

11216

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION "SALVADOR ZUBIRAN"  
CURSO DE ESPECIALIDAD DE GENETICA MEDICA**

8

**ESTUDIO CUANTITATIVO DE LOS SEGMENTOS DE  
HETEROCROMATINA C DE LOS CROMOSOMAS 1, 9, 16e  
Y EN UNA MUESTRA DE LA POBLACION MEXICANA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO EN LA ESPECIALIDAD DE:  
GENETICA MEDICA**

**PRESENTA:**

**DR. FRANCISCO JAVIER SANCHEZ AGUIRRE**

Director de Tesis:

**DR. OSVALDO MUTCHINICK B.**

*Instituto Nacional de la Nutrición  
Salvador Zubirán  
División de Estudios de Posgrado  
México, D.F.*

*Instituto Nacional de la Nutrición  
Salvador Zubirán  
División de Estudios de Posgrado  
México, D.F.*

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

2002



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 MELANIA.

## AGRADECIMIENTOS

AL DEPTO. DE GENÉTICA DEL INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN", POR TODAS LAS VIVENCIAS Y EL TIEMPO COMPARTIDO, Y ESPECIALMANTE AL DR. OSVALDO MUTCHINICK POR LA DIRECCIÓN DE ESTE TRABAJO DE TESIS.

AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA POR SU APOYO ECONÓMICO.

**AÚN CUANDO TODOS LOS EXPERTOS COINCIDAN, PUEDEN  
MUY BIEN ESTAR EQUIVOCADOS. PIENSA POR TI.**

**B. RUSSELL.**

# I N D I C E

INTRODUCCION	PAG. 1
MATERIAL Y METODOS	13
RESULTADOS	20
DISCUSION	44
BIBLIOGRAFIA	52

## INTRODUCCION

El primero en observar la condensación precoz del cromosoma X fué Montgomery (1904-1906), en la línea germinal masculina de *Pyrocochris* (hemíptera) y denominó a este fenómeno "heteropienosis"<sup>(1)</sup>. Esta característica es propia de la heterocromatina constitutiva.

En 1928, Heitz propuso designar con el término de heterocromatina a los segmentos de cromosomas que permanecen condensados durante la interfase, en oposición con la eucromatina que se descondensa y deja de ser visible<sup>(2)</sup>. Posteriormente, Brown en 1966 la clasificó en facultativa y constitutiva<sup>(3)</sup>. La heterocromatina facultativa en el ser humano es la que resulta de la inactivación de uno de los cromosomas X, en la mujer. La heterocromatina constitutiva (HC) está representada por los segmentos cromosómicos que permanecen condensados en interfase, que muestran heteropienosis, que no se desespiralizan como el resto del material cromosómico y cuya replicación es tardía en la fase S del ciclo celular<sup>(2,3,4,5)</sup>.

En los cromosomas 1, 9 y 16, la HC corresponde a la denominada constricción secundaria. Varios investigadores ya habían descrito la existencia de estas constricciones antes del advenimiento de la técnica de bandas C<sup>(6,7,8)</sup>.

La técnica de bandas C pone de manifiesto a la HC, ya que consiste en un método específico para su visualización en los cromosomas metafásicos Fig. 1. Las regiones de HC rug

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



---

FIGURA 1.- Segmentos de HC de distintos tamaños, correspondientes a los pares cromosómicos 1, 9, 16 y al cromosoma Y.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ron descritas por primera vez en los cromosomas de ratón (*mus musculus*) en 1970, por medio de la técnica de hibridación "in situ"<sup>(7)</sup> y al año siguiente, Arrighi y Hsu describieron un método de bandeado cromosómico por el cual la presencia de HC pudo también ser identificada en los cromosomas humanos<sup>(10)</sup>.

La presencia de HC se ha confirmado también en los cromosomas de plantas<sup>(11, 12, 13)</sup>, insectos<sup>(14, 15, 16)</sup>, anfibios<sup>(17)</sup> y aves<sup>(18)</sup>. Esos estudios mostraron que la localización puede ser intersticial, telomérica y centromérica, y que el tipo y número de localizaciones puede variar de una especie a otra. Se ha demostrado también la existencia de HC en otros mamíferos distintos al hombre<sup>(19, 20, 21, 22, 23, 24)</sup>; en los cuales la HC se localiza principalmente en la región centromérica. Puede entonces considerarse, que la HC es un tipo específico de ADN que se encuentra prácticamente en todos los organismos eucariotes, aunque no necesariamente localizada en las mismas regiones cromosómicas.

Con respecto a su localización, la HC en los cromosomas humanos puede clasificarse en 4 tipos<sup>(15)</sup>:

- a). HC centromérica correspondiente a la de los 46 cromosomas.
- b). HC de la constricción secundaria de los cromosomas 1, 9 y 16.
- c). HC de los cromosomas acrocéntricos ubicada en el brazo corto y satélites de estos cromosomas, excluyendo la re-

gión organizadora del nucleolo.

- d). HC de aproximadamente los 2/3 distales del brazo largo del cromosoma Y.

Las funciones específicas de la HC son aún desconocidas y sólo se ha considerado que el papel que desempeña es esencialmente "estructural"; esa expresión engloba las siguientes propiedades<sup>(4,14)</sup>:

- a). Proteger al centrómero y a los genes que codifican para el ARN ribosomal, contra factores externos mutagénicos y cambios evolutivos.
- b). Inducir la atracción de los cromosomas homólogos y también la de los no-homólogos durante la meiosis, para acercar las regiones cromosómicas funcionalmente interrelacionadas.
- c). Establecer "barreras de fertilidad"; esto es, evitar la producción de organismos entre especies no afines, interviniendo en los procesos evolutivos y en la formación de las especies.

Yunis y Yasminch consideraron además a la HC como el sitio en el que podría existir un gran número de cistrones generadores del ARN ribosomal 5S<sup>(4)</sup>.

La HC representa aproximadamente el 20% del genoma humano<sup>(17)</sup> y está compuesta principalmente por ADN de secuencias altamente repetidas<sup>(18,19,20,21)</sup>, tal como el ADN satélite; el cual representa aproximadamente del 6 al 10% del total del ADN del genoma humano<sup>(12)</sup>.

En el ADN humano se han reportado 8 tipos diferentes de ADN satélite, 4 nombrados cronológicamente I, II, III y IV y 4 nombrados A, B, C y D. Todos ellos fueron estudiados por hibridación "in situ", aunque no todos se aislaron mediante el mismo procedimiento ni a partir de la misma muestra de ADN. Hasta ahora sólo cuatro de ellos, I a IV han sido bien caracterizados. A continuación se citan algunas de las propiedades de cada uno de ellos<sup>(12, 13, 14)</sup>:

- ADN satélite I: se encuentra preferentemente en la HC de los cromosomas 9 e Y, y sedimenta a  $1.687 \text{ gm/cm}^3$  en gradiente de densidad de CsCl.
  - ADN satélite II: se localiza principalmente en la HC de los cromosomas 1, 9 y 16, sedimentando a  $1.693 \text{ gm/cm}^3$  en gradiente de densidad de CsCl.
  - ADN satélite III: en su mayor parte se encuentra en la HC del cromosoma 9 con un gradiente de densidad en CsCl de  $1.696 \text{ gm/cm}^3$ .
  - ADN satélite IV: se halla en su mayor parte en la HC del cromosoma Y, y presenta una densidad de  $1.700 \text{ gm/cm}^3$  en gradiente de CsCl.
- ADN satélite A: no se ha determinado su localización, y se sedimenta a  $1.710 \text{ gm/cm}^3$  en gradiente de densidad de CsCl.
- ADN satélite B: se encuentra principalmente en las regiones organizadoras del nucleolo, con un gradiente de densidad de  $1.726 \text{ gm/cm}^3$  en CsCl.
  - ADN satélite C: se encuentra principalmente en el cromoso-

ma 9, sedimentando a  $1.703 \text{ gm/cm}^3$  en gradiente de densidad de CsCl.

ADN satélite D: se halla situado preferentemente en el cromosoma 9, y sedimenta a  $1.720 \text{ gm/cm}^3$  en gradiente de densidad de CsCl.

Por diferentes métodos como son las bandas C<sub>11</sub><sup>(15,16)</sup>, la densitometría<sup>(17)</sup>, por medición comparativa<sup>(18)</sup>, por colocación con Distamicina A/DAPI<sup>(19)</sup>, y las bandas C<sub>e</sub><sup>(20)</sup>, algunos investigadores han sugerido que la HC no se encuentra como un solo bloque, sino que está constituida por un cierto número de segmentos discretos denominados subunidades.

En algunos individuos se ha encontrado que la HC presenta asimetría lateral; esto es, que el tamaño de la HC que se encuentra sobre cada una de las cromátides en los cromosomas metafásicos es desigual. En general, se acepta que esta característica la provoca una distribución desigual de la timina en una y otra hebra, en las regiones del ADN de secuencias altamente repetidas<sup>(21,22,23)</sup>.

En un principio se pensó que la producción de bandas C estaba dada por un proceso de desnaturalización del ADN, seguido por una renaturalización más rápida de los segmentos de secuencias altamente repetidas contenidos en las regiones de bandas C.

En general, en la actualidad se acepta que el mecanismo molecular de la producción de bandas C, se debe a una extracción selectiva de ADN de las regiones eucromáticas, mientras

que una gran proporción de ADN de secuencias altamente repetidas permanece en las regiones correspondientes a las bandas C, siendo también parte importante del proceso la interacción entre el ADN y las proteínas del cromosoma<sup>(43,44,45)</sup>. Si bien estas últimas teorías son las más aceptadas en estos momentos, no se descarta que puedan llevarse a cabo fenómenos de desnaturalización y renaturalización del ADN, pero sin ser éstos la causa directa de la producción de las bandas C. Holmquist<sup>(46)</sup> ha mostrado que la extracción del ADN eucromático resulta de tres reacciones sucesivas correspondientes a los tres estadios del procedimiento para la obtención de las bandas C:

- 1). Despurinización del ADN por tratamiento ácido, sin romper el esqueleto de ADN.
- 2). Desnaturalización del ADN por tratamiento alcalino, lo cual facilita la subsecuente reacción.
- 3). Rotura del esqueleto de ADN por incubación con solución salina caliente, que permite la disolución de los fragmentos del ADN de la eucromatina.

Como consecuencia, el reactivo de Giemsa, selectivo para el ADN, permite visualizar a las regiones heterocromáticas.

En numerosos estudios se han observado variaciones, tanto en el tamaño como en la posición de la HC o en ambas características a la vez<sup>(46,47,48,49,50,51,52,53,54,55)</sup>. Es decir, la HC puede ser más o menos grande y observarse fuera -

de su lugar habitual, como consecuencia de inversiones parciales o totales.

Estas variaciones de forma y tamaño se conocen indistintamente con los nombres de variantes, heteromorfismos y polimorfismos, siendo este último el nombre más comúnmente usado.

Un polimorfismo se define como la condición en la cual la población en estudio contiene cuando menos dos fenotipos (y presumiblemente cuando menos dos genotipos), ambos frecuentes, expresado en cifras, ninguno de ellos debe tener una frecuencia menor al 1%<sup>(1,2)</sup>.

Los polimorfismos se han estudiado en diferentes grupos étnicos, habiéndose observado variaciones características en algunos de ellos. En los caucásicos son frecuentes las inversiones parciales del cromosoma 1 y los bloques heterocromáticos grandes del cromosoma 9. La inversión completa de la HC del cromosoma 9 es más común en los negros. Los orientales presentan una frecuencia mayor de una HC grande del cromosoma 1 y menor frecuencia de la HC pequeña del cromosoma 9<sup>(3,4)</sup>. En griegos se observó que un 2% de los individuos presentaban bloques heterocromáticos grandes en el cromosoma 9<sup>(5)</sup>.

En relación al sexo se ha encontrado que la frecuencia de los polimorfismos es igual en hombres que en mujeres<sup>(6,7,8,9)</sup>.

Todos los polimorfismos observados han mostrado ser hereditarios<sup>(10,11,12,13)</sup> y el censo general indica que segregan en forma mendeliana simple<sup>(14,15,16,17,18,19,20,21)</sup>.

Sin embargo, algunos investigadores han encontrado una segregación preferencial del cromosoma 9, cuando este cromosoma es portador de regiones de HC grandes<sup>(63,64,72,73,74)</sup>.

Con el propósito de explicar la existencia de los polimorfismos, se han propuesto varias hipótesis, una de ellas es específica para el cromosoma Y, las otras tratan de explicar el fenómeno en forma más general.

