

UN NUEVO MEDIO DE EXPLORACION GENETICA. LA MORFOLOGIA NORMAL Y PATOLOGICA DE LOS CROMOSOMAS HUMANOS*

DR. MARIO SALAZAR MALLÉN, Q.B.P.
SALOMÓN CALDERÓN, TERESITA ARIAS
Y LIBRADO ORTIZ.**

EL NÚMERO Y LA morfología general de los cromosomas son constantes en las diferentes especies. Policard¹ da valores desde 4 hasta 200, puntualizando que en las mayoría de los casos las cifras quedan entre 12 y 50.

En los primates el número que se admite varía desde 34 (*Ateles geoffroyi* un mono araña), hasta 66 (*Cercopithecus mona mona*), predominando las fórmulas con 42 en los macacos, mientras que el chimpancé (*Pan troglodytes*) tiene 48.²

Los datos que al principio se aceptaron para el hombre fueron equivocados: Boveri (citado por Policard) encontró 47 ó 48 cromosomas, de Winiwarter fijó el número en 47³ y Painter en 48.⁴ Durante 35 años y por falta de técnicas apropiadas el asunto no mereció confirmación o rectificación, hasta que en 1956 Tjio y Levan⁵ demostraron que el número verdadero y normal era de 46, aseveración ratificada posteriormente por todos los autores con excepción de Kodani,⁶ quien dijo haber encontrado 2 cromosomas "supernumerarios" en los japoneses. En la actualidad no existen dudas en lo tocante a la veracidad del dato de Tjio y Levan, y Court Brown, Jacobs y Doll⁷ después de estudiar minuciosamente las cuentas de 10 individuos sanos y de 57 enfermos concluyeron que a la vista de valores diferentes del número de cromosomas en el mismo individuo debía concluirse dando valor al número modal, ya que las cifras inferiores o superiores a éste son susceptibles, salvo en el caso de "mosaicos", de interpretación como artefactos (ruptura celular y pérdida de cromosomas, con eventual ganancia de éstos por parte de otro conjunto). Por otra parte, Makino y Sasaki⁸ no pudieron confirmar los datos de Kodani y el número de cromosomas ha sido, en fin, encontrado normal (46) en un aborigen australiano

* Leído en la sesión del 7 de junio de 1961.

** Laboratorio de Investigaciones Inmunológicas de la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

(Harnden, 1961) ⁹ y en un indígena mexicano "puro" (Salazar Mallén y col., 1961),¹⁰ lo cual puntualiza la constancia de la cifra encontrada por Tjio y Levan para las diferentes razas humanas.

Pero no solamente existe uniformidad en lo tocante al número de los cromosomas de los sujetos normales, sino que se sabe asimismo que la morfología de estos elementos es comparable en los diferentes sujetos si se toman en cuenta el tamaño: cromosomas grandes, medianos y chicos; la situación del centrómero: cromosomas "M" con centrómero mediano o submediano, cromosomas "S" con centrómero subterminal y cromosomas "A" o acrocéntricos con centrómero casi terminal,¹¹ y la presencia de "satélites" (no siempre revelada en las preparaciones), en tres pares definidos de cromosomas.

A favor de lo dicho es posible entonces determinar la fórmula cromosómica o cariotipo y para el efecto se procede como sigue:

1. TEJIDOS POR ESTUDIAR

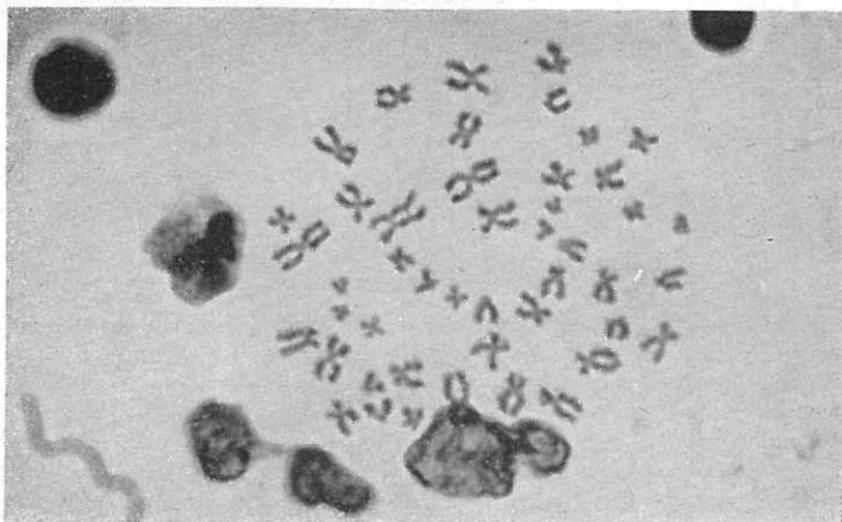
En teoría no hay restricción tocante a los tejidos que pueden servir para investigar el cariotipo: Tjio y Levan¹² trabajaron con cultivos de tejido pulmonar de embriones, Hansen-Melander y Melander (citados en Ford y Hamerton, 1956) ¹³ estudiaron el hígado de embriones en cultivos también, los autores franceses (Lejeune, Gautier y Turpin, 1959) ¹⁴ cultivan tejido conjuntivo obtenido quirúrgicamente, mientras que Ford, Jacobs y Lathja (1958) ¹⁵ propusieron cultivar médula ósea. En el momento presente merecen preferencia el cultivo de sangre venosa según Hugerford y col. (1959) ¹⁶ y el de piel, recomendado por Harnden (1960).¹⁷ Nosotros empleamos rutinariamente el hemocultivo, siguiendo la técnica que nos fue enseñada por Jacobs, e iniciaremos pronto para estudiar tejidos la técnica de Harnden (1960).¹⁸

2. TIEMPOS IMPORTANTES DE LA TÉCNICA

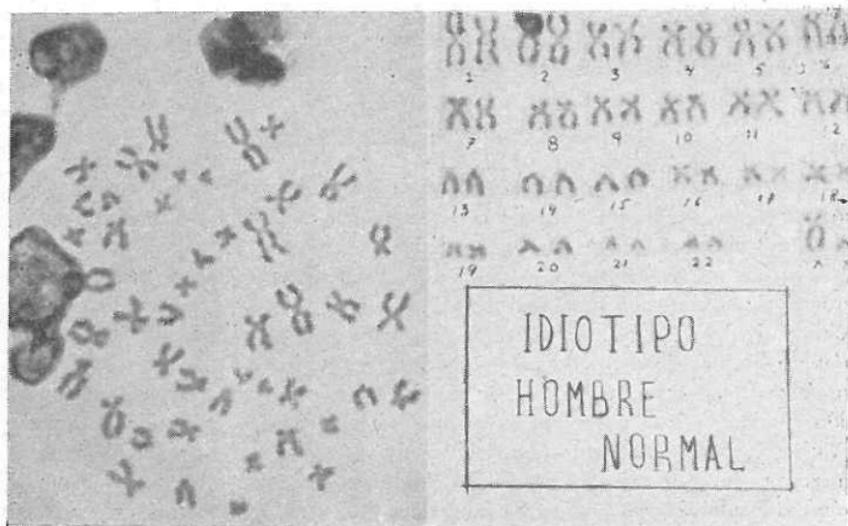
Una vez obtenida la sangre se permite su desarrollo en el medio por dos o tres días, momento en el cual se le añade, con el objeto de detener a las células que se dividen en la metafase, solución de colchicina (Colcimid "Ciba"); dos o tres horas después se recogen los elementos figurados y se someten a la influencia de una solución hipotónica, a favor de lo cual se produce una hinchazón y dispersión de los cromosomas; para obtener un campo en un solo plano comprimimos entre porta y cubreobjetos la capa celular (*squash*) y procedemos a la tinción de Feulgen, que es específica de las nucleoproteínas.

3. OBSERVACIÓN PROPIAMENTE DICHA

La observación se hace con objetivo de inmersión (óptica-apocromática como la de Zeiss-Jena o de Leitz), siendo el primer paso la determinación del nú-



GRÁFICA 1



GRÁFICA 2

mero (modal) de cromosomas y después el análisis (clasificación) de los cromosomas de algunas células con números modales. Para facilitar este último paso es conveniente fotografiar los buenos campos y construir, poniendo en orden de tamaño cada uno de los cromosomas, un "idiotipo". Si se observa que el número de cromosomas se distribuye alrededor de un valor modal y de otro cuya frecuencia sea superior a la que se sabe que se produce como un artificio (más de un 15% de células con número inferior o más del 10% con número superior a la "moda"), puede tratarse de un mosaico.

