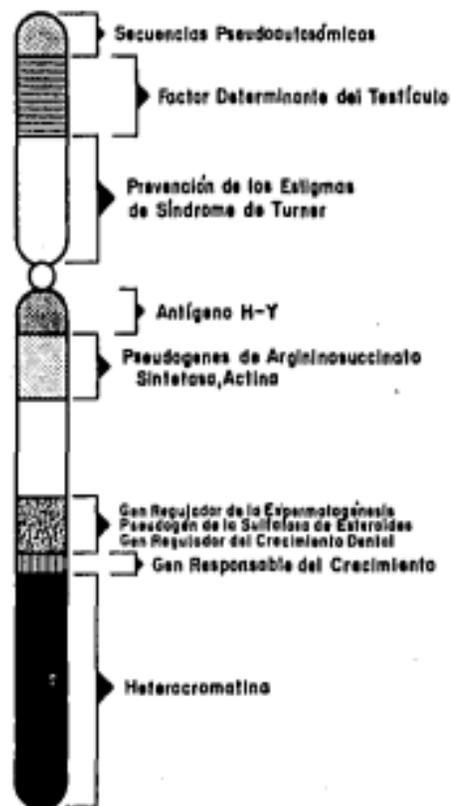


Fig. 9.- Genes asignados al cromosoma Y.

HETEROCROMATINA DEL CROMOSOMA Y

La región distal del brazo largo del cromosoma Y es compuesta por heterocromatina constitutiva, la cual se considera como genéticamente inactiva. La heterocromatina constitutiva está compuesta por secuencias de ADN altamente repetitivo (ADN satélite, ADN_s). Existen 4 tipos de ADN_s bien definidos (I, II, III y IV) y otros 4 menos definidos (A, B, C y D). En el cromosoma Y existen los cuatro tipos de ADN_s (I, II, III y IV) y el ADN_s tipo I se encuentra más en este cromosoma que en el resto del genoma (65). El análisis con ADN recombinante ha permitido identificar algunas secuencias altamente repetitivas específicas del sexo masculino, una con una longitud de 3.4 kb localizada en todo el brazo largo y la otra de 2.1 kb en la terminación distal también del brazo largo (66, 67). En la heterocromatina del cromosoma Y se ha encontrado cierta asimetría lateral, una entre la banda Yq12 y la otra entre Yq11 y Yq12, interpretadas como dos diferentes clases de ADN (68). Quizás una representa una fracción altamente repetitiva y la otra una moderadamente repetitiva, esta última intercalada con secuencias altamente repetitivas (69). La región heterocromática del cromosoma Y ha sido implicada en diversas alteraciones como favorecedora de alguna manera en la producción de aneuploidías (70), conducta agresiva (71,72), pérdida fetal (73) y se ha relacionado la longitud de esta región con la estatura (74), sin embargo, estos datos no son concluyentes.

HERENCIA HOLÁNDRICA

A la herencia que se transmite a través del cromosoma Y se le denomina Herencia Holándrica. Su modo de transmisión es muy simple, puesto que sólo los hombres reciben el cromosoma Y, cuando un varón presenta un rasgo determinado por este cromosoma, lo transmite a todos sus hijos varones y a ninguna de sus hijas (fig. 10). El único rasgo que se acepta con patrón de herencia holándrica es la hipertricosis de la pinna (75-77). Sin embargo, conviene mencionar que ciertas características autosómicas se expresan preferentemente en uno de los sexos (rasgos autosómicos ligados al sexo). Estos pueden distinguirse de los controlados por el cromosoma Y por que dependen de genes autosómicos transmitidos por ambos padres. Existen además rasgos controlados por el sexo que se expresan en ambos sexos pero que tienen diferentes patrones hereditarios en hombres y mujeres. La calvicie, que es una característica autosómica dominante en hombres, se comporta como recesiva en mujeres, que necesitan el alelo doble para que se exprese la calvicie.

TINCIÓN DEL CROMOSOMA Y

La identificación del cromosoma Y en el cariotipo se realiza mediante los métodos para bandas Q, G y C y ocasionalmente los de DAPI con distamicina y Hoescht 23,258. El mé-

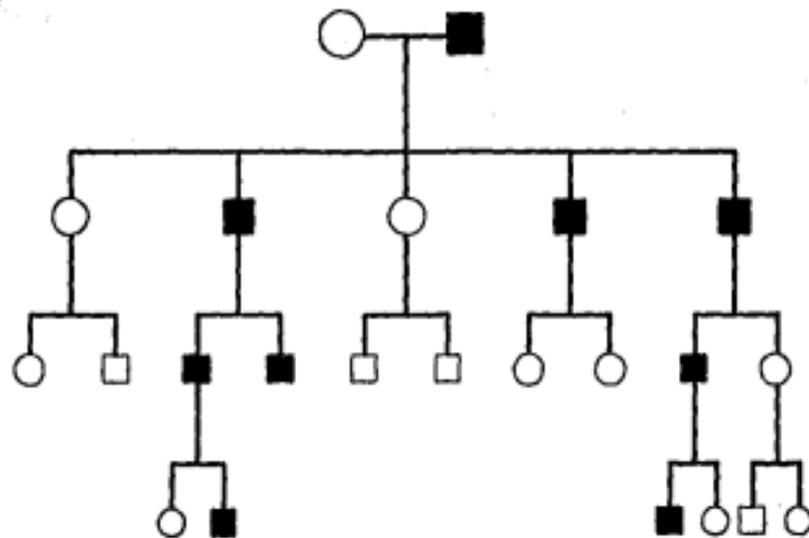


Fig. 10.- Herencia Holándrica. Nótese la transmisión únicamente del padre a los hijos varones.

todo más usado comúnmente es el que emplea colorantes fluorescentes como quinacrina (bandas Q). Con esta tinción en el cromosoma Y se puede observar un segmento fluorescente característico en la porción distal del brazo largo. Esta es la región que tinte más intensamente en el cariotipo y permite una identificación inequívoca del cromosoma Y. Con esta técnica el brazo corto y la región proximal de brazo largo muestran una fluorescencia escasa (23,78).

En forma análoga al método de bandas Q, el de bandas G tinte más intensamente la mitad distal del brazo largo del cromosoma Y. Por este método, pueden observarse dos bandas, una proximal que es generalmente más oscura y la otra distal. Con las bandas C se tinen las regiones de los cromosomas que contienen heterocromatina constitutiva, por lo que puede visualizarse la región heterocromática del cromosoma Y (79). La tinción con colorante Hoescht 23,258 tinte la región distal de Yq menos intensamente que la quinacrina (80). Con las tinciones fluorescentes DAPI y DAPI combinadas con antibióticos, pueden visualizarse también las regiones heterocromáticas de los otros cromosomas. DAPI con Distamicina A tinte Yq distal. Este método ha permitido identificar material extra de cromosomas en los casos de una posible translocación Y-autosoma (82). La técnica de bandas que se usa más frecuentemente para detectar la presencia del cromosoma Y en nuestro servicio es la de bandas C debido a su bajo costo.

