

R. 15344
O.

T. S.
V/34

UNIVERSIDAD DE SEVILLA. FACULTAD DE MEDICINA.

DEPARTAMENTO DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA NORMAL Y PATOLOGICA.

(Prof. Dr. D. HUGO GALERA DAVIDSON)

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL

Quedo registrada esta Tesis Doctoral
al folio 234 número 14 del libro
correspondiente.

Sevilla, 22 FEB. 1988

El Jefe del Negociado de Tesis,

E. de Affitte



"POLIMORFISMOS E INVERSIONES PERICENTRICAS
=====

DEL CROMOSOMA 9. IMPLICACIONES CLINICAS"
=====

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Depositado en
de la
de esta Universidad desde el día
hasta el día

Sevilla de de 19

EL DIRECTOR DE



Tesis doctoral presentada por:

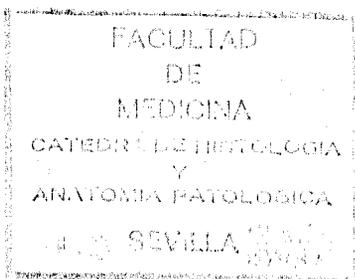
Maria Teresa Vargas de los Monteros

Sevilla 1.988

Dña. M^a DEL CARMEN FERNANDEZ-NOVOA GARCIA, PROFESORA TITULAR DE BIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE SEVILLA.

CERTIFICA: Que el trabajo "POLIMORFISMOS E INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9. IMPLICACIONES CLINICAS" presentado por la licenciada M^a Teresa Vargas de los Monteros para optar al grado de Doctor en medicina y Cirugía, ha sido realizado en el Dpto. de Citología e Histología Normal y Patológica, bajo la dirección de la Dra. M^a Del Carmen Fernandez-Novoa García y la codirección del Prof. Dr. D. Hugo Galera Davidson.

Y para que así conste, expiden el presente certificado en Sevilla, a dieciseis de Febrero de mil novecientos ochenta y ocho.



[Handwritten signature]
[Handwritten signature]
M. C. F. Novoa

A MIS PADRES
=====

I N D I C E
=====

INTRODUCCION	20
I. INTRODUCCION A LA GENETICA	21
II. CITOGENETICA	24
A. LOS CROMOSOMAS EN LA CELULA HUMANA	24
1. Estructura	26
2. Cromosomas y transmisión de la información: el ciclo celular	28
3. Morfología del cromosoma metafásico	31
4. Cariotipo	34
5. Identificación; bandas	35
6. Patología cromosómica	43
a) Aberraciones numéricas	44
b) Aberraciones estructurales	44
B. EL CROMOSOMA 9	45
1. Morfología e identificación	45
2. Aplicación de técnicas de bandas al estudio del cromosoma 9	46
3. Evolución del cromosoma 9	49
4. Polimorfismos del cromosoma 9 en la especie humana. Mecanismos de producción...	54
5. Inversiones pericéntricas del cromosoma 9, mecanismos de producción	60
6. Organización génica del cromosoma 9. Mapa génico	63
C. PATOLOGIA DEL CROMOSOMA 9.	69
1. Aberraciones numéricas	69
a) Trisomía 9 completa y mosaico	

de trisomía 9	70
2. Anomalías estructurales	72
a) Delecciones	72
1) Delecciones del brazo corto del cromosoma 9	72
2) Delecciones del brazo largo del cromosoma 9	75
b) Cromosoma 9 en anillo	76
c) Trisomías parciales	76
1) Brazo corto	77
a) Trisomías completas del brazo corto del cromosoma 9	77
b) Trisomías parciales del brazo corto del cromosoma 9.....	80
c) Trisomías parciales del brazo corto del cromosoma 9 asociadas a otras alteraciones cromosómicas ..	81
d) Trisomías parciales del brazo corto del cromosoma 9 en mosaico .	82
2) Brazo largo del cromosoma 9	83
a) Trisomías casi completas del bazo largo del cromosoma 9. ..	83
b) Trisomías parciales edel brazo largo del cromosoma 9	84
d) Tetrasomías parciales del cromosoma 9	84
e) Aberraciones estruocrurales del cromosoma 9 en el cáncer	84

1) Alteraciones cromosómicas del cromosoma 9 en las leucemias no linfocíticas agudas	85
2) Alteraciones cromosómicas del cromosoma 9 en la leucemia mieloide aguda	86
3) Alteraciones cromosómicas del cromosoma 9 en las leucemias mielomonocíticas agudas	87
4) Otras alteraciones hematológicas .	87
3. Patología asociada al polimorfismo del cromosoma 9.	87
a) Funciones de la heterocromatina constitutiva	88
b) Papel de la heterocromatina en la actividad celular, somática y germinal	91
c) Variaciones de la heterocromatina y aberraciones cromosómicas	93
1) Variaciones de la heterocromatina y síndromes dismórficos	95
2) Papel de la heterocromatina en las malformaciones congénitas	96
d) Alteraciones en la reproducción y variaciones en la heterocromatina	98
e) Polimorfismos y retraso mental	99
f) Posible papel de la heterocromatina constitutiva en la patología oncológica ...	100

g) Variaciones de la heterocromatina con la edad	101
h) Posible papel de la heterocromatina como marcador racial y familiar	102
4. Patología asociada a las inversiones pericéntricas del cromosoma 9	105
a) Riesgo de aneusomías por recombinación de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9	105
b) Comportamiento meiótico de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 .	106
c) Riesgo de aberraciones cromosómicas en las inversiones pericéntricas del cromosoma 9	107
d) Papel de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en la infertilidad	108
e) Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y malformaciones congénitas	112
f) Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 como marcador racial	112
g) Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 como marcador familiar	113
PLANTEAMIENTO DEL TEMA	115
MATERIAL Y METODOS	118
MATERIAL	119
I. GRUPO CONTROL	119
II. GRUPO ESTUDIO	120

A. GRUPO DE PACIENTES QUE CLINICAMENTE PRESENTAN INFERTILIDAD Y ESTERILIDAD	120
B. GRUPO DE INDIVIDUOS QUE PRESENTAN UNA INVERSION UNA INVERSION PERICENTRICA DEL CROMOSOMA 9	121
1. Pacientes con inversión pericéntrica del cromosoma 9 de origen familiar	121
2. Pacientes con inversión pericéntrica del cromosoma 9 "de novo"	122
METODOS	123
I. GRUPO CONTROL.	123
A. HISTORIA CLINICA	123
II. GRUPO ESTUDIO	123
A. HISTORIA CLINICA	123
1. Grupo de pacientes que clínicamente presentan infertilidad y esterilidad	123
a) Parejas que han sufrido abortos secuenciales y ninguna descendencia	124
b) Individuos que presentan esterilidad	124
2. Grupo de pacientes que presentaban una inversión pericéntrica del cromosoma 9	124
III. TECNICAS	125
A. CARIOTIPO EN SANGRE PERIFERICA	125
1. Medio de cultivo en sangre periférica ..	125
a) Macrométodo	125
b) Micrométodo	125
2. Metodología	125

a) Macrométodo	125
b) Micrométodo	126
3. Sacrificio celular	126
a) Macrométodo	126
b) Micrométodo	126
B. TECNICA DE BANDAS	127
1. Tinción standar	127
2. Bando "GTC"	127
3. bando "CGB"	128
IV. ESTUDIO OPTICO	129
V. ESTUDIO CUANTITATIVO	130
VI. DETERMINACION DE LOS POLIMORFISMOS DEL CROMOSOMA 9.	131
VII. DETERMINACION DEL TIPO DE INVERSION	132
VIII. ANALISIS ESTADISTICO	133
RESULTADOS	135
I. GRUPO CONTROL.	135
A) RESULTADOS CITOGENETICOS.	135
B) MEDICIONES DE LA HETEROCROMATINA YUXTACENTROMERICA DEL CROMOSOMA 9	136
II. GRUPO ESTUDIO.	158
A) PACIENTES QUE CLINICAMENTE PRESENTAN INFERTILIDAD Y ESTERILIDAD	158
1. Resultados Citogenéticos	158
2. Mediciones de la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9.	159
a) Valores de la heterocromatina	

yuxtacentromérica del cromosoma 9.	159
b) Mediciones de la heterocromatina invertida del par 9.	162
B) PACIENTES QUE PRESENTAN UNA INVERSION PERICENTRICA DEL CROMOSOMA 9.	182
1. Inversiones pericéntricas del par 9 de origen familiar	182
a) Resultados citogenéticos	182
b) Mediciones de la heterocromatina invertida del par 9.	186
c) Clínica de las inversiones pericéntricas del par 9 de origen familiar	186
2. Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 "de novo".	194
a) Resultados Citogenéticos	194
b) Mediciones de la heterocromatina invertida del par 9.	195
c) Clínica de las inversiones pericéntricas del par 9 "de novo"	195
DISCUSION	201
I. MATERIAL	202
II. METODO	204
III. RESULTADOS	208
A. GRUPO CONTROL	208
1. Discusión a los resultados citogenéticos y a las mediciones de la heterocromatina	

yuxtacentromérica del par 9	208
2. Inversiones pericéntricas del cromosoma 9.	213
B. GRUPO ESTUDIO	216
1. Pacientes que clínicamente presentan infertilidad y esterilidad	216
a) Discusión a los resultados citogenéticos y a las mediciones de la heterocromatina yuxtacentromérica del par 9.	216
b) Papel de las inversiones pericéntricas del par 9 en la infertilidad	223
2. Pacientes que presentan una inversión pericéntrica del cromosoma 9	229
a) Discusión a los resultados citogenéticos	229
b) Implicaciones clínicas de las inversiones pericéntricas del par 9	235
1) Riesgo de aneuploidías	235
2) Inversiones pericentricas del cromosoma 9 y malformaciones congénitas	236
3) Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 como marcador familiar ..	238
CONCLUSIONES	240
CONSIDERACIONES GENERALES	241

GRUPO CONTROL	241
GRUPO ESTUDIO	242
I. GRUPO DE PACIENTES QUE CLINICAMENTE PRESENTAN INFERTILIDAD O ESTERILIDAD	242
II. GRUPO DE PACIENTES QUE PRESENTAN UNA INVERSION PERICENTRICA DEL CROMOSOMA 9	243
ICONOGRAFIA	245
BIBLIOGRAFIA	256

INTRODUCCION
=====

I. INTRODUCCION A LA GENETICA HUMANA =====

Las características que constituyen el organismo humano, en sus aspectos morfológico, bioquímico y de comportamiento, en sus formas específicas de reacción ante el ambiente y ante la enfermedad, se deben a factores hereditarios y ambientales, en un juego complejo de interacciones, en el que uno u otro grupo de factores desempeña un papel predominante.

La importancia simultánea de lo heredado y del medio ambiente, justifica el estudio de la genética humana, ciencia que analiza el modo en que ciertas características son transmitidas al nacer. Sólo después de conocer a fondo qué es lo heredado (y en qué proporción), podemos estudiar la influencia del ambiente, para volver luego a la revisión de los conceptos y datos de la genética. Esta paradoja, convierte a la genética en una ciencia en permanente cambio.

Se pierde en la noche de los tiempos el interés del hombre por la herencia de sus características: quizás nace cuando el hombre tomó conciencia de sí mismo, como individuo y como especie. Los conocimientos sobre la herencia, lentamente adquiridos a lo largo de generaciones, fueron

transmitidos e interpretados por los observadores.

Ya en la Grecia antigua se consideraban estas cuestiones ontológicas, así Anaximandro, decía que los seres vivos habían nacido del agua a medida que ésta se evaporaba bajo el calor del Sol, y Aristóteles aceptaba ya las ideas relacionadas con el concepto de epigénesis.

En los siglos XVIII y XIX se hicieron varios intentos para descubrir cómo se transmiten caracteres específicos de una generación a la siguiente. Maupertuis, en el siglo XVIII, observando a una familia con polidactilia, aventuró la idea de que la herencia se basaría en un conjunto de numerosas partículas, distintas unas de otras, que serían transmitidas por ambos progenitores a un hijo, y en éste se distribuirían a los puntos correspondientes del organismo donde actuarían, reuniéndose de nuevo para, a su vez, ser transmitidas a la descendencia.

Los cambios hereditarios serían debidos a alteraciones de las partículas por el ambiente o a su distribución irregular en el organismo, actuando una selección natural en su manifestación. Un importante descubrimiento lo realizó el botánico alemán Kölreuter (en el siglo XIX), al cruzar dos especies de tabaco, colocando polen de una especie en los estigmas de la

otra. Las plantas producto de las semillas resultantes, tenían caracteres intermedios entre las dos planta progenitoras. Kölreuter hizo la inferencia lógica de que los caracteres de los padres se transmitían por el polen y el óvulo, pero no fué capaz de descubrir la naturaleza del mecanismo hereditario, principalmente debido a que trató de estudiar la herencia de todos los caracteres al mismo tiempo.

Gregor Mendel, logró descubrir las leyes básicas de la genética. Estudió la herencia de caracteres constantes; sus conocimientos de los principios matemáticos le permitieron aplicarlos a sus datos y le indujeron a formular la hipótesis de que cada rango es determinado por dos factores genéticos. Mendel informó de sus hallazgos en una reunión de la Sociedad para el Estudio de las Ciencias Naturales; en 1.866 la importancia de sus hallazgos no fué apreciada en su época. A finales del siglo XIX, Wagnes y Gulick recalcan la importancia de las alteraciones producidas al azar en la herencia, para explicar la aparición de variaciones importantes en las generaciones siguientes.

En 1.900, Hugo de Vries en Holanda, Karl Correns en Alemania y Erich Van Tschermak en Australia, redescubrieron independientemente las leyes de la herencia descritas por Mendel, dando crédito a

Mendel por su descubrimiento y confiriendo en la actualidad su nombre a dos de las leyes fundamentales de la herencia.

En la primera década de este siglo, W. S. Suttán en USA y Bovery en Alemania demostraron que los genes descritos por Mendel estaban situados en los cromosomas del núcleo celular.

En los últimos años se han logrado relacionar las leyes de Mendel con los datos citológicos, subrayar la importancia de las alteraciones cromosómicas en las desviaciones de dichas leyes y la manifestación de anomalías fenotípicas, comprobando además la influencia directa de factores ambientales.

II. CITOGENETICA

=====

A) LOS CROMOSOMAS EN LA CELULA NORMAL.

Gracias a los trabajos realizados en la última década del siglo pasado por investigadores como W. Flemming, 1.881 (84), E. Strasburger, 1.880 (235), E. Van Beneden, 1.883 (259), se llegó al conocimiento de los cromosomas. Estos autores observaron la individualización de estos elementos a partir de la cromatina, siendo W. Waldeyer en 1.888 (263), quien les

dió el nombre de cromosomas o "cuerpos coloreados", por su capacidad de teñirse fuertemente con los colores básicos.

El núcleo en el estadio que precede a la división celular, contiene un entramado de estructura fibrilar llamado cromatina por W. Flemming en 1.881 (84). Durante la división, la envoltura nuclear desaparece, mientras que el contenido fibrilar, se transforma en un conjunto de filamentos independientes que se condensan en estructuras alargadas en forma de bastón: los cromosomas. Al final de la división celular, los cromosomas se condensan, para volver a aparecer como un entramado de cromatina en la cual, parece desaparecer su individualidad, para volver a aparecer durante la división siguiente. Así pues, el cromosoma es una estructura característica de la división celular o mitosis, mientras que la cromatina lo es del período que separa dos divisiones: interfase (20).

Los cromosomas, por tanto, son en realidad orgánulos nucleares permanentes, siendo cromosoma y cromatina, dos estados morfológicos de una misma entidad celular.

Cada cromosoma, al comienzo de la mitosis, posee una estructura doble, ya que ha sufrido una

duplicación durante la interfase previa a la división, formado por dos subunidades idénticas asociadas: las cromátidas. Las dos cromátidas se separan seguidamente para dar lugar a los cromosomas hijos que se distribuyen por igual entre las dos nuevas células, originadas en la mitosis.

Los cromosomas están básicamente constituidos por unidades conocidas con el nombre de genes, que en conjunto forman el patrimonio hereditario de cada individuo, por tanto las variaciones fisiológicas, genéticas, ontogénicas y filogenéticas del material hereditario, deben repercutir, en cierta medida, en su morfología.

1. Estructura.

En el plano molecular, los cromosomas tienen una estructura compleja que comporta tres tipos de moléculas, ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) y proteínas (26).

El ADN, depositario de la información genética de la célula y su vector a través de las generaciones celulares, está formado por monómeros que contienen una base heterocíclica unida de forma covalente a una pentosa. Cada dos pentosas se hallan a su vez, enlazadas por un grupo fosfato mediante un

enlace fosfodiéster, en el ADN la pentosa es desoxirribosa y las bases son la Adenina, Guanina, Timina y Citosina (70), estos monómeros constituyen el elemento fundamental y permanente en el cromosoma (268).

Las proteínas están asociadas directamente a la molécula de ADN y forman parte del edificio molecular cromosómico. Poseen un papel esencial, por una parte, en la génesis y la evolución de la arquitectura cromosómica, y por otra, en el funcionamiento y el control de sus actividades genéticas. Se las divide en dos grupos: un grupo homogéneo de proteínas básicas, muy estables, denominadas histonas y otro conjunto heterogéneo, que reúne a las proteínas de carácter generalmente ácido, las no-histonas (20).

El ARN, compuesto por bases nitrogenadas, ribosa y fosfato, se integra sólo de forma transitoria al complejo cromosómico y se transcribe a partir del ADN (268).

El cromosoma está constituido por una fibra formada por una molécula de ADN asociada a las histonas. Esta fibra nucleohistónica, estructurada en forma de unidades repetidas, es la fibra nucleosómica. Representa la estructura primaria del cromosoma,

actualmente se le considera como el elemento más próximo a lo que los citólogos han llamado cromonema, que se define como el filamento cromosómico fundamental y que permanece constante a lo largo de todo el ciclo celular.

R. D. Körnberg (142), propuso en 1.974 un modelo de organización del complejo ADN-Histonas en el cual las estructuras repetidas, relacionadas entre sí mediante uniones flexibles, serían el resultado de un reparto discontinuo de las histonas a lo largo de la doble hélice de ADN. Los estudios ulteriores han confirmado y precisado este modelo, recibiendo el nombre de nucleosoma, la unidad estructural que se repite (fig. 1).

2) Cromosomas y transmisión de la información: El ----- ciclo celular. -----

El proceso de la reproducción celular se lleva a cabo de forma cíclica.

La transmisión de la información está relacionada, por una parte, con la división celular donde los cromosomas son transferidos de una célula madre a las células hijas. Esta transferencia se desarrolla en dos etapas sucesivas y complementarias: Duplicación y Distribución.

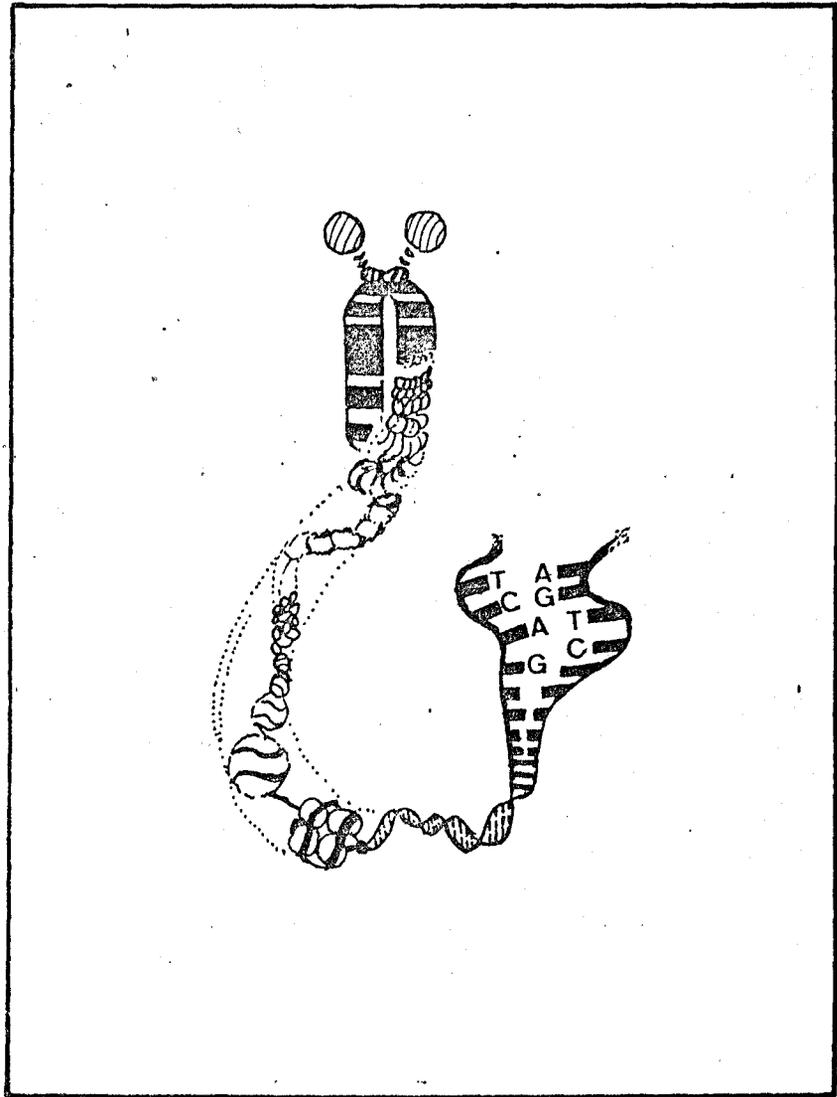


Fig. 1. Estructura del cromosoma. Tomado de Bostock y Summer: The Eukaryotic chromosome.

La Duplicación ó Replicación, etapa de reproducción de la información, tiene lugar en la interfase, que está compuesta por sucesivas fases: G1, S y G2.

Durante la fase S o síntesis se replica el ADN del núcleo celular, pues la molécula de ADN de cada cromosoma es copiada, originando dos moléculas idénticas. Las proteínas se asocian a estas moléculas de ADN neosintetizadas, lo que conduce a la biogénesis de dos cromosomas idénticos (268) (5).

La Distribución, es la etapa de reparto de la información, concomitante con la división celular, en el curso de la cuál, cada célula hija hereda uno de los dos cromosomas procedentes de la duplicación (20). Así pues, la duplicación del ADN, conduce a la constitución de lotes de ADN iguales, dando lugar a la génesis de dos grupos de cromosomas idénticos.

Durante la etapa G1 (G del inglés gap, intervalo), se efectúa la síntesis de los componentes necesarios para la replicación del ADN.

La célula durante la fase G2 efectúa los procesos previos a la mitosis. A la fase G2, sucede la mitosis, que puede considerarse como el período después del cual una célula en G2 se transformará en dos células en G1.

Por tanto un ciclo normal de división celular comprende una interfase y una mitosis (M). Excluidas del ciclo, existen además un cierto número de células clonogénicas, pero en todo momento capaces de penetrar en el ciclo de división celular y a las que se les atribuye un estadio o fase G_0 . La medición del contenido de ADN de los núcleos y la incorporación de precursores marcadores, permiten identificar estas etapas y definir su duración respectiva. En los individuos diploides, la cantidad de ADN del núcleo es $2n$, en el período G_1 y ésta aumenta durante la fase S hasta duplicarse, alcanzando el valor $4n$ que permanece constante durante la fase G_2 .

3) Morfología del cromosoma metafásico.

La forma más típica de los cromosomas mitóticos la constituyen los cromosomas metafásicos. Son prácticamente visibles al microscopio óptico en los tejidos de todas las especies, debido a su estado de condensación, aunque conviene recordar que en el plano metabólico (replicación y transcripción) son inertes en este período (188). Están formados por dos cromátidas idénticas, cada una de las cuales, tiene la forma de un bastoncillo, con los extremos redondeados denominados telómeros. Las dos cromátidas están unidas entre sí en una región, de diámetro más pequeño y estrangulada que

es llamada constricción primaria o centrómero (20) (Fig. 2). El centrómero divide al cromosoma en dos partes o brazos, cuyo tamaño relativo se utiliza como criterio morfológico para su clasificación.

Cuando los dos brazos de un cromosoma son del mismo tamaño, se le denomina metacéntrico. Si el centrómero se encuentra desplazado, siendo los brazos desiguales, se llama submetacéntrico. Si se encuentra en posición casi terminal, acrocéntrico y, por último, cuando se confunde con uno de los extremos, telocéntrico (Fig. 2).

Se observan generalmente los cuatro tipos morfológicos dentro del conjunto cromosómico de una célula, aunque uno de ellos puede faltar (por ejemplo los telocéntricos no existen en la especie humana), o ser por el contrario, predominante.

Se observan en los cromosomas, además del centrómero, otras características morfológicas, como son las constricciones secundarias y los satélites. Las constricciones secundarias son débiles estrangulaciones, que aparecen a lo largo de las cromátidas de ciertos cromosomas. Los satélites son unas pequeñas masas de material cromático, unidas al brazo corto de los cromosomas acrocéntricos por constricciones secundarias (Fig. 2) (20).

TIPOS DE CROMOSOMAS HUMANOS.

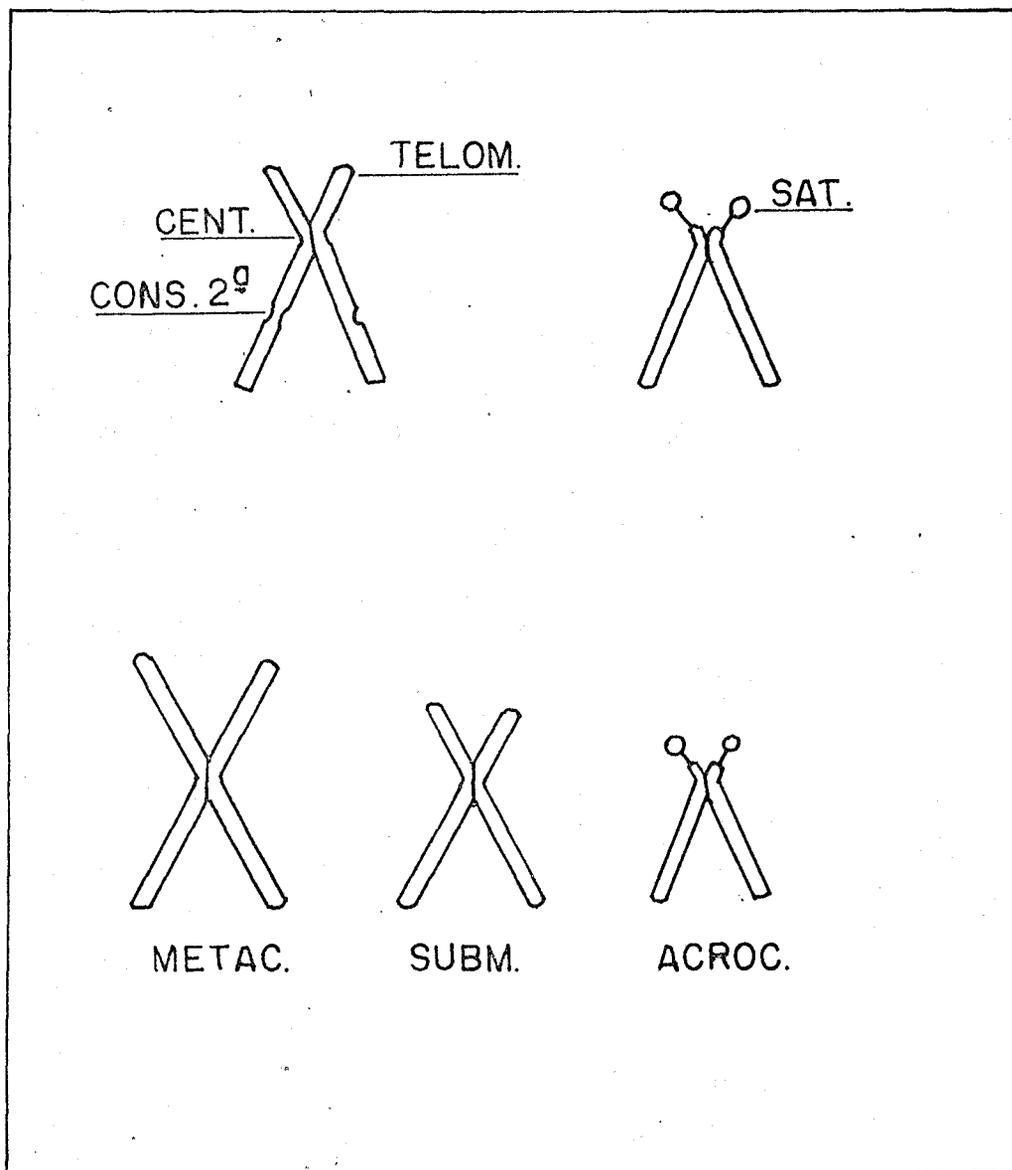


Figura .2



4) Cariotipo.

El conjunto de cromosomas, todos ellos diferentes, que constituyen la dotación cromosómica de todos los individuos, forman el juego básico del cariotipo o juego haploide, característico de cada especie. En los organismos diploides, que representan la mayor parte de las especies animales, la dotación cromosómica completa contiene dos juegos haploides, es decir $2n$ cromosomas. Uno de los juegos es heredado del padre y el otro de la madre, por lo que cada cromosoma está representado por dos ejemplares, llamados cromosomas homólogos, que tienen la misma frecuencia ordenada de genes. Los genes homólogos tienen la misma posición relativa en el cromosoma y asumen las mismas funciones, pero no siempre rigurosamente idénticas, son llamados alelos de un mismo gen (188).

El número de cromosomas de un cariotipo humano normal fué establecido por Tjio y Levan (245), consta dicho cariotipo de 46 cromosomas, 44 de ellos son autosomas y 2 son gonosomas, que determinan el sexo. Los 44 autosomas forman 22 parejas numeradas del 1 al 22. Los gonosomas se denominan "X" e "Y" siendo la pareja gonosómica XX determinante de la hembra normal y XY del varón normal.

Los pares cromosómicos se clasifican, en la

especie humana, a su vez, en 7 grupos, según su tamaño y características morfológicas (43) (Fig. 3):

Grupo A: contiene los pares 1, 2 y 3.

Grupo B: contiene los pares 4 y 5.

Grupo C: contiene los pares 6 a 12 y los cromosomas X.

Grupo D: contiene los pares 13 a 15.

Grupo E: contiene los pares 16 a 18.

Grupo F: contiene los pares 19 y 20.

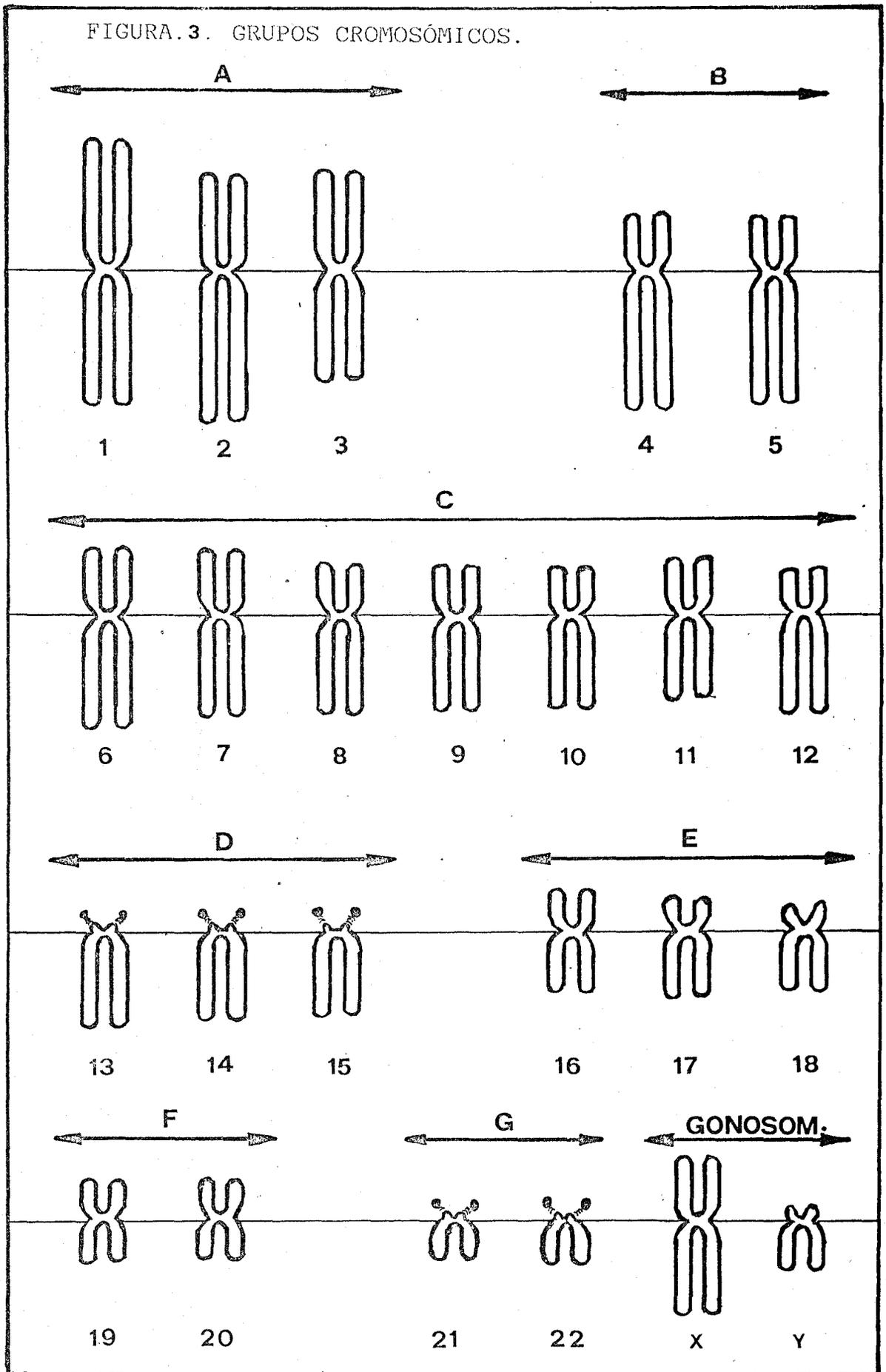
Grupo G: contiene los pares 21 y 22 así como el cromosoma Y.

5) Identificación: Bandas.

Desde que los cromosomas fueron descubiertos, el sueño del citogenetista fué la identificación individual de los mismos.

Desde que Tjio y Levan publicaron el número correcto de cromosomas en la especie humana, la citogenética se convirtió en una ciencia por sí misma. Gracias al análisis del cariotipo en los años siguientes, y a la puesta a punto de las técnicas de cultivo de linfocitos y de las preparaciones de cromosomas (Hungerford 1.959, Moorhead 1.960), fué posible la definición de numerosos síndromes autosómicos concretos (Lejeune 1.959; Patau 1.960;

FIGURA. 3. GRUPOS CROMOSÓMICOS.



Edwards 1.960; Lejeune 1.963). Las características morfológicas, permitían tan sólo identificar a ciertos pares del cariotipo humano, como 1, 2, 3, 9, 16, 17 y 18. El empleo del método de autorradiografía con la timidina tritiada (221), aportó una precisión suplementaria al permitir reconocer los pares 4, 5, 13, 14, 15 y X. Sin embargo se trataba de un método delicado, largo y a veces incierto, y además seguía existiendo el problema de los pequeños segmentos cromosómicos, con lo cual la correlación clínica-citogenética resultaba muy difícil.

En 1.968 Caspersson y cols. publicaron un modelo de bandas que aparecían al tratar los cromosomas con derivados de la quinacrina, mostrando un modelo específico de bandas para cada una de las parejas de cromosomas, se concibe pues la importancia de las bandas en la identificación de un cromosoma. Cada cromosoma está caracterizado, a partir de este descubrimiento no sólo por su tamaño y su índice centromérico, sino también y sobre todo, por una topografía de bandas que le es propia.

Así, todos los cromosomas pueden ser identificados individualmente y siguiendo la sistemática de la conferencia de París de 1.971 (44), clasificarlos en el cariotipo.

El método de Caspersson, así como otros más recientes, hacen aparecer segmentos transversales o bandas, a lo largo de las cromátidas, gracias a propiedades de coloración diferenciales.

Existen muchas técnicas, en la actualidad, basadas en principios diferentes:

a) BANDAS "Q".

Fueron descritas por primera vez en células vegetales por Caspersson en el año 1.968 (38) y más tarde, en 1.973, las describe en cromosomas humanos (39). Las bandas que se obtienen por esta técnica son específicas para cada especie y par de cromosomas (39).

Las bandas "Q" se ponen de manifiesto por medio de luz ultravioleta, ya que son bandas de fluorescencia que aparecen después de teñir la célula con derivados de quinacrina (mostaza de quinacrina) que se unen al ADN celular.

Las técnicas de bandeo "Q" han sido desplazadas por otras descubiertas posteriormente, que no requieren un equipo tan sofisticado, son permanentes y permiten una mejor diferenciación del cromosoma. Estas nuevas técnicas de bandeo se denominan "G" y "R".

b) BANDAS "G".

El modelo de bandas que se obtiene es similar a las bandas que aparecen con los derivados de quinacrina. Con esta técnica, las bandas son permanentes y no es necesario un equipo óptico especial. Fueron descritas por primera vez por Arrighi y Hsu en 1.971 (10), y modificadas posteriormente por Summer (240) y Drets y Shaw (60).

