

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

"RELACION ENTRE ALTERACIONES CROMOSOMICAS
Y
CIERTAS CONDICIONES PATOLOGICAS"

TESIS

Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Ciencias
Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala

POR

MARGIT DE ROSENTHAL

En el acto de su Investidura de

MEDICO Y CIRUJANO

Guatemala, noviembre 1967

INDICE

I. ASPECTOS GENERALES

- A) Introducción
- B) División celular. Mitosis y Meiosis
- C) Bioquímica
- D) Clasificación morfológica de los cromosomas
- E) Mecanismos genéticos que causan anomalías cromosómicas en el humano
- F) Aspectos Clínicos
 - 1) Anomalías Autosómicas
 - a) Mongolismo o Enfermedad de Down
 - b) Trisomía D
 - c) Trisomía E
 - d) Cri du Chat
 - e) Leucemia Mielocítica Crónica (LMC)
 - 2) Anomalías de los cromosomas sexuales en la mujer
 - a) Síndrome de Turner "XO"
 - b) Femenización Testicular "XY"
 - c) Polisomía "X"
 - 3) Anomalías de los cromosomas sexuales en el hombre.
 - a) Síndrome de Klinefelter "XXY"

II. PROPOSITO

III. MATERIALES Y METODOS

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

V. RESUMEN Y CONCLUSIONES

VI. BIBLIOGRAFIA

LISTA DE ILUSTRACIONES

- Figura 1 Etapas de Mitosis
- Figura 2 Etapas de Meiosis
- Figura 3 Cariotipo de un hombre normal
- Figura 4 Cariotipo de una mujer normal
- Figura 5 Representación diagramática de no-disyunción
- Figura 6 Reareglos cromosómicos comunes
- Figura 7 Cariotipo de Mongol con trisomía 21
- Figura 8 Cariotipo de un portador de translocación D/G
- Figura 9 Cariotipo de Trisomía 18
- Figura 10 Cariotipo de Síndrome de Turner
- Figura 11 Cariotipo de Síndrome de Klinefelter

Efectivamente, durante los últimos años se ha registrado entre los científicos un extraordinario interés en todos los aspectos relacionados con los cromosomas humanos. Además, desde que a finales de la década de 1950 se perfeccionaron métodos para el cultivo de leucocitos, la mayoría de los centros de investigación médica del mundo han creado departamentos de citogenética con el fin de estudiar variaciones en los rasgos hereditarios en relación a alteraciones cromosómicas. Es más, si bien dicho campo de actividad actualmente pasa por una etapa experimental, la citogenética, tiene cada día más aplicación práctica en la comprobación de ciertas enfermedades hereditarias, tal como se señala en esta tesis.

En vista de que se trataba de una actividad totalmente inexplorada en Guatemala, la autora inició trabajos bastante rudimentarios en los laboratorios del Hospital Roosevelt a principios de 1966. Con el fin de adquirir los

conocimientos técnicos necesarios para llevar a cabo este trabajo, la autora visitó, por un período de 2 meses, el departamento de citogenética del Hospital General de Massachusetts de la ciudad de Boston, Massachusetts, Estados Unidos.

Es de esperarse, que este trabajo estimule interés para el desarrollo futuro de un laboratorio de citogenética al servicio de los hospitales de Guatemala.

(B) División Celular Mitosis y Meiosis:

Para comprender la secuencia de eventos que conducen a alteraciones cromosómicas en la célula, se requiere un conocimiento básico del mecanismo de división celular. Los procesos fundamentales de la división celular se clasifican en dos mecanismos diferentes: el primero, envuelve la duplicación de células (células somáticas); y el segundo, envuelve una reducción en el número de cromosomas para formar células especiales (gametos).

Mitosis es el proceso de división celular que produce, de una célula materna, dos células hijas idénticas sin pérdida o alteración significativa de material cromosómico.

Para facilitar su estudio, la mitosis se divide artificialmente en varias etapas, llamadas interfase, profase, metafase, anafase, y telofase.

En la interfase: ocurre la replicación del DNA.

En la profase: los cromosomas se presentan como filamentos delicados compuestos de dos cromátidas flojamente retorcidas y unidas al centrómero. En esta fase aparece un aparato mitótico accesorio formado de dos centriolos, cada uno con un aster. Los asteres se presentan unidos entre sí por medio de filamentos. Estas formaciones constituyen el huso cromático. Los centriolos migran a polos opuestos del núcleo, y la membrana nuclear desaparece.

Durante la metafase: los cromosomas se orientan hacia el

ecuador del huso y están formados por dos cromátidas unidas únicamente por el centrómero. Cada cromosoma se adhiere a las fibras del ovillo por el centrómero. En esta etapa ocurre una división longitudinal a través del centrómero. En las células en metafase, los cromosomas pueden ser teñidos fácilmente.

Durante la anafase: los cromosomas hijos migran hacia polos opuestos del ovillo.

La telofase: comienza al finalizar la migración polar de los cromosomas. En esta etapa se produce la reorganización de la estructura nuclear y la membrana nuclear reaparece. Los cromosomas se encuentran nuevamente elongados y retorcidos flojamente.

La citocinesis: es el proceso de segmentación y separación de citoplasma que ocurre finalmente produciendo dos células idénticas.

La gran significación de la mitosis estriba en el hecho de ser

un proceso de estricta duplicación; es decir, que no causa alteración en el número de cromosomas o en su estructura, la cual en un mismo organismo permanece constante, generación tras generación.

En la Figura No. 1 se describen esquemáticamente las diferentes etapas de mitosis.

La meiosis es un tipo especializado de división celular que se produce únicamente después de la unión de células germinales. Al igual que la mitosis, la meiosis puede arbitrariamente dividirse en varias etapas como se muestra en el siguiente cuadro tomado de De Robertis (27).

ESQUEMA DE LAS DIFERENTES ETAPAS EN MEIOSIS

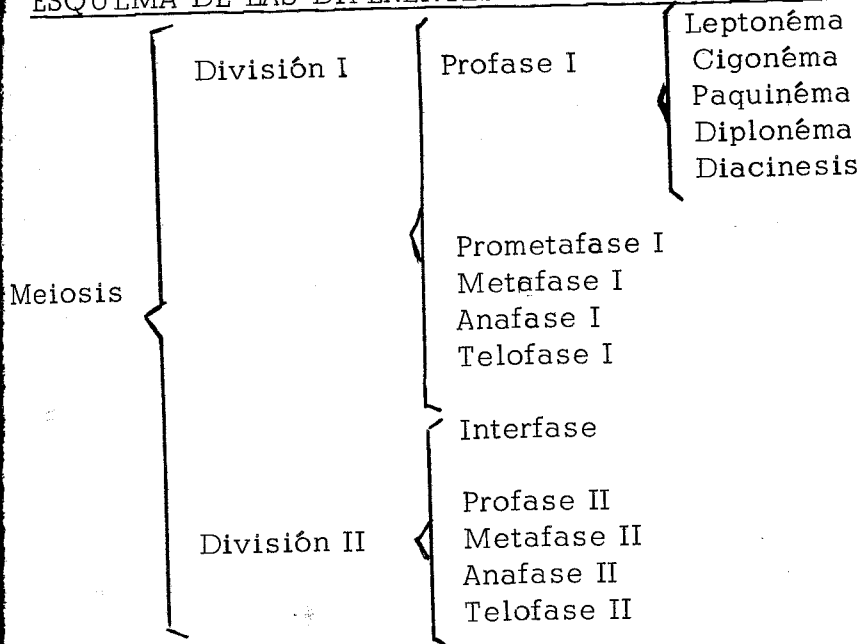
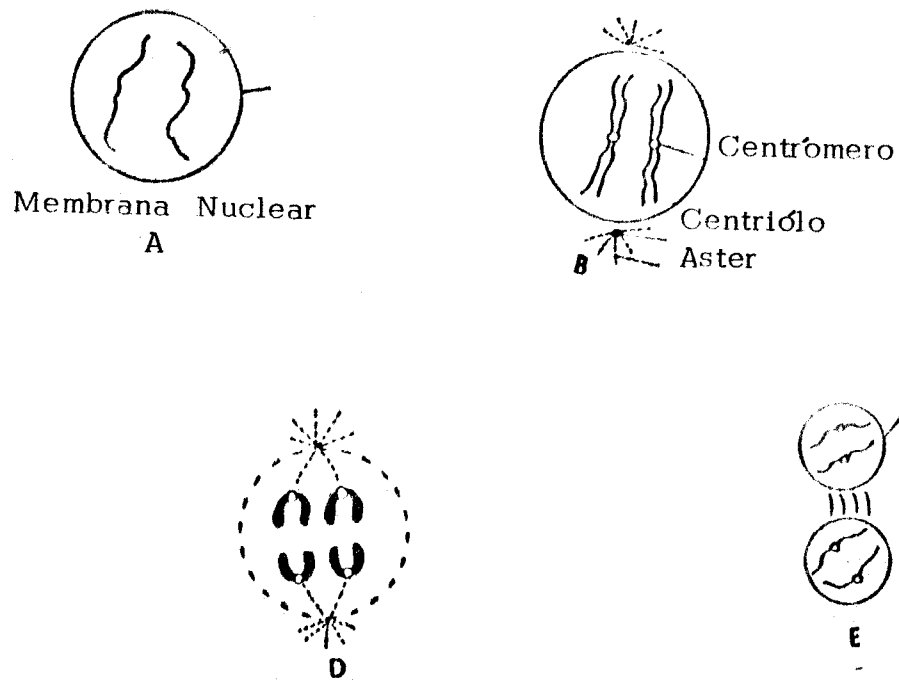


Figura No. 1



MITOSIS: A. Núcleo en interfase; B. Profase
C. Metafase; D. Anafase; E. Telofase

Fuente: Hsia, D.Y.Y. (53)

DIVISION MEIOTICA I

PROFASE I

- Leptonéma: La cromatina nuclear se condensa en cuerpos elongados y los cromonemas se desarrollan.
- Diplotonéma: Los cromosomas homólogos se aparean entre cromonéma y cromonéma a lo largo del cromosoma (sinapsis).
- Paquinéma: Cada cromosoma se divide longitudinalmente en dos cromátidas y al mismo tiempo se vuelve mas corto y grueso. Cada par de cromosomas homólogos esta compuesto de cuatro cromátidas. A esta formación se le llama tetrada. También ocurren durante la paquinéma rupturas transversales en dos de las cuatro cromátidas de un grupo (diadas) y como consecuencia hay posibilidad de intercambio de segmentos cromosómicos. El intercambio ocurre entre cromátidas homólogas, paternas y maternas,

manera que las dos cromátidas que se entrecruzan, contienen una mezcla de DNA materno y paterno desde su separación. Los puntos de cruzamiento son llamados quiasmata.

Plonéma: Los cromosomas homólogos se comienzan a separar, sin embargo todavía hay cierto amarre entre ellos a la altura de la quiasmata, lo cual es la expresión física de un fenómeno genético de crossing-over. Este último es un intercambio de segmentos de cromosomas homólogos. Los centroméros no se dividen hasta la segunda división meiótica.

Acinesis: Se caracteriza por un marcado acortamiento de los cromosomas y por la migración (terminalización) de la quiasmata hacia los extremos de los cromosomas que se separan, con tendencia a moverse hacia la superficie in-

terna de la membrana nuclear.

PROMETAFASE I La membrana nuclear desaparece y los cromosomas se ordenan en el centro de la célula para iniciar la siguiente etapa.

METAFASE I: Los dos miembros de cada par de cromosomas homólogos se encuentran con sus centrómeros dirigidos hacia polos opuestos de la célula y se acentúa la repulsión de centrómeros y cromosomas en preparación para separarse.