MATERIAL Y METODOS

Se presentan 6 pacientes con alteraciones estructurales del cromosoma Y estudiados en el Servicio de Genética del Hospital General de la Ciudad de México SSA. La muestra comprendió 4 casos esporádicos y 2 familiares.

Los estudios consistieron en Historia Clínica, Arbol Genealógico, Laparotomía, Ultrasonografía Pélvica, Biopsia Testicular y Análisis Citogenético. La ultrasonografía, laparotomía y biopsia testicular se realizaron con métodos convencionales.

El análisis citogenético se llevó a cabo en linfocitos de sangre periférica con bandas G, C y NOR con la siguiente metodología.

Para el cariotipo en linfocitos de sangre periférica:

- 1.- Tomar sangre en condiciones estériles en jeringa heparinizada.
- 2.- Colocar 7-8 gotas de sangre en 5 ml de medio de cultivo (0.5 ml de suero de ternera fetal 10% + 4.5 de medio de cultivo de McCoy 5a + penicilina 2,000 U/ml + estreptomina 275 ug/ml + 0.2 ml de fitohemaglutinina N. Dos frascos para cada paciente.
- 3.- Incubar durante 70 h y media a 37°C. Adicionar 0.5 ml de

solución de colchicina al 0.2% (en agua destilada estéril) e incubar por 1.5-2 h a 37°C.

- 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 0.075M) a 37°C agitando el vórtex. Dejar reposar durante 20 min a 37°C.
- 6.- Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min, decantar el sobrenadante y agregar gota a gota y agitando en el vórtex 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 (4 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.
- 9.- Teñir con Giemsa durante 5 min (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8 o agua destilada). Lavar con agua corriente y dejar secar.

Método para Bandas G:

Las preparaciones cromosómicas se secan al aire y se dejan envejecer durante una semana. Se colocan las laminillas aprox.

durante 30-45 seg en solución que contiene 3 ml de solución-- de tripsina al 1% en buffer de fosfatos libre de Ca y Mg + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8 en baño maría a 37°C.

Se lavan en solución salina isotónica y posteriormente en agua corriente. Se tiñen durante 1 min en Giemsa (3 ml de --- Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8). Lavar con agua corriente y dejar secar.

Método para Bandas C:

- 1.- Colocar las laminillas en HCl 0.2 N por 15-30 min.
- 2.- Lavar con agua destilada.
- 3.- Colocar $Ba(OH)_2$ (0.065M a 35°C por 15-30 min).
- 4.- Lavar con agua destilada a 37°C.
- 5.- Colocar las laminillas en 2xSSC (8.82 g de citrato de sodio + 17.53 g de NaCl en 1000 ml de agua destilada) a 60°C por 2 h.

Método para Bandas NOR

Las bandas NOR se utilizan para detectar los satélites de los cromosomas acrocéntricos. Únicamente se tiñen las regiones que tuvieron transcripción activa (ARN ribosomal) durante la interfase anterior.

Se colocan en la superficie de la laminilla 4 gotas de solución I de plata (4g de $AgNO_3$ disueltos en 8 ml de agua desionizada) y se cubre con un cubreobjetos. Se coloca en una -- platina caliente y estabilizada a 68°C por 3-5 min, durante este tiempo el nitrato de plata cristaliza alrededor del cu--

breobjetos. Se lava la preparación con agua desionizada corriente para quitar el cubreobjetos y el nitrato de plata. Se deja secar y se adicionan dos gotas de formalina al 3% (neutralizada con cristales de acetato de amonio y envejecida por al menos tres días antes de usarla) y 2 gotas de solución II de Ag (4g de AgNO_3 disueltos en 5 ml de agua desionizada y 7.5 ml de NH_4OH) a la superficie de la laminilla cubriéndola con un cubreobjeto.

REPORTE DE CASOS

Los hallazgos clínicos de los pacientes se pueden apreciar en la tabla 1. Cada uno de los casos se describe a continuación.

Caso A.- Paciente con fenotipo masculino de 16 años de edad, acude a la consulta por criptorquidia y pene pequeño. Sin antecedentes familiares del padecimiento ni de consanguinidad. A la exploración física talla 1.40 m y nevos múltiples. Genitales con pene pequeño, testículo izquierdo pequeño en escroto, derecho criptorquídico, escroto hipoplásico y escaso vello púbico.

Caso B.- Paciente con fenotipo masculino de 6 años de edad, acude a la consulta por hipospadias fállica y criptorquidia. Sin antecedentes familiares del padecimiento ni de consanguinidad. A la exploración física talla 0.97 m, cuello cor-

to, implantación baja del cabello. Genitales con hipospadias-fálica, hipoplasia escrotal y testículo izquierdo criptorquídico.

Caso C.- Paciente con fenotipo masculino de 19 años de edad, acude a la consulta por hipospadias. Sin antecedentes familiares del padecimiento ni de consanguinidad. A la exploración física talla 1.37 m, implantación baja del cabello, cuello corto, cubitus valgus y nevos múltiples. Genitales con hipospadias perineo-escrotal y testículo escrotal izquierdo.

Caso D.- Paciente con fenotipo masculino de 27 años de edad, acude a la consulta por ambigüedad genital. Sin antecedentes familiares del padecimiento ni de consanguinidad. A la exploración física talla 1.38 m, implantación baja del cabello, cuello corto, cubitus valgus, desarrollo mamario Tanner II y nevos múltiples. Genitales con hipospadias pene-escrotal, fusión labio-escrotal incompleta, distribución de vello púbico ginecoide y testículo izquierdo pequeño en escroto.

Caso E.- Paciente con fenotipo masculino de 4 años de edad. De padres no consanguíneos. Es referido a la consulta por criptorquidia unilateral derecha. A la exploración física talla 0.90 m. Genitales con testículo izquierdo en bolsa escrotal de características normales, testículo derecho criptorquídico.

Caso F.- Paciente con fenotipo masculino de 12 años de edad, acude a la consulta por retraso psicomotor e hipospadias glandular. Sin antecedentes familiares del padecimiento. A la exploración física talla 1,68 m, facies oligofrénica, paladar alto y ojival y microretrognatia. Genitales con cicatriz quirúrgica por corrección de hipospadias glandular y testículos normales.

