

Desarrollo de la metodología citogenética: contribuciones al conocimiento de la estructura cromosómica y sus aplicaciones en la clínica

FABIO SALAMANCA-GÓMEZ *

Se discute la utilidad de las técnicas citogenéticas de bandas, algunas de ellas originalmente desarrolladas en el laboratorio del autor, para la identificación de cuadros malformativos ocasionados por alteraciones cromosómicas, en el estudio de algunas entidades neoplásicas y en el establecimiento de la frecuencia y repercusión de variantes o polimorfismos cromosómicos en la población general. Se discuten igualmente las contribuciones de estos procedimientos al conocimiento de la estructura y la fisiología de los cromosomas humanos.

CLAVES: Citogenética, estructura y función cromosomal, técnica de bandas, cromátides hermanas, cromosomopatías, neoplasias.

Recibido: 5 de agosto de 1982.

Aceptado: 1º de junio de 1983.

Presentado en sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, el 4 de agosto de 1982. Premio "Everardo Landa". 1983.

* Académico numerario. Unidad de Investigación en Genética Humana. Subjefatura de Servicios de Investigación. Jefatura de Servicios de Enseñanza e Investigación. Instituto Mexicano del Seguro Social.

La demostración experimental de la teoría cromosómica de la herencia fue establecida desde la primera década del presente siglo. Pero fue sólo hasta la mitad de la centuria cuando gracias al avance de las técnicas de cultivo de tejidos se pudo establecer el número de cromosomas de la especie humana.¹ Años más tarde, Lejeune y col.² publicaron el primer ejemplo de un síndrome clínico ocasionado por cromosomopatía: el síndrome de Down o trisomía 21. En esa misma época se comenzaron a describir alteraciones de los gonosomas y se estableció la etiología de los síndromes de Turner y de Klinefelter. Un lustro antes de estos hallazgos a nivel cromosómico, Watson y Crick³ habían revolucionado la biología contemporánea al establecer el modelo molecular de la doble hélice del ácido desoxirribonucleico (ADN).

Paradójicamente, a pesar de estos logros a nivel molecular el conocimiento de la estructura de los cromosomas humanos no tuvo avance significativo durante más de una década de investigación citogenética, porque con las técnicas cromosómicas usuales sólo algunos pares de cromosomas homólogos podían ser identificados con precisión.

La fisiología cromosómica se estudió en una forma más adecuada mediante el empleo de un compuesto radiactivo, el tritio, el cual unido a la timidina permitía establecer el tiempo de replicación de los cromosomas.⁴ Así se identificaron el cromosoma X de replicación tardía y algunos autosomas. Progresos importantes se lograron con el desarrollo de las técnicas que ponen de manifiesto ciertas bandas a lo largo de la estructura cromosómica, con lo cual pudo establecerse una correlación clínico-patológica mucho más adecuada.⁵⁻¹⁰ Otro avance notable lo constituyó el poder visualizar el intercambio de las cromátides hermanas, mediante el uso de la incorporación de bromodeoxiuridina, técnica que ha resultado de gran utilidad en el estudio del efecto mutagénico de algunos compuestos sobre la estructura de los cromosomas humanos.¹¹

Por otra parte, resultaba de interés utilizar estos métodos para profundizar en el conocimiento de la estructura y la fisiología cromosómica mediante el estudio citogenético directo o por comparación de los resultados obtenidos en el estudio de estructuras citológicas mejor conocidas a nivel molecular.

El presente trabajo tiene por objeto presentar los resultados del estudio mediante el uso de las técnicas de bandas, algunas de ellas originalmente desarrolladas en el laboratorio del autor, de las anomalías numéricas y estructurales de los cromosomas y correlacionarlas con las alteraciones fenotípicas que ocasionan. Asimismo, se ilustra la utilidad de estas metodologías en el diagnóstico y establecimiento del pronóstico de algunas neoplasias en el hombre y se presentan las contribuciones que estas investigaciones han permitido hacer sobre el conocimiento de la estructura y la función de los cromosomas humanos.

Material y métodos

Para la realización del trabajo que aquí se describe se utilizaron las siguientes técnicas citogenéticas: el estudio cromosómico habitual se practicó según la técnica de Moorhead y col.¹² con algunas modificaciones; el procedimiento de autorradiografía empleado fue el de Schmid;⁴ la técnica de fluorescencia utilizada fue la descrita por Salamanca y col.;¹³ la técnica para demostrar el intercambio de cromátides hermanas (ICH) fue la descrita por Wolff¹¹ y la metodología para poner de manifiesto la heterocromatina constitutiva fue la establecida originalmente por Salamanca y Armendares.¹⁴

Resultados

Es posible estudiar la duplicación cromosómica en el periodo S del ciclo celular, mediante la incorporación de timidina marcada con tritio. Algunos cromosomas replican tempranamente y muestran escasa incorporación de material radiactivo, mientras que otros lo hacen en forma tardía e incorporan cantidades apreciables de la timidina tritiada. Esta técnica es particularmente útil en la identificación del cromosoma X, ya que en la mujer uno de los dos cromosomas X es el de replicación más tardía del complemento. También algunos autosomas pueden ser identificados mediante este procedimiento. Así, hemos estudiado el comportamiento de algunos cromosomas anulares en el hombre.

Los cromosomas en anillo son estructuras que se consideran inestables porque su formación implica la pérdida de la porción telomérica de ambos brazos cromosómicos y la reunión por los extremos rotos de la porción cromosómica, que tiene centrómero. Sin embargo, no todos los cromosomas anulares son igualmente inestables y se ha pensado que el que sean más o menos estables depende de la cantidad y naturaleza de la heterocromatina de cada cromosoma.