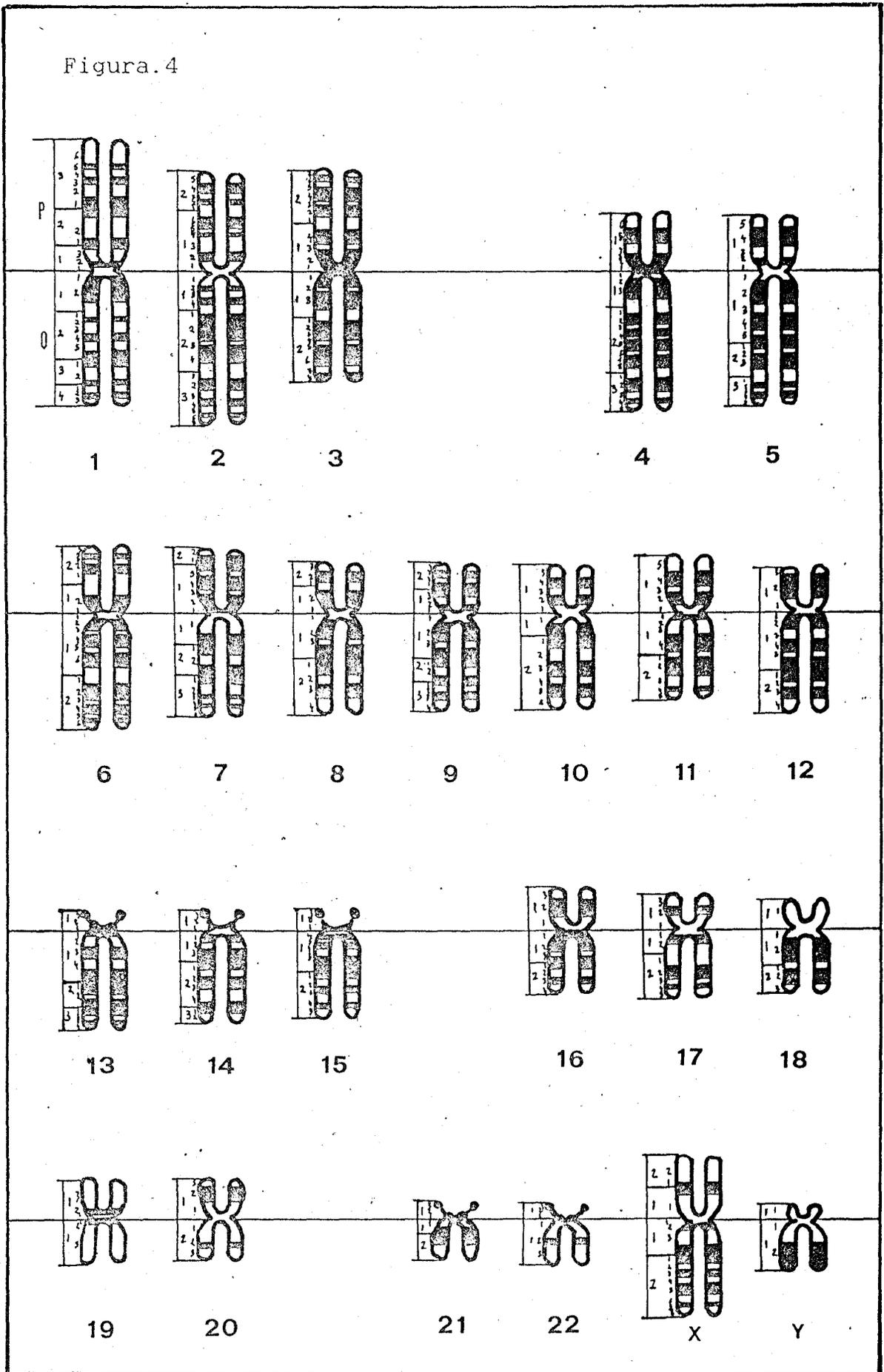
Es el método más utilizado en la mayoría de los laboratorios para el análisis cromosómico en la práctica diaria (Fig. 4).

c) BANDAS "R" Y "T".

Las bandas "R" fueron descritas por primera vez por Dutrillaux y Lejeune en 1.971 (62). Consiste en tratar los cromosomas con una solución alcalina fuerte (hidróxido de Bario ó hidróxido Sódico), seguido de tinción con colorante Giemsa. Las bandas que aparecen son el reverso de las bandas "G" y "Q", puesto que colorea intensamente las regiones que aparecen pálidas con estas técnicas y viceversa.

Dutrillaux, en 1.973, describe una técnica de bandas modificada a partir de la técnica de bandeado "R", por medio de la cual se tiñe la región terminal de los cromosomas, es decir los telómeros, denominadas bandas "T" (61).

Figura.4



d) BANDAS "C".

Estas bandas tiñen la heterocromatina constitutiva, zona cromosómica bien definida, normalmente localizada alrededor de la zona centromérica o en los brazos de ciertos cromosomas. Es una región rica en ADN repetitivo.

La técnica de bandas "C" original, fué el producto de las investigaciones realizadas a nivel de ADN repetitivo por Arrighi y Hsu en 1.971 (10).

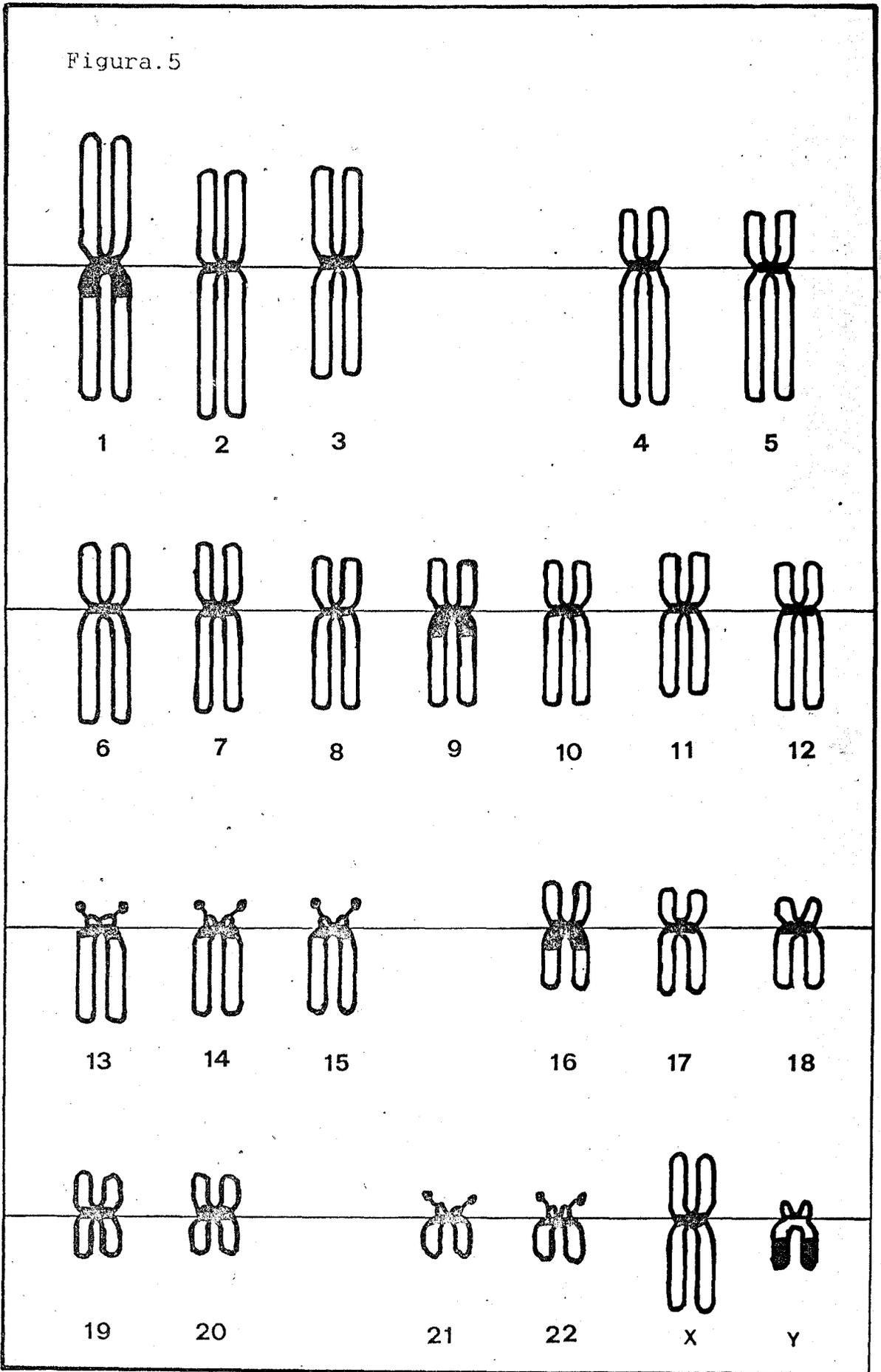
Es el método de elección en el estudio de los polimorfismos cromosómicos, genética de poblaciones, análisis de la paternidad y ciertas inversiones cromosómicas.

Las bandas "C" de los segmentos heterocromatínicos, son visibles también durante la interfase, en que permanecen condensados dichos segmentos de heterocromatina; por el contrario las bandas "G", "Q", y "R" desaparecen en la interfase, puesto que la eucromatina no está condensada durante esta fase del ciclo celular (20) (Fig. 5).

A partir de los años 70, se habían identificado en los cromosomas humanos en metafase unas 320 bandas. En la actualidad se ha superado ampliamente este número, hasta 1256 sub-bandas se pueden observar

Diagrama representativo del bandeo C.

Figura.5



en la prometafase tardía, consiguiéndose que las bandas estén más netamente diferenciadas; con ello se pueden identificar pequeños fragmentos cromosómicos que, hasta ahora, eran imposibles de visualizar (274). Toda esta metodología constituye un progreso en el análisis de las mutaciones cromosómicas y en la localización de los genes.

6) Patología cromosómica.

Las anomalías cromosómicas no implican siempre un defecto en la cualidad genética, pero sí, en general, una alteración cuantitativa en las funciones de un gen (273).

Estas aberraciones cromosómicas pueden deberse a una redistribución errónea de fragmentos, producidos por una discontinuidad primaria normal (recombinación) ó anormal (mutágenos) de la estructura del cromosoma, que darían lugar a una aberración estructural o a un reparto anormal de los cromosomas durante el proceso de división celular, con lo que provocarían la aparición de anomalías numéricas.

Tanto las aberraciones estructurales como las numéricas, pueden plantear problemas mecánicos y dinámicos, meióticos y mitóticos que den lugar a errores cromosómicos secundarios (70).

a) ABERRACIONES NUMERICAS.

En la especie humana, las células somáticas presentan una dotación cromosómica diploide ($2n$ cromosomas) que resulta de la unión de dos gametos haploides mediante el mecanismo de la fertilización. Las células en las que la ploidía se altera, reciben el nombre de aneuploides.

Las anomalías más frecuentes son las monosomías y trisomías que se producen por una no disyunción en la meiosis.

b) ANOMALIAS ESTRUCTURALES.

La teoría más aceptada para explicar el origen de estas anomalías, es la propuesta por Sax en 1.938 (215), de rotura-reparación, desarrollada más tarde en su modelo matemático por Lea en 1.946 (145). Según esta teoría, la lesión inicial de toda anomalía estructural, sería una rotura primaria.

Esta rotura puede ser reparada de forma normal, ésto sucede en más del 90% de los casos, sin producirse consecuencia alguna. La reparación anormal, en general, produce anomalías inestables, que tienden a desaparecer. Las variaciones estables, que dan cromosomas anormales estables, corresponden básicamente a seis tipos: deleciones, anillos, duplicaciones,

isocromosomas, translocaciones e inversiones.

Citogenéticamente una inversión pericéntrica es una rotación de 180 grados alrededor de un eje transversal, de un segmento cromosómico pericéntrico (que incluye al centrómero) y su reincorporación al mismo lugar y en el mismo cromosoma. Cuando estas inversiones, están asociadas a otras redistribuciones en el mismo cromosoma se les designan como inversiones complejas, si esta alteración es la única, se le llama inversión simple, este tipo es la más frecuente en la población normal (238)(205).

Dentro del mapa cromosómico humano, nos ocuparemos de forma especial del cromosoma nueve, debido a que es uno de los cromosomas que representa una mayor variabilidad dentro del cariotipo.

B) EL CROMOSOMA 9.

1. Morfología e identificación del cromosoma 9.

El cromosoma 9 pertenece al grupo C del idiograma humano, que agrupa a los cromosomas de tamaño mediano, con un centrómero desplazado hacia la parte superior de dicho cromosoma: submetacéntrico. Presenta una constricción secundaria a nivel del brazo largo, que se extiende desde la zona yuxtacentromérica hasta

la zona media del brazo largo de dicho cromosoma (Fig. 6).

2. Aplicación de técnicas de bandas al estudio del ----- cromosoma 9. -----

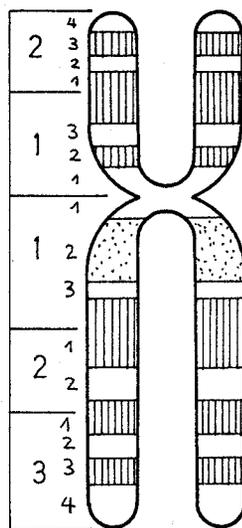
Describiremos a continuación las técnicas de bandeado que pueden aplicarse para la identificación del cromosoma nueve.

a) BANDAS "Q".

La mostaza de quinacrina, responsable de las bandas "Q", visibles con el microscopio de fluorescencia, produce en el caso del cromosoma 9, bandas similares a las "G", excepto en las regiones cercanas al centrómero y en la constricción secundaria de dicho cromosoma, que por lo regular no son visibles al microscopio de fluorescencia. Las bandas "Q" son reemplazadas generalmente por las bandas "G" y "R".

b) BANDAS "G".

La digestión de ciertas porciones del cromosoma con enzimas proteolíticas y la posterior coloración con Giemsa, originan las bandas "G". La principal diferencia con las bandas "Q", en el caso del cromosoma 9, estriba en que las bandas "G" visualizadas



CROMOSOMA 9

FIGURA 6

con Giemsa, ponen de manifiesto la constricción secundaria y la región centromérica de dicho cromosoma (Fig. 4 y Fig. 6).

c) BANDAS "R"

La tinción con naranja de acridina, después de desnaturalización térmica, dá lugar a las bandas "R".

En el caso del cromosoma 9, las bandas "R" no ponen de manifiesto la constricción secundaria de este cromosoma, aunque sí lo hace con los extremos, no sólo del cromosoma 9, sino de todos los cromosomas. Es una técnica muy útil para detectar anomalías en las regiones terminales de los cromosomas.

d) BANDAS "C"

Las bandas "C" ponen de manifiesto la región heterocromatínica pericéntrica y la constricción secundaria del cromosoma 9 (274), en mitosis y en interfase. Es uno de los métodos de elección en el estudio de los polimorfismos cromosómicos del cromosoma 9 (Fig. 5).

Recientemente, se ha puesto a punto la técnica de microscopía electrónica para la

identificación de los diferentes cromosomas, en concreto del cromosoma 9. Esta técnica permite la cuantificación directa de las alteraciones cromosómicas y sobre todo de las variaciones y heteromorfismos de dicho cromosoma.

El método a través del cual se lleva a cabo, es el siguiente: Se aplica bandeado G y posteriormente se localiza la misma metafase en el microscopio electrónico de barrido, ello hace posible la comparación directa entre cromosomas 9 homólogos por medio de fotografías ópticas y en el microscopio electrónico de barrido, al mismo tiempo, permite comparar las alteraciones en la heterocromatina con ambos tipos de microscopios; es aplicable también esta técnica a las inversiones del cromosoma 9 (116).

Los inconvenientes de esta técnica son su alto coste y su complejidad.

3) Evolución del cromosoma 9.

La importancia de las reestructuraciones cromosómicas en la evolución de las distintas especies y en concreto en el hombre, no está clara, ya que el estudio de éstas sólo nos dá una información incompleta sobre su significación real y por tanto, es difícil evaluar su papel en la evolución, así como su

ocurrencia al azar.

El estudio de la evolución de los cromosomas nos brinda una información interesante, demostrando que los cromosomas de nuestro cariotipo proceden de una reestructuración de elementos ancestrales (64).

Algunos de los cromosomas humanos, originales de cromosomas ancestrales, están aún presentes en algunas especies de primates.

En el caso del cromosoma 9, que es el que nos ocupa, se han realizado numerosos estudios aplicando diferentes técnicas de bandeo en los cariotipos de *Pongo pygmatics*, *Gorilla gorilla* y *Pantrogloodites*, para poder aclarar las controversias existentes a cerca de los cromosomas equivalentes al número 9 en estas especies.

Se acepta que *Pongo pygmatics* y *Gorilla gorilla* son portadores de un acrocéntico equivalente al cromosoma 9 humano (54) (61).

En el chimpancé (*Pongo pigmatics*), se encuentra un cromosoma submetacéntrico más corto que el número 9 humano (54) (61) (266). Este cromosoma submetacéntrico del chimpancé, tiene una pequeña cantidad de heterocromatina constitutiva en la región pericéntrica de dicho cromosoma. En un principio se

pensó que esta disminución de la heterocromatina explicaría la diferencia de longitud entre los dos cromosomas, sin embargo, el estudio del bandeo "R" realizado por Dutrillaux y cols. en 1.973 (66), reveló que el brazo largo del cromosoma 9 del chimpancé no es idéntico al brazo largo del cromosoma 9 humano. Ambos brazos largos, son portadores de una heterocromatina constitutiva más o menos prominente unida al centrómero, pero las distintas técnicas de bandeo han revelado que la parte distal del brazo largo del cromosoma 9 del chimpancé, se corresponde con la región terminal del brazo corto del cromosoma 9 humano y que la parte distal del brazo corto del cromosoma 9 del chimpancé es igual a la región terminal del brazo largo del cromosoma 9 humano (115). Hoy se acepta el modelo propuesto por Hansmann en 1.976 (115) el cromosoma 9 humano se desarrollaría a partir del mismo cromosoma ancestral del que también se originarían los actuales cromosomas 9 del chimpancé, el gorila y el orangutan (Pantroglodites) (115).

Este cromosoma ancestral sería un acrocéntrico que evolucionaría según dos modelos distintos. (Fig. 7).

En primer lugar, aparece una inversión pericéntrica a consecuencia de dos roturas producidas en un cromosoma 9 acrocéntrico ancestral (Fig. 7), una

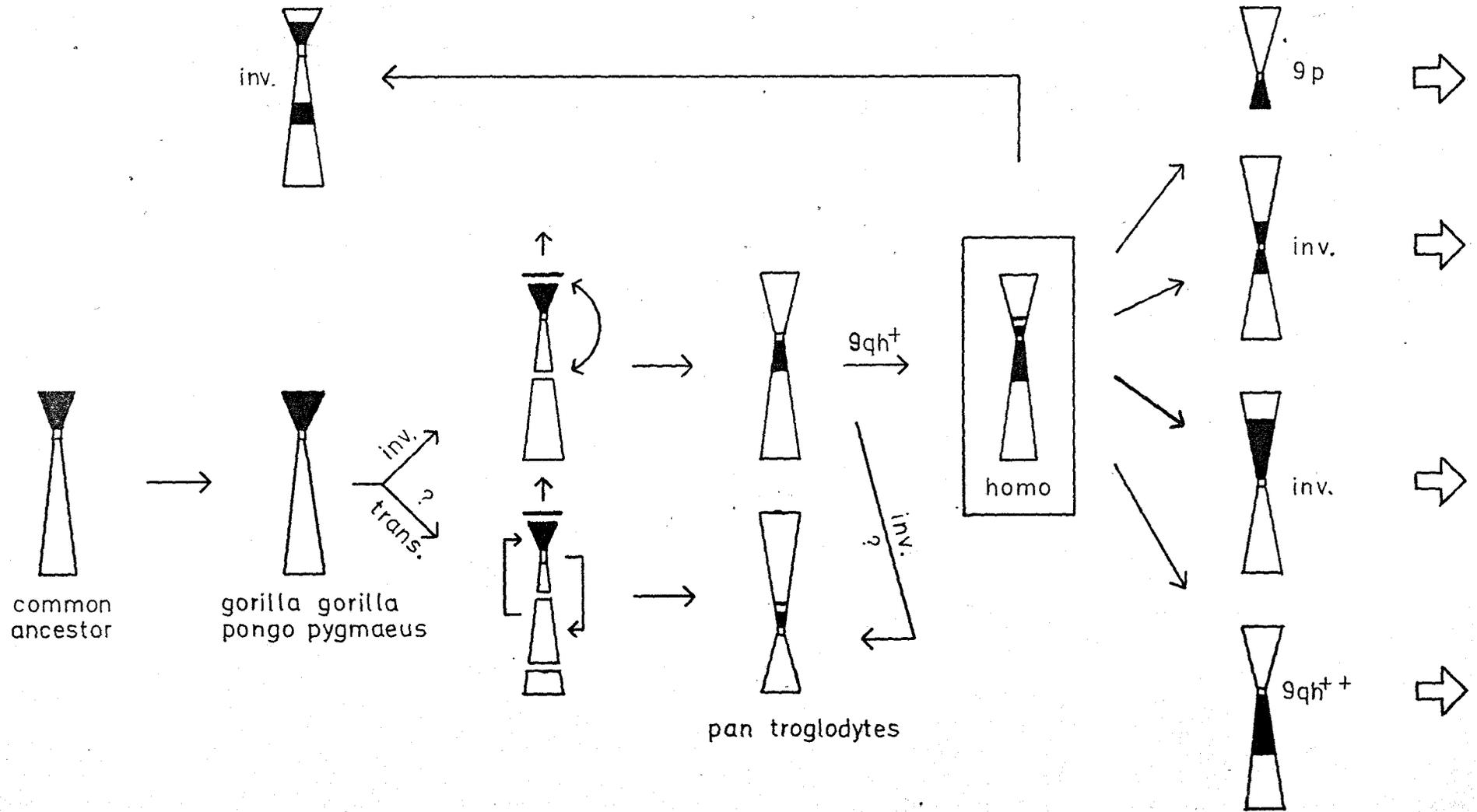


FIGURA 7

rotura se produciría en la heterocromatina constitutiva del brazo corto del cromosoma ancestral y la otra rotura, en la parte inferior del brazo largo de dicho cromosoma acrocéntrico (Fig. 7) con la consiguiente pérdida del fragmento acéntrico de la heterocromatina constitutiva (Fig. 7) (115).

En segundo lugar, se debería a una multiplicación de la heterocromatina del cromosoma ancestral (115).

En la actualidad, hay un aumento relativo de la incidencia de mutaciones cromosómicas del 9, al igual que de la incidencia de diferentes inversiones (tipo I, II, III) y polimorfismos (9qh+ y 9qh-) de este cromosoma. Si estas variaciones se acompañaran de un descenso en la capacidad reproductora del individuo y de una disminución en la natalidad, como ya ha sido apuntado por autores como Hansman (115) podría ser el principio de una subespecialización cromosómica en el hombre (273).

El cromosoma 9 del chimpancé aparece como consecuencia de translocaciones intracromosómicas del cromosoma 9 acrocéntrico ancestral, o también debido a una inversión pericéntrica anterior a la multiplicación de la heterocromatina constitutiva del cromosoma 9 humano submetacéntrico. Es necesario para que ocurra

esta translocación, tres puntos de ruptura y tan sólo dos para que ocurra la inversión pericéntrica, por tanto, la última posibilidad parece ser la más probable (115).

Dutrillaux había propuesto anteriormente un modelo para explicar la evolución del cromosoma 9 en *Gorilla gorilla* y en *Pongo pygmatics*, en donde el cromosoma 9 humano se originaría por una inversión pericéntrica del cromosoma 9 del gorila y por una translocación intracromosómica del cromosoma 9 del chimpancé (62).

El modelo de Hansmman (Fig. 7) explicaría las diferencias entre la heterocromatina constitutiva del cromosoma 9 humano y la del cromosoma 9 del chimpancé (115).

4. Polimorfismos del cromosoma 9 en la especie humana. Mecanismos de producción.

Desde el punto de vista citogenético, se consideran polimorfismos cromosómicos las diferencias existentes en la morfología y grado de tinción de determinadas regiones cromosómicas.

La longitud total absoluta de los cromosomas de un mismo individuo y la razón de las longitudes de

sus brazos, varían considerablemente de célula a célula. Normalmente ello es consecuencia de la variación en el grado de contracción (148).

El empleo de la colchicina en los cultivos cromosómicos, afecta diferencialmente al proceso de contracción de los cromosomas de una misma célula. De esta manera, los cromosomas largos (grupos A y B) están relativamente más contraídos que los cortos (grupos E, F, G) (83) (213).

Se recomienda que para referirse a las variaciones detectadas en la población normal, sea utilizado el término polimorfismo, heteromorfismo o variación cromosómica (44).

Los heteromorfismos cromosómicos relativos al cromosoma 9, se conocían antes de las técnicas de bandeo, pero sólo con los métodos actuales ha sido posible determinarlos con exactitud. Con las técnicas de bandas es posible subdividir cada una de las regiones específicas en subunidades, mostrando cada una de ellas una variación independiente, siendo, por tanto, múltiples las posibilidades de detección de los polimorfismos (73).

Parece ser, según algunos autores, que las variaciones en el tamaño de la constricción secundaria del brazo largo del cromosoma 9, aunque esta región

contiene secuencias de DNA altamente repetitivo (131) (214), podría tener significación clínica (14) (46) (80) (107) (194), el significado biológico de los polimorfismos del cromosoma 9, todavía no es bien conocido en la actualidad.

Las inversiones cromosómicas, así como las variaciones en las constricciones secundarias, constituyen "marcadores" que pueden utilizarse en estudios familiares, de población y paternidad (14) (58) (71) (146) (157) (197).

La técnica de bandas más utilizada, para la identificación de estas variaciones son las bandas C, que permiten visualizar correctamente las regiones heterocromáticas de los cromosomas 1, 9, 16, y región distal de los brazos largos del cromosoma 4, de ahí, los numerosos estudios llevados a cabo en dichos cromosomas con esta técnica de bandeo (73).

Gosden y cols. (106) y Danlon y Mageins (59) empleando distintas técnicas de bandas, observaron diferencias en la afinidad tintorial del brazo corto del 9, con respecto al brazo largo de dicho cromosoma.

Gosden (106) y Mattei y cols. (164) proponen la existencia de dos regiones en la heterocromatina del 9, hecho que fué también descrito por Buys y cols. (137): Una región heterocromatina pericéntrica, similar

a la de otros cromosomas, que se observa con técnicas de bandas C, y otra que corresponde a una región específica del cromosoma 9 que sólo se pone de manifiesto con bandas de Giemsa 11.

Mattei y cols en 1.981 (164) sugirieron que todas las inversiones parciales de la heterocromatina del cromosoma 9, se deberían a un aumento de su heterocromatina en el brazo corto del cromosoma 9 y no a inversiones propiamente dichas, por tanto, una inversión en 9p aparecería con el método CBG como una "inversión parcial", pero sería una "inversión total" al aplicarle las técnicas de Giemsa 11. Gosden y cols. (106) encontraron, con bandas Giemsa 11, una inversión parcial en la heterocromatina del brazo largo y en el brazo corto del cromosoma 9. Según los datos anteriores, no se puede evaluar independientemente las variaciones de las dos regiones heterocromáticas del cromosoma 9. Con el tiempo, será posible detectar, más tipos de heteromorfismos por medio de una evaluación precisa de estas dos regiones.

Algunos heteromorfismos poco frecuentes, tales como la inversión parcial de la región heterocromática del cromosoma 9, confirmada por bandeo Giemsa 11, puede utilizarse como un marcador de población (71), y su transmisión se ha observado en familias durante varias generaciones (14) (146).

Madan (157) afirma que la región heterocromática permanece constante y que no sufre variaciones en su tamaño, lo cual estaría en contra de la hipótesis de que las diferencias observadas en la longitud son debidas a los diferentes grados de espiralización (73).

La significación y la utilización de los polimorfismos del cromosoma 9, al menos en teoría, son enormes, por ejemplo podrían utilizarse como cromosomas marcadores en estudios de comportamiento cromosómico en interfase (231); en alteraciones numéricas de los espermatozoides (104) (140); en trisomías de origen cromosómico de distintos cromosomas tales como el 21; así como en el uso del mapa génico (Rotterdam Conference 1.974) ó como marcador genético en los grupos sanguíneos, en el test de la paternidad (176). Se pueden utilizar los polimorfismos del 9, para el consejo genético, en genética de población así como en estudios de evolución.

Pero para hacer todo esto posible, deben aclararse numerosos aspectos de estas variaciones cromosómicas, tales como el mecanismo de producción de los polimorfismos.

Estos mecanismos se siguen discutiendo hoy en día. Existen numerosas hipótesis que intentan explicar

la etiología de estos polimorfismos, dentro de ellas podemos distinguir aquellas hipótesis que se refieren a las variaciones de la heterocromatina y las que intentan explicar la etiología de las inversiones.

Entre las primeras nos encontramos con variaciones en primer lugar debidas a diferencias en el grado de espiralización, y en segundo lugar debidas a translocaciones (58).

En lo que se refiere a la etiología de las inversiones se piensa en la actualidad, que hay al menos dos mecanismos que podrían ser los causantes del aumento ó disminución de la heterocromatina:

a) El Crossing-over desigual, sugerido por Ferguson-Smith en 1.974 (80), aunque ya anteriormente Roberts había demostrado que el crossing-over era poco frecuente en las regiones heterocromáticas las cuales contienen un DNA altamente repetitivo (206).

b) Se producirá por dos puntos de rotura debidos principalmente a una inserción ó a una delección intercalada a nivel de la heterocromatina, lo cual explicaría el aumento o su disminución y por tanto, basándonos en esta hipótesis, la disminución sería lo más frecuente.

Aunque esta hipótesis parece ser la más aceptada Ferguson-Smith, encuentra que el 9qh+ es más

frecuente que el 9qh-, aunque no está claro si la mayor frecuencia del 9qh+ sería debido a una eliminación selectiva del 9qh- ó a que el 9qh+ se detecta con mayor facilidad (80).

Lo que si parece cierto, es que tanto el crossing-over como la inserción, delección ó cualquier otra causa inespecífica, da lugar a modificaciones en la heterocromatina constitutiva del cromosoma 9, y que la aparición de dicha modificación es relativamente frecuente (73). En lo que no existen dudas, es que necesariamente las roturas y uniones ocurren en todos los casos dentro de las bandas q11 a q13 (115) lo que está de acuerdo con la elevada frecuencia de distintos tipos de inversiones pericéntricas que aparecen en esta región del cromosoma 9 (73).

5. INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9, MECANISMOS DE PRODUCCION.

La incidencia de las inversiones pericéntricas en el cromosoma 9, publicados hasta el momento dependen de la población estudiada y también del tipo de técnica utilizada.

Los puntos de rotura se producen casi siempre, a nivel de la unión eurocromatina-heterocromatina.

Respecto a los tipos de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, por vez primera Hassman en 1.976 (115), describió 3 tipos:

a) La inversión total o tipo I, cuando existe un desplazamiento total de la heterocromatina del brazo largo al brazo corto del par 9. Es el tipo menos frecuente en los estudios de polimorfismos con tan solo una frecuencia del 0,6% del total de inversiones del cromosoma 9 (176) (Fig. 8).

b) Inversión "parcial" o tipo II, es aquella en que un tercio de la heterocromatina del brazo largo, está ahora localizada en el brazo corto del cromosoma 9; su frecuencia es del 52,2% de todas las inversiones del cromosoma 9 (176) (Fig. 8).

c) Cuando menos de un tercio de la heterocromatina total está situada en el brazo corto del cromosoma 9, se denomina tipo III; su frecuencia es de un 47,2 % del total de inversiones del cromosoma 9 (176) (Fig. 8).

Por otra parte, cuando se trata de localizar el punto exacto de rotura existen numerosas interpretaciones. Así para Boué (30), los puntos de rotura estarían localizados en las bandas p11 ---> q13, que es el 20% del tamaño del cromosoma 9 y coincide con el tipo I de Hansmann (115).

p13 ---> q21, representa el 37% del tamaño



Tipo I



Tipo II



Tipo III

total del cromosoma 9, este segmento invertido no se correspondería exactamente con los tipos II y III de Hansmann, pues es más amplio que éstos. La diferencia en la interpretación en los puntos de rotura, a partir de los cuáles se producirían las inversiones del cromosoma 9, son importantes sobre todo por dos razones:

1. Para algunos autores sólo se incluye la heterocromatina en los puntos de rotura, mientras que para otros, dichos puntos están fuera de esta región cromosómica, dentro de la eucromatina o en el límite de ambas (45).

2. La variación en el tamaño del segmento invertido (20% ó 37% en relación a la longitud total del cromosoma 9), podría conducir, en la meiosis, a la diferencia en la conducta de los heterocigotos con inversión del 9 (134), ya que se ha podido observar que existe una correlación entre tamaño de inversión y la ocurrencia de aneusomías por recombinación en la descendencia (246) (135) (133) (270). Cuanto mayor es el segmento invertido mayor es la probabilidad de crossing-over y por tanto de formación de aneusomías por recombinación (80).

6. ORGANIZACION GENICA DEL CROMOSOMA 9. MAPA GENICO

En la actualidad la palabra gen, se

identifica con cadena polipeptídica, sin embargo, en los organismos vivos el gen no funciona de una forma aislada, sino en comunidad con otros genes, que intervienen en la misma u otras cadenas metabólicas y recibe en mayor o menor grado, la influencia del ambiente externo a dicho organismo. Esta correlación gen-medio ambiente, dificulta la demostración del efecto de un gen dado, sobre el conjunto de características somáticas y de comportamiento, que definen el fenotipo del individuo.

Por cada gen presente en un cromosoma, existe otro en el segmento correspondiente del cromosoma homólogo, denominándose locus a la zona que ocupa un gen y su homólogo. La dimensión del locus varía con la ploidía de la célula, siendo la regla general que un gen puede contener tantos locus como cromosomas homólogos existan en la célula. En el locus se encuentra por tanto, la información correspondiente a un polipéptido, con actividad estructural o enzimática. Para un determinado polipéptido, tenemos un gen "normal" y se pueden obtener genes distintos por mutación de aquél o de un gen primitivo común; el gen "normal" produce la secuencia "normal" de aminoácidos y los mutantes pueden dividirse en dos clases, los que producen el polipéptido alterado, pero funcionando, y los que no producen secuencia alguna o la producen

ineficazmente desde el punto de vista fisiológico.

Se considera gen normal, aquél que existe en casi la totalidad de la población estudiada, no siendo siempre el gen más eficiente. Si la ventaja que presentan dos genes es muy similar, estos genes estarán ampliamente distribuidos en la población normal: la misma proteína, puede adoptar formas distintas que coexisten. En este caso, diremos que hay un polimorfismo; el gen mutante no puede ser letal (porque desaparecería rápidamente), pero si la diferencia de ventajas entre ambos genes es notable, el polimorfismo tendrá carácter transitorio.

En los últimos años, se han realizado importantes hallazgos en la localización de genes específicos en determinados cromosomas o en regiones específicas de éstos (brazos o bandas); gracias a estas investigaciones se han podido llevar a cabo los mapas génicos de numerosos cromosomas entre ellos el del cromosoma 9.

Podemos definir el mapa génico del nueve como el plano que indica las posiciones de los genes en dicho cromosoma (217).

Los métodos a través de los cuales podemos realizar un mapa génico son:

MAPA GENICO DEL CROMOSOMA 9

pter a qter	Simbolo	Region
Hexosa 1 fosfato uridil transferasa	GALT	p 12/24 --> pter
Adenilato Quinasa tipo III	AK-3	P 13
Aconitasa citoplasmatica	Aci-1	P 13
ADN de membrana plasmatica	cmDNA	qh
Sitio de integracion de la timidina Quinasa del Herpes tipo I	HV1TK	p 13 --> qter
Adenilato Quinasa tipo I	AK-1	q34
Antigeno ABO	ABO	q34 --> qter
Sindrome ungeo patelar I	Np-1	q34 --> qter
Argininosuccinato sintetasa, citrulinemia	ArgSS	q34
Folilpoliglutamato sintetasa	FPGS	----
Interferon del fibroblasto	If-3	----
Interferones de los leucocitos	If-Le	----
Crosomucide	CRM	----
Antigeno de especie	SA9	----

- a) El análisis por ligamiento.
- b) Hibridación celular somática.
- c) Hibridación "in situ".

a) ANALISIS POR LIGAMIENTO:

En 1.911 Morgan descubrió el ligamiento en *Drosophila*, opinó que probablemente existía una relación entre la frecuencia de recombinación de los genes ligados y la distancia lineal existente entre los mismos en el cromosoma. En términos de Morgan "las proporciones que resultan no son tanto la expresión de un sistema numérico como lo son de la situación relativa de los factores en los cromosomas", por tanto, el análisis por ligamiento se basa en que los genes que están en el mismo cromosoma, según la distancia a la que se encuentren, se comportan como más o menos ligados genéticamente (20).

b) HIBRIDACION CELULAR SOMATICA:

En la actualidad es el método más usado. Consiste en fusionar una célula humana cultivada, con una célula de ratón ó de hámster. Esta fusión se facilita mediante el uso del virus Sendai (parainfluenza) inactivado por agentes químicos como la lisolecitina ó polietilenoglicol. El análisis genético es posible, porque, en las sucesivas divisiones de las

células híbridas, éstas tienden a perder cromosomas humanos. Se puede así correlacionar la pérdida de un carácter genético con la eliminación de un cromosoma específico y asignar un gen a un determinado cromosoma.

Otra forma experimental, consiste en seleccionar las células híbridas que retengan un cromosoma humano, en este caso el cromosoma 9. Se usan células de ratón con una mutación tal, que no puedan sobrevivir en un medio particular selectivo. En este caso, para que la célula sobreviva, la deficiencia debe ser compensada por el gen humano. Utilizando cromosomas con un segmento traslocado es posible localizar genes en una región determinada del cromosoma (56).

c) HIBRIDACION "IN SITU":

Los ácidos nucleicos, al igual que otras macromoléculas, ocupan posiciones precisas dentro de las células y de los tejidos y se han desarrollado técnicas en las que se utilizan "in situ" sondas de ácido nucleico, de manera similar a como se utilizan los anticuerpos marcadores, para localizar secuencias determinadas de ácido nucleico en los cromosomas, en este caso en el cromosoma 9. En los últimos tiempos se ha mejorado la resolución espacial de esta técnica mediante el desarrollo de métodos especiales para marcar las sondas de ácido nucleico con colorantes

fluorescentes (5). Los mapas génicos pueden construirse según dos modelos diferentes:

1) Con los datos del entrecruzamiento, ya que la frecuencia del entrecruzamiento entre pares de genes indica su orden lineal, es decir, sus posiciones relativas; en este tipo de mapas las distancias se dan en unidades de entrecruzamiento (5).

2) Construirse mediante la observación de aberraciones localizadas en un cromosoma, que producen fenotipos relacionados con la presencia o ausencia de genes particulares (5).

C) PATOLOGIA DEL CROMOSOMA 9.

En este apartado trataremos las aberraciones estructurales y numéricas del cromosoma 9.

1. Aberraciones numéricas.

En este grupo de aberraciones numéricas podemos agrupar desde la monosomía 9 completa, hasta la trisomía 9 total, pasando por los más variados mosaicos. No existen descritas en la bibliografía revisada por nosotros recién nacidos vivos ni muertos, con monosomía 9 completa. Todas las monosomías 9 que se conocen, son monosomías parciales. Al ser anomalías de

estructura, se tratarán en el apartado de aberraciones estructurales.

a) TRISOMIA 9 COMPLETA Y MOSAICO DE TRISOMIA 9

Se conocen actualmente alrededor de 20 casos de recién nacidos vivos entre las trisomías 9 completas y mosaicos de trisomía 9. El peso medio de estos niños al nacer fué de 2.400 grms. Los embarazos, en la mayoría de los casos, presentaron hemorragias y disminución de la actividad fetal. Todos los recién nacidos presentaron microcefalia y diversos signos dismórficos que incluían: dolicocefalia, frente prominente y temporales estrechos, hendiduras parpebrales bajas, hipotelorismo, puente nasal prominente, nariz chata, labio inferior prominente, micrognatia severa, orejas disformes de implantación baja y rotación posterior, pecho en quilla, cifosis y/o escoliosis, hipoplasia genital masculina, luxación congénita de cadera y a veces también, de codos y rodillas, dedos largos, finos y flexionados, con pulgares en abducción, posición anómala de los pies e hipoplasia del segundo y quinto dedo del pie.

Otras malformaciones frecuentes fueron: defecto cardiaco congénito completo en los 2/3 de casos, malformaciones renales (riñones poliquísticos y/o hidronefrosis) en la mitad de los casos, debida a

que las válvulas ureterales son posteriores.

Con menor frecuencia se observó: microcefalia, paladar ojival y labio leporino, segmentación pulmonar, malrotación del colon y anomalias vertebrales.

Radiográficamente los pacientes presentan en general: luxaciones de los miembros, hipoplasia severa del arco pubiano, deformidades costales, anomalias vertebrales, hipoplasia del ala iliaca e hipoplasia de las falanges de los dedos de los pies. En un caso se pudo observar condrodisplasia de fémur y calcaneo (7).