4. RESULTADOS

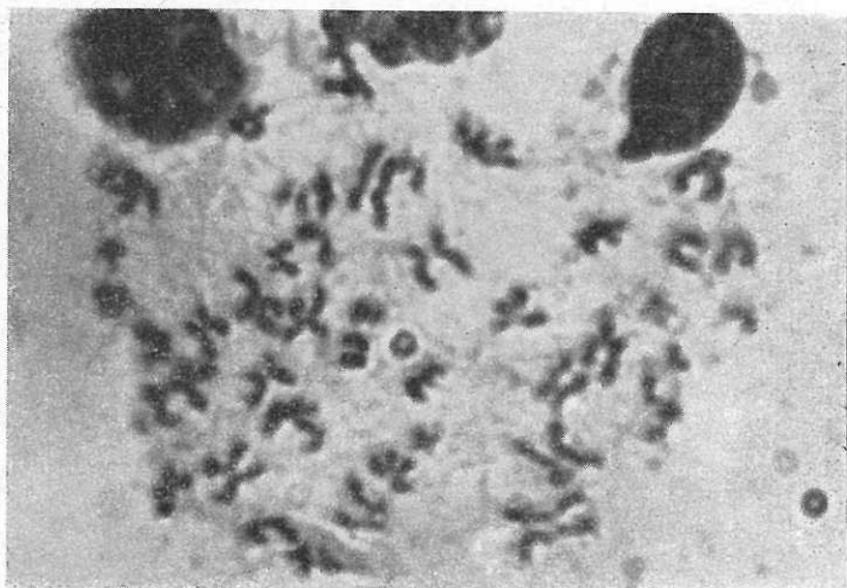
A continuación presentamos una microfotografía de una célula normal masculina (indígena) (Fig. 1). El número de cromosomas es de 46 y se ven 5 pequeños cromosomas acrocéntricos, unos de los cuales (el mayor) es probablemente el "Y" que caracteriza en el hombre al sexo masculino. El idiograma (Fig. 2) permite numerar los cromosomas siguiendo el orden propuesto en Denver, véase que el cromosoma 14 tiene satélites grandes y también los presenta el 13 pero más pequeños. En el grupo de cromosomas acrocéntricos chicos el par 21 deja ver a veces este mismo tipo de prolongaciones.

Veamos ahora una célula femenina (Fig. 3), el número de cromosomas es también 46, pero sólo hay 4 cromosomas acrocéntricos chicos (falta el "Y"); en lugar del faltante se supone que uno de los cromosomas medianos que se presenta en exceso en comparación con el hombre es el "X", ya que la mujer normal tiene dos cromosomas "X" (XX), a diferencia del hombre, cuya fórmula es XY.

5. MORFOLOGÍA PATOLÓGICA DE LOS CROMOSOMAS

Para comprender mejor las anomalías cromosómicas conviene recordar algunos conceptos de la dinámica de la reproducción celular y de la fecundación, y algunos términos que se usan en genética:

a) Un primer asunto es el relativo al número normal de cromosomas y al proceso de maduración que conduce a la formación de los gametos (espermatozoide y óvulo). Cuando en párrafos anteriores hemos hablado de 46 como el número normal de cromosomas humanos, nos referimos al caso de las células somáticas, pues tratándose de las ovogonias y las espermatogonias su reproducción conduce a una reducción a la mitad del material hereditario; la meiosis, en efecto, es funcionalmente una doble división celular, con una sola de los cromosomas, de aquí que del número diploide de cromosomas ($2n$) se llegue al número haploide (n) que es el que tienen los gametos maduros, es decir, el óvulo y el espermatozoide. El resultado neto es el de que al hacerse la fecundación el huevo adquiera mediante suma el número normal de cromosomas ($2n$).