ANAFASE I: Los cromátidas de cada cromosoma, unidas por sus centrómeros, se dirigen a sus respectivos polos. Los cromosomas cortos por lo regular se separan mas rapidamente que los largos.

TELOFASE I: Hay formación de dos células hijas haploides (con la mitad del número normal de cromosomas). Los cromosomas pueden persistir condensados por algún tiempo.

mostrando todas sus características morfológicas. Luego de la telofase existe un período corto de interfase que tiene características similares a las de la interfase en mitosis.

DIVISION MEIOTICA II

PROFASE II Es similar a la profase de una división mitótica terminando con la formación del ovillo.

METAFASE II Un número haploide de cromosomas se encuentra en el plano ecuatorial. Los centrómeros se dividen en el sentido longitudinal formando dos cromátidas hijas.

ANAFASE II Las diadas se separan con las cromátidas dirigiéndose a polos opuestos.

TELOFASE II Resulta en la formación de células con un número haploide de cromosomas; espermatozoide en el hombre y óvulo en la

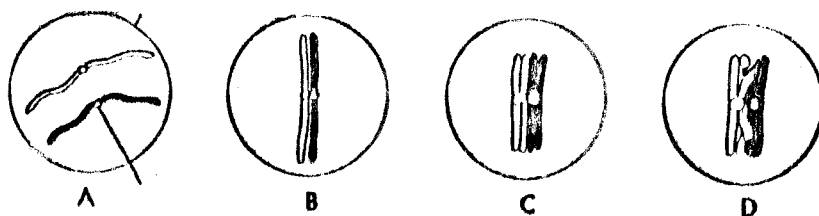
mujer.

La importancia del proceso meiótico estriba en la formación de cuatro núcleos diferentes entre si. Difiere de mitosis en varios aspectos, ya que en meiosis:

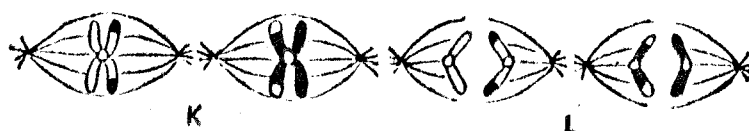
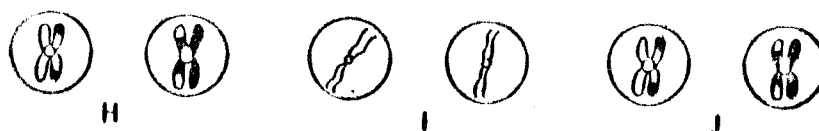
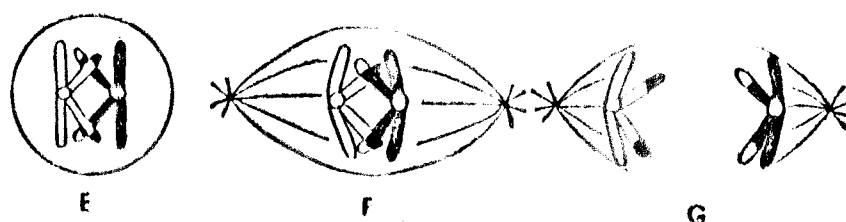
- 1) Hay dos divisiones celulares
- 2) La primera consiste en una división reductiva durante la cual el número de cromosomas se reduce de diploide a haploide. La segunda consiste en duplicación del cromosoma existente.
- 3) La formación de quiasmata que permite un intercambio de material genético a través del mecanismo de crossing-over. (véase figura No. 2).

Figura No. 2

Membrana Nuclear



Centrómero



DIVISION MEIOTICA:

- A. Leptonéma
- B. Cigonéma
- C. Paquinéma
- D. Diplonéma
- E. Diacinesis
- F. Metafase I

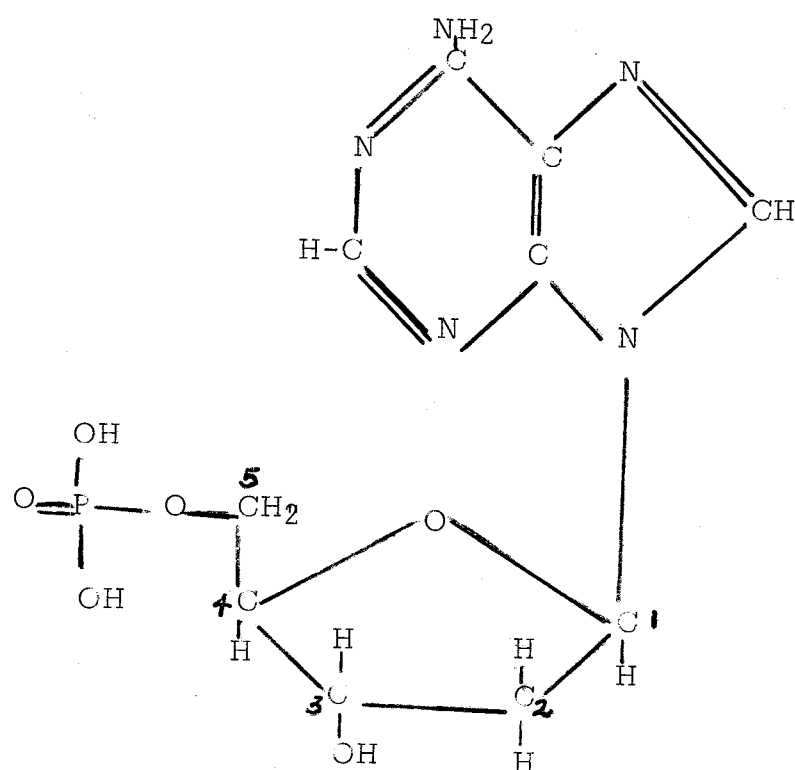
- G. Anafase I
- H. Telofase I
- I. Interfase
- J. Profase II
- K. Metafase II
- L. Anafase II
- M. Telofase; y Gametos

Fuente: Hsia, D.Y.Y. (53)

C) ASPECTOS BIOQUIMICOS

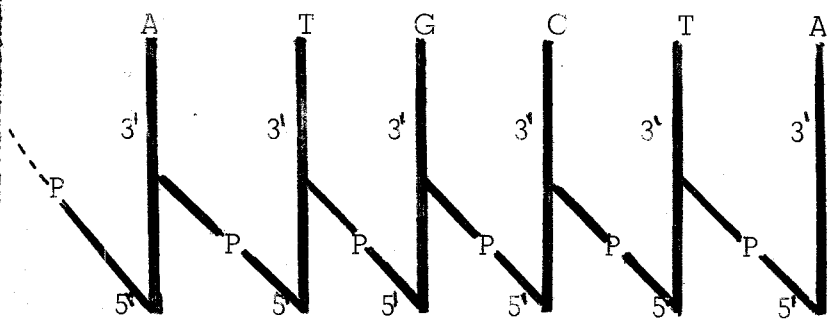
Ya que el ácido deoxirribonucleico, DNA, es un componente esencial de los cromosomas, y éstos a su vez son elementos constantes en células normales de una misma clase, el DNA en el núcleo es una cantidad relativamente invariable en células similares de un organismo. El DNA consiste de una larga cadena doble formada por nucleótidos unidos por una unión fosfo diester.

Un nucleótido esta compuesto por: a) un azúcar, en DNA este es deoxirribosa; b) una molécula de fosfato; c) una base, ya sea pirimidina o purina.



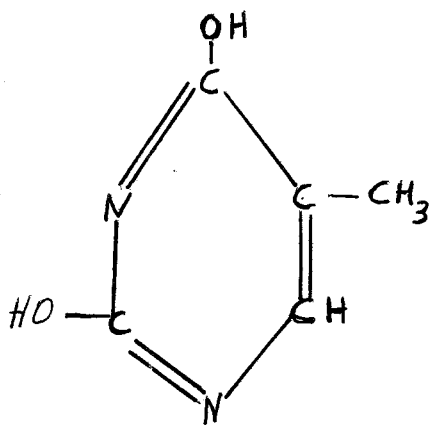
Deoxiádenosina 5'-Monofosfato

El ácido fosfórico une el carbono número 3 de una molécula de deoxirribosa al número 5 de otra.

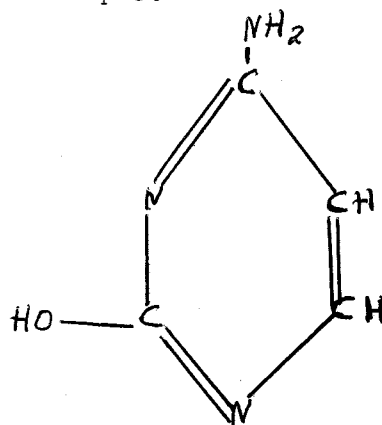


De las cuatro bases más comunmente encontradas en la molécula de DNA, dos son purinas llamadas adenina y guanina y dos son pirimidinas llamadas timina y citosina.

Pirimidina: estructura de anillo simple.



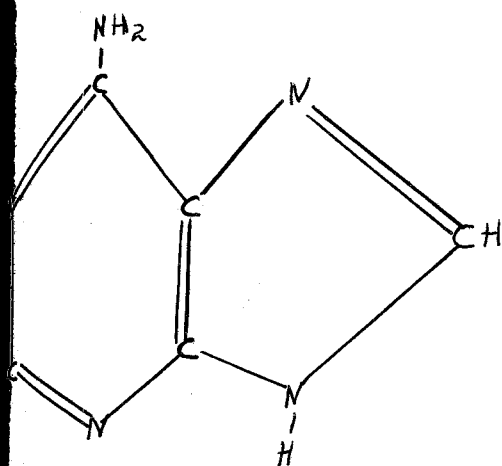
Timina



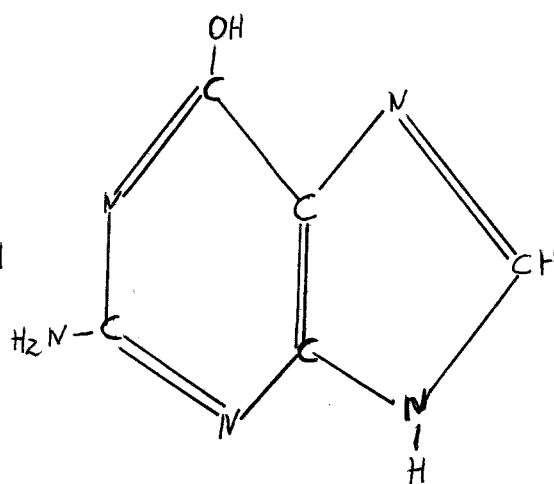
Citosina

Purina: estructura de anillo de pirimidina + anillo de imidazol.

Adenina



Guanina



De acuerdo con la teoría de Watson-Crick (99), la molécula de DNA está compuesta por dos cadenas retorcidas en una hélice doble, adenina siempre apareada con timina y guanina con citosina a través de un puente de hidrógeno. Las dos cadenas mantienen relación espacial semejante a través de los puentes de hidrógeno. El DNA contiene información genética en virtud de la secuencia de sus bases, manteniendo esta información a través del proceso de replicación, y transmitiéndola por medio de un tipo particular de RNA, llamado m-RNA (RNA mensajero).

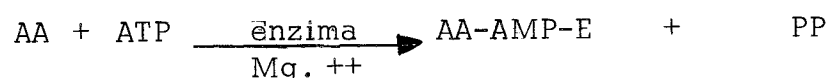
Puesto que la manifestación fenotípica de cualquier genotipo se expresa por medio de la síntesis de una proteína particular, el DNA juega un papel esencial en el proceso de la síntesis proteica.