Para tratar de esclarecer esta hipótesis hemos comparado los hallazgos citogenéticos en un caso de cromosoma 13 anular identificado por autorradiografía, con los de un cromosoma 6 en anillo identificado por el procedimiento de bandas G. Estos dos casos han sido publicados previamente.^{15,16} El cromosoma 13 en anillo (fig. 1) mostró notable inestabilidad; en cambio el cromosoma 6 en anillo (fig. 2) fue altamente estable, tal como ha ocurrido en otros dos casos publicados de cromosoma 6 en anillo.^{17,18} La autorradiografía y las técnicas de bandas han demostrado que en la porción distal del brazo largo del cromosoma 13 hay un bloque heterocromático muy aparente y que no existe una porción similar de heterocromatina en el cromosoma 6. Se sabe que los segmentos heterocromáticos replican tardíamente, y al parecer corresponden a material genético que no participa directamente en la síntesis proteica.¹⁹ Se ha sugerido que la proporción relativa entre heterocromatina y la eucromatina de cada cromosoma puede desempeñar un importante papel en el comportamiento de los anillos.²⁰ Los hallazgos del autor apoyan esta hipótesis, dado que las porciones heterocromáticas en los cromosomas 13 y 6 demostradas tanto por autorradiografía como por bandas G, son diferentes y lo mismo sucede con las proporciones relativas de heterocromatina y eucromatina en estos dos cromosomas.

Por otra parte, se debe llamar la atención sobre las diferentes repercusiones que a nivel clínico tienen las dos alteraciones cromosómicas que venimos refiriendo. El cromosoma 13 en anillo produjo principalmente retardo psicomotor en la esfera del lenguaje, asimetría facial y otras alteraciones relativamente menores; en cambio, el cromosoma 6 en anillo ocasionó muy graves malforma-



Fig. 1. Cromosomas anulares antes y después del estudio autorradiográfico. Nótese el polimorfismo notable del cromosoma 13 en anillo y las figuras enlazadas que revelan entrecruzamiento en la estructura circular.

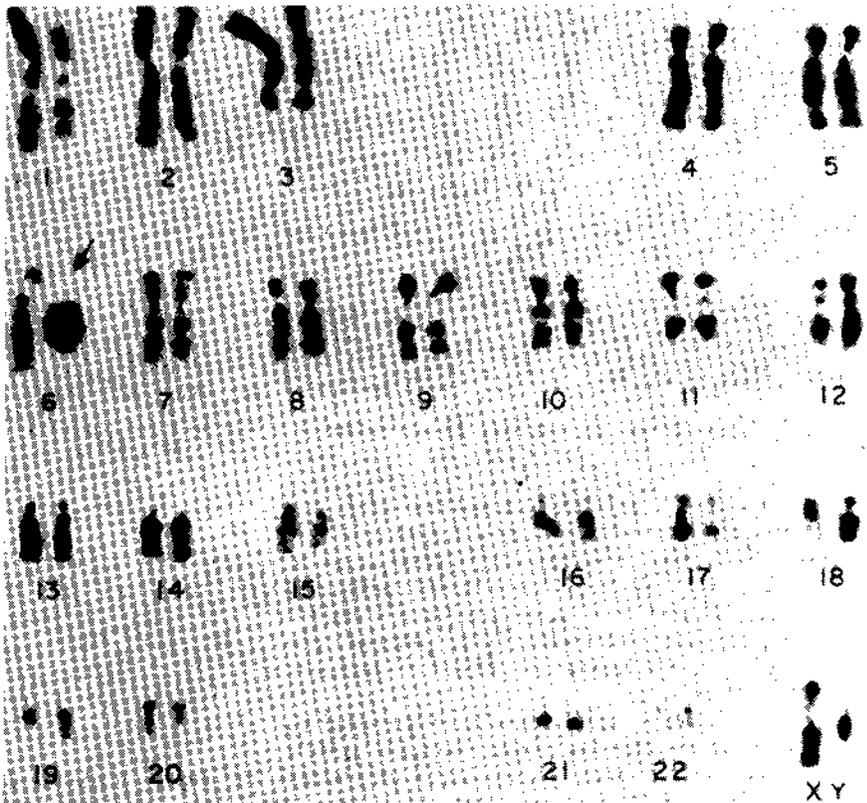


Fig. 2. Cariotipo obtenido mediante la técnica de bandas G, con la cual se identifica el cromosoma 6 en anillo.

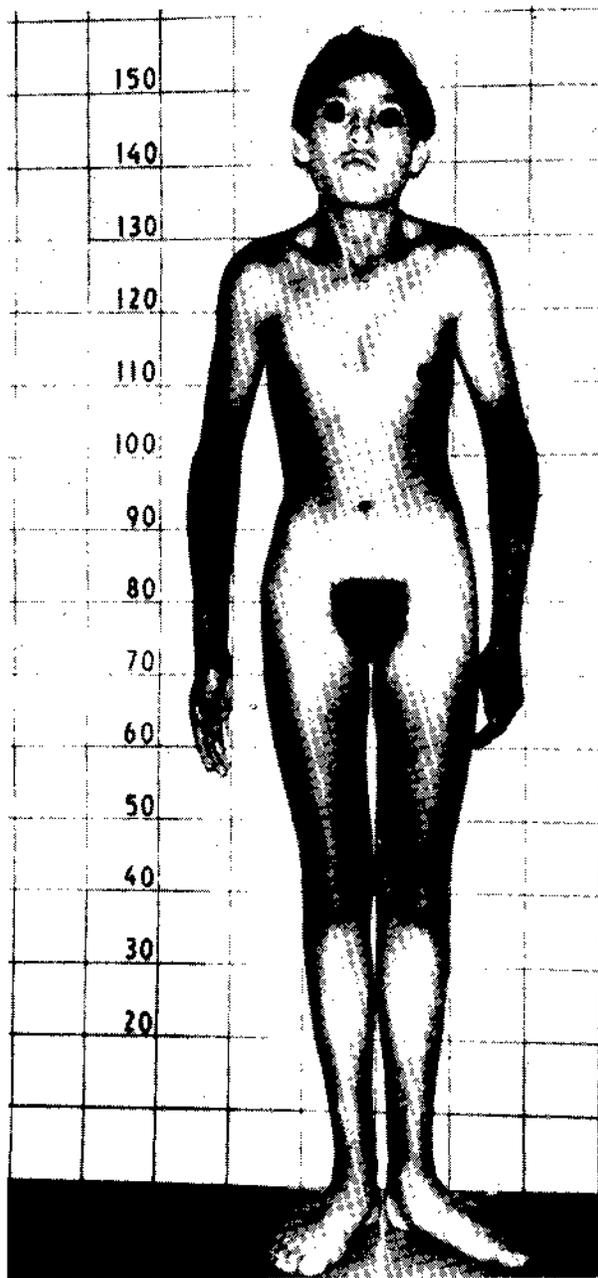


Fig. 3. Paciente con cromosoma 13 en anillo.

ciones congénitas y retardo psicomotor (figs. 3 y 4). Puede apreciarse en esta última figura que existe grave dismorfia cráneo-facial principalmente caracterizada por ausencia de puente nasal, filtrum largo, microstomía, micrognatía y displasia notable de pabellones auriculares. El paciente presentaba además tetralogía de Fallot y estenosis congénita del píloro.