GRÁFICA 3

GRÁFICA 4

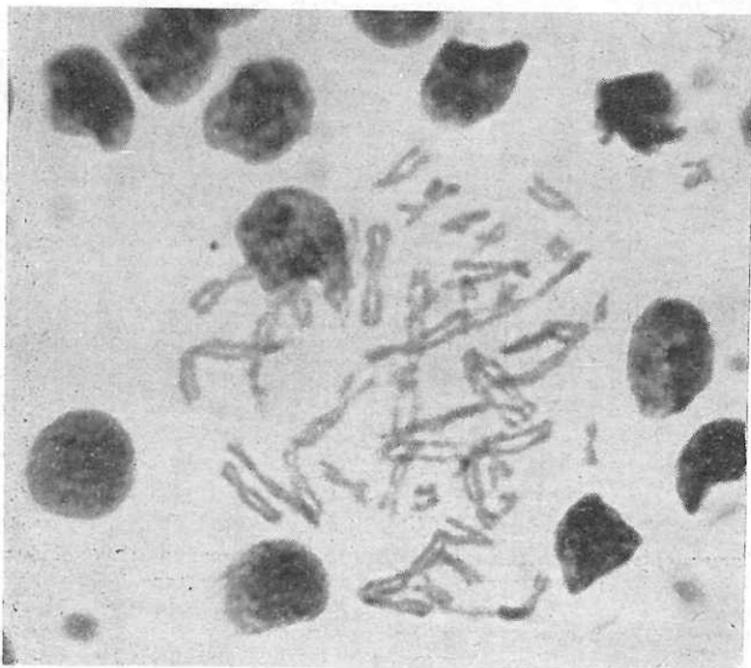
CROMOSOMAS DEL SEXO DE LOS GAMETOS Y DE LOS ZIGOTOS, EN CASOS NORMALES Y CON "N-SEPARACIÓN" EN UNO O AMBOS PADRES (Harnden, 1961, modificada)

	Padre (XY)		Meiosis normal	No-separación (non-disjunction)				
	esperma	óvulo		en la 1ª div.		en la 2ª div.		
madre (XX)			X X	XY	O	O XX	O YY	O
Meiosis normal	X		XX XY	X XY	X O	XX	YY	O
No-separación en la 1ª div.	XX		XX X XX Y	XX XY XX O	O	X XX	X YY	X O
	O		O X O Y	O XY	O	XX XX	XX YY	XX O

XYY: mujer, amenorrea hipoplasia mamaria.
 XXXY: Klinefelter (oligofrenia?)
 XXXX: mujeres normales (oligofrenia?)
 XXYY: hombre (acromegalia? hipoplasia testicular, oligofrenia?)

XXX: Mujer normal.
 XY: hombre normal.
 XXY: síndrome de Klinefelter (ipospadias?)
 XO: síndrome de Turner.
 XXX: supermujer (infantilismo genital? oligofrenia?)

Ahora bien, durante este proceso de reducción cromática puede presentarse la anomalía de que bien en la primera, bien en la segunda división, una pareja de cromosomas deje de separarse, fenómeno conocido como "no-separación" (*non-disfunction*), y que da como resultado la formación de gametos y de hue-

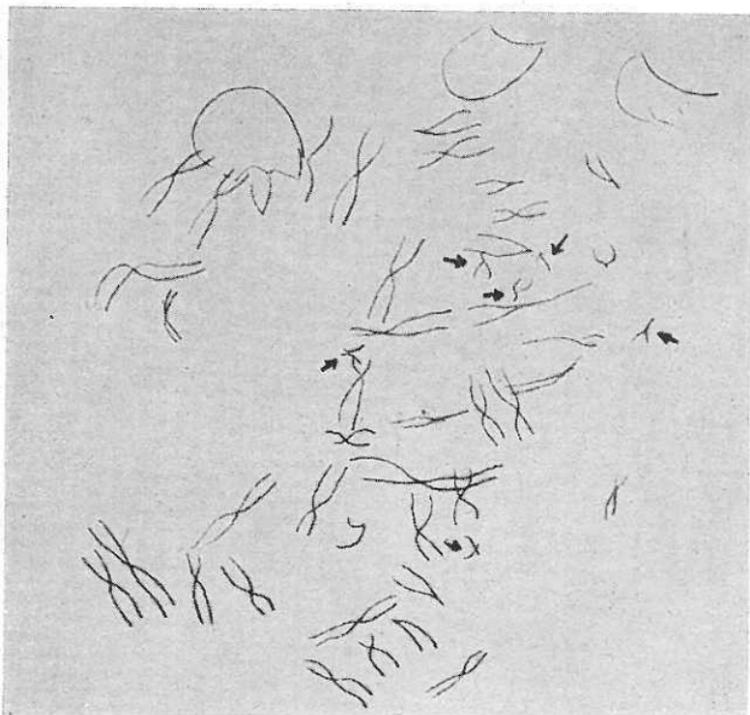


GRÁFICA 5

vos con un número anormal de cromosomas (aneuploidía). El proceso queda explicado en la tabla número "1" tomada de Harnden (1961).¹⁹ (Fig. 4.)