Hay dos casos de recién nacidos, muertos a las dos y ocho horas de vida respectivamente, que presentaron una trisomía nueve completa en sus linfocitos y linfoblastos (173).

En casos aislados de mosaicos de trisomía 9, se asociaban diferentes anomalias, como acortamiento de una de las piernas y un pie (79), microftalmia (200), ano anterior (9), opacidades corneales y meningoencefalocèle lumbar (92). Kaminker publicó una trisomía 9 en mosaico con pocas anomalias típicas de este síndrome, sin embargo presentaba malformaciones craneofaciales muy severas que no son propias de esta alteración cromosómica (136).

La mayoría de los pacientes con trisomía 9 en mosaico (2/3) sufrieron una asfixia perinatal, deficiencias neurológicas severas, alteraciones en el crecimiento y retraso mental.

En los 2/3 de los casos murieron entre las primeras horas y las primeras semanas de vida.

La diferencia y la severidad de las malformaciones, al igual que la supervivencia del enfermo depende, en estos casos, del grado de mosaicismo que presenten.

2. Anomalías estructurales.

Dentro de ellas trataremos las deleciones, anillos, trisomías y tetrasomías parciales.

a) Deleciones.

En lo que se refiere a las deleciones que atañen al cromosoma 9, encontramos aquellas que afectan al brazo corto y aquellas que alteran el brazo largo. Comenzaremos por los casos de deleciones del brazo corto del cromosoma 9.

1. Deleciones del brazo corto del cromosoma 9

En este apartado nos encontramos con un síndrome, clínicamente bien definido: del (9) (pter --> p22 ó 21), en el que observamos distintos signos

dismórficos. En lo que se refiere a sus características faciales destacan: trigonocefalia con metopia prominente y temporales deprimidos, sinofridia, hipertelorismo, pseudoexoftalmos, hipoplasia hemifacial, nariz chata con anteversión de las ventanas nasales, incremento de la distancia entre septum y vermilium del labio superior, micrognatia, dientes en posición irregular, paladar ojival, orejas con rotación posterior, lóbulos unidos y antelox prominentes, cuello corto y ancho.

Entre las características corporales destacan: escoliosis, hernias, diastasis rectal, en las hembras, clítoris prominente e hipoplasia de labios mayores y menores, criptorquidia e hipospadia en los varones; la flexión está aumentada en las hemifalanges mayores de los dedos, las falanges distales son cortas y planas lo que origina dedos en palillos de tambor; en lo que se refiere a los dermatoglifos se observa que el número de vorticilos está aumentado en los dedos.

Los defectos cardíacos aparecen en menos de la mitad de los pacientes y no afectan a su calidad de vida.

Alteraciones menos frecuentes son: hernias diafragmáticas, hidronefrosis, anomalías radiográficas en costillas y vértebras y hexadactilia postaxial (97).

La mayoría de los pacientes presentan una

marcada hipotonía y retraso mental, aunque en algunos, el retraso es moderado, las convulsiones son frecuentes.

Respecto al origen de estas deleciones, se sabe que las traslocaciones familiares sólo son responsables de alrededor de un 10% de los casos (186). Por otra parte se observa que más de las 3/4 partes de los pacientes con este síndrome, (que en la actualidad se conocen unos 24), son mujeres.

La media de edad de los padres, está aumentada ligeramente, 28 años en mujeres y 32 años en los hombres en el momento del nacimiento de los probandus.

Ningún caso de los conocidos murió durante el período de observación; se conocen dos casos de adultos, uno de ellos una mujer de 20 años con un coeficiente intelectual de 45 (6) y un hombre de 61 años que padecía deficiencia mental severa, alucinaciones acústicas y esquizofrenia (183).

Existen descritos en la literatura casos de deleciones de un segmento de los brazos cortos del cromosoma 9, asociados a otras alteraciones cromosómicas, en su mayoría duplicaciones, como del (9) (pter --> p22) asociada a una duplicación del cromosoma 3 (82); del (9) (pter --> p22) y duplicación (5),

(150); del (9) (pter --> p22) y duplicación (13), (132, 218). Todos ellos mostraron alteraciones clínicas de la delección de los brazos cortos del cromosoma 9 además de las alteraciones cromosómicas asociadas propias de cada caso.

Entre las delecciones del brazo corto del cromosoma 9, existen otras que no constituyen un síndrome clínicamente bien definido y que van a afectar a diversas porciones, en su mayoría perdidas intersticiales en el brazo corto del cromosoma 9. En una paciente con este tipo de anomalía del (9) (p23 --> p13), se encontró que la actividad de GALT estaba descendida, por lo cual se sugería que el locus GALT estaría dentro del segmento deleccionado.(51)

2. Delecciones del brazo largo del cromosoma 9

Existen sólo siete casos de delecciones del brazo largo del cromosoma 9, descritos en la bibliografía revisada, sólo uno de ellos fué una delección de novo, los otros son heredados.

Cinco de ellos sufren pérdida del mismo fragmento cromosómico (q11 --> q21 ó 22), es decir una delección intersticial que afecta a la heterocromatina y algún material eucromático adyacente (130) (180), el sexto caso es una delección intersticial de novo (9)

(q22 --> q32) (272). El último de los casos es una del (9) (q32 --> q34) (252).

Los pacientes que tuvieron estas alteraciones presentaban modelos distintos de dismorfias y anomalías.

b) Cromosoma 9 en anillo: r (9).

La mayoría de los casos conocidos, unos 12 casos, tienen una clínica similar a la de los pacientes con delección del brazo corto del cromosoma 9, que afecta al segmento pter --> p22, retraso mental moderado o severo. En algunos pacientes no se encontraron todas las alteraciones clínicas características de la delección. Los puntos de rotura en unos pocos enfermos, estaban en las interbandas distales de ambos brazos del cromosoma 9, (91) (127) (178).

Los defectos cardíacos estaban presentes en un 4/12 de los afectos, hipospadias y genitales masculinos ambiguos en un 25%. Otras anomalías menos frecuentes fueron paladar ojival, hipoplasia de radio y pulgar, sindactilia de los dedos de los pies y malformaciones vertebrales (129).

c) Trisomías parciales.

Trataremos, dentro de este apartado las trisomías parciales que afectan al cromosoma 9; comenzaremos por las trisomías del brazo corto y describiremos, posteriormente, las trisomías parciales del brazo largo del cromosoma 9.

1. Brazo corto.

a) Trisomías completas del brazo corto del cromosoma 9.

La trisomía del brazo corto del cromosoma 9 es una alteración bien conocida, ya que hay publicados en la actualidad más de 100 casos.

El peso medio al nacer de todos los pacientes fué de 3000 grms.

El modelo clínico de este síndrome es el siguiente: Los 2/3 fueron niñas, braquicefalia, alteraciones en el cierre de las fontanelas, rasgos faciales característicos (abombamiento frontal, facciones anchas, implantación baja de los ojos, miopía, estrabismo, nariz prominente con punta glogosa, labio superior asimétrico con filtrum, comisuras bucales bajas, labio inferior prominente, retraso en la dentición, orejas malformadas en forma de taza, cuello ancho y corto, hipoplasia de los músculos periescapulares, cifosis severa y escoliosis tóraco-



lumbar, pié valgo, hipoplasia de los dedos de los pies y manos con uñas distroficas, (más acentuada la distrofia en las uñas de los dedos de los pies), marcada clinodactilia en pulgares y dedos pequeños y braquimesofalange e hiperflexión en los dedos pequeños. (219) (273).

A nivel dermatoglífico: los dos pliegues transversos palmares son reemplazados por un pliegue transverso único, fusión del trirradio digital b y c, con un descenso relativo de los patrones digitales. (78) (144) (216) (273).

Alteraciones menos frecuentes son: epicanto interno, iris en espéculo, micrognatia, paladar ojival, úvula bífida, alteración de movilidad articular de los miembros, micropene, criptorquidea y finalmente sindactilia del cuarto y tercer dedo de la mano y del segundo y tercer dedo del pie.

Los patrones radiográficos que nos encontramos durante el período de crecimiento incluyen: hipoplasia del pubis, hipoplasia de las falanges media y distal (especialmente del pulgar y dedo gordo del pie y del segundo dedo de la mano, al igual que de las falanges medias de los dedos pequeños de la mano y el pie), con epífisis gruesas, pseudo-epífisis en metacarpianos, metatarsianos y falanges, y fusión de

los huesos lunar y piramidal.

La microftalmia descrita en este síndrome, podría ser falsa y sería debida a la gran profundidad de los ojos (219).

Malformaciones congénitas: defectos cardíacos que aparecen en un 5% a 10% de los pacientes, labio leporino y/o paladar ojival en el 5% de los casos.

Malformaciones menos frecuentes son: hidrocefalia interna, coloboma del iris (203), hidronefrosis, riñones en herradura, dislocación congénita de rodillas y/o codos, hernias umbilicales ó inguinales (137), y deficiencia de la hormona del crecimiento (96).

Desarrollo estaturó ponderal.

La mayoría de los pacientes presentan estatura baja durante el período de crecimiento, sin embargo, debido a que la maduración ósea está retrasada, muchos de ellos continúan creciendo hasta los 20-25 años teniendo, por tanto, un crecimiento compensatorio parcial. En una minoría de enfermos adultos podemos encontrar una estatura normal (112). La hipoplasia ungueal se hace menos evidente con la edad.

Coeficiente intelectual.

Alrededor de la mitad de los pacientes tienen una microcefalia y en todos los adolescentes y adultos estudiados se encontró un retraso mental profundo. El retraso mental moderado se puede encontrar en algunos niños durante la primera década de la vida. El desarrollo del lenguaje está muy retrasado y queda reducido normalmente a palabras simples. Los pacientes tienden a comunicarse por signos. Las convulsiones son poco frecuentes y suelen aparecer en pacientes afectos a hidrocefalia congénita.

Debido a que son poco frecuentes las complicaciones y malformaciones que comprometan seriamente sus vidas, las expectativas de supervivencia son buenas. Muy pocos mueren en la primera infancia y los que mueren son en su mayoría por defectos cardíacos (180) (195) (22) (108) (277).

b) Trisomías parciales del brazo corto del cromosoma 9.

Los pacientes con una duplicación de la mitad distal del brazo corto del cromosoma 9: trisomía (9) (pter --> p22 ó 21), presentan un modelo clínico solapado de la duplicación total del brazo corto del cromosoma 9, el crecimiento no se encuentra afectado en la mayoría de los casos, la microcefalia suele estar ausente y el retraso mental es moderado (149) (42).

Los casos que presentan una trisomía (9) (pter --> 13) no se diferencian significativamente de aquellos casos en que la trisomía 9 es completa (152) (250).

Dentro de estas trisomías parciales del cromosoma 9 nos encontramos con algunos casos de duplicaciones parciales que afectan a diferentes regiones del cromosoma asociadas a otras alteraciones cromosómicas. La clínica, por supuesto, es muy diferente según la región del 9 afectada y la alteración cromosómica asociada.

c) Trisomías parciales del brazo corto del cromosoma 9 asociadas a otras alteraciones cromosómicas.

Se han descrito algunos casos en los que existe una trisomía parcial del brazo corto del par 9 asociada con otras alteraciones cromosómicas, entre ellas nos encontramos una asociación de una trisomía (9p) al Síndrome de Cri du Chat, publicado por Sigmud (225), en un niño con retraso mental y signos típicos de ambos síndromes. Esta alteración cromosómica fue heredada del padre, portador de una translocación (5;9).

Otro caso conocido de trisomía 9 parcial

asociada a otras anomalías cromosómicas es el de un paciente afecto de una trisomía (9p) asociada a monosomía de la región distal heterocromática del cromosoma Y, Yq+. Esta alteración se debería a una malsegregación de una translocación (9p;Y) y formación de un isocromosoma (9p). El fenotipo es característico de una trisomía 9p (229).

Fryns (95) publicó el estudio de un recién nacido con una trisomía parcial (9p) asociada a una trisomía (4q) distal, esta aberración sería la consecuencia de un desbalance producido por una translocación (4;9) equilibrada en la madre del probandus, el paciente presentó los estigmas craneo faciales de una trisomía (9p) pura, con alteraciones neurológicas y del crecimiento.

d) Trisomías parciales del brazo corto del cromosoma 9 en mosaico.

Las trisomías 9p en mosaico tienen un modelo clínico parecido al de las trisomías (9p), aunque incluyen otras alteraciones como: cifosis, criptorquidia, dilatación aórtica y prolapso de válvula mitral (1) (57) (77) (105) (170) (209).

En todos los casos conocidos de trisomías 9p en mosaico se encontró un isocromosoma 9p en sus

cariotipos (186). El patrón clínico es similar al de la trisomía 9p, sin embargo las malformaciones congénitas fueron más frecuentes: labio leporino, paladar ojival, malformaciones cardíacas, clavículas hipoplásicas y malformaciones renales. Debido a estas malformaciones la supervivencia de los pacientes fue menor al compararla con los afectos de trisomía (9p); aproximadamente la mitad de ellos murieron en el primer año de vida.

2. Brazo largo del cromosoma 9:

Existen a este nivel trisomías casi completas y trisomías parciales.

a) Trisomías casi completas del brazo largo del cromosoma 9.

Se conocen en la actualidad, sólo dos casos con una triplicación casi completa del brazo largo del cromosoma 9 (q11 --> q32 ó 33) (78) (251) y un tercer caso en que además existía una traslocación asociada (9;21) (50). El fenotipo de los pacientes fué: dolicocefalia, hipotelorismo, boca pequeña y barbilla prominente, dedos largos y delgados.

Tuvieron deficiencia mental severa y alteraciones en el crecimiento. Hay un caso publicado por Yukata (276) de una trisomía 9 (q12 --> q32) con un

modelo clínico similar a las trisomías 9 mosaico.

- b) Trisomías parciales del brazo largo del cromosoma 9.

Se conocen cuatro casos de trisomías parciales del brazo largo del cromosoma 9(q31ó32->qter) (4) (239) (241) (251), todos ellos fueron hembras, hijas de madres portadoras de traslocación, su clínica fué similar a la trisomía 9 mosaico.

- d) Tetrasomías parciales del cromosoma 9.

Kaminker (136) publicó una tetrasomía 9p en mosaico en un niño de doce años de edad, con retraso mental, hidrocefalia, dismorfias faciales, malformaciones cardíacas congénitas y anomalías renales y óseas. Esta tetrasomía 9p en mosaico, afectaba a la constricción secundaria del cromosoma 9.

- e) Aberraciones estructurales del cromosoma 9 en el cáncer.

Dentro de las aberraciones estructurales del cromosoma 9, incluimos las alteraciones que aparecen en la patología oncológica, punto éste que cada vez está teniendo mayor relevancia, sobre todo en el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades. Dentro de la patología oncológica, nos ocuparemos en especial de

las alteraciones cromosómicas del 9 en las leucemias.

1. Alteraciones cromosómicas del 9 en las leucemias no linfocíticas agudas.

Entre las alteraciones cromosómicas, cabe destacar las alteraciones estructurales del cromosoma 9 en los diversos tipos de leucemias.

Comenzaremos hablando de las aberraciones del cromosoma 9 que se presentan en las leucemias no linfocíticas agudas.

En las últimas revisiones hechas sobre este tema realizadas por Prigogina (199) y Heim (117) se encuentran las siguientes alteraciones a nivel del cromosoma 9 en las leucemias no linfocíticas agudas: traslocación (9;22), traslocación (6;9), traslocación (9;11), traslocación (9;16), delección (9) (q12 -->q13) delección (9) (q12; q31), marcadores 9q-, 9p+, monosomías y trisomía 9.

Dentro de las alteraciones, la más frecuente fué la presencia de un 9q- asociado a una traslocación (8;21), Hossfeld (121) y Mecucci (167) llegaron a la conclusión de que este 9q- sería el resultado de una delección intersticial, aunque Prigogina (199) no pudo establecer, en la mayoría de los casos, si la delección fué terminal o intersticial. Otras alteraciones menos

frecuentes que la anterior, pero que ocupan el segundo y tercer puesto en aparición, fueron la traslocación (9;22) y la traslocación (9;11). En los casos en que apareció la traslocación (9;22), no se consiguió la remisión completa y la supervivencia fué corta. La traslocación (9;11) estaba presente en los tipos M4 y / ó M5 de leucemias no linfocíticas agudas y en todos los casos los puntos de rotura fueron los mismos (11q23-24) (2).

2. Alteraciones cromosómicas del 9 en la leucemia mieloide aguda.

Entre las numerosas aberraciones del cromosoma 9 en este tipo de leucemias, podemos encontrar, trisomía 9 y diversas traslocaciones entre los distintos cromosomas; traslocación (6;9;22), traslocación (2;9;22) y traslocación (9;11;22) (125).

En los casos de leucemias mieloide aguda en que el cromosoma Phi+ está presente, el cromosoma 9 está envuelto, en la mayoría de los casos, en la traslocación con el cromosoma 22 t(9;22) (q34;q11) (15), en los casos de traslocación (6;9;22), traslocación (2;9;22), podría ser debida a la presencia de algunas secuencias de ADN homólogas a nivel del 9q34 (125).

3. Alteraciones cromosómicas del cromosoma 9
en la leucemia mielomonolíticas aguda.

Podemos encontrar tanto trisomías como monosomías del cromosoma 9. Un ejemplo de trisomía lo presentan las células neoplásicas de pacientes con leucemioide aguda. El tipo subagudo de esta enfermedad, cursa, sin embargo, con una monosomía (15).

Las alteraciones más frecuentes del cromosoma 9 que se presentan en los linfomas es el 9q- (15).

En la mielofibrosis y mielosclerosis encontramos una trisomía 9 (15).

4. Otras alteraciones hematológicas que presentan aberraciones del cromosoma 9 son por ejemplo; la policitemia vera en que aparece una trisomía 9 (15), y en la trombocitemia en que podemos encontrar trisomía 9 asociada con una trisomía del par 8 ó 10 (15).

3. Patología asociada al polimorfismo del cromosoma

9.

--

Desde que al comienzo de los años 60, se empezó a relacionar los cromosomas 9 con una patología determinada, hasta nuestros días en que, gracias a las

técnicas de bandas C y Q que ponen de manifiesto la heterocromatina de los cromosomas, se han llevado a cabo numerosos estudios que intentan relacionar la variabilidad de la región heterocromática del cromosoma 9 con las variaciones en el fenotipo.

Las bandas C, que tiñen la heterocromatina constitutiva, son las que presentan mayor variabilidad en el cromosoma 9, debido a las variaciones en la longitud de dicha región cromosómica, lo que daría lugar a los polimorfismos del cromosoma 9 (73). Otros heteromorfismos conocidos, son los que aparecen a nivel de las bandas Q, que se deben principalmente a variaciones del orden y/o la composición interna del cromosoma 9 (73). Las variaciones del cromosoma 9, se conocían antes de la puesta a punto de las técnicas de bandeo, pero sólo con las actuales técnicas de bandas se ha podido determinar con precisión, la región cromosómica que presenta dicha variabilidad.

Es posible subdividir, con las nuevas técnicas de bandeo, esta región específica en subunidades, pudiéndose comprobar que cada una de ellas muestra una variabilidad independiente, con lo cual se multiplican las posibilidades de polimorfismos (8).

a) FUNCIONES DE LA HETEROCROMATINA
CONSTITUTIVA.

Se cree que en la mayoría de las células, aproximadamente el 90% de la cromatina es inactiva para la transcripción, pero tan sólo una fracción de esta cromatina inactiva está empaquetada en una configuración altamente condensada, conocida como heterocromatina. Por consiguiente, la heterocromatina es una clase especial de cromatina inactiva en cuanto a transcripción, y se cree que contienen genes que están permanentemente inactivados. Esta heterocromatina está formada por:

La heterocromatina constitutiva del organismo es la formada por las regiones cromosómicas que están condensadas en heterocromatina en todas las células, en humanos está situada alrededor del centrómero de cada cromosoma mitótico.

Por el contrario, otras regiones están condensadas en heterocromatina solo en algunas células pero no en otras; estas regiones forman la llamada heterocromatina facultativa de la célula (34).

La heterocromatina constitutiva, que al parecer contiene el ADN que no se transcribe en ninguna célula, es diferenciable de la cromatina normal. En los cromosomas humanos, esta heterocromatina constitutiva se halla localizada alrededor del centrómero de cada cromosoma mitótico, donde puede ser detectada por medio de técnicas de bandas C y Q. La mayoría de las regiones

de heterocromatina constitutiva contienen secuencias de ADN relativamente simples, repetidas de forma seriada. Estas secuencias de ADN repetidas en series reciben el nombre de ADN satélite, porque los ADN descubiertos de este tipo presentan pocos tipos de nucleótidos posiblemente 1 ó 2 nucleótidos diferentes (123), que permiten separar estas secuencias de la mayor parte del ADN celular como un componente menor (o "satélite"). Al parecer, durante el transcurso de la evolución, las secuencias de ADN satélite han cambiado con gran rapidez, desplazando incluso sus posiciones en los cromosomas (123). El genoma humano contiene por lo menos tres secuencias predominantes de ADN satélite encontrándose una mezcla diferente de ellas en cada centrómero.

En la actualidad, la función de este ADN satélite no está aclarada; la presencia de este ADN altamente repetitivo y la gran variabilidad de la heterocromatina constitutiva, concretamente del cromosoma 9, nos hace sospechar que quizás no sea totalmente inocuo (123). Se le asigna un papel pasivo de guardaespaldas para la heterocromatina constitutiva, es decir, sería usada por la célula como protector de la eucromatina, formando un escudo en la periferia del núcleo. Mutágenos, clastógenos o virus atacarían al núcleo; la heterocromatina constitutiva sería la que se

pondría en contacto con dichos elementos, con lo cual, sería repelido el asalto, de manera tal que protegería de las posibles alteraciones a los genes eurocromáticos. Esta hipótesis podría testarse en individuos en cuyas células se encuentren variaciones extremas de la heterocromatina (73) ó también en animales de especies relacionadas entre sí, con heterocromatina de diferentes tamaños. Esta hipótesis estaría de acuerdo con la elevada frecuencia de roturas a nivel de la heterocromatina de los cromosomas 1, 9 y 16, que se observa en individuos, con inmunodeficiencias combinadas (94).

Sin embargo a pesar de los estudios realizados, y de las numerosas hipótesis sobre la función de las variaciones de la heterocromatina, no se ha llegado a ninguna conclusión válida.

b) PAPEL DE LA HETEROCROMATINA EN LA ACTIVIDAD CELULAR SOMATICA Y GERMINAL.

Hoy en día se acepta como región NOR, una región cromosómica específica que se asocia con el nucleolo, aunque Ferguson-Smith al estudiar la asociación del nucleolo con las bivalentes acrocéntricas ya que en ellas se encuentran las regiones de las organizadoras nucleolares, observó que, en ocasiones, existía una asociación entre un pequeño

nucleolo y la región media de ciertos cromosomas largos, en las que no existían regiones NOR (80). Hungerford describió un grupo de cromosomas C humanos de varón en meiosis, que presentaban una estructura compleja a nivel centromérico con 6 partículas periféricas y una central que contenían ADN (124). Empleando técnicas de bandas G11, Gagné demostró que dicha estructura correspondía a la heterocromatina del cromosoma 9, la cual, se encontraba asociada al nucleolo en un 84% de los casos en las células de Sertoli (100); dicha asociación existía también en los oocitos (101): Stahl, observó que en oocitos humanos, existía una asociación de numerosos micronucleolos con segmentos de heterocromatina constitutiva del cromosoma 9, siendo particularmente evidente en los oocitos de 6 meses de edad (232).

También durante la interfase de las células somáticas se ha detectado la asociación entre el nucleolo y regiones heterocromáticas de distintos cromosomas como el 1, 9 e Y. La frecuencia de asociación era variable dependiendo del tipo de células analizadas y del cromosoma estudiado, concretamente la asociación entre heterocromatina del cromosoma 9 de células somáticas en interfase y nucleolo, era evidente casi en un 50% de las fibroblasto y linfocitos (231). Se ha sugerido la existencia de una menor concentración

de cistrom RNA5S a nivel del cromosoma 9 (233). Es posible que la asociación de micronucléolos a las distintas regiones heterocromáticas, observada en meiosis por Stahl (232) y Gagné (101), indique, quizás, una cierta actividad de estas regiones heterocromáticas en meiosis.

c) VARIACIONES DE LA HETEROCROMATINA Y
ABERRACIONES CROMOSOMICAS.

Desde hace varios años, se están asociando diferentes polimorfismos cromosómicos, en concreto del cromosoma 9, a distintas alteraciones cromosómicas. Ya en 1.974 Holbek (120), por medio de técnicas de bandas G y C, encontró un aumento de la frecuencia de aparición de 1qh+ y 9qh+ en los padres de abortos con alteraciones cromosómicas al compararlo con un grupo de progenitores de abortos que no tenían estas alteraciones. Nielsen y cols. encontraron que el 9qh+ es más frecuente en los padres y familiares de individuos con aberraciones cromosómicas (182). Ford y Lester encuentran una frecuencia mayor de no disyunción mitótica en los portadores 9qh+ y 9ph+ en el grupo estudio de varones infértiles que en el grupo de hombres infértiles que no presentaban estos heteromorfismos (88). Shabtai y Hulbrecht publicaron la existencia de un mayor riesgo de roturas

cromosómicas en las células de individuos con 1qh+, 1ph+, 9qh+ y 9ph+ (223). Wang y Hamerton observaron una alta frecuencia de 9ph+ en un grupo de pacientes con trisomías al compararlos con el grupo control (265). Lopetegui (153) detectó un aumento de la longitud de las bandas C en padres de niños con trisomías 21 al compararlo con el grupo control estudiado por Sofuni (227), sin embargo al no tener su propio grupo control sus datos no son concluyentes. Funderburg y cols. no encuentran diferencias en las longitudes de las bandas C de dos grupos de pacientes con retraso mental; uno sin alteraciones cromosómicas y el segundo con trisomía 21 (97).

Sin embargo otros autores, como Krag-Olsen en un trabajo realizado sobre un grupo compuesto por niños con aberraciones cromosómicas y un grupo control, no encontró diferencias significativas entre los dos grupos al comparar el porcentaje de las variaciones 1qh+ y 9qh+ entre ambos grupos (143).

Por otro lado Schmid observó que los cromosomas acrocéntricos son atraídos preferentemente por la heterocromatina centromérica de los cromosomas 1, 9 y 16, y que cuanto mayor sea la longitud de las bandas C, mayor es la atracción (220).

Los cromosomas acrocéntricos, que con

frecuencia suelen asociarse entre sí, están a menudo envueltos en la no-disyunción y en las translocaciones. Si el aumento de la longitud de las bandas C determina una mayor atracción, como Schmid (220) detectó, entonces el aumento de la longitud de los segmentos heterocromáticos podría predisponer a ciertas anomalías cromosómicas.

1. Variaciones en la heterocromatina y síndromes dismórficos.

Las variaciones de la heterocromatina podrían tener también un papel en la etiología de los síndromes dismórficos inespecíficos, hipótesis propuesta por Kiss, quien en un trabajo realizado sobre una población de 817 niños dismórficos, encontró, en esta población un alto porcentaje de polimorfismos e inversiones del 9, al igual que variaciones a nivel de la heterocromatina de otros cromosomas como el 1, 16 y el Y (138). Por otra parte se intenta relacionar los distintos polimorfismos del cromosoma 9 con alteraciones clínicas específicas en los individuos donde aparecen estas variaciones; sin embargo, autores como Hnilicova y cols. no encuentran una asociación causal entre la presencia de un alto porcentaje de polimorfismos del cromosoma 9 y las manifestaciones fenotípicas de pacientes que presentaban dichas

variaciones (119).

2. Papel de la heterocromatina en las malformaciones congénitas.

Existen diferentes opiniones, sobre el posible papel de la heterocromatina en las malformaciones congénitas, como lo demuestran los trabajos publicados sobre éste tema. Así, nos encontramos con el realizado por Halbrech y Shabtai que encuentran, que la asociación específica entre variantes cromosómicas y anomalías es casi imprevisible (224). Brown y cols. empleando un método objetivo de medida de las bandas C en una muestra bien controlada de 38 recién nacidos anormales y de 39 normales y de los progenitores de ambos grupos, no encontraron ninguna diferencia (34).

Es difícil sacar conclusiones válidas de los trabajos que describen una asociación entre malformaciones congénitas y variaciones en la longitud de las bandas C en muestras selectivas (73) (147) (193). Otro tipo de análisis es el realizado por Nielsen en un grupo de 11.148 recién nacidos, en el que estudió las condiciones físicas siguientes: peso al nacer, tipo de parto y anomalías congénitas. Las principales diferencias entre el grupo que presentaba heteromorfismo del 1, 9, 16 y cromosoma Y masculino con

el grupo control fueron, en el caso de los portadores de las variaciones del 9, sólo bajo peso al nacer; en los portadores de Yq+ se encontró eritroblastosis e ictericia neonatal y bajo peso al nacer; en los portadores del 1 y 16 no encontró diferencias (184).

Sin embargo, Podugolnikova, en un trabajo sobre un grupo de niños con embriopatías de origen desconocido y otro de niños Down, propone una posible correlación entre el acortamiento de las bandas C y el deficiente desarrollo físico tanto en el grupo de niños con embriopatías de origen desconocido y niños con síndrome de Down como en la población general (196), lo que concuerda con una hipótesis propuesta por dicho autor: la reducción de la cantidad de heterocromatina constitutiva en el genoma puede afectar al desarrollo embrionario, a la viabilidad y al desarrollo físico de un individuo en el período postnatal (196).

En resumen, el hecho es que las variaciones de las bandas C son frecuentes, que la clasificación es a menudo subjetiva, y que las malformaciones congénitas de origen desconocido tienen una mala interpretación (73). Serían necesarios más estudios de este tipo, tanto para anomalías generales como específicas, para poder llegar a una conclusión válida sobre el efecto de las variaciones de las bandas C en el fenotipo.

d) ALTERACIONES EN LA REPRODUCCION Y
VARIACIONES EN LA HETEROCROMATINA.

Numerosos estudios han intentado avaluar los efectos selectivos de los heteromorfismos sobre los fallos en la reproducción. Algunos trabajos encuentran una asociación entre variaciones en la longitud de las bandas C y abortos (30) (189) (249), pero sus conclusiones son inciertas debido al tipo de metodología utilizada. Jacobs estudió un grupo de 31 probandus con variaciones en la longitud de las bandas C y a sus parientes en primer grado que no presentaban estas variaciones como grupo control (128). Los resultados obtenidos discrepaban y no se pudo llegar a una conclusión final. Los estudios de autores como Salamanca (210), Rosenmam (207), Heming y Burns (118), Ward (267) y Navarrete (179), realizados con una metodología adecuada, no encontraron un aumento real de los heteromorfismos de las bandas C en parejas con abortos de repetición. En un estudio similar a los anteriores, Tsvetkova compara las bandas C de los cromosomas 1, 9, 16 e Y y las de los cromosomas acrocéntricos, no encontrando diferencias significativas al comparar un grupo de pacientes con abortos y variaciones en las longitudes de las bandas C y otro grupo formado por probandus con abortos de repetición y sin estas variaciones (249)

Sin embargo Boué (27) (28) y Ford (88) encuentran una asociación entre variaciones de la región heterocromática del cromosoma 9 y la no disyunción meiótica en los individuos portadores de estos polimorfismos. Los trabajos de Ford (86) (87) (89), Genest (103), Tho (244), Westlake (269), muestran una frecuencia altamente significativa de 1qh+ y 9qh+ en hombres y mujeres infértiles, al compararlos con grupos controles de hombres y mujeres normales (86) y además una mayor infertilidad en las parejas portadores de estas variaciones, en relación con las parejas que tenían fallos en la reproducción pero no dichas variaciones (244).

e) POLIMORFISMOS Y RETRASO MENTAL.

Hay numerosos trabajos publicados en los que se estudia la posible correlación entre retraso mental y las variaciones a nivel de las bandas C.

Aunque existen publicaciones que no encuentran asociación entre retraso mental y variaciones en las bandas C como Crandall en un estudio que llevó a cabo sobre 700 niños con enfermedades mentales, sólo encuentra una frecuencia total de variaciones cromosómicas del 1,7% lo cual estaba de acuerdo con la frecuencia esperada en la población normal (47). Wang y Hammerton encontraron

una mayor frecuencia de 9ph+ en un grupo de pacientes con retraso mental sin malformaciones, al compararlo con un grupo control de recién nacidos normales (265); Funderbugg encontró un aumento del 9qh+ en pacientes con retraso mental moderado, autistas ó con desórdenes en el comportamiento (97). Soudek y Sroka encuentran una frecuencia aumentada de casos 9qh+ en pacientes con retraso mental, al compararlos con un grupo control (228). Rasmussen y Nielsen observaron un incremento significativo de las frecuencias de 1qh+, 9qh+, variaciones en el grupo G e Y largo en 1.911 pacientes con retraso mental al compararlos con 11.148 recién nacidos normales (201).

Lubs observó una mayor frecuencia de 9qh+ y 1qh+ en negros con bajo $QI \leq 84$ al compararlos con un grupo control de negros con $QI \geq 85$, pero no encontró diferencia significativa al comparar cada uno de los grupos respectivamente con un grupo de blancos de $QI \leq 84$ y otro grupo de blancos con un $QI \geq 85$ (155).

f) POSIBLE PAPEL DE LA HETEROCROMATINA
CONSTITUTIVA EN LA PATOLOGIA ONCOLOGICA.

Se han publicado trabajos en los que se describe la asociación entre neoplasias y heteromorfismos cromosómicos (11) (12) (13) (223) (224) pero limitaciones tales como la subjetividad en el

método de análisis o el escaso número de pacientes, hicieron que no se llegara a ninguna conclusión. Berger comparó la longitud de las bandas C de los cromosomas 1, 9 y 16 en 166 pacientes con enfermedades hematológicas y un grupo control y encontró que los diferentes subgrupos de pacientes tenían una banda de gran tamaño en uno ó en todos los 3 pares de cromosomas analizados (18); sin embargo, Sampaio, usando un método cuantitativo, no encontró diferencias significativas en la longitud de las bandas C del cromosoma 9 concretamente, en los pacientes con leucemia y preleucemia (212); Kivi y Mikelsaar no encuentran tampoco ninguna diferencia en la longitud de las bandas C de los cromosomas 1, 9 y 16, en 37 mujeres con carcinoma de ovario ó mama y 40 controles (139).

Aunque existen numerosos trabajos sobre patología oncológica en donde se siguen encontrando distintos polimorfismos de las bandas C (50) (21) (169) (198) (242), no se ha llegado todavía a ninguna conclusión válida, sobre el posible papel etiológico de estas variaciones en patología oncológica.

g) VARIACIONES DE LA HETEROCROMATINA CON LA EDAD.

Las variaciones en la longitud de las bandas C con la edad podría ser un buen parámetro para evaluar

la viabilidad de los portadores de los distintos tipos de bandas C aunque se han hecho pocos estudios en este sentido (74).

Los trabajos realizados por Buckton (35), Erdtmann (75), encuentran muchas dificultades para llegar a una conclusión final; Buckton por ejemplo observa en su estudio realizado en tres poblaciones distintas (recién nacidos, adolescentes y ancianos), una alta frecuencia de 9qh+ sólo en los recién nacidos) (35). Erdtmann al estudiar la longitud relativa y absoluta de las bandas C en grupos de indios de diferentes edades, no pudo llegar a ningún tipo de conclusión ya que la correlación entre valores absolutos y relativos fué similar en todos los grupos estudiados (74) y (75).

h) POSIBLE PAPEL DE LA HETEROCROMATINA COMO MARCADOR RACIAL Y FAMILIAR.

En la literatura revisada, nos encontramos con numerosos trabajos en los que se propone como marcadores raciales y familiares a las variaciones en la longitud de la heterocromatina de los cromosomas 1, 9, 16 e Y.

Numerosos autores han realizado trabajos tratando de relacionar las variaciones de la

heterocromatina del cromosoma 9 con un grupo étnico determinado. Así, Lubs y Fogle encontraron un aumento de la frecuencia de aparición de polimorfismos del cromosoma 9 en negros americanos al compararlos con un grupo control de blancos americanos (155) y (85). Zanenga obtuvo resultados similares a los de los autores anteriores al comparar un grupo de negros brasileños con uno de caucasianos (278). Verma, realizó estudios comparativos del tamaño de las bandas C en caucasianos, negros americanos e indios del este, encontrando una mayor frecuencia de heteromorfismos de los cromosomas 1 y 9 en los negros americanos (257), (258) y (256).

En un estudio cuantitativo de las bandas C de los cromosomas 1, 9, 16 e Y en japoneses y caucasianos llevado a cabo por Cavalli, encontró diferencia significativa en la heterocromatina del par 9 en estas dos poblaciones, pero no en los otros pares cromosómicos analizados 1, 16 e Y (41).

Berger estudió un grupo de suecos y otro de franceses y vió las variaciones que presentaban las bandas C, encontrando una diferencia significativa entre los tamaños de las bandas C de los cromosomas 1, 9 y 16 al comparar las dos poblaciones europeas (19). Salamanca, que estudió la población mexicana en donde encontró un mayor número de polimorfismos en la

población india que en la blanca (210). En oposición a los trabajos anteriores nos encontramos con los estudios realizados por Ibraimov que no encuentra diferencia significativa entre el tamaño de las bandas C del cromosoma 9 en cuatro grupos de mongoles que vivían en distintas condiciones ecológicas (126). Erdtman no detectó diferencias en el tamaño de las bandas C del cromosoma 9 en 5 tribus indias que vivían en el norte y en el sur del Brasil; los mismos resultados obtuvo al comparar un grupo de indios con uno de caucasianos (73).

En lo que se refiere al papel de la heterocromatina como marcador familiar hemos de decir que, la utilización de los polimorfismos cromosómicos en la determinación de la paternidad, está descrito en numerosos estudios, aunque el papel que puedan tener los polimorfismos del 9 no está muy claro ya que no existe una opinión unánime sobre la utilidad de dicha variación en la paternidad. Existen estudios como los llevados a cabo por Dzida y Bujdoso, en los que realizan un análisis estadístico y evalúan la frecuencia de aparición de los polimorfismos, para ver su posible papel como marcador familiar sin llegar a ningún tipo de conclusión (69) y (36).

En sentido contrario encontramos los trabajos de Morganti que propone el 9qh+ como posible marcador

familiar, además de otros polimorfismos Yq+, 1qh+, etc.. (174). Podugolnikova encuentra que los segmentos C de los cromosomas 1, 9 y 16 en el padre y en su hijo, la autora recomienda el uso de longitud relativa de las bandas C en los cromosomas 1, 9 y 16 en los casos de análisis familiar y determinación de la paternidad ya que parece ser que estas variaciones se heredan de padres a hijos (196).

4. Patología asociada a las inversiones ----- pericéntricas del cromosoma 9. -----

El posible papel etiológico de las inversiones del cromosoma 9 en las alteraciones clínicas está sin aclarar, aunque se ha intentado encontrar una relación directa entre las inversiones pericéntricas del 9 y ciertas patologías de las cuales hablaremos a continuación.

a) RIESGOS DE ANEUSOMIAS POR RECOMBINACION EN LAS INVERSIONES DEL CROMOSOMA 9.