La comparación a nivel fenotípico permite recalcar el hecho de que las malformaciones producidas por las aberraciones cromosómicas dependen fundamentalmente del cromosoma y del segmento

involucrado, más que del tipo de alteración estructural. Lo anterior se explica por el hecho de que en cada cromosoma se encuentran localizados genes que tienen que ver con el cubrimiento de distintas tareas metabólicas. Mediante el empleo de las técnicas de bandas y recurriendo básicamente a la metodología de la hibridación de células somáticas, ha sido posible en la actualidad asignar cerca de 100 genes al cromosoma X y más de 250 a los distintos autosomas.²¹

Valiéndose de un procedimiento de hibridación *in situ*, Pardue y Gall²² demostraron en forma elegante que el ADN satélite en el ratón y otros mamíferos se encuentra principalmente localizado en las áreas centroméricas de los cromosomas. El procedimiento fue simplificado posteriormente por Arrighi y Hsu,²³ al emplear solamente los pasos de desnaturalización. Los agentes desnaturalizantes empleados por estos autores son demasiado dañinos para los cromosomas y pueden alterar su estructura, por lo que en nuestro laboratorio desarrollamos una técnica utilizando un agente que por sus propiedades químicas distorsiona menos la arquitectura cromosómica. De los metales alcalinotérreos el hidróxido de bario fue seleccionado por sus condiciones de solubilidad.¹⁴ Los resultados obtenidos con esta técnica en nuestro

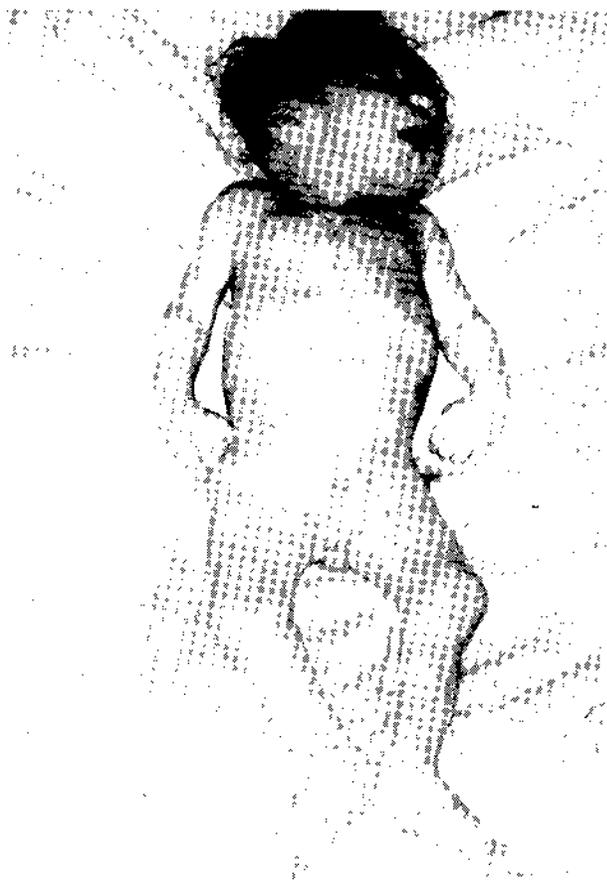


Fig. 4. Paciente con cromosoma 6 en anillo. Nótese la gravedad del cuadro malformativo.



Fig. 5. Cromosomas tratados con la técnica de bandas C.¹⁴ Se aprecian intensamente teñidos los centrómeros, las constricciones secundarias de los cromosomas 1, 9 y 16 y la porción distal del brazo largo del cromosoma Y.

esta técnica aparecen intensamente teñidas las áreas de los centrómeros de todos los cromosomas, los brazos cortos y los satélites de los cromosomas acrocéntricos, las constricciones secundarias de los cromosomas 1, 9 y 16, y la porción distal del brazo largo del cromosoma Y (fig. 5).

laboratorio y en otros países,²⁴⁻²⁶ permiten establecer que el hidróxido de bario es hasta ahora el agente desnaturizante de elección para poner de manifiesto la heterocromatina constitutiva. Con

La utilidad de esta metodología en el esclarecimiento del mecanismo de formación de cromosomas anormales se ilustra claramente con el estudio realizado en un caso que presentaba una aberración estructural del cromosoma Y. Con las téc-

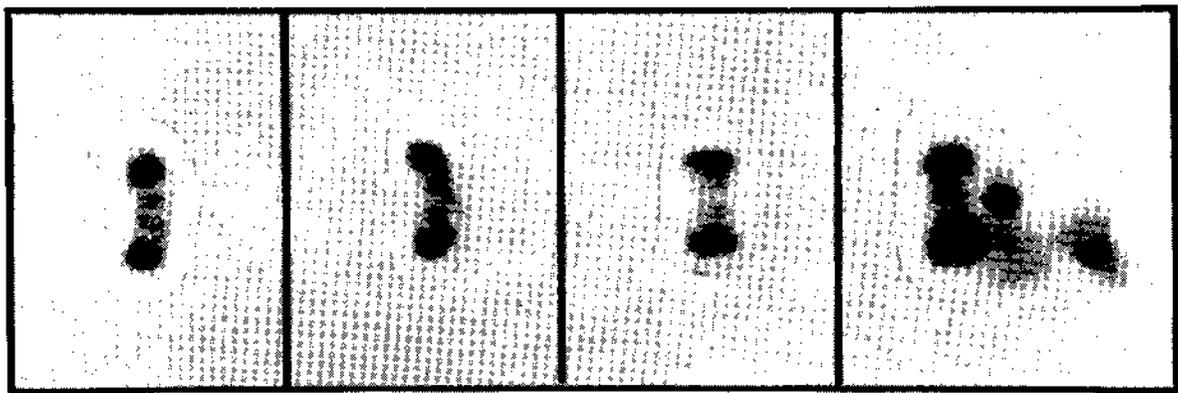


Fig. 6. Cromosoma Y dicéntrico identificado con la técnica de bandas C. Se puede apreciar la banda heterocromática distal en los brazos largos y la presencia de dos centrómeros claramente visibles en la porción del cromosoma.

