

11237
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

División de Estudios Superiores



I.S.S.S.T.E.
H. G. "DR. GONZALO CASTAÑEDA"
SECRETARIA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION
REGISTRO DE CONSTANCIAS Y
RECONOCIMIENTOS
LIBRO NUM. 02 HOJA 64
FOLIO NUM. 02
FECHA DE EXPEDICION 25/11/96
LUGAR DE EXPEDICION

Hospital "Dr. Gonzalo Castañeda"

ISSSTE

"SEXOCROMATINA EN EL RECIEN NACIDO"

ESTUDIO PROSPECTIVO

TESIS DE POSGRADO EN PEDIATRIA MEDICA

Drn. Ma. Dolores Gutiérrez Mares

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1996



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 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.

A MIS PADRES:

GILBERTO Y JUSTINA, PERSONAS QUE CON SU SABIDURIA SEMBRARON EN MI LAS SEMILLAS DEL SABER Y DEL DEBER Y CON SU BRILLANTE EJEMPLO ME INVITARON A SEGUIR POR EL DIFICIL CAMINO DE LA HONESTIDAD.

GRACIAS A ELLOS; SE HACER, DEBO HACER E INTENTO SER HONESTA.

A MI ESPOSO E HIJAS:

JESUS, CARMELITA Y DIANA.

A MI MAESTRO Y ASESOR:

DR. ROMAN RUIZ ARCOS.

A MI GRAN AMIGA:

DRA. ELOISA LOREDO CASTAÑEDA.

INDICE:

1.Introducción.

2.Historia.

3.Objetivos.

4.Material y Métodos.

5.Resultados.

6.Descripción de un caso de Síndrome de Turner encontrado durante el estudio.

7.Comentario.

8.Bibliografía.

1. SEXOCROMATINA EN EL RECIEN NACIDO

1.- INTRODUCCION:

La determinación del sexo en forma práctica se fundamenta en la simple observación de los genitales del paciente en el momento del nacimiento, sin embargo, en ocasiones existen problemas para su identificación por la presencia de órganos genitales ambiguos, siendo en estos casos necesario recurrir a estudios especiales en los laboratorios de genética y pruebas especiales hormonales, que nos ayudan a determinar la etiología de la ambigüedad sexual, que pueden ser alteraciones genéticas ó cromosómicas. En el estudio del sexo pueden haber otras orientaciones ó modalidades como pudieran ser aspectos legales, sociales, psicológicos, etc.

Existe un tipo de pacientes con problema de intersexo no detectables clínicamente, como son aquellos que presentan alteraciones en los sexocromosomas y en los cuales es extraordinariamente difícil establecer un diagnóstico por no tener alteraciones evidentes en los genitales y por lo general son detectados en edades pediátricas tardías ó en la etapa adulta con las consecuencias fáciles de imaginar en la vida de éstos sujetos.

En la actualidad contamos con técnicas sencillas, confiables y realizables por personal que requiere de adiestramiento mínimo; a un costo muy bajo y que se pueden establecer como rutina en los servicios de cunero, cambiando el panorama de éstos pacientes por el establecimiento de un diagnóstico temprano.

El motivo de éste trabajo es la difusión de la técnica a realizar, su promoción para que sea instituida como rutina en todos los servicios de recién nacido o cuando menos

en los casos dudosos de sexo y demostrar su utilidad en la detección temprana de alteraciones en los sexocromosomas.

DRA. MARIA DOLORES GUTIERREZ MARES.

2.- HISTORIA:

El satélite nucleolar o sexocromatina fue descubierto en 1948 en el departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Western Ontario en Canadá.

En mayo de 1948 fue hecho el primer reporte formal de sexocromatina por el Dr. Murray L. Barr, de origen canadiense y fue en la Revista anual de la Sociedad Royal del Canadá; publicándose hasta el 30 de abril de 1949 en la Revista Nature de London. Así fue como sucedió el hecho histórico que iniciaría la etapa del escrutinio sexual en forma sencilla (4), cuando el Dr. Barr puso de manifiesto la presencia del dimorfismo sexual a nivel celular, al descubrir la presencia de un corpúsculo marginal en el núcleo de células epiteliales de origen femenino, no observándose en los machos, la primera observación fue hecha en las células nerviosas del gato hembra (2), éste corpúsculo corresponde a uno de los cromosomas X, que ha sido inactivado durante el desarrollo embrionario y subsiste permanentemente en estado no funcional, como una masa condensada de un micrómetro de diámetro, que se tiñe intensamente durante la interfase y se identifica fácilmente en células de descamación, de mucosa bucal, mucosa vaginal y orina; las técnicas utilizadas para la preparación de las muestras son múltiples, encontrándose entre las más frecuentes: la del Papanicolau, reactivo de Feulgen, hematoxilina y eosína, así como el colorante de ocreína acética en caliente a 60 grados centígrados (11, 18).