Esta tabla analiza el caso para los cromosomas del sexo, de aquí que las fórmulas sean las de productos cromosómicamente normales (XX o XY) o anormales por exceso de alguno de los cromosomas del sexo (el X o el Y) o por déficit (úsase en este caso la letra "O" que significa ausencia o cero). Un proceso análogo puede afectar los cromosomas somáticos, produciendo casos de exceso fuera del cromosoma "X" o del "Y" y de hecho en ciertas formas de mongolismo (Lejeune y col. (1959)²⁰ y Jacobs y col. (1959)²¹ se ha comprobado la trisomía para el cromosoma 21 (Figs. 5 y 6). Casos comparables en

su patogénesis es la de trisomía para el cromosoma 13 (uno de los acrocéntricos grandes) del que dieron cuenta Patau y col. (1960), cuya enferma tenía múltiples malformaciones (labio leporino, paladar hendido, polidactilia, malformación congénita del corazón y coloboma) y otro del 17, reportado por Edwards y

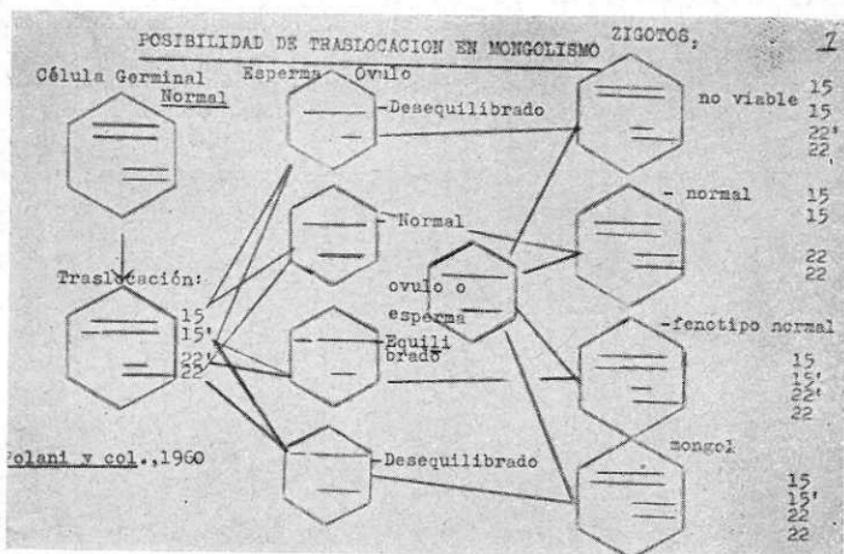


GRÁFICA 6

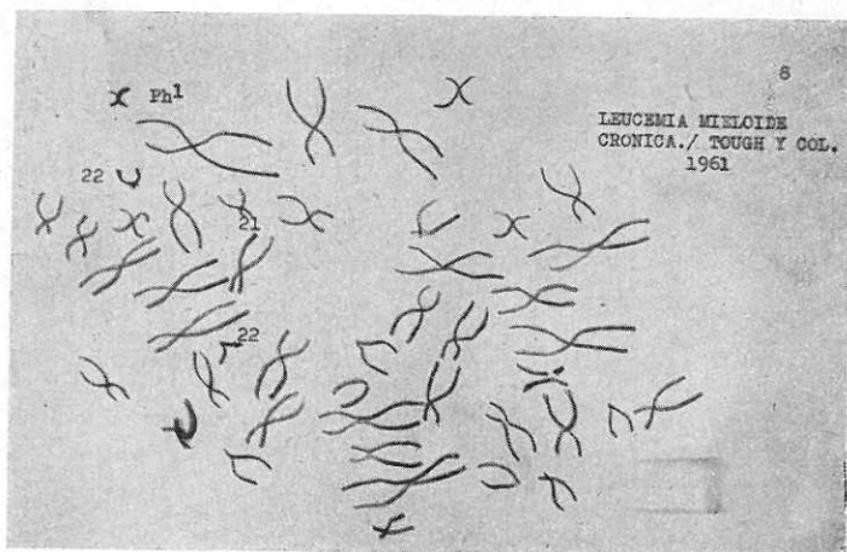
col. (1960) ²³ en un producto con cuello de esfinge, sindactilia, anomalías del tórax y del corazón.