Cuadro 1. Polimorfismos de heterocromatina constitutiva en recién nacidos consecutivos.

Sexo	Núm. de casos con polimorfismo	Núm. de casos	Porcentaje
Femenino	118		25.1
Masculino	Autosómicos 135	471	25.5
	Cromosoma Y 36	529	6.8
Total	289	1000	28.9

nicas habituales, el cariotipo en este paciente mostró un número modal de 46 cromosomas, con un cromosoma metacéntrico anormal cuya naturaleza no podía precisarse. Con la técnica de bandas C pudo establecerse que el cromosoma anormal era un cromosoma Y dicéntrico. En la figura 6 puede apreciarse la banda distal heterocromática en los brazos largos del cromosoma, pero además, en la porción media, la presencia de dos centrómeros claramente visibles. Con esta metodología, la conservación de la estructura cromosómica es tal que es posible observar cada cromátide con su propio centrómero, por lo que aparecen cuatro estructuras puntiformes en la porción media del cromosoma, las cuales corresponden a los centrómeros de cada cromátide. La naturaleza dicéntrica del cromosoma permitió establecer que la diferenciación testicular en este paciente era debida a la presencia de los genes responsables de la diferenciación sexual masculina, localizados en el brazo corto del cromosoma Y, específicamente en la porción intercentroamérica del cromosoma anormal, y relacionados con la presencia del antígeno H-Y. Sin la utilización de la técnica de heterocromatina constitutiva, este discernimiento no hubiera podido realizarse.

Las técnicas de bandas C han permitido poner de manifiesto una notable variabilidad en el tamaño de los bloques heterocromáticos de los cromosomas en la población humana. Nosotros hemos realizado un trabajo en 2 000 recién nacidos consecutivos en el Hospital de Gineco-Obstetricia N° 2 del Centro Médico Nacional, con el objeto de estudiar la frecuencia de polimorfismos de la heterocromatina constitutiva en la población mexicana. Los resultados de tal estudio se muestran en el cuadro 1. Es notable que cerca de la tercera parte de los recién nacidos analizados presenten un polimorfismo que implica una variación cuantitativa de 50 por ciento mayor o menor de lo considerado como normal. Los polimorfismos presentaron frecuencias muy similares en ambos sexos, cuando no se tomaron en cuenta los polimorfismos del cromosoma Y, presentes por supuesto solamente en el sexo masculino. A este respecto, es importante señalar que el 6.8 por ciento de los varones presentaron polimorfismo único de la porción distal del brazo largo del cromosoma Y.²⁷

No se conoce bien, en la actualidad, cuál pueda ser el papel que desempeñe la heterocromatina constitutiva, la cual está formada por secuencias de bases nitrogenadas que se repiten muchas veces

Cuadro 2. Estudio genético del retinoblastoma. Localización.

Localización	Núm. de casos	Clase	Núm. de casos	Ojo
Unilateral	77(70%)	Esporádicos	60	Derecho 38
		Familiares	17	Izquierdo 39
Bilateral	33(30%)	Esporádicos	26	
		Familiares	7	

a lo largo del genoma. Es probable que la asociación de estas secuencias altamente repetitivas desempeñe un papel protector sobre áreas que al ser afectadas por factores ambientales mutagénicos, puedan ocasionar graves fallas en los procesos de diferenciación y desarrollo. Es posible, por otra parte, que variaciones notables en la cantidad del ADN satélite puedan alterar el equilibrio normal eucromatina-heterocromatina, de tal manera que los procesos de regulación se distorsionen y esto se traduzca en malformaciones congénitas. En la actualidad existen algunas evidencias que asocian a polimorfismos de la heterocromatina con distintos síndromes dismorfológicos. Así, Gardner y col.²⁸ sugieren que el polimorfismo cromosómico lgh⁺ esté relacionado con el síndrome de Meckel, y Salamanca y col.²⁹ han descrito un paciente con enfermedad de Chediak-Higashi, entidad autosómica recesiva, en la cual se encuentra comprometida la respuesta inmune y la susceptibilidad a las neoplasias, asociada a un importante polimorfismo lgh⁺. Es probable entonces que las variaciones cuantitativas de la heterocromatina constitutiva se asocien con los procesos de transformación neoplásica.

A este respecto, debe señalarse que las metodologías citogenéticas tienen una importante aplicación en el diagnóstico y pronóstico de algunas neoplasias. La primera alteración cromosómica específica reconocida en una neoplasia fue el cromosoma denominado Filadelfia (Ph₁), el cual se encuentra en la mayor parte de los casos con leucemia mieloide crónica. Durante mucho tiempo se supuso que esta alteración correspondía a una deleción del cromosoma número 21; sin embargo, la metodología citogenética puso de manifiesto que en realidad el cromosoma Filadelfia corresponde a una translocación de la mayor parte del brazo largo del cromosoma 22 a la porción distal del brazo largo del cromosoma 9. Establecer la presencia del cromosoma Filadelfia tiene notable utilidad pronóstica, ya que cuando está presente la supervivencia es mayor porque se tiene una mejor respuesta terapéutica en los casos Filadelfia positivos que en aquéllos negativos.