En la técnica inicial Barr utilizaba como colorante básico la violeta (2), en 1956 Eskelund modifica la técnica al efectuar la tinción a base de carbofucsina; observando acortamiento del proceso y mayor durabilidad de la muestra (9), en 1964 se demostró la utilidad de la toma de sexocromatina en el recién nacido, para detección temprana de

anormalidades en los sexocromosomas (17, 25, 27). En 1965 Barr describe la técnica con carbofucsina que continúa vigente (4).

Cassperson con el advenimiento de los agentes alquilantes en 1968 demostró que ciertos locus de cromosomas se combinan perfectamente con la quinacrina, lo que se manifiesta por la fluorescencia del cromosoma Y de las preparaciones teñidas en metafase (7, 11).

En la actualidad se puede cuantificar tanto la sexocromatina X o corpúsculo de Barr como la sexocromatina Y o corpúsculo F.

En los servicios de genética se ha utilizado con mayor frecuencia la toma de la muestra de la mucosa bucal, pero es muy importante conocer que puede ser efectuada en múltiples tejidos incluyendo sangre, pelo, dientes, líquido amniótico, saliva, orina, fibroblastos, células epiteliales y endometriales. En medicina forense es de gran utilidad poder cuantificar tanto la sexocromatina X como la sexocromatina Y, en éste tipo de materiales y tejidos ya que el pelo puede analizarse hasta 150 días después de haber sido arrancado, en la pulpa dental 5 semanas después de haber sido interrumpido el riego sanguíneo (11).

Debemos tener presente que además del cromosoma Y fluorescen el cromosoma tres y el trece de las preparaciones en metafase de los leucocitos, en cuyas preparaciones es poco confiable la interpretación, la presencia del cromosoma Y disminuye de 80-90% en fibroblastos; 70 % en células de la mucosa bucal y menos de un 50% en leucocitos, además la cuantificación del cromosoma Y requiere para la preparación, interpretación y aumentar el grado de confiabilidad de la muestra de un equipo más costoso y personal altamente calificado (11,18,22).

El criterio de positividad para la cuantificación de la sexocromatina X requiere que mas del 15% de los núcleos celulares presenten el cuerpo de Barr en el estudio en la mucosa bucal y 15 % en las células de vagina y vejiga.

3.-OBJETIVOS:

- 1.- Demostrar la efectividad de la técnica a efectuar.
- 2.- Detectar anomalías de los sexocromosomas al nacimiento.
- 3.- Determinar etiología de la ambigüedad sexual al descartar anomalías en los sexocromosomas.
- 4.- Instituir en los servicios de cunero del Hospital "Gonzalo Castañeda" la toma de sexocromatina con ésta técnica a todo recién nacido.

4.- MATERIAL Y METODOS:

Se procederá a sexar a 1,000 recién nacidos de los diferentes servicios de cunero del Hospital "Gonzalo Castañeda".

La técnica a Utilizar llevará como colorante básico a la fucsina.

Se analizará: Sexo aparente al nacimiento, edad de la madre, semanas de gestación, número de gestaciones, antecedentes de alteraciones en otros productos, administración de hormonales durante la gestación, alteraciones clínicas y días de vida extrauterina en el momento de la toma.

MATERIAL:

Un microscopio de luz.

Aceite de inmersión.

Laminillas.

Lápiz con punta de diamante.

Diez frascos de Coplin

Alcohol éter y etanol absoluto a partes iguales.

Ac Clorhídrico.

Etanol absoluto.

Alcohol de 70 grados.

Alcohol de 96 grados.

Agua destilada.

Fucsina básica 3 grms. alcohol etílico 100 ml.

Alcohol Xylol.

Xylol.

TECNICA:

Se frota un carrillo con un abatelengüa de madera esterilizado, la muestra de la mucosa bucal se extiende sobre una laminilla desengrasada (las laminillas hasta la toma de la muestra, deben permanecer en etanol absoluto), la laminilla debe llevar el número de registro del paciente anotando (d) para la muestra derecha e (i) para la muestra izquierda, por lo tanto se efectúan dos laminillas por paciente.

Posteriormente se procede a la tinción de la muestra:
Colocar la laminilla inmediatamente después de la toma en un frasco de coplin en el orden siguiente:

Alcohol éter para fijar	5'- 24 hrs.
Alcohol do 70 Grados	3'
Agua destilada	5'
Ac. clorhídrico	5'
Agua destilada	5'
Sol. de fucsina básica	5'

Deshidratar pasando la laminilla por cada frasco solamente dos segundos.