En un caso, en fin, Book y Santesson (1960) ²⁴ encontraron un número triple de cromosomas (triploidía con $3n$). El sujeto tenía porencefalia, lipomatosis, micrognatia y sindactilia.

b) Otro fenómeno cromosómico importante es el del paso del material de un cromosoma a otro cromosoma, o traslocación. Esta anomalía ocurre probablemente durante la gametogénesis y explica los casos de mongolismo con núme-



GRÁFICA 7



GRÁFICA 8

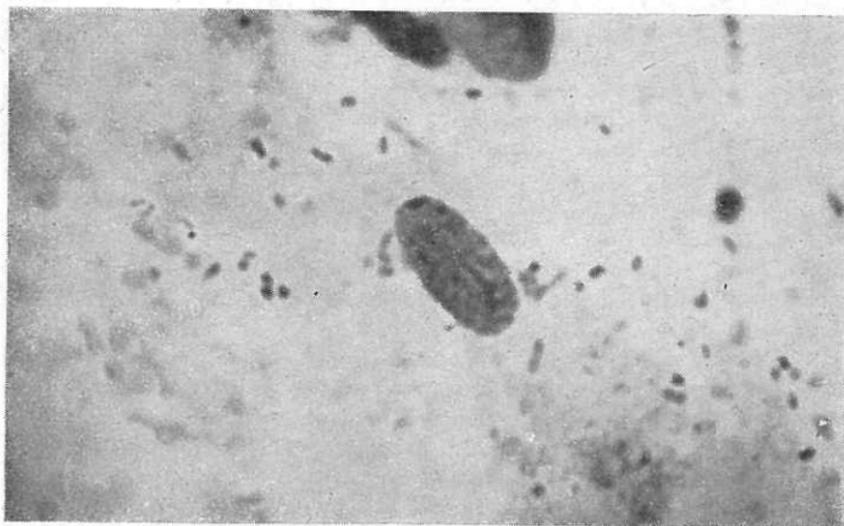
ro normal de cromosomas (sin trisomía) descritos por Fraccaro y col. (1960)²⁵ y por Polani y col.,²⁶ en el último ejemplo, ilustrado en la (Fig. 7) (tomada de Polani)²⁷ la explicación sería la del paso de la mayor parte del material cromosómico del cromosoma número 21 al número 13, la trisomía existiría entonces funcionalmente, aunque morfológicamente sólo se expresaría por un cromosoma 13 más grande que el normal, resultado de la fusión de sus elementos con los del autosoma extra (el número 21), característico del mongolismo.

Semejante es el razonamiento para un caso de monsomía descrito por Turpin y col. (1959),²⁸ el síndrome se manifestaba por múltiples anomalías vertebrales (polidispondilismo) y el cariotipo del sujeto reveló 45 cromosomas con traslocación del número 22 al 13.

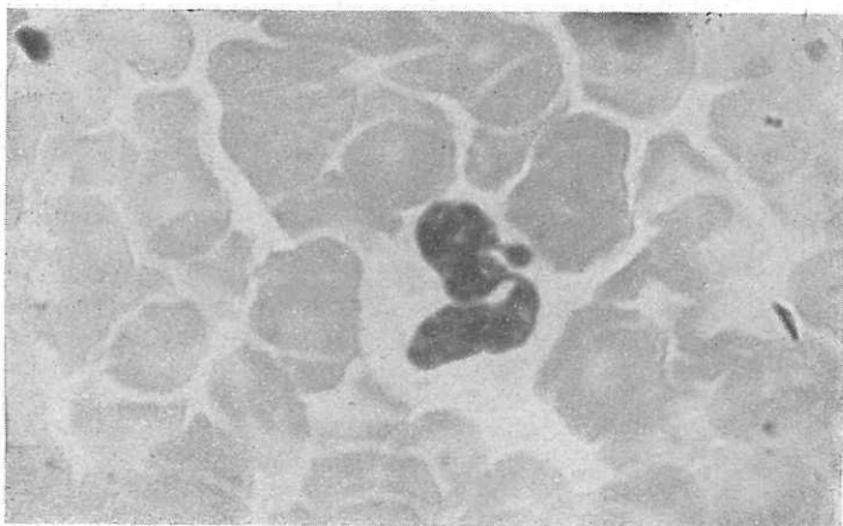
Jacobs y col (1960),²⁹ en fin, encontraron una paciente con amenorrea primaria y un número normal de cromosomas, pero uno de los cromosomas X aparecía incompleto (deleción) situación que resultaría a fin de cuentas intermedia entre la constitución normal femenina XX y la anormal XO de la enfermedad de Turner.