En la actualidad, el esquema aceptado para la secuencia de reacciones en la síntesis de proteínas es el siguiente:

- a) activación de aminoácidos
- b) formación del complejo aminoácido-RNA
- c) transferencia del aminoácido-RNA a los ribosomas
- d) síntesis de la unión peptídica
- e) liberación de las proteínas formadas

a) Para la primera etapa, el grupo carboxílico del aminoácido es activado por medio de Adenosina Trifosfato (ATP).

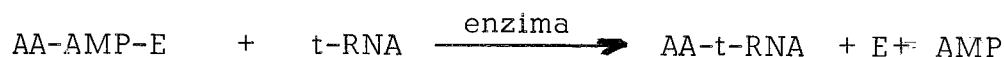
Por cada aminoácido dicha activación es catalizada por una enzima específica denominada "enzima activante". La reacción requiere además iones de magnesio (Mg^{++}) y rinde un complejo de aminoácido-AMP-enzima.



b) Transferencia del aminoácido activado a una molécula específica de RNA llamada RNA soluble (sRNA) o de transferencia (tRNA). El sRNA es una molécula que contiene alrededor de 80 nucleótidos y tiene un peso molecular de 25,000 a 30,000. La secuencia terminal de nucleótidos es citidina, citidina, ácido adenílico. El aminoácido

activado se adhiere al grupo hidróxilo libre en el carbono 3 de la ribosa del nucleótido terminal por medio de una unión ester

(34)



c) Guanosina trifosfato (GTP) y las enzimas transferasa I y II

son necesarios para la transferencia del complejo tRNA-AA a

los ribosomas. La transcripción genética es mediada por el mRNA

el cual a este nivel se encuentra íntimamente ligado a los ribo-

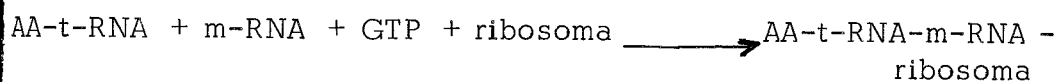
somas y formando una estructura más compleja llamada poliribo-

soma. Los ribosomas son organelas específicas que contienen á-

cido ribonucleico (RNA), fosfolípidos, y proteínas y que general-

mente se encuentran asociados con las membranas del retículo

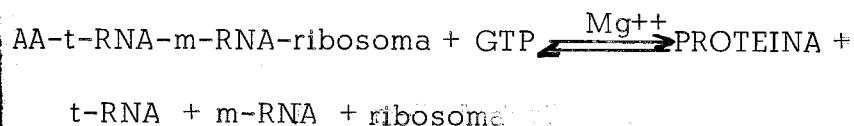
endoplasmático.



d) e) La síntesis de la unión peptídica se lleva a cabo sobre el

ribosoma y una vez formada se libera el tRNA de cada amino áci-

do.



La información transmitida de célula a célula a través del DNA es transferida a una molécula de RNA que se sintetiza utilizando el DNA como patrón y que contiene una replica de la molécula del DNA con excepción que en lugar de la base timina contiene uracilo. Este tipo particular de RNA se llama RNA mensajero (mRNA), ya que transmite la información requerida para la síntesis de las proteínas. El RNA mensajero actúa al nivel de los ribosomas y puede ligarlos para formar una estructura llamada polirribosoma.

Es en el ribosoma donde la interacción entre AA-tRNA y mRNA permite la colocación correcta del aminoácido en la cadena creciente de polipeptidos. El mRNA a través de su secuencia de nucleótidos dicta la secuencia correcta de aminoácidos para cualquier proteína dada. La codificación básica es formada por una tripleta de nucleó-

tidos. Conforme se completa, la cadena protéica es liberada del ribosoma.

D) CLASIFICACION MORFOLOGICA DE LOS CROMOSOMAS

En 1956 Tjio y Levan en los Estados Unidos demostraron la existencia de 46 cromosomas en las células diploides normales del hombre blanco Europeo y Norteamericano (89). Antes de esa fecha el número aceptado de cromosomas era de 48 (91, 31). Con los avances técnicos recientes y mediante estudios detallados ha sido posible adquirir nuevos conocimientos en la morfología de estas organelas.

Los cromosomas se caracterizan por un número de cualidades morfológicas que incluyen tamaño, posición de el centrómero presencia de satélites, constricciones secundarias, y heterogromatina, para mayor ilustración se describe a continuación parte de la terminología utilizada en citogenética.

El centrómero es una estructura esférica, que contiene ácido deoxirribonucleico, y que no se tiñe con la misma intensidad que

el resto del cromosoma. Es visible durante la profase, metafase, y anafase, produciendo la llamada constricción primaria a la que se adhiere el ovillo. La posición del centrómero puede ser mediana (metacéntrica) si está localizado en el centro del cromosoma; submediana (submetacéntrica) si está localizado entre el centro y la posición terminal, y acrocéntrica si es terminal. La posición centromérica es constante en cada cromosoma, determinando así su forma (53)

Los satélites son pequeños cuerpos redondeados adheridos al final de ciertos cromosomas por un delicado hilo de cromatina. Estos cuerpos terminales son producidos por una constricción secundaria en la porción distal del brazo de los cromosomas acrocéntricos (números 13 al 15 y 21 al 22) (71, 83). El cromosoma "Y" no es afectado (35).

Heterocromatina es otro término frecuentemente utilizado, siendo definido por Sohval como el material cromatínico

que ocupa un segmento cromosómico que exhibe variaciones de condensación y cambios de intensidad de coloración (heteropícnosis), en contraste con material cromatínico que no sufre estas variaciones de coloración (eucromatina) (83).

Cuando el material cromatínico es denso y se tiñe intensamente, se dice que hay heteropícnosis positiva; si por el contrario está pobremente teñido se le llama heteropícnosis negativa.

Todas las características antes descritas nos ayudan a colocar los 23 pares de cromosomas en un orden lógico para su estudio por medio de microfotografía. Esto constituye un cariotipo el cual se obtiene mediante la selección y apareamiento de cromosomas de una célula, representadas en ampliaciones fotográficas. Los pares se agrupan sistemáticamente de acuerdo con su longitud y la posición del centrómero.

Hace apenas 10 años cada investigador en este campo usaba su propio sistema de apareamiento de cromosomas, lo cual ori-

ginó gran confusión. Por esta razón, en 1960 se celebró una conferencia en Denver, Colorado, EE.UU., con el fin de estandarizar el sistema para designar las figuras mitóticas humanas. A esta conferencia asistieron los investigadores más importantes en la materia y se llegó a un acuerdo que se conoce como "Sistema Internacional Denver" (77). En dicha clasificación todos los cromosomas, con excepción de los sexuales, son numerados del 1 al 22 en orden decreciente de longitud. Estos son los llamados autosomas. Los cromosomas sexuales son denominados "Y" y "X".

De acuerdo con el "Sistema Internacional Denver" para la preparación de cariotipos, los 22 pares autosómicos son clasificados en siete grupos fácilmente distinguibles. Dentro de cada uno de estos grupos los autosomas se clasifican de acuerdo a su tamaño y a la posición del centrómero. En preparaciones de buena calidad,

se pueden distinguir todos o la mayoría de los cromosomas. Sin embargo, puede existir alguna dificultad para diferenciar los cromosomas 6 al 12 y el cromosoma "X", es decir el grupo 6X-12. El cromosoma "X" generalmente ha sido descrito como más o menos igual al cromosoma número 6 (77), mientras que el cromosoma "Y" ha sido descrito en distintos casos como más grande, más pequeño, o indiferenciable de los autosomas números 21 y 22 (17, 37, 72). A continuación, se describe brevemente la apariencia física de los cromosomas de acuerdo con la clasificación a que nos hemos venido refiriendo:

Grupo 1 a 3

Cromosomas grandes, con centrómeros aproximadamente metacéntricos. Los tres son fácilmente distinguibles entre sí por su tamaño y por la posición de sus centrómeros.

Grupo 4 y 5

Cromosomas grandes con centrómeros submetacéntricos. Ambos son difíciles de distinguir entre sí, aunque el número 4 es

ligeramente más largo.

Grupo 6X a 12

De tamaño mediano con centrómero submetacéntrico. El cromosoma "X" se parece al cromosoma más largo de este grupo (el número 6) del cual es difícil distinguirlo. Este grupo es el más grande y el que presenta mayor dificultad en la identificación individual de cada cromosoma.

Grupo 13 a 15

De tamaño mediano con centrómeros casi terminales (acrocéntricos). El cromosoma 13 tiene un satélite prominente en los brazos cortos. El cromosoma 14 tiene pequeños satélites en los brazos pequeños. A la fecha no se han encontrado satélites al cromosoma 15.

Grupo 16 a 18

Cromosomas relativamente cortos, con centrómeros metacéntricos o submetacéntricos.

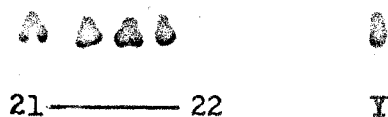
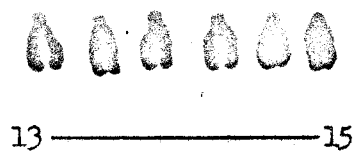
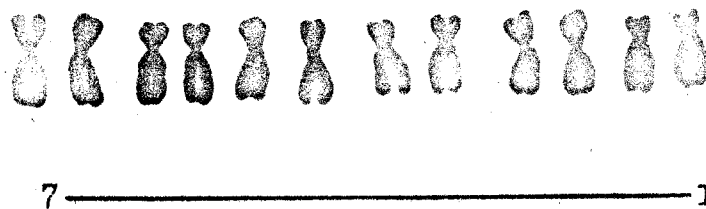
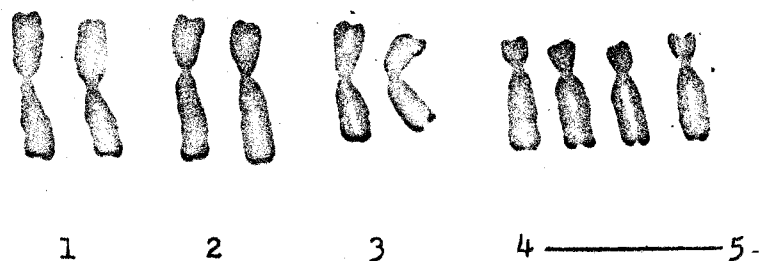
Grupo 19 a 20

Cromosomas cortos con centrómeros metacéntricos.

Grupo 21 a 22

Cromosomas acrocéntricos muy cortos. El cromosoma 21 tiene un satélite en sus brazos cortos. El cromosoma "Y" es similar a este grupo.

La descripción anterior se ilustra con los cariotipos normales del hombre y de la mujer en las Figuras Nos. 3 y 4.



CARIOTIPO DE HOMBRE NORMAL
Laboratorios Hospital Roosevelt



1 2 3 4 ————— 5



6 Y X



7 ————— 12



13 ————— 15



16 17 ————— 18 19 ————— 20



21 ————— 22

CARIOTIPO DE UNA MUJER NORMAL
Laboratorio del Hospital Roosevelt

En la actualidad, y a pesar de la exactitud de los resultados que puedan obtenerse, hace falta una mejor interpretación de los mismos. Por otro lado, la utilización de distintos tipos de células (leucocitos, células de la médula ósea y células epiteliales) introduce otros factores de variación. Por último, mientras que el conteo de cromosomas es relativamente sencillo, el apareamiento e identificación individual de los mismos generalmente es difícil y requiere mucho conocimiento y experiencia por parte del investigador (83). Esto es aún más importante cuando se trata de interpretación de anomalías cromosómicas.