En el caso especial de las variaciones del tamaño de la HC del cromosoma Y, se ha tratado de explicar mediante mecanismos de duplicación o procesos de amplificación variable del ADN<sup>(77)</sup>, tales como los que se han observado en fibroblastos expuestos in vitro a mitomicina C<sup>(78)</sup>.

Con respecto a las hipótesis que generalizan la explicación, algunos investigadores sugieren que los polimorfismos se generan durante la meiosis, ya sea mediante un entrecruzamiento desigual de los cromosomas homólogos<sup>(79)</sup> o bien, mediante una doble ruptura, seguida de una inserción o de una delección intercalar<sup>(77)</sup>. Con el mismo propósito de explicar el origen de los polimorfismos, se ha propuesto que es más bien durante la mitosis que tendría lugar el entrecruzamiento desigual de los cromosomas homólogos<sup>(78)</sup>; y en apoyo a esta hipótesis existen evidencias indirectas de entrecruzamiento somático en humanos, tanto espontáneos<sup>(79,80)</sup> como inducidos por mitomicina C<sup>(78,81)</sup>. No obstante, todas estas hipótesis están cuestionadas por los hechos siguientes: se ha observado en diversas especies de plantas, insectos y mamíferos

ros incluyendo al hombre, que en las regiones de HC se encuentran frecuencias menores de intercambios de cromátidas - hermanas<sup>(82,83)</sup>. Se ha observado además que la HC es estable con el paso del tiempo y en diferentes tejidos de un mismo individuo<sup>(84)</sup>. Si la hipótesis de origen somático fuese cierta, con determinada frecuencia deberíamos observar mosaicos en relación al tamaño de la HC de alguno de los cromosomas - 1, 9, 16 e Y, lo que raramente se encuentra<sup>(75,85)</sup>.

La mayoría de los investigadores están de acuerdo en que los polimorfismos de la HC no tienen efecto sobre el fenotipo<sup>(33,36,37,62,66,67,71,86,87,88)</sup>; sin embargo, algunos estudios sugieren lo contrario<sup>(89,90,91,92)</sup>. Ciertos investigadores han asociado a los polimorfismos de HC con alteraciones en la reproducción<sup>(93,94,95,96,97)</sup> mientras que otros estudios los desmienten<sup>(98)</sup>. También se han publicado trabajos que muestran asociación entre enfermedades malignas y polimorfismos de los cromosomas 1 y 9<sup>(99,100,101,102,103,104,105,106)</sup>, observaciones cuestionadas por otros investigadores<sup>(107,108)</sup>. Se ha comunicado también falta de asociación entre los polimorfismos de HC y la no-disyunción del cromosoma 21<sup>(109)</sup>.

Por su estabilidad y la baja frecuencia de variantes "de novo", la HC es también un excelente marcador cromosómico para estudios de ligamiento genético<sup>(76)</sup>, análisis de segregación<sup>(67,78,79)</sup>, mapeo genético<sup>(110,111)</sup>, detección de inversiones<sup>(71)</sup> y dicéntricos<sup>(112)</sup>, examen de paternidad<sup>(70)</sup>, y para la determinación de cigocidad en mellizos<sup>(113)</sup>.

Diversos métodos han sido utilizados para analizar el tamaño de los segmentos de heterocromatina C:

- a). Comparativos visuales: Por análisis visual sobre fotografía<sup>(87, 87, 74)</sup>, o por observación directa al microscopio<sup>(88, 78)</sup>.  
 Por medio de cada uno de estos, los autores a que se hace referencia evalúan los polimorfismos, por comparación de la HC de los cromosomas homólogos, o por medio de series fotográficas utilizadas como referencia de variaciones en tamaño, con las cuales se comparan nuevas observaciones.
- b). Comparativos con segmentos cromosómicos determinados: Tomando como referencia el brazo corto del cromosoma 9<sup>(87)</sup>, el brazo corto del cromosoma 16<sup>(87)</sup>, o bien el brazo largo del cromosoma 21<sup>(88, 88)</sup>.
- c). Cuantitativos: Por métodos densitométricos<sup>(87, 114, 115, 116, 117, 118, 119)</sup>, o de medición lineal<sup>(88, 78, 117, 118, 121, 122, 123)</sup>.

De estos tres métodos para cuantificar el tamaño de la HC, sólo los últimos pueden considerarse como métodos de cuantificación "directa", ya que permiten la obtención de medidas de tipo continuo.

Es lógico pensar que los métodos de cuantificación "directa", deberían ser los más exactos para conocer la distribución de los tamaños de los segmentos de HC en una determinada población, y posteriormente utilizar esta referencia para determinar primero la clasificación, y después la presen-

cia de polimorfismos en un determinado individuo, familia o población.

Tomando en consideración esto último, se decidió estudiar por métodos cuantitativos el tamaño de la HC en una muestra de la población mexicana, utilizando aquellos sistemas de medición más apropiados, como el largo del segmento heterocromático e incorporando además otros dos tipos diferentes de medidas.

El largo de la HC permitirá conocer como se distribuye esta característica en una muestra de la población mexicana, y compararla con muestras de otras poblaciones previamente estudiadas (40, 70, 110, 115). Las otras medidas permitirán, además del conocimiento de como se distribuyen en la población, saber si podrían constituirse en mejores métodos acordes con la característica tridimensional de la Heterocromatina C.

## MATERIAL Y METODOS

De los estudiantes que concurren al exámen médico obligatorio al Centro Médico de la Universidad Nacional Autónoma de México, para obtener acceso a las facilidades deportivas de dicha institución, se seleccionaron 155 individuos de sexo masculino cuyas edades fluctuaron entre 18 y 34 años. El criterio de selección se basó en los siguientes requisitos: presentar buen estado de salud y ser hijo de padres mexicanos.

## A). Obtención de las muestras.

Se tomaron de 2 a 4 ml de sangre periférica por cada individuo con jeringa heparinizada, y bajo condiciones adecuadas de esterilidad.

## B). Cultivo de linfocitos.

De cada muestra se sembraron 2 frascos de cultivo. El contenido de cada frasco consistió en 4 ml de medio de cultivo McCoy's 5a, 100 U/ml de penicilina, 200  $\mu$ g/ml de estreptomina, 0.2 ml de fitohemaglutinina M, 0.5 ml de suero fetal bovino y 0.3 ml de sangre total.

Los cultivos se incubaron a 37°C durante 48 h. Una hora y media antes de completarse el tiempo de cultivo estimulado, se agregó colchicina a una concentración final de 0.02 mg/ml.

## C). Cosecha.

El contenido de los frascos de cultivo se centrifugó

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

a 453 g durante 5 minutos (durante todo el proceso de la cosecha las centrifugaciones se realizaron de la misma manera), se desechó el sobrenadante y las células se suspendieron en 5 ml de KCl 0.075 M, manteniéndose en baño María a 37°C durante 30 minutos, cumplido este lapso se centrifugó descartándose luego el sobrenadante. Inmediatamente se agregó al botón celular 5 ml de fijador (metanol/ácido acético glacial 3:1), se dejó reposar a la temperatura ambiente durante 20 minutos, se centrifugó y se desechó el fijador sobrenadante. Luego se hicieron dos lavados consecutivos con el mismo tipo de fijador, una vez extraído el sobrenadante del último lavado, se agregó 0.5 ml de fijador, obteniéndose de esta manera la suspensión celular de la cual se hicieron las preparaciones.

De las 155 muestras recolectadas se descartaron 8, debido a escaso crecimiento de los cultivos, en definitiva un total de 147 sujetos se utilizó para el estudio. Del cultivo de cada individuo se prepararon 10 láminas, a las cuales se las dejó envejecer por dos semanas, antes de practicarse la técnica para la obtención de las bandas C.

#### D). Técnica para bandas C.

Se utilizó la técnica de Salamanca y Armendaris<sup>(12)</sup>, con las modificaciones siguientes: siempre se lavó con agua corriente en vez de agua destilada, cuando se introdujeron las láminas en hidróxido de bario siempre fue a una temperatura constante de 37°C en vez de 37°C a 40°C, y durante 30 -

minutos en lugar de 5 a 10 minutos, y se tñieron con Giemsa 1:10 durante 1 minuto 15 segundos en vez de 1 a 2 horas.

En definitiva el procedimiento tué el siguiente: Las láminas se cubrieron con una solución de HCl 0.2 N durante 30 minutos, cumplido ese tiempo se lavaron con agua corriente y se dejaron secar a la temperatura ambiente. Se introdujeron en un vaso Koplín con hidróxido de bario 0.07 N a 37°C durante 30 minutos y luego se lavaron con agua corriente. Posteriormente, las preparaciones se colocaron dentro de un vaso Koplín con solución 2X SSC, entre 60°C y 65°C, durante 2 horas e inmediatamente después se tñieron con Giemsa 1:10 durante 1 minuto 15 segundos.

#### E). Selección de las metafases.

De cada uno de los individuos, se seleccionaron 5 metafases, siendo éste el número recomendado para este tipo de estudios<sup>(17)</sup>. La selección de las metafases se realizó de la siguiente manera:

- 1). La metafase debía contener a todos los cromosomas en estudio, es decir los pares 1, 9, 16 y el cromosoma Y.
- 2). Estos cromosomas no debían estar doblados ni superpuestos con otros cromosomas cerca del bloque de HCl.
- 3). Las cromátidas de los cromosomas debían observarse paralelas y próximas entre sí.
- 4). La tinción, debía mostrar un contraste bien definido entre la HCl y la eucromatina del resto del cromosoma.
- 5). Los cromosomas no debían estar demasiado apretados y des-

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

espiralizados. Para normalizar la selección de las meta fases de acuerdo al largo de los cromosomas, la región eucromática del brazo largo (1q h) del cromosoma 1 sirvió como patrón de referencia. Esta debía estar entre  $26$  a  $42 \times 10^{-7}$  m, ya que Balicek y cols<sup>(125)</sup> demostraron que en ese intervalo existe una alta correlación entre el largo de la HC y la eucromatina. A tal efecto, en 100 metafases, una por cada individuo, se midió el largo total del cromosoma 1, se calculó el promedio de estos datos y en base a la Conferencia de París de 1971<sup>(126)</sup>, se estimó la proporción que correspondía al brazo largo de este cromosoma. A este valor se le restó el valor correspondiente al promedio del largo de la HC de esos cromosomas 1. El valor obtenido fué de  $27.4 \times 10^{-7}$  m, el cual se encuentra dentro de los valores recomendados por dichos investigadores.

#### F). Análisis de las muestras.

Las 5 metafases seleccionadas de cada individuo se fotografiaron con un film Kodak technical pan Film 2415 Estar-All base, en un fotomicroscopio Carl Zeiss Fomy III, con un objetivo de inmersión planapocromático 63X. Los negativos se montaron para transparencia y se observaron por medio de un proyector Kodak modelo B2, lente Ektanar 4 a 6 pulgadas f:3.5, a una distancia de 414 a 415 cm, sobre una pantalla rifeida, obteniéndose así una ampliación de 10,000X (estimación

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

incluye la magnificación al sistema automatizado de fotografía, la ampliación que da el objetivo y la magnificación que da la proyección).

Por cada individuo se usó una hoja de papel original - blanco tamaño carta 36 Kg "Fénix especial", sobre la cual se delineó con un bolígrafo el perímetro de las bandas C de los cromosomas 1, 9, 16 e Y de las 5 metafases. En esas áreas se midió el largo y ancho. El largo se midió del borde inferior del centrómero a la parte inferior central del segmento de - HC, y para el ancho se midió la longitud de dicho segmento. - Para estas mediciones se utilizó un Vernier Caliper NSK Nippon Seiki precisión 1/20 mm. El peso se determinó recortando las áreas por su perímetro y pesándose las mismas en una balanza analítica Sartorius modelo 2432 precisión  $\pm 0.05$  mg.

Como control de la densidad del papel utilizado, se pesaron 10 fragmentos de  $1\text{ cm}^2$  cada uno, considerándose al azar la hoja correspondiente a uno de cada 10 individuos estudiados (CV = 2.8%).

#### G). Cálculos estadísticos y gráficas.

Para las mediciones del largo, ancho y peso de la HC, - se calculó el valor promedio ( $\bar{x}$ ) de los cromosomas 1, 9, 16 e Y de las 5 metafases de cada individuo y luego se obtuvieron los valores correspondientes a las medias ponderadas, desviación típica (s), y error típico (ET) de las mismas variables para el total de la muestra de individuos. De todas estas me

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

diciones, además del valor absoluto de las mismas, se obtuvo el valor relativo calculado de la siguiente manera: para el largo del segmento de HC, se sumó el promedio del largo de las 5 metafases analizadas de los 7 cromosomas, obteniéndose de esta manera el largo total promedio de la HC por cada individuo. De este valor se obtuvo el porcentaje correspondiente al largo de la HC de cada uno de los 7 cromosomas analizados. Este mismo procedimiento se siguió también para el ancho y el peso en todos los individuos que integraron la muestra. Se obtuvo también el coeficiente de variación (CV) de cada cromosoma a partir de las 5 metafases de cada individuo, y la media ponderada y ET de estos CV.