Recientemente se ha podido establecer que algunos casos con retinoblastoma presentan también una alteración cromosómica específica. Esta alteración involucra el brazo largo del cromosoma 13. Por otra parte en el retinoblastoma se encuentra un componente genético importante, ya que el pa-

trón de transmisión hereditaria es autosómico dominante en el caso de los retinoblastomas bilaterales. Nosotros hemos practicado un estudio clínico, genético y cromosómico a 110 niños con retinoblastoma atendidos en el Hospital de Pediatría,³⁰ con el objeto de precisar el patrón de transmisión hereditario y de determinar la frecuencia de alteraciones cromosómicas en esta entidad. Correspondieron al sexo masculino 53 casos y 57 al femenino. Algunos resultados de este trabajo se muestran en el cuadro 2. Llama la atención que 70 por ciento de los pacientes presentaban retinoblastoma unilateral y 30 por ciento retinoblastoma bilateral; el promedio de edad al diagnóstico en los casos unilaterales fue de 22.6 meses y en los bilaterales, de 11.1 meses. Correspondieron a casos esporádicos 94.5 por ciento y a casos familiares, 5.5 por ciento. En tres casos de una familia con retinoblastoma unilateral el estudio citogenético demostró la presencia de una deleción a nivel de la banda 13q14. Estos hallazgos corroboran la importancia del componente genético para efectos del asesoramiento y la utilidad del estudio citogenético en pacientes con neoplasias.

En este campo se ha podido incluso establecer una relación cromosómica específica con la capacidad de transformación neoplásica de células híbridas somáticas. En un elegante experimento, Croce y Koprowski³¹ demostraron que cuando se fusionan células somáticas humanas con las del ratón, el híbrido responde a la transformación neoplásica inducida por el virus oncogénico SV40, solamente cuando está presente el cromosoma número 7 humano. Este hallazgo permite prever que en el futuro se podrán establecer relaciones definidas similares entre otros agentes oncogénicos y cromosomas específicos humanos.

Con la técnica de fluorescencia (bandas Q), se ha podido establecer una secuencia específica de bandas para cada uno de los cromosomas del cariotipo humano, y también ha sido útil para establecer el dimorfismo sexual en las células en interfase, al poner en evidencia la fluorescencia característica del cromosoma Y, por lo que resulta de utilidad en el estudio de las anomalías de este cromosoma. Gracias a esta técnica, Armendares y col.³² identificaron uno de los primeros casos de cromosoma Y dicéntrico y recientemente, con la misma metodología, Salamanca y col.³³ describieron e identificaron la aneuploidia cromosómica en el tercer caso aparecido en la literatura, con un

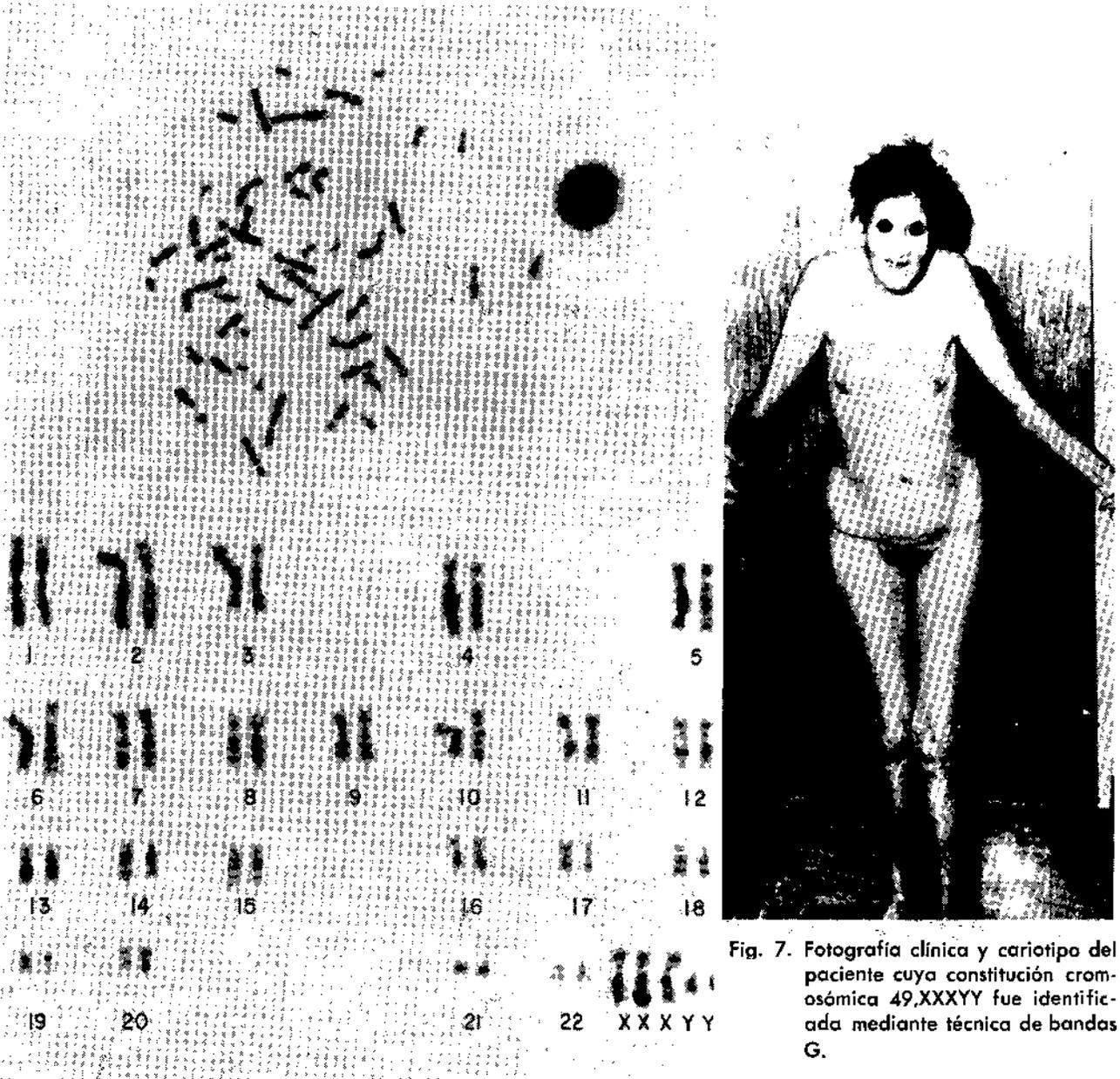


Fig. 7. Fotografía clínica y cariotipo del paciente cuya constitución cromosómica 49,XXXXY fue identificada mediante técnica de bandas G.

complemento 49, XXXYY, siendo el primero en el cual se lleva a cabo una correlación clínico-citogenética y endocrinológica (fig. 7).