El riesgo es muy difícil de establecer y varía según el tipo de inversión.

Este riesgo depende obviamente, de la localización de los puntos de rotura y de la reestructuración cromosómica, dentro del mismo

cromosoma.

Se ha demostrado que cuanto más distal es el punto de rotura, mayor es el riesgo de aneusomías por recombinación (66) (63) (270) (52) (134); el mayor riesgo se debería a que el desbalance sería pequeño y por tanto más compatible con la vida y a que la probabilidad de crossing-over sería mayor en el segmento invertido (111).

b) COMPORTAMIENTO MEIOTICO DE LAS INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9.

El principal problema que se presenta durante la meiosis en los heterocigotos con una inversión pericéntrica en uno de los cromosomas del par 9, es la sinapsis.

Durante la sinapsis el 9 bivalente invertido, tiene la apariencia de un 9 bivalente normal (111), debido a que la inversión pericéntrica envuelve sólo a la heterocromatina de la constricción secundaria del cromosoma 9, que como se sabe, no es un lugar donde se realiza el crossing-over con frecuencia (231); por lo que la mayor frecuencia de anasinapsis (no realización de la sinapsis) en el 9 bivalente podría estar correlacionada con la naturaleza de la cromatina del segmento invertido (111) ya que a veces no se invierte

sólo la heterocromatina sino también una parte de la eurocromatina durante el zigoteno. Se describen tres posibilidades de apareamiento para las inversiones pericéntricas en general: La primera se refiere a la formación de un asa en el cromosoma normal y aposición del invertido. La segunda, ausencia de apareamiento en el segmento invertido (238) en las inversiones muy pequeñas y tercera, ausencia de apareamiento del segmento no invertido (66) en las inversiones grandes.

c) RIESGO DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS EN LAS
INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9.

En la literatura existen publicaciones que correlacionan la presencia de una inversión pericéntrica con alteraciones cromosómicas diversas (241) (52) (113) (246). Concretamente en el cromosoma 9, tenemos los trabajos de Nielsen que encuentra un mayor riesgo de tener hijos con alteraciones cromosómicas en padres portadores de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 (185).

Ford (86), Pauli (191), Ayrál (16), Boué (30) y Kaiser (134) estudiaron la incidencia de aberraciones cromosómicas en familias que presentaban una inversión pericéntrica del cromosoma 9, encontrando una correlación entre la presencia de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y aberraciones

cromosómicas.

Autores como Berg (77), Sofuni (227), Lopetegui (153), Verma (259), Bourroillou (31), piensan que puede existir una asociación entre inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y aberraciones cromosómicas; en concreto del Síndrome de Down, proponiendo una posible implicación de este tipo de inversiones en la trisomía 21.

Sin embargo Kaiser (134), al estudiar la coincidencia de inversiones pericéntricas y aberraciones cromosómicas en una misma persona, observó que esta coincidencia no era significativa, lo que concuerda con estudios anteriores realizados por otros autores (32) (53) (72) (93) (162) (219).

En una de las últimas revisiones realizadas sobre el tema, los autores concluyen, que probablemente, en el caso concreto de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9, éstas predisponen, en cierta medida, a anomalías cromosómicas aunque ninguna sea específica (109).

d) PAPEL DE LAS INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9 EN LA INFERTILIDAD.

Una de las hipótesis más estudiadas y donde existe mayor discrepancia en la actualidad, es la

posible implicación de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en la etiología de los abortos, esterilidad e infertilidad.

Los estudios realizados durante la meiosis de las células germinales, podrían aclararnos el posible papel de las inversiones pericéntricas en las alteraciones que se producen a nivel de estas células. Los resultados de los estudios realizados en los espermatozoides humanos, en que se estudió el comportamiento meiótico de las inversiones pericéntricas de los cromosomas 1, 9 y 16, no están de acuerdo; así, Guichauova (111) y Gabriel-Robez y cols., que estudiaron la meiosis de inversiones pericéntricas del 1, 9 y 16 por medio de microscopía óptica (111) y microscopía electrónica (99), no encuentran asociación entre el bivalente XY y el cromosoma reestructurado; por tanto, no atribuyen los fallos de la espermatogénesis a la interacción X-autosoma como proponían anteriormente otros autores (151) (172) (202) (207) (261). En los estudios realizados en las parejas que presentan abortos y esterilidad, nos encontramos con los trabajos De la Chapelle y cols. (55) que analizaron el número de abortos en 10 familias que presentaban inversiones de la heterocromatina de los cromosomas 1, 9 y 16, sin encontrarse ningún efecto selectivo de las variantes sobre la ocurrencia de

abortos en las familias estudiadas, aunque se encontró una disminución de la fertilidad en los varones portadores de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9, lo que coincide con lo publicado por Boué (30); la diferencia fué significativa al compararlo con el grupo compuesto por mujeres portadoras de la misma inversión, por el contrario Kaiser (134), no encontró diferencia significativa entre ambos sexos pues el número de abortos estaba dentro del rango esperado para Europa del 10% al 25% (255).

Jacobs y Morton que calcularon la fertilidad en un grupo de personas con fallos en la reproducción e inversiones y en un grupo control de personas con fallos en la reproducción pero que no presentaban la inversión, para las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 la disminución de la fertilidad en el grupo de portadores al compararla con el grupo control no fué significativa, pero el número de recién nacidos vivos, hijos de varones del grupo estudio, fué menor, al compararlo con el grupo control (128) y (175).

Ford, observa una frecuencia altamente significativa de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en el grupo estudio formado por hombres con una historia de abortos de repetición, al compararlos con el grupo control de hombres fértiles, y vió que las

inversiones pericéntricas del cromosoma 9 están asociadas preferentemente con abortos recurrentes (88).

En un estudio realizado en donantes de semen para un programa de inseminación artificial, los donantes que presentaron una inversión pericéntrica del cromosoma 9 no fueron aceptados, ya que tenían una historia de abortos de repetición (165).

Ford, Schartz y Palmer, también observan que existe un número superior a lo esperado de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, en parejas que presentan dos o más abortos al compararlos con el grupo control, y que esta variación era más frecuente en las mujeres portadoras de inversión (86) y (222).

Por el contrario, Stetten (234) y Ward (267) no encuentran ninguna correlación entre inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y el número de abortos de repetición, en sus dos grupos de estudios, familias (234) y en parejas con abortos de repetición (267), lo que coincide con los trabajos de Bourroillou en los que no existe un número superior a lo esperado de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en parejas que presentaban dos o más abortos al compararlos con la población general (131).

e) INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9
Y MALFORMACIONES CONGENITAS.

Kiss estudió la posible implicación etiológica de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y de otros polimorfismos, en un grupo de recién nacidos dismórficos observando una asociación entre esta inversión y los pacientes con dismorfias, proponiendo un posible papel de las inversiones del cromosoma 9 en la etiología de los síndromes dismórficos inespecíficos (138). Kaiser encuentra un número superior al esperado de padres portadores de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en una muestra de niños afectos de malformaciones congénitas (34).

El Grupo de Genetistas Franceses, en una de sus últimas revisiones sobre el tema, encuentra que el 24% de las inversiones del cromosoma 9 las tenían niños afectos de malformaciones congénitas (109).

f) INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9
COMO MARCADOR RACIAL.

Fué Eiberg en 1.974 el primero en proponer las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 como marcador racial (71).

Lubs y Walzer observaron una frecuencia de

inversiones del cromosoma 9, mayor en el grupo de población negra (1,2%) al compararlo con un grupo de caucasianos USA (0%), (154) (155) (264).

En un estudio de la población griega, Metaxotou, obtiene una frecuencia del 4% para las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 (168) y Bucktón una frecuencia del 0,5% en tres poblaciones escocesas (35). Mayer encuentra una frecuencia del 3,4% en la población hawaiana no oriental (166).

Fogle observó un aumento significativo de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en la población negra con respecto a la caucásiana (85), datos que coinciden con los publicados por Verma en la población negra de USA, donde la presencia de las inversiones pericéntricas de los cromosomas 1 y 9 es significativa al compararla con la frecuencia de inversiones pericéntricas del 1 y 9 en la raza blanca, existiendo una asociación significativa entre el aumento de la región heterocromática y la inversión pericéntrica del cromosoma 9 (257).

g) INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9
COMO MARCADOR FAMILIAR.

Numerosos trabajos apuntan hacia la utilización de las inversiones pericéntricas en

general, y del 9 en particular, en los estudios familiares y pruebas de paternidad, así Aula y Saksella, y Mutton proponen la utilización de las inversiones del cromosoma 9 en estudios de paternidad y familiares (14) y (177).

Wahrman y De la Chapelle, encuentran una correlación evidente entre inversiones del 9 y paternidad (262) y (55). Viegas, en un estudio sobre 32 gemelos caucasianos que presentaban una inversión pericéntrica en el cromosoma 9, observó que eran gemelos monocigóticos en el 75% de los casos (260). Finalmente, Martin y Priest estudian dos familias con inversión pericéntrica del cromosoma 9, presente en todos los individuos que formaban las dos familias estudiadas, proponiendo un papel de marcador familiar para las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 (161) y (197).

PLANTEAMIENTO DEL TEMA
=====

La introducción de las técnicas de bandas en la genética humana representa, sin duda, uno de los momentos estelares de esta ciencia. Gracias a ellas se puede conocer con precisión las distintas alteraciones cromosómicas, así como los polimorfismos en los cromosomas humanos y dentro de ellos, las inversiones pericéntricas de los cromosomas en general y del 9 en particular.

La posible implicación de los polimorfismos del cromosoma 9, en una patología definida como es la infertilidad, no está clara. En la actualidad, se discute el papel etiológico de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9, no solo en dicha anomalía, sino también en otras patologías, como malformaciones congénitas y alteraciones cromosómicas diversas, tales como trisomía 8, 9, 21 e i(Xq), de ahí su importancia en el consejo genético. También se plantea su utilización como marcador familiar y en la determinación de la paternidad.

Los datos que en la actualidad se manejan son muy contradictorios, ya que los trabajos publicados no han llegado a ninguna conclusión válida.

Por otro lado, una parte de los estudios realizados sobre los polimorfismos e inversiones pericéntricas del cromosoma 9, se han llevado a cabo

sin utilizar una buena metodología, de ahí, las expectativas despertadas por los trabajos realizados a partir de los años ochenta sobre este tema, utilizando una metodología adecuada, así como el empleo de las técnicas de bandas G y C.

Consideramos pues, que el estudio de los polimorfismos e inversiones pericéntricas del cromosoma 9, utilizando técnicas de bandas G y C en poblaciones normales y patológicas, podrían contribuir a resolver cuestiones tales como:

1. El conocimiento de la población andaluza en particular y de la mundial en general, estableciendo la incidencia de los polimorfismos, así como también valorar la incidencia de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en dichas poblaciones.
2. Establecer la posible implicación etiológica de los polimorfismos y dentro de ellos, de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en la infertilidad y la esterilidad.
3. Ayudar a resolver finalmente, algunas de las hipótesis planteadas en la actualidad sobre el posible papel etiológico de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en las otras patologías anteriormente citadas.

MATERIAL Y METODOS
=====



MATERIAL
=====

El material de esta tesis está constituido por un total de 314 individuos, varones y hembras, a los cuales se les ha realizado estudio citogenético. El tiempo invertido en recopilar dicho material, ha sido de cuatro años (1.984-1.987). Este colectivo está distribuido en dos muestras de población:

I. Grupo Control

II. Grupo Estudio que comprende , a su vez, dos grupos diferentes:

A) Pacientes que, clínicamente presentan infertilidad y esterilidad.

B) Pacientes que, cromosómicamente, son portadores de una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

I. GRUPO CONTROL.
=====

Este grupo lo integran 150 individuos, 93 varones y 57 hembras, de edades comprendidas entre los doce y treinta y ocho años de edad, sin patología alguna, ni en su ascendencia, ni en su descendencia.

La obtención de la muestra normal que nos sirve como control, se ha realizado entre alumnos voluntarios y personal laboral de la Facultad de

Medicina de Sevilla; todos ellos eran sanos, no habían sido expuestos recientemente a radiaciones y ninguno había sido sometido a tratamientos de larga duración.

II. GRUPO ESTUDIO.

=====

A) GRUPO DE PACIENTES QUE CLINICAMENTE PRESENTAN ----- INFERTILIDAD Y ESTERILIDAD. -----

Este grupo está formado por 145 personas cuya procedencia ha sido: Departamento de Obstetricia y Ginecología en número de 112 pacientes (78,15%) y Departamento de Endocrinología en número de 32, (20,4%), ambos servicios pertenecen al Hospital Universitario de la Facultad de Medicina de Sevilla; el paciente restante, nos fué remitido por el servicio médico de una empresa de nuestra zona. De ellos, 65 eran varones y el resto, 80, eran mujeres.

Si bien, la característica común de estos pacientes era la infertilidad, dicho grupo no es homogéneo, pudiendose clasificar en dos categorías:

a) Pacientes que habían acudido a consulta con sus parejas por infertilidad o esterilidad, sin hijos y con más de dos abortos y ningún tipo de descendencia, en número total de 112.

b) Pacientes que habían acudido a nuestra consulta por esterilidad, en número de 33.

B) GRUPO DE INDIVIDUOS QUE PRESENTAN UNA INVERSION

PERICENTRICA DEL CROMOSOMA 9.

Este grupo está constituido por 21 individuos cuya procedencia ha sido: Departamento de Pediatría en número de 10 individuos, a petición nuestra 9 individuos. Los dos individuos que completan este grupo, llegaron a nuestra consulta con una historia clínica de esterilidad y han sido incluidos en el grupo de pacientes infértiles correspondiendo a los casos números 144 y 145 de dicho grupo. Al realizarles el cariotipo, se les encontró una inversión pericéntrica del cromosoma 9, motivo por el cual se contemplan también en este grupo.

El grupo lo componen 17 varones y 4 hembras y todos presentaban citogenéticamente una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

Si bien la característica común de estos pacientes es la presencia de una inversión pericéntrica del cromosoma 9, hemos clasificado dicho grupo en dos categorías atendiendo al origen de la inversión:

Grupo 1: Constituido por 13 pacientes que forman el grupo de las inversiones pericéntricas del

cromosoma 9 de origen familiar.

Grupo 2: Formado por 8 pacientes cuyas inversiones no tienen una etiología familiar, es decir, presentan una inversión pericéntrica del cromosoma 9 "de novo".

METODO.

=====

La metodología del estudio es semejante en toda la muestra. Los pasos seguidos son los siguientes: En primer lugar se realizó una historia clínica de cada uno de los individuos que constituyen esta tesis, y en segundo lugar se realizó una serie de técnicas y mediciones cuantitativas y cualitativas en sus análisis (estudios) cromosómicos.

I. GRUPO CONTROL.

=====

HISTORIA CLINICA.

Está limitada a datos tales como: edad, sexo, no existencia de patología propia, ni en la descendencia, ni en la ascendencia, no haber sido sometido a radiaciones y por último, no haber padecido enfermedades crónicas que con llevaran tratamientos prolongados.

II. GRUPO ESTUDIO.

=====

HISTORIA CLINICA.

1. Grupo de pacientes que clínicamente presentan infertilidad y esterilidad. Este grupo a su vez se

subdivide en:

a) Parejas que han sufrido abortos recurrentes y ninguna descendencia, motivo por el cual han consultado al especialista. Hemos insistido durante la recogida de datos en el número de abortos y en el mes de gestación en el cual se produjeron.

b) Individuos que presentaban esterilidad. Los pacientes de este grupo provenían del Servicio de Esterilidad e Infertilidad del Departamento de Ginecología, del Servicio de Endocrinología del Hospital Universitario de Sevilla y de una empresa de nuestra zona. Previamente habían sido estudiados, suprimándose en ellos causas orgánicas, infecciosas y metabólicas que pudieran explicar su cuadro clínico de infertilidad.

2. Grupo de pacientes que presentan una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

Los pacientes pertenecientes a este apartado nos los enviaron a la consulta de citogenética, en parte bajo sospecha de cromosopatía y parte a petición nuestra, pues se había detectado con anterioridad en algún miembro de la familia dicha alteración cromosómica y deseábamos saber si la inversión era de origen familiar o "de novo". Dos de los individuos de este grupo estaban diagnosticados de

infertilidad. Hicimos hincapié en la recogida de todos los signos y alteraciones clínicas que presentaban estos pacientes en su descendencia y ascendencia.

III. TECNICAS.

=====

A) CARIOTIPO EN SANGRE PERIFERICA.

1. Medio de cultivo en sangre periferica:

a) Macrométodo: Se utiliza medio RPMI - 1640, L - glutamina, Penicilina, Estreptomycin y suero de ternera recién nacida.

b) Micrométodo: Fué realizada con T.C. Chromosome microtest medium y T.C. Chromosome microtest reconstituting fluid.

2. Metodología:

a) Macrométodo: Extracción de 5 a 10 ml. de sangre periférica utilizando una jeringuilla estéril con heparina - litio. Se deja sedimentar 30 minutos y del sobrenadante se obtiene 1 ml. de suero.

En un frasco "universal container", se introduce 1 ml. de suero y se añade el medio de cultivo, dejando incubar en estufa durante 72 horas.

Dos horas antes del sacrificio celular, se añade 0,25 cc. de solución de colcemid (2 mg. de

colcemid rehidratados con 20 cc. de agua destilada).

b) Micrométodo: Para el micrométodo, después de la desinfección correspondiente y con ayuda de una lanceta, se pinchó en la yema del dedo, extrayéndose 0,2ml. de sangre periférica (4 gotas). Los 2 frascos del medio de cultivo (T.C. Chromosome medium y reconstituting fluid), son mezclados previamente, para más tarde introducir en el frasco mezcla, las gotas de sangre extraídas, dejándose incubar en estufa durante 72 horas.

Tres horas antes del sacrificio, se añadieron 0,5 cc. de colcemid.

3. Sacrificio del cultivo:

a) Macrométodo: Se centrifuga a 1.500 r.p.m. durante 10 minutos, se decanta y añade una solución hipotónica (CLK 0,075 M), incubando a 37 grados durante 15 minutos. Se vuelve a centrifugar a 1.500 r.p.m. durante 10 minutos, decantando y añadiendo fijador Carnoy (metanol/ac, acético 3/1).

Se centrifuga de nuevo, se desecha el sobrenadante y se vuelve a poner el sedimento en suspensión con 0,5 cc. de fijador Carnoy. Se extiende en portaobjetos y se deja secar al aire.

b) Micrométodo: Centrifugamos a 1.500 r.p.m. durante 10 minutos, decantamos y añadimos choque

hipotónico (H2O apirógena).

Incubamos durante 15 minutos.

Centrifugamos a 1.500 r.p.m. durante 10 minutos, decantamos y añadimos fijador (metanol/ac. acético: 3/1). Dejamos a temperatura ambiente 5 minutos y llevamos al refrigerador durante 20 minutos.

Se centrifuga de nuevo, se decanta el sobrenadante y se vuelve a poner el sedimento en suspensión con 0,25 cc. de fijador Carnoy.

Extendemos en portaobjetos y dejamos secar al aire.

B) TECNICAS DE BANDAS.

1. Tinción Standar.

Se empleó: Giemsa4 ml.
Tampón fosfato Ph 6,54 ml.
Agua destilada100 ml.

2. Bando G.T.G.

Se prepararon las siguientes soluciones:

a) Solución de P.B.S.

CLNa16 g.
CLK0,4 g.

PO₄HNa₂2,3 g.
PO₄H₂K0,4 g.
H₂O2.000 cc.

b) Solución de tripsina.

2 g. de tripsina por cada 1.000 cc. de P.B.S.

c) Solución de Giemsa.

Giemsa1,5 ml.
Alcohol metílico1,5 ml.
Acido cítrico 0,1 M.....2 ml.
PO₄HNa₂ 0,2 M4 ml.
H₂O50 ml.

Las bandas se obtuvieron de la siguiente manera: Se introdujeron las preparaciones en la solución "b" durante unos segundos.

Se lavaron en dos baños sucesivos de la solución "a".

Se colorearon con la solución "c" durante 6 minutos (Fig. 4).

3. BANDEO C.B.G.

Para una mejor calidad de las bandas, se dejaron reposar las preparaciones una semana antes de aplicarles la técnica.

Se prepararon las soluciones:

a) Solución de Giemsa.

Giemsa1 ml.

Tampón fosfato Ph 6,8850 ml.

b) Solución 2 X SS C.

CLNa17,53 g.

6H2Na3O72H2O10,71 g.

H2O500 ml.

Las bandas se obtubieron de la siguiente manera: Se introdujeron los portaobjetos en una solución CLHO,2N durante 5 minutos, y se lavaron con H2O destilada.

Posteriormente se introdujeron en una solución de Ba(OH)20.05N, se lavaron en H2O destilada, se incubaron en la solución "b", y se lavaron en H2O destilada.

Finalmente se tiñeron con la solución "a" (fig. 5).

IV. ESTUDIO OPTICO.

=====

Las preparaciones se estudiaron en un fotomicroscopio Nikon, modelo Apofot, obteniendose un número de fotografías que oscilaban entre 10 y 30 según los casos. Se empleó película Panatomic y papel Valca duro y normal.

Para la realización del cariotipo se recortaron un mínimo de diez fotografías por caso, ordenándose los cromosomas según la nomenclatura de la Conferencia de París 1.972.

V. ESTUDIO CUANTITATIVO.

=====

Las fotos se sometieron a un proceso de selección, orientado fundamentalmente a la identificación del par cromosómico 9.

Fué localizado con gran precisión gracias a las técnicas de bandeo G.T.G. y C.B.G. (Fig.4 y 5).

El estudio morfométrico se realizó directamente sobre la fotografía, cuya ampliación final fue de X. 3.688 mediante el sistema kontrom Mop AM/03, analizador cuantitativo semiautomático de imágenes que consta de los siguientes elementos:

Unidad central con indicadores y teclado para selección de parámetros a medir, control de procedimientos, selección de canales, programador (imput) e impresora, tablero conectado a la unidad central y cursor, conectado también a la unidad central.

Dicho sistema se programó para que la medida se obtuviera en mm, cada medición se realizó 5 veces.

VI. DETERMINACION DE LOS POLIMORFISMOS DEL CROMOSOMA 9. =====

Para determinar la existencia o no de un polimorfismo en el par 9, hemos realizado técnicas de bandas C y G; C en 60 individuos y G en 150 individuos del grupo control y en 145 pacientes infértiles. Una vez medida la heterocromatina yuxtacentromérica por medio de ambas técnicas C y G en 60 individuos del grupo control y visto que no existía diferencia significativa entre las medidas obtenidas por medio de las técnicas de bandas C y G, utilizamos las medidas de las bandas G ya que es éste el método que se usa en la práctica diaria en los laboratorios de citogenética.

Una vez realizadas las mediciones de heterocromatina yuxtacentromérica del par 9 y para poder determinar la presencia de polimorfismos en este par, aplicamos el índice propuesto por Patil y Lubs (189) y utilizado por otros autores (226, 260, 265), para la determinación de los polimorfismos, que consiste en clasificar las regiones qh de los cromosomas 1, 9 y 16, en 5 niveles, comparandolos con la media del área de los brazos cortos del cromosoma 16.

Las razones por las cuales hemos elegido este índice fueron que el centrómero del cromosoma 16 es de fácil identificación, el brazo p del cromosoma 16 tiene un tamaño intermedio cuando se le compara con las

regiones qh de los cromosomas 1, 9 y 16, con lo cual nos da una medida standar (la longitud de los brazos cortos del cromosoma 16 no se altera por las distintas condensaciones del ADN).

El tamaño de las bandas C se clasificaron según Patil y Lubs en 5 niveles.

nivel 1 \leq 0,5 x 16p

nivel 2 $>$ 0,5-1 x 16p

nivel 3 $>$ 1-1,5 x 16p

nivel 4 $>$ 1,5-2 x 16p

nivel 5 $>$ 2 x 16p

Además del índice 16p, también hemos aplicado nuestro propio índice $(G2-G1)/G2$, comprobando que no existían diferencias significativas entre ambos, siendo G1 el valor menor de heterocromatina del par 9 y G2 el valor mayor de la heterocromatina de dicho par. Cuando el índice es superior a 0,5 ó inferior a 0,2, consideramos que dicho individuo presenta un polimorfismo del cromosoma 9.

VII. DETERMINACION DEL TIPO DE INVERSION.

=====

En el grupo estudio de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9, por medio de técnicas CBG y el análisis cromosómico cuantitativo, se

determinó la cantidad de heterocromatina invertida, clasificando las inversiones según la nomenclatura actual en los tipos I, II, III.

VIII. ANALISIS ESTADISTICO.

=====

En el grupo control, el análisis estadístico se basó fundamentalmente en el estudio de regresión y correlación lineal.

Para ello hemos establecido la existencia de relación entre dos variables mediante el coeficiente de correlación lineal (r). Una vez definida la significación de dicho coeficiente y teniendo en cuenta cual es la variable dependiente y cual la independiente, se ha calculado la recta de regresión en los casos adecuados.

Para la comparación entre el grupo estudio y el grupo control, el análisis estadístico consistió en un estudio de homogeneidad - asociación entre parámetros clínicos y morfométricos, mediante la utilización del test 2I de Kulback con la corrección propuesta por Ku y la prueba exacta de Fisher para el análisis de tablas cuadruples de contingencia, además del test de Kruskal-Wallis para el estudio de homogeneidad entre muestras.

El contraste de hipótesis se efectuó a un nivel crítico de probabilidad de error tipo I del 5%.

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

Los resultados del estudio realizado sobre el conjunto de individuos que constituyen el material de esta tesis, descrito en el capítulo anterior, han sido recogidos en una serie de apartados, que se refieren en primer lugar al grupo control, en segundo lugar al grupo estudio, integrado por un subgrupo de pacientes infértiles y por un subgrupo de pacientes que presentan una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

I. GRUPO CONTROL.

=====

A) RESULTADOS CITOGENETICOS.

Se realizaron estudios citogenéticos del total de la muestra, 150 individuos.

De ellos, 93 correspondían a varones, cuyos resultados citogenéticos, como cabía esperar, fueron cariotipo normal con fórmula cromosómica 46,XY.

Las 57 personas restantes que completan el grupo control eran mujeres, cuyos resultados citogenéticos fueron, 46,XX.

La edad de los individuos del grupo control estaba comprendida entre los doce y los treinta y ocho

años de edad.

En la tabla número I, se encuentran reflejados, la edad, sexo y diagnóstico citogenético del grupo control.

B) MEDICIONES DE LA HETEROCROMATINA YUXTACENTROMERICA
=====
DEL PAR 9.
=====

Los valores de la heterocromatina del par 9 del grupo control, oscilaron entre un mínimo de 0,2 μm y un máximo de 1,3 μm .

Los valores de mayor frecuencia fueron las comprendidas entre 0,5 μm y 0,7 μm que representan el 70% de los casos de este grupo.

La tabla II, recoge los valores obtenidos en las mediciones de la heterocromatina del par 9 en los 150 individuos del grupo control.

Para comprobar si existía relación lineal entre la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma nueve, medida por medio de técnicas de bandas C y por medio de técnicas de bandas G, se realizó bandeo C y G en 60 casos al azar, comprobando que realmente existía dicha relación lineal (coeficiente de correlación $r=0,95$, ecuación recta de regresión, $(BC=0,98.BG+0,035)$ (Graf.I), con lo cual, para estudios

y comparaciones en éste y con otros grupos, hemos utilizado sólo las mediciones obtenidas por medio de las bandas G, en los 150 individuos del grupo control, pues es ésta la técnica standar que se utiliza en la gran mayoría de los laboratorios de citogenética, ya que es más sencilla y da muy buenos resultados.

En la gráfica número II se encuentran recogidos los valores medios de la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9 en los 150 individuos del grupo control.

En un porcentaje de 13,3% de individuos del grupo control, se observó que existían polimorfismos en la heterocromatina constitutiva del cromosoma 9. Los valores medios de dicha heterocromatina fué de $0,8500 \pm 4,9085 \times 10^{-2} \mu\text{m}$.

En los individuos del grupo control no polimórficos el valor medio de la heterocromatina del cromosoma 9 es de $0,6369 \pm 1,055 \times 10^{-2} \mu\text{m}$. (En la tabla III están reflejados los valores medios de la heterocromatina del par 9 en el grupo control).

Una vez realizadas las mediciones de la heterocromatina yuxtacentromérica del par de cromosomas 9, pasamos a la aplicación de los dos índices de cuantificación de polimorfismos utilizados en esta tesis, es decir, el índice 16p y el índice

Al aplicar el índice 16p en el grupo control se ha podido comprobar la existencia de polimorfismos en 20 de los 150 individuos a nivel de la heterocromatina yuxtacentromérica de uno de los cromosomas que forman el par 9, siendo los niveles de estos polimorfismos, como sigue: en 12 de los polimorfismos, el cromosoma polimórfico estaba en el nivel 5 de la clasificación de Patil y Lubs, 5 en el nivel 4, y 2 cromosomas en el nivel 3; en el resto de los casos, el cromosoma 9 estaba en el nivel 2 de la clasificación de Patil y Lubs, que es el valor donde se encuentran la mayoría de las mediciones realizadas sobre la región heterocromática del par 9 en la población normal, (tabla IV).

Al aplicar nuestro índice $(G2-G1)/G2$ en el grupo control, se ha podido comprobar que coinciden exactamente los resultados con el índice anteriormente utilizado (16p), es decir, aparecía un polimorfismo en los mismos 20 casos de los 150, a nivel de la heterocromatina yuxtacentromérica de uno de los cromosomas que forman el par 9, (tabla I).

Por tanto el 13,3% de los individuos que componían el grupo control, presentaban un polimorfismo del cromosoma 9, consistente, en todos los casos, en un aumento de la heterocromatina yuxtacentromérica de uno de los cromosomas que forman el par 9. De ellos, 5

fueron hembras (25%), y 15 varones (75%).

Los valores del índice $(G2-G1)/G2$, en los individuos que presentaban un polimorfismo del par 9 fué de $0,6071 \pm 3,1961 \times 10^{-2} \mu\text{m}$ y de $0,1814 \pm 1,1094 \times 10^{-2} \mu\text{m}$ en los no polimórficos.

En la tabla número III se encuentran reflejados los valores medios del índice $(G2-G1)/G2$ en el grupo control.

TABLA I. GRUPO CONTROL:
 DIAGNOSTICO CITOGENETICO, EDAD Y SEXO.

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
1		22	V	46,XY
2		21	V	46,XY
3		33	V	46,XY
4		23	H	46,XX
5	*	27	V	46,XY
6	*	30	V	46,XY
7		28	V	46,XY
8		17	V	46,XY
9	*	14	V	46,XY
10		19	H	46,XX
11	*	30	V	46,XY
12		19	V	46,XY
13		27	V	46,XY
14		21	V	46,XY
15	*	23	H	46,XX
16		19	H	46,XX
17	*	14	V	46,XY
18		28	V	46,XY
19		19	H	46,XX
20	*	19	H	46,XX

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
21		17	V	46,XY
22		18	V	46,XY
23	*	17	V	46,XY
24		38	V	46,XY
25		18	H	46,XX
26		18	V	46,XY
27	*	18	V	46,XY
28		19	V	46,XY
29		19	H	46,XX
30		18	H	46,XX
31		17	H	46,XX
32		19	H	46,XX
33		18	H	46,XX
34		18	V	46,XY
35		18	H	46,XX
36		18	H	46,XX
37		20	H	46,XX
38		18	H	46,XX
39		18	H	46,XX
40		25	H	46,XX
41		19	V	46,XY
42		18	V	46,XY

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
43		19	V	46, XY
44		18	V	46, XY
45		18	V	46, XY
46		18	H	46, XX
47		18	V	46, XY
48		17	V	46, XY
49		18	V	46, XY
50		19	H	46, XX
51		19	V	46, XY
52		19	V	46, XY
53	*	19	H	46, XX
54	*	19	V	46, XY
55		19	V	46, XY
56		26	V	46, XY
57		25	H	46, XX
58		23	H	46, XX
59		19	V	46, XY
60		12	V	46, XY
61		18	V	46, XY
62		19	H	46, XX
63		18	H	46, XX
64		19	H	46, XX

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
65		18	H	46, XX
66		19	V	46, XY
67		19	H	46, XX
68		20	H	46, XX
69		18	V	46, XY
70		19	V	46, XY
71		17	V	46, XY
72		19	H	46, XX
73		18	H	46, XX
74		19	H	46, XX
75		17	V	46, XY
76		20	H	46, XX
77		17	H	46, XX
78		18	H	46, XX
79		20	H	46, XX
80		19	H	46, XX
81		19	H	46, XX
82		18	V	46, XY
83		19	V	46, XY
84	*	20	V	46, XY
85		19	V	46, XY
86		19	V	46, XY

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
87		18	V	46,XY
88		19	H	46,XX
89		20	H	46,XX
90		19	H	46,XX
91	*	19	V	46,XY
92	*	18	H	46,XX
93		18	H	46,XX
94		19	V	46,XY
95		19	H	46,XX
96		18	H	46,XX
97		19	V	46,XY
98		24	V	46,XY
99		46	V	46,XY
100		27	H	46,XX
101		25	H	46,XX
102		23	H	46,XX
103		24	H	46,XX
104		21	V	46,XY
105	*	18	V	46,XY
106		18	V	46,XY
107		12	V	46,XY
108	*	21	V	46,XY

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
109		18	V	46,XY
110		19	V	46,XY
111		18	V	46,XY
112		18	V	46,XY
113		18	H	46,XX
114		19	V	46,XY
115		19	V	46,XY
116		18	V	46,XY
117		18	V	46,XY
118		18	V	46,XY
119		19	V	46,XY
120	*	19	V	46,XY
121		18	V	46,XY
122		18	V	46,XY
123		20	V	46,XY
124		19	V	46,XY
125		21	V	46,XY
126		27	H	46,XX
127		24	H	46,XX
128	*	20	H	46,XX
129		30	V	46,XY
130		18	V	46,XY

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
131	*	18	V	46,XY
132		18	V	46,XY
133		30	V	46,XY
134		26	V	46,XY
135		18	V	46,XY
136		18	V	46,XY
137		19	V	46,XY
138	*	19	V	46,XY
139		19	V	46,XY
140		18	H	46,XX
141		18	H	46,XX
142		20	V	46,XY
143		18	V	46,XY
144		18	V	46,XY
145		19	V	46,XY
146		27	V	46,XY
147		21	V	46,XY
148		18	H	46,XX
149		18	H	46,XX
150		19	V	46,XY

TABLA II. GRUPO CONTROL: MEDICIONES DE LA
HETEROCROMATINA DEL PAR 9. BANDAS C Y G .