RESULTADOS

Mediante la realización del árbol genealógico se reconoció que de los 6 casos estudiados, 2 fueron familiares y los cuatro restantes esporádicos (figs. 11 y 12).

ESTUDIO CITOGENETICO

De los 6 casos, 4 presentaban mosaicismo con dos líneas celulares 45, X/46, XY con un cromosoma Y estructuralmente anormal (casos A, B, C y D). Los estudios cromosómicos de padres y hermanos de los pacientes A y B revelaron un cariotipo normal. No fue posible llevar a cabo estos estudios en los casos C y D. El análisis citogenético de los pacientes E y F reportó una sola línea celular 46, XY con un cromosoma Y estructuralmente anormal. En ambos casos se encontró la misma alteración cromosómica en varios varones de sus respectivas familias. En la figura 13 se muestran las alteraciones citogenéticas de estos pacientes y a continuación su línea celular.

Caso A.- El cariotipo correspondiente fue 45, X/46, X, del Y(q12), con porcentajes de 72.5% y 27.5% de cada línea celular respectivamente.

Caso B.- El cariotipo correspondiente fue 45, X/46, X, dic(Y)(pter→q12::q12→pter), con porcentajes de cada línea celular de 10% y 90% respectivamente.

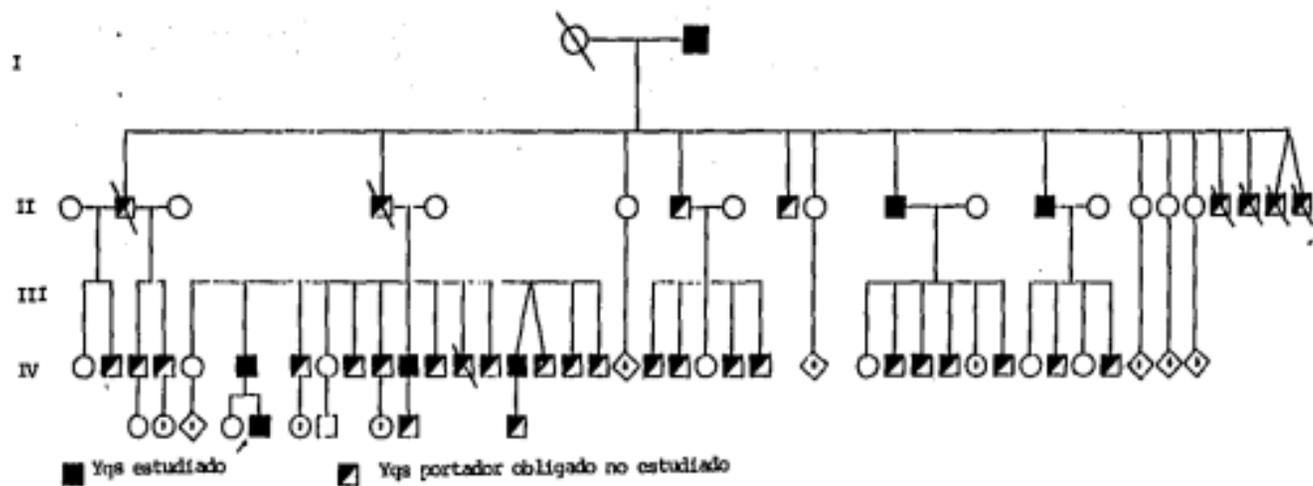
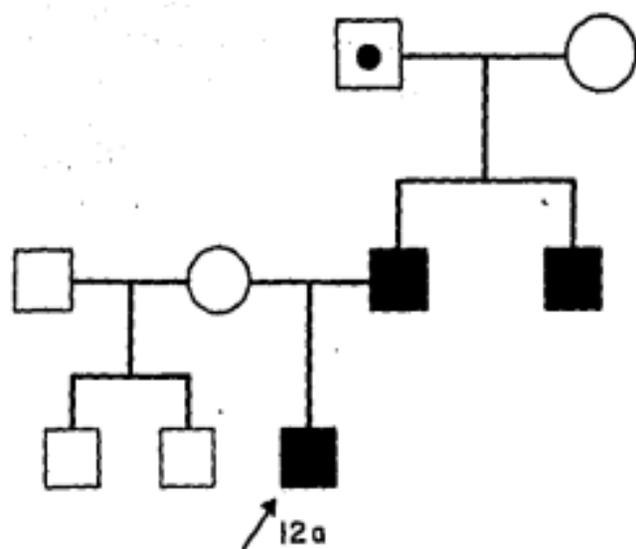


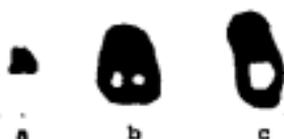
Fig. 11.- Arbol Genealógico del paciente E, mostrando la transmisión del Cromosoma Yqs a través de cuatro generaciones.



- Individuos con inv (Y)
- Portador obligado con inv (Y) no estudiado

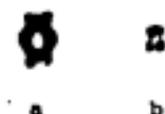
Fig. 12.- Arbol Genealógico del paciente P mostrando la transmisión la inversión del cromosoma Y a través de dos generaciones.

Caso A

a.- Y_q - del proposito.

b y c.- Y del padre y hermano que muestran la región heterocromática (bandas Q).

Caso B



a.- Cromosoma dicéntrico con tinción estándar (Y).

b.- Cromosoma Y dicéntrico con -- bandas C.

Caso C



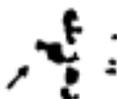
Cromosoma Y dicéntrico con bandas-C.

Caso D



Cromosoma Y dicéntrico con bandas-C.

Caso E

Cromosoma Yqs asociado a tres cromosomas acrocentricos con sus satélites (bandas NOR).

Caso F



Cromosoma Y con inversión (bandas-C).

Fig. 13.- Alteraciones citogenéticas de los casos presentados (ver texto).

Caso C.- El cariotipo correspondiente fue 45, X/46, X, dic(Y)(qter→p11.2::p11.2→qter), con porcentajes de 51% y 95% respectivamente.

Caso D.- El cariotipo correspondiente fue 45, X/46, X, dic(Y)(qter→p11.2::p11.2→qter), con porcentajes de 88% y 12% de cada línea celular respectivamente.

Caso E.- El cariotipo correspondiente fue 46, XYqs. Se estudiaron a cuatro generaciones de la familia encontrándose se la misma alteración del cromosoma Y (Yqs) en todos los varones. Todos los portadores fueron normales física y mentalmente.

Caso F.- El cariotipo correspondiente fue 46, X, inv(Y)(p11.2;q12). Se estudió al padre y a un tío paterno del propósito y en ambos se encontró la misma alteración citogenética del cromosoma Y. Los dos eran normales física y mentalmente.