Algunos errores en el sistema de identificación antes descrito han sido discutidos por Klaus Patau (71) al señalar ciertas ambigüedades en el lenguaje del informe de la Conferencia de Denver, ya que las técnicas en uso hoy en día permiten una identificación exacta de solamente 10 de los 23 pares

de cromosomas. Patau se refiere a los grupos 1 a 3 y 16 a 18, los cuales en su criterio, pueden ser identificados sin ninguna equivocación. Señala además que los grupos 4 a 5 y 19 a 20 pueden ser fácilmente identificados, pero son difíciles de distinguir entre sí. Por último, señala que para los grupos 6 a 12 y 13 a 15 los cromosomas individuales no pueden ser categóricamente identificados. Por otro lado, Patau indica que en los diferentes métodos de cultivo sanguíneo los mismos cromosomas pueden tomar apariencias morfológicas variadas. En resumen, los puntos fundamentales del análisis crítico de Klaus Patau relativo al reporte de Denver son los siguientes:

- 1) No se puede asignar números individuales a los cromosomas en los grupos de 6 a 12 y de 13 a 15.
- 2) Los cromosomas 21 y 22 son identificables por su tamaño, ya que el número 21 es más grande.
- 3) Los siete grupos del sistema Denver deben ser identificados alfabéticamente de la "A" a la "G" en vez de tener una asignación numérica. Por ejemplo, Patau considera que es más lógico hablar de la trisomía "D" que de la trisomía 13 a 15, ya que no hay distinción posible entre los miembros del grupo 13 a 15.

Otros autores critican la tesis de Patau señalando que, de no identificarse positivamente el cromosoma "X" dentro del grupo "C" es fácil confundir variaciones de la trisomía "C" con casos de triple "X" (71).

La última descripción, y quizás la más autorizada en lo que se refiere a la clasificación del cariotipo humano normal, fué propuesta en la conferencia de Londres, celebrada en agosto de 1963 (62). En esta conferencia, la comparación de trabajos de varios investigadores reveló que existía acuerdo sobre el largo relativo de cada par de cromosomas y sobre la longitud de brazos en los índices centroméricos, siempre que las figuras mitóticas fueran claramente delineadas y libres de irregularidades y condensaciones. De acuerdo con lo indicado en dicha conferencia, la variación en medición de cromosomas esta sujeta a factores tanto técnicos como biológicos, siendo algunos de estos factores de índole casual, y otros de producción sistemática. Un ejemplo de lo último lo cons-

tituye el efecto de la colchicina, que puede causar contracción en algunos cromosomas.

En la conferencia de Londres, se tomaron en cuenta dos nuevas técnicas en la identificación de cromosomas: (a) la demostración de constricciones en cromosomas específicos y, (b) la determinación autoradiográfica del momento en que la timidina- H^3 es incorporada en ciertas regiones de cromosomas específicos.

Algunos comentarios fueron agregados a la ya voluminosa literatura sobre la morfología de cromosomas pudiéndose resumir estos en la forma siguiente:

Grupo 1 a 3 (Grupo A) En muchas células se puede observar una constricción secundaria en la región proximal del brazo largo.

Grupo 4 a 5 (Grupo B) No se describieron cambios.

Grupo 6X-12 (Grupo C) (a) De los autosomas de este grupo cuatro son relativamente metacéntricos. Se propuso que és-

tos debieran ser numerados 6, 7, 8, y 11. (b) Tres cromosomas son submetacéntricos. Estos debieran ser numerados 9, 10, y 12. Una constricción secundaria es encontrada en la parte proximal del brazo largo de uno de dichos cromosomas, usualmente el número 9. En las células de la mujer normal hay un cromosoma que incorpora timidina marcada más lentamente y en forma característica. Se cree que este cromosoma sea el "X".

Grupo 13 a 15 (Grupo D) Se describe la identificación de satélites en cada uno de los tres pares cromosómicos.

Grupo 16 a 18 (Grupo E) Una constricción secundaria se ha visto frecuentemente en la parte proximal del brazo largo del cromosoma número 16.

Grupo 19 a 20 (Grupo F) No se describieron cambios.

Grupo 21 a 22 (Grupo G) y cromosoma "Y". Comunmente el cromosoma "Y" es mas grande que los cromosomas 21 o 22. La región terminal del brazo largo del "Y" puede ser pobremente definida y típicamente sus dos brazos lar-

gos parecen divergir menos que los de los otros cromosomas.

Otros comentarios importantes sobre los cariotipos normales han sido exteriorizados por el grupo de Audrey Bishop (14), quienes encontraron que en la mujer normal un cromosoma en el grupo 6X-12 incorporaba timidina- H^3 en una etapa más tardía de la síntesis del ácido deoxirribonucleico que los demás miembros de este mismo grupo. En preparaciones que han sido marcadas por mayor tiempo, el "X" tardío se identifica como el cromosoma más densamente marcado; mientras que en preparaciones rápidamente marcadas, el "X" tardío se identifica como el único cromosoma no marcado en el grupo 6X-12. La longitud del cromosoma "X" puede variar y por consiguiente su posición relativa en el grupo puede ser también alterada. La posición 7 es la mas común, sin embargo, algunas veces es difícil diferenciar el largo relativo del cromosoma "X" con el de los números 8 y 9. La variabilidad puede ser debida a contracción por el tratamiento con "Colcemid"

y/o timidina- H^3 .

Cohen et al (20) encontraron diferencias importantes en el largo del cromosoma "Y" en cinco diferentes grupos étnicos, siendo estos los siguientes: el Negro norteamericano, el Judío de Europa Central, el Cristiano anglo-sajón, el Japonés y el Indú. Dichas variaciones fueron observadas tanto en los individuos normales como anormales y fueron atribuidas a diversas causas como herencia, artefactos en el cultivo, variaciones en las técnicas utilizadas, y a diferencias en la cantidad de material cromático.

Los mismos autores explican las variaciones en tamaño como consecuencia de contracción de la heterocromatina, diferencia en respuesta a la colchicina, localización de los cromosomas en la célula (periférica o central) y etapa de la metafase estudiada.

Con respecto al cromosoma "Y", ya que a la fecha no se

le han encontrado genes (20) o si existen son pocos, su polimorfismo es bien tolerado. (94). Como se discutirá más adelante, muchas anomalías de los cromosomas sexuales son compatibles con la vida, mientras que defectos autosómicos son presumiblemente letales. Sin embargo, puesto que el cromosoma "X" es portador de al menos 60 genes somáticos o determinantes sexuales, no es de extrañar que anomalías en este cromosoma esten generalmente asociadas con infertilidad o retraso mental (83).

E. Mecanismos Genéticos que causan anomalías cromosómicas en el humano

Algunas anomalías cromosómicas son causadas por agentes mutagénicos. Tales agentes pueden ser físicos (radiaciones ionizantes, cambios en temperatura, en pH, etc), químicos (ácido nitroso, etc.), y biológicos (virus, etc). Los agentes mutagénicos actúan al nivel molecular causando alteraciones en la cadena normal de DNA mediante alguno de los siguientes procesos:

- 1) Supresión: quitando una de las bases y haciendo, por consiguiente, la cadena más corta.
- 2) Substitución: cambiando una base por otra en la cadena de polinucleótidos..
- 3) Inserción: agregando una base y haciendo la cadena más larga.
- 4) Inversión: alterando la secuencia de un segmento de polinucleótidos.
- 5) Modificación: alterando la estructura químico de una base.

Una vez que la alteración al nivel molecular es suficientemente grande, se puede detectar a través de cambios microscópicos en los cromosomas. Este tipo de cambio se

llama una aberración cromosómica y puede ser estudiado con la ayuda del microscopio de luz visible o con el microscopio electrónico. Las aberraciones cromosómicas pueden ser causadas por una alteración en la división celular. Esta alteración puede ocurrir durante la formación de gametos en la meiosis o durante la replicación de células somáticas en la mitosis.

Las variaciones en el número de cromosomas pueden deberse a no-disyunción o sea la no separación de las diadas durante la división, o a la no-conjunción o sea la falta de unión de los cromosomas durante la división.

La no-disyunción que ocurre durante la maduración de las células germinales causa la presencia de un cromosoma adicional en un gameto (que tiene un número haploide más uno), mientras que al otro gameto le falta un cromosoma (siendo haploide menos uno).

Cuando estos gametos se unen con un gameto normal en el

momento de la fertilización se desarrollaran en individuos con 47 y 45 cromosomas; los primeros, trisómicos, y los segundos monosómicos para el cromosoma particular involucrado. (véase Figura No. 5)

Además de las alteraciones debidas a cambios en número total de cromosomas, hay otras alteraciones frecuentes que son en realidad cambios en morfología de los mismos.

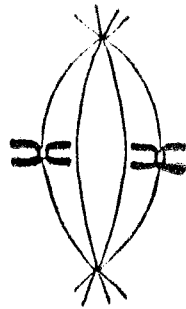
Las rupturas simples se consideran funcionalmente insignificantes como factores causantes de alteraciones cromosómicas produciendo un fragmento con centrómero y un segundo fragmento sin el, perdiéndose usualmente la porción acéntrica en divisiones celulares ulteriores.

El centrómero es indispensable para la división celular normal, y todos los cromosomas de los mamíferos contienen un centrómero bien localizado. Sin el centróme-

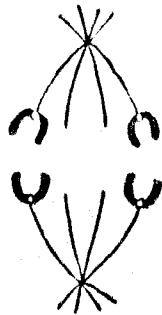
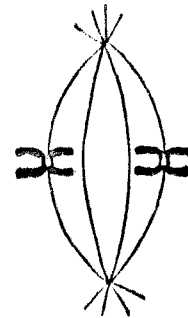
Figura No. 5

División Celular Normal

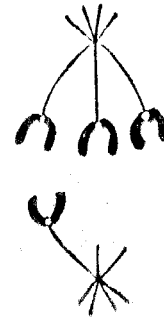
No-disyunción



Metafase



Anafase



Fuente: Hsia, D.Y.Y. (53)

no se podría adherir el cromosoma al ovillo, causando pérdida de cromosomas durante la división celular.

Los principales tipos de alteraciones cromosómicas debidos a ruptura son: inversión, supresión, duplicación, y translocación. Estas alteraciones pueden abarcar tanto los autosomas como los cromosomas sexuales. A continuación se comenta brevemente cada uno de dichos tipos de alteraciones.

Inversión es el rearrreglo más importante que ocurre debido a dos rupturas en el mismo cromosoma dando como resultado la reorientación de una de las fracciones en un sentido diferente al original. Las inversiones paracéntricas ocurren en un solo lado del cromosoma, ya sea en los brazos largos o en los cortos y no producen un cambio visible en la morfología del mismo. La inversión pericéntrica, al contrario, ocurre en lados opuestos del centrómero, desplazándolo y causando así un cambio visible en la mor-

fología del cromosoma. (vease Figura No. 6)

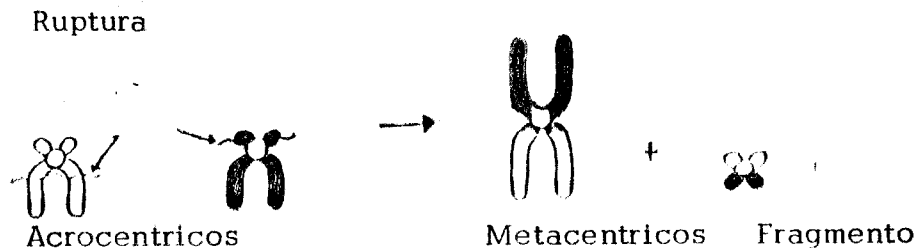
Supresión resulta de dos rupturas en un solo cromosoma con la consiguiente pérdida del segmento entre ambas rupturas, tal como se ilustra en la misma figura No. 6.