Se calcularon la curtosis y sesgado de los valores absolutos y relativos de las mediciones efectuadas de los cromosomas estudiados.

Se calculó la prueba de bondad de ajuste de  $\chi^2$  de las distribuciones observadas con las distribuciones normales esperadas de los valores absolutos y relativos del largo, ancho y peso de los cromosomas estudiados.

Los datos obtenidos se expresaron también en gráficas, en las que se muestran el perfil de los correspondientes histogramas, la curva de distribución normal esperada para los valores absolutos y relativos del largo, ancho y peso de los cromosomas 1, 9, 16 e Y, y los respectivos  $\bar{X}$  y s.

Para conocer la variabilidad intra e interobservador, se proyectó una metafase en las mismas condiciones del traba

jo y 5 personas dibujaron por separado el contorno de la HC de uno de los cromosomas 1 y el Y en 10 ocasiones, posteriormente midieron el largo, ancho y peso, obteniéndose de estas mediciones el  $\bar{X}$ , s y CV. Las observaciones de las 5 personas se compararon por medio de la prueba F de dos vías de Snedecor. Este experimento se repitió en una segunda ocasión bajo las mismas condiciones.

Para todos los análisis estadísticos el nivel alfa considerado fué de 1%.

## R E S U L T A D O S

Se presentan los datos referentes al largo, ancho y peso de la heterocromatina constitutiva de 294 cromosomas de los pares 1, 9 y 16, y 147 del cromosoma Y, correspondientes a la muestra de 147 individuos estudiados. Todos los resultados expuestos en este capítulo están basados en esos números.

En la tabla 1, se muestra el promedio, desviación típica y error típico para el largo, ancho y peso de los bloques heterocromáticos de los cromosomas 1, 9, 16 e Y, tanto de los valores absolutos como relativos. Si se toman en consideración los datos de esta tabla, los mismos muestran valores que ordenados de mayor a menor presentan una secuencia similar para los promedios de los valores absolutos y relativos:

- a) Largo: 1, Y, 9, 16.
- b) Ancho: Y, 16, 1, 9.
- c) Peso: Y, 1, 9, 16.

También puede observarse en la misma tabla, que las desviaciones típicas y errores típicos dentro de cada una de las medidas, muestran valores muy semejantes tanto para los valores absolutos como relativos. En general el parámetro que muestra una mayor desviación típica es el peso, en los dos tipos de valores considerados.

En la tabla 2, se presentan los datos correspondientes a la amplitud de variación de las medidas observadas de los segmentos de heterocromatina-C. Puede observarse que en la

mayoría de los casos, el intervalo entre los límites es amplio, excepto para los valores relativos correspondientes a los anchos de los diferentes cromosomas, en los que ese intervalo es pequeño.

En la tabla 3, se han reunido los promedios y las desviaciones típicas de los coeficientes de variación del largo, ancho y peso de los cromosomas analizados, puede apreciarse en la misma, que en general el largo presenta un coeficiente de variación menor que el ancho y el peso. Así mismo, es el largo el que presenta una mayor homogeneidad de sus valores promedios, que las otras dos medidas.

En la tabla 4, se muestran los valores de las pruebas de curtosis y sesgado correspondientes a las distribuciones de frecuencias de la muestra analizada. Se observa que para la prueba de curtosis, con excepción del largo del cromosoma Y en valor absoluto, el largo del 1, 16 y ancho del Y en valores relativos, el resto de medidas no muestran diferencias estadísticamente significativas para una  $P < 0.01$ .

En lo que respecta a la prueba de sesgado, se observan ocho valores absolutos y cinco valores relativos marcados con asterisco, que indican diferencias significativas, todas ellas con un sesgo positivo.

En la tabla 5, se presentan los valores de  $X^2$  de las comparaciones entre las distribuciones de frecuencias observadas y las esperadas para una distribución normal de las distintas medidas realizadas de la HC. Puede apreciarse en -

ella que con excepción del largo y peso del cromosoma 16 en valor absoluto, el peso del cromosoma 1 tanto en valor absoluto como relativo y el peso del cromosoma Y en valor relativo, todos los valores restantes muestran una bondad de ajuste de acuerdo con una distribución normal.

En las figuras de la 2 a la 13, se muestran los perfiles de histograma de los valores absolutos, que representan las distribuciones de frecuencias observadas de cada una de las variables analizadas. Las líneas punteadas indican las curvas teóricas esperadas para una distribución normal; en el eje de las abscisas de cada gráfica están señalados el valor promedio y los valores correspondientes a las primeras, segundas y terceras desviaciones típicas. De la figura 14 a la 25 se encuentra una información similar, pero referente a los valores relativos.

TABLA 1.- PROMEDIO, DESVIACION TIPICA Y ERROR TIPICO DE LOS VALORES  
 ABSOLUTOS Y RELATIVOS DEL LARGO, ANCHO Y PESO DE LOS SEG-  
 MENTOS DE HETEROCROMATINA C DE LA MUESTRA ESTUDIADA \*.

VALOR	MEDIDA	C R O M O S O M A S											
		$\bar{X}$	$s$	ET	$\bar{X}^9$	$s$	ET	$\bar{X}$	$s$	ET	$\bar{X}$	$s$	ET
ABSOLUTO	LARGO	12.8	1.9	0.11	11.0	1.5	0.09	8.6	1.2	0.07	11.6	1.8	0.15
	ANCHO	11.9	1.6	0.09	11.6	1.5	0.09	12.1	1.6	0.09	13.6	1.7	0.14
	PESO	10.1	2.4	0.14	8.6	2.0	0.12	6.8	1.7	0.10	10.8	2.8	0.16
RELATIVO	LARGO	16.7	1.8	0.11	14.5	1.5	0.09	11.2	1.2	0.07	15.1	1.8	0.15
	ANCHO	14.0	0.7	0.04	13.7	0.6	0.04	14.3	0.8	0.05	16.0	0.6	0.05
	PESO	16.3	2.3	0.13	14.0	1.7	0.10	11.0	1.6	0.09	17.5	2.2	0.18

\* EL LARGO Y ANCHO ESTA DADO EN  $10^{-7}$  m, Y EL PESO EN mg.

TABLA 2.- AMPLITUD DE VARIACION DE LOS VALORES DE LOS SEGMENTOS DE HETEROCROMATINA-C OBSERVADOS EN LA MUESTRA ESTUDIADA.

VALOR	CRONOSOMA	LARGO	ANCHO	PESO
ABSOLUTO	1	7.7-19.8	8.5-17.7	3.6-19.4
	9	7.0-17.1	8.6-16.3	4.2-15.7
	16	5.6-12.9	8.6-17.0	3.2-11.8
	Y	6.6-18.5	10.2-18.8	4.7-22.8
RELATIVO	1	12.0-23.3	11.6-16.0	10.4-23.7
	9	10.2-21.5	11.8-15.3	7.7-20.6
	16	8.0-15.9	11.7-16.5	7.1-16.1
	Y	10.7-21.8	14.6-18.4	12.0-25.0

TABLA 3. - PROMEDIO Y DESVIACION TIPICA DE LOS COEFICIENTES DE VARIACION DEL LARGO, ANCHO Y PESO DE LOS CROMOSOMAS ESTUDIADOS.

CROMOSOMA	M E D I D A					
	LARGO		ANCHO		PESO	
	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s
1	9.4	3.7	11.0	4.0	11.4	4.6
9	9.6	3.8	10.8	4.3	11.3	5.2
16	9.0	3.4	8.4	3.2	10.7	4.4
Y	9.7	3.5	10.4	4.2	13.2	5.7

TABLA 4. - VALORES DE LAS PRUEBAS DE CURTOSIS Y SEGADO CORRESPONDIENTES A LAS DISTRIBUCIONES DE FRECUENCIAS OBSERVADAS PARA LOS VALORES ABSOLUTOS Y RELATIVOS DE LOS BLOQUES DE HETEROCROMATINA-C.

VALOR	CROMOSOMA	C U R T O S I S			S E S G A D O		
		LARGO	ANCHO	PESO	LARGO	ANCHO	PESO
ABSOLUTO	1	3.06	3.26	3.09	0.298	0.416*	0.483*
	9	2.79	2.68	3.45	0.214	0.326	0.663*
	16	2.78	2.83	2.75	0.355*	0.407*	0.431*
	Y	4.86*	2.58	3.59	0.740*	0.361	0.718*
RELATIVO	1	4.44*	3.53	3.33	0.544*	-0.154	0.400*
	9	3.05	2.66	3.33	0.150	-0.268	0.144
	16	3.96*	3.34	2.96	0.412*	-0.152	0.178
	Y	3.51	4.21*	3.61	0.183	0.709*	0.600*

TABLA 5.- VALORES DE  $\chi^2$  DE LAS COMPARACIONES ENTRE LAS DISTRIBUCIONES DE FRECUENCIAS OBSERVADAS Y LAS ESPERADAS PARA UNA DISTRIBUCION NORMAL DE LOS BLOQUES DE HETEROCROMATINA-C.

		C R O M O S O M A			
VALOR	MEDIDA	1	9	16	Y
ABSOLUTO	LARGO	7.359	6.116	13.421*	8.854
		(6)	(5)	(4)	(4)
	ANCHO	3.868	6.487	10.780	6.828
		(5)	(4)	(5)	(4)
	PESO	20.529*	14.653	17.661*	17.020
		(8)	(6)	(5)	(8)
RELATIVO	LARGO	13.411	4.606	4.087	10.668
		(6)	(4)	(3)	(5)
	ANCHO	1.452	4.771	4.659	4.432
		(1)	(1)	(2)	(1)
	PESO	24.816*	3.068	3.631	19.789*
		(8)	(5)	(5)	(6)

TESIS CON  
 FALTA DE ORIGEN

TABLA 6.- COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DEL LARGO DE LOS BLOQUES DE HETEROCROMATINA-C DE LOS CROMOSOMAS 1, 9, 16 e Y, CON OTROS ESTUDIOS\*.

CROMOSOMA	BALICEK Y COLS (70)	PODUGOLNIKOVA Y COLS (60)	ERDTMANN Y COLS (118,119)	PRESENTE TRABAJO
1	12.7±2.3	12.6±2.3	13.4±3.0	12.8±1.9
9	11.0±2.0	11.3±2.0	11.1±2.1	11.0±1.5
16	7.2±1.4	8.5±1.4	8.1±1.3	8.6±1.2
Y	10.5±1.3	11.3±2.1	9.4±1.8	11.6±1.8

\* LOS VALORES CORRESPONDEN A  $10^{-7}$  m±s

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TABLA 7.- PROMEDIO Y DESVIACION TIPICA EN VALOR ABSOLUTO DEL LARGO, ANCHO Y PESO DE LOS CROMOSOMAS HOMOLOGOS ESTUDIADOS

CROMOSOMA	M E D I D A					
	LARGO		ANCHO		PESO	
	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s
1	13.6	1.8	12.0	1.7	11.0	2.4
1'	11.9	1.5	11.7	1.5	9.1	2.0
9	11.6	1.4	11.8	1.6	9.2	2.0
9'	10.4	1.4	11.5	1.5	8.0	1.7
16	9.1	1.2	12.5	1.6	7.4	1.6
16'	8.1	1.0	11.7	1.5	6.2	1.5

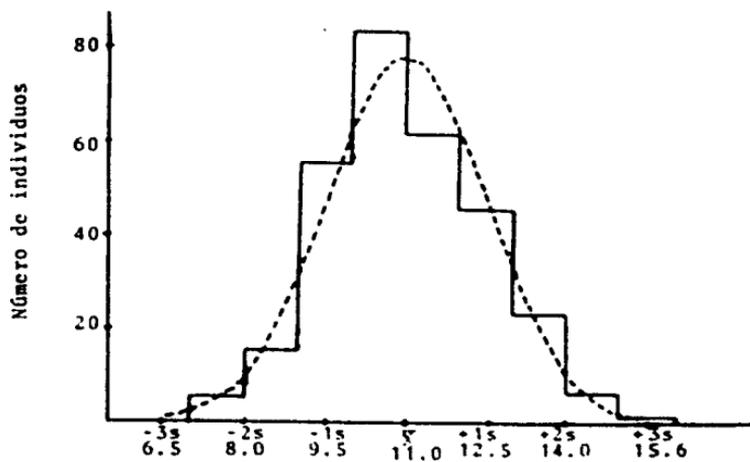
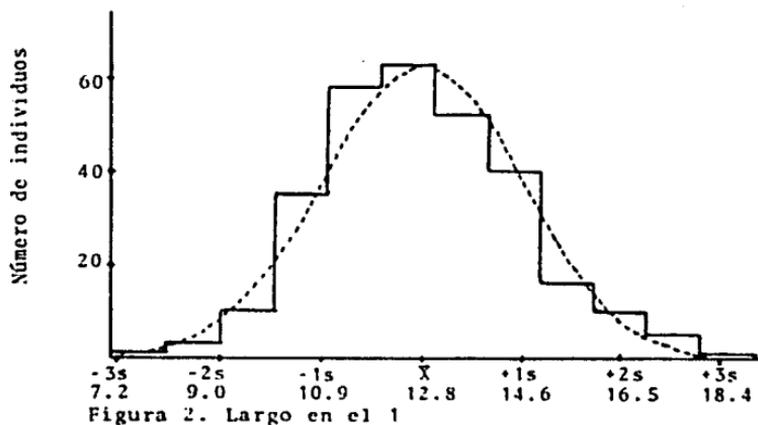
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TABLA 8.- PROMEDIOS Y DESVIACIONES TÍPICAS DE LAS MEDICIONES DE LA HETEROCROMATINA-C DE LOS CROMOSOMAS 1 e Y OBTENIDAS POR LOS CINCO INDIVIDUOS QUE PARTICIPARON EN LA PRUEBA DE VARIABILIDAD INTRA E INTEROBSERVADOP.