CASO No.	BANDEO	C	BANDEO	G
1	0,5	0,7	0,5	0,6
2	0,5	0,5	0,5	0,5
3	0,5	0,7	0,5	0,6
4	0,6	0,6	0,6	0,6
5	0,3	0,8	0,4	0,8
6	0,4	0,9	0,3	1,0
7	0,5	0,6	0,4	0,6
8	0,4	0,5	0,4	0,6
9	0,5	0,8	0,5	0,8
10	0,5	0,5	0,5	0,6
11	0,2	0,7	0,3	0,7
12	0,6	0,7	0,6	0,7
13	0,5	0,4	0,4	0,5
14	0,5	0,6	0,5	0,6
15	0,3	0,9	0,3	0,9
16	0,7	0,8	0,7	0,8
17	0,5	0,9	0,5	0,9
18	0,4	0,6	0,4	0,6
19	0,5	0,7	0,5	0,6
20	0,2	0,9	0,2	0,9

CASO No.	BANDEO	C	BANDEO	G
21	0,8	0,7	0,8	0,7
22	0,5	0,7	0,6	0,7
23	0,8	1,2	0,7	1,2
24	0,9	0,7	0,9	0,7
25	0,8	0,9	0,8	0,9
26	0,5	0,6	0,5	0,6
27	0,4	0,5	0,4	0,5
28	0,3	1,0	0,3	1,0
29	0,7	0,8	0,6	0,7
30	0,6	0,7	0,5	0,7
31	0,5	0,5	0,6	0,5
32	0,4	0,5	0,4	0,5
33	0,5	0,6	0,4	0,5
34	0,8	0,8	0,7	0,8
35	0,7	0,7	0,7	0,7
36	0,5	0,6	0,5	0,6
37	0,6	0,8	0,6	0,7
38	0,5	0,6	0,5	0,4
39	0,5	0,7	0,5	0,7
40	0,6	0,6	0,6	0,6
41	0,6	0,5	0,6	0,5
42	0,6	0,7	0,5	0,6

CASO No.	BANDEO	C	BANDEO	G
43	0,5	0,6	0,5	0,6
44	0,6	0,7	0,6	0,5
45	0,8	0,8	0,7	0,7
46	0,6	0,6	0,6	0,6
47	0,5	0,6	0,5	0,6
48	0,6	0,8	0,6	0,7
49	0,6	0,7	0,5	0,6
50			0,4	0,6
51			0,4	0,5
52			0,4	0,7
53	0,4	1,3	0,3	1,2
54	0,5	0,9	0,4	0,8
55			0,4	0,5
56			0,5	0,6
57			0,6	0,8
58			0,5	0,6
59			0,7	0,7
60			0,4	0,7
61			0,8	0,8
62			0,5	0,6
63			0,4	0,5
64			0,5	0,5

CASO No.	BANDEO	C	BANDEO	G
65			0,6	0,7
66			0,8	0,7
67			0,7	0,8
68			0,5	0,6
69			0,8	0,9
70			0,4	0,6
71			0,7	0,7
72			0,4	0,6
73			0,5	0,7
74			0,8	0,9
75			0,6	0,7
76			0,5	0,4
77			0,6	0,5
78			0,4	0,6
79			0,7	0,7
80			0,6	0,6
81			0,7	0,8
82			0,5	0,7
83			0,5	0,5
84	0,3	0,9	0,3	0,9
85			0,5	0,7
86			0,4	0,4

CASO No.	BANDEO	C	BANDEO	G
87			0,5	0,5
88			0,5	0,6
89			0,4	0,6
90			0,6	0,6
91	0,5	0,9	0,5	0,9
92	0,3	1,0	0,3	1,0
93			0,6	0,7
94			0,4	0,7
95			0,5	0,6
96			0,7	0,8
97			0,8	0,9
98			0,5	0,7
99			0,8	0,7
100			0,6	0,6
101			0,4	0,4
102			0,5	0,7
103			0,8	0,7
104			0,6	0,5
105	0,5	0,8	0,4	0,8
106			0,6	0,5
107			0,5	0,7
108	0,3	0,8	0,3	0,7

CASO No.	BANDEO	C	BANDEO	G
109			0,6	0,7
110			0,5	0,4
111			0,3	0,5
112			0,6	0,7
113			0,4	0,5
114			0,8	0,9
115			0,5	0,6
116			0,4	0,6
117			0,3	0,5
118			0,7	0,8
119			0,6	0,6
120	0,2	0,6	0,2	0,7
121			0,4	0,5
122			0,3	0,5
123			0,8	0,7
124		0,6	0,5	
125			0,6	0,6
126			0,4	0,4
127			0,6	0,5
128	0,4	0,8	0,3	0,8
129			0,6	0,4
130			0,3	0,5



CASO No.	BANDEO	C	BANDEO	G
131	0,2	0,6	0,2	0,6
132			0,6	0,7
133			0,4	0,5
134			0,4	0,4
135			0,5	0,6
136			0,5	0,5
137			0,4	0,6
138	0,3	0,8	0,3	0,8
139			0,7	0,5
140			0,6	0,8
141			0,6	0,7
142			0,5	0,6
143			0,5	0,5
144			0,4	0,4
145			0,3	0,5
146			0,7	0,8
147			0,6	0,6
148			0,6	0,5
149			0,3	0,5
150			0,6	0,7

TABLA III. GRUPO CONTROL. VALORES DE LA HETEROCROMATINA DEL PAR 9

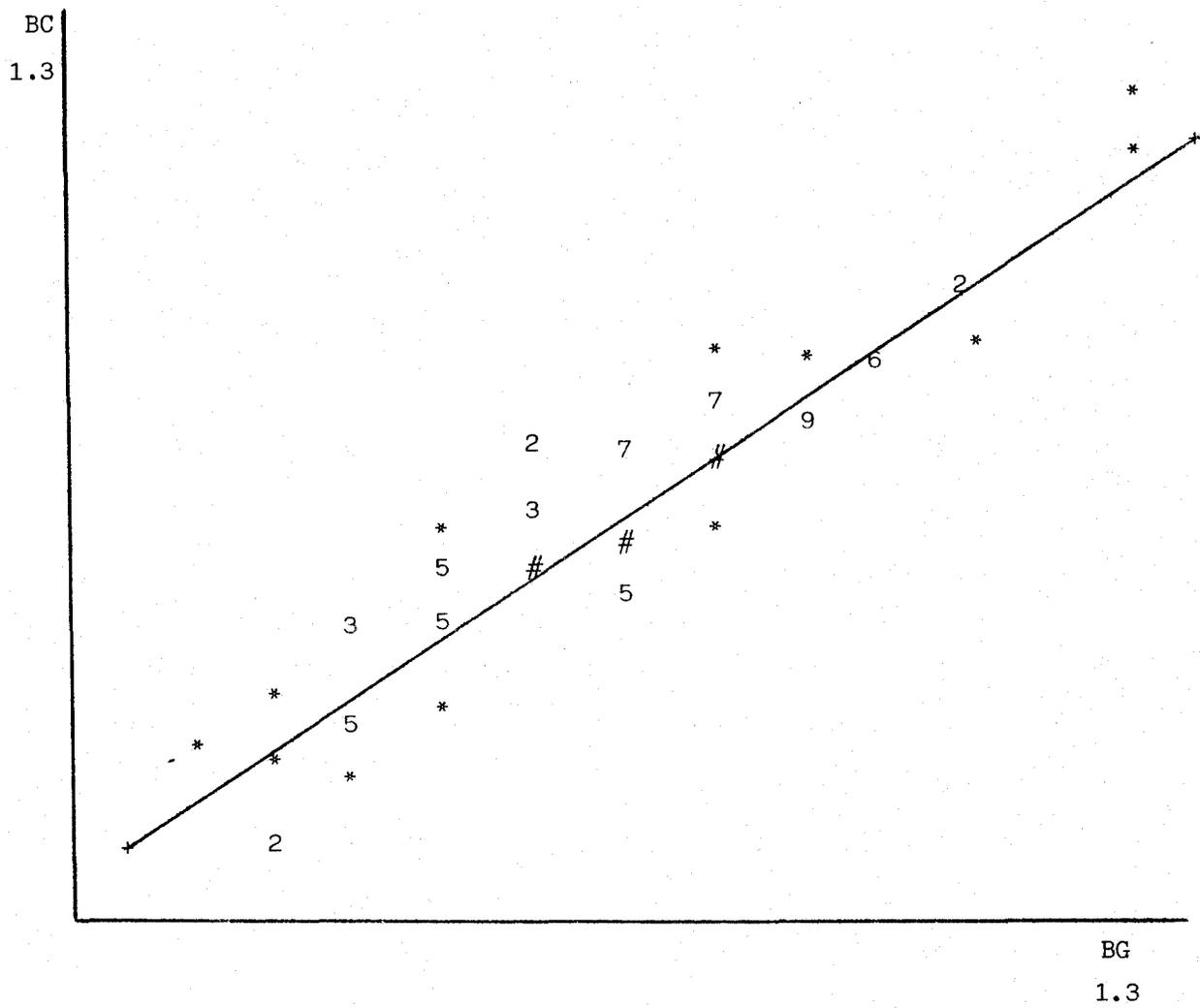
No. CASOS	VALORES MEDIOS DE LA HETEROCROMAT. DEL PAR 9	INDICE 16P (NIVELES)	VALORES MEDIOS INDICE (62 - 61)/62
POLIMORFISMOS 20 CASOS	$0,8500 \pm 4,9085 \times 10$	5 (60%), 4 (25%), 3 (25%)	<---- $0,6071 \pm 3,1961 \times 10$
NO POLIMORFICOS 130 CASOS	$0,6369 \pm 1,0555 \times 10$	2	<---- $0,1814 \pm 1,1094 \times 10$

154

TABLA IV. GRUPO CONTROL:
NIVELES DE LA HETEROCROMATINA DEL PAR 9.

CASO No.	NIVELES PAR 9	
	9 NORMAL	9 POLIMORFICO
5	2	5
6	2	5
9	2	3
11	2	5
15	2	5
17	2	4
20	2	5
23	2	4
27	2	5
53	2	5
54	2	4
84	2	5
91	2	4
92	2	5
105	2	3
108	2	5
120	2	3
128	2	5
131	2	5
138	2	4

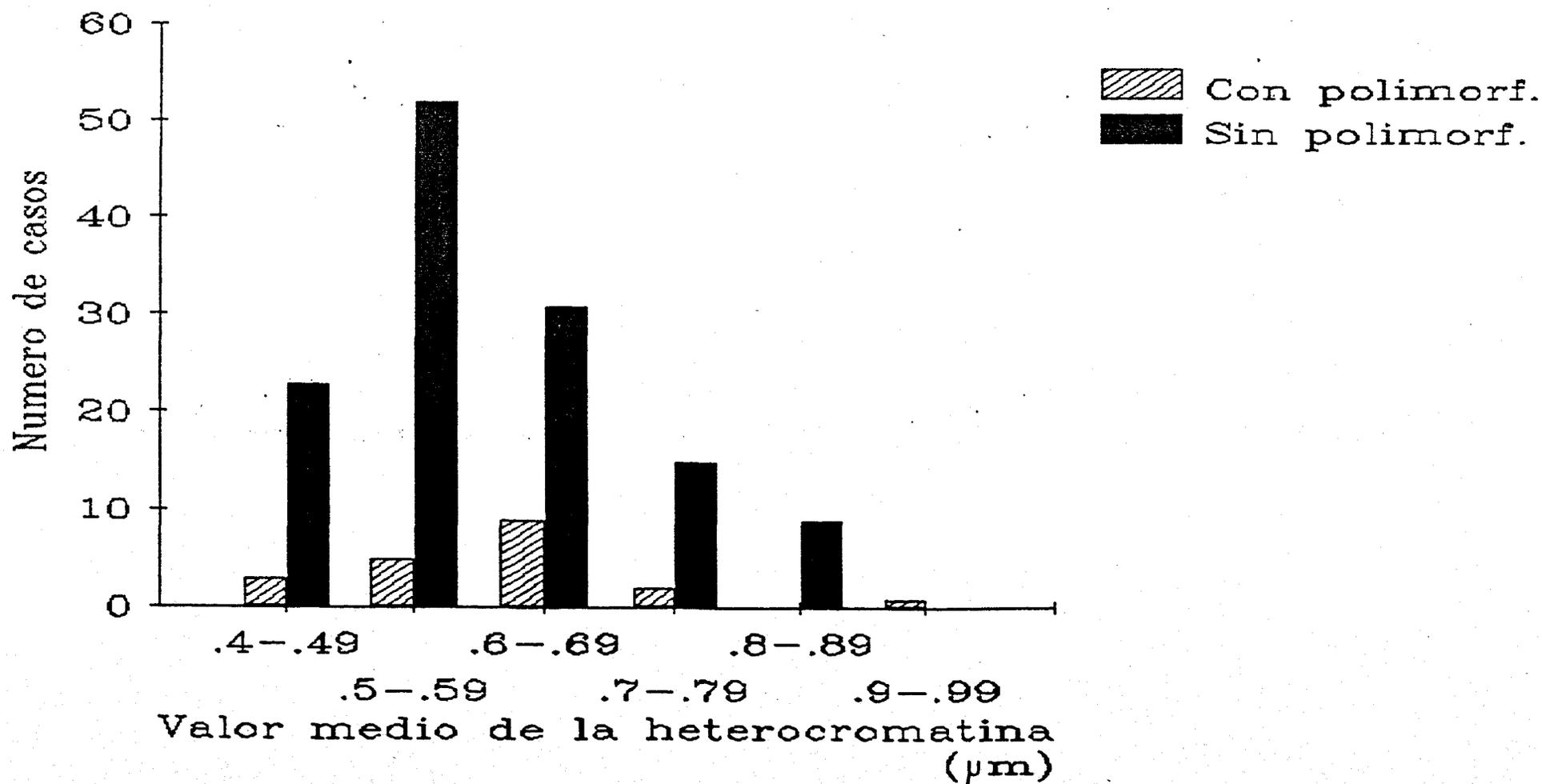
REGRESION LINEAL ENTRE BANDEO C Y BANDEO G



GRAF. I

Grafica II

Valores medios de la heterocromatina del par 9. Grupo control (150 casos)



II. GRUPO ESTUDIO.

=====

A) GRUPO ESTUDIO DE PACIENTES QUE CLINICAMENTE ----- PRESENTAN INFERTILIDAD O ESTERILIDAD. -----

Este apartado lo integran 145 individuos que a su vez están subdivididos en dos subgrupos:

1) Uno de 112 pacientes, formado por parejas que han sufrido más de dos abortos y sin ningún tipo de descendencia.

2) Otro de 33 pacientes que habían acudido a consulta por esterilidad.

1. Resultados citogenéticos. -----

Se realizó estudio citogenético al total de la muestra, los 145 individuos.

De ellos, 65 correspondían a varones, cuyos resultados citogenéticos fueron 46,XY en 63 de los casos; los dos varones restantes presentaron una inversión pericéntrica del cromosoma 9 de novo, su fórmula cromosómica era 46,XY,inv (9).

Las 80 personas restantes que completan este grupo, eran mujeres cuyos resultados citogenéticos fueron 46,XX.

La edad de los individuos que forman este grupo estudio osciló entre 13 y 40 años de edad.

El grupo de pacientes formado por parejas que han sufrido más de dos abortos y ningún tipo de descendencia, estaba compuesto por 56 hombres y 56 mujeres de edades comprendidas entre los 18 y los 40 años de edad.

El grupo de individuos que habían acudido a consulta por esterilidad, estaba compuesto por 23 mujeres y 10 hombres, de edades comprendidas entre los 13 y 33 años de edad.

En la tabla número V se encuentran reflejados la edad, sexo y diagnóstico citogenético del grupo de pacientes infértiles.

2. Mediciones de la heterocromatina

yuxtacentromérica del par 9.

a) Los valores de la heterocromatina del cromosoma 9 en el grupo de pacientes infértiles, oscilaron entre un mínimo de 0,1 μm y un máximo de 0,3 μm .

En el grupo de parejas infértiles (112 casos) el valor mínimo de la heterocromatina fué de 0,1 μm y el máximo de 1,2 μm .

En el grupo de parejas estériles, el valor mínimo fué de $0,1 \mu\text{m}$ y el máximo de $1,3 \mu\text{m}$.

La tabla número VI recoge los valores obtenidos en las mediciones de la heterocromatina del par 9, en el grupo de pacientes infértiles. Los valores de mayor frecuencia en ambos subgrupos fueron los comprendidos entre $0,4 \mu\text{m}$ y $0,7 \mu\text{m}$ que representan el 68% de los casos.

En la gráfica III se recogen los valores medios de la heterocromatina del par 9 en 143 pacientes ya que los dos pacientes restantes presentaban una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

Los valores medios de la heterocromatina del grupo de pacientes infértiles que presentaban un polimorfismo del par 9, fué de $0,8875 \pm 1,5448 \times 10^{-2} \mu\text{m}$, los valores medios de la heterocromatina del par 9 en el grupo de pacientes infértiles que no presentaron polimorfismo, fué de $0,5230 \pm 1,3179 \times 10^{-2} \mu\text{m}$. (tabla VII).

El valor medio de la heterocromatina en el grupo de parejas infértiles fué de $0,8750 \pm 1,5787 \times 10^{-2} \mu\text{m}$. en los individuos que presentaban un polimorfismo del cromosoma 9 y de $0,5265 \pm 1,5370 \times 10^{-2} \mu\text{m}$, en los que no lo presentaban. (tabla VII).

En los pacientes estériles, el valor medio de la heterocromatina fué de $0,9000 \pm 4,2492 \times 10^{-2} \mu\text{m}$, en

los polimórficos y de $0,5200 \pm 2,5100 \times 10^{-2} \mu\text{m}$, en los no polimórficos.

Al aplicar el índice 16p en el grupo de pacientes infértiles, hemos podido comprobar la existencia de un polimorfismo en 56 pacientes de los 145 que componen este apartado; en el caso de estos 56 pacientes, el cromosoma 9 polimórfico se encontraba en los siguientes niveles según la clasificación de Patil y Lubs: 41 de ellos en el nivel 5, 9 en el nivel 4 y 6 en el nivel 1; los niveles 5 y 4 corresponden a los pacientes que presentaban un heteromorfismo debido a un aumento de la región heterocromática y el nivel 1 a pacientes que presentan un defecto en la heterocromatina yuxtacentromérica del par 9. El resto de los pacientes que componen este grupo tenían un nivel 2, valor donde se encuentran la gran mayoría de los valores de la heterocromatina yuxtacentromérica del par 9 en la población normal, los niveles se encuentran reflejados en la tabla VIII.

Al aplicarle nuestro índice $(G2-G1)/G2$ a los 143 individuos que componían el grupo de pacientes infértiles, los mismos 56 individuos presentaron un polimorfismo a nivel de la heterocromatina yuxtacentromérica de uno de los cromosomas que forman el par 9, consistente en 50 de los casos, en un aumento de la heterocromatina y en 6 de ellos, en un descenso de

esta heterocromatina yuxtacentromérica, de uno de los cromosomas 9 que forman dicho par (tabla V). Por tanto el 39,16% de los individuos que componían este grupo presentan un heteromorfismo del par 9. De ellos, 31 fueron mujeres, (55,35%) y 25 hombres, (44,6%).

Los valores medios del índice $(G2-G1)/G2$ en el grupo de parejas infértiles fué de $0,1680 \pm 1,5767 \times 10^{-2} \mu\text{m}$. en los no polimórficos y en los polimórficos de $0,6597 \pm 1,7659 \times 10^{-2} \mu\text{m}$.

En el subgrupo de pacientes estériles el valor medio del índice $(G2-G1)/G2$, fué de $0,1554 \pm 2,6086 \times 10^{-2} \mu\text{m}$. en los no polimórficos y de $0,6686 \pm 2,7529 \times 10^{-2} \mu\text{m}$. en los polimórficos.

En la tabla VI se encuentran reflejados los valores medios del índice $(G2-G1)/G2$, en el grupo de pacientes infértiles polimórficos y no polimórficos.

b) Los pacientes infértiles que presentaban una inversión pericéntrica del cromosoma 9 "de novo", tenían una inversión pericéntrica del tipo II; el cociente heterocromatina invertida / longitud total fué de $0,3/2,4 \mu\text{m}$ y de $0,4/3,3 \mu\text{m}$ respectivamente. Las medidas se realizaron con técnicas de bandas C y los valores se encuentran reflejados en las tabla XIV del grupo de pacientes que presentan una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

TABLA V. GRUPO DE PACIENTES INFERTILES O ESTERILES:
 DIAGNOSTICO CITOGENETICO, EDAD Y SEXO.

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
1	*	27	H	46,XX
2		22	H	46,XX
3	*	28	V	46,XY
4	*	33	V	46,XY
5	*	25	H	46,XX
6		21	V	46,XY
7	*	19	H	46,XX
8	*	32	V	46,XY
9	*	18	H	46,XX
10		25	V	46,XY
11		23	H	46,XX
12		28	V	46,XY
13		31	V	46,XY
14	*	30	H	46,XX
15	*	29	H	46,XX
16		27	H	46,XX
17		19	V	46,XY
18		22	H	46,XX
19		27	V	46,XY
20	*	21	H	46,XX

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
21	*	33	V	46,XY
22		32	H	46,XX
23		38	V	46,XY
24	*	31	H	46,XX
25		29	V	46,XY
26		23	H	46,XX
27	*	27	V	46,XY
28		29	H	46,XX
29		32	V	46,XY
30		33	H	46,XX
31		25	V	46,XY
32	*	28	H	46,XX
33	*	23	V	46,XY
34		27	H	46,XX
35		33	V	46,XY
36	*	31	H	46,XX
37		38	V	46,XY
38		27	H	46,XX
39		40	V	46,XY
40	*	35	H	46,XX
41	*	27	V	46,XY

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
42		24	H	46, XX
43		28	V	46, XY
44		23	H	46, XX
45		22	V	46, XY
46		27	V	46, XY
47		29	H	46, XX
48		28	H	46, XX
49	*	29	V	46, XY
50		25	H	46, XX
51	*	24	V	46, XY
52		27	H	46, XX
53		25	V	46, XY
54		24	V	46, XY
55		25	V	46, XY
56	*	28	V	46, XY
57		23	H	46, XX
58		22	H	46, XX
59	*	29	V	46, XY
60	*	30	H	46, XX
61		33	V	46, XY
62		25	H	46, XX

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
63	*	29	V	46,XY
64	*	21	H	46,XX
65	*	28	V	46,XY
66	*	32	V	46,XY
67		20	H	46,XX
68		32	V	46,XY
69		27	H	46,XX
70		31	H	46,XX
71		28	V	46,XY
72	*	19	H	46,XX
73		22	V	46,XY
74		28	H	46,XX
75		33	V	46,XY
76		27	H	46,XX
77		26	V	46,XY
78		32	H	46,XX
79		28	V	46,XY
80	*	19	H	46,XX
81		31	V	46,XY
82		33	H	46,XX
83		38	V	46,XY

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
84	*	30	H	46,XX
85	*	25	H	46,XX
86	*	29	V	46,XY
87		33	V	46,XY
88	*	21	H	46,XX
89		37	V	46,XY
90	*	29	H	46,XX
91	*	22	H	46,XX
92	*	38	V	46,XY
93	*	22	H	46,XX
94	*	25	V	46,XY
95		27	V	46,XY
96		29	H	46,XX
97	*	31	H	46,XX
98	*	30	V	46,XY
99		26	H	46,XX
100		29	H	46,XX
101		22	V	46,XY
102		32	H	46,XX
103	*	28	V	46,XY
104		27	H	46,XX

<u>CASO No.</u>	<u>POLIMOR.</u>	<u>EDAD</u>	<u>SEXO</u>	<u>DIAGN.CITOGEN.</u>
105		25	V	46,XY
106		24	H	46,XX
107		23	V	46,XY
108	*	38	V	46,XY
109	*	21	H	46,XX
110	*	19	V	46,XY
111		25	H	46,XX
112	*	27	H	46,XX
113		18	H	46,XX
114	*	18	V	46,XY
115	*	15	H	46,XX
116		14	H	46,XX
117		18	H	46,XX
118		19	V	46,XY
119		15	H	46,XX
120		18	V	46,XY
121		14	H	46,XX
122		13	H	46,XX
123		15	H	46,XX
124		19	H	46,XX
125		20	H	46,XX

CASO No.	POLIMOR.	EDAD	SEXO	DIAGN. CITOGEN.
126	*	15	H	46,XX
127		16	H	46,XX
128	*	14	V	46,XY
129		16	H	46,XX
130		18	V	46,XY
131	*	19	V	46,XY
132		16	V	46,XY
133		18	H	46,XX
134	*	20	H	46,XX
135		15	H	46,XX
136	*	15	H	46,XX
137		14	H	46,XX
138		15	H	46,XX
139	*	16	H	46,XX
140		17	H	46,XX
141	*	15	H	46,XX
142	*	18	V	46,XY
143	*	18	H	46,XX
144		33	V	46,XY,inv(9)
145		22	V	46,XY,inv(9)

TABLA VI. GRUPO DE PACIENTES CON INFERTILIDAD O
 ESTERILIDAD: MEDICIONES DE LA HETEROCROMATINA DEL
 PAR 9. BANDAS G.

CASO No.	BANDEO	G
1	0,3	1,0
2	0,4	0,5
3	0,5	0,9
4	0,4	1,2
5	0,5	1,0
6	0,3	0,4
7	0,2	0,9
8	0,4	1,0
9	0,3	0,8
10	0,5	0,6
11	0,5	0,5
12	0,3	0,4
13	0,2	0,9
14	0,1	0,6
15	0,2	0,5
16	0,3	0,4
17	0,4	0,4
18	0,5	0,4
19	0,3	0,4
20	0,3	0,9

CASO No.	BANDEO	G
21	0,3	0,7
22	0,4	0,5
23	0,4	0,5
24	0,5	1,0
25	0,4	0,6
26	0,4	0,5
27	0,6	0,9
28	0,5	0,5
29	0,4	0,5
30	0,5	0,6
31	0,3	0,4
32	0,2	0,8
33	0,1	0,7
34	0,4	0,6
35	0,3	0,4
36	0,3	0,8
37	0,4	0,5
38	0,5	0,5
39	0,5	0,7
40	0,3	0,9
41	0,3	0,9

CASO No.	BANDEO	G
42	0,4	0,6
43	0,6	0,7
44	0,5	0,7
45	0,4	0,4
46	0,6	0,4
47	0,3	0,4
48	0,6	0,7
49	0,4	1,0
50	0,5	0,7
51	0,3	0,8
52	0,7	0,8
53	0,6	0,6
54	0,5	0,3
55	0,3	0,3
56	0,4	0,9
57	0,5	0,7
58	0,3	0,4
59	0,5	0,9
60	0,2	0,8
61	0,6	0,7
62	0,4	0,3

CASO No.	BANDEO	G
63	0,4	0,9
64	0,3	0,8
65	0,2	0,9
66	0,3	0,9
67	0,4	0,5
68	0,4	0,5
69	0,4	0,6
70	0,4	0,3
71	0,5	0,5
72	0,2	0,9
73	0,4	0,4
74	0,3	0,4
75	0,5	0,5
76	0,3	0,5
77	0,6	0,7
78	0,4	0,4
79	0,5	0,6
80	1,0	0,6
81	0,4	0,4
82	0,6	0,5
83	0,4	0,4

CASO No.	BANDEO	G
84	0,1	0,6
85	0,3	0,8
86	0,4	1,0
87	0,5	0,5
88	0,3	0,9
89	0,4	0,5
90	0,1	0,6
91	0,3	0,8
92	0,3	0,9
93	0,3	0,9
94	0,4	0,9
95	0,3	0,4
96	0,6	0,7
97	0,2	0,7
98	0,4	0,8
99	0,3	0,3
100	0,4	0,4
101	0,5	0,6
102	0,6	0,6
103	0,5	0,4
104	0,6	0,7

CASO No.	BANDEO	G
105	0,6	0,6
106	0,5	0,5
107	0,3	0,8
108	0,2	0,7
109	0,3	0,9
110	0,4	1,0
111	0,2	0,7
112	0,5	0,5
113	0,3	0,8
114	0,3	0,8
115	0,4	0,4
116	0,5	0,7
117	0,6	0,5
118	0,5	0,4
119	0,3	0,5
120	0,4	0,4
121	0,5	0,6
122	0,6	0,7
123	0,4	0,3
124	0,5	0,5
125	0,4	0,5

CASO No.	BANDEO	G
126	0,3	0,9
127	0,4	0,5
128	0,2	1,0
129	0,3	0,4
130	0,4	0,4
131	0,2	0,7
132	0,3	0,8
133	0,3	0,4
134	0,5	0,5
135	0,3	0,9
136	0,5	0,7
137	0,6	1,0
138	0,4	0,4
139	0,6	0,7
140	0,3	0,9
141	0,2	0,8
142	0,1	0,7
143	0,3	0,9

TABLA VII. PACIENTES CON INFERTILIDAD Y ESTERILIDAD. VALORES DE LA HETEROCROMATINA DEL PAR 9.

	VALORES MEDIOS DE LA HEROCROMATINA	INDICE 16p (NIVELES)	VALORES MEDIOS DEL INDICE (62- 61)/62
POBLACION DE INFERTILES			
No. TOTAL DE CASOS	145		
No. CASOS POLIMORFICOS	56	0,8875 $\mu\text{m} \pm 1,5448 \times 10$	5(75%), 4(16%), 1(10%)
No. CASOS NO POLIMORFICOS	87	0,5230 $\mu\text{m} \pm 1,3179 \times 10$	2
No. CASOS PAREJAS INFERTILES ..112			
No. CASOS POLIMORFICOS	45	0,8750 $\mu\text{m} \pm 1,5787 \times 10$	5(72%), 4(16,27%), 1(0,11%)
No. CASOS NO POLIMORFICOS	67	0,5265 $\mu\text{m} \pm 1,5370 \times 10$	2
No. CASOS PACIENTES ESTERILES ..33			
No. CASOS POLIMORFICOS	11	0,9000 $\mu\text{m} \pm 4,2492 \times 10$	5(83,3%), 4(8,3%), 1(8,3%)
No. CASOS NO POLIMORFICOS	20	0,5200 $\mu\text{m} \pm 2,5100 \times 10$	2

TABLA VIII. GRUPO DE PACIENTES CON INFERTILIDAD O
 ESTERILIDAD: NIVELES DE LA HETEROCROMATINA DEL PAR 9

CASO No.	NIVELES PAR 9	
	9 NORMAL	9 POLIMORFICO
1	2	5
3	2	4
4	2	5
5	2	4
7	2	5
8	2	5
9	2	5
14	2	5
15	2	1
20	2	5
21	2	5
24	2	5
27	2	4
32	2	5
33	2	1
36	2	5
40	2	5
41	2	1

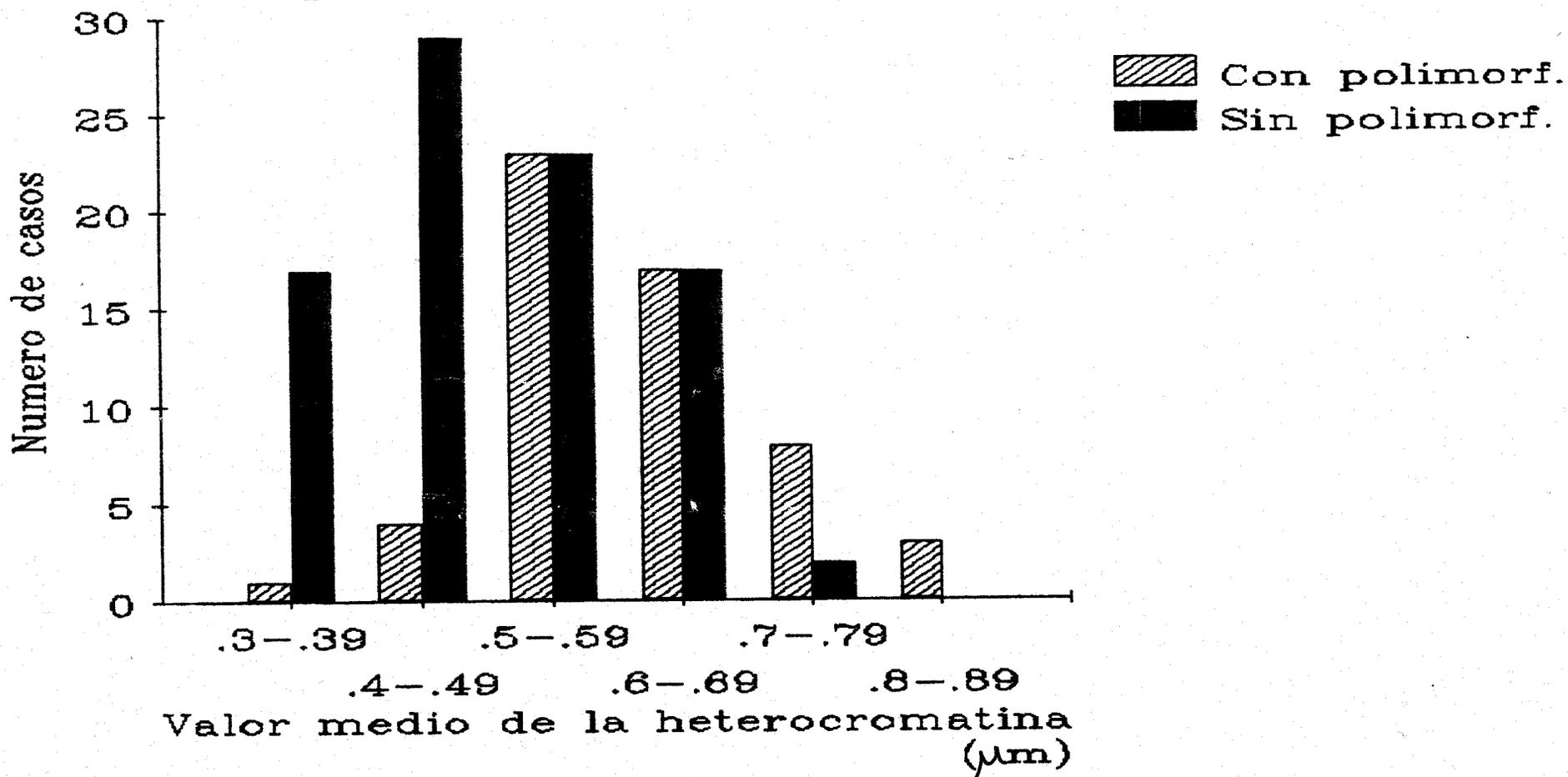
NIVELES PAR 9

CASO No.	9 NORMAL	9 POLIMORFICO
49	2	5
51	2	5
56	2	5
59	2	5
60	2	4
63	2	5
64	2	4
65	2	5
66	2	5
72	2	4
80	2	5
84	2	5
85	2	5
86	2	1
88	2	5
90	2	4
91	2	5
92	2	5
93	2	1

NIVELES PAR 9

CASO No.	9 NORMAL	9 POLIMORFICO
94	2	5
97	2	5
98	2	5
103	2	5
108	2	5
109	2	5
110	2	4
112	2	5
114	2	5
115	2	5
126	2	5
128	2	5
131	2	4
134	2	5
136	2	5
139	2	5
141	2	5
142	2	1
143	2	5

Grafica III
Valores medios de la
heterocromatina del par 9.
Grupo de infértiles (143 casos).



B) GRUPO DE PACIENTES CON UNA INVERSION PERICENTRICA

DEL CROMOSOMA 9.

Este grupo está formado por 21 individuos que a su vez están subdivididos en dos partes:

1. Grupo de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 de origen familiar.
2. Grupo de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 "de novo".

1. Grupo de inversiones pericéntricas del cromosoma

9 de origen familiar.

Está formado por 13 pacientes (69,9%) 10 varones (76,9%) y 3 hembras (23,1%).

Las edades de estos pacientes oscilan entre los 3 y los 60 años y se encuentran reflejados en la tabla IX, así como los resultados citogenéticos de esta población.

a) RESULTADOS CITOGENETICOS.

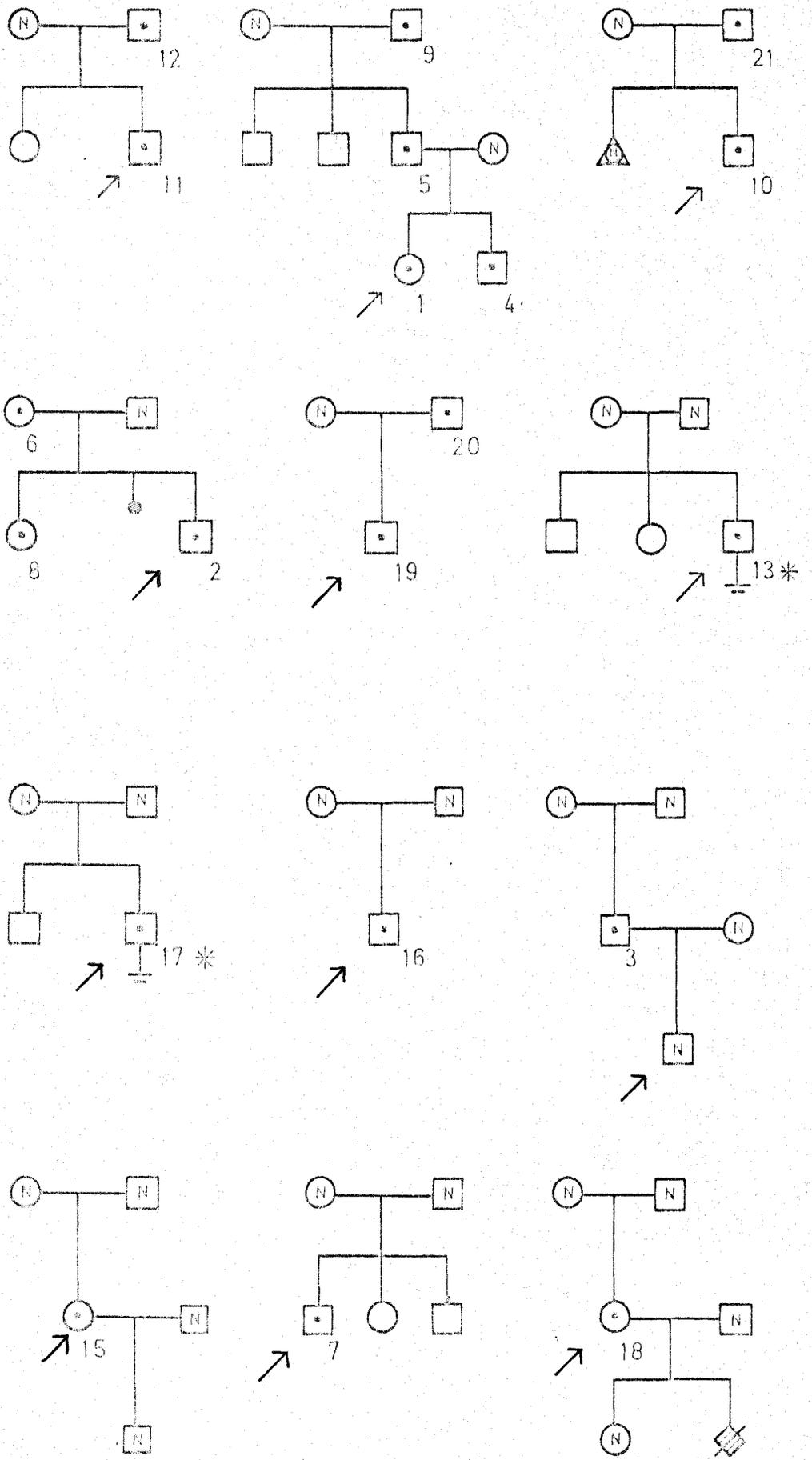
Los individuos que componen este grupo presentan citogenéticamente una inversión pericéntrica del cromosoma 9; en todos ellos se realizó bandeo GTG y CBG para diagnosticar y poder estudiar con precisión el tipo de inversión, (tablas IX y X).

Los individuos que componen este grupo, presentan citogenéticamente una inversión pericéntrica tipo II, excepto los casos 21 y 10 que presentaban una inversión pericéntrica tipo I; se trata de un padre y de su hijo (tabla IX y X) y (Fig. 8).

Los resultados muestran que existen un mayor porcentaje de varones afectados de inversión pericéntrica del cromosoma 9 de origen familiar que de hembras, ya que el 76,9% fueron varones y sólo el 23% fueron hembras.

De estos 13 casos, 6 heredaron la inversión de sus padres y 2 de la madre (Fig. 9).

De los 6 casos que heredaron la inversión de sus padres, 5 eran varones y una hembra; de los dos individuos que heredaron la inversión de la madre, uno fué varón y el otro hembra, ambos eran hermanos (Fig. 9)



LEYENDA

-   Cariotipo normal
-   Portadores de la inversion
-   Cariotipos no estudiados
-  Probandus
-  Fenotipo anormal, muerto
-  Aborto
-  Esterilidad
-   Estudio del cariotipo en liquido amniotico
-  Corresponden a los Casos N° 144 y 145 del grupo de estudio de pacientes esteriles

b) MEDICIONES DE LA HETEROCROMATINA INVERTIDA

El cociente de la heterocromatina invertida / longitud total, se encuentra reflejado en la tabla X; se efectuó este cálculo para comprobar si efectivamente los tipos de inversión correspondían al tipo I y II. Para ello se aplicó el test de Kruskal-Wallis y como era de esperar, existía una diferencia significativa respecto al cociente heterocromatina invertida/longitud total entre el tipo I y II de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 (p inferior a 0,01).

En lo que se refiere a las inversiones pericéntricas de origen familiar del par 9, la media del cociente heterocromatina / longitud total en el tipo I de inversión fué de 0,283 μm . y en el tipo II de 0,1439 μm .

c) CLINICA DE LAS INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9.

De los 13 casos que componen este grupo, 6 de ellos, los casos números 5, 6, 9, 12, 20, y 21 eran progenitores que presentaban inversión pericéntrica del cromosoma 9 y cuyos hijos heredaron dicha inversión. A su vez los hijos de éstos últimos, heredaron también esta inversión; el paciente número 9 es pues el padre del caso número 5 y abuelo de los

números 1 y 4. El caso número 6 es la madre de los individuos números 2 y 8. Todos los progenitores presentaban un fenotipo normal. (tablas IX, X,XI, Fig.9) . En el momento del estudio no habían tenido más hijos.

El caso número 21 está en espera del nacimiento del segundo de sus hijos, diagnosticado citogenéticamente por amniocentesis de hembra normal, 46,XX, sin presentar la inversión pericéntrica del padre y del hermano que es el caso número 10, (tablas IX, XI, XII) (Fig. 9).

Entre la descendencia de los progenitores anteriormente citados, presentaban la inversión 7 casos; el caso número 4, hermano del número 1, y el caso número 8, hermana del número 2, presentaban un fenotipo normal, (tabla XI, XII y graf. IV) ; entre ellos encontramos diferentes alteraciones clínicas que se describen a continuación:

- Caso número 1: Retraso mental, retraso psicomotor, microcefalia, escoliosis, estrabismo, orejas de implantación baja, aracnodactilia, cardiopatía congénita, talla baja y deformidades esqueléticas (tablas X, XI, XII y graf. IV).

- Caso número 2: Retraso psicomotor, cardiopatía congénita, malformaciones preauriculares,

deformidad torácica, retrognatia hernia inguinal, talla baja, clinodactilia, cúbito valgo, paladar ojival y deformaciones esqueléticas. (tablas X, XI, XII, graf. IV).

- El caso número 10, estaba diagnosticado de síndrome de Guillian-Barret y presentó retraso psicomotor, microcefalia, talla baja, retraso mental, clinodactilia, cúbito valgo y paladar ojival, (tablas X, XI, XII) (graf. IV).

- El caso número 11, tenía retraso mental y gigantismo, (tablas X, XI, XII) (graf. IV).

- El caso número 19, tiene retraso psicomotor, microcefalia, orejas de implantación baja, retraso mental, cúbito valgo y deformidades esqueléticas, (tablas X, XI, XII) (graf. IV).