La demostración, por primera vez, de bandas en los cromosomas mediante la técnica de fluorescencia, llevó a interesantes especulaciones sobre el mecanismo bioquímico responsable de la afinidad de ciertas áreas del material genético por determinados agentes alquilantes. Caspersson y su grupo⁵ supusieron que esta afinidad estaba dada por la prevalencia de pares citosina-guanina (C-G) en aquellas áreas que mostraban fluorescencia más intensa, ya que pensaron que la mostaza de quinacrina se unía al átomo 7 de la guanina. La validez de

esta hipótesis fue examinada por Salamanca y col.¹³ mediante el empleo de una sustancia que carece del grupo alquilante en su cadena lateral: la clormetacrina. Con esta sustancia fue posible establecer la presencia del cromosoma Y en interfase y la fluorescencia del cromosoma masculino en metafase de linfocitos de sangre periférica y evidenciar el corpúsculo fluorescente en los espermatozoides que tienen cromosoma Y (fig. 8). El empleo de la clormetacrina suministró la primera evidencia de que el grupo alquilante de la mostaza de quinacrina no era el factor principal en la unión específica de estos compuestos a porciones del genoma humano, invalidando la hipótesis de

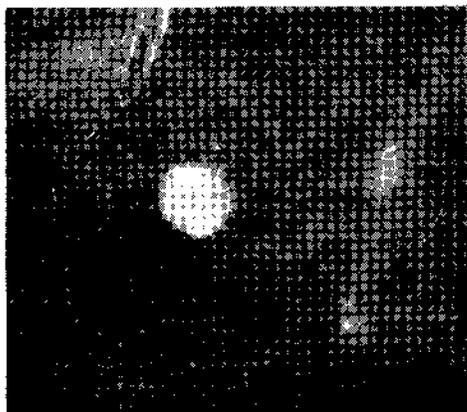


Fig. 8. Espermatozoide humano que muestra el corpúsculo fluorescente correspondiente a la cromatina Y.



Fig. 9. Fotomicrografía de la cepa kinetoplástica de *T. cruzi* tratada con clormetacrina.³⁴ Se aprecia el núcleo con fluorescencia débil mientras que el kinetoplasto revela fluorescencia muy intensa.

Caspersson y col.⁵ por lo que propusimos que la afinidad química específica estaría dada más bien por el anillo o núcleo central de la molécula que por su cadena lateral.¹³ Con este objeto estudiamos la fluorescencia del quinetooplasto en tripanosómidos, utilizando clormetacrina, ya que los tripanosomas contienen un mitocondrion único, con una cantidad excepcionalmente grande de ADN, cuyas características han sido bien estudiadas. En una cepa kinetoplástica de *Trypanosoma cruzi*,³⁴ la fluorescencia con clormetacrina aparece limitada al núcleo y al quinetooplasto, pero tales estructuras muestran un patrón diferente de fluorescencia: el núcleo aparece como una estructura débilmente fluorescente colocada aproximadamente hacia el centro de la célula, mientras que el quinetooplasto aparece como un cuerpo intensamente fluorescente, colocado lateralmente al núcleo. La fluorescencia del quinetooplasto es muy similar en intensidad a la que revela el cromosoma Y humano en el corpúsculo de cromatina masculina (fig. 9).

El ADN mitocondrial de los tripanosómidos se localiza en el quinetooplasto y la ultracentrifugación analítica muestra la presencia de dos bandas de ADN satélite, una con densidad de 1.686 y la otra de 1.696 en el K-ADN de *Trypanosoma cruzi*.³⁴ Por otra parte, el análisis químico ha revelado un alto contenido de pares adenina-timina en este ADN de los tripanosomas. Por estos hallazgos es posible concluir que las áreas intensamente fluorescentes de los cromosomas humanos corresponden a aquellas que muestran una alta

prevalencia de pares adenina-timina. Además, estudios con anticuerpos contra bases nitrogenadas³⁵ han demostrado prevalencia de pares adenina-timina en áreas de fluorescencia intensa, con lo cual nuestro punto de vista con respecto a la hipótesis de Caspersson y su grupo⁵ ha sido corroborado.

El intercambio de cromátides hermanas pudo visualizarse mediante la técnica de autorradiografía. Sin embargo, el método era defectuoso para estos propósitos. Sólo mediante el empleo de la incorporación de bromo-deoxiuridina pudo revelarse en forma nítida este interesante hallazgo funcional cromosómico, que ha tenido aplicaciones en el estudio del efecto mutagénico de algunos compuestos sobre los cromosomas.

En condiciones normales suelen encontrarse entre 6 a 8 intercambios por metafase y existe cuando menos una entidad genéticamente determinada, el síndrome de Bloom, con patrón de herencia autosómico recesivo, en la cual el número de intercambios es cerca de 20 veces mayor.³⁶ Resulta de interés entonces, conocer el componente genético del fenómeno de intercambio de cromátides. Nuestro grupo ha realizado una investigación en este sentido, comparando los resultados obtenidos en gemelos monocigóticos con los hallazgos en gemelos dicigóticos. Aunque los resultados son aún preliminares, llama la atención el haber encontrado una mayor concordancia entre los monocigóticos que entre los dicigóticos,³⁷ lo cual pone de manifiesto el componente genético del fenómeno.