		M E D I D A											
		LARGO				ANCHO				PESO			
INDIVIDUO	CROMOSOMA	1a PRUEBA		2a PRUEBA		1a PRUEBA		2a PRUEBA		1a PRUEBA		2a PRUEBA	
		$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s	$\bar{X}$	s
A	1	8.3	0.5	6.1	0.4	8.5	0.8	7.2	0.3	4.3	0.6	2.4	0.3
	Y	10.3	0.5	7.2	0.3	13.4	0.6	9.5	0.6	9.2	0.5	4.5	0.5
B	1	9.8	0.8	6.7	0.5	11.4	0.6	8.7	0.3	6.0	0.5	3.2	0.3
	Y	10.2	0.7	8.4	0.4	12.7	0.7	10.6	0.6	8.1	0.9	5.7	0.5
C	1	8.0	0.5	6.5	0.3	10.1	0.7	8.7	0.5	4.2	0.5	2.9	0.3
	Y	9.0	0.5	6.8	0.4	12.2	0.8	10.6	0.4	7.2	0.6	5.1	0.4
D	1	10.9	0.3	7.5	0.2	10.3	0.3	10.0	0.3	6.5	0.3	3.7	0.3
	Y	9.6	0.4	7.3	0.2	11.5	0.4	10.0	0.2	7.5	0.6	5.0	0.3
E	1	9.1	0.2	7.6	0.2	8.8	0.4	8.0	0.3	4.9	0.2	4.1	0.2
	Y	9.1	0.5	8.5	0.3	11.6	0.3	9.8	0.3	7.4	0.3	6.1	0.5

TABLA 9.- COEFICIENTE DE VARIACION CORRESPONDIENTE A LOS CINCO INDIVIDUOS QUE PARTICIPARON EN LA PRUEBA DE VARIABILIDAD INTRA E INTEROBSERVADOR.

		M E D I D A					
		LARGO		ANCHO		PESO	
		1a PRUEBA	2a PRUEBA	1a PRUEBA	2a PRUEBA	1a PRUEBA	2a PRUEBA
INDIVIDUO	CRÓMOSOMA	CV	CV	CV	CV	CV	CV
A	1	5.8	6.3	9.4	3.6	14.7	11.6
	Y	4.6	4.6	4.5	6.6	5.9	10.8
B	1	8.0	7.7	4.9	3.7	9.1	10.7
	Y	6.6	4.3	5.1	5.2	11.1	8.2
C	1	6.1	4.0	6.8	5.3	11.0	9.0
	Y	5.5	5.3	6.2	3.5	7.9	8.5
D	1	2.5	2.3	2.8	3.3	4.1	9.1
	Y	4.2	4.6	3.7	1.9	8.0	6.7
E	1	2.3	2.7	4.5	3.6	3.6	5.2
	Y	5.2	3.3	2.4	3.1	4.1	8.8



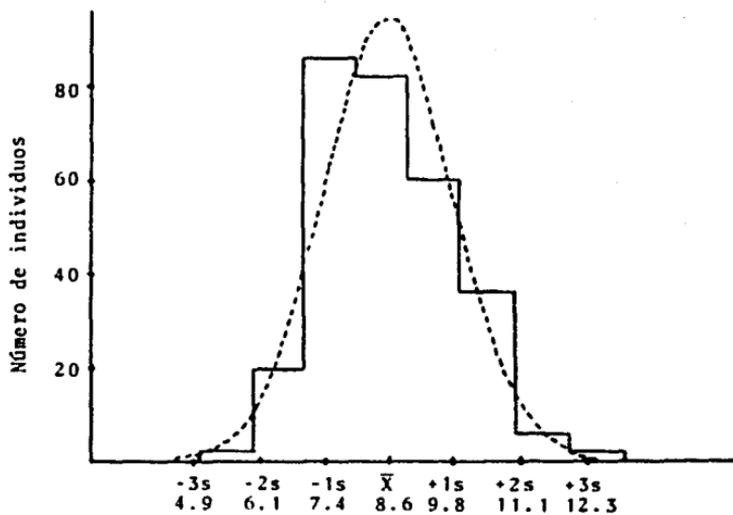


Figura 4. Largo en el 16

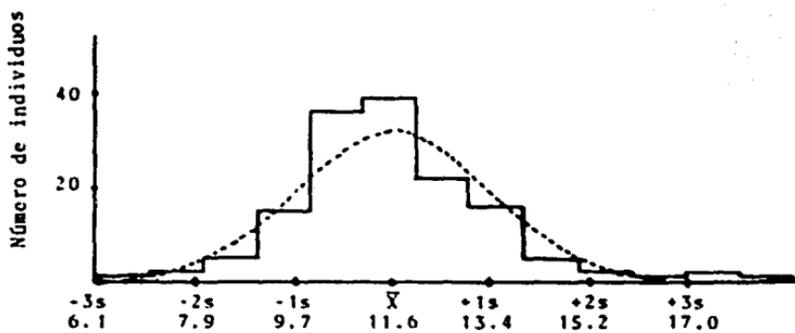


Figura 5. Largo en el Y.