TABLA IX. PACIENTES CON INVERSION PERICENTRICA DEL
CROMOSOMA 9 DE ORIGEN FAMILIAR

CASO No.	EDAD	SEXO	DIAG. CITOGEN.	TIPO DE BANDAS
1	3	H	46,XX,inv (9)	GTG y CBG
2	4	V	46,XY,inv (9)	GTG y CBG
4	12	V	46,XY,inv (9)	GTG y CBG
5	33	V	46,XY,inv (9)	GTG y CBG
6	32	H	46,XX,inv (9)	GTG y CBG
8	10	H	46,XX,inv (9)	GTG y CBG
9	60	V	46,XY,inv (9)	GTG y CBG
10	6	V	46,XY,inv (9)	GTG y CBG
11	5	V	46,XY,inv (9)	GTG y CBG
12	36	V	46,XY,inv (9)	GTG y CBG
19	7	V	46,XY,inv (9)	GTG y CBG
20	30	V	46,XY,inv(9)	GTG y CBG
21	35	V	46,XY,inv(9)	GTG y CBG

TABLA X. PACIENTES CON INVERSION DEL CROMOSOMA 9 DE ORIGEN FAMILIAR

CASO No.	HET. INV/ LONG. T	TIPO INV	INV+AB	INV+AB CROM.	INV+EST.	INV+MALF. CONG.
1	0,3 / 2,6 um	II	-	-	-	+
2	0,4 / 2,5 um	II	-	-	-	+
3	0,3 / 3,3 um	II	-	-	-	-
4	0,3 / 2,6 um	II	-	-	-	-
5	0,4 / 3,3 um	II	-	-	-	-
6	0,3 / 2,6 um	II	+	-	-	-
8	0,4 / 3,0 um	II	-	-	-	-
9	0,3 / 2,5 um	II	-	-	-	-
10	0,3 / 1,4 um	I	-	-	-	+
11	0,3 / 2,5 um	II	-	-	-	-
12	0,4 / 3,1 um	II	-	-	-	-
19	0,3 / 2,7 um	II	-	-	-	+
20	0,7 / 3,0 um	II	-	-	-	-
21	0,6 / 2,1 um	I	-	-	-	-

TABLA XI. PACIENTES CON INVERSION PERICENTRICA DEL CROMOSOMA 9 . CARACTERISTICAS CLINICAS DE LA DESCENDENCIA.

PROGENITORES	DESCENDENCIA							
	CASO No.	INV+AB CROM.	INV+RET.MENT.	INV+RET.PSIC.	INV+MALF.CONG.	INV+SIG.DISM.	FENOT. NORM.	ABORTOS
	5	-	+	+	+	+	+	-
	6	-	+	-	+	-	+	+
	9	-	+	+	+	-	+	-
	12	-	-	-	-	+	-	-
	20	-	+	+	+	+	-	-
	21	-	+	+	+	+	-	-

TABLA XII. PACIENTES CON INVERSION PERICENTRICA DEL CROMOSOMA 9. ALTERACIONES CLINICAS.

CASO No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	TOTAL
EDAD	3	4	29	12	33	32	8	10	60	6	5	36	22	3	37	4/12	33	33	7	30	35	
RETRASO PSICOM.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	5
MICROCEFALIA	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	4
ESCALIOSIS	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
ESTRABISMO	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
OREJAS BAJAS	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	3
ARACNOACTILIA	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
CARDIOP. CONGEN.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
MALF. PREAURIC.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
DEFORM. TORACICA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
RETROGNATIA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
HERNIA INGUI.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
TALLA BAJA	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	6

CASO. No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	TOTAL
RETRASO MENTAL	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	6
CLINDACTILIA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
CUBITO VALGO	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	3
PALADAR OJIVAL	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
DEFORM. ESQUEL.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	3
CRIPTORQ. BILAT.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ESCRETO VACIO	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ANIRIDIA BILAT.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
CATARATA BILAT.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
NISTAGMUS.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	1
AMINDAC. Y AMINOACID.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
PAD. CON NINOS MALF.	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	8
PAD. DE NINOS CON AB CR.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
PAD. DE NINOS RET. MENTAL	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	6
GIGANTISMO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SIND. DE BILLIAM BARRET	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ABORTOS	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ESTERILIDAD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	2

2. Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 "de ----- novo". -----

Este grupo está formado por 8 individuos que representan el 38,1% de todas las inversiones pericéntricas, de las cuales había 1 hembra y 7 varones; dos de los varones que se encuentran en este grupo llegaron a nuestra consulta por esterilidad y al realizarles el cariotipo, presentaron una inversión pericéntrica del cromosoma 9, corresponden a los casos números 144 y 145 del grupo estudio de pacientes infértiles. Las edades de estos pacientes oscilan entre los 4 meses y los 37 años (tabla XII).

a) RESULTADOS CITOGENETICOS.

Los resultados citogenéticos de esta población se encuentran reflejados en la tabla XIII, todos ellos presentaban una inversión pericéntrica del cromosoma 9 "de novo"; se realizó bandeo GTG y CBG para confirmar y poder estudiar el tipo de inversión pericéntrica que presentaban. Todos los pacientes de este grupo tenían una inversión pericéntrica del cromosoma 9 del tipo II, (tablas XIII y XIV) (Fig. 8).

Los resultados muestran que existía un porcentaje mucho mayor de varones afectados de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 que de

hembras, ya que todos ellos fueron varones excepto una hembra, (tabla XIII).

Todos los casos fueron inversiones "de novo", los casos números 3, 15 y 18, de 29, 37 y 23 años de edad respectivamente, tuvieron hijos pero ninguno de ellos heredó la inversión, (Fig. 9).

b) MEDICIONES DE LA HETEROCROMATINA INVERTIDA
"DE NOVO".

El cociente de la heterocromatina invertida / longitud total se efectuó para comprobar el tipo de inversión; se aplicó el test de Kruskal-Wallis y se comparó con el grupo de inversiones pericéntricas tipo II de origen familiar, no existiendo diferencia significativa entre las inversiones tipo II de origen familiar y las "de novo", (tabla XIV); no existía ninguna inversión del tipo I en este grupo. La media aritmética del cociente de heterocromatina invertida / longitud total, fué 0,1286 μ m. en este grupo.

c) CLINICA DE LAS INVERSIONES PERICENTRICAS
DEL CROMOSOMA 9 "DE NOVO".

Las alteraciones que encontramos en estos pacientes fueron las siguientes, (tablas XII y XIV) (graf. IV).

-El caso número 7, presentaba criptorquidia bilateral y escroto vacío, (tablas XII y XIV) (graf.IV).

- El caso número 13, presentaba talla baja y esterilidad y se corresponde con el caso 144 del grupo de pacientes infértiles, (tablas XII y XIV) (graf. IV).

- El caso número 14, incluía las siguientes alteraciones clínicas: retraso psicomotor, microcefalia, orejas de implantación baja, retraso mental y paladar alto y estrecho, (tablas XII Y XIV) (graf.IV).

- El caso número 16 presentaba clinodactilia, aniridia bilateral, catarata bilateral y nigtagmus (tablas XII y XIV) (graf. IV).

-El caso número 17, presentaba esterilidad y una historia de exposición prolongada en su lugar de trabajo a radiaciones emitidas por I192, (tablas XII y XIV), que corresponde al caso 145 del grupo de pacientes infértiles.

Los signos y anomalías clínicas que presentan estos pacientes están reflejados en las tablas XII y XIV y en la gráfica IV. Los casos números 3, 15 y 18 eran padres de niños malformados y con retraso mental, aunque el caso número 18 tenía otro hijo con fenotipo normal, ninguno de estos niños malformados y con

retraso mental heredaron la inversión del cromosoma 9 que presentaban sus padres. Todos los progenitores presentaron un fenotipo normal y en el momento del estudio no habían tenido más descendencia, (fig. 9).

Para comprobar la posible existencia de una asociación entre inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y una patología específica, hemos aplicado la prueba exacta de Fisher, comparando la patología encontrada con mayor frecuencia en el grupo estudio con la del grupo control.

La aplicación del test de Fisher reveló que existía una diferencia significativa (p inferior a 0,01) en los casos de retraso mental, retraso psicomotor, talla baja y alteraciones esqueléticas, y no significativa para las alteraciones oculares.

El paso siguiente fué aplicar la prueba de Fisher a la patología más frecuentemente encontrada en las inversiones pericéntricas de cromosoma 9 de origen familiar con la misma patología que tenía el grupo de inversiones "de novo"; encontramos que la diferencia fué significativa al comparar la incidencia de las alteraciones esqueléticas entre las inversiones "de novo" (p inferior a 0,01) y las de origen familiar; en el resto de las alteraciones no existían diferencias significativas.

TABLA XIII. PACIENTES CON INVERSION PERICENTRICA DEL
CROMOSOMA 9 " DE NOVO "

<u>CASO No.</u>	<u>EDAD</u>	<u>SEXO</u>	<u>DIAG. CITOGEN.</u>	<u>TIPO DE BANDAS</u>
3	29	V	46,XY,inv (9)	GTC y CBG
7	8	V	46,XY,inv (9)	GTC y CBG
* 13	22	V	46,XY,inv (9)	GTC y CBG
14	3	V	46,XY,inv (9)	GTC y CBG
15	37	H	46,XX,inv (9)	GTC y CBG
16	4/12	V	46,XY,inv (9)	GTC y CBG
* 17	33	V	46,XY,inv (9)	GTC y CBG
18	33	V	46,XY,inv(9)	GTC y CBG

* Corresponden a los casos numeros 144 y 145 del grupo estudio de pacientes infertiles.

TABLA XIV. VALORES DE LA HETEROCROMATINA INVERTIDA, TIPOS DE INVERSION PERICENTRICA Y ALTERACIONES CLINICAS

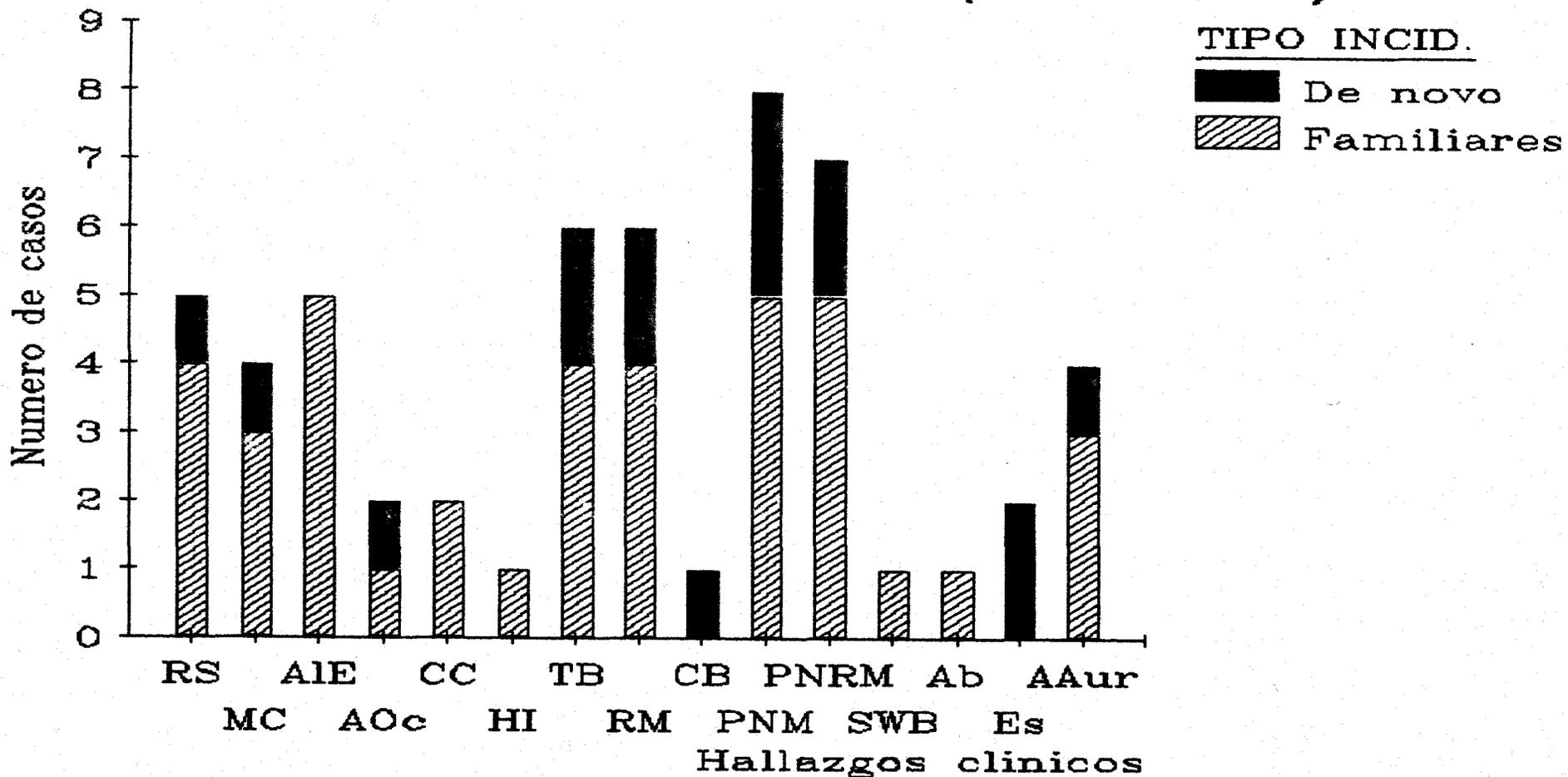
DE LOS PACIENTES CON UNA INVERSION PERICENTRICA DEL CROMOSOMA 9 * DE NOVO*

CASO No.	HET. INV / LONG. T	TIPO INV	INV+AB	INV+AB.CROM.	INV+ESTER.	INV+MALF. CONG.
3	0,3 / 2,4 μ m	II	-	-	-	-
7	0,4 / 2,7 μ m	II	-	-	-	+
* 13	0,3 / 2,8 μ m	II	-	-	+	-
14	0,3 / 2,5 μ m	II	-	-	-	+
15	0,4 / 3,1 μ m	II	-	-	-	+
16	0,4 / 3,3 μ m	II	-	-	-	-
* 17	0,3 / 2,5 μ m	II	-	-	+	-
18	0,4 / 2,5 μ m	II	-	-	-	-

* Corresponden a los casos numeros 144 Y 145 del grupo estudio de pacientes infértiles.

Grafica IV

Distribucion de hallazgos clinicos en inversiones pericentricas del cromosoma 9 (21 casos)



DISCUSION
=====



I. MATERIAL.

=====

En la presente Tesis, el material está constituido por un total de 314 individuos a los que se realizó estudio citogenético, distribuido en dos grupos: Control y Estudio; dentro de este último grupo, incluimos al grupo de pacientes que presentan una infertilidad o esterilidad y el grupo de pacientes con una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

Para evitar errores de apreciación en nuestra casuística, en los grupos control y el de pacientes que presentan infertilidad o esterilidad, hemos considerado conveniente que las muestras fueran de tamaño similar; el grupo control está compuesto por 150 individuos andaluces sanos y el grupo de pacientes con infertilidad o esterilidad por 145 personas.

El grupo de pacientes que presentan una inversión pericéntrica del cromosoma 9 consta de 21 personas, este grupo es inferior en número dada la escasa incidencia de esta variante, descrita en la literatura.

Al mismo tiempo y con objeto de contribuir a esclarecer el posible papel de los polimorfismos del par 9 como marcador étnico y racial, hemos realizado las mediciones de la heterocromatina yuxtacentromérica

del cromosoma 9 en nuestra población control. Una vez establecidas dichas mediciones y mediante la aplicación de los índices $16p$ y $(G2-G1)/G2$, se han podido observar individuos que presentaban un polimorfismo del cromosoma 9 y otros que no presentaban dicho polimorfismo, con lo cual podremos establecer la frecuencia de los polimorfismos del par 9 en la población andaluza, y compararlos con otras poblaciones estudiadas por diferentes autores (35, 36, 40, 41, 55, 69, 174, 264, 265).

El segundo grupo fué elegido entre los individuos que presentaban infertilidad o esterilidad, dada la controversia existente respecto a la posible implicación de los polimorfismos del cromosoma 9 en este tipo de alteraciones (23, 27, 28, 30, 31, 46, 49, 52, 165, 207, 269). Les exigimos como requisito que hubieran tenido dos o más abortos y ningún hijo vivo, o que presentaran esterilidad.

Por otra parte hemos estudiado la incidencia de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en la población andaluza normal para poder establecer un estudio comparativo posterior con los trabajos realizados sobre inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en poblaciones controles (19, 30, 31, 40, 41, 52, 61, 63, 87, 134, 222, 270).

El tercer grupo está formado por 21 individuos que presentan citogenéticamente una inversión pericéntrica del cromosoma 9 y que ha sido repartido en: pacientes que presentan una inversión pericéntrica del cromosoma 9 de origen familiar, y los que tenían una inversión pericéntrica "de novo", dentro de este subgrupo hemos incluido dos pacientes que llegaron a nuestra consulta con una historia de esterilidad y que al practicarles el cariotipo, pudimos comprobar la presencia de una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

El grupo de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, será también objeto de nuestro estudio debido a la existencia de una gran diversidad de opiniones respecto al posible papel etiológico de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en patologías como: retraso mental, alteraciones cromosómicas como trisomías 8, 9 y 21 y deleciones (Xq), infertilidad, signos dismórficos, etc. (16, 19, 30, 31, 32, 40, 41, 52, 53, 61, 63, 72, 93, 109, 111, 134, 162, 166, 191, 222, 230, 259, 270).

II. METODO.

=====

Consideramos que para la correcta identificación del par cromosómico 9 en la metafase,

así como para la identificación de los diferentes polimorfismos e inversiones pericéntricas de dicho cromosoma, es necesario, aunque suponga un arduo trabajo, aplicar a todo el colectivo, técnicas de bandas GTG para su localización inequívoca. También es necesario, en ocasiones como en el caso de las inversiones pericéntricas, el empleo de técnicas de bandas CBG por ser éstas las que ponen de manifiesto la heterocromatina constitutiva del par 9 con más precisión.

En el caso del grupo control y para comprobar si existía una correlación entre las medidas de la heterocromatina centromérica con ambas técnicas GTG y CBG, se realizó un muestreo con 60 individuos pudiendose comprobar que efectivamente, existía dicha correlación, (graf. I), por lo tanto hemos utilizado la técnica de bandas GTG para realizar las mediciones de la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9 en el resto de los individuos del grupo control y en el grupo de pacientes infértiles ya que es la técnica standar que se utiliza en la gran mayoría de los laboratorios de citogenética, puesto que es más sencilla y dá mejores resultados. No obstante hemos aplicado las técnicas de bandas CBG para confirmar sin discusión, la presencia de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9, en los pacientes que presentan este tipo de variantes, así como efectuamos mediciones de la heterocromatina para poder establecer el tipo de inversión pericéntrica y el índice heterocromatina/ longitud total, (tablas X y XIV).

Con objeto de minimizar el error en las mediciones, tomamos una serie de precauciones, tales como que el observador fuera el mismo en las 4.135 mediciones realizadas, medir cinco metafases de cada individuo, así como programar el morfómetro para que las mediciones las realizara en micrómetros, puesto que estimamos que al disminuir la unidad de medida, decrecería el umbral de error.

Con objeto de poder determinar la presencia de polimorfismos del par 9, aplicamos el índice propuesto por Patil y Lubs (190), utilizado por otros autores (226, 260, 265), para la determinación de los polimorfismos; este índice consiste en clasificar las regiones qh de los cromosomas 1, 9 y 16, en 5 niveles, comparandolos con la medida del área de los brazos cortos del cromosoma 16. Las razones por las cuales hemos elegido este índice fueron: El centrómero del cromosoma 16 es de fácil identificación, el brazo p del cromosoma 16 tiene un tamaño intermedio cuando se le compara con las regiones qh de los cromosomas 1, 9 y 16, con lo cual nos da una medida standar. Finalmente la longitud de los brazos cortos del cromosoma 16 no se altera en general por las distintas condensaciones del ADN.

Hemos creído conveniente también establecer nuestro propio índice de medición para los polimórficos

del par 9, siendo éste: $(G2-G1)/G2$; donde $G1$ es el menor valor de la heterocromatina del par 9 y $G2$ el valor mayor de la heterocromatina de dicho par.

Esta decisión fué tomada con objeto de aportar un nuevo índice para la identificación de los polimorfismos del cromosoma 9, ya que existe gran controversia en la cuantificación de los polimorfismos del par 9; nuestro índice $(G2-G1)/G2$ es válido en el caso en que no existan dismorfias en la heterocromatina yuxtacentromérica de ambos cromosomas del par 9 en un mismo individuo. Dada la baja posibilidad de que ocurra este hecho, consideramos que el porcentaje de error de nuestro índice es mínimo y que aplicados a ambos índices en la misma muestra, no hay practicamente margen de error.

Por otra parte, consideramos que la realización minuciosa de las historias clínicas de todo el colectivo que compone el grupo estudio: Un subgrupo de pacientes con infertilidad o esterilidad y el formado por individuos que presentaban una inversión pericéntrica del cromosoma 9, es fundamental para evitar errores consistentes en la presencia de ciertos rasgos clínicos que conforman los parámetros comparativos de importancia para nuestro estudio.

III. DE LOS RESULTADOS.

=====

A) GRUPO CONTROL.

1. Discusión a los resultados citogenéticos y a las mediciones de la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9.

Los resultados citogenéticos de nuestro grupo control, como cabía esperar fueron de 46,XY para los varones y de 46,XX para las hembras.

En lo que se refiere a la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9, es conocido desde hace tiempo que presenta una gran variabilidad en los distintos grupos étnicos y así ha sido establecido en los numerosos trabajos realizados sobre el tema (35, 40, 41, 73, 74, 75, 85, 143, 154, 181, 182, 183, 184, 210, 223, 226, 249, 256, 257, 258, 265, 278,).

Nuestros intereses radica no sólo en establecer nuestros propios porcentajes en el grupo control por la importancia que ello conlleva a la hora de establecer comparaciones con el grupo estudio, sino también contribuir al análisis de los polimorfismos en la población andaluza y con ello al estudio de los heteromorfismos en las diferentes poblaciones normales.

La incidencia de los polimorfismos del cromosoma 9 en el grupo control de la población andaluza, ha sido del 13,3%, observándose mayor frecuencia en el sexo masculino (75%), que en el femenino (25%)(tabla XV). Nuestra incidencia es similar a la encontrada en los trabajos realizados por otros autores en la población caucasiana; Shabtai encuentra un 15% de polimorfismos del cromosoma 9 en un grupo de 800 recién nacidos caucasicos (223); Tsvetkova, al estudiar 106 individuos de raza blanca obtiene un 15% de polimorfismos del cromosoma 9, (249). Buckton, observa en una población escocesa una frecuencia de polimorfismos del cromosoma 9 entre un 10% y un 15%, (35), (tabla XV).

Muy por encima de estas cifras, Verma en un trabajo realizado sobre un grupo de caucasicos americanos, obtiene una frecuencia del 30% de polimorfismos del cromosoma 9 (257) (tabla XV).

Sin embargo, por otro lado, existen cifras muy bajas recogidas en los trabajos realizados por Nielsen que en un estudio llevado a cabo sobre 8.172 individuos caucasicos no judios, encuentra una incidencia de polimorfismos del cromosoma 9 en la población de sólo el 0,05% (182) (tabla XV).

Lubs observa una incidencia del 0,06% de

heteromorfismos del cromosoma 9, en una población de 3.176 individuos caucasianos americanos recién nacidos (155) (tabla XV).

Porcentajes más elevados que los anteriores, pero inferiores a los obtenidos por nosotros son los publicados por Krag-Olsen que obtiene una frecuencia del 1,7% en un grupo de 368 recién nacidos de raza blanca (143) (tabla XV).

Wang en 165 recién nacidos caucasianos encuentra un 3,3% de polimorfismos, del cromosoma 9. (265), (tabla XV).

Salamanca, en un estudio realizado sobre la población mexicana blanca, obtiene un 7% de dismorfias del par 9 (210) (tabla XV). Así como también Blumberg que obtiene una frecuencia del 7% en la población caucasiánica americana (23) y Navarrete, que encuentra el mismo porcentaje en la población castellana (179) (tabla XV).

Con respecto a la incidencia de los polimorfismos del cromosoma 9 en otras razas, como puede ser la raza negra, parece existir un mayor número de heteromorfismos del cromosoma 9, que en la raza blanca, según los diferentes trabajos realizados sobre estas poblaciones (85, 155, 256, 257, 278).

Nuestros resultados, 13,3% de polimorfismos del cromosoma 9, en el grupo control, se encuentran de acuerdo con los obtenidos por Buckton (35), Shabtai (223) y Tsvetkova (249), ya que observan un porcentaje alrededor del 15% de polimorfismos del cromosoma 9 en la población caucasiana normal, (tabla XV). Sería necesario, sin embargo, llevar a cabo más estudios sobre el tema para poder llegar a conclusiones definitivas sobre el papel de los polimorfismos del cromosoma 9 como marcador racial y étnico.

TABLA XV. INCIDENCIA DE POLIMORFISMOS DEL PAR 9 EN LA RAZA BLANCA

<u>AUTOR</u>	<u>CAUCASIANOS</u>	<u>No. CASOS ESTUDIADOS</u>	<u>% POLIMORFISMO DEL PAR 9</u>
NIELSEN	CAUCASIANOS NO JUDIOS	8.712	0,05%
LUBS	AMERICANOS BLANCOS	3.176	0,06%
SHABTAI	AMERICANOS BLANCOS	800	15%
SALAMANCA	MEXICANOS NO INDIGENAS	300	7%
NAVARRETE	ESPAÑOLES CASTELLANOS	258	7%
WANG	AMERICANOS BLANCOS	165	3,3%
KRAG-OLSEN	DANESES	368	1,7%
TSVETKOVA	RUSOS	106	15,6%
VERMA	AMERICANOS BLANCOS	180	30%
PRESENTE	ESPAÑOLES ANDALUCES	150	13,3%

2. Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en el grupo control.

La distribución de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en la población, varía según los diferentes autores, aunque los porcentajes están alrededor del 1%, incluso por de bajo de éste. Así Buckton en un estudio realizado sobre 3 poblaciones escocesas obtuvo un porcentaje del 0,5% (35), (tabla XVI). Cavalli, en trabajos realizados sobre un grupo de 30 y otro de 90 japoneses, no detectó la presencia de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 (40, 41), (tabla XVI).

Cifras más elevadas en grupos control son las de Metotexou que obtuvo una frecuencia del 4% en un trabajo sobre la población griega (168), (tabla XVI) y Mayer que observó una frecuencia del 3,4% en la población oriental de Hawai, aunque en la población Hawaiana no oriental fué sólo del 0,4% (166), (tabla XVI).

Llamativos son ya los valores hallados por Verma en 1.981, un 21,9% de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 (257), (tabla XVI).

En nuestro grupo control formado por 150 personas, no hemos encontrado ninguna inversión pericéntrica del cromosoma 9, lo cual podría estar en

consonancia con frecuencias del 0,4% y del 0,5% establecidas por Mayer (166) y Buckon (35) en los trabajos sobre la población control por ellos estudiados, (tabla XVI).

TABLA XVI. INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9 EN LOS DISTINTOS GRUPOS ETNICOS

<u>AUTOR</u>	<u>GRUPO RACIAL</u>	<u>No. CASOS</u>	<u>% INVER. PERIC. DEL PAR 9</u>
BUCKTON	ESCOCESES	400	0,5%
METAXOTOU	GRIEGOS	600	4%
MAYER	HAWAIANOS ORIENTALES	516	3,4%
MAYER	HAWAIANOS NO ORIENTALES	516	0,4%
VERMA	NEGROS AMERICANOS	100	21,9%
CAVALLI	JAPONESES	120	0%
PRESENTE	ESPAÑOLES ANDALUCES	150	----

B) GRUPO ESTUDIO.

1. Grupo de pacientes que presentan infertilidad o esterilidad.

a) Discusión a los resultados citogenéticos y a las mediciones de la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9.

En nuestro grupo estudio de pacientes que presentan infertilidad o esterilidad, los resultados nos muestran que el 39,16% de los individuos presentan un polimorfismo del cromosoma 9.

La posible importancia de estos polimorfismos del par 9 y sus efectos selectivos sobre fallos en la reproducción, ha sido considerada en los estudios realizados sobre el tema, existiendo numerosas opiniones (23, 27, 28, 30, 31, 86, 87, 88, 89, 101, 103, 118, 120, 179, 182, 189, 232, 244, 247, 249, 267, 269,). Así, nuestros resultados referentes a la incidencia de polimorfismos del cromosoma 9 en la población de individuos infértiles, comparada con el grupo control, es significativa (p inferior a 0,01), ya que el porcentaje de polimorfismos del cromosoma 9 en nuestro grupo control fué del 13,3%.

Diversos autores no encuentran, sin embargo, una relación causal entre los heteromorfismos del 9 y

la infertilidad (23, 118, 179, 207, 249, 267), ya que no hallaron un aumento real de los polimorfismos del par 9 en parejas que presentaban abortos de repetición y esterilidad.

Navarrete, en un estudio realizado en 258 pacientes infértiles, no encuentra diferencias significativas en la presencia de polimorfismos del cromosoma 9 en la población control y en el grupo estudio, aunque en este trabajo sólo se utilizaron medidas morfométricas sin aplicar ningún tipo de índice e incluso en algunos casos no pudieron ser utilizadas técnicas de bandas C y G (179), (tabla XVII). Blumberg en un grupo de mujeres con abortos espontáneos, no encuentra diferencias entre las frecuencias de aparición de polimorfismos en el grupo estudio y en el grupo control de mujeres normales (23), Rosenmann, Heming y Ward, tampoco encuentran diferencias significativas en lo que se refiere a polimorfismos en el grupo estudio de mujeres con abortos de repetición y el grupo control de personas normales. (118, 207, 267). Estos autores llevaron a cabo sus trabajos únicamente en mujeres infértiles y no en ambos miembros de la pareja, por lo que el tipo de muestra no es el adecuado, (tabla XVII).

Tsvetkova, estudió 58 parejas con fallos en la reproducción y 48 parejas fértiles, no encontrando

con técnicas de bandas GTG diferencias significativas en la presencia de los polimorfismos del cromosoma 9 entre ambos grupos, (tabla XVII).

Sin embargo, frente a publicaciones que no encuentran relación entre polimorfismos del cromosoma 9 e infertilidad, existen trabajos que apoyan lo contrario. Ya en 1.973 Gagne (100) y posteriormente Sthal (231), en 1.976 demostraron que la región 9qh es activa en la meiosis I; este hecho estaría relacionado con el apareamiento cromosómico, por tanto, el aumento, transposición o reestructuración de la región 9qh podría ser una de las causas de los abortos de repetición.

En esta época, Boué en 1.973 (27,28) y más tarde, Ford, en 1.978 (88), encuentran que los individuos portadores de polimorfismos en ciertos cromosomas como el 1, 9, 16 e Y, muestran un incremento de la frecuencia de no disyunción meiótica.

Basándose en estos datos, Ford J.H. en 1.982 (86), propone dos hipótesis para explicar el posible papel etiológico de las variaciones de la heterocromatina del par 9 en la infertilidad. La primera hipótesis implica que estas diferencias en la heterocromatina, podrían actuar en el apareamiento cromosómico y como consecuencia, sobre el crosing-

over. La segunda hipótesis plantea que el exceso de heterocromatina podría alterar alguna función celular relacionada con la actividad de la región heterocromatínica. Fruto de esta alteración podría ser la aparición de gametos defectuosos y abortos de repetición.

Por otro lado, estudios realizados por numerosos autores sobre polimorfismos en pacientes infértiles, encuentran una relación entre variaciones de las bandas C y la infertilidad (30, 31, 87, 89, 103, 120, 182, 189, 244, 247, 269).

Ford, J.H., (87, 89), en dos trabajos realizados sobre grupos de mujeres y sus parejas que presentaban dos o más abortos de repetición y/o esterilidad, encontró diferencias significativas en la incidencia de polimorfismos al compararlos con grupos controles de mujeres normales; siendo la frecuencia de polimorfismos del cromosoma 9 superior en las mujeres que presentan infertilidad, (tabla XVII).

Otros autores (30, 120, 182, 189, 247, 269,), encuentran así mismo un mayor porcentaje de polimorfismos del cromosoma 9 al estudiar parejas con abortos de repetición y sin ningún tipo de descendencia y compararlos con parejas normales, observando una diferencia significativa entre la presencia de

heteromorfismos del grupo estudio y del grupo control. Bourroillou no encuentra una diferencia significativa entre ambos grupos, pero el porcentaje de polimorfismos en el grupo estudio 3,43% fué superior al encontrado en el grupo control (931), (tabla XVII).

Tho, en sus trabajos, describe una frecuencia altamente significativa de 9 qh+ en hombres y mujeres infértiles, al compararlos con un grupo control de parejas que no presentaban estas variaciones del cromosoma 9 y además encuentra una mayor incidencia de infertilidad en las parejas portadoras de estos polimorfismos (244), (tabla XVII).

En nuestro estudio encontramos una diferencia significativa ($p < 0,01\%$) de los polimorfismos del cromosoma 9 entre el grupo de pacientes infértiles 39,16% y nuestro grupo control 13,3% , resultados, que están en desacuerdo con los trabajos presentados por Navarrete (179), Blumberg (23), Tsevetkova (249), Rosenmann (207), Haming (118) y Ward (267), ya que estos autores no encuentran una diferencia significativa en la presencia de polimorfismos del cromosoma 9 entre la población de pacientes infértiles y la población normal, (tabla XVII).

Por el contrario, nuestros resultados apoyan las hipótesis propuestas por Ford J.H. (87) basados en

los hallazgos de Gagne (100, 101), Sthal (231), Boué (27, 28) y Ford (88), y concuerdan con los obtenidos por autores como el propio Ford J.H. (87, 88, 89,), Tho (244), Bourroillau (31), Tsenghi (247), Patil (189), Nielsen (182), Weslake (269), Genet (103) y Halbeck (120), en los que parece que la variabilidad de la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9, podría tener un cierto papel etiológico en los abortos de repetición y la infertilidad, (tabla XVII).

b) Infertilidad e inversiones pericéntricas del cromosoma 9.

Actualmente, el posible papel etiológico de las inversiones pericéntricas en general y en concreto, del cromosoma 9, es un tema muy debatido; debido a su gran importancia, intentamos con nuestro trabajo, contribuir a clarificar el papel etiológico de las inversiones del cromosoma 9 en la infertilidad. Nuestros resultados nos demuestran que en el grupo de pacientes infértiles formado por 145 personas, encontramos un 1,3% de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, ambas correspondían a inversiones tipo II; al compararlo con el grupo control, existía diferencia significativa (p inferior a 0,01).

Entre los trabajos realizados sobre este tema, nos encontramos por los llevados a cabo por De la Chapelle (55), Ward (267), Jacobs (128) y Morton (175), que estudiaron individuos que presentaban abortos de repetición e infertilidad. De la Chapelle, en un trabajo realizado en 46 mujeres portadoras de una inversión pericéntrica del cromosoma 9, no encontró diferencias significativas entre éstas y el grupo de control de mujeres que no presentaban la inversión. Jacobs (128) y Morton (175), que estudiaron nueve familias portadoras de inversiones pericéntricas, encontraron una menor fertilidad en los portadores de las



inversiones pericéntricas entre ellas las inversiones pericéntricas del cromosoma 9, aunque la diferencia no fué significativa, concluyendo que dichas inversiones no afectaban a la fertilidad de los individuos portadores de las variantes. Ward (267) realizó sus estudios en 100 parejas que presentaban abortos de repetición, sin encontrar una relación significativa entre inversiones pericéntricas del cromosoma 9 e infertilidad. Sin embargo, existen trabajos en los cuales sí encuentran una relación casual entre inversiones pericéntricas del cromosoma 9 e infertilidad, así Boue (30), en un estudio realizado en 10 familias en las que existía una inversión pericéntrica del cromosoma 9, encuentra una asociación entre inversiones pericéntricas del par 9 e infertilidad.

Ford J.H., en trabajos realizados en 185 varones y 185 hembras, encuentra una frecuencia significativa (p inferior a 0,01) de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en el grupo de pacientes infértiles al compararlos con el grupo control, presuponiendo un papel etiológico de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en la infertilidad (87, 89).

Patil y Lubs, Nielsen y Krag-Olsen, afirman a raíz de sus estudios que los portadores de estas

variantes tendrían aumentado el riesgo de no disyunción y de abortos (143, 182, 190).

Tho, en un estudio realizado en 110 parejas propone que la frecuencia de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 podría ser un acusa de infertilidad y que el cariotipo de los abortos sería fundamental para la determinación de la relación causal entre inversiones pericéntricas y los fallos en la producción (244).

Borroillou en 1.986 realizó un estudio en 2.136 parejas con abortos espontaneos. Encontró un porcentaje de inversiones pericéntricas del 1,54%; aunque éste no era significativo, fue superior al de la población control (31).

Los estudios llevados a cabo en células germinales en meiosis, intentan esclarecer el posible papel de las inversiones del cromosoma 9 en las alteraciones que sufren estas células. Así, en estudios realizados durante la sinapsis (49), el cromosoma 9 bivalente invertido tenía la apariencia de un cromosoma 9 bivalente normal, debido a que la inversión pericéntrica envuelve sólo a la heterocromatina de la constricción secundaria, lugar donde no se realiza el crossing-over con frecuencia. Es por ello que la frecuencia de anasinapsis en el cromosoma 9 bivalente.

podría estar correlacionada con la naturaleza de la cromatina del segmento invertido, ya que a veces no se invierte sólo la heterocromatina, sino también una parte de la eucromatina; con lo cual, durante el zigoteno, podrían ocurrir tres posibilidades de apareamiento para las inversiones pericéntricas: Formación de un asa del cromosoma normal y aparición del invertido; la segunda sería la ausencia de apareamiento en el segmento invertido (238) en las inversiones muy pequeñas; la tercera es la ausencia de apareamiento del segmento no invertido (166) en las inversiones grandes. Esto haría aumentar la frecuencia de gametos desequilibrados y de cigotos inviables (44).

Con respecto a la posible diferencia en la incidencia de la infertilidad en uno u otro sexo en los portadores de inversiones del cromosoma 9, hoy por hoy, no se ha llegado a ninguna conclusión, ya que algunos autores encuentran una mayor incidencia de infertilidad en aquellos varones que presentan una inversión pericéntrica en el cromosoma 9 (87, 165,), mientras otros observan una mayor incidencia en el sexo femenino (222) y sin embargo, autores como Kaiser en un trabajo publicado en 1.984 (134) y Stetten en otro publicado en 1.983 (234), no encuentran diferencias en la incidencia de infertilidad entre ambos sexos.

Nuestros resultados coinciden con los de

estos últimos autores pues no hemos encontrado diferencias significativas en la incidencia de infertilidad entre ambos sexos.

Por otra parte en lo que se refiere al posible papel selectivo de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 sobre la ocurrencia de abortos y de esterilidad, nuestros resultados apoyan dicha teoría al descubrir una mayor frecuencia de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en el grupo estudio de pacientes infértiles que en el grupo control.

TABLA XVII. INCIDENCIA DE POLIMORFISMOS DEL PAR 9; INFERTILES FRENTE CONTROL.