Duplicación se caracteriza por la presencia de un fragmento adicional de un cromosoma que puede existir aparte o adherido a otro cromosoma. Esto se diferencia de aneuploidia, que es una variación en el número normal de cromosomas enteros. (véase Figura No. 6)

Translocación es el intercambio entre cromosomas no-homólogos. (véase Figura No. 6)

El mecanismo de translocación recíproca, intercambio de fragmentos después de una ruptura, ocurre en dos cromosomas diferentes. El nuevo cromosoma formado como resultado de la translocación recíproca puede sobrevivir únicamente si contiene un centrómero. El hecho de encontrar 45 cromosomas en una persona "normal" o 46 en un mongol puede ser

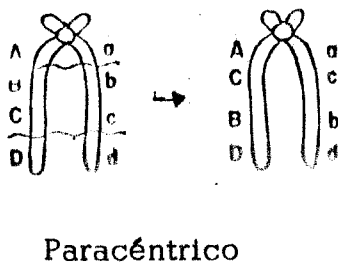
Figura No. 6



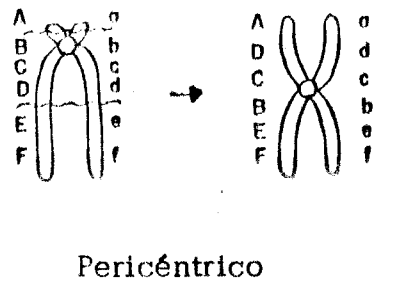
A) Translocación - Intercambio entre cromosomas no-homólogos



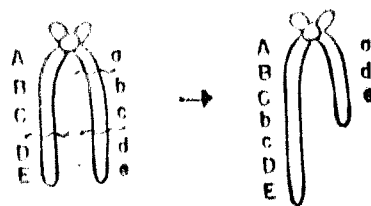
B) Formación de isocromosomas



C) Supresión



D) Inversiones



E) Duplicación

REAREGLOS CROMOSOMICOS COMUNES

Fuente: Hsia, D.Y.Y (53)

debido a un tipo de translocación recíproca entre cromosomas acrocéntricos llamado "fusion céntrica". Cuando la ruptura ocurre entre el brazo largo de uno y el brazo corto del otro, la reunión de estos fragmentos produce un cromosoma grande submetacéntrico y un pequeño. Los dos poseen centrómeros pero el último por su tamaño se pierde en divisiones ulteriores. Carter (16) ha señalado que hasta la fecha sólo los cromosomas acrocéntricos han sido involucrados en problemas de translocación. Esto puede ser debido a su mayor labilidad.

Los isocromosomas son productos de una división en el sentido transversal llevándose en esta forma brazos cortos con centrómero hacia un polo y brazos largos con centrómero hacia el polo opuesto. De un cromosoma submetacéntrico original resulta un cromosoma con ambos brazos largos y uno con ambos cortos, tal como se explica gráficamente en la Figura No. 6.

Otra alteración importante, la formación de cromosomas anu-

lares, se produce cuando dos rupturas ocurren en un mismo cromosoma, en lados opuestos del centrómero. La fusión de estos extremos ocurre y un cromosoma en anillo es formado. Estos cromosomas usualmente son inestables durante la división celular.

Wang (98) ha reportado que dos pacientes que presentaban cromosomas en anillo no estaban aparentemente afectados por esta condición, lo que hace suponer que cualquier supresión durante la formación del anillo debe haber sido relativamente pequeña.

Cromosomas estables en anillo han sido encontrados en las células poliplóides de carcinoma del pulmón y del estómago.

Anillos inestables han sido encontrados como consecuencia de leucemia aguda, y a consecuencia de tratamiento por irradiación. La no-disyunción de las cromátidas en anillo durante la anafase conduce a la exclusión de un cromosoma en los núcleos hijos. Las cromátidas excluidas forman un micronúcleo en el citoplasma de una de las cé-

lulas hijas la cual más tarde puede eliminar el micronúcleo o degenerarse (93).

Desde el punto de vista médico, el aspecto más importante del cromosoma en anillo es su relación con algunos síndromes clínicos, derivándose éstos de dos circunstancias: (a) pérdida de material genético, y, (b) una alta proporción de mitosis anormales.

El mosaicismo es un error en la división celular normal el cual produce células genéticamente diferentes en uno o varios tejidos. La ocurrencia de este fenómeno (aún no totalmente comprendido) da como resultado que el organismo contenga células de dos o más orígenes, con números diferentes de cromosomas. Debido a la gran variabilidad en el número de cromosomas encontrados en los humanos normales, Court Brown (23) sugiere cautela a los investigadores, recomendando que se utilicen tres criterios antes de hacer el diagnóstico de mosaicismo en un caso particular: (a) que el número de células

con recuentos cromosómicos anormales sea mayor de lo esperado por azar; (b) que las células atípicas pueden reproduciblemente ser demostradas en más de un tejido ; y, (c) que el mismo cariotipo esté presente en cada uno de las células modificadas.

Las miríadas de divisiones mitóticas que ocurren durante el crecimiento corporal pueden producir ocasionalmente un error por lo cual cualquier individuo puede tener mosaicismo en mayor o menor grado.

El mosaicismo es más común en cromosomas sexuales que en autosomas. En general, el número relativo de células modificadas a células normales influye determinantemente en el cuadro clínico, en el tratamiento y aún en el pronóstico.

Al discutir los mecanismos de producción de anomalías, es necesario mencionar los factores precipitantes de las mismas. La edad de la mujer ha sido frecuentemente mencio-

nada como causante de efectos deletereos sobre el huevo. La irradiación ha sido también implicada en la producción de anomalías transitorias tanto en la sangre como en otros tejidos. Finalmente, algunos virus se han considerado como responsables de ciertas anomalías transitorias (31).

F. Aspectos Clínicos

1) Anomalías Autosómicas

a) Mongolismo o Enfermedad de Down

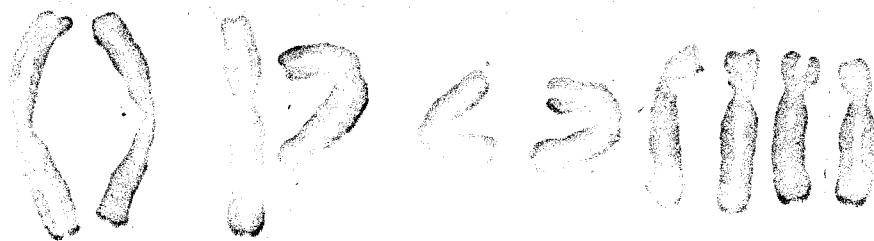
El signo universal del mongolismo es el retraso mental, variando en grado desde un imbécil hasta un morón. Otros signos sobresalientes son: el engrosamiento de la piel, la hipertrófia de la lengua y la boca abierta y babeante. Puede haber plica malo-marginales en una cara ancha con pómulos salientes y nariz plana. A menudo se encuentran anomalías cardíacas o gastro-intestinales congénitas. A través del estudio dermatoglífico se pueden apreciar variaciones en las líneas palmares.

Desde el punto de vista de los cromosomas existen tres variedades de mongolismo, aunque las manifestaciones clínicas sean idénticas. Dichas variedades son: trisomía 21, translocación de novo, y translocación heredada.

La no-disyunción del mongol con trisomía 21 generalmente se debe a la incorrecta segregación de los cromosomas

en la primera división meiótica en uno de los padres. No se sabe con certeza la causa de la no-disyunción; sin embargo puesto que el tiempo de la formación de los gametos varía dependiendo de la edad de la mujer, hay una tendencia mayor a la no-disyunción en mujeres de edad más avanzada. Algunos cromosomas, especialmente los acrocéntricos, se vuelven mas pegajosos y tienen dificultad en separarse. En vista de que la espermatogénesis es un proceso continuo, esta teoría no parece ser aplicable al sexo masculino. (véase Figura No. 7)

En los mongoles del tipo de translocación de nóvo, el proceso de translocación se agrega a la no -disyunción. En este caso, los padres son normales desde el punto de vista cromosómico y el niño tiene 46 cromosomas, pero éstos incluyen tres números 21, estando uno de ellos adheridos a otro cromosoma acrocéntrico.



1 2 3 4 ——— 5



6 Y X



7 ——— 12



13 ——— 15



16



17 ——— 18



19 ——— 20



21 ——— 22

Trisomia 21-22 (G)

Hospital General de Massachusetts
Boston, Massachusetts, EE.UU.

Si se adhiere a un cromosoma del grupo 13-15, se llama translocación D/G, y si se adhiere a un cromosoma del grupo 21-22 se llama translocación G/G. (véase Figura No. 8).

Los mongoles de translocación heredada pueden ser descendientes de padres que tienen 45 cromosomas con un cromosoma número 21 trasladado a otro acrocéntrico, sin dejar ni exceso ni defecto de material genético (7,24). Sin embargo, la gametogénesis en estos adultos puede producir cuatro diferentes tipos de combinaciones: (a) un cromosoma normal número 13 puede migrar con un cromosoma número 21 libre, produciendo un niño normal;

(b) un cromosoma número 13 normal puede migrar hacia una célula que no tenga ningún cromosoma número 21, libre o trasladado, después de la fertilización, produciendo monosomía autosómica, la cual es letal;

(c) una translocación del cromosoma número 13 sobre el cromosoma número 21 puede migrar a un gameto sin cromo-

soma número 21 libre, en cuyo caso la fertilización puede producir un portador sano;

(d) la translocación del cromosoma número 13 sobre el cromosoma número 21 puede ser incorporado con un cromosoma número 21 libre, produciendo un verdadero mongol al haber fertilización.

Se han descrito otros mecanismos que pueden causar mongolismo, pero estos son bastantes raros y únicamente se pueden citar muy ocasionalmente (18, 39, 94). Menos raro es el factor irradiación, ya que se ha encontrado en algunos casos que mujeres que han sido expuestas por un tiempo significativo tanto a fluoroscopia como a irradiación terapéutica han dado origen a mongoles en su descendencia. En hombres, se ha comprobado que exposición al radar ha resultado en producción de espermazoides anormales dando origen a mongolismo en su progenie (81).