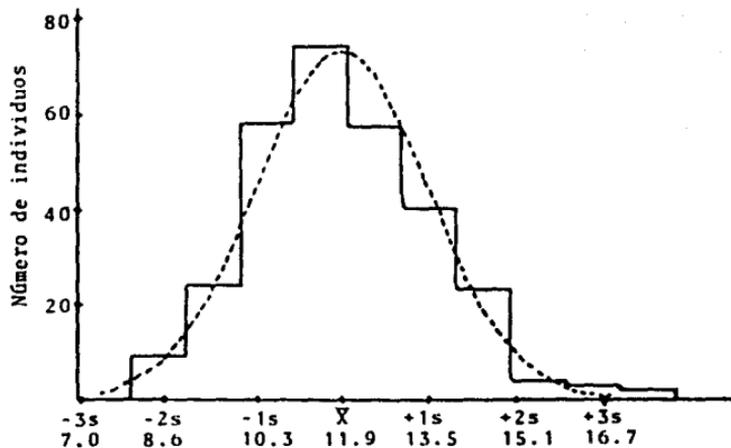


Figura 6. Ancho en el 1

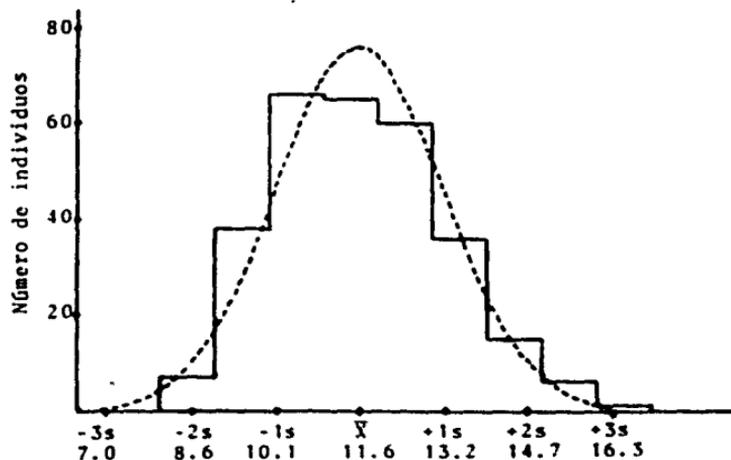


Figura 7. Ancho en el 9

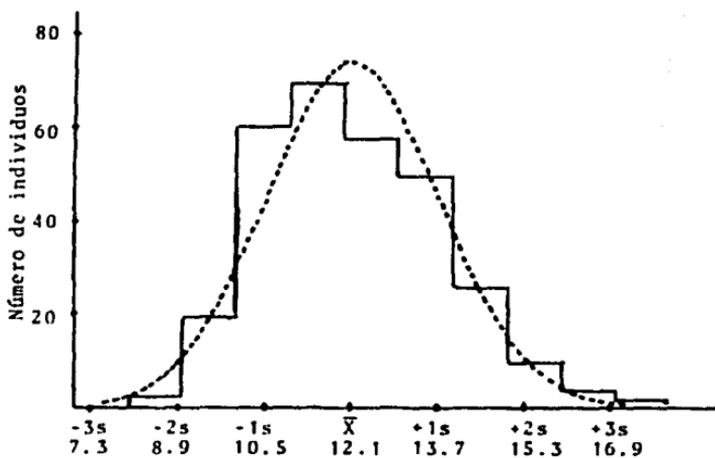


Figura 8. Ancho en el 16

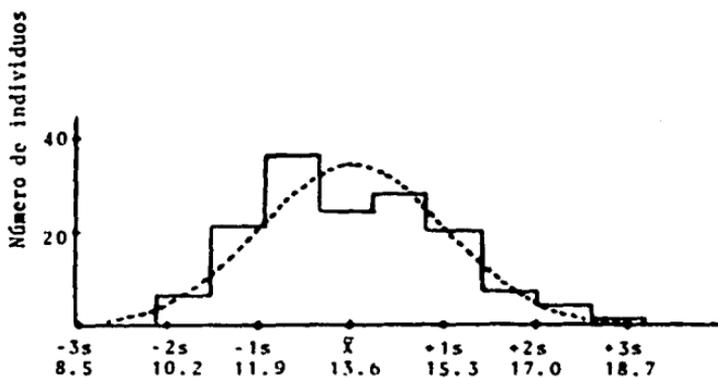


Figura 9. Ancho en el Y

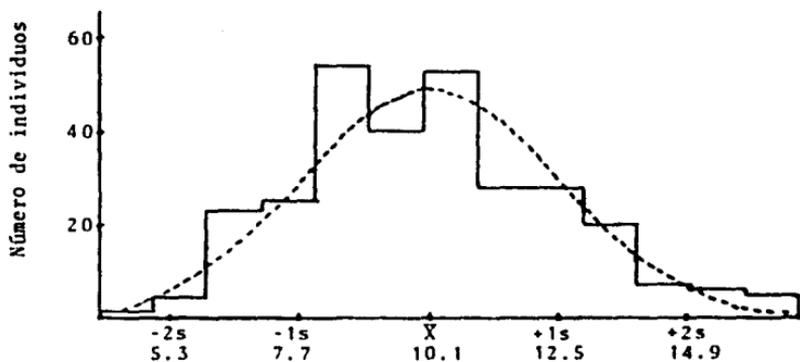


Figura 10. Peso en el 1

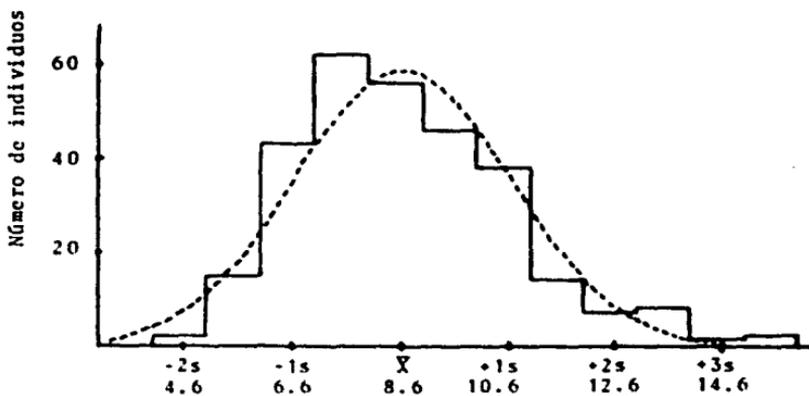


Figura 11. Peso en el 9

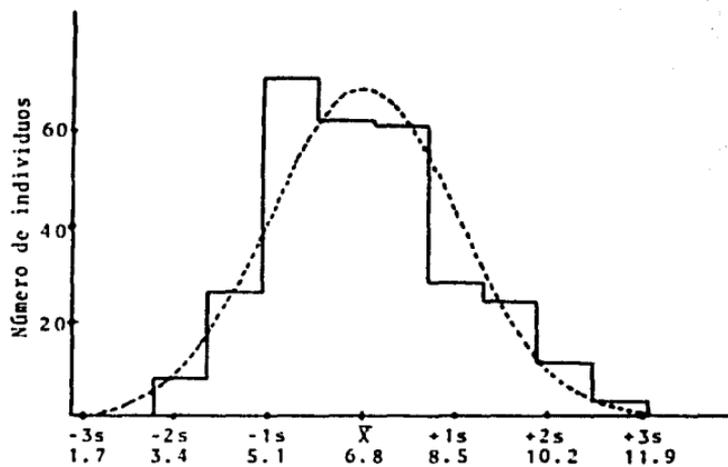


Figura 12. Peso en el 16

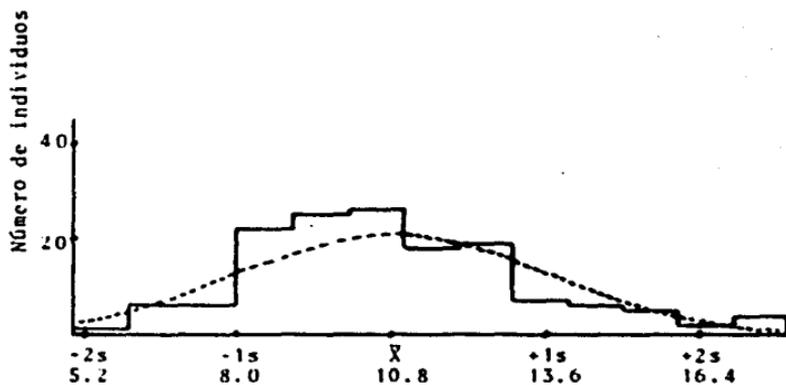


Figura 13. Peso en el Y

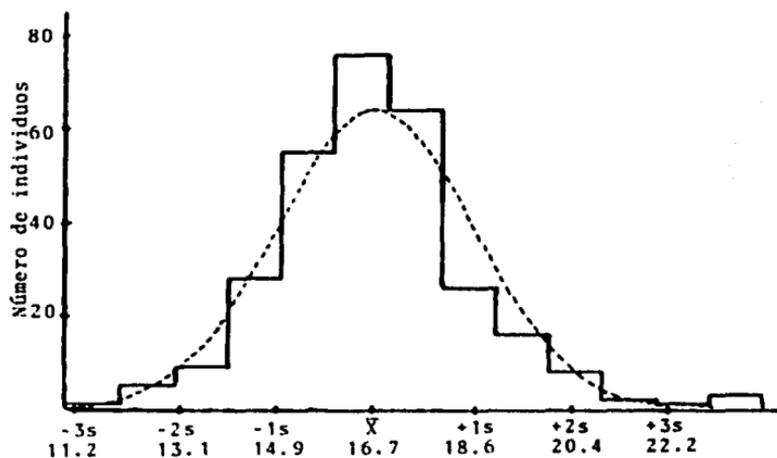


Figura 14. Largo en el 1

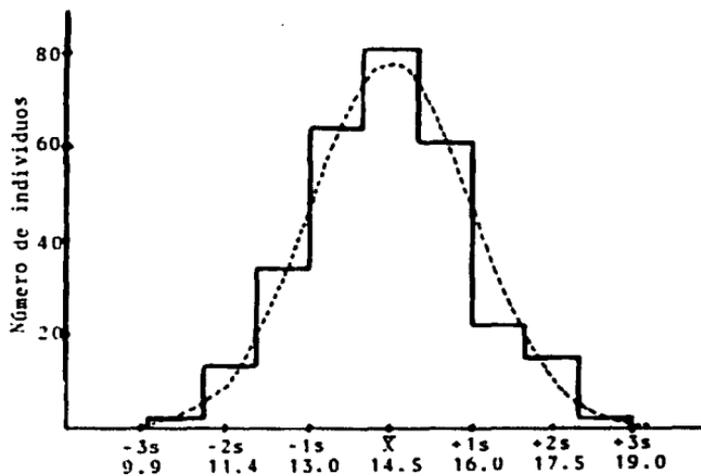


Figura 15. Largo en el 9.