El trabajo aquí informado permite establecer

que la metodología citogenética reciente ha resultado muy útil para establecer correlaciones adecuadas entre los síndromes malformativos y las aberraciones cromosómicas que las originan y para esclarecer importantes relaciones de la estructura y la fisiología cromosómica. Igualmente, estas técnicas han sido de utilidad en el diagnóstico y el establecimiento del pronóstico en algunas entidades neoplásicas. El desarrollo actual de la citogenética permite prever una aplicación cada vez mayor en la clínica médica y una contribución cada día más fructífera en el estudio de campos de tanto interés en la biomedicina moderna, como lo son los fenómenos de la transformación neoplásica y de la diferenciación celular.

REFERENCIAS

- Tjio, J. H. y Levan, A.: *The chromosome number of man*. Hereditas 42:1, 1956.
- Lejeune, J.: *Le mongolisme. Premier exemple d'aberration autosomique humaine*. Ann. Génét. Sem. Hôp. 1: 41, 1959.
- Watson, J. D. y Crick, F. H. C.: *Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid*. Nature 171:737, 1953.
- Schmid, W.: *DNA replication patterns of human chromosomes*. Cytogenetics 2:175, 1963.
- Caspersson, T.; Farber, S.; Followy, G. E.; Kudynowski, J.; Modest, E. J.; Simonsson, E.; Wagh, W. y Zech, L.: *Chemical differential along metaphase chromosomes*. Exp. Cell Res. 49:219, 1968.
- Sumner, A. T.; Evans, H. J. y Buckland, R. A.: *New technique for distinguishing between human chromosomes*. Nature (New Biol.) 232:31, 1971.
- Drets, M. E. y Shaw, M. W.: *Specific banding patterns of human chromosomes*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 68: 2973, 1971.
- Seabright, M.: *The use of proteolytic enzymes for the mapping of structural rearrangements in the chromosomes of man*. Chromosome 36:204, 1972.
- Wang, H. C. y Federoff, S.: *Banding in human chromosomes treated with trypsin*. Nature (New Biol.) 235:52, 1972.
- Dutrilleaux, B. y Lejeune, J.: *Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain*. C. R. Acad. Sci. Paris 272:2638, 1971.
- Wolff, S. y Perry, P.: *A new Giemsa method for the differential staining of sister chromatids*. Nature 251:156, 1974.
- Moorhead, P. S.; Nowell, P. C.; Mellman, W. J.; Battips, D. M. y Hungerford, D. A.: *Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood*. Exp. Cell Res. 20:613, 1960.
- Salamanca, F.; Guzmán, M.; Barbosa, E. y Martínez, I.: *A new fluorescent compound for cytogenetic studies*. Ann. Génét. 15:127, 1972.
- Salamanca, F. y Armendares, S.: *C bands in human metaphase chromosomes treated by barium hydroxide*. Ann. Génét. 17:135, 1974.
- Salamanca, F.; Buentello, L. y Armendares, S.: *Ring D₁ chromosome with remarkable morphological variation in a boy with mental retardation*. Ann. Génét. 15:183, 1972.
- Salamanca, F.; Nava, S. y Armendares, S.: *Ring chromosome 6 in a malformed boy*. Clin. Genet. 8:370, 1975.
- Moore, C. M.; Heller, R. H. y Thomas, G. H.: *Developmental abnormalities associated with a ring chromosome 6*. J. Med. Genet. 10:299, 1973.
- Van Den Berghe, H.; Fergus, J. P.; Cassiman, J. J. y David, G.: *Chromosome 6 in a karyotype 46, XY, r(6)/45, XY, -6*. Ann. Génét. 17:29, 1974.
- Brown, S. W.: *Heterochromatin*. Science 151:417, 1966.
- Kistenmacher, M. I. y Punnett, H. H.: *Comparative behavior of ring chromosomes*. Amer. J. Hum. Genet. 22: 304, 1970.
- McKusick, V. A. y Ruddler, R. H.: *The status of the gene map of the human chromosomes*. Science 196:390, 1977.
- Pardue, M. L. y Gall, J. G.: *Chromosomal localization of mouse satellite DNA*. Science 170:1356, 1970.
- Arrighi, F. E. y Hsu, T. C.: *Localization of heterochromatin in human chromosomes*. Cytogenetics 10:81, 1971.
- Soudeek, D.: *C bands in seven cases of accessory small chromosomes*. Clin. Genet. 12:285, 1977.
- Wisniewski, L.; Hassold, T.; Heffelfinger, S. y Higgins, J. V.: *Cytogenetic and clinical studies in five cases of inv dup (A5)*. Hum. Genet. 50:259, 1979.
- Pescia, G.; Jetterand-Bellomo, M.; Crousaz, H.; Payot, M. y Martin, D.: *Phenotype de la trisomie 9q distale chez un enfant présentant un chromosome surnuméraire remanié (t X; 9)*. Ann. Génét. 22:158, 1979.
- Salamanca, F.; Palma, V. y Canón, S.: *Frequency of chromosome polymorphism in consecutive newborns in Mexico City*. Por publicarse.
- Gardner, R. J.; McCranor, H. R.; Parslow, M. L. y Veale, A. M. C.: *Are lgh+ chromosomes harmless?* Clin. Genet. 6:383, 1974.
- Salamanca, F.; Salazar, M. M. y Amezcua, M.: *Chromosome one polymorphism in a girl with the Chediak Higashi syndrome*. Acta Cytol. 22:402, 1978.
- Salamanca, F.; Luengas, F. y Antillón, F.: *Genetic and cytogenetic study in retinoblastoma*. Por publicarse.
- Croce, C. M. y Koprowski, H.: *The genetics of human cancer*. Sci. Amer. 238:117, 1978.
- Armendares, S.; Salamanca, F.; Buentello, L. y Cantú, J. M.: *A dicentric X chromosome without evidence of sex chromosomal mosaicism 46, XYdic, in a patient with features of Turner's syndrome*. J. Med. Genet. 9: 96, 1972.
- Salamanca, F.; Cortés, R.; Sánchez, J. y Armendares, S.: *A 49, XXXYY male*. Amer. J. Med. Genet. 10:351, 1981.
- Salamanca, F.: *Demonstration of kinetoplast DNA in trypanosomidae by using a fluorescent compound employed in human cytogenetics*. Life Sci. 19:1793, 1976.
- Freeman, M. V. R.; Beiser, S. M.; Erlanger, B. F. y Miller, O. J.: *Reaction of antinucleotide antibodies with human cells in vitro*. Exp. Cell Res. 69:345, 1976.
- Chaganti, R. S. K.; Schonberg, S. y German, J.: *A many-fold increase in sister chromatid exchange in Bloom's syndrome lymphocytes*. Proc. Nat. Acad. Sci. 71:4508, 1974.
- Salamanca, F.; Navarrete, C.; Cárdenas, E.; Peñaloza, R. y Rodríguez, H.: *Sister chromatid exchanges in twins*. Por publicarse.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa su más profundo agradecimiento a todo el personal de la División de Investigación en Genética Humana, sin cuya excelente colaboración este trabajo no hubiera podido realizarse. De igual manera, testimonia su gratitud al doctor Salvador Armendares, y a las autoridades de los Departamentos de Investigación y del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional del IMSS, por el permanente e irrestricto apoyo que ha sido brindado para el desarrollo de estas investigaciones. En forma especial agradece la eficiente labor secretarial de la doctora Luz Elena Hernández de Alba y de la señorita Silva Muñoz.