LAPAROTOMIA E HISTOLOGIA

La laparotomía únicamente se realizó en los pacientes B, C y D que presentaban ambigüedad genital. Los hallazgos fueron los siguientes.

Caso A.- Testículo derecho con túbulos normales, células de Leydig inmaduras y ausencia de espermatogénesis. Testículo izquierdo con algunas espermatogonias con espermatogénesis normal.

Caso B.- Estría fibrosa en el lado derecho. Útero - trompa y tercio superior de vagina. Del lado izquierdo testículo con epidídimo y vas deferens. En el corte histológico se observaron espermatogonias y células semejantes a mesénquina.

Caso C.- Estría fibrosa en lado derecho con útero - trompa y tercio superior de vagina. Testículo en lado izquierdo con epidídimo y vas deferens. En el corte histológico el testículo mostraba algunas espermatogonias.

Caso D.- Estría fibrosa en lado derecho con útero, trompa y tercio superior de vagina. El testículo izquierdo -- con epidídimo y vas deferens y en el corte histológico. células de Leydig inmaduras con algunas espermatogonias.

Los diferentes casos presentados anteriormente varían según su línea celular. Para un mejor entendimiento, en la tabla 1 se muestran la línea celular y los genitales externos, en la 2 el tipo de gónada presente, en la 3 el desarrollo de genitales internos, en la 4 los porcentajes de cada línea celular en el caso de mosaicismo y en la 5 las características fenotípicas.

TARLA 1

LINEA CELULAR Y GENITALES EXTERNOS

CASO	LINEA CELULAR	GENITALES EXTERNOS
A	45,X/46,X del(Yq12)	Pene pequeño, escaso vello púbico, escroto hipoplásico.
B	45,X/46,X, dic(Y)(pter→q12::q12→pter)	Hipospadias fállica, hipoplasia escrotal.
C	45,X/46,X, dic(Y)(qter→p11.2::p11.2→qter)	Hipospadias perineo-escrotal.
D	45,X/46,X, dic(Y)(qter→p11.2::p11.2→qter)	Hipospadias pene-escrotal, vello púbico distribución ginecoide, fusión labio-escrotal incompleta.
E	46,XYqs	Normales.
F	46,X, inv(Y)(pter→p11.2::q12--p11.2::q12→qter)	Hipospadias glandular.

TABLA 2

TIPO DE GONADA PRESENTE

CASO	G O N A D A S	
	DERECHA	IZQUIERDA
A	Testículo criptorquídico.	Testículo escrotal pequeño.
B	Estría.	Testículo criptorquídico.
C	Estría.	Testículo escrotal.
D	Estría.	Testículo escrotal pequeño.
E	Ausente.	Testículo escrotal.
F	Testículo escrotal.	Testículo escrotal.

TABLA 3

DESARROLLO DE GENITALES INTERNOS

CASO	GENITALES INTERNOS	
	DERECHO	IZQUIERDO
A	Epidídimo y vas deferens.	Epidídimo y vas deferens.
B	Utero y tercio superior de vagina.	Epidídimo y vas deferens.
C	Utero y tercio superior de vagina.	Epidídimo y vas deferens.
D	Utero y tercio superior de vagina.	Epidídimo.
E	-----	Epidídimo y vas deferens.
F	Epidídimo y vas deferens.	Epidídimo y vas deferens.

TABLA 4

PORCENTAJES DE LINEAS CELULARES

CASO	LINEA CELULAR (1)	
	45,X	46,XY
A	72.5	27.5
B	10	90
C	5	95
D	88	12

TABLA 5

CARACTERISTICAS FENOTIPICAS

CASO	EDAD	CARIOTIPO	FENOTIPO	ESTATURA	ALTERACIONES SOMATICAS
A	16a	45,X/46,X,dcl(Yq)	Masculino	1.40m	Nevos múltiples.
B	6a	45,X/46,X,dic(Yp)	Masculino	0.97m	Cuello corto, implantación baja del cabello.
C	19a	45,X/46,X,dic(Yq)	Masculino	1.37m	Cuello corto, implantación baja del cabello, nevos -- múltiples, cubitus valgus.
D	27a	45,X/46,X,dic(Yq)	Masculino	1.38m	Cuello corto, implantación baja del cabello, nevos -- múltiples, cubitus valgus.
E	4a	46,XYqs	Masculino	0.90m	Ausentos.
F	12a	46,X,inv(Y)(p11.2;q12)	Masculino	1.68m	Retraso psicomotor, facies oligofrénica, paladar alto y ojival, microretrognatia.

DISCUSION

La diferenciación de la gónada está determinada genéticamente, sin embargo, el desarrollo sexual masculino normal requiere de la presencia de un testículo funcional y de receptores adecuados para los productos de éste (83). El desarrollo femenino se ha considerado como un proceso pasivo, es decir, la formación del fenotipo femenino no requiere de la presencia de un ovario funcional (48). En condiciones normales, la formación del testículo se realiza en presencia del cromosoma Y independientemente del número de cromosomas X presentes en el genoma, y la del ovario con la de los dos cromosomas X. Si únicamente se encuentra un cromosoma X, la gónada no se diferencia y en su lugar se forma una estría fibrosa -- (84). Esta entidad se conoce como síndrome de Turner y su descripción va más allá del contenido de este estudio.

La formación del cigoto se inicia en el momento de la fertilización mediante la unión de dos complementos de 23 cromosomas proporcionados por cada uno de los gametos (óvulo y espermatozoide). Esta fusión determina un complemento diploide de cromosomas, ya sea 46, XX para la mujer ó 46, XY para el hombre. La presencia de dos o más líneas celulares en un individuo, v.gr. 45, X/46, XY, es producto de un error en la disyunción durante las primeras mitosis celulares en el proceso de embriogénesis y se denomina mosaicismo (18). Una de las características de los cromosomas estructuralmente anormales, es la inestabilidad que presentan durante la disyun

ción. Esto condiciona su pérdida durante la anafase favoreciendo la producción de mosaicos. En el caso de los pacientes A, B, C y D, los cuales son mosaicos, la anomalía estructural del cromosoma Y le confiere inestabilidad y por tanto puede perderse fácilmente durante la disyunción, produciéndose la línea celular 45, X observada en estos pacientes. Probablemente, primero se produjo la alteración del cromosoma Y condicionando su inestabilidad y su pérdida y como consecuencia de esto la línea celular 45, X.