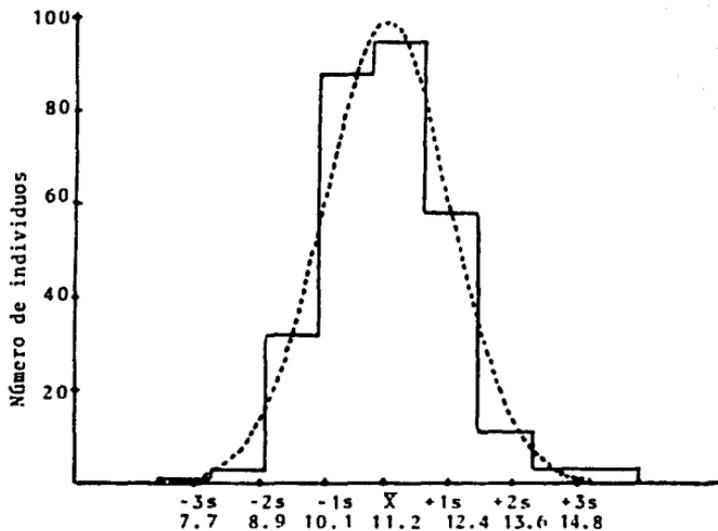


Figura 16. Largo en el 16

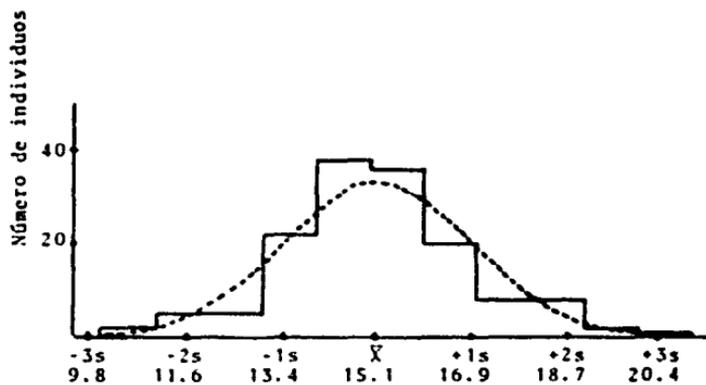


Figura 17. Largo en el Y

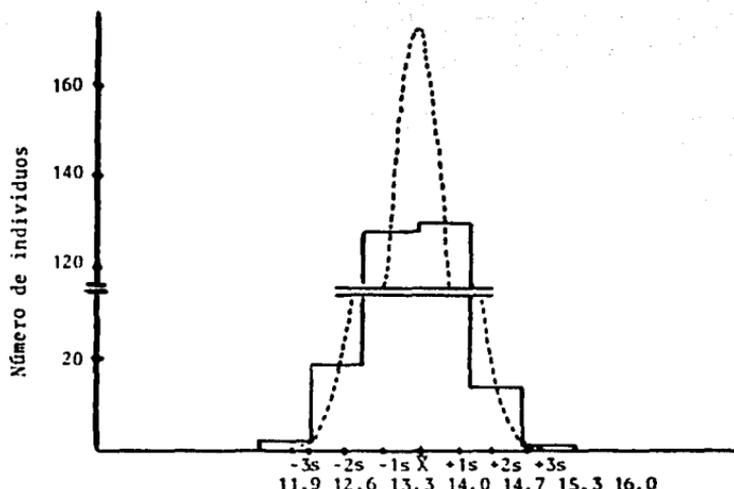


Figura 18. Ancho en el 1

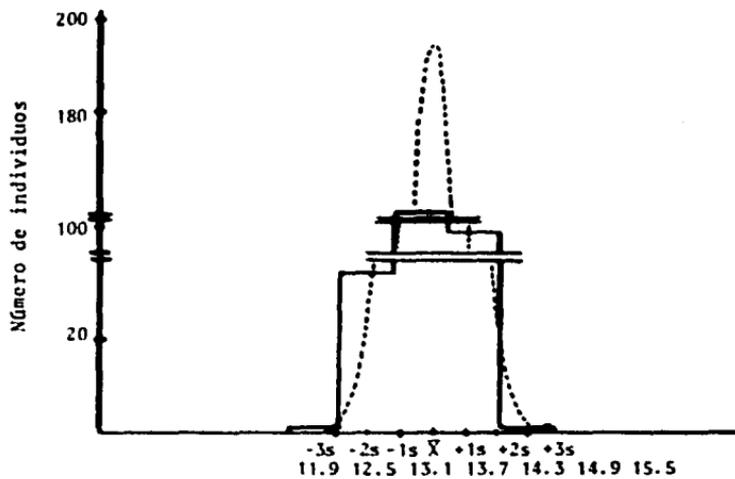


Figura 19. Ancho en el 9

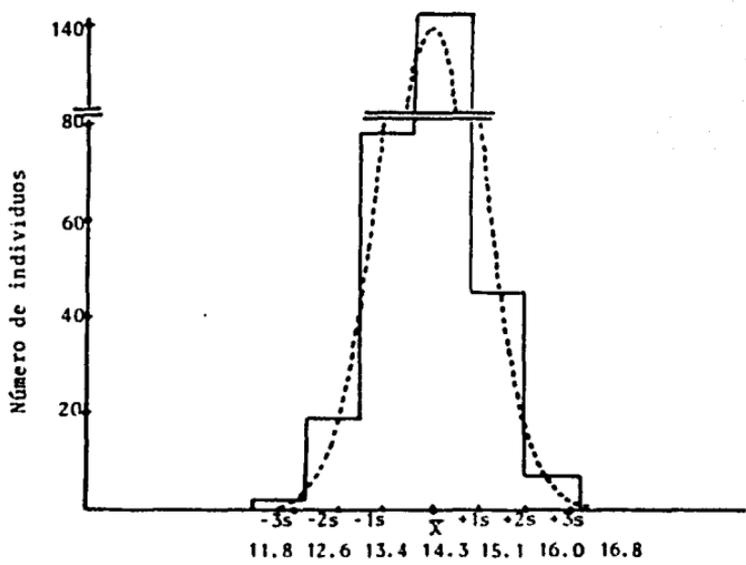


Figura 20. Ancho en el 16

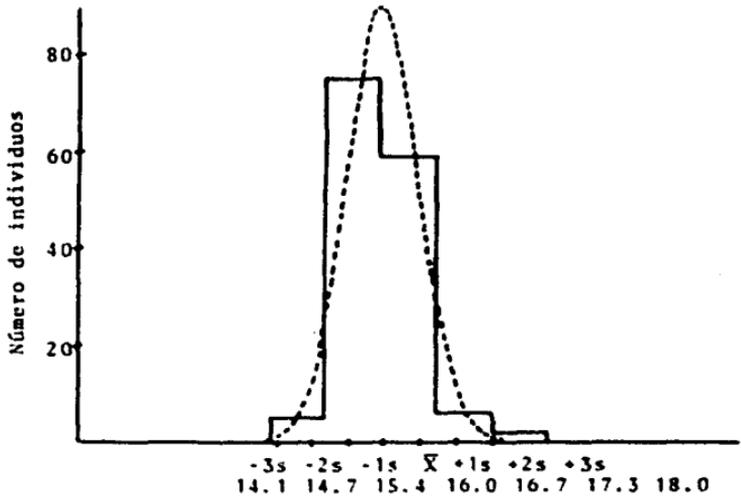


Figura 21. Ancho en el Y

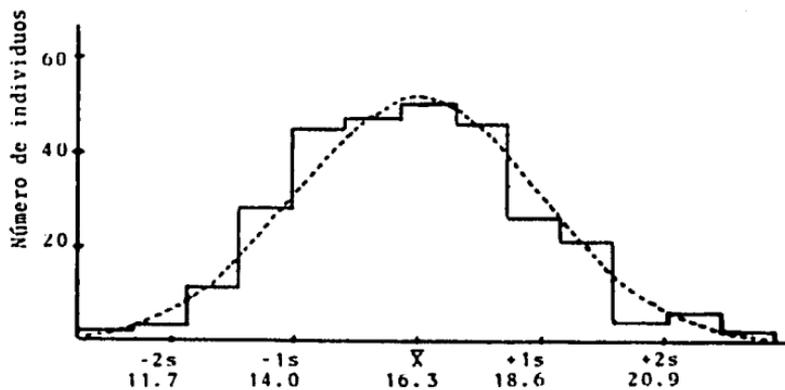


Figura 22. Peso en el 1

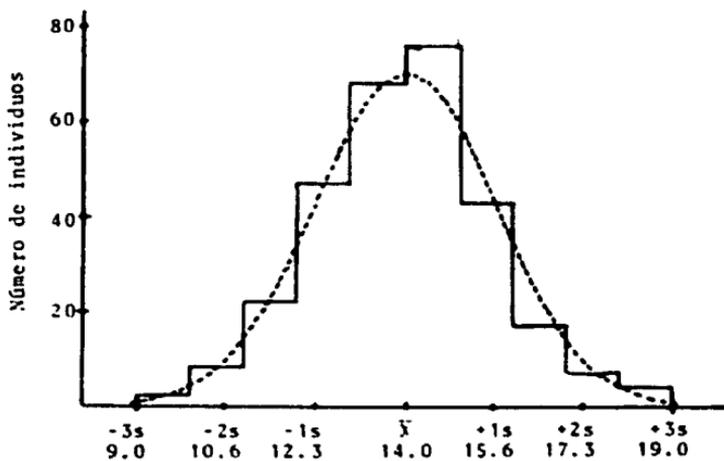


Figura 23. Peso en el 9

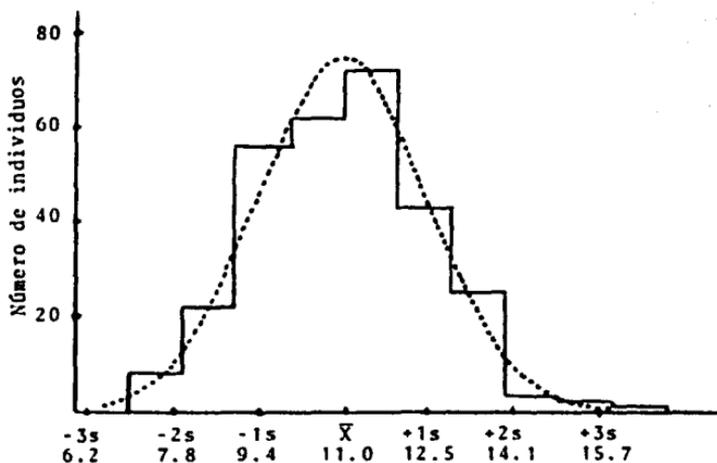


Figura 24. Peso en el 16

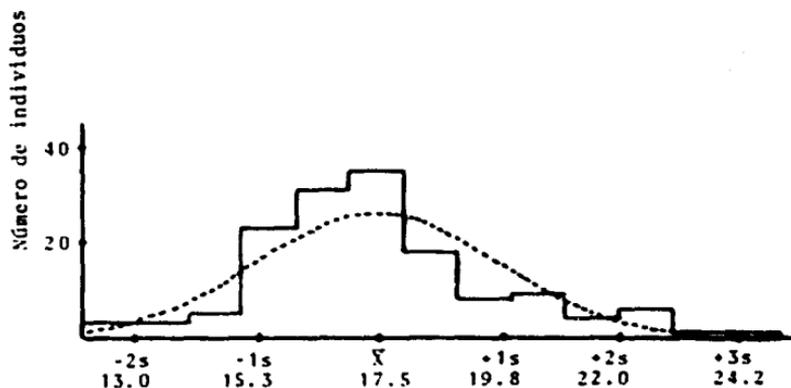


Figura 25. Peso en el Y

## D I S C U S I O N

Los resultados obtenidos muestran que los cromosomas 1 e Y presentan los valores promedios más altos de largo y de peso, de los segmentos de HC respectivamente, lo que sugiere que esos cromosomas son los que contienen una mayor cantidad de HC. También con respecto a las medidas de largo y peso y excluyendo al cromosoma Y, los otros se ordenan, de mayor a menor en la forma siguiente: 1, 9 y 16, lo cual indica que el contenido de HC está en relación directa con el tamaño de esos tres cromosomas. Ese mismo orden se encuentra en comunicaciones previas (60, 77, 116), referentes todas ellas al largo del segmento de HC, es decir, siempre el promedio mayor corresponde al cromosoma 1 y el menor al cromosoma 16.

Teniendo en cuenta que la medida del ancho refleja, en cierto modo, el grosor de las cromátidas hermanas en el nivel inferior de la constricción secundaria y además, que debido al criterio de selección, los cromosomas analizados eran casi siempre del mismo tamaño, podría esperarse que al medir el ancho, todos los cromosomas tuvieran aproximadamente el mismo valor promedio. Esto, en efecto sucede si se elimina al cromosoma Y del conjunto (tabla 1). La ligera diferencia del Y puede deberse a que la medida del ancho en ese cromosoma se tomó de una forma diferente a la de los otros, o tal vez a que el Y muestre características especiales al respecto. También era de esperarse que la desviación típica y la amplitud de variación del ancho fuesen menores que las del largo

y el peso, lo cual confirman los datos que se presentan en las tablas 1 y 2; siendo aun este hecho más evidente cuando se consideran los valores relativos (figuras 18 a 21).

La medida del largo presenta los menores valores promedio de coeficientes de variación (tabla 3), lo que sugiere que ese parámetro sería la medida apropiada para determinar el tamaño de los distintos segmentos de HC de un individuo, en función de las cinco metafases analizadas. Llama además la atención, que es en la medida del largo donde el CV de los distintos cromosomas es más homogéneo. Es oportuno señalar aquí, que para todas las medidas de los distintos cromosomas, el CV es inferior a 15, lo cual es aceptable desde el punto de vista estadístico.

El análisis de la tabla 6 pone de manifiesto que los promedios del valor absoluto del largo de la HC para cada uno de los cromosomas son notoriamente idénticos para muestras de poblaciones distintas, por tal motivo resulta cuestionable afirmar que alguna población o raza tenga una HC más grande o más pequeña en algún cromosomas en particular. Es pertinente agregar aquí que la distribución normal de la HC encontrada en el presente trabajo concuerda también con las comunicadas previamente ('', '''), lo cual apoya las presentes conclusiones.

La Tabla 7 revela que existe poca diferencia entre los promedios de los cromosomas homólogos, lo que permite suponer que los histogramas de cada uno de los integrantes de un

par de homólogos, se superpondrían en gran parte. En otras palabras, los segmentos de HC de menor tamaño del par de homólogos situados dentro de la primera desviación típica y considerados "normales", podrían caer dentro de los valores de la segunda o tercera desviación típica negativa de la curva de distribución normal de los segmentos de HC de mayor tamaño del otro miembro de los pares de homólogos, ocurriendo lo mismo en la situación inversa.

De acuerdo con lo expuesto, se puede concluir que la definición de polimorfismo mediante la simple comparación de los segmentos de HC de los cromosomas homólogos sería inapropiada.

A los valores obtenidos en la prueba de variabilidad, en que participaron las 5 personas que realizaron las mismas mediciones dos veces, se les efectuó la prueba F de dos vías, la cual resultó siempre estadísticamente significativa entre personas y nunca en un mismo individuo consigo mismo. Estos resultados muestran, que cada persona es consistente con sus propias mediciones, pero que difieren cuando se comparan entre sí. Los siguientes datos explican con mayor claridad esta situación: por un lado, el error típico intraindividual en todos los casos es inferior o igual a 0.2 mm o mg y por otro lado, tomando como ejemplo la segunda serie de mediciones, la diferencia máxima entre el promedio más alto y más -

bajo, incluyendo los tres tipos de medida y ambos cromosomas analizados, es de 2.8 mm o de 1.7 mg. Esta variabilidad entre individuos que realizan este tipo de mediciones, es natural y aparentemente inevitable.

En la tabla 8 se observa, que en la segunda serie de mediciones los valores promedio son menores que en la primera serie. Probablemente esto se debe a que el adiestramiento del grupo de experimentadores, mejora notablemente la apreciación de los límites del segmento de HC y elimina en gran parte las variaciones de apreciación que resultan de la ampliación de los mismos al proyectarse los negativos.

En términos generales podemos observar en la tabla 9, que el CV en ambas series de medición está dentro de límites aceptables, aún el del peso que es el más alto. También, puede observarse que para el largo y ancho el CV es en general menor en la segunda serie que en la primera y que lo contrario sucede con el peso. Si bien, esto último resulta contradictorio, probablemente se deba a que en la medición del peso participan más variables como el proceso de recortar el papel y pesarlo.

Todo esto sugiere que cuando el experimentador está bien entrenado, la variación de sus medidas será menor y por tal motivo, se recomienda que para realizar este tipo de estudios se lleve a cabo un entrenamiento adecuado.

En la tabla 4 se observa que el número de valores estadísticamente significativos es mayor en la prueba de sesgado

que en la de curtosis, esto puede deberse a que la curtosis se amortigua más rápidamente que el sesgado. Al comparar la tabla 4 con la 5, se hace evidente que la prueba de bondad de ajuste de  $X^2$ , muestra menos valores con diferencias estadísticamente significativas que las pruebas de curtosis y sesgado. Esto se explica porque la prueba de  $X^2$  para bondad de ajuste no es apropiada para detectar un comportamiento más específico de los datos dentro de una distribución normal, tal como lo son las pruebas de curtosis y sesgado.

Por todo lo antes expuesto, dentro de los valores absolutos, la medida más recomendable para hacer estudios de población de los polimorfismo de la HC, o bien, cuando se quieren hacer comparaciones respecto a la HC entre individuos, sería la medición del largo.

Podugolnikova y Cols. (120) encontraron que el valor absoluto del largo de la HC varía considerablemente entre células de un mismo individuo, mientras que el valor relativo, la longitud de un segmento C de un determinado cromosoma expresado como el porcentaje de la longitud total de todos los segmentos C, de los cromosomas en estudio de esa célula, es más estable y sugieren que este último puede ser usado para describir características individuales. Las observaciones individuales del presente trabajo ponen de manifiesto que el valor relativo es sin duda muy útil en la comparación del contenido de HC entre los diferentes cromosomas de un mismo individuo, pero también muestran que para estudios de pobla-

ciones no se debería usar el valor relativo, ya que individuos con igual porcentaje de HC para un cromosoma no necesariamente tendrán igual longitud "real" de la misma; y a la inversa, igual longitud de la HC, en un cromosoma en particular, no darán porcentajes iguales en diferentes individuos. En estas condiciones, no se tendría un parámetro adecuado para definir que en lugar de la curva de distribución normal se ubicaría un determinado segmento de HC correspondiente a alguno de los cromosomas en estudio.

De esta manera, si bien el valor relativo es la mejor estimación para caracterizar la medida de los segmentos de HC de un individuo, no sirven para comparaciones entre individuos, ni para establecer curvas de referencia, debido a que los valores relativos son la expresión de un total, en el cual los segmentos de HC de los otros cromosomas en estudio introducen una marcada variación.

Algunos investigadores han sugerido una segregación preferencial del cromosoma 9 cuando éste es portador de una región heterocromática grande<sup>(1,2,3,4,5,6,7,8,9)</sup>. Si esa postula da segregación preferencial fuera cierta y se encontrara en proceso de desarrollo desde los orígenes de la especie humana, se debería observar en los resultados del presente trabajo un sesgado positivo, lo que no sucede, y si ya hubiese transcurrido el tiempo suficiente de selección, en la actualidad se encontrarían casi exclusivamente cromosomas 9 con HC grande, observándose entonces una curva de distribución marcadamente leptocúrtica, lo que también es contrario a los

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

resultados obtenidos (Tabla 4). Las observaciones tan semejantes a las nuestras de otros investigadores<sup>(69,70)</sup> refuerzan nuestros hallazgos en este sentido. Más aún, en las comunicaciones que apoyan la segregación preferencial se define al cromosoma 9 con HC grande o  $9qh^+$ , comparándolo con su homólogo, sin aclarar qué tan grande es esa HC. Tal vez en el momento en que ese parámetro se defina se podrá hablar, o no, de segregación preferencial.