Alcohol de 96 grados.

etanol absoluto.

Alcohol Xylol.

Xylol. 2'-24 hrs.

LECTURA AL MICROSCOPIO:

Se coloca la laminilla en el microscopio, en uno de los extremos de la laminilla se le pone una gota de aceite de inmersión, en el objetivo 40 se visualiza el material, posteriormente se cambia al objetivo 100, en cada laminilla debe localizarse un mínimo de 100 células en las cuáles de un 6-15% se encontrarán el corpúsculo en las mujeres y hasta un 2% en los hombres.

El criterio de positividad en los frotis de la mucosa bucal requiere de un 6-15%, recordando que se observa como un corpúsculo fuertemente teñido y que se encuentra adosado a la periferia de el núcleo de las células en interfase (3, 11, 16, 18).

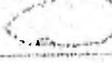
Antes de la lectura al microscopio es muy importante el conocimiento del sexo fenotípicamente; para lo cual es de mucha utilidad el cuadro número 1, que nos señala las posibles alteraciones relacionando la sexocromatina, el fenotipo y el cariotipo. Desde luego la sexocromatina solamente nos dicta el paso a seguir al encontrar alguna alteración (8,16,19).

El tamaño del cuerpo de Barr se haya alterado en los individuos que presentan una alteración estructural del cromosoma X, tal como delección, anillo o isocromosoma X.

El cromosoma X anormal siempre forma cromatina sexual y la presencia de cuerpos de Barr en extremo grandes o pequeños en el frotis puede indicar una variante estructural del cromosoma X, por eso es muy importante medir el corpúsculo (11).

CUADRO NUMERO 1

CORRELACION ENTRE SEXOCROMATINA Y COMPLEJOS CROMOSOMICOS

SEXOCROMATINA	FENOTIPO	CARIOTIPO	INTERPRETACION
	Masculino	46 XY	Hombre normal
	Masculino	47 XXY	S. de Klinefelter
	Femenino	46 XX	Mujer normal
	Femenino	46 XXX	Isocromosoma X
	Femenino	46 XY	Isocromosoma Y
	Femenino	45 XO	S. de Turner
	Femenino	47 XXX	Super hembra
	Masculino	47 XYY	Hombre YY
	Femenino	48 XXXX	S. de tetra X
	Masculino	49 XOYY	Hombre con retraso mental importante.

5.- RESULTADOS:

Se tomó sexocromatina a 1,000 recién nacidos, se utilizó la técnica antes descrita; el total de recién nacidos fue el siguiente:

FENOTIPO	# DE CASOS	TOTAL
FEMENINO	550	
MASCULINO	450	
		1,000

El mayor número de muestras fue tomada a recién nacidos de 38-40 semanas de gestación; no observando variabilidad ni dificultad para la interpretación de las muestras en lo que respecta a las semanas de gestación.

SEMANAS DE GESTACIÓN	# DE CASOS
32 - 33	35
34 - 35	78
36 - 37	19
38 - 40	846
40 - 42	22
TOTAL	1,000

La edad materna no fue determinante, no se presentaron variantes en las muestras:

EDAD MATERNA	# DE CASOS
16 - 25	335
26 - 35	440
36 - 45	225
TOTAL	1,000

Entre las pacientes sexadas al nacimiento, se tomaron 12 muestras a recién nacidos de embarazo gemelar, tanto univitelinos como bivitelinos. En éste grupo de pacientes fue donde se detectó el Síndrome de Turner, producto de embarazo gemelar Bivitelino.

EMBARAZO GEMELAR	6
EMBARAZO UNICO	994
TOTAL	1,000

El número de gestaciones no tuvo relevancia en la interpretación:

# DE GESTACION	# DE CASOS
1	305
2	210
3	116
4	128
5	81
6	103
7	10
8	17
9	9
10	21
TOTAL	1,000

Todas las pacientes habían procreado en embarazos anteriores productos sanos, no se encontraron antecedentes de mortinatos, ni de problemas de intersexo, solamente se detectaron antecedentes de aborto sobre todo en pacientes muy jóvenes.

En lo que respecta a los medicamentos suministrados durante el embarazo encontramos mayor ingesta de vitamínicos hasta un 22.3 %, un 1.7 % se administró

estrógenos y progesterona tanto inyectables como orales, ya que ignoraban si estaban o no embarazadas.

En éste grupo de pacientes se encontraron 2 casos con alteraciones en los genitales externos; ambos productos se les tomó sexocromatina con resultados positivos, el cariotipo fue de 46 XX en ambos.