Los casos A, B, C y D son mosaicos con dos líneas celulares (tabla 1), el primero 45, X/46, X, delY(q12), el segundo 45, X/46, X, dic(Yp) y los dos restantes 45, X/46, X, dic(Yq). En el caso A la gónada de cada lado se diferenciaba hacia testículo con epidídimo y vas deferens, pene pequeño y escroto hipoplásico, lo que indicaría que el cromosoma Y ha mantenido las secuencias determinantes del testículo. La línea celular predominante en este caso es la 45, X (72.5%) (tabla 4), sin embargo, en este paciente se observan escasas manifestaciones de síndrome de Turner (corta estatura y nevos múltiples) lo que no nos permite establecer una correlación fenotipo-cariotipo. Podría asumirse que la ausencia de los brazos cortos del cromosoma Y, donde se encuentran los genes que previenen los estigmas de síndrome de Turner, impiden la aparición de éstos (23).

En el caso B, únicamente una gónada se diferenciaba hacia testículo, mientras la otra degeneró en estría fibrosa. Para la formación de genitales internos masculinos se requie-

re de dos sustancias producidas por el testículo, el factor inhibidor mulleriano (FIM) y la testosterona. El primero actúa en forma local e inhibe la formación de útero, trompas y tercio superior de vagina a partir de los derivados mullerianos. Es producido por las células de Sertoli y también por las células de la granulosa en el ovario. Sin embargo, en éste último su producción es menor y más tardía, cuando los derivados mullerianos son insensibles a su efecto. Esto permite en la mujer la formación de los genitales internos femeninos a pesar de la presencia del FIM (85). La testosterona actúa en forma local y sistémica y desarrolla a los derivados wolffianos del embrión en epidídimo, vas deferens y vesícula seminal. Además, actúa como prehormona para la producción de 5-dihidrotestosterona (proceso mediado por la enzima extragonadal 5-reductasa) que es la hormona más activa a nivel de genitales externos diferenciándolos hacia masculinos (48,86). La presencia de una estría en este paciente en un lado, condició no probablemente la formación de útero, trompas y tercio superior de vagina. En contraste, el testículo del lado opuesto dio lugar a la formación de ese lado de epidídimo y vas deferens. La alteración en el desarrollo de los genitales externos podría deberse a la producción deficiente de testosterona por el testículo fetal disgenético. Dado que el FDT se encuentra en la región distal de brazo corto del cromosoma Y (22), podemos asumir entonces que el cromosoma Y anormal dic(Yq), mantuvo las secuencias determinantes del testículo. La línea celular 45, X, aunque baja en porcentaje (10%) (tabla 4), condicionó la formación de la estría fibrosa y en consecuencia el desarrollo de útero, trompas y vagina.

En los casos C y D existe una similitud en el cuadro clínico, ambos tienen una estría fibrosa en el lado derecho con útero, trompas y tercio superior de vagina y testículo escrotal con vas deferens y epidídimo en el izquierdo. Los dos pacientes presentan numerosos estigmas de síndrome de Turner (tabla 5). Las diferencias clínicas consisten únicamente en que el paciente D presenta fusión labio-escrotal incompleta y un testículo de menor tamaño (tabla 3). A pesar de la similitud clínica, los porcentajes de cada línea celular presente son opuestos (tabla 4), en el caso C predomina la línea celular 46, X, dicY(q) (95%) y en el D la línea celular 45, X - 88%. Esto nos indicaría que no existe una correlación entre las líneas celulares presentes y las alteraciones somáticas observadas y que el cromosoma Y mantuvo las secuencias determinantes del testículo.

Los cuatro casos anteriores han mantenido el segmento del cromosoma Y que contiene al FDT. El caso A ha perdido la región heterocromática exclusivamente, ya que en los cortes histológicos de los testículos se aprecia espermatogénesis, lo que descartaría la pérdida de la región eucromática próxima a la heterocromatina y responsable de la espermatogénesis (40), que recientemente ha sido asignado a Yq11 (63). El caso B tiene una línea celular con un cromosoma Y dicéntrico, unido por sus brazos largos con ruptura y pérdida únicamente de la región heterocromática. El corte histológico del testículo muestra espermatogonias, sin embargo, habrá que esperar el desarrollo puberal en este paciente para descartar la pérdida del FAZ ubicado en Yq11. De manera semejante en --

los casos C y D con cromosomas Y dicéntricos unidos por sus -- brazos cortos, podemos asumir que la región del FAZ se ha mantenido.

Los casos B, C y D definen una entidad conocida como disgenesia gonadal mixta, cuya característica es presentar una estría fibrosa de un lado y un testículo disgenético del otro (87). El espectro fenotípico de estos pacientes es muy amplio, como se puede apreciar en nuestros casos y no guarda relación con la línea celular observada. El cariotipo más frecuente de esta entidad es 45, X/46, XY y en ocasiones el cromosoma Y presenta alguna alteración estructural. Es interesante mencionar, que los pacientes con cariotipo 45, X/46, XY y disgenesia gonadal tienen un riesgo muy alto de desarrollar tumores gonadales y que éste guarda una relación muy estrecha con la presencia del cromosoma Y (87). Contrariamente, cuando está presente una línea celular con un cromosoma Y estructuralmente anormal con pérdida de la región fluorescente, parecería que el riesgo de desarrollar tumores es menor (88), tal parece ser el caso de nuestros pacientes A y B en los cuales no se detectó desarrollo de neoplasias gonadales.

El caso E representa una alteración menos frecuente que las anteriores, un cromosoma Y con satélites en brazos largos producto de una translocación con un cromosoma acrocéntrico. La heterocromatina del cromosoma Y le confiere una gran variabilidad morfológica y es la región donde se presentan los polimorfismos, definidos como variaciones en la forma del cromosoma sin que representen propiamente alteración del material génico (89,90). El polimorfismo del cromosoma Y de este pacien

te no descansa en la heterocromatina sino más bien en la presencia de satélites unidos en esta región. Los satélites son característicos de los cromosomas acrocéntricos y en ellos se encuentra el ADN que codifica para casi todos los ARN ribosomales (5.8S, 18S y 28S), presentes en copias múltiples. Estos se ubican en los brazos cortos y se encargan de organizar el nucleolo, por lo que se les conoce como organizadores nucleolares (18). Esta característica hace que los cromosomas acrocéntricos se agrupen por sus brazos cortos. Ocasionalmente, el cromosoma Y puede asociarse a estos cromosomas, principalmente al 15 y al 22, quizás debido a la similitud de sus secuencias de ADN en las regiones de heterocromatina. Esto favorecería una translocación y se traduciría en la presencia de satélites en el cromosoma Y (fig. 14). Se han publicado veinte familias portadoras de un cromosoma Y con satélites. Este tipo de alteración estructural del cromosoma Y ha sido asociada a las aneuploidías favoreciendo la no disyunción, sin embargo esto no es concluyente (91-93). La única manifestación clínica observada en nuestro paciente es la criptorquidia de testículo derecho. El estudio familiar mostró la misma anomalía cromosómica (Yqs) en 4 generaciones y todos los miembros portadores eran física y mentalmente normales. Esto nos indicaría que el cromosoma Y con satélites no se traduce en trastornos en el desarrollo somático y/o sexual como ya ha sido sugerido.