NOTA BIOGRAFICA

El doctor Fabio Salamanca Gómez egresó de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia en Bogotá, en el año de 1964, con numerosas distinciones por la excelencia de sus estudios. Efectuó su internado de postgrado en la propia ciudad de Bogotá, donde define su interés en la genética humana. Realizó sus estudios de residencia y especialización en genética médica de 1969 a 1971 en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional. De regreso a su patria fue profesor titular de genética humana hasta 1971. Desde 1974 es profesor titular de genética en la Escuela Nacional de Antropología y de diversas escuelas de medicina de la ciudad de México. Sus contribuciones por demás originales, han aparecido en la literatura periódica nacional y extranjera y en numerosos libros. Ocupa actualmente el cargo de jefe de la Unidad de Investigación en Genética Humana en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional.

La Academia Nacional de Medicina lo admitió en el área de Genética de su Departamento de Medicina el 20 de mayo de 1982.

COMENTARIO OFICIAL

SALVADOR ARMENDARES *

El doctor Fabio Salamanca Gómez nos informa en su trabajo de ingreso de algunos de los resultados que él y su grupo han obtenido a lo largo de varios años de investigación clínica en el fascinante campo de la citogenética médica y describe algunos procedimientos originales utilizados para esas pesquisas.

Para comprender mejor el valor de esas aportaciones

* Académico numerario, Instituto de Investigaciones Antropológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

es conveniente hacer un poco de historia. Se considera que en México la citogenética médica se inicia a partir del año 1965, hace sólo 17 años, y sin embargo la contribución de los citogenetistas mexicanos es importante e internacionalmente reconocida.

En 1968 se edita en México la primera *Citogenética Humana* escrita en castellano y en el prólogo un distinguido académico, el doctor Silvestre Frenk, dice: "El reciente y explosivo interés por la genética manifestado en el seno de las disciplinas médicas, es una demostración más de la veracidad del aserto de que en medicina, como en muchas otras actividades humanas, el progreso académico está supeditado al progreso tecnológico. El súbito avance en materia de citogenética, ocurrido a finales de los años cincuenta, a raíz de la obtención de un procedimiento técnico de relativa sencillez para cultivo de tejidos y aislamiento de cromosomas, impulsó de manera nunca vista a la genética médica".

Sin embargo, para la primera mitad de los años sesenta parecía que la citogenética había llegado a su límite tecnológico; el ímpetu original se perdía y se alcanzaba una meseta que proporcionaba muy escasa información.

Pero afortunadamente los tiempos han cambiado, especialmente desde 1968 y gracias otra vez a la tecnología. Súbitamente y como por generación espontánea brotan casi al mismo tiempo y en diferentes laboratorios las descripciones de originales técnicas de tinción de los cromosomas. Esas se refinan y modifican continuamente y aceleradamente. En este proceso, como hemos visto, participa activamente el doctor Fabio Salamanca. Gracias a esas nuevas técnicas se pueden observar las bandas de los cromosomas y cada uno de los 23 pares de la especie humana adquiere personalidad propia y se encuentran anomalías cromosómicas que antes eran imposibles de identificar, desde defectos mínimos hasta arreglos complejísimo. Cientos de casos clínicos han sido descritos recientemente debidos a translocaciones o deleciones parciales de prácticamente todos los pares cromosómicos.

Sabemos ahora que alrededor de uno por ciento de los recién nacidos tienen alguna anomalía cromosómica y que en muchas ocasiones los individuos afectados son hijos de un progenitor portador de cierta translocación balanceada, lo que permite la prevención de nuevos casos al través del asesoramiento genético y del diagnóstico prenatal.

Cuando en 1971 se revisó lo que se conocía sobre la localización de los genes en los cromosomas humanos —lo que podría traducirse libremente como "mapa génico"— sólo de dos genes autosómicos se sabía en qué cromosoma estaban situados: el de la timidina cinasa en el cromosoma 17 y el de la deshidrogenasa láctica A en el cromosoma 11. Hoy, 11 años después, más de 250 genes han sido localizados con precisión en los autosomas del hombre, algunos muy conocidos por los médicos: el factor Rh en el cromosoma 1, el locus HLA en el cromosoma 6 y el sistema ABO en el cromosoma 9. Ello ha sido posible por el empleo de las técnicas que ponen de manifiesto las bandas de los cromosomas y en especial a la hibridación de células somáticas.

Otro aspecto relevante es la utilización práctica que tienen las nuevas técnicas citogenéticas para el diagnóstico y pronóstico de las neoplasias.

Considerando el nuevo ímpetu en las investigaciones citogenéticas, el trabajo del doctor Salamanca resulta muy interesante, como un reflejo del desarrollo de esta discusión en nuestro país, el nivel que ha alcanzado y, lo que es más importante, cuáles son las perspectivas para el futuro.