# DE CASO	37	648
# DE EXP.	49 06 08/8	53 07 31/8
ALTERACIONES CLINICAS	Escrotalización e hiperpigmentación de labios mayores	Clitoris prominente y escrotalización de labios mayores
FENOTIPO	Femenino	Femenino
SEMANAS DE GESTACION	39.4	40.2
SEXOCROMATINA	Positiva	Positiva
CARIOTIPO	46 XX	46 XX
EDAD DE LA MADRE	32	28

Tanto la rectificación de la sexocromatina como el cariotipo fueron enviados para ser procesados en el servicio de Genética del Centro Hospitalario "20 de Noviembre". Ambos pacientes se catalogaron como femeninos y actualmente a los 6 meses de edad las alteraciones progresan a la normalidad.

En éste tipo de pacientes es de suma importancia determinar la etiología de la ambigüedad, ya que se puede estar ante un caso de hiperplasia suprarrenal congénita, lo que pone en peligro la vida del paciente.

Las hembras portadoras de los defectos en la 3 β y 17 α hidroxilasa son las más afectadas, presentando mayor virilización; existen otras alteraciones metabólicas con menor virilización y mayores trastornos endócrinos, entre los que se encuentran: bloqueo de C - 20 con hiperplasia lipoidea de las suprarrenales e insuficiencia generalizada de hormonas esteroideas; déficit de 3 β hidroxisteroide deshidrogenasa y defecto en la hidroxilación de C - 18.

En las pruebas hormonales el exceso de 17 cesteroides en presencia de títulos normales o bajos de 17 hidroxicorticoides tiene valor de diagnóstico: durante las 3 primeras semanas de vida extrauterina, la excreción se considera normal hasta un 2.5 mgs/24 hrs., se encuentra además hiperpotasemia, acidosis e hiposodemia. El tratamiento es a base de cortisona y crianza de acuerdo al sexo.

La exposición a androgenos a través de medicamentos tomados por la madre, como los progestágenos 19 - norderivados puede producir masculinización del recién nacido, no así la administración de progesterona pura.

El día de vida extrauterina en el que fue realizada la toma de la muestra si tuvo importancia, ya que existía gran variabilidad de acuerdo al día en que se efectuaba la toma de material; así encontramos que al tomar la muestra en el tercer día de vida extrauterina el material obtenido era mayor y la lectura microscópica se facilitaba, debido a que el cuerpo cromatínico se teñía más intensamente, y el número de núcleos observado era mayor, lógicamente si la muestra se tomaba en el 1o o 2o día de vida extrauterina observamos que el material obtenido era menor lo que dificultaba la localización y cuantificación del corpúsculo, debido además que éste se teñía débilmente. Por esto decidimos tomar la mayoría de las muestras hacia el 3er día de vida extrauterina, lo que nos facilitó su interpretación, ahorrando tiempo al cualificar el corpúsculo.

6.-DESCRIPCION DE UN CASO DE SÍNDROME DE TURNER ENCONTRADO DURANTE EL ESTUDIO.

En 1938 Turner describió 7 enfermas con infantilismo sexual cubitus valgus, membrana cervical, amenorrea primaria, esterilidad, ausencia del desarrollo de caracteres sexuales secundarios y ovarios rudimentarios constituidos por bandas de tejido fibroso denso o solamente estroma ovárico sin folículos primordiales o en desarrollo.

En 1940 Albright y colaboradores comprobaron que la secreción de gonadotropinas urinarias se hallaba aumentada en adolescente y adultas afectadas con este síndrome.

En 1950 Wilkins emitió la hipótesis de que estas pacientes funcionalmente agonádicas pudieran ser genéticamente varones sin embargo, en 1959 Ford y colaboradores comunicaron que la constitución cromosómica sexual era de 45 XO.

La monosomía cromosómica sexual parcial puede atribuirse a un cromosoma sexual estructuralmente anómalo; a un mosaicismo cromosómico que incluye una línea XO o a ambos.

La frecuencia es de un caso por cada 2,500 hembras recién nacidas y se describe que mas del 95% de todas las concepciones con patrón cromosómico XO son abortadas y que el 40% de los abortos de la población general son monosomías XO.

La relación Turner-Mosaico es de un 25%.

En los gemelos monocigóticos se han descrito varias combinaciones XO- XX y

XO-XY.

Turpin describió un caso de gemelos monocigóticos, uno de los cuales presentaba disgenesia gonadal con fenotipo femenino y cariotipo XO, el otro un varón normal con cariotipo 46XY.

Los casos típicos de Turner presentan: micrognatia variable, epicanto, pabellones auriculares de implantación baja, boca de pez, ptosis parpebral, cuello corto y ancho, línea de implantación del cabello baja, tórax en forma de escudo con separación ostensible de los pezones. El cuello alado o pterigión colli se asocia en un 40% a la más frecuente de las anomalías cardiovasculares que es la coartación de la aorta.