Existen en la literatura numerosos trabajos, todos ellos cuestionables, acerca de la posible interrelación de los polimorfismos de HC con algunas enfermedades malignas<sup>(59,100,101,102,103,104,105,106)</sup>, con alteraciones reproductivas<sup>(59,98,99,107,108)</sup>, y alteraciones del fenotipo<sup>(59,102,103,104,105,106,107,108)</sup>. Algunos de esos trabajos carecieron de grupo control, o bien el grupo no era el más adecuado y por lo general, los diseños metodológicos y estadísticos no fueron los apropiados. Es útil recordar aquí que los polimorfismos se presentan también en poblaciones sanas, por lo que es difícil asegurar la causalidad de esos casos en relación a los polimorfismos observados. En lo que se refiere a las alteraciones reproductivas, es sin lugar a dudas muy recomendable agotar todas las causas anatómicas, bioquímicas, funcionales o psicológicas antes de postular la influencia de la HC como causa de las mismas. Con respecto al efecto de los polimorfismos sobre el fenotipo, los trabajos mencionados indican la presencia del mismo polimorfismo en padres y hermanos del

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

propósito, todos ellos sanos, este hecho pone también en duda la relación entre el polimorfismo y la afección.

Por último, algunas consideraciones respecto a los diversos métodos que han sido empleados hasta ahora para analizar el tamaño de los segmentos de HC. Los métodos comparativos visuales no ofrecen seguridad, ya que son hasta cierto punto subjetivos. Los comparativos con segmentos cromosómicos determinados, mejoran en parte el método, pues se comparan con un patrón, sin embargo, este método no es apropiado por dos razones, el inconveniente de la simple comparación visual y los resultados del trabajo de Schmiady y Sperling<sup>(127)</sup>, donde se demuestra que no existe correlación entre la contracción eucromática y la heterocromática.

De acuerdo con lo mencionado sólo los métodos cuantitativos tienen mayor confiabilidad, y permiten establecer patrones para distintos grupos de población, que son útiles para definir con mayor exactitud y en relación a la distribución normal de esta característica, los segmentos de HC realmente polimórficos, en función de criterios cuantitativos preestablecidos.

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

- 1.- Montgomery TH (1904), (1906). Citado por Hamerton JL (1971) Human Cytogenetics I. Academic Press, London, pp. 131-191.
- 2.- Heitz E (1928). Citado por Stahl A, Hartung M (1981) L' Hétérochromatine. Ann Génét 24: 69-77.
- 3.- Brown SW (1966) Heterochromatin. Science 151: 417-425.
- 4.- Yunis JJ, Yasmineh WG (1971) Heterochromatin, satellite DNA and cell function. Science 174: 1200-1209.
- 5.- Miller OJ (1976) Is the centromeric heterochromatin of *Mus musculus* late replicating?. Chromosoma 55: 165-170.
- 6.- Ferguson-Smith MA, Ferguson-Smith ME, Ellis PM, Dickson M (1962) The sites and relative frequencies of secondary constrictions in human somatic chromosomes. Cytogenetics 1: 325-343.
- 7.- Sasaki MS, Makino S (1963) The demonstration of secondary constrictions in human chromosomes by means of a new technique. Am J Hum. Genet 15: 24-33.
- 8.- Palmer CG, Funderburk S (1965) Secondary constrictions in human chromosomes. Cytogenetics 4: 261-276.
- 9.- Pardue ML, Gall JG (1970) Chromosomal localization of mouse satellite DNA. Science 168: 1356-1358.
- 10.- Arrighi FE, Hsu TC (1971) localization of heterochromatin in human chromosomes. Cytogenetics 10: 81-86.
- 11.- Schweizer D (1973) Differential staining of plant chromosomes with Giemsa. Chromosoma 40: 307-320.

- 12.- Filion WG (1974) Differential Giemsa staining in plants  
1. Banding patterns in three cultivars of tulipa. *Chromosoma* 49: 51-60.
- 13.- Noda K, Kasha KJ (1978) A modified Giemsa C-banding technique for *Hordeum* species. *Stain Technology* 53: 155-162.
- 14.- Drets ME, Stoll M (1974) C-banding and non-homologous - Associations in *Gryllus argentinus*. *Chromosoma* 48: 367-390.
- 15.- Baimai V (1977) Chromosomal polymorphisms of constitutive heterochromatin and inversions in *Drosophila*. *Genetics* 85: 85-93.
- 16.- King M, John B (1980) Regularities and restrictions governing C-band variation in Acridoid grasshoppers. *Chromosoma* 76: 123-150.
- 17.- King M (1980) C-banding studies on Australian Hylid frogs: Secondary constriction structure and the concept of euchromatin transformation. *Chromosoma* 80: 191-217.
- 18.- Pollock BJ, Fechtmeier NS (1981) Variable C-banding patterns and a proposed C-band karvotype in *Gallus domesticus*. *Genetica* 54: 273-279.
- 19.- Dev VG, Miller DA, Miller OJ (1973) Chromosome markers in *Mus musculus*: strain differences in C-banding. *Genetics* 75: 663-670.
- 20.- Yosida TH, Sagar T (1975) Variation of C-bands in the chromosomes of several subspecies of *Rattus rattus*. *Chromosoma* 50: 283-300.

21. - Buckland RA, Fletcher JM, Chandley AC (1976) Characterization of the domestic horse (*Equus caballus*) karyotype using G- and C-banding techniques. *Experientia* 32: 1146-1149.
22. - Moraes JCF, Erdtmann B, Mattevi MS, Salzano FM (1979) - Densitometric analysis of the C-band variability in chromosome 1 of cattle. *Vet Rec* 105: 102-103.
23. - Arnason U, Lutley R, Sandholt B (1980) Banding studies on six killer whales: an account of C-band polymorphism and G-band patterns. *Cytogenet Cell Genet* 28: 71-78.
24. - Stock AD (1981) Chromosomal variation and constitutive heterochromatin in three porpoise species (Genus *steno-*  
*lla*). *Cytogenet Cell Genet* 31: 91-100.
25. - Craig-Holmes AP (1977) C-band polymorphism in human populations. En: Hook EB, Porter IH (eds) Population cytogenetics. Studies in humans. Academic Press, New York, pp 161-177.
26. - Yunis JJ (1973) Constitutive heterochromatin and the repeated DNA sequences of mammals. En: Pfeiffer RA (ed) Modern aspects of cytogenetics: constitutive heterochromatin in man. Symp Med Hoechst No. 6. Schattauer, Stuttgart, pp 5-17.
27. - Miklos GLG, John B (1979) Heterochromatin and satellite DNA in man: properties and prospects. *Am J Hum Genet* 31: 264-280.
28. - Arrighi FE, Saunders PP, Saunders GF, Hsu TC (1971) Dis

- tribution of repetitious DNA in human chromosomes. *Experientia* 27: 964-966.
- 29.- Jones KW, Corneo G (1971) Location of satellite and homogeneous DNA sequences on human chromosomes. *Nature New Biol* 233: 268-271.
- 30.- Flamm WG (1972) Highly repetitive sequences of DNA in chromosomes. *Int Rev Cytol* 32: 1-51.
- 31.- Hsu TC, Arrighi FE, Saunders GF (1972) Compositional heterogeneity of human heterochromatin. *Proc Nat Acad Sci USA* 69: 1464-1466.
- 32.- Yunis JJ, Tsai MY, Willey AM (1977) Molecular organization and function of the human genome. En: Yunis JJ (ed) *Molecular structure of human chromosomes*. Academic Press, New York, pp 1-33.
- 33.- Jones KW (1977) Repetitive DNA and primate evolution. En: Yunis JJ (ed) *Molecular structure of human chromosomes*. Academic Press, New York, pp 295-326.
- 34.- Macaya G, Thierry JP, Barnardi G (1977) DNA sequences in man. En: Yunis JJ (ed) *Molecular structure of human chromosomes*. Academic Press, New York, pp 35-58.
- 35.- Bobrow M, Madan K, Pearson PL (1972) Staining of some specific regions of human chromosomes, particularly the secondary constriction of No 9. *Nature New Biol* 238: 122-124.
- 36.- Donlon TA, Magenis RE (1981) Structural organization of the heterochromatic region of human chromosome 9. *Chromosoma* 84: 353-363.
- 37.- Drets ME, Seuanes H (1974) Quantitation of heterogeneous

- human heterochromatin: microdensitometric analysis of C- and G-bands. En: Coutinho EM, Fuchs F (eds) Physiology and genetics of reproduction, Part A. Plenum Press, New York, pp 29-52.
- 38.- Wang HS, Hamerton JL (1979) C-band polymorphisms of chromosomes 1, 9 and 16 in four subgroups of mentally retarded patients and a normal control population. Hum Genet 51: 269-275.
- 39.- Buys CHCM, Gouw WL, Blenkers JAM, van Dalen CH (1981) Heterogeneity of human chromosome 9 constitutive heterochromatin as revealed by sequential Distamycin A/DAPI staining and C-banding. Hum Genet 57: 28-30.
- 40.- Wagner H, Pawlowitzki IH (1981) Quantification of C-band polymorphisms by centromeric elevations (C<sub>0</sub>-bands). Hum Genet 58: 302-305.
- 41.- Limon J, Gibas Z, Kaluzewski B, Noruzgala T (1979) Demonstration of two different regions of lateral asymmetry in human Y chromosomes. Hum Genet 51: 247-252.
- 42.- Brito-Babapulle V (1981) Lateral asymmetry in human chromosomes 1, 3, 4, 15 and 16. Cytogenet Cell Genet 29: 198-202.
- 43.- Comings DE, Avelino E, Okada TA, Wyandt HE (1973) The mechanism of C- and G-banding of chromosomes. Exptl Cell Res 77: 469-493.
- 44.- Holmquist G (1979) The mechanism of C-banding: depurination and 6-elimination. Chromosoma 72: 203-224.
- 45.- Sumner AT (1982) The nature and mechanisms of chromosome banding. Cancer Genet Cytogenet 6: 59-87.

- 46.- Craig-Holmes AP, Shaw MW (1971) Polymorphism of human - constitutive heterochromatin. Science 174: 702-704.
- 47.- McKenzie WH, Lubs HA (1975) Human O and C Chromosomal - variations: distribution and incidence. Cytogenet Cell Genet 14: 97-115.
- 48.- Müller HJ, Klinger HP, Glasser M (1975) Chromosome Poly morphism in a human newborn population. II Potentials - of polymorphic chromosome variants for characterizing - the idiogram of an individual. Cytogenet Cell Genet 15: 239-255.
- 49.- Huckton KE, O'Riordan ML, Jacobs PA, Robinson JA, Hill R, Evans HJ (1976) C- and Q-band polymorphisms in the - chromosomes of three human populations. Ann Hum Genet - 40: 99-112.
- 50.- Ghosh PK, Singh IP (1976) Morphologic variability of hu man chromosomes: polymorphism of constitutive hetero\_ chromatin. Hum Genet 32: 149-154.
- 51.- Lelikova GP, Tzvetkova TG (1976) On polymorphism of - near centromeric heterochromatin in the population of - healthy humans (Russian). Genetika 12: 136-141.
- 52.- Verma RS, Dosik H, Lubs HA (1978) Size and pericentric inversion heteromorphisms of secondary constriction re gions (h) of chromosomes 1, 9 and 16 as detected by CBG technique in caucasians: classification, frequencies - and incidence. Am J Med Genet 2: 331-339.
- 53.- Beltran IC, Robertson FW, Page RM (1979) Human Y chromo some variation in normal and abnormal babies and their fathers. Inn Hum Genet., Lond 42: 315-325.