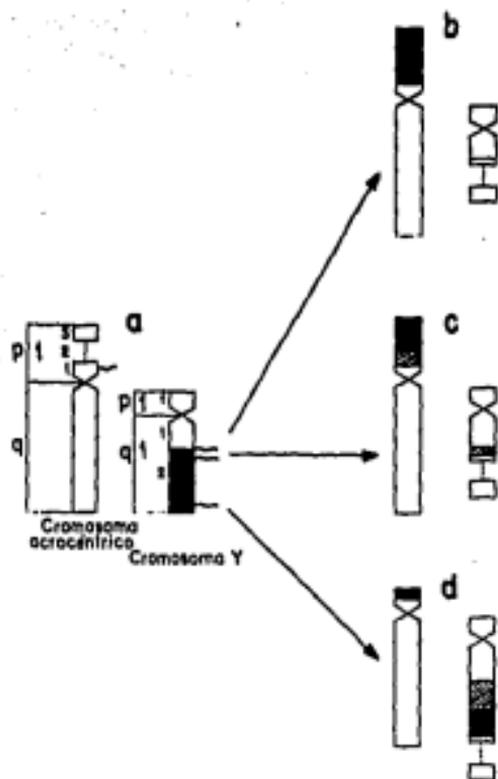


Fig. 14.- Translocación del cromosoma Y con un cromosoma acrocentrico. Las líneas onduladas marcan los posibles puntos de ruptura y las flechas a los cromosomas Y y acrocentrico resultantes como consecuencia de la translocación.

El caso F es también familiar como el anterior. La anomalía citogenética del cromosoma Y es una inversión pericéntrica, es decir, que involucra al centrómero confiriéndole éste un aspecto anormal con unos brazos cortos grandes que comparativamente se aprecian del mismo tamaño que los brazos largos. Posiblemente, la ruptura se produjo distal a los brazos cortos y en la eucromatina de los brazos largos cercana a la heterocromatina. El único trastorno en el desarrollo sexual observado en este paciente es el hipospadias glandular. Otras manifestaciones somáticas también están presentes (tabla 5) pero parecen corresponder a anomalías no relacionadas con el cromosoma Y. Esto último podemos apoyarlo en el estudio -- del padre y tío paterno del propósito en los cuales se apreció la misma alteración estructural (invY). Ambos familiares no presentaban ninguna alteración somática ni sexual, lo que nos permite postular que este tipo de anomalía estructural no se traduce en ninguna alteración en el desarrollo somático y/o sexual.

Concluyendo, podemos decir, como observamos en los pacientes A, B, C y D, que no existe relación entre el genotipo y fenotipo cuando existe una alteración estructural del -- cromosoma Y. Las regiones determinantes testiculares localizadas en el brazo corto del cromosoma Y estuvieron presentes en todos los casos y lo demuestra la presencia de testículo en todos los pacientes. Por último, el cromosoma Y con satélites, muy probablemente, no se traduce en ningún trastorno en el desarrollo somático y/o sexual, pues su presencia en 4 generaciones con todos los familiares portadores sanos desacarta su

participación en procesos patológicos. Lo mismo cabe decir de la inversión observada en dos generaciones en las cuales incluso podemos descartar que se haya producido el efecto de posición en los genes implicados en la ruptura.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Simpson. Disorders of Sexual Differentiation. Academic Press. New York, San Francisco, London. 1976.
- 2.- Fishelson L. Protogynous Sex Reversal in the Fish *Anthias Squamipinnis* (Teleostei, Anthiidae) Regulated by the Presence or absence of a Male Fish. *Nature*; 227, - 90-91. 1970.
- 3.- Yanamoto. Sex Differentiation in "Fish Physiology". Academic Press. New York. 1969.
- 4.- Chang C., Watschi E. Genetic Control and Hormonal Reversal of Sex Differentiation in *Xenopus*. *Proc Soc Exp Biol Med*; 93, 140. 1956.
- 5.- Ohno S. Sex Chromosomes and Sex Linked Genes. Vol 1. - New York. 1967.
- 6.- Bridges C. Triploid Intersex in *Drosophila Melanogaster* *Science*; 54, 252. 1921.
- 7.- Bridges C. Cytological and Genetic Basis in Sex. Allen ed. 2a ed. London 1939.
- 8.- Witschi E, Opitz J. Fundamental Aspects of Intersexuality. Oveizier ed. Academic Press, New York. 1963.
- 9.- Dobzhasky T, Schultz J. The Distribution of Sex Factor in the X-Chromosome of *Drosophila Melanogaster*. *J. Genet*; 28, 349. 1934.
- 10.- Wittwoch U. Sex Chromosomes. Academic Press. 1967.
- 11.- Becak W, Becak H, Nazareth H, Ohno S. Close Karyological Kinship Between the Reptilian Suborder Serpentes - and the Class Aves. *Chromosoma*; 15, 606-617. 1964.

- 12.- Jones K, Singh L. Conserved Repeated DNA Sequences in Vertebrate Sex Chromosomes. *Hum Gen*; 58, 46-53- 1981.
- 13.- Polani P. Pairing of X and Y Chromosomes, Non-Inactivation of X-Linked Genes, and the Maleness Factor. *Hum Gen*; 60, - 207-211. 1982.
- 14.- Page D, Harper M, Jamie L et al. Occurrence of a Transposition from the X-Chromosome Long Arm to the Y Chromosome -- Short Arm During Human Evolution. *Nature*; 311, 119-123. -- 1984.
- 15.- Cooke H, Brown W. Closely Related Sequences on Human X and Y Chromosome Outside the Pairing Region. *Nature*; 311, 259-261. 1984.
- 16.- Cooke H, William R, Rappold G. Hypervariable-Telomeric Sequences from the Human Sex Chromosomes are Pseudoautosomal. *Nature*; 317, 687-692. 1985.
- 17.- Simmler M, Rouyer F, Vergnaud G et al. Pseudoautosomal DNA Sequences in the Pairing Region of the Human Sex Chromosomes. *Nature*; 317, 692-697. 1985.
- 18.- Hartl D. Human Genetics. Harper and Row Publishers. New -- York. Copyright. 1983.
- 19.- Bartalaos H, Baramki T. Medical Cytogenetics. The Williams and Wilkins Company. Copyright. 1987.
- 20.- McKusick V. Mendelian Inheritance in man. 7th Edit. The -- Johns Hopkins University Press. Baltimore and London. 1986.
- 21.- Vergnaud G, Page D, Simmler M et al. A Deletion Map of the Human Y Chromosome Based on DNA Hybridization. *Am J Hum Ge net*; 38, 109-124. 1986.
- 22.- Page D, Mosher R, Simpson et al. The Sex Determining Region of the Human Y Chromosome Encodes a Finger Protein. -- *Cell*; 51, 1091-1104. 1987.