Se han descrito varios tipos de cardiopatías asociadas al Turner, entre las más frecuentemente encontradas además de la anteriormente mencionada se encuentran en orden de frecuencia: comunicación interventricular, comunicación interauricular, persistencia del conducto arterioso, estenosis de la aorta; estas se han encontrado tanto aisladamente como en asociación de unas con otras. Las alteraciones a nivel renal se han encontrado hasta en un 60% de los casos, el riñón en herradura y los ureteros dobles se encuentran en uno de cada 4 casos, cubitus valgus 40%, linfedema congénito de pies y manos en un 30%, paladar ojival 20%, diversas alteraciones esqueléticas en las que destaca el signo de los metacarpianos (4o y 5o metacarpianos cortos), gran número de nevos pigmentados, hipertensión de etiología desconocida en un 15%, triradio axial distal en 20-30%, cuentas de crestas más alta que el promedio, aumento en la incidencia de retraso mental, en menor grado que el síndrome de Klinefelter con patrón cromosómico de 47XXY, se ha descrito que ha mayor número de cromosomas X es mayor el grado de retraso mental.

HISTORIA CLINICA.

FICHA DE IDENTIFICACION

NOMBRE.- M.F.L.

EDAD.- RECIÉN NACIDO

SEXO.- FEMENINO

NUMERO DE EXPEDIENTE.- 55-05-21/8

ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES.

Abuelo paterno finado de diabetes m. Padre de 32 años sano, madre de 26 años sana, dos hermanos de 2 y 3 años sanos.

ANTECEDENTES PERINATALES.

Producto del 3er embarazo, antecedente de 2 cesáreas por desproporción cefalopélvica.

Cursa con amenaza de aborto a las 20 semanas de gestación, manejada a base de terbutalina y reposo, niega la madre otra ingesta medicamentosa, a las 23 semanas de gestación por medio ultrasonografía se diagnostica embarazo gemelar, presenta ruptura de membranas espontánea a las 37 semanas de gestación e inicia trabajo de parto, las características del líquido amniótico eran meconiales calculándose aproximadamente 6,000 ml. Por el sufrimiento fetal y el antecedente de 2 cesáreas previas se decide la interrupción del embarazo por vía abdominal bajo bloqueo peridural.

Se recibe 1er gemelo con somatometría de:

Talla.- 45 cm.

Peso.- 2,600.

Pc.- 34.

Pt.- 33.

Pa.- 30.

Presenta cianosis generalizada, no llora ni respira espontáneamente, presenta características clínicas caracterizadas por: cuello alado (fig. No.1), linfedema de pies y manos y microcefalia (fig. No. 2). Se procede a las maniobras habituales de reanimación y toma de productos, no se obtiene respuesta y fallece a los 15 min. De vida.

La autopsia reveló alteraciones importantes a nivel de corazón (fig. No. 3), consistentes en: comunicación interventricular (fig. No. 4), comunicación interauricular (fig. No. 5), coartación de la aorta (fig. No. 6), persistencia de conducto arterioso (fig. No. 7); en el aparato genital se encontró: vagina doble (fig. No. 8), útero bicorne (fig. No. 9), ovarios en banda (fig. No. 10); en todos los demás órganos anormales características de inmadurez.

El examen microscópico de las gónadas reveló: estroma fibroso con escasas y pequeñas estructuras que semejaban folículos pero sin ovogonias.

El estudio cromatínico fue negativo y el cariotipo de sangre periférica fue con patrón 45XO (fig. No 11).

El estudio cromatínico de su gemela fue positivo con cariotipo 46XX.

COMENTARIO

Para sexar un recién nacido, nada tan fácil y tan frecuente como la simple observación de sus genitales, la posibilidad de equivocaciones es muy remota. Sin embargo en los seres humanos debemos tener en cuenta que existen estados intersexuales con alteraciones gonadales poco evidentes y algunos de ellos sin ninguna alteración en sus genitales externos, que se traduce generalmente en otras etapas de la vida en problemas de intersexo, y que conllevan siempre a problemas muy serios que involucran no solo a la persona en si sino que repercuten de manera profunda en su familia y en el ambiente social donde se desarrollan estos individuos, apareciendo desde la simple duda del sexo como en los casos de pseudohermafroditismo o problemas tan graves como los síndromes feminizantes o masculinizantes o bien los estados intersexuales psicológicos como son el homosexualismo, transexualismo y transvestismo.

Es por lo que acogemos con gran interés el mensaje fundamental de esta tesis; y que es el de introducir de manera rutinaria en los cuneros el estudio de la sexocromatina, estudio económico, sencillo y de fácil realización por personal que requiere de un simple adiestramiento.