Se debe señalar que en el mongolismo, los estudios genéticos

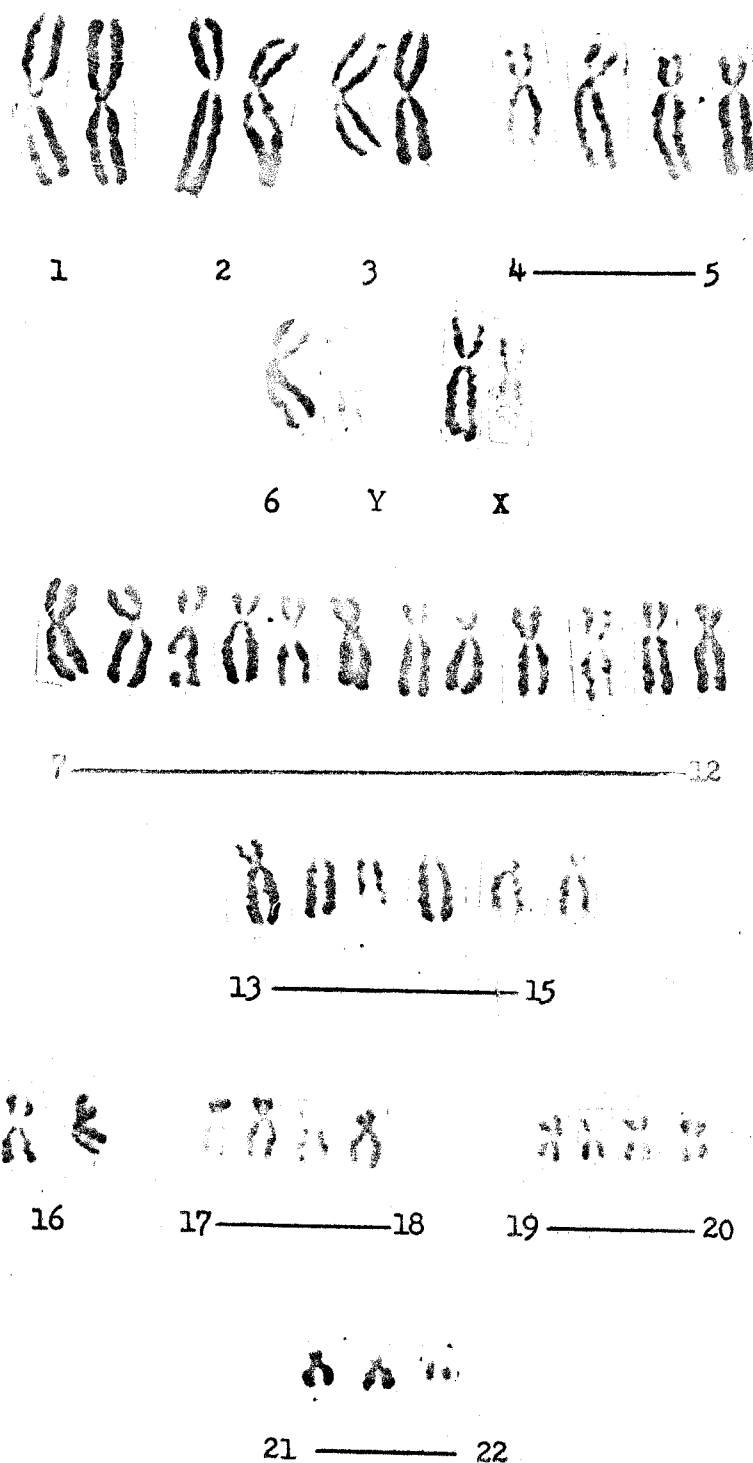
ayudan a interpretar y explicar la naturaleza y la causa de esta enfermedad, así como a predecir el riesgo de que ocurra de nuevo.

Si la madre es mayor de 35 años, se puede pensar que se trata de una enfermedad edad-dependiente, y no de un padre portador de translocaciones. Aquí es cuando los estudios cromosómicos se vuelven indispensables.

b) Trisomía D

Niños padeciendo del síndrome de trisomía D viven pocos días y presentan una serie relativamente constante de anomalías tales como: retraso mental, labio leporino y paladar endidido, múltiples hemangiomas capilares, polidactilia tanto en las manos como en los pies y defectos del septum cardíaco (9,73). Se cree que los mecanismos citogenéticos en una trisomía D, ya sea de los cromosomas 13, 14, o 15, son debidos a la no-disyunción en el gameto materno. El embarazo que resulta de la fertilización de

Figura No. 8



Portador de una translocacion D/G

Hospital General de Massachusetts,
Boston, Massachusetts, EE. UU.

este gameto termina, por lo regular, en un aborto espontáneo.

c) Trisomía E

Niños con trisomía E (cromosoma número 18) no desarrollan normalmente y mueren a una edad temprana. Esta anomalía se observa más frecuentemente que la trisomía D, presentando los siguientes síntomas: retraso mental, baja implantación de los pabellones auditivos, micrognathia, occipucio prominente, hernia umbilical o inguinal, hipertonicidad muscular moderada, flexión de los dedos (dedo índice sobre el medio), planta de los pies en mesedora, y rigidez extrema. Estos niños tienen impresiones digitales y líneas palmares especiales, aunque la palma de la mano es muy difícil de examinar debido a la hiperflexión (94). Al igual que en otros casos parece ser que la no-disyunción del gameto materno es el mecanismo. (véase Figura No. 9)

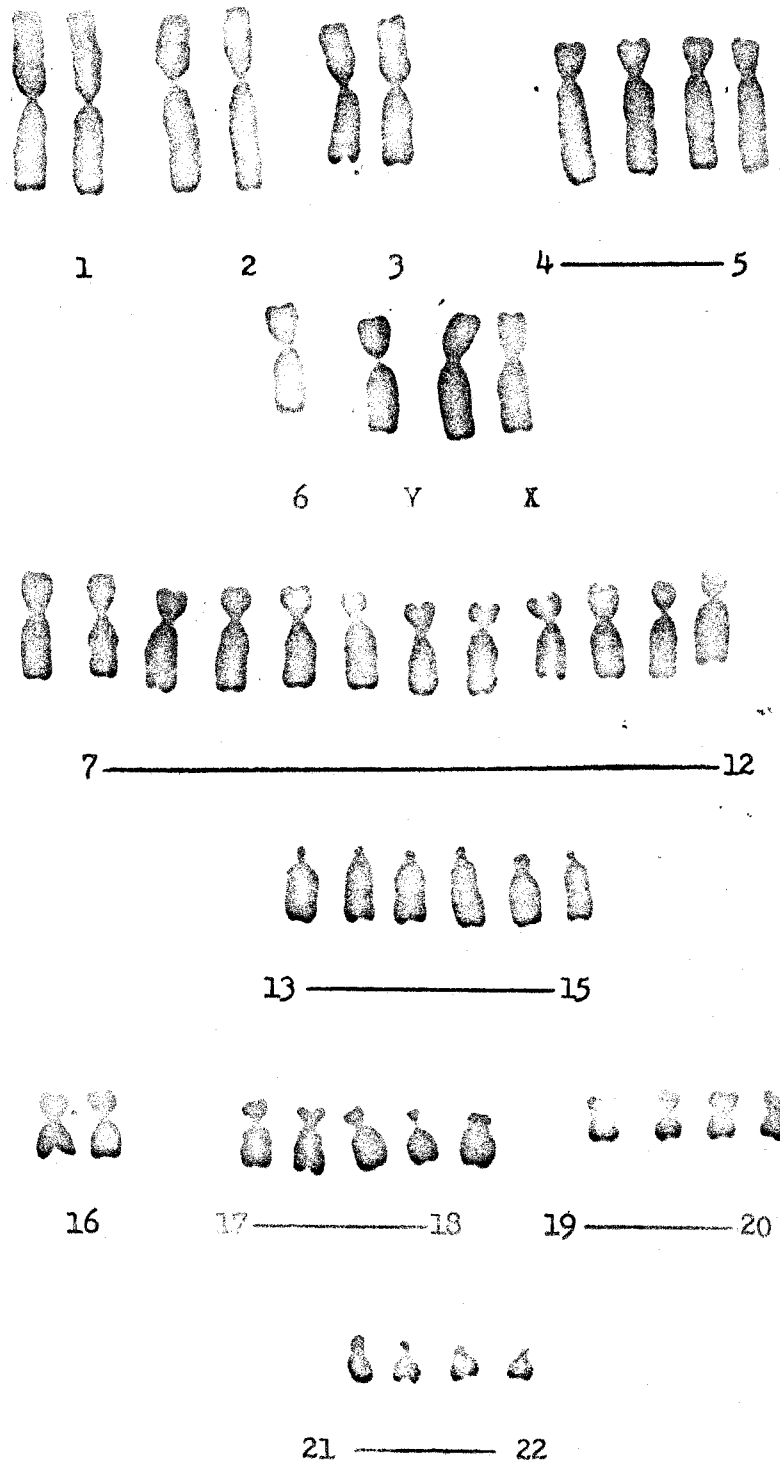
d) Cri du Chat

Esta enfermedad se encuentra en niños y es llamada así debido al llanto que se asemeja al maullido de un gato pequeño. Además, hay microcefalia con retraso mental marcado e hipertelorismo.

El trastorno cromosómico no es la trisomía usual, pero una supresión haciendo falta parte del brazo corto del cromosoma número 5. La no-disyunción no parece ser el mecanismo de esta anomalía, sino más bien parece que se trata de una supresión (64, 94).

e) Leucemia Mielocítica Crónica (LMC)

En esta enfermedad se ha encontrado un pequeño cromosoma acrocéntrico en el grupo "G" con supresión de su brazo largo. Este fenómeno fué observado en cultivos de corta duración tanto en sangre periférica como en médula ósea. Este pequeño acrocéntrico no ha sido encontrado en otros tejidos. Durante la remisión de la enfermedad (LMC) se le encuentra con menor frecuencia. Parece ser que la presencia



Trisomia 18

Hospital General de Massachusetts
Boston, Massachusetts, EE.UU.

o ausencia del "cromosoma Filadelfia" (llamado así porque fué observado por primera vez en esa ciudad) afecta la evolución de la leucemia mielocítica crónica (58, 92). El aumento en la incidencia de leucemia aguda en mongolismo se presta a la teoría de que: en el mongolismo existe un cromosoma 21 extra; mientras que en la leucemia mielocítica crónica existe únicamente un fragmento del número 21. Se sabe también que en la LMC la actividad de la enzima fosfatasa alcalina se encuentra reducida mientras que en el mongolismo está aumentada. De estos hechos se puede deducir que el gene para la enzima mencionada está localizado en el cromosoma 21 (79).

Hasta ahora sólo las enfermedades mencionadas han sido asociadas continuamente con anomalías autosómicas.

2) ANOMALIAS EN LOS CROMOSOMAS SEXUALES DE LA MUJER

Un complemento de dos cromosomas "X" produce sexo femenino mientras que una combinación de "XY" produce sexo masculino. El hecho de que la gonada indeferenciada se convierta en un ovario funcionante con un fenotipo femenino no se determina simplemente por la ausencia del cromosoma "Y", sino por la presencia de un juego completo de cromosomas "X". Si el complemento normal esta presente, el ovario se desarrolla y la maduración de la mujer continúa hacia la pubertad, la ovulación, la menarquia, y la menopausia. Si, por un error, mas de dos cromosomas "X" estan presentes en el cigote, el ovario puede o no desarrollarse normalmente. Si, por el contrario, el cigote es monosómico para el cromosoma "X", el ovario no se desarrolla, causando amenorrea y esterilidad. Cuando existe en el cigote un cromosoma "X" y un "Y", alrededor de la séptima semana comienza a desarrollarse el testículo (94).

Las anomalías cromosómicas no causan estados intersexuales. Sin embargo, si hay mosaicismo y unas células llevan un cromosoma "Y" y otras no, puede haber un desarrollo genital indiferenciado, o aún gonadas masculinas y femeninas en el mismo individuo (94).

El hecho de que se encuentren más individuos mosáicos entre las anomalías cromosómicas sexuales que en las anomalías autosómicas, se debe tal vez a que hasta la fecha, todas las anomalías monosómicas autosómicas han sido letales; de manera que la no-disyunción del cromosoma 21 en la primera división mitótica del cigote produce dos líneas celulares: una trisómica 21, y otra monosómica que inmediatamente desaparece. El embrión continua desarrollándose a partir de la línea viable trisómica, sin que se pueda aseverar que fuese alguna vez un mosáico.

MacLean et al (63) en un estudio de 10,000 frotis de mucosa oral de individuos con fenotipo femenino, encontraron que

tres fueron "XO" con anomalías detectables mientras que doce tenían "XXX". Esta es, a la fecha, la anomalía mas comunmente encontrada en recién nacidos. Los mismos autores estudiaron 10,000 individuos con fenotipo masculino, de los cuales 21 presentaron cromatina positiva, indicando que poseían el cariotipo "XXY".

a) Síndrome de Turner, "XO"

A través del reciente trabajo de Carr, (94), se ha podido observar que alrededor de 98% de los productos de las concepciones con "XO" son terminados en abortos, y solo 2% continúan su desarrollo y nacen vivos.