- 23.- Buhler E. A Synopsis of the Human Y Chromosome. *Hum Genet*; 55, 145-175. 1980.
- 24.- Tanner J, Prader A, Habich H et al. Genes on the Y Chromosome Influencing Rate of Maturation in Man, *Lancet*; 14, --144. 1959.
- 25.- Sandberg A, Ishihara T, Crosswhite L et al. XYY Genotype. *New Eng J Med*; 268, 585-589. 1963.
- 26.- Cleveland W, Arias D, Smith G. Radicular Synostosis, Behavioural Disturbance and XYY Chromosomes. *J Pediat*; 74, 103-106. 1969.
- 27.- Lonberg N, Erlendson J, Nielsen et al. Isochromosome Yq in a Woman with Atypical Turner's Syndrome. *Hum Genet*; 38, 49-55. 1977.
- 28.- Ryman N, Lindstein J, Leikans S et al. A Genetic Analysis of the Normal Body Height, Growth and Dental Development in Man. *Ann Hum Genet*; 39, 163-171. 1975.
- 29.- Nielsen J. Chromosome Constitution 47, XYY in Relation to Stature. *Humangenetik*; 24, 339. 1974.
- 30.- Jacobs R, Ross A. Structural Abnormalities of the Y Chromosome in Man. *Nature*; 210, 352-354. 1966.
- 31.- Rosenfeld R, Luzzati L, Hinte R et al. Sexual and Determinants of the Y Chromosome: Studies in a 46, XYP- Phenotypic female. *Am J Hum Genet*; 31, 458-468. 1979.
- 32.- Armendarez S, Buentello L, Salananca F et al. A Dicentric Y Chromosome without Evidence of Sex Chromosomal Mosaicism 46, XYqdic in a Patient with Features of Turner's Syndrome. *J Med Genet*; 9, 96-103. 1972.
- 33.- Telfer M, Baker D, Rollin J. Probable Long Arm Deletion of Y Chromosome in boy of Short Stature. *Lancet*; I, 608. 1973.
- 34.- Yunis E, Garcia-Conti F, Torres de Caballero O et al. Yq-Deletion, Aspermia and Short Stature. *Hum Genet*; 39, 117-122. 1977a.

- 35.- Book J, Eilon B, Halbrecht I et al. Isochromosome Y and female Phenotype. Clin Genet; 4, 410-414. 1973.
- 36.- Alvesalo L, Kab M. Sizes of Deciduous Teeth in 47, XYY Males. Am J Hum Genet; 29, 486-489. 1977.
- 37.- Alvesalo L, Osborne R, Karl M. The 47, XYY Male, Y Chromosome and Tooth Size. Am J Hum Genet; 27, 53-61. 1975.
- 38.- Alvesalo L, Porti. 47,XYY Males: Sex Chromosomes and Tooth Size. Am J Hum Genet; 32, 955-959. 1980.
- 39.- Cohen P, Bailey J, Alleman W et al. A Probable Deletion of the Y Chromosome in a Intersex Patient. Lancet; II, 294-295. 1961.
- 40.- Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of Factors Controlling Spermatogenesis in the Non-Fluorescent Portion of the Human Y Chromosome Long Arm. Hum Genet; 34, 119-124. 1976.
- 41.- Polani P, Adinolfi M. The Antigen and Its Functions: A Review and a Hypothesis. J of Immunogenetics; 10, 85-102. --- 1983.
- 42.- Simpson E. The Role of H-Y as a Minor Transplantation Antigen. Immunology Today; 3, 97-106. 1982.
- 43.- Muller U. Identification and Function of Serologically Detectable Antigen. Hum Genet; 61, 91-94. 1982.
- 44.- Muller U, Siebers J, Zenzes M et al. The Testes as a Secretory Organ for H-Y Antigen. Hum Genet; 45, 209-213. 1978b.
- 45.- Zenzes M, Muller U, Aschmonoit I et al. Studies on H-Y Antigen in Different Cell Fractions of the Testis During Pubescence. Immature Germ Cells are Antigen H-Y Negative. -- Hum Genet; 45, 297-303. 1978a.
- 46.- Wolf U. Genetics Aspects of H-Y Antigen. Hum Genet; 58, 25-28. 1981.
- 47.- Muller U. Immunological and Functional Aspects of H-Y Antigen. Hum Genet; 58, 29-33. 1981.

- 48.- Kofman-Alfaro S, Merchant-Larios H, Perez-Palacios G. Diferenciación Sexual I. Bases Biológicas del Dimorfismo Sexual. Rev Inv Clin Mex; 34, 349-359. 1982.
- 49.- Zenzes M, Reed E. Variability in Serologically Detected Male Antigen Titer and some Resulting Problems: A Critical Review. Hum Genet; 66, 103-109. 1984.
- 50.- McLaren A, Simpson E, Tomonari K et al. Male Sexual Differentiation in Mice Lacking H-Y Antigen. Nature; 312, 552-555. 1984.
- 51.- Simpson E, Chandler P, Goulmy E et al. Separation of the Genetic Loci for the H-Y Antigen and for Testis Determination on Human Y Chromosome- Nature; 326, 876-878. 1987.
- 52.- McLaren A. Sex Determination in Mammals. TIG; 4, 153-157. - 1988.
- 53.- Burgoyne P, Levy E, McLaren A. Spermatogenic Failure in Male Mice Lacking H-Y Antigen. Nature; 320, 170-172. 1986.
- 54.- Erickson R, Bevilacqua A, Ross et al. Do Bkm Sequences Play a Role in Human Sex Determination?. Edit Florence P et al, Plenum Publishing Corporation, 149-159. 1987.
- 55.- Singh L, Jones K. Sex Reversal in the Mouse (Mus Musculus)- is Caused by Recurrent Nonreciprocal Crossover Involving -- the X and an Aberrant Y Chromosome. Cell; 28, 205-216. 1982.
- 56.- Kiel-Metzger K, Gwynedo W, Golder N et al. Evidence that -- the Human Y Chromosome Does not Contain Clustered DNA Sequences (Bkm) Associated with Heterogametic Sex Determination in Other Vertebrates. New Eng J Med; 313, 242-245. 1985.
- 57.- Evans E, Burtenshaw M. Meiotic Crossing-over between the X- and Y Chromosomes of Male Mice Carrying the Sex-Reversing - (Sxr) Factor. Nature; 300, 443-445. 1982.