<u>AUTOR</u>	<u>INCIDENCIA</u>	<u>NUMERO DE CASOS</u>		<u>TIPO DE BANDAS</u>
		<u>CONTROL</u>	<u>INFERTILES</u>	
HOLBECK	(P < 0,01)	88	72	G / C
NIELSEN	(P < 0,01)	4.300	4.412	G / C
BOIRROILLOU	(P < 0,01)	----	4.272	G / Q / C
PATIL	(P < 0,01)	4.224	554	G / C
HEMMING	(P > 0,01)	100	100	G / C
FORD J.	(P < 0,01)	30	31	G / C
TSVETKOVA	(P > 0,01)	105	200	G / C
TSENGHI	(P < 0,01)	---	144	G / C
WARD	(P > 0,01)	200	184	G / C
BOUE	(P < 0,01)	---	200	G / C
BLUMBERG	(P > 0,01)	150	184	Q
FORD J.H	(P < 0,01)	---	370	G
THO	(P < 0,01)	---	220	C / G
NAVARRETE	(P > 0,01)	258	258	C / G / Q
PRESENTE	(P < 0,01)	150	145	G

2. Pacientes que presentan una inversión pericéntrica del cromosoma 9.

a) Discusión de los resultados citogenéticos.

Para el diagnóstico de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9, pueden utilizarse distintas técnicas de bandas: "G", "Q", "C", "G11"; en el estudio de nuestra población hemos empleado las técnicas de bandas "G" y "C", que en la actualidad son las más utilizadas por los diferentes autores (18, 31, 35, 86, 89, 92, 109, 111, 176, 196,), sobre todo las técnicas de bandas "C", ya que ponen de manifiesto de forma concreta la región heterocromática.

Con respecto a los distintos tipos de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, podemos encontrarnos con tres tipos de variantes:

1. Inversión completa o tipo I. Consiste en el desplazamiento total de la heterocromatina desde el brazo largo del cromosoma 9 al brazo corto (176); es el tipo de inversión menos frecuente en los estudios de poblaciones, pero por ser el menos frecuente, es del que más casos individuales hay publicados (134) (tabla XVIII).

En nuestro estudio, la inversión completa o de tipo I, se observó en dos casos un padre y su hijo varón correspondientes al grupo de inversiones pericéntricas de origen familiar, lo que coincide con la mayoría de los casos publicados, pues las inversiones de tipo I parecen ser más frecuentes en el grupo familiar que en el de novo, quizás también debido a que se diagnostican más inversiones de origen familiar que de novo. (30, 161, 165, 197, 219, 250, 251,) (tabla XVIII)

2. Inversiones parciales o de tipo II. En ellas, $1/3$ de la heterocromatina está localizada en el brazo corto del cromosoma 9 (176). Este es el tipo de inversión más frecuente en nuestro estudio, pues de los 21 casos de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, 19 fueron inversiones parciales tipo II. Ello concuerda con las frecuencias dadas, ya que son este tipo de inversiones las más frecuentes en la población (134, 176,).

3. Cuando menos de $1/3$ de la heterocromatina total está situada en el brazo corto del cromosoma 9, tenemos el tipo III de inversiones pericéntricas (176). En nuestro estudio, no hemos observado ningún caso de este tipo de inversión pericéntrica. En la literatura revisada, tan sólo hemos encontrado dos casos publicados por Kaiser (134), (tabla XVIII).

Como dijimos anteriormente, el tipo II de inversiones pericéntricas ha sido el de mayor frecuencia, tanto en el grupo de inversiones pericéntricas de origen familiar como en el de novo. Estas inversiones, siguiendo las teorías de Gosden, publicada en 1.981 (106), y Mattei, en el mismo año (164), se deberían principalmente a la particular heterocromatina centromérica, del cromosoma 9, ya que ésta estaría formada por dos regiones: Una heterocromatina centromérica similar a la de otros cromosomas, y que aparece sólo con técnicas de bandas "C", y la heterocromatina de la constricción secundaria que se pone de manifiesto por medio de bandas "C" y "G11". Por tanto, que las inversiones parciales tipo II, estarían compuestas por la heterocromatina centromérica; sin embargo, las inversiones tipo I que aparecen en nuestro estudio, al ser éstas inversiones totales, estarían formadas tanto por la heterocromatina centromérica como por la heterocromatina de la constricción secundaria del cromosoma 9.

Llama la atención en nuestro grupo de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, la gran incidencia de éstas en el sexo masculino, el 81%, ($p < 0,01$), en relación al femenino. Sin embargo, sólo hemos encontrado en la literatura revisada, el trabajo de

Wang en el que hace referencia a las frecuencias de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en los dos sexos y no encuentra ninguna diferencia significativa (265).

El número de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 de origen familiar en nuestro trabajo, es mayor que el de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 de novo; quizás se deba a que la detección de este último tipo de inversiones pericéntricas es difícil, puesto que, en los casos que no presentaban ningún tipo de patología, no hay razón para realizar un estudio genético.

Los pacientes que componen el grupo de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 de novo llegaron a nuestra consulta por las razones siguientes: 2 eran niños con alteraciones clínicas de origen desconocido, 2 sufrían esterilidad de origen desconocido, motivo por el cual se les realizó el estudio cromosómico, finalmente 3 eran padres de niños malformados. Estos datos coinciden con los presentados por autores como Bourrillou (31), Guichaoua (14), grupo de Genitistas Franceses (109) y Kaiser (133, 134, 135) (tabla XVIII).

Con lo cual, y teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, la mayoría de los casos que

conforman este grupo, se intentan relacionar en la actualidad con numerosas alteraciones clínicas de origen desconocido, o se detectan al azar, con lo cual, en este tipo de inversiones pericéntricas es difícil en general llegar a una evaluación objetiva de su importancia clínica.

TABLA XVIII. TRANSMISION Y TIPOS DE INVERSIONES PERICENTRICAS DEL CROMOSOMA 9

AUTOR	No. CASOS	TIPOS DE INVERSION			FAMILIAR	DE NOVO
		I	II	III		
MUTTON	1	1	-	-	1	-
BOWEN	1	-	1	-	1	-
SCHINZEL	1	1	-	-	1	-
DE LA CHAPPELLE	6	6	-	-	5	-
BOUE	10	10	-	-	10	-
BOURRILLOU	33	2	31	-	32	1
FAED	1	-	-	-	1	-
KAISER	16	13	1	2	16	-
GUICHAOVA	1	-	1	-	-	1
MATTEI	2	2	-	-	2	-
MARTIN	4	4	-	-	4	-
MATTHEWS	4	3	1	-	-	-
PAULI	1	1	-	-	1	-
TURBEAN	5	5	-	-	-	-
GRUPO DE GENET. FRANC.	15	-	-	-	9	6
PRIEST	2	-	-	-	2	-
THO	12	-	12	-	12	-
PRESENTE	21	2	19	-	13	8

b) Implicaciones clínicas de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9.

1. Riesgo de aneuploidías en las inversiones pericéntricas del cromosoma 9.

La posible correlación entre inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y distintas alteraciones cromosómicas, ha sido contemplada por distintos autores; para Nielsen (182) hay un mayor riesgo de tener hijos con alteraciones cromosómicas en los portadores de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, debido a la maldisyunción, siendo el riesgo entre un 3,6% y un 7,3% en los portadores de estas inversiones siendo el 0% en el grupo de no portadores; por otra parte, Kaiser (134), Ford (86), Boué (30), Pauli (195) y Ayrál (16), encuentran una correlación entre la presencia de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y diferentes aberraciones cromosómicas tales como trisomías 21, trisomía 8, deleciones (Xq) y trisomías 9. Verma (257), Wang (265), Bourroillou (31), entre otros, apoyan en realidad a los anteriores autores ya que observan una posible implicación de este tipo de inversiones en la etiología de la trisomía 21.

Sin embargo los trabajos publicados por Martin (162) Schinzel (219), Degenbert (53), Emanuel (72), Mayer (166), los cuales al estudiar la posible

correlación entre las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y la presencia de alteraciones cromosómicas diversas, no encontraron diferencias significativas entre la población control y el grupo estudio de pacientes portadores de la inversión pericéntrica del cromosoma 9.

En una de las últimas revisiones realizadas sobre el tema, por el Grupo de Genitistas Franceses (109), los autores concluyen, que probablemente en el caso concreto de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9, éstas no predisponen a anomalías cromosómicas, lo cual se encuentra de acuerdo con los resultados obtenidos en nuestro trabajo, ya que nuestro grupo estudio de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en los 9 casos en que han tenido descendencia, no han tenido hijos con aberraciones cromosómicas hasta el momento del estudio, aunque realmente es todavía una casuística muy escasa para llegar a conclusiones definitivas.

2. Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y malformaciones congénitas.

En nuestro grupo estudio, 10 de los 21 casos de inversiones, fueron diagnosticadas en niños que presentaban algún tipo de anomalía congénita y a través de ellos, se llegaron a diagnosticar gran parte de las

inversiones de etiología familiar y de novo.

Las malformaciones congénitas que se encontraron con mayor frecuencia en la muestra, fueron microcefalia, alteraciones esqueléticas, alteraciones auriculares, talla baja y alteraciones oculares.

Estos resultados coinciden con el trabajo publicado por Kiss (138), que observó una asociación entre las inversiones pericéntricas y pacientes que presentaban signos dismórficos; Kaiser (133, 134, 135) encuentra un número superior al esperado de padres portadores de una inversión pericéntrica del cromosoma 9, en una muestra de niños afectados de malformaciones congénitas.

El Grupo de Genetistas Franceses (109) en su última revisión sobre el tema, encuentra que el 24 % de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 provienen de niños afectados de malformaciones congénitas, presentando alguno de los padres, también la inversión.

En la actualidad, no se ha podido relacionar ningún signo clínico específico ni anomalía congénita con los portadores de esta variante cromosómica por lo que no se pueden diferenciar los niños portadores de los demás niños, como referencia para la realización de estudios cromosómicos.

Por tanto, no es posible, hoy en día, diagnosticar estas variantes cromosómicas del cromosoma 9 por medio del exámen clínico del paciente.

3. Inversiones pericéntricas del cromosoma 9 como marcador familiar.

Desde que en 1.972 y 1.973 Aula, Saksella y Mutton proponen la utilización de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en los estudios familiares, de paternidad, numerosos trabajos apuntan hacia esta opinión (14, 177). Así Wahrman y De la Chapelle en sus estudios realizados observaron una segregación preferencial del cromosoma 9 invertido (55, 262). Por otra parte, Viegas encuentra que el 75% de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 en gemelos, aparecen en gemelos monocigóticos, mientras que en los dicigóticos sólo era el 25% restante (260).

Martin y Priest, en estudios familiares de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, en dos familias pudieron comprobar la presencia de la inversión en todos los miembros que la componían (161, 197).

Los resultados de nuestra población, nos demuestran que la segregación de las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 es preferencial en la descendencia de los portadores de la inversión, ya que

en el grupo de inversiones pericéntricas del par 9 de origen familiar, de los 13 casos que componen este grupo, 8 de ellos heredaron la inversión de sus progenitores.

Por lo tanto, podíamos considerar teniendo en cuenta nuestros resultados, al cromosoma 9 invertido como un marcador familiar y por consiguiente, teniendo en cuenta, la incidencia de estas inversiones pericéntricas en la población general, podríamos utilizar estas inversiones para la determinación de la paternidad.

CONCLUSIONES
=====

CONSIDERACIONES GENERALES.
=====

1. La aplicación sistemática de las técnicas de bandas G y C, es definitiva para una correcta identificación tanto de los polimorfismos, como para reconocer el tipo exacto de inversión pericéntrica del cromosoma 9.

2. A pesar de la complejidad que supone establecer un índice de medida de polimorfismos, opinamos que a diferencia de los utilizados por otros autores, el índice 16p es el más objetivo y preciso para el estudio de los polimorfismos del cromosoma 9.

3. La clasificación utilizada por nosotros para las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 es la propuesta por Hansmann, debido a que la consideramos la más exacta de las descritas.

GRUPO CONTROL.
=====

4. El valor medio de nuestros estudios sobre la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9, fué de nivel 2, coincidiendo con las cifras dadas por Patil y Lubs para la población normal que no presentaban polimorfismos del cromosoma 9.

5. La incidencia de polimorfismos del cromosoma 9 ha sido del 13,3%, muy semejante a la encontrada por otros

autores en la población caucasiana.

6. En el presente grupo, no hemos encontrado inversiones pericéntricas del cromosoma 9, lo cual está en consonancia con las frecuencias de un 0,4% a un 0,5%, observadas por algunos autores, aunque marcadamente inferior respecto a otros estudios realizados.

GRUPO ESTUDIO.

=====

I.GRUPO DE PACIENTES QUE CLINICAMENTE PRESENTAN
INFERTILIDAD O ESTERILIDAD.

7. El 39,16% de los individuos que componen este grupo presentan polimorfismo del cromosoma 9.

8. Existe una relación significativa entre la incidencia de polimorfismos en el grupo estudio de pacientes infértiles y el grupo control (p inferior a 0,01), siendo más elevada en el grupo estudio.

9. Ante los datos obtenidos por nosotros, parece ser que la variabilidad de la heterocromatina yuxtacentromérica del cromosoma 9, puede tener un papel etiológico en la infertilidad.

10. La incidencia de inversiones pericéntricas del cromosoma 9 ha sido del 1,3%.

11. La incidencia de inversiones pericéntricas es significativamente mayor que en el grupo control (p inferior a 0.01).

12. Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 tengan un posible papel selectivo en la aparición de infertilidad.

II. GRUPO DE PACIENTES QUE PRESENTAN UNA INVERSION PERICENTRICA DEL CROMOSOMA 9.

13. Destacamos en nuestro estudio la elevada incidencia en el sexo masculino de inversiones pericéntricas del cromosoma 9, siendo significativamente mayor (p inferior a 0,01) que el femenino.

14. No existe en nuestro estudio ningún caso de aneuploidía en la descendencia de este grupo, a pesar de que está descrito que las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 favorecen la aparición en la descendencia de aneuploidías diversas.

15. En nuestro estudio existe una asociación significativa (p inferior a 0,01) entre inversiones pericéntricas del cromosoma 9 y distintas malformaciones congénitas, aunque hoy en día no es posible diagnosticar estas variantes del cromosoma 9 por medio del examen clínico del paciente.

16. Hemos encontrado que las inversiones pericéntricas del cromosoma 9 se segregan de forma preferencial en la descendencia de los portadores de la misma significación (p inferior a 0,01).

17. Podemos considerar finalmente, al cromosoma 9 invertido como un marcador familiar dado que el porcentaje de inversiones pericéntricas de dicho cromosoma en la población general es pequeño y cuando aparece en la descendencia se puede utilizar para determinación de paternidad.

I C O N O G R A F I A
=====

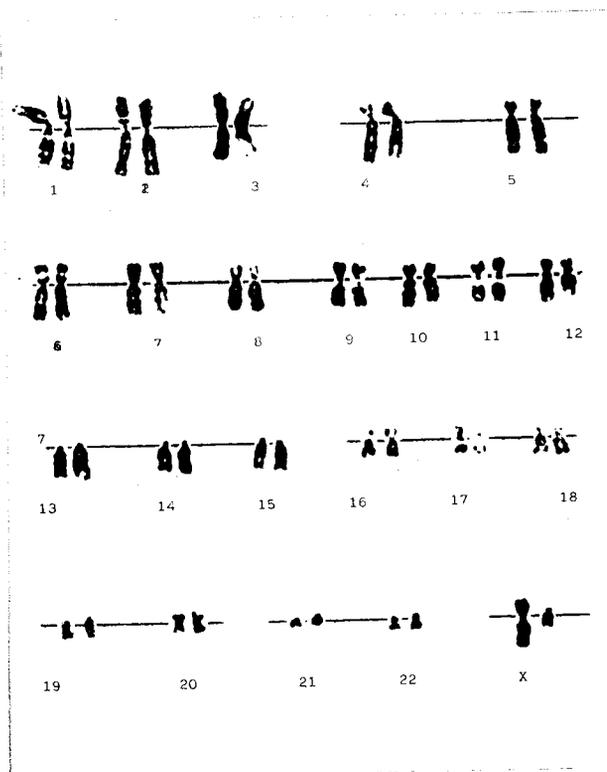


Fig. 1. Cariotipo del grupo central sin polimorfismos del cromosoma 9. Fórmula cromosómica 46,XY, Bandeo GTG.

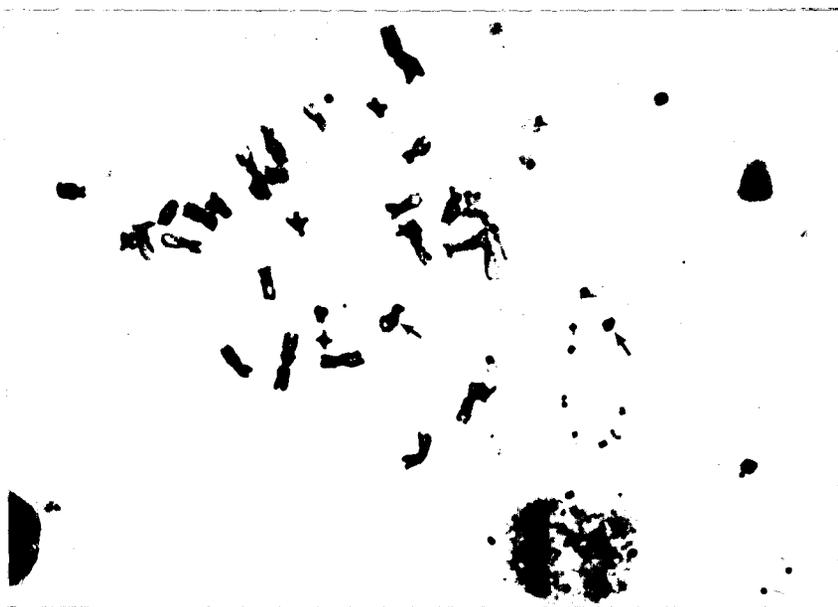


Fig. 2.- Metafase completa del grupo control sin polimorfismo del cromosoma 9. Fórmula cromosómica 46,XY Bando CBG.



Fig. 3.- Metafase completa con aumento de heterocromatina en uno de los cromosomas del par 9. Fórmula cromosómica: 46,XX,9q+. Bando GTG.



Fig. 4.- Metafase completa con aumento de la heteriocromatina en uno de los cromosomas que forman el par 9. Fórmula cromosómica: 46,XY,9qh+. Bando CBG.

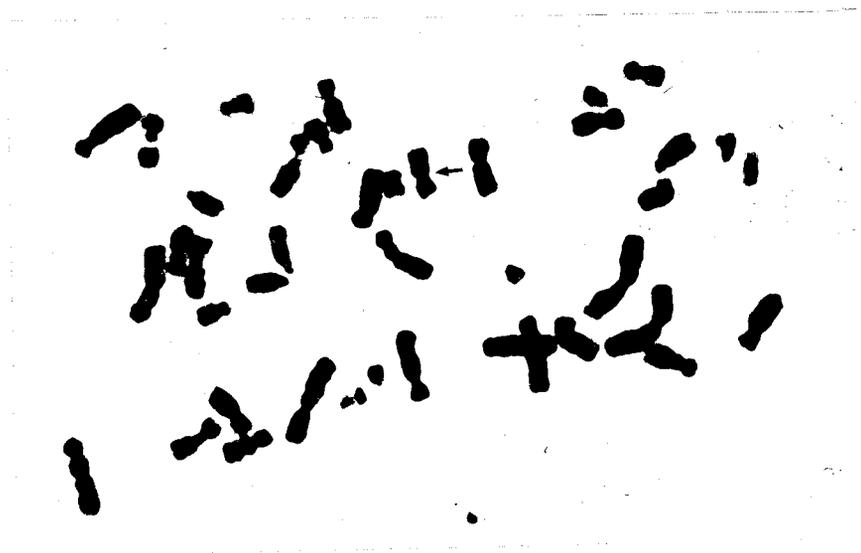


Fig. 5.- Metafase completa con disminución de la heterocromatina en uno de los cromosomas del par 9. Fórmula cromosómica: 46,XY,9qh-. Bando GTG.



Fig. 6.- Metafase completa con disminución de la heterocromatina en uno de los cromosomas del par 9. Fórmula cromosómica: 46,XY,9qh-. Bando CBG.

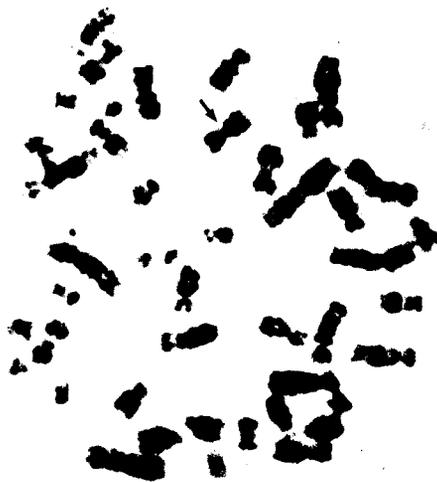


Fig. 7.- Metafase completa con inversión pericéntrica del cromosoma 9, tipo I. Fórmula cromosómica: 46,XY;inv(9). Bando CBG.

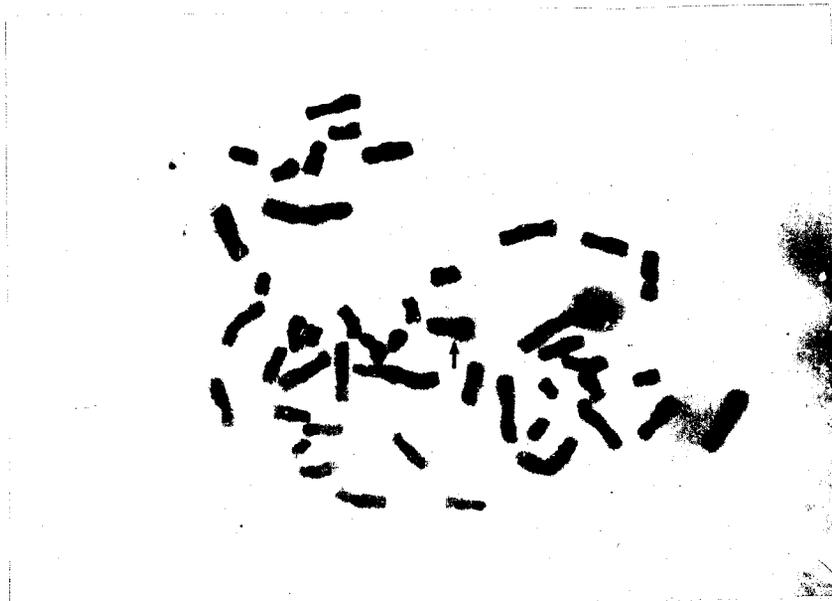


Fig. 8.- Metafase completa con inversión pericéntrica del cromosoma 9 tipo I. Fórmula cromosómica: 46,XY,inv(9). Bando CBG.

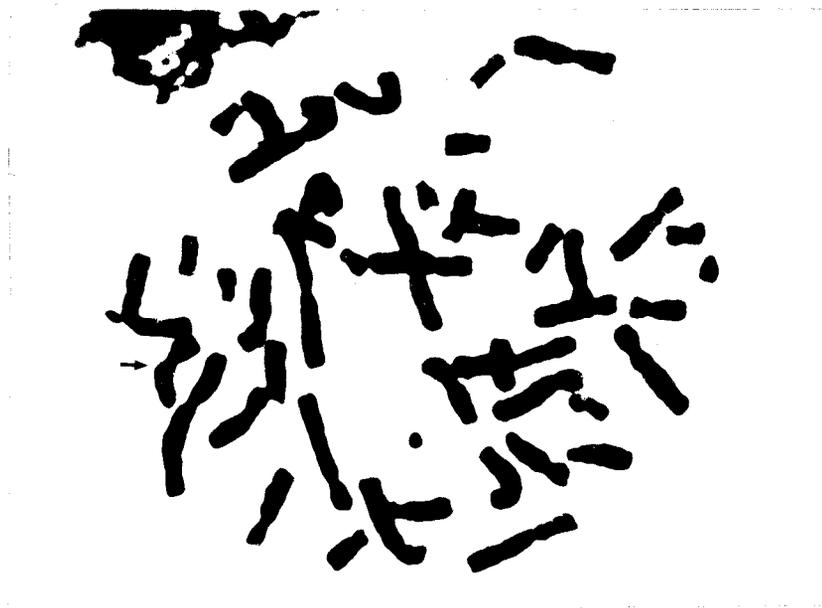


Fig. 9.- Metafase completa con inversión pericéntrica del cromosoma 9 tipo II. Fórmula cromosómica: 46,XY,inv(9). Bando GTG.



Fig. 10.- Metafase completa con inversión pericéntrica del cromosoma 9 tipo II. Fórmula cromosómica: 46,XY,inv(9). Bando CBG.

BIBLIOGRAFIA
=====

1. Abe, T., Morita, M., Kawai, K.: Partial Tetrasomy 9 (9pter --> 9q 20 ó 21) due to an extra isodicentric chromosome.
Ann. Genet. (Paris), 20: 111-120, 1.977.
2. Abe, R., Sandberg, A.A.: Significance of anomalies involving chromosomal segment 11 q 22-25 in acute leukemia.
Cancer. Genet. Cytogenet., 13: 121-127, 1.984.
3. Abercrombie, M., Hickman, C.J., Johnson, M.L.: Diccionario de Biología. Editorial Labor, S.A., 1.970.
4. Aftimos, S.F., Hoo, J.J., Parslow, M.I.: Partial trisomy 9 q due to maternal 9/17 translocation.
Am. J. Dis. Chile, 134: 848-850, 1.980.
5. Albers, B., Bray, D., Lewis, J., Martin, R., Roberts, K., y Watson, D.J.: Biología molecular de la célula. Ediciones Omega, 1.986.
6. Alfi, O.S., Dannel, G.N., Allderdice, P.W.: The 9p-syndrome.
Ann. Genet., 19: 11-16, 1.976.
7. Akatsuka, A., Nishiya, O., Kitagawa, T.: Trisomy 9 mosaicism with punctate mineralization in the developing cartilages.
Eur. J. Pediat., 131: 271-275, 1.979.

8. Angell, R.R., Jacobs, R.A.: Lateral asymmetry in human constitutive heterochromatin.
Chromosoma, 51: 301-310, 1.975.
9. Anneren, G., Sedin, G.: Trisomy 9 syndrome.
Acta Paediatrica Scand., 70: 125-128, 1.981.
10. Arrighi, F.E., Hsu, T.C.: Localization of heterochromatin in human chromosomes.
Cytogenet. Cell. Genet, 10: 81-86, 1.971.
11. Atkin, N.B.: Chromosome 1 heteromorphism in patients with malignant disease.
A constitutional marker for high-risk group?. Br. Med. J., 1: 358, 1.977.
12. Atkin, N.B., Baker, M.C.: Pericentric inversion of chromosome 1: Frequency and possible association with cancer.
Cytogenet. Cell. Genet, 19: 180-184, 1.977.
13. Atkin, N.B., Pickthall, V.J.: Chromosome 1 in 14 ovarian cancers: Heterochromatin variants and structural changes.
Hum. Genet, 38: 25-33, 1.977.
14. Aula, P., Saksella, P.: Banding characteristics of paracentric marker constrictions in human chromosomes.
Hereditas, 70: 309, 1.972.

15. Avery, A., Sandberg, A.A.: The chromosomes in human cancer and leukemia. Ed. Elsevier, North Holland, 1.980.
16. Ayrat, D., Raudrant, D., Charleux, J.P., Noel, B.: Chromosome 3 long arm duplication (dup 3q) in a new-born whose father bears a chromosome 9 pericentric inversion. *Pediatrie (Lyon)*, 39/8; 681-690, 1.984.
17. Berg, L.M., Smith, G.F., Riddler, M.A.C.: De longe syndrome: Report of a case with an unusual karyotype. *J. Med. Genet.*, 4: 184, 1.976.
18. Berg, R., Bernheim, A., Coniat, M., Vecchione D.: C-banding studies in various blood disorders. *Cancer Genet Cytogenet*, 1: 95-102, 1.979.
19. Berger, R., Berheim, A., Kristorffersson, V.: Differences in human C-band pattern between two european population. *HEREDITAS*, 99/I: 147-149, 1.983.
20. Berkaloff, A., Bourguet, J., Favard, N. y Lacroix, J.C.: Chromosomes. En: *Biologie et physiologie cellulaires IV.*, ed. Hermann, Paris, 1.981.
21. Bernstein, R., Pinto, M.R., Morcon, S., Macdougall, L.G.: Kariotype analysis in acute nonlymphocytic

- leukemia (ANLL): comparison whit ethnic group, age, morphopalogy, and survival.
Cancer Genet. Cytogenet., 6: 187-199, 1.982.
22. Blank, C.E., Colver, D.C.B., Potter, A.M.: Physical and mental defects of chromosomal origin in four individuals of the same family. Trisomy for the short arm of 9. Clin. Genet., 7: 261-273, 1.975.
23. Blumberg, B.D., Shulkin, J.D., Rotter, J.I.: Minor chromosomal variants and major chromosomal and anomalies in couples whit recurrents abortions. AM. J. Hum. Genet., 34/6: 948-960, 1.982.
24. Bobrow, M., Mandan, K., Pearson, P.L.: A new Technical staining.
Nature New Biol., 238: 122-124, 1.972.
25. Boer, P., Branje, H.E.B.: Association of the sex chromosomes during first meiotic prophase and its significance for impairment of spermatogenesis.
Chromosome, 73: 369-379, 1.979.
26. Bostock, C.J. , Summer, A.T.: The Eukaryotic Chromosome. North-Holland, Amsterdam, 1.978.
27. Boué, J., Boué, A.: Anomalies chromosomiques dans les avortments spontaneus.
In: Boué and Thibault (eds.) les accidents chromosomiques. The reproduction, Inserm.: 29-55,

1.973.

28. Boué, J., Boué, A.: Chromosomal analysis of two consecutive abortues in each of 43 women.

Humagenetik, 19: 275-280, 1.973.

29. Boué, J., Arnold, L.D., Taillemit, J.L.: Chromosome 9 and reproductive failure in couples with spontaneous abortions.

Hum. Genet., 74: 402-411, 1.986.

30. Boué, J., Taillemit, J.L., Hazaei-Massieux, P., Leonard, C. y Boué, A.: Association of pericentric of chromosome 9 and reproductive failure in ten unrelated families.

Hum. Genet., 30: 217-224, 1.975.

31. Bourroillou, G., Colombies, P., Dastugue, N.: Chromosome studies in 2136 couples with spontaneous abortions.

Human Genet., 74: 399-401, 1.986.

32. Bowen, P., Ying, K.L., Chung G.S.H.: Trisomy 9 mosaicism in a newborn infant with multiple malformations.

J. Pediatr., 85: 95, 1.974.

33. Brown, S.W.: Heterochromatin.

Science, 151: 417-425, 1.966.

34. Brown, T., Robertson, F.W., Dawson, B.M., Hanlin, S.J., Page, B.M.: Individual variation of centric heterochromatin in man.
Hum. Genet., 55: 367-373, 1.980.
35. Buckton, K.E., O'Riordan, M.L., Jacobs, P.A., Robinson, J.A., Hill, R., Evans, H.J.: C and Q band polymorphisms in the chromosomes of three human populations.
Ann. Hum. Genet., 40: 99-111, 1.976.
36. Bujdoso, G., Somogyi, E., Bergou, V.: The use of chromosomes in paternity actions.
Forensic Sci. Int., 2511: 35-43, 1.984.
37. Buys, C.H.C.M., Gouw, W.L., Blenkers, J.A.M., Van Dalen, C.H.: Heterogeneity of human chromosome 9 constitutive heterochromatin as revealed by sequential Distamycin A/DAPI staining and C-banding.
Hum. Genet., 57: 28-30, 1.981.
38. Caspersson, T., Faber, S., Foley, G.E., Kudynowski, J.: Banding methods.
Exp. Cell. Res. 49: 219-222, 1.968.
39. Caspersson, T., Zench, L.: Eds. "Chromosome Identification". Academic Press., New York., 1.973.
40. Cavalli, I.J., Mattevi M.S., Erdman, B.: Quantitative analysis of C bands in chromosome 1, 9,

16 and Y in caucasians and japanese males.

Hum. Hered., 34/1: 62-64, 1.984.

41. Cavalli, I.J., Mattevi, M.S., Erdtman, B.:
Equivalence of the total constitutive
heterochromatin content by an interchromosomal
compensation in the C band sizes of chromosomes 1,
9, 16 and Y caucasians and japanese individuals.
Human. Hered., 35/6: 379-387, 1.985.

42. Centerwall, W.R., Miller, K.S., Reeves, L.M.:
Familial "partial 9p" trisomy: six cases and four
carriers in three generations.
J. Med. Genet., 13: 57-61, 1.976.

43. Conferencia de Chicago: Standardrization in human
cytogenetics. Birth Defec.
Original Article, 11: 1.966.

44. Conferencia de Paris: Standardrization in human
cytogenetics.
Citogenetics, 11: 317-325, 1.972.

45. Cooper, K.W.: Cytogenetic analysis of major
heterochromatic elements (especially Xh and Y) in
Drosophila melanogaster and the theory of
"heterochromatin".
Chromosoma, 10: 535, 1.959.

46. Cooper, H.L., Hernits, R.: A familial chromosome

- variant in a subject with anomalous sex differentiation
Amer. J. Hum. Genet., 15: 465, 1.963.
47. Crandall, B.F., Carrel, R.E., Sparkes, R.S.:
Chromosome findings in 700 children referred to a
psychiatric clinic.
J. Pediatr., 80: 62-68, 1.972.
48. Croci, G., Frassi, C.: Tetrasomy 9p confirmed by
GALT.
J. Med. Genet., 20/5: 369-399, 1.983.
49. Cuichauova, M.R., Delafontaine, D., Taurelle, R.:
Loop formation and synaptic adjustment in a human
male heterozygous for two pericentric inversions.
Chromosoma, 93: 313-320, 1.986.
50. Chamla, Y., Bilberssi, C., Micheau, M.: Partial 9q
trisomy associated with a 9, 21 translocation.
Hum. Genet., 38: 245-248, 1.977.
51. Dagna Bricarelli, F., Hagnini, M., Arslandi, A.:
Expression of GALT in two unrelated 9p-patients.
Evidence for assignment of GALT locus to the 9p 21.
Hum. Genet., 59: 112-114, 1.981.
52. Daniel, A.: Structural differences in pericentric
inversions. Application to a model of risk of
recombinants.
Hum. Genet., 56: 321-328, 1.981.

53. Degenhardt, K.H., Geisler, M., Weisse, K., Grubisic, A.: The mental retardation syndrome G 22. Am. J. Hum. Genet., 27: 32A, 1.975.
54. De Grouchy, J., Turleau, C., Roubin, M., Charin Colin,: Chromosomal evolution of man and the primates (Pantrogloodites, Gorilla gorilla, Pongo pigmaties). In chromosome identification technique and application in biology and medicine. Eds. T. Caspersson, L., Novel Foundation, Stockholm. New York: Academic Press. 1.973.
55. De la Chapelle, A., Schröder, J., Stenstrand, K., Fellmann, J., Herva, R., Saarni, M., Anttolainen, I., Tallila, I., Tervilä, L., Husa, L., Tallquist, G., Robson, E.B., Cook, P.J.L., Sanger, R.: Pericentric inversions of human chromosomes 9 and 10. Am. J. Hum. Genet., 26: 746-766, 1.974.
56. De Robertis, E.D.P., De Robertis, E.M.F.: Biología celular y molecular. Eds. "El Ateneo" S.A., 1.981.
57. Dinno, N.D., Silvey, G.L., Weisskopf, B.: 47,XY, T (9p+;11q+) in a male infant with multiple malformation. Clin. Genet., 6: 125-131, 1.974.
58. Donahue, R.P., Bias, W.B., Renwick, J.H., Mckusick,

- V.A.: Probable assignment of the Duffy blood group locus to chromosome 1 in man.
U.S. Nat. Acad. Sci., 61: 949, 1.968.
59. Donlon, T.A., Magenis, R.E.: Structural organization of the heterochromatic region of human chromosome 9.
Chromosoma, 84: 353-363, 1.981.
60. Drets, M.E., Shaw, M.W.: G banding.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 68: 2073-2077, 1.971.
61. Dutrillaux, B.: Chromosomal evolution in primates: tentative phylogeny from *Microcebus murinus* (Prosimian) to man.
Hum. Genet., 48: 251-314, 1.975.
62. Dutrillaux, B.: Sur la nature et l'origine des chromosomes humains.
Monographies des Annales de Génétiques, Paris.
L'expansion scientifique Française, 1.975.
63. Dutrillaux, B., Arias, A., Viegas-Pequignote, E.: Modifications chromosomiques dans l'évolution et en pathologie: analyses des inversions pericentriques.
C.R. Soc. Biol., 174: 730-740, 1.980.
64. Dutrillaux, B., Couturier, J., Sabatier, L., Mulers, M., Prieur, M.: Inversions in evolution of man and closely related species.

- Ann. Genet., 29/3: 195-202, 1.986.
65. Dutrillaux, B., Laurent, C., Roberts, J.M.:
Chromosomal aspects of human male sterility.
Nobel symp, 23: 205-208 , 1.973.
66. Dutrillaux, B., Laurent, C., Robert, J.M., Lejeune,
J.: Inversion péricentrique, inv(10), chez la mère
et aneusomie de recombinaison, inv(10), rec(10),
chez son fils.
Cytogenet. Cell Genet, 12: 245-253, 1.973.
67. Dutrillaux, B., Lejeune, J.: Hebd. Sceances Acad.
Sci., 272: 2638-2640, 1.971.
68. Dutrilleaux, B., Rethoré, M.O., Prieur, M.,
Lejeune, J.: Analyses de la structure fine det
chromosomes du Gorilla (Gorilla, gorilla)
comparaisons avec Homo sapiens et Pan troglodytes.
Humangenetik, 20: 343-354, 1.973.
69. Dzida, J., Hubner, H.: The use of human chromosome
polymorphism in forensic paternity investigation I
Human variante (Pols).
Arch. Med. Sadow. Kryminol., 32/1-2: 25-31, 1.982.
70. Egozcue, J.: Variantes y anomalías cromosómicas en
Egozcue, J., Ballesta, F., Genética Médica. Ed.
Espaxs, Barcelona., 1.978.

71. Eiberg, H.: New selective Giemsa technique for human chromosomes, Cd staining.
Nature, 248: 55, 1.974.
72. Emanuel, B.S., Zackai, E.H., Aronson, M.M., Mellmann, W.J., Moorhead, P.S.: Abnormal chromosome 22 and recurrence of trisomy 22 syndrome.
J. Med. Genet., 13: 501-506, 1.976.
73. Erdtmann, B.: Aspect of evaluation, significance and evolution of Human C-band heteromorphis.
Hum. Genet., 61: 281-294, 1.982.
74. Erdtmann, B., Salzano, F.M., Mattevi, M.S.: Size variability of the Y chromosome distal C-band in Brazilian, Indian and Caucasians.
Ann. Hum. Biol., 8: 415-424, 1.981.
75. Erdtamann, B., Salzano, F.M., Mattevi, M.S., Flores, R.Z.: Quantitative analysis of C-bands in chromosomes 1, 9 and 16 of Brazilian, Indians and Caucasians.
Hum. Genet., 57/1: 58-63, 1.981.
76. Estape, J.: Oncología médica, Ed. Marín, 1.977.
77. Eydoux, P., Junien, C., Despaise, S.: Genedosage effect for Galt in 9p trisomy and in 9p tetrasomy with an improved technique for GALT determination.
Hum. Genet., 57: 142-144, 1.981.