- 54.- Fogle TA, McKenzie WH (1980) Cytogenetic study of a large black kindred: inversions, heteromorphisms and segregation analysis. Hum Genet 55: 345-352.
- 55.- Nand R, Rani R, Ghosh PK (1981) Polymorphism of constitutive heterochromatin in two north Indian populations Punjabis and Rajputs. Genetica 54: 261-264.
- 56.- Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF (1971) Mendelian populations. Kennedy D, Park RB (eds) The genetics of human populations. WH Freeman and Company, San Francisco, pp. 39-70.
- 57.- Lubs HA, Kimberling WJ, Hecht F, Patil SR, Brown J, Gerald P, Summitt RL (1977) Racial differences in the frequency of Q and C chromosomal heteromorphisms. Nature 268: 631-633.
- 58.- Matsuura J, Mayer M, Jacobs P (1978) A cytogenetic survey of an institution of the mentally retarded. II C-band chromosome heteromorphisms. Hum Genet 45: 33-41.
- 59.- Metaxotou C, Kalpini-Mavrou A, Panagou M, Tsenghi C -- (1978) Polymorphism of chromosome 9 in 600 Greek subjects. Am J Hum Genet 30: 85-89.
- 60.- Podugolnikova OA, Sushanlo HM, Parfenova IV, Prokofieva Belgovskaja AA (1979) The quantitative analysis of polymorphism on human chromosomes 1, 9, 16 and Y. II Comparison of the C segments in male and female individuals (group characteristics). Hum Genet 49: 251-260.
- 61.- Podugolnikova OA, Sushanlo HM, Parfenova IV, y cols -

- (1980) Variability of heterochromatic regions of human chromosomes 1, 9, 16 and Y. *Genetika* 16: 720-726.
- 62.- Craig-Holmes AP, Moore EB, Shaw MW (1973) Polymorphism of Human C-band heterochromatin. I Frequency of variants. *Am J Hum Genet* 25: 181-192.
- 63.- Fitzgerald PH (1973) The nature and inheritance of an elongated secondary constriction of chromosome 9 of men. *Cytogenet Cell Genet* 12: 404-413.
- 64.- Carnevale A, Ibañez BB, del Castillo V (1976) The segregation of C-band polymorphisms on chromosomes 1, 9 and 16. *Am J Hum Genet* 28: 412-416.
- 65.- Pearson PL, Geraedts JPM, van der Linden AGJM (1973) Human chromosome polymorphism. En: Pfeiffer RA (ed) *Modern aspects of cytogenetics: constitutive heterochromatin in man*. Symp Med Hoechst No 6. Schattauer, Stuttgart, - pp 201-213.
- 66.- de la Chapelle A, Schröder J, Stenstrand K, Fellman J, Herva R, Saarni M, Anttolainen I, Tallila I, Tervilä L, Husa L, Tallqvist G, Robson EB, Cook PJJ, Sanger R (1974) Pericentric inversions of human chromosomes 9 and 10. - *Am J Hum Genet* 26: 746-766.
- 67.- Madan K, Bobrow M (1974) Structural variation in chromosome No. 9. *Ann Génét* 17: 81-86.
- 68.- Magenis E, Palmer CG, Wang L, Brown M, Chamberlin J, - Parks M, Merritt AD, Rivas M, Yu PL (1977) Heritability of chromosome banding variants. En: Hook EB, Porter IH (eds) *Population cytogenetics. Studies in humans*. Academic Press, New York, pp 179-188.

- 69.- Phillips RB (1977) Inheritance of O and C band polymorphisms. *Can J Genet Cytol* 19: 405-413.
- 70.- Balíček P, Zizka J, Skalská (1978) Variability and familial transmission of constitutive heterochromatin of human chromosomes evaluated by the method of linear measurement. *Hum Genet* 42: 257-265.
- 71.- Mayer M, Matsuura J, Jacobs P (1978) Inversions and other heteromorphisms detected by C-banding. *Hum Genet* 45: 43-50.
- 72.- Dar H, Winter ST (1969) A cytogenetic study of familial deafness. *J Med Genet* 6: 298-303.
- 73.- Palmer CG, Schroder J (1971) A familial variant of chromosome 9. *J Med Genet* 8: 202-208.
- 74.- Robinson JA, Buckton KE, Spowart G, Newton M, Jacobs PA, Evans HJ, Hill R (1976) The segregation of human chromosome polymorphisms. *Ann Hum Genet* 40: 113-121.
- 75.- Hoehn H, Martin GM (1973) Clonal variants of constitutive heterochromatin of human fibroblasts after recovery from Mitomycin treatment. *Chromosoma* 43: 203-210.
- 76.- Craig-Holmes AP, Moore FB, Shaw MW (1975) Polymorphism of human C-band heterochromatin. II Family studies with suggestive evidence for somatic crossing over. *Am J Hum Genet* 27: 178-189.
- 77.- Hansmann I (1976) Structural variability on human chromosome 9 in relation to its evolution. *Hum Genet* 31: 247-262.

- 78.- Kurnit DM (1979) Satellite DNA and heterochromatin variants: the case for unequal mitotic crossing over. *Hum Genet* 47: 169-186.
- 79.- German J (1964) Cytological evidence for crossing over in vitro in human lymphoid cells. *Science* 144: 298-301.
- 80.- German J (1973) Genetic disorders associated with chromosomal instability and cancer. *J Invest Dermatol* 60: 427-434.
- 81.- Shaw MW, Cohen MM (1965) Chromosome exchanges in human leukocytes induced by Mitomycin C. *Genetics* 51: 181-190.
- 82.- Hsu TC, Pathak S (1976) Differential rates of sister chromatid exchanges between euchromatin and heterochromatin. *Chromosoma* 58: 269-273.
- 83.- Schubert I, Rieger R (1981) Sister chromatid exchanges and heterochromatin. *Hum Genet* 57: 119-130.
- 84.- Hoehn H, Au K, Karp LE, Martin GM (1977) Somatic stability of variant C-band heterochromatin. *Hum Genet* 35: 163-168.
- 85.- Simi S, Tursi F (1982) Polymorphism of human chromosomes 1, 9, 16, Y: variations, segregation and mosaicism. *Hum Genet* 62: 217-220.
- 86.- Buys CHCM, Ypma JMM, Gouw WL (1979) Complete deficiency of constitutive heterochromatin on a human chromosome 9. *Hum Genet* 49: 129-132.
- 87.- Brown T, Robertson FW, Dawson BM, Hanlin SJ, Page BM (1980) Individual variation of centric heterochromatin in man. *Hum Genet* 55: 367-373.
- 88.- Sushanlo HM, Podugolnikova OA, Marincheva GS, y cols -

- (1981) Comparative analysis of polymorphism of heterochromatic regions on chromosomes 1, 9, 16 and Y in normal and mild mentally retarded children. *Genetika* 74: 726-731.
- 89.- Gardner RJM, McCreanor HR, Parslow MI, Veale AMO (1974) Are 1q<sup>+</sup> chromosomes harmless?. *Clin Genet* 6: 383-393.
- 90.- Kunze J, Mau G (1975) A<sub>1</sub> and C<sub>9</sub> marker chromosomes in children with combined. *Lancet* 1: 273.
- 91.- Halbrecht I, Shabtay F (1976) Human chromosome polymorphism and congenital malformations. *Clin Genet* 10: 113-122.
- 92.- Yamada K, Ohta M, Yoshimura K, Hasekura (1981) A possible association of Y chromosome heterochromatin with stature. *Hum Genet* 58: 268-270.
- 93.- Boué J, Taillemite JL, Hazael-Massieux P, Léonard C, -- Boué A (1975) Association of pericentric inversion of chromosome 9 and reproductive failure in ten unrelated families. *Hum Genet* 30: 217-224.
- 94.- Tsenghi C, Metaxotou-Stavridaki C, Strataki-Renetou M, Kalpini Mavrou A, Matsaniotis N (1976) Chromosome studies in couples with repeated spontaneous abortions. *Obstet Gynecol* 47: 463-468.
- 95.- Ford JH, Callen DF, Roberts CG, Jahnke AR (1983) Interactions between C-bands of chromosomes 1 and 9 in recurrent reproductive loss. *Hum Genet* 63: 58-62.
- 96.- Cohen G, Manuel A, Cohen M, Fagan K, Grunstein H (1983) A deletion of heterochromatin only of the Y chromosome in an azoospermic male. *Hum Genet* 64: 297-300.

- 97.- Verp MS, Rzeszotarski MS, Martin AO, Simpson JL (1983)-  
Relationship between Y-chromosome length and first-tri-  
mester spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 145:  
433-438.
- 98.- Hemming L, Burns C (1979) Heterochromatic polymorphism  
in spontaneous abortions. *J Med Genet* 16: 358-362.
- 99.- Alimena G, Annino L, Balestrazzi P, Montuoro A, Dallapi-  
ccola B (1977) Cytogenetic studies in acute leukaemias.  
Prognostic implications of chromosome imbalances. *Acta*  
*Haemat* 58: 234-239.
- 100.- Atkin NB, Pickthall VJ (1977) Chromosomes 1 in 14 ova\_-  
rian cancers heterochromatin variants and structural --  
changes. *Hum Genet* 38: 25-33.
- 101.- Atkin NB (1977) Chromosome 1 heteromorphism in patients  
with malignant disease: a constitutional marker for a -  
high-risk group?. *Brit Med J* 1: 358.
- 102.- Berger R, Bernheim A (1977) Anomalie de fréquence du -  
chromosome 1q dans la leucémie myéloïde chronique. *C R*  
*Acad Sc Paris*, t. 285: 1183-1185.
- 103.- Atkin NB, Baker MC (1979) Chromosome 1 in 26 carcinomas  
of the cervix uteri structural and numerical changes. -  
*Cancer* 44: 604-613.
- 104.- Shabtai F, Halbrecht I (1979) Risk of malignancy and -  
chromosomal polymorphism: a possible mechanism of asso-  
ciation. *Clin Genet* 15: 73-77.
- 105.- Atkin NB, Brito-Babapulle V (1981) Heterochromatin poly

- morphism and human cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 3: 261-272.
- 106.- Petković I (1983) Constitutive heterochromatin of chromosomes No. 1, 9 and 16 in 90 patients with malignant disease and 91 controls. *Cancer Genet Cytogenet* 10: 151-158.
- 107.- Crossen PE (1975) Giemsa banding patterns in chronic lymphocytic leukaemia. *Hum Genet* 27: 151-156.
- 108.- Aguilar L, Lisker R, Ruz L, Mutchinick O (1981) Constitutive heterochromatin polymorphisms in patients with malignant diseases. *Cancer* 47: 2437-2439.
- 109.- Funderburk SJ, Klisak I, Sparkes RS, Westlake J (1980) C-band polymorphism: comparison between trisomy 21 cases and mentally retarded controls. *Am J Med Genet* 5: 265-269.
- 110.- Chaganti RSK, Witkamp LR, Fleming J, Miller G, German J (1975) Polymorphic chromosomes and gene assignment in man. *Cytogenet Cell Genet* 14: 263-268.
- 111.- Ferguson-Smith MA, Ellis PM, Mutchinick O, Glen KP, Côté GB, Edwards JH (1975) Centromeric linkage. *Cytogenet Cell Genet* 14: 300-307.
- 113.- Viégas J, Salzano FM (1978) C-bands in chromosomes 1, 9 and 16 of twins. *Hum Genet* 45: 127-130.
- 114.- Benyush VA, Luckash VG, Shtannikov AV (1977) Quantitative analysis of C-bands based on optical density profiles in human chromosomes. *Hum Genet* 39: 169-175.
- 115.- Sumner AT (1977) Estimation of the sizes of polymorphic

- C-bands in man by measurement of DNA content of whole chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 19: 250-255.
- 116.- Mason DC, Lauder IJ, Spowart GS (1978) Automated measurements on human C-bands in family studies. *Cytogenet - Cell Genet* 21: 251-266.
- 117.- Azumi J-i, Nakagome Y, Matsunaga E (1979) A new approach in the evaluation of C-positive variants in man. *Jap J Hum Genet* 24: 99-104.
- 118.- Erdtmann B, Salzano FM, Mattevi MS, Flores R (1981) - Quantitative analysis of C bands in chromosomes 1, 9 - and 16 of Brazilian indians and caucasoids. *Hum Genet* - 57: 58-63.
- 119.- Erdtmann B, Salzano FM, Mattevi S (1981) Size variability of the Y chromosome distal C-band in Brazilian indians and caucasoids. *Ann Hum Biol* 8: 415-424.
- 120.- Podugolnikova OA, Parfenova IV, Sushanlo HM, Prokofieva Belgovskaja AA (1979) The quantitative analysis of polymorphism on human chromosomes 1, 9, 16 and Y. I Description of individual karyotypes. *Hum Genet* 49: 243-250.
- 121.- Podugolnikova OA (1979). The quantitative analysis of - polymorphism on human chromosomes 1, 9, 16 and Y. III - Study of relationships of C segments' lengths in individual karyotypes. *Hum Genet* 49: 261-268.
- 122.- Podugolnikova OA, Korostelev AP (1980). The quantitative analysis of polymorphism on human chromosomes 1, 9, 16 and Y. IV Heterogeneity of a normal population. *Hum. Genet* 54: 165-169.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- 123.- Staessen C, Kirsch-Volders M, Susanne C (1982). Comparison of two measuring methods for the evaluation of C-heterochromatin in human chromosomes. Hum Genet 61: 68-70.
- 124.- Salamanca F, Armendares S (1974) C bands in human meta phase chromosomes treated by Barium Hydroxide. Ann. - Génét 17: 135-136.
- 125.- Balceek P, Zizka J, Skalská H (1977) Length of human - constitutive heterochromatin in relation to chromosomal contraction. Hum Genet 38: 189-193.
- 126.- Paris Conference (1971) Standardization in human cyto genetics. Birth Defects Orig Art Ser VIII/7 New York, - National Foundation (1972).
- 127.- Schmiady H, Sperling K (1976) Length of human C-bands in relation to the degree of chromosome condensation. Hum Genet 35: 107-111.