La característica esencial de este síndrome es la pérdida para el cigote y consecuentemente para el individuo, de un cromosoma "X". No se sabe si el "X" existente viene de la madre o del padre. En algunos casos solo parte del brazo corto del cromosoma "X" se pierde. Sin embargo, ya que en ambos casos la corteza ovárica no se desarrolla,

existe la correspondiente falta de folículos. Estos pacientes sufren ante todo de amenorrea primaria, infertilidad y falta de desarrollo sexual, tanto primario como secundario. Otros signos de notar son: talla corta, cuello palmeado, cubitus valgus, y coartación de la aorta. (véase Figura No. 10)

b) Femenización Testicular "XY"

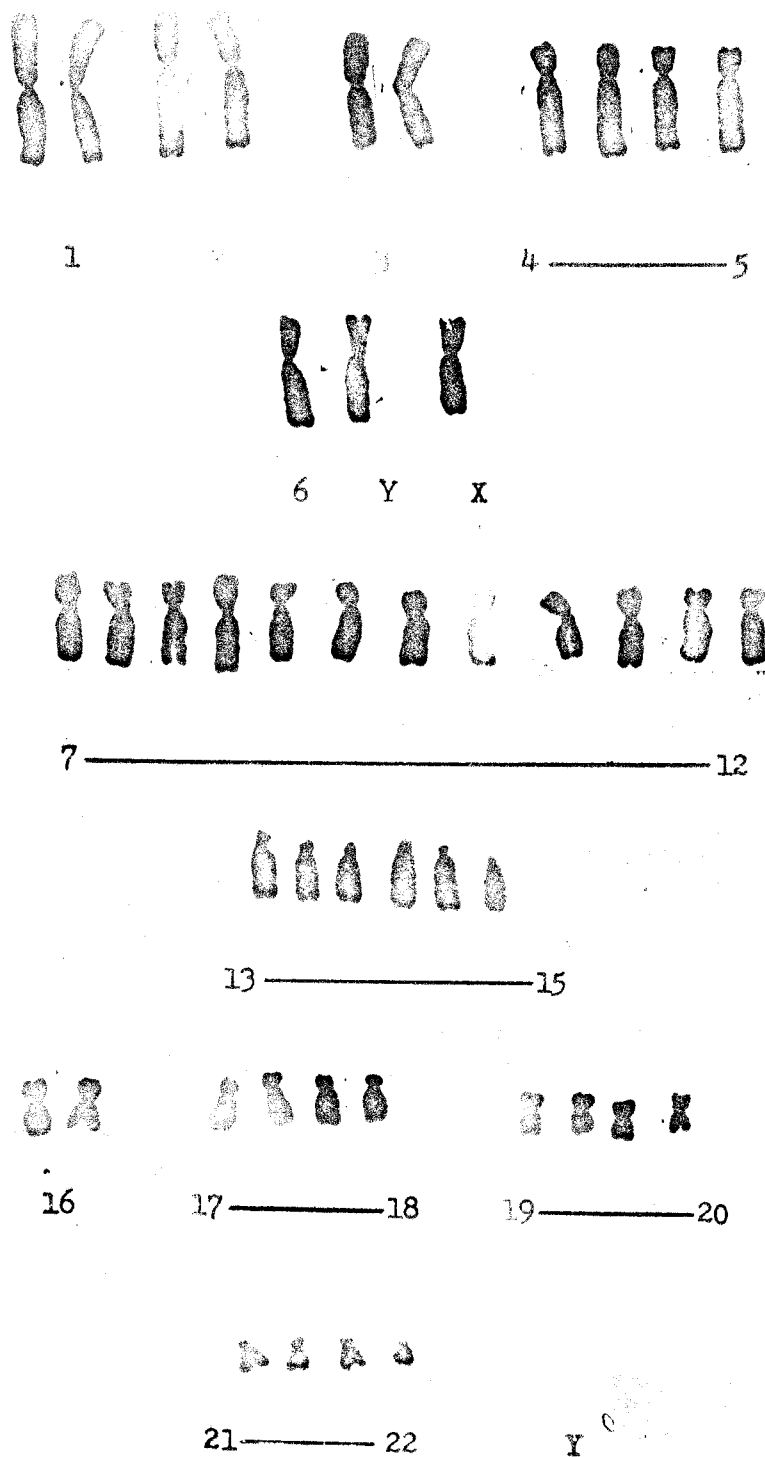
Es un estado intersexual, caracterizado por la presencia de genitales femeninos externos, mamas normales, ausencia del utero, presencia de los testículos, y un complemento cromosómico sexual "XY". Parece ser un trastorno hereditario, transmitido por un gene recesivo localizado en un par autosómico o en un cromosoma "X" (57). Se puede en realidad llamar un error congénito del metabolismo, en el sentido que a través de este error los testículos fetales no pueden producir las sustancias responsables de la masculinización. En su ausencia, el feto se desarrolla hacia el sexo femenino.

Una hipótesis alternativa es que sí se produce sustancias masculinizantes como en un hombre normal "XY", pero los tejidos del tracto genito-urinario no responden a sus efectos. Los testículos de estos pacientes usualmente son ectópicos. Los túbulos seminíferos son delgados, frecuentemente sin luz, compuestos de células epiteliales indiferenciadas muy distintas de las células de Sertoli normales. Esto explica la falta de espermatogénesis.

c) Polisomía "X"

Este trastorno causado por la no-disyunción produce individuos que pueden tener cromatina positiva (2, 3, o 4+). Se observa mas a menudo que el síndrome de Turner. Por lo regular los pacientes son retrasados mentales ya sean o no fértiles.

Figura No. 10



Síndrome de Turner

Hospital General de Massachusetts
Boston, Massachusetts, E.E.U.U.

3) ANOMALIAS DE LOS CROMOSOMAS SEXUALES EN EL HOMBRE

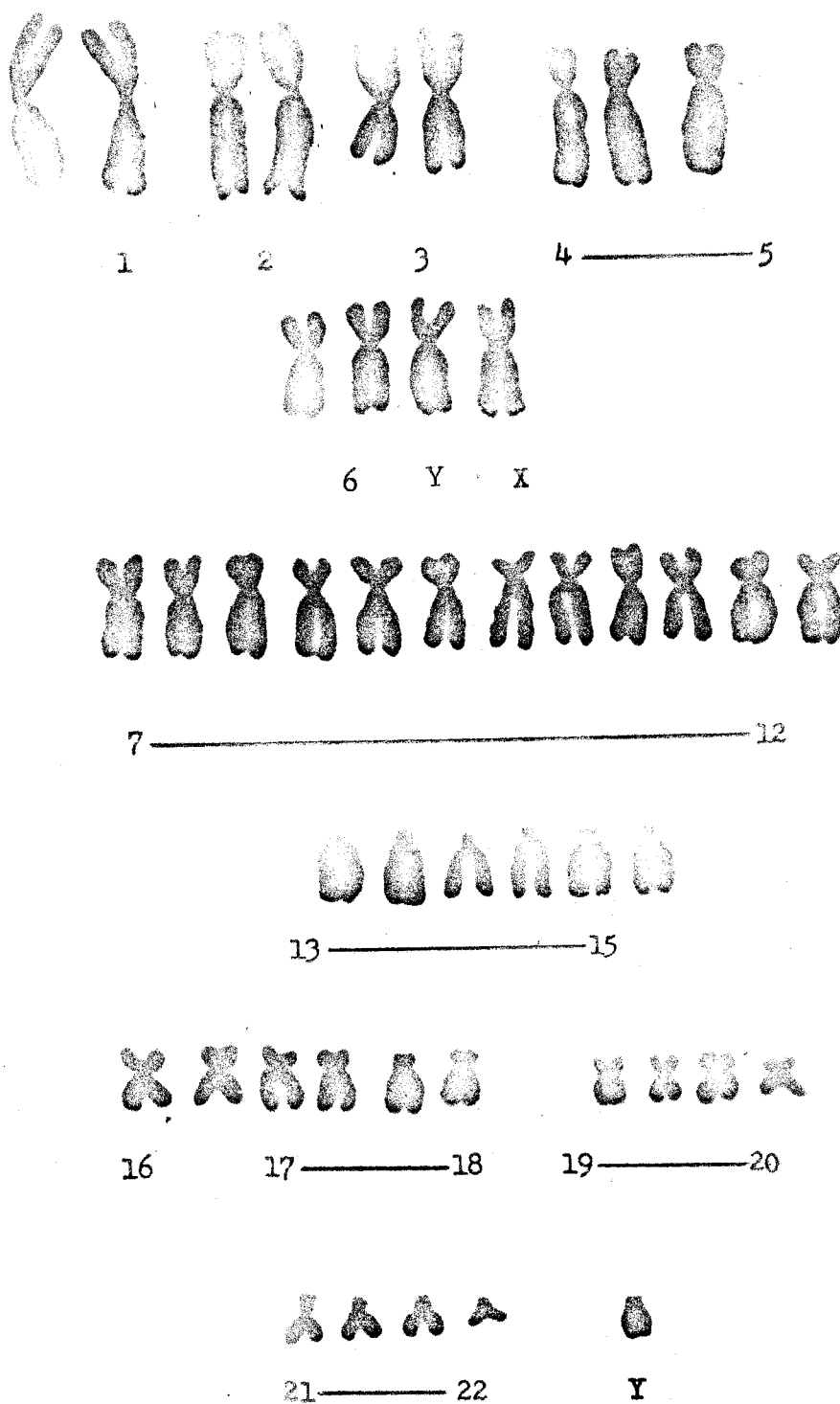
a) Síndrome de Klinefelter

Mejor nombre sería disgénesis tubular o micro-orquidismo con cromatina positiva debido al cariotipo "XXY". Es difícil hacer el diagnóstico antes de la pubertad, pero cuando existe un retraso en ésta y al mismo tiempo un retraso mental, se debe sospechar el síndrome.

El mecanismo citogenético todavía no está bien comprendido.

Puede ser que un espermatozoide normal "Y" se una con un óocito "XX" o que un oocito normal se una con un espermatozoide "XY"; la falla ocurre en uno de los padres (83). El síndrome de Klinefelter puede tener una variedad de cariotipos basados en el tema básico "XXY" (hasta 6 "X" y 1 "Y") (94) (véase Figura No. 11)

Figura No. 11



Síndrome de Klinefelter

Hospital General de Massachusetts
Boston, Massachusetts, EE. UU.

CAPITULO II

PROPOSITO

El objeto de este trabajo es el de investigar la posible relación entre alteraciones cromosómicas y ciertas condiciones patológicas.

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

MATERIALES

Los materiales para cultivo fueron obtenidos de Difco-Laboratories, Detroit, Michigan U.S.A.

TC-CHROMOSOME MICROTEST KIT code 5060 conteniendo:

TC-CHROMOSOME MICROTEST MEDIUM AND RECONSTITUTING FLUID

TC-CHROMOSOME MICROTEST ARRESTING FLUID

TC-HANK'S SOLUTION

BACTO-GIEMSA STAIN

Solución de Giemsa: 1 ml. de colorante de Giemsa diluido con 19 ml. de agua destilada a la temperatura ambiente.

BALSAMO DEL CANADA

AGUA DESTILADA

SOLUCION DE FIJADOR Tres partes de Metanol y una parte de ácido acético glacial.

LANCETAS ESTERILES PARA EXTRACCION DE SANGRE

TUBOS CAPILARES ESTERILES CON BULBOS

PIPETAS DE PASTEUR (SIN CALIBRACION) CON BULBOS

TUBOS CON TAPONES DE ROSCA 10 ml.

CENTRIFUGA ROTOFIX 2800

TUBOS DE CENTRIFUGA (CONICOS) 12 ml.