78. Faed, M., Robertson, J., Brown, S.: Pure partial trisomy for the long arm of chromosome 9.
J. Med. Genet., 13: 239-242, 1.976.
79. Feingold, M., Atkins, L.: A case of trisomy 9.
J. Med. Genet., 10: 184-187, 1.973.
80. Ferguson-Smith, M.A.: Autosomal polymorphis. In Medical Genetics today.
Birth defects: Original articles series, Vol X No. 40 (1.974) (Ed. D. Bergman),. National Foundation-March of Dimes. Baltimore, London: Johns Hopkins University Press (1.974).
81. Ferguson-Smith, M.A., Ferguson-Smith, M.E., Ellis P.M., Dikson, M.: The sites and relative frequencies of secondary constrictions in human somatic chromosomes.
Cytogenetics, 1: 325, 1.962.
82. Fineman, R.M., Hech, F., Ablow, R.C.: Chromosome 3 duplication q, deletion p syndrome.
Pediatrics, 61: 611-618, 1.978.
83. Fitzgerald, P.H.: Differential contraction of large and small chromosomes in culture leucocytes of man.
Cytogenetics, 4: 65-73, 1.965.
84. Fleming, W.: Zellsubstanz, kern und Zellteilung. Ed. Vogel, Leipzig, 1.879.

85. Fogle, T.A., McKenzie, W.H.M.: Cytogenetic study of a large black kindreds: inversions, heteromorphisms and segregation analysis.
Hum. Genet., 55: 345-352, 1.980.
86. Ford, J., Callen, D., Jahnke, A., Roberts, C.: Within pair differences of Human chromosome 9 C-bands. Associated with reproductive loss.
Hum. Genet., 61: 360-363, 1.982.
87. Ford, J.H.: Chromosomal abnormalities and variants significance in human male infertility.
Infertility 1/2: 167-184, 1.978.
88. Ford, J.H., Lester, P.: Chromosomal variants and nondisjunction.
Cytogenet. Cell. Genet., 21: 300-303, 1.978.
89. Ford, J.H., Roberts, C., Jahnke, A.: Interactions between C-bands and chromosomes 1 and 9 in recurrent reproductive loss.
Hum. Genet., 63: 58-62, 1.983.
90. Foren, J., Gregozova, S, Goetz, P.: XY pair associates with synaptonemal complex of autosomal male sterile translocations in pachytene spermatocytes of mouse.
Chromosoma 82: 41-53, 1.981.
91. Fraisse, J., Lauras, B., Ooghe, M.J.: A propos d'un

- cas de chromosome 9 en anneau.
Ann. Gent. 17: 175-180, 1.974.
92. Frohlich, G.S.: Delineation of trisomy 9.
J. Med. Genet. 19: 316-317, 1.982.
93. Fryman, M., Sabtai, F., Hallbrecht, J., Elian, E.:
Normal psychomotor development in a child with
mosaic trisomy and pericentric inversion of
chromosoma 9.
J. Med. Genet., 24/3: 182-183, 1.981.
94. Fryns, J.P., Azon, M., Duliegher, H.: A malformed
newborn with 9p and 4q trisomy.
Ann. Gennet. 24: 48-50, 1.981.
95. Fryns, J.P., Smects, E., Eggermont, E.: Partial
trisomy 9q- in a polymalformed newborn infant.
Karyotype 47, XX, +del (9) (q33).
Acta Pediatr. Belg. 31: 237-240, 1.978.
96. Fugita, H., Shimazaki, M., Ta Keuchi, T.: 47,+(9q-)
in unrelated three children with plasma growth
hormone deficiency.
Hum. Genet. 31: 271-282, 1.976.
97. Funderburg, S.J., Klisak, I., Sparkes, R.S.,
Westlake, J.: C-band polymorphisms-comparison
between trisomy 21 cases and mentally retarded
controls.

- Am. J. Med. Genet., 5: 265-269, 1.980.
98. Funderburg, S.J., Sparkes, R.S., Klisak, I.: The 9p- syndrome.
J. Med. Genet. 16: 75-79, 1.979.
99. Gabriel-Robez, O., Ratompanizina, C., Rumpler, Y., Le Marec, B., Luciani, J.M., Guichaoua, H.R.: Synapsis and synaptic adjustment in an infertile human male heterozygous for a pericentric inversion in chromosome 1.
Hum. Genet. 72: 128-152, 1.986.
100. Gagné, R., Laberge, C., Tanguay, R.: Aspect cytologique et localisation intranucléaire de l'hétérochromatine constitutive de chromosomes C 9 chez l'homme.
Chromosoma, 41: 159-166, 1.973.
101. Gagné, R., Luciani, J.M., Devictor-Unillet, M., Stahl, A.: C 9 heterochromatin during the first meiotic prophase in human foetal oocyte.
Exp. Cell. Res. 85: 111-116, 1.974.
102. Geneix, A., Jaffray, J.Y., Charbonne, F., et al.: 9p trisomy with isochromosome and Yq monosomy.
Ann. Genet. 26/2: 103-105, 1.983.
103. Genest, P.: Chromosome variants and abnormalities detected in 51 married couples with repeated

- spontaneous abortions.
Clin. Genet., 16: 387-389, 1.979.
104. Geraeds, J.P.H., Pearson, P.L.: Chromosome in human spermatozoa.
Chromosome today, 5: 23-31, 1.976.
105. Ghymers, D., Herrmann, B., Distèche, C., et al.:
Tetrasomie partielle 9, á l'état de mosaïque, chez un enfant porteur de malformations multiples.
Hum. Genet., 20: 273-282, 1.973.
106. Gosden, J.R., Spowart, G., Lawrie, S.S.: Satellite DNA and cytological staining patterns in heterochromatic inversions of human chromosome 9.
Hum. Genet., 58: 276-278, 1.981.
107. Graig-Holmes, A.P., Shaw, M.W.: Polymorphism of human constitutive heterochromatin.
Science, 174: 702, 1.971.
108. Gripenberg, V., Hongell, K., Iivanainen, M., et al.: Free trisomy 9p in an elderly woman.
Ann. Genet., 20: 36-40. 1.977.
109. Groupe de Cytogeneticiens Francaises: Pericentric inversions in man.
Ann. Genet., 29/3: 129-168, 1.986.
110. GFCH: Groupe Francaise de Cytogenetique

Hematologique.: Chromosome analysis of 63 cases of secondary nonlymphoid blood disorders; A cooperative study.

Cancer Genet Cytogenet, 12: 95-104, 1.984.

111. Guichaoua, C., Gabriel-Robez, C., Ratompanisina, D., Delafontaine, B., Le Marec, J.L., Taillemite, Rumples, J.M., Luciani Y.: Meiotic behavior of familial pericentric inversions of chromosome 1 and 9.

Ann. Genet. 29/3: 207-214, 1.986.

112. Gustavson, K.H., Wahlström, J.: Trisomy 9p syndrome and XYY syndrome in siblings.

Clin. Genet., 11: 67-72, 1.977.

113. Habedank, M.: Partial trisomy 13q21-qter de novo due to a recombinant chromosome rec (13) dup 9.

Hum. Genet., 52: 91-99, 1.979.

114. Halbrecht, I., Shabtai, F.: Human chromosome polymorphism and congenital malformations.

Clin. Genet., 10: 113-122, 1.976.

115. Hansmann, I.: Structural variability of human chromosome 9 in relation to its evolution.

Hum. Genet., 31: 247-262, 1.976.

116. Harrison, C.J., Jack, E., Allen, T., Harris, R.: Investigation of human chromosome polymorphisms by

- scanning electron microscopy.
J. Med. Genet., 22: 16-23, 1.985.
117. Heim, S., Mitelman, F.: Numerical chromosome aberrations in human neoplasia.
Cancer Genet. Cytogenet., 22: 99-108, 1.987.
118. Hemming, L., Burns, C.: Heterochromatic polymorphism in spontaneous abortions.
J. Med. Genet., 16: 358-362, 1.979.
119. Hnilicova, S., Luptakova, Z., Dusovoikova, D., et al.: Constitutive heterochromatin C and its clinical meaning.
Lek. Obz. 34: 321-328, 1.985.
120. Holbek, S., Friedrich, U., Lauritsen, J.G., Therkelsen, A.J.: Marker chromosomes in parents of spontaneous abortuses.
Humangenetik, 25: 61-64, 1.974.
121. Hossfebeld, D.K., Higi, M., Köhler, S., Miller, A., Zchaber, R.: A subtype of prototypic karyotype in acute myeloid leukemia. T (8;21) (q22; q22), del (9) (q13; q23).
Blut., 40: 27-32, 1.980.
122. Hsu, T.C.,: A possible function of constitutive heterochromatin: The bodyguard hypothesis.
Genetics (Suppl) 79: 137-150, 1.975.

- 123.Hsu, T.C.: Human and mammalian cytogenetics: A historical perspective.
New York; Springer-Verlag, 1.979.
- 124.Hungerford, D.A., Ashton, F.T., Balaban, G.B., La Badie, G.U., Messatzzia, L.R., Haller, G., Miller, A.E.: The C group pachytene bivalent with a locus characteristic for parachromosomally situated particulate bodies (aprameres).
Proc. Nat. Acad. Sci., 69: 2165-2165, 1.972.
- 125.Huret, J.L., Tanzer, J., Henry-Amar, M.: Alenant break points in chronic myelogenous leukaemia; oncogene and fragiles sites.
Hum. Genet., 74: 447-448, 1.986.
- 126.Ibraimov, A.I., Mirrakhimov, M.M., Nazarenko, S.A., Axenrod, E.I.: Human chromosomal polymorphism II. Chromosomal C polymorphism in Mongaloid population of Central Asia.
Hum. Genet., 60: 8-9, 1.982.
- 127.Inouye, T., Matsuda, H., Shimura, K.: A ring chromosome 9 in a infant with malformations.
Hum. Genet., 50: 231-235, 1.976.
- 128.Jacobs, P.A., Frackiewicz, A., Law, P., Hilditch, C.J., Morton, N.E.: The effect of structural aberrations of the chromosomes on reproductive

fitness in man.

Clin. Genet., 8: 169-178, 1.975.

129. Jacobsen, P., Mikkelsen, M., Rosleff, F.: A ring chromosome, diagnosed by quinacrine fluorescence as n.9, in a mentally retarded girl.

Clin. Genet., 4: 434-441, 1.973.

130. Jenkins, E.C., Chagant, R.S.K., Wilbur, L.: Ambiguous genitalia and mental retardation associated with a translocation 46, XY, t(9;10) and deletion in 10q.

Birth Defects Oring Art Ser XII, 5: 169-173, 1.976.

131. Jones, K.W., Corneo, G.: Localisation of satellite and homogeneuos DNA sequences on human chromosomes.

Nature 233: 268, 1.971.

132. Jotterand, M., Juillard, E.: A new case of trisomy for the distal part of 13q due to maternal translocation, t(9;13) (p21;q21).

Hum. Genet., 33: 213-222, 1.976.

133. Kaiser, P.: Perizentrische inversionen menschlicher chromosomen.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1.980.

134. Kaiser, P.: Pericentric inversion. Problems and significance for clinical genetics.

Hum. Genet., 68: 1-47, 1.984.

135. Kaiser, P., Klein, T.H., Stenber, E.D., Gerhardt-Ratschow: Familienuntersuchungen bei pericentrischer Inversion 9. Vortrag gehalten auf der tagung der gesellschaft für humangenetik und anthropologie.
Hamburg, sept. 1.977.
136. Kaminker, C.P., Dain, L., Lamas, M.N., Sanchez, J.M.: Brief clinical report: Mosaic tetrasomy 9 syndrome with unusual phenotype.
Ann. J. Med. Genet. 22/2: 237-241, 1.985.
137. Kardon, N.M., Salwen, H.R., Krauss, M.A.: De novo trisomy 9pter-p13.
Hum. Genet., 37: 149-153, 1.977.
138. Kiss, P., Osztovcics, M: Cytogenetic investigation in 817 dysmorphic babies.
Z Gesante Inn Med. Ihre Grenzgeb 36/11: 356-360.
139. Kivi, S., Mikelsaar, A.V.: Q and C-band polymorphisms in patients with ovarian or breast carcinoma.
Hum. Genet., 56: 111-114, 1.980.
140. Klasen, M., Hansmann, I., Schmid, M.: A female with XO/XY mosaicism and partial trisomy 9p.
J. Med. Genet. 18: 482, 1.981.
141. Klasen, M., Schmid, M.: An improved method for Y-

- body identification and confirmation of a high incidence of YY sperm nuclei.
Hum. Genet. 58: 156-161, 1.981.
142. Kornberg, R.D.: Chromatin structure: A repeating unit of histones and DNA.
Science, 184: 868-871, 1.974.
143. Krag-Olsen, B., Nielsen, J., Dirdal, M., Halm, V., Haahn, J., Rasmussen, N.H., Videbch, P., Yanagisawa, S.: Chromosomal variants in children referrend for cytogenetic examination from two paediatric departments during a 12 year period.
Hum. Genet., 56: 67-69, 1.980.
144. Laesch, D., Czyzewska, J.: Dermatoglyphic patterns in 9p trisomy syndrome.
J. Ment. Defic. Res. 22: 49-68, 1.978.
145. Lea, D.E.: Actions of radiations on living cells.
Ed. Cambridge University Press. Cambridge, 1.946.
146. Leisti, J.: Structural variation.
Leonard, C., Hazael-Massiewx, D., Bocquet, L., Larget-Piet, L., Boué, J.: Inversion pericéntrique inv(2) (p11;q13) dans de familles non aparenteés.
Humangenetik 28: 121-128, 1.975.
147. Leonard, C., Hazall-Massieux, P., Bocquet, L., Larget-Piet, L., Boué, J.: Inversion péricentrique

- inv(2) (p11;q13) dans de familles non apparenteés.
Humangenetik, 28: 121-128, 1.975.
148. Levan, A., y Hsu, T.C.: The human idiogram.
Hereditas, 45: 665-674, 1.959.
149. Lewandowski, R.C., Yunis, J.J. Lehzke, R.: Trisomy
for the distal half of de short arm of chromosome
9. A variant of the trisomy 9p syndrome.
Ann. J. Dis. Child. 130: 663-667, 1.976.
150. Liberforb, R.M., Atkim, L., Holmes, L.B.: A
clinical syndrome associated with 5p duplication
and 9p deletion.
Ann. Genet. 23: 26-30, 1.980.
151. Lifschytz, E., Lindsley, D.L.: The sole of X
chromosome inactivation during spermatogenesis.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69: 182-186, 1.972.
152. Lin, C.C., Halman, C., Sewell, L.: Interchromosomal
duplication for the short arm chromosome n.9:
Report of thee cases due to a familial
translocation t(9;11) and one case wiht a de novo
47,XX,t9p kariotype.
J. Ment. Defic. Res. 21: 309-329, 1.977.
153. Lopetegui, P.H.: 1,9 and 16 C-band heteromorphisms
in parents of Down's syndrome patients:
Distribution and etiological significance.

- Jpn. J. Hum. Genet. 25: 29-37, 1.980.
- 154.Lubs, H.A., Patil, S.A., Kimberling, W.J., Brown, J., Cohen, M., Geral, P., Hecht, F., Myrianthopoulos, N., Summit, R.L.: Q- and C-banding polymorphisms in 7 and 8 year old children; racial differences and clinical significance.
Hook EB, Poter IH(eds) Acad Press NY: 133-159, 1.977.
- 155.Lubs, H.A., Ruddle, F.H.: Chromosome polymorphism in american population.
Human. Genet., 233: 134-138, 1.974.
- 156.Mace, S.E., Macintyre, M.N., Turk, K.B.: The trisomy 9 syndrome: Multiple congenital anomalies and unusual pathologic finding.
J. Pediatr., 92: 446-448, 1.978.
- 157.Mandan, K., Bobrow, M.: Structural variation in chromosome No. 9.
Ann Génét (paris), 17: 81-86, 1.974.
- 158.Maguire, M.P.: The relationship of crossing-over frequency to synaptic extent at pachytene in maize.
Genetics, 51: 23-40, 1.965.
- 159.Maguire, M.P.: Homologous Chromosome.
Phil. Trans. R. Soc. Lond. B., 277: 245-258, 1.977.

160. Maguire, M.P.: A search for the synaptic adjustment phenomenon in maize.
Chromosoma, 87: 717-725, 1.981.
161. Martin, M.J., Abisqueta, J.A.: Unusual pericentric inversion inv(9) (p13;q11) in a phenotypically normal family.
Hum. Genet., 64: 100, 1.983.
162. Martin, A.O., Turk, K.B., Macintyre, M.N.: An analysis of chromosome 9 inversions in four families.
Am J. Hum. Genet., 26: 58A, 1.973.
163. Mattei, M.G., Mattei, J.F., Ayme, S., Mapuech, G., Giraud, F.: A dynamic study in two new cases of X-chromosome translocation.
Hum. Genet., 41: 251-257, 1.978.
164. Mattei, M.G., Mattei, J.F., Guichaoua, M., Giraud, F.: Partial inversion of the secondary constriction of chromosome 9. Does it exist?.
Hum. Genet., 59: 310-316, 1.981.
165. Matthews, C., Ford, J., Peek, J., McEvoy, M.: Screening of karyotype and semen quality in an artificial insemination program acceptance and rejection criteria.
Fertil and Steril, 40: 648-654, 1.983.

166. Mayer, M., Matsuura, J., Jacobs, P.: Inversions and other unusual heteromorphisms, detected by C-banding.
Hum. Genet., 45: 43-50, 1.978.
167. Mecucci, C., Vermaelen, K., Kulling, G., Michaux, J.L.: Interstitial 9q deletions in hematologic malignances.
Cancer Genet. Cytogenet., 12: 309-319, 1.984.
168. Metoxatou, C., Kalpini-Mourou, A., Panagou, M., Tsenghi, C.: Polymorphism of chromosoma 9 in 600 Greek subjects.
Am. Hum. Genet., 30: 85-89, 1.978.
169. Mitelman, F., Nilsson, P.G., Brandt, L., Alimena, G., Gastaldi, R., Dallapicola, B.: Chromosome pattern, occupation and clinical features in patients with acute non-lymphocytic leukemia.
Cancer Genet., 4: 197-214, 1.981.
170. Moedjano, S.J., Crandall, B.F., Sparkes, R.S.: Tetrasomy 9p: Confirmation by enzyme analysis.
J. Med. Genet., 17/3: 227-230, 1.980.
171. Moïrot, H., Fressard, C., Hémet, J.: Trisomie 9p par T (2;9) (q36;q31) .
Mat. Ann. Genet. (Paris), 20: 45-51, 1.977.
172. Monesi, V.: Synthetic activities during

- spermatogenesis in the mouse.
Expl. Cell. Res., 39: 197-224, 1.965.
173. Montagos, S., Mc Reynolds, J.W., Seashore, M.R.:
Complete trisomy 9.
J. Med. Genet., 18: 377-382, 1.981.
174. Morganti, G., Dalpa, L., De Carli, L.: Uso di
varianti cromosomiche per la determinazione de la
paternita.
Pathologica, 71/1o13: 309-319, 1.979.
175. Morton, N.E., Jacobs, P.A., Frackewiz, A., Law, P.,
Hilditch, C.J.: The effect of structural
aberrations of the chromosomes on reproductive
fitness in man.
Clin. Genet., 8: 159-168, 1.975.
176. Müller, H.J., Klinger, H.P., Glasser, M.:
Chromosome polymorphism in a human newborn
population.
Citogenet. Cell. Genet., 15: 239-255, 1.975.
177. Mutton, D., Daker, M.: Pericentric inversion of
chromosome 9.
Nature new biology, 241: 80, 1.973.
178. Nakajima, S., Yanagisawa, M., Kamoshita, S.: Mental
retardation and congenital malformations associated
with a ring chromosome 9.

- Hum. Genet., 32: 289-293, 1.976.
179. Navarrete, C., Salamanca, F.: Clinical, genetic and cytogenetics studies in couples attending and infertility clinic.
Ann Genet, 29/2: 98-103, 1.986.
180. Newton, M.S., Cunnigham, C., Jacobs, P.A.: Chromosome surriey ob a hospital for the mentally subnormal Part 2; Autosomal abnormalities.
Clin. Genet., 3: 226-248, 1.972.
181. Nielsen, J.: Chromosome variants and clinicals anomalies.
Hum. Genet., 27: 231-235, 1.978.
182. Nielsen, J., Fiedrich, V., Hreidarsson, A.B., Zeuthen, E.: Frecuency of 9qh+ and risk of chromosomal aberration in the progeny of individual with 9qh+.
Hum. Genet., 21: 211-216, 1.974.
183. Nielsen, J., Hamman, A., Christiansen, F.: The delection 9p syndrome a 61 years old man with delection of short arm 9.
Clin. Genet., 12: 8084, 1.977.
184. Nielsen, J., Hansen, K.B., Sillensen, I., Videbach, P.: Chromosome abnormalities in newborn children. Physical aspects.

- Hum. Genet., 59: 194-200.
185. Nielsen, J., Sillensen, J.: Incidence of chromosome aberration among 11148 newborn children.
Hum. Genet., 30: 1-12, 1.975.
186. Orye, E., Verhaaren, H., Van der Bogaert, Van Heesvelde, A.H.: The 9p- deletion syndrome of a patient with a 46,XX,9p constitution due to a paternal t(9p;15q+) translocation.
Clin. Genet., 8: 349-357, 1.975.
187. Orye, E., Verhaanren, H., Van Egmond, H.: Anew case of the trisomy 9p syndrome.
Clin. Genet., 7: 134-143, 1.976.
188. Pai, A.C.: Foundations of genetics. Ed. Mc Graw-Hill, 1.974.
189. Patil, S.R., Lubs, H.A.: Spontaneous abortions and long Y chromosomes.
Am J. Hum. Genet., 26: 66A, 1.974.
190. Patil, S.R., Lubs, H.A.: Classification of 9qh regions in human chromosomes 1, 9 and 16 by C-banding.

- Hum. Genet., 38: 35-38, 1.977.
191. Pauli, R.M., Pagon, R.A., Hall, J.G.: Trisomy 18 in sibs and maternal chromosome 9 variant.
Birth Defects XIV: 297-301, 1.978.
192. Pawlowitzki, I.H., Pearson, P.L.: Heterocromatin of chromosome 9.
Humangenetik, 16: 119-122, 1.972.
193. Pescia, G., Gaide, A.C., Jullard, E.: A possible association of long Y chromosome and fetal loss.
Hum. Genet., 35: 233-235, 1.977.
194. Philip, J., Frydenberg, O., Sele, V.: Enlarged chromosome No. 1 in a patient with primary amenorrhoea.
Citogenetics, 4: 329, 1.965.
195. Podruch, P.E., Weisskof, B.: Trisomy for the short arm of chromosome 9 in two generations, with balanced translocation $t(15p+;9q-)$ in three generations.
J. Paediatric., 85: 92-95, 1.974.
196. Podulnikova, O.A., Korostelev, A.P.: The quantitative analysis of polymorphism on human chromosomes 1, 9, 16 and Y: Heterogeneity of a normal population.
Hum. Genet., 54/2: 163-169, 1.980.

197. Priest, J., Lavett, D.K., Harion, J.P.: Analysis of crossing-over in a family with translocation 9; 10 involving a chromosome 9 with a pericentric inversion.
Hum. Genet., 71: 177-180, 1.985.
198. Prieto, F., Badia, L., Catell, V., Perz-Sirvent, M.L., Marty, H.L.: Citogenética de las leucemias agudas.
Sangre, 26: 738-753, 1.982.
199. Prigogina, E.L., Fleischman, E.W., Puchcova, G.P.: Chromosome in acute non-lymphocytic leukemia.
Hum. Genet., 73: 137-146, 1.986.
200. Qazi, O.H., Masakawa, A., Madahar, C., Ehrlich, R.: Y. Trisomy 9 syndrome.
Clin. Genet., 12: 221-226, 1.977.
201. Rasmunssen, K., Nielsen, J.: Personal communication, 1.980.
202. Ratomponirina, C., Couturier, J., Gabriel-Robez, O., Rumpiez, Y., Dutrillaux, B., Croquette, M., Rabach, O., Leduc, M.: Aberrations of the synaptonemal complexes in a mal 46,XY, t (Y;14).
Hum. Genet., 39: 19-29, 1,985.
203. Rethoré, M.O., Ferrand, J., Dutrillaux, B.: Trisomie 9p par t(4;9) (q34;q21).

- Ann Genet., 17: 156-161, 1.974.
204. Rethoré, M.O., Larget-Piet, T., Abonyi, D.: Sur quatre cas de trisomie pour le bras court du chromosome 9. Individualisation d'une nouvelle entité morbide.
Ann Genet., 13: 217-232, 1.970.
205. Rieger, R., Michaelis, A., Green, M.M.: Glossary of genetics, 4th ed. Springer, Berlin Heidelberg New York.
206. Roberts, P.: Difference in the behavior of euand heterochromatin: crossing-over.
Nature, 205: 725-726, 1.965.
207. Rosenmann, A., Segal, S., Palti, Z., Cohen, M.M.: Chromosomes in familial primary sterility in couples with recurrent abortions and stillbirths.
Isr. J. Med. Sci., 13/11: 1131-1133, 1.977
208. Rosenmann, A., Wahrman, J., Richler, C., Vass, R., Persitz, A., Galdman, B.: Meiotic association between the XY chromosomes and unpaired autosomal elements as a cause of human male sterility.
Cytogenet. Cell. Genet., 39: 19-29, 1.985.
209. Rutten, F.J., Scheren, J.M., Hustinx, W.J.: A presumptive tetrasomy for the short arm of chromosome 9

- Hum. Genet., 25: 163-170, 1.974.
- 210.Salamanca, F., Armendares, S.: C-bands in the human chromosomes treated by barium hidroxide.
Ann. Genet., 17: 135-137, 1.975.
- 211.Salinas, C.F., Pfister, A.J., Taylor, A.B.:Mental retardation associated with craniofacial-skeletal-cardiovascular and neurogic abnormalities 46,XX,9qh-.
Birth Defects Org Art Ser,XIV, 6c: 420-421, 1.978.
- 212.Sampaio, A.T.: Mitotic crossing-over end segregation in man.
Hum. Genet., 59: 93-100, 1.981.
- 213.Sasaki, M.: Observation of the modification in size and shaps of chromosomes due to technical procedure.
Chromosoma, 11: 514-522, 1.961.
- 214.Saunders, ,G.F., Hsu, T.C., Getz, M.J., Simes,E.L., Arrighi, F.E.: Location of a human satellite DNA in human chromosomes.
Nature (New Biol), 236: 244, 1.972.
- 215.Sax, K.: Chromosome aberrations induced by X-rays.
Genetics, 22: 494-500, 1.938.
- 216.Schinzel, A.: Autosomale chromosomen aberrations.

- Arch. Genet., 51: 1-204. 1.979.
- 217.Schinzel, A.: Catalogue of unbalanced chromosome in man. De Gruyter, New Yor, 1.983.
- 218.Schinzel, A., Hayashi, K., Schimid, W.: Futher delineation of the clinical picture of trisomy for the distal segment of chromosome 13. Report of three cases.
Hum. Genet., 32: 1-12. 1.976.
- 219.Schinzel, A., Hayashi, K., Schmid, W.: Mosaic-trisomy and pericentric inversion of chromosome 9 in a malformed boy.
Humangenetik, 25: 171-177, 1.974.
- 220.Schid, M., Vogel, W., Krane, W.: Atraction betwen centric heterochromatin of human chromosome.
Cytogenet Cell. Genet., 15: 66-80, 1.975.
- 221.Schmid, W.: Autoradiography of human chromosomes. En human chromosome methodology. Ed. Yunis, J.J. Academic Press. Nueva York, 1.965.
- 222.Schwartz, S., Palmer, C.G.: Chromosomal findings in 164 couples with repeated spontaneus abortions: with special consideration to prior reproductive history.
Hum. Genet., 63: 28-34, 1.983.

223. Shabtai, F., Halbrecht, I.: Risk of malignancy and chromosomal polymorphism: a possible mechanism of association.
Clin. Genet., 15/1: 73-77, 1.979.
224. Shabtai, F., Van der Lijn, E., Lewinski, U.: A new cytogenetic aspect of polycythemia vera.
Hum. Genet., 41: 281-287, 1.978.
225. Sigmud, J., Frish, H., Heinz-Erian, P.: Cri Du Chat-syndrome in combination with partial trisomy 9p.
Aut. Padiatr. Patol, 21/1: 61-67, 1.986.
226. Simi, S., Tursi, F.: Polymorphism of human chromosomes 1, 9, 16, Y: Variations, segregation and mosaicism.
Hum. Genet., 62/3: 217-220, 1.982.
227. Sofuni, T., Naturo, J., Awa, A.A.: Quantitative analysis of C-bands based on area measurement.
Jpn. J. Hum. Genet., 24: 194-195, 1.979.
228. Soudek, D., Sroka, H.: Chromosomal variants in mentally retarded and normal men.
Clin. Genet., 16: 109-116, 1.979.
229. Sparkes, R.S., Sparkes, M.C., Funderburk, S.J.: Expression of GALT in 9p chromosome alterations: Assignment of GALT locus to 9cen-9p22.

- Ann. Hum. Genet., 43: 343-347, 1.980.
230. Stahl, A., Hartung, M.: Heterochromatine.
Ann. Genet., 24: 69-77, 1.981.
231. Stahl, A., Hartung, M., Vagner-Capodano, A.M.,
Fouet, V.V.C.: Chromosomal constitution of
nucleolus-associated chromatin in man.
Hum. Genet., 35: 27-34, 1.976.
232. Sthal, A., Luciani, J.M., Devictor, M., Capodano,
A.M., Gagné, R.: Constitutive heterochromatin and
micronucleoli in the human oocyte at the diplotene
stage.
Humangenetik, 26: 315-327, 1.975.
233. Steffensen, D.M., Duffey, P., Prensky, W.:
Localization of 5S ribosomal RNA genes on human
chromosome 1.
Nature, 252: 741-743, 1.974.
234. Stetten, G., Rock, J.A.: A paracentric chromosomal
in version associated with repeated early pregnancy
wastage.
Fertility and Sterility 40/1: 124-126, 1.983.
235. Strasburguer, E.: Über den theilungsvorgang der
zellkerne und verhältnis der Kerntheilung zur
zelltheilung.
Arch. mikr. Anat., 21: 476, 1.882.

236. Strickberger, M.W.: *Genética*, Ed. Omega (Barcelona), 1.974.
237. Sturtevant, A.H.: A cross-over reducer in *Drosophila melanogaster* due to inversion of a section of the third chromosome.
Biol. Zbl, 46: 697, 1.926.
238. Sturtevant, A.H., Beadle, G.W.: The relations of inversions in the X-chromosome of *Drosophila melanogaster* to crossing over and disjunction.
Genetics, 21: 554, 1.936.
239. Subrt, I., Janawsky, M., Jادل, J.: Partial trisomy 9q- chromosomal syndrome.
Hum. Genet., 34: 151-154, 1.976.
240. Summer, A.T., Robinson, J.A., Evans, H.J.:
Nature, 229: 231-233, 1.971.
241. Sutherland, G.R., Carter, R.F., Morris, L.L.:
Partial and complete trisomy 9: delineation of trisomy 9 syndrome.
Hum. Genet., 32: 133-140, 1.976.
242. Swirsky, D.M., Li, Y.S., Matthews, J.G., Flemans, R.J., Rees, R.J., Hayhoe, F.G.J.: 8,21 translocation in acute granulocytic leukemia: Cytological, cytochemical and clinical features.
Br. J. Haematol, 56: 199-213, 1.984.

243. Taylor, A.I.: Trisomy of chromosome 16 in neonate
47,XY,16+.
J. Med. Genet., 8: 123-125, 1.971.
244. Tho, S.P.T., Byrd, J.R., Mc Donough,
P.G.: Chromosome polymorphism in 110 couples with
reproductive failure and subsequent pregnancy out
come.
Fertil Steril, 38/6: 688-694, 1.982.
245. Tjio, J.H., Levan, A.: The chromosome number of man.
hereditas, 42: 1-6, 1.956.
246. Trunca, C., Opitz, J.M.: Pericentric inversions of
chromosome 14 and the risk of partial duplication
of 14q(14q31-14qter).
Ann. J. Med. Genet., 10: 373, 1.977.
247. Tsenghi, C., Metaxotou-Stavridaki, C.,
Stratakibenetou, M., Kalpini-Mavrou, A.,
Matsaniotis, N.: Chromosome studies in couples
with repeated spontaneous abortions.
Obstet Gynecol, 47: 463-468, 1.976.
248. Tsvetkova, T.G.: Chromosome polymorphism and
reproductive dysfunction in man. III. Extreme C-
variants of autosomes: analysis of distribution and
combination in the karyotype (in Russian).
Genetika, 16: 2210-2216, 1.979.

249. Tsvetkova, T.G., Yankova, M.F.: Human chromosome polymorphism and reproductive failure. II. C-variants (in Russian).
Genetika, 15: 1870-1879, 1.979.
250. Turleau, C., De Grouchy, J., Chavin-Colin, F.: Trisomie 9p: deux nouvelles observations.
Ann. Genet., 17: 167-174, 1.974.
251. Turleu, C., De Grauchy, J., Chavin-Colin, F.: Partial trisomy 9q: a new syndrome.
Hum. Genet., 29: 233-241, 1.975.
252. Turleau, C., De Grouchy, J., Chabrolle, J.P.: De'léctions intercalaires de 9q.
Ann. Genet., 21: 234-236, 1.978.
253. Van Beneden, E.: Recherches sur la maturation de l'œuf et la fécondation.
Arch. Biol., 4: 265, 1.883.
254. Van Dyke, D.L., Palmer, C.G., Nance, W.E., Yu, P.L.: Chromosome polymorphism and twin zygosity.
Am. J. Hum. Genet., 29: 431-447, 1.977.
255. Vara, P.: In: Schwalm H, Döderlein G (Hrsg) Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Bd 8.
Schwarzenberg, München Berlin Wien, S 212, 1.977.
256. Verma, R.S., Lubs, H.A.: Variation in human

acrocentric chromosomes with acridine orange reverse banding.

Humangenetik, 30: 225-235, 1.975.

257. Verma, R.S., Rodrigues, J., Dosik, H.: Human chromosome heteromorphism in American Blacks: II. Higher incidence of pericentric inversions of secondary constriction regions (h).

Am. J. Med. Genet., 8: 17-25, 1.981.

258. Verma, R.S., Rodrigues, J., Dosik, H.: The quantitative analysis of constitutive heterochromatin regions of human chromosomes 1, 9 and 16 in relation to size and inversion heteromorphism in East Indians.

Experientia, 83/3: 324-326, 1.982.

259. Verma, R.S., Rodrigues, J.G., Sing, G.: Familial 16qh+ and inv(9qh) chromosome regions in children with multiple congenital anomalies.

Microbios Lett., 29/114: 83-85, 1.985.

260. Viégas, J., Salzano, F.M.: C-bands in chromosomes 1, 9, and 16 of twins.

Hum. Genet., 45: 127-130, 1.978.

261. Viguie, F., Romani, F., Dadoune, J.R.: Male fertility in a case of (Y;6) balanced reciprocal translocation: mitotic and meiotic study.

- Hum. Genet., 62: 225-227, 1.982.
262. Wahrman, J., Atidia, J., Gaitein, R., Cohen, T.:
Pericentric inversions of chromosoma 9 in two
families.
Cytogenetics, 11: 132-144, 1.972.
263. Waldeyer, W.: Uber karyokinese und ihre beziehung
zu den befruch tungosvorgängen.
Arch. Mikrosk. Anat., 32: 1, 1.988.
264. Walzer, S., Gerald, P.S.: A chromosome survey of
13751 male newborns. In: Hook EB, Porter IH (eds)
Population cytogenetics studies in humans. Academic
Press, New York, San Francisco, London, 1.977.
265. Wang, H.S., Hamerton, J.L.: C-band polymorphism of
chromosomes 1, 9, and 16 in four subgroups of
mentally retarded patients and a normal control
population.
Hum. Genet., 51: 269-275, 1.979.
266. Warburton, D., Firschein, I., Miller, D.A.,
Warburton, F.E.: Kariotype of the chimpances, Pan
Troglodytes, based of measucements and banding
pattern; comparisom to the human Pantrogladytes.
Cytogenet. Cell. Genet., 12: 453-461, 1.973.
267. Ward, B.E., Henry, G.P., Robinson, A.: Cytogenetic
studies in 100 couples with recurrent spontaneous

abortions.

Am. J. Hum. Genet., 32: 549-554, 1.980.

268. Watson, J.D.: Biología molecular del gen.

Fondo Educativo Interamericano, S.A., 1.974.

269. Westlake, J.R., Robertson, R., Leddet, I.: Y chromosome length related to fetal loss.

Clin. Genet., 24/6: 413-419, 1.983.

270. Winsor, E.J.T., Palmer, C.G., Ellis, P.M., Hunter, J.L.P., Ferguson-Smith, M.A.: Meiotic analysis of a pericentric inversion, inv(7) (p22 q32), in the father of a child with a duplication-deletion of chromosome 7.

Cytogenet. Cell. Genet., 20: 169-184, 1.978.

271. Wisniewski, L., Purdy, G., Hassold, T.: An interstitial deletion of chromosome 9 in a girl with multiple congenital anomalies.

J. Med. Genet., 14: 455-459, 1.977.

272. Ying, K.L., Curry, C.J.R., Rajoni, K.B.: De novo interstitial deletion in long arm of chromosome 9: a new chromosome syndrome.

J. Med. Genet., 19: 68-70, 1.982.

273. Yunis, J.J.: New chromosomal syndromes.

Edc. Academic Press, New York, 1.977.

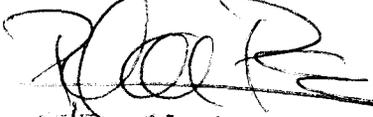
274. Yunis, J.J.: Symposium of chromosomes and neoplasia.
Hum. Pathol., 6, 1.981.
275. Yunis, J.J., Rolda, L., Yasmineh, W.G., Lee, J.C.:
Staining of satellited DNA in metaphase chromosome.
Nature., 231: 532-533, 1.971.
276. Yukata Nakahori, Yasuo Nakagame: A malformed girl
with duplication of chromosome 9q.
J. Med. Genet.: 387-388, 1.985.
277. Zadeh, T.M., Funderbuck, S.J., Cael, R.: 9p
duplication confirmed by gene dosage effect. Report
of two patient.
Ann. Genet., 24: 242-244, 1.981.
278. Zanenga, H., Schmiady, H., Sperling, K.: Length of
human C-bands in relation to the degree of
chromosome condensation.
Hum. Genet., 35: 107-111, 1.981.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de
Dña ITZ Teresa Virgen de los Santos
titulada Religión e morales penitencias del cro-
quisma 9. Josephaceus elineas
así como otorgarle la calificación de Apto con laude

Sevilla, 18 de octubre de 1988

El Vocal,


El Presidente

El Vocal,

Antonio López
El Secretario,

El Vocal,


El Doctorado,