Este estudio podría equipararse con el realizado para descubrir las fenilcetonurias en algunos hospitales o también realizarse por lo menos en aquellos recién nacidos que muestren alteraciones en sus genitales. Dando a estos individuos la posibilidad de un tratamiento temprano que resuelva su problemática y ofrecerles la posibilidad de una vida normal.

Fig. No.1



Fig. No.2

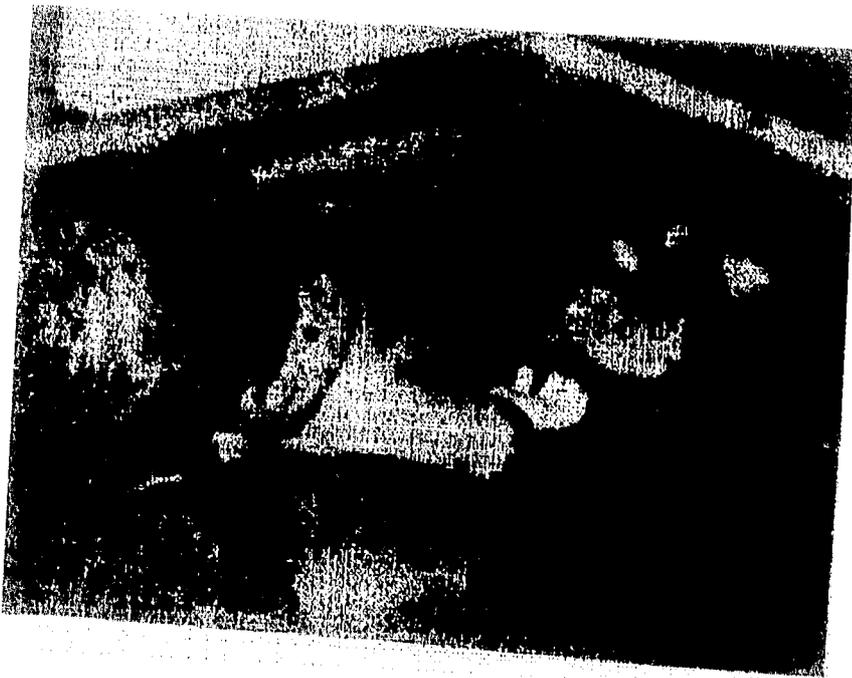


figura No. 3



Fig. No.4



Figura No. 5



Figura No. 6



Figura No. 7



Figura No. 8



Figura No. 9

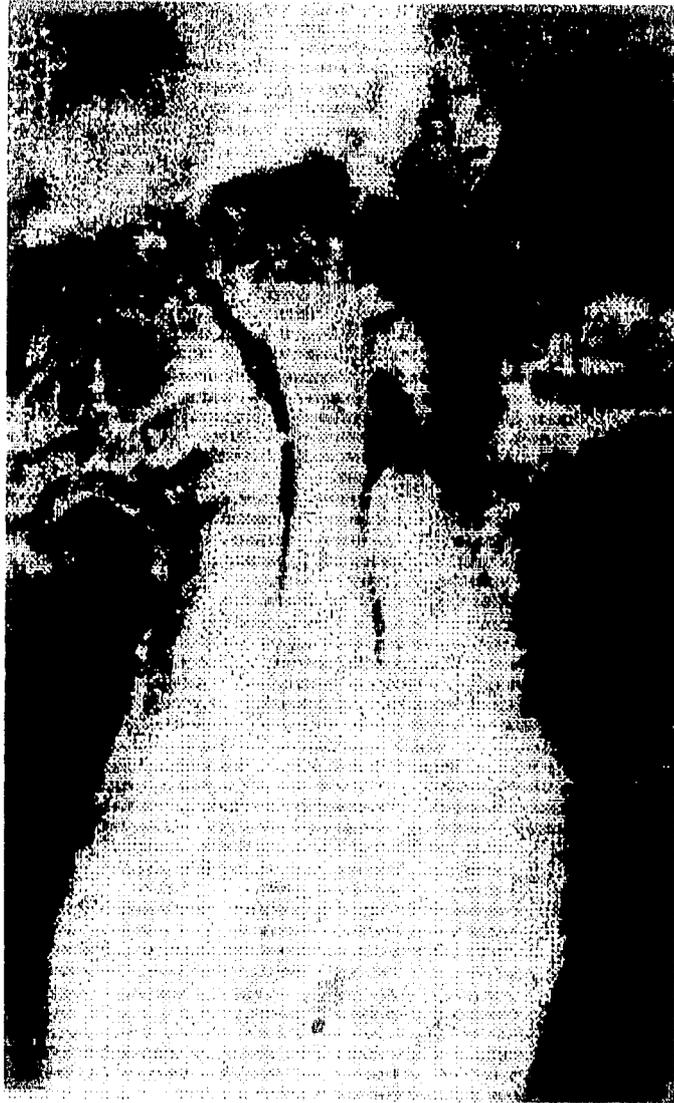
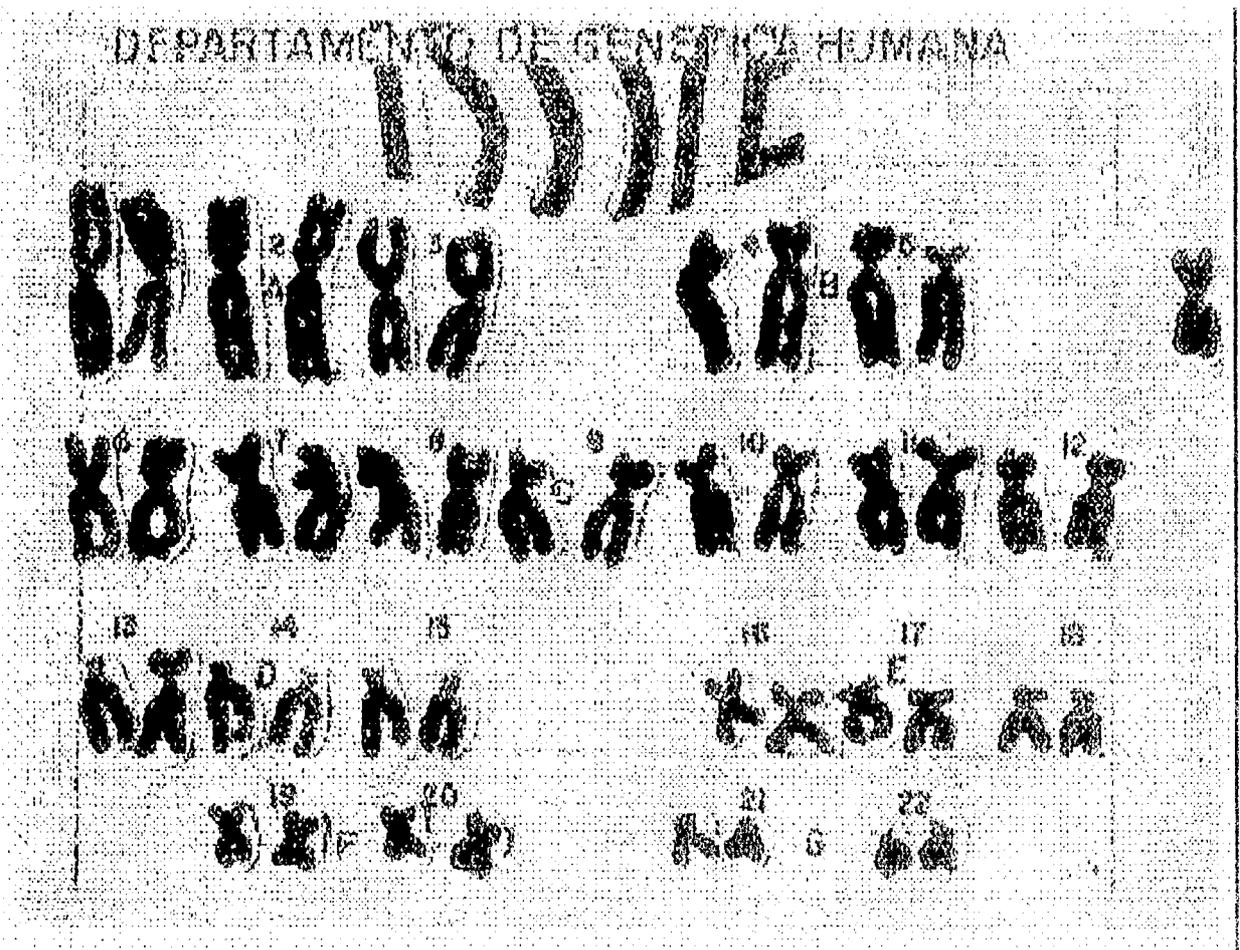


Figura No. 10



Figura No. 11



ESTA TEXAS EN SU
SALA DE LA GENÉTICA

8.- BIBLIOGRAFÍA:

1. Anell A. Gustavson, K. Tenstou J: Syntomatology in Schooll boys with positive sex chromatin. Acta psychiatri scand. 46:71 1970.
2. Barr and Bertarn: A morphological distinction between neurons of the man and female and the behavior the nucleolar satellite diuring acelerated nucleoprotein syntesis., nature 163:176. 1949.
3. Barr, M.L.; The sex chromosmoas of man, AM J. Obstet Gynec, 935:608, 1616., 1965.
4. Barr, M.L. Sex chromatin Techniques (carbolfuchsin staining techniques) In junis J.J. human chromosome methodology Academic Press London and New York, P.6., 1965.
5. Barr, M.L. Correlatives Between sex chromatin patterns and sex chromosome complexes in man., The sex chromatin., Keith L. Moore., 126-161, 1966.
6. Castañeda E., Pérez A.E., Guillen M.A., Ramírez Robles S., Gualy Pérez Palacios G.: Metabolic estudies in a patient with testicular feminization syndrome. AM J. Obst Gynec., 110-1002. 1971.
7. Cassperson T, Zech 1, Juansson C: Difenetial Binding of Alkylating Fluorochromes in Human Chromosomes. Exp. CellRes, 60: 315. 1970.
8. Culling C.F.A., Staining affinities and Cytochemical Properties of The Sex Chromatin. The Sex Chromatin Keyth L. Moore 91:112 1966.
9. Eskelund V.: Determination of genetic sex by examination of epithelial cells in urine. Act. Endocr. (KBB) 23:264,1956.
10. Gonzalez Ramos M., Gonzalez Robles E., G. De Valencia L.; El Pediatra ante los problemas de Intersexualidad. Bol. Med. Hospital Infantil Vol. XXXIII Num. 3 May-Jun. 1976.
11. Jiménez-Navarro R.: Determinación cromosómica del sexo.; Patol. Quir. Citol. Exfol. Vol. 6 (1). 1980

12. Kofman Alfaro S., Saavedra Ontiveros D., Benavides Aguirre Bol. Med. Hospital Infantil Vol. XXXII, Num. 4, Julio-agosto 1975.
13. Levinson Genaro., Guzmán Toledano R., Jiménez M., Canales S.E., Zárata A.: Rev. De Inv. Clínica Mex. 27:231.1975.
14. Leonard M., Landy G., Ruddle F., Lubs H.: Early development children with abnormalities of the sex chromosomes. Pediatrics 54:208 1974.
15. Maclean N. Harnden., And Court Brown.: Abnormalities of the sex chromosomes constitution in newborn babies. Lancet 2:406 1961.
16. Moore K.L. and Barr M.L.: Smears from from the oral mucosa in the detection of chromosomal sex. Lancet 2:57. 1955.
17. Mclean Neil: Sex chromatin Surveys of Newborn babies. The sex chromatin. Keith L. Moore 202-210. 1966.
18. Nora y Fraser.: Alteraciones de los Sexocromosomas. Genética Médica. La Prensa Médica Mexicana. 49-67- (4) 1980.
19. Novak Edmund R., Seegar Jones G., Jones Jr. H.: Anomalías Congénitas y Hermafroditismo. Tratado de Ginecología. Novak, Jones, Jones., Interamericana 8ava. ed. 150- 179 1971.
20. Optiez MDJ., Shapiro S., Uelhling D.: Genetic Causes and Workupof Male and Female Infertility. Abnormalities presenting Between Birth and Adult Live. Vol. 65 # 6 Postgraduate Medicine. June 1979.
21. Papanicolau G. N. : a New Prosedure for Staining Vaginal Smears. Since 95:438. 1942.
22. Pollani P.E. and Mutton, D.E.: y Fluoresence of Interpfase Nuclei Specially Circulating Linpfocytes. Brit, Med. J., 1: 138, 142. 1971.
23. Puk. M., Tennes K., Frank Erburg W.: Early Childhood Development of four Boys with 47 XXY, Karyotypr. Clin Genet. 7:8 1975.
24. Ross, A.: The Determination of the sex chromatin in buccal. J.Med. Lab. Technol., 1960.

25. Smith D. W. Marden P.M., Mc. Donald M.J. and Speckhard M. lower incidence in the sexchromatin in buccal smears of newborn females. *Pediatrics* 30: 307 1962.
26. Sotos F.J.: Sex chromatin in the new born. *Lancet* 1:912 1963.
27. Taylor.: Genetic disorders of man. Goodman, MR. Editor; Chap 16 Pag. 763. Little brown and Co. 1970.
28. Tennes MAK., Puck M., Orfanakis D. And Robinson., The early childhood development of 17 boys with sexochromosome anomalies: a prospective study. *Pediatrics*. Vol. 59 No. 4 april of 1977 574-583.
29. Trejo Trejo E. Caballero M., Laguna M., Tamayo Pérez R.: Hermafroditismo verdadero. *Rev. Mex. De Ped.* Vol. 41 marzo de 1972.