c) En las células cancerosas se han encontrado diversas anomalías, tanto en lo tocante al número como a la morfología de los cromosomas: número anormal (147 cromosomas en un cáncer mamario), triploidia, cromosomas en anillo, cromosomas con una o múltiples constricciones, etc., pero estas anomalías no pueden considerarse, pese a su magnitud, específicas. De mucho interés es, sin embargo, el reciente informe de Tough y col. (1961)³⁰ quienes confirmando un trabajo previo de Nowell y Hungerford (1960)³¹ verifican en algunos casos de leucemia mieloide crónica la presencia de un cromosoma 21 pequeño, y apuntan la posibilidad de que en esta hemopatía ocurra una deleción funcionalmente importante por tocar un locus relacionado con la leucopoyesis (Fig. 8).

d) Mosaicos: los casos de "no separación" o de "traslocación" a los que se ha hecho referencia con anterioridad se explican por un comportamiento cromosómico anormal previo a la fecundación, pero es posible que anomalías de la misma clase ocurran en las divisiones mitóticas del huevo, dando lugar a individuos con una composición cromosómica diferente en sus tejidos. Las cuentas de cromosomas son entonces bimodales, como en los casos descritos por Ford (1959)³² de un sujeto XX/XXY con síndrome de Klinefelter y de otro con fórmula XO/XX y síndrome de Turner. Posteriormente se han encontrado numerosos casos de mosaicos, pero uno de los más interesantes es el de Jacobs y col. (1960)³³ en una mujer con amenorrea primaria, con rasgos masculinos y con fórmula XXX/XO en las células de la piel, pero cuya médula contenía casi exclusivamente elementos con 45 cromosomas y fórmula XO. Es precisamente



GRÁFICA 9



GRÁFICA 10

en los casos de mosaicos en los que procede un estudio repetido de los cultivos y la toma de muestras de diferentes tejidos.

6. PROCEDIMIENTOS AUXILIARES EN LOS ESTUDIOS DE CITOGENÉTICA

El material cromosómico puede estudiarse en las células en reposo (en interfase) y de esta manera se obtienen datos valiosos para el diagnóstico del sexo. En la práctica se acepta que las células somáticas femeninas (XX) tienen un cuerpo heterocromatínico, cuya tinción diferencial es posible, según podemos demostrar con las microfotografías que se hacen notar, la primera fue teñida con violeta de cresil (Fig. 9) y la segunda con el rojo verde según Guard; como los cuerpos heterocromatínicos no existen o se presentan en muy baja proporción en los hombres normales se tiene un elemento auxiliar para el diagnóstico del sexo. Puede tener un mecanismo semejante al descrito, la existencia de una clava en los polimorfonucleares de la sangre de las mujeres (Fig. 10) y ello constituye otro elemento de estudio y de diagnóstico del sexo muy importante. Más aún, empíricamente se ha visto que el número de cuerpos heterocromatínicos y el de clavos tiene relación con la fórmula cromosómica, de tal modo que si existen tres equis (XXX) se encuentran dobles cuerpos cromatínicos, y leucocitos con dos clavos. Es nuestra opinión que en las anomalías del sexo no debe prescindirse de la búsqueda del material que nos ocupa, pues aunque no hay unanimidad entre los autores en lo tocante a la interpretación citológica de este fenómeno, si es indiscutible que constituye una poderosa arma para explorar la cromatina del sexo, sobre todo si se trata de aneuploidía de X y de Y y de mosaicos sexuales.

CONCLUSIONES

El estudio citológico de los materiales hereditarios constituye un valioso e insustituible medio para identificar e interpretar ciertas anomalías hereditarias y congénitas que antes no tenían explicación. De mucho interés son estos estudios en los procesos neoplásicos, pero es sobre todo de esperarse que una vez conocidas y perfeccionadas las técnicas para identificar los materiales hereditarios, los investigadores puedan a favor de ello plantear y resolver de un modo definitivo muchos de los más fundamentales problemas de la genética humana.