- 58.- Hodgkin J. Everything You Always Wanted to Know About Sex. *Nature*; 331, 300-301. 1988.
- 59.- Editorial. The Y Chromosome and Sex Determination. *Lancet*; April 30, 97-98. 1988.
- 60.- Chandra S. Is Human X Chromosome Inactivation a Sex Determining Device?. *Proc Natl Acad Sci USA*; 82, 6947-6949. 1985.
- 61.- German J. Gonadal Dimorphism Explained as a Dosage Effect of a Locus on the Sex Chromosomes, the Gonadal Differentiation Locus (GDL). *Am J Hum Genet*; 42, 414-421. 1988.
- 62.- Buckle V, Mondello C, Darling I et al. Homologous Expressed Genes in the Human Sex Chromosome. *Nature*; 317, 739-741. - 1985.
- 63.- Andersson M, Page D, Pettaty O et al. Y Autosome Translocations and Mosaicism in the Aetiology of 45, X Maleness, Assignment of Fertility Factor to Distal Yq11. *Hum Genet*; - 79, 2-7. 1988.
- 64.- Fraser N, Ballabio A, Zollo M et al. Identification of Incomplete Coding Sequences for Steroid Sulphatase on the Human Y Chromosome: Evidence for an Ancestral Pseudoautosomal Gene?. *Development*; 101, suppl, 127-132. 1987.
- 65.- Angell R, Jacobs P. Lateral Asymmetry in Human Constitutive Heterocromatin. *Chromosoma*; 51, 301-310. 1975.
- 66.- Cooke H. Repeated Sequences Specific to Human Males. *Nature*; 262, 182-186. 1976.
- 67.- McKay R, Bobrow M, Cooke H. The Identification of a Repeated DNA Sequence involved in the Karyotype Polymorphism of the Human Y Chromosome. *Cytogenet Cell Genet*; 21, 19-32 1978.

- 68.- Limon J, Gibas Z, Kaluzewski B et al. Demonstration of lateral Asymmetry in Human Y Chromosomes. *Hum Genet*; 51, 247-252. 1979.
- 69.- Kunkell L, Smith K, Boyer S. Human Organization and Heterogeneity of Sequences without a Repeating Unit of Human-Y Chromosome Desoxyribonucleic acid. *Biochemistry*; 18, -3343-3353. 1979.
- 70.- Babu A, Verma R. Chromosome Structure: Euchromatin and Heterochromatin. *Inter Rev Cytol*; 108, 1-60. 1987.
- 71.- Soudek D, Laraya P. Longer Y Chromosome in Criminals. -- *Clin Genet*; 6, 225-229. 1974.
- 72.- Benezech M, Noel B, Travers E et al. Conduite Antisociale et Longuer Du Chromosome Y. *Hum Genet*; 32, 77. 1976.
- 73.- Patil S, Lubs H. A Possible Association of Long Y Chromosomes and Fetal Loss. *Hum Genet*; 69, 125-128. 1977.
- 74.- Yamada K, Ohta M, Yoshimura et al. A Possible Association of Y Chromosome Heterochromatin with Stature. *Hum Genet*; -58, 268. 1981.
- 75.- Dronanraju K. Hypertrichosis of the Pinna of the Human -- ear Y-Linked Pedigrees. *J Genet*; 57, 230. 1960.
- 76.- Sarkar S, Banerjee A, Bhattacharjee P et al. Contribution to the Genetics of Hypertrichosis of the Ears Rims. *Am J-Hum Genet*; 13, 214. 1961.
- 77.- Gates R, Chakravarti M, Mukherjee D. Final Pedigree of Y Chromosome Inheritance. *Am J Hum Genet*; 14, 363. 1962.
- 78.- Schwarzbach R, Wolf U. *Methods in Human Cytogenetics*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York. 1974.
- 79.- Arrighi F, Hsu T. Localization of Heterochromatin in Human Chromosomes. *Cytogenet*; 10, 81-86. 1971.

- 80.- Jalal S, Clark R, Pathak C. Cytological Differentiation of Constitutive Heterochromatin. *Chromosoma*; 48, 391-403. -- 1961.
- 81.- Schweizer D, Ambros P, Andrie M. Modification of DAPI Banding on Human Chromosomes by Prestaining with a DNA binding Oligopeptide Antibiotic Distamycin A. *Exp Cell Res*, - III, 327-332. 1978.
- 82.- Spowart G. Reassessment of Presumed Y-22 and Y-15 Translocation in Man Using a New Technique. *Cytogenet. Cell Genet*; 23, 90-94. 1979.
- 83.- Griffin J, Wilson J. The Syndromes of Androgen Resistance. *N Engl J Med*; 302, 198. 1980.
- 84.- Epstein C. The Chromosomes of Chromosome Imbalance. *Developmental and Cell Biology Series Ed. Cambridge University Press*. 1986.
- 85.- Josso N. Antimullerian Hormone. New Perspectives for a Sexist Molecula. *Endocrine Reviews*; 7, 421-433. 1986.
- 86.- Gamong W. *Fisiología Médica. Edit Manual Moderno*. 1986.
- 87.- Kofman-Alfaro S, Mutchinick O, Valdes E et al. Diferenciación Sexual. *Rev Inv Clin Mex*; 36, 53-70. 1984.
- 88.- Madan K, Gooren L, Schoemaker J. Three cases of Sex Chromosome mosaicism with non Fluorescent Y. *Hum Genet*; 46, 295-304. 1979.
- 89.- Bishop A, Blank C, Hunter H. Heritable Variation in the Human Y Chromosome. *Lancet*; 2, 18. 1962.
- 90.- Ballesta F, Serra N. Chromosomal Polymorphism, Frequency and Clinical Manifestations. *Clin Genet*; 10, 349. 1976.
- 91.- Schmid M, Haaf T, Solleder E et al. Satellited Y Chromosomes: Structure, Origin and Clinical Significance. *Hum Genet*; 67, 72-85. 1984.

- 92.- Lucas M, Perez C, Abrisqueta J. Origin and Structure of a Satellited Y Chromosome. *Ann of Genet*; 27, 184-186. 1984.
- 93.- Genest P. An Eleven-Generation Satellited Y Chromosome. - *Lancet*; I, 1073. 1972.