REFERENCIAS

1. Policard, A. (1928). *Precis d'Histologie*. Doin, 1928.
2. E. H. Y. Chu y M. A. Bender (1961). *Chromosome Cytology and Evolution in Primates*. Science, 133:1399, 1961.
3. De Winiwarter N. (1912). *Etudes sur la Spermatogenese Humaine. II. Heterochromosome et Mitoses de l'Épithélium Seminal*. Arch. Biol., 27-91, 1912.
4. Painter, T. S. (1921). *The Y Chromosome in Mammals*. Science, 53:503, 1921.

5. Tjio, J. H. y Levan, A. (1956). *The Chromosome Number in Man*. Hereditas, 42:1, 1956.
6. Kodani, M. (1958). *Three Chromosome Numbers in Whites and Japanese*. Science, 127: 1339.
7. Court Brown, W. M., Jacobs, P. A. y Doll, R. (1960). *Interpretation of Chromosome Counts Made on Bone-Marrow Cells*. Lancet, 1:160.
8. Makino, S. y Sasaki, M. (1959). *On the Chromosome Number of Man*. Proc. Jap. Acad., 35:99.
9. Harnden, D. G. (1961). *Recent Advances in Human Genetics*, en Penrose. Churchill, p. 23.
10. Salazar Mallén, M. y col. (1961).
11. Tjio, J. H. y Levan, A. (1956), obra citada.
12. Tjio, J. H. y Levan, A. (1956), obra citada.
13. Ford, C. E. y Harmerton, J. L. (1956). *The Chromosomes of Man*. Nature, 178: 1020.
14. Lejeune, J., Gautier, M. y Turpin, R. (1959). *Les Chromosomes Humaines en Culture de Tissus*. C. R. Acad. Sciences, 248:602.
15. Ford, C. E., Jacobs, P. A. y Lathaja, L. G. (1958). *Human Somatic Chromosomes*. Nature, 181:1565.
16. Hugerford, D. A., Donnelly, A. J., Nowell, P. C. y Beck, S. (1959). *The Chromosomes Constitution of a Human Phenotypic Intersex*. Amer. J. Hum. Genet., 11:215.
17. Harnden, D. G. (1960). *A Human Skin Culture Technique Used for Cytological Examinations*. Brit. J. exp. Pathol., 41:31.
18. Harnden, D. G. (1960), obra citada.
19. Harnden, D. G. (1960), obra citada.
20. Lejeune, J., Gautier, M. y Turpin, R. (1959). *Etude des Chromosome Somatiques de Neuf Enfants Mongoliens*. C. R. Acad. Sci, París, 248:1721.
21. Jacobs, P. A., Baikie, A. G., Court Brown, W. M. y Strong, J. A. (1959). Lancet, 1:710.
22. Patau, K., Smith, D. W., Therman, E., Inhorn, S. L. y Wagner, H. P. (1960). *Multiple Congenital Anomaly Caused by an Extra Autosome*. Lancet, 1:790.
23. Edwards, J. H. y col. (1960). (Cita en Harnden, 1961).
24. Book, J. A. y Santesson, B. (1960). (Citados en Harnden, 1961).
25. Fraccaro y col. (1960). (Citados por Harnden, 1961).
26. Polani, P. E., Briggs, J. H., Ford, C. E., Clarke, C. M. y Berg, J. M. (1960). *A Mongol Girl with 46 Chromosomes*. Lancet, 1:721.
27. Polani, P. E. (1960). (Obra citada).
28. Turpin, R. y col. (1959). (Citado en Harnden, 1961).
29. Jacobs, P. A. y col. (1960). (Citada en Harnden, 1961).
30. Tough, I., Court Brown, W. M., Baikie, A. G., Bunkton, K. E., Harnden, D. G., Jacobs, P. A., King, M. y MacBride, J. A. (1961). *Cytogenetic Studies in Chronic Myeloid Leukemia and Acute Leukemia Associated with Mongolism*. Lancet, 1:411.
31. Hugerford, D. A. (1960). (Citado por Tough, I. y col, 1961).
32. Ford, C. E. (1959). (Citado por Harnden, D. G., 1961).
33. Jacobs, P. A., Harnden, D. G., Court Brown, W. M., Goldstein, J., Close, H. G., MacGregor, T. N., MacLean, N. y Strong, J. A. (1960). *Abnormalities Involving the X-Chromosome in Women*. Lancet, 1:1213.