MICROSCOPIO DE LUZ VISIBLE

INCUBADORA

PORTA Y CUBREOBJETOS

REFRIGERADORA

EQUIPO FOTOGRAFICO:
CAMARA LEICA MODELO 3F
PAPEL FOTOGRAFICO KODAK No. 1
PELICULA KODAK "PANATOMIC X"

METODOS

Los pacientes estudiados fueron referidos por el servicio de Neurología del Hospital Roosevelt de la ciudad de Guatemala con un diagnóstico clínico tentativo el cual pudo ser clasificado en tres grupos: 1) retraso mental 2) mongolismo 3) síndrome de Klinefelter o de Turner. Los pacientes eran de ambos sexos con una variación en edad entre uno y veinte años.

Miembros del personal técnico del mismo hospital fueron utilizados como controles. Muestras de sangre fueron obtenidas por punción venosa o por medio de lancetas colectando la sangre en tubos capilares.

PROCEDIMIENTO DE CULTIVO

- 1.- Agregar 3 gotas de sangre al medio de cultivo. Mezclar e incubar a 37°C por 72 horas. Dispersar las

células y mezclar el cultivo por lo menos dos veces al día. Mantener el pH de la mezcla entre los límites requeridos utilizando para esto un indicador.

2. Después de las 72 horas agregar 1 ml. de "TC-CHROMOSOME MICROTEST ARRESTING FLUID". Incubar a 37°C por 3 a 6 horas.
3. Transferir el cultivo con una pipeta de Pasteur a un tubo de centrifuga de 12 ml. Centrifugar por 10 minutos a 800 rpm. Aspirar el sobrenadante dejando 0.5 ml. del mismo con las células empacadas. Resuspender las células en 5 ml. de solución de Hank. Centrifugar a 800 rpm por 5 minutos y aspirar el sobrenadante dejando 1 ml. Resuspender las células en agua destilada a 37°C y dejar reposar por 10 minutos.
4. Centrifugar a 600 rpm por 5 minutos. Aspirar todo el sobrenadante y agregar cuidadosamente para no mezclar el sedimento 1 ml. de solución de fijador. Dejar reposar du-

rante la noche en refrigeración.

5. El día siguiente resuspender las células y centrifugar a 600 rpm por 5 minutos. Aspirar todo el sobrenadante y resuspender las células en 0.5 ml. de solución fresca de fijador.
6. En láminas pre-enfriadas a $+5^{\circ}\text{C}$ colocar 4 gotas de la suspensión de células. Dispersar las células sobre la lámina y fijarlas pasando la lámina sobre una llama.
7. Colorear las láminas por 10 a 20 minutos con colorante de Giemsa, luego lavar con agua destilada y secar al aire. Hacer preparaciones permanentes con Balsamo de Canada.
8. Tomar fotografías.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

En las muestras obtenidas de personas normales fué posible obtener cariotipos con buena coloración, los cuales preservaban la morfología de los diferentes cromosomas. En los pacientes estudiados únicamente alrededor de 50% de las preparaciones fueron de suficiente buena calidad para ser utilizados en este estudio. A pesar del diagnóstico clínico tentativo, todos los pacientes estudiados presentaron un recuento normal de cromosomas y una morfología normal. Sin embargo, algunos casos presentaron aspectos interesantes que vale la pena mencionar.

Pacientes B.P.S.: sexo femenino de 19 años de edad con diagnóstico de síndrome de Turner, por una amenorrea primaria. Un examen de la cromatina sexual fué reportada negativo (?). En este estudio se observó un cariotipo con 46 cromosomas normales.

Paciente F.E.: sexo masculino de 3 años y 8 meses de edad, con diagnóstico de pubertad precóz de origen indeterminado. El paciente tenía un marcado desarrollo somático y genital en relación a su edad cronológica. Su edad ósea era de 9-12 años. Mostraba además un marcado retraso mental, cambios en la voz, y vello pubiano escaso. Una biópsia testicular demostró fragmentos de testículo inmaduro con espermatoblastos. Un piellograma i.v. y radiografías del craneo fueron reportados como normales.

El primer cultivo no resultó satisfactorio. Al efectuarse un segundo cultivo, se extrajo la sangre durante la fase prodromal de sarampión. Esta vez no se encontró ninguna célula en mitosis. El tercer cultivo fue satisfactorio con resultados normales; es decir, 46 cromosomas normales.

Pacientes I.E.: sexo femenino de 19 años de edad con diagnóstico de síndrome de Turner (?) por una amenorrea primaria. Genitales externos aparentemente normales. Ha estado en tratamiento durante 4 años. El cultivo fué satisfactorio y se encontró un cariotipo de 46 cromosomas sin alteraciones aparentes.

Pacientes R.N.S.C.: sexo femenino de 5 años de edad con los siguientes diagnósticos: (a) retraso mental; (b) enfermedad convulsiva; (c) quadriplegia espástica; y, (d) microcefalia. El cultivo fué satisfactorio y el resultado normal.

Pacientes A.R.R.M. y J.L. R.M.: de sexo masculino, gemelos idénticos de 2 años 2 meses de edad, quienes fueron referidos con un diagnóstico tentativo de "Cri du Chat". Presentaban severo retraso mental con hipotonicidad muscular. Sin embargo, los cariotipos no confirman este diagnóstico, siendo el resultado de 46 cromosomas con morfología normal.

Pacientes J.R.B.R.: sexo masculino de 1 año y 9 meses de edad que presentaba retraso mental y un estado convulsivo. El cario-

tipo mostró 46 cromosomas normales.

A pesar del número de pacientes examinados con distintos diagnósticos clínicos, no se encontraron anomalías cromosómicas en ninguno de ellos. Este hecho no debe extrañar, ya que la incidencia de estas anomalías en otros países es de 3%, aun en pacientes con cuadros clínicos mas sugestivos.

Hubo una experiencia interesante con el paciente F.E., quien padecía de sarampión al efectuarse el examen. En este caso no encontramos mitosis durante las fase aguda de la enfermedad. Sin embargo, unas semanas más tarde se encontró un cariotipo normal. Mella (65) ha reportado que en pacientes con hepatitis a virus no es posible observar los cambios mitóticos habituales. De acuerdo con los resultados aqui presentados, es posible inferir que el sarampión, aún en su fase prodromal, puede producir cambios en el número de mitosis observadas, similares a los encontrados en hepatitis a virus.

En cultivos mantenidos por 4 días se observaron más células en mitosis. El procedimiento usado es preferible modificarlo en la siguiente manera: (a) eliminar por completo el lavado de las células con solución de Hank por ser causa potencial de pérdida de material; (b) dispersar el sedimento en la solución fijadora inmediatamente y no esperar las 24 horas, evitando así aglutinamiento de las células; (c) preparar el colorante de Giemsa a mayor concentración para obtener preparaciones mas nítidas y mejor coloreadas lo cual permite la obtención de mejores fotografías; (d) montar permanentemente las láminas con resinas sintéticas produciendo así menos distorsión; (e) extraer la sangre en tubos heparinizados; y, (f) preparar a la misma vez de 6 a 10 tubos de cultivo del paciente para tener reserva de material. Para seleccionar con mayor cuidado los pacientes y a la vez evitar trabajo innecesario, se debe en todo caso hacer primero un estudio de las células de la mucosa oral (43,69). En esta forma se estudia la cromatina sexual y si todavía existe una

duda se procede a efectuar el cultivo, descartando o confirmando ciertos diagnósticos clínicos, y evitando en muchos casos la necesidad de hacer un cultivo.

CAPITULO V

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se han estudiado, desde el punto de vista cromósomico, 27 pacientes supuestamente afectados de enfermedades clínicamente atribuibles a alteraciones cromosómicas, quienes fueron referidos con diagnósticos clínicos tentativos.

Aunque todos los cariotipos fueron normales, esto no significa que no se presenten anomalías cromosómicas en nuestro medio. Mas bien, se estima que los resultados se pueden atribuir a tres factores: (a) diagnósticos clínicos erróneos o incompletos, (b) técnicas deficientes de laboratorio, (c) falta de experiencia en la interpretación de cariotipos.

Se considera que los estudios cromosómicos representan un instrumento útil, y aún indispensable, en el correcto diagnóstico de ciertas enfermedades, y se espera que en el futuro su uso se generalice en nuestro medio.

BIBLIOGRAFIA

1. Anne, J.M. & M.C. Brown. Secondary constrictions of chromosomes. *Lancet* 2: 1282. 1962.*
2. Atkins, L., B. Santesson & H. Voss. Partial deletion of an X chromosome. *Ann. Hum. Genet.* 29: 89-95. August, 1965.*
3. Atkins, L. & B. Santesson. The pattern of DNA synthesis in the chromosomes of human cells containing an isochromosome for the long arm of an X chromosome. *Hereditas* 54: 67-73. 1964.*
4. Atkins, L. & E. Engel. Absence of the "Y" chromosome. *Lancet* 1: 20-23. 1962.*
5. Atkins, L. & K.H. Gustavson. The pattern of DNA synthesis in human chromosomes in cells with an XXY sex chromosome constitution. *Hereditas* 52: 135-145. 1964.*
6. Atkins, L. & M. Goulian. Multiple clones with increase in number of chromosomes

in the G group in a case of Myelomonocytic
Leukemia. Cytogenetics 4: 321-328. 1965.*

7. Atkins, L., M.A. O'Sullivan & C.V. Prules.
Mongolism in three siblings with 46 chro-
mosomes. New Eng. J. Med. 266: 631-635.
March 29, 1962.*
8. Atkins, L. & M.E. Keenan. Probable 3/13-15
chromosome translocation with D₁ trisomy
syndrome. J. Pediat. 67 (5 Part 1):
874-877. November, 1965.*
9. Atkins, L. & M.K. Rosenthal. Multiple con-
genital abnormalities associated with
chromosomal trisomy. New Eng. J. Med.
265: 314-318. August 17, 1961.
10. Atkins, L., P. Taft & K.P. Dalal. Asynchro-
nous DNA synthesis of sex chromatin in
human interphase nuclei. J. Cell Biol.
15 (2): 390-393. 1962.*
11. Atkins, L. et al. Two cases with a C-group
ring autosome. Ann. Hum. Genet. 30:
1-6. July, 1966.*

12. Baikie, A.G. et al. Numerical abnormalities of the X chromosome. *Lancet* 1: 398. 1965st
13. Barr, M.L., D.H. Carr. Sex chromatin, sex chromosomes, and sex anomalies. *Canad. Med. Ass. J.* 83: 979-986. November 5, 1960.*
14. Bishop, A., M. Leese & C.E. Blank. The relative length and arm ratio of the human late-replicating X chromosome. *J. Med. Genet.* 2: 107. 1965.
15. Carr, D. H. Chromosome studies in spontaneous abortions. *Obstet. & Gynecol.* 26 (3): 308-325. September, 1965.
16. Carter, C.C., et al. Chromosome translocation as a cause of familial Mongolism. *Lancet* 2: 676. 1960.
17. Chu, E.H.Y. & N. H. Giles. Human chromosome complements in normal somatic cells in culture. *Amer. J. Human Genet.* 11: 63 1959.

18. Clark, C., J.H. Edwards & V. Smallpiece.
Twenty-one trisomy/ normal mosaicism in
an intelligent child with some mongoloid
characters. Lancet 1: 1028. 1961.
19. Cohen, M. Chromosomal mosaicism associated
with a case of Cyclopia. J. Pediat. 69
(5 Part 1): 793. November, 1966.*
20. Cohen, M.M., M.W. Shaw & J.W. MacCluer. Ra-
cial differences in the length of the hu-
man Y chromosome. Cytogenetics 5: 34-52.
1966.
21. Cooper, E.H., P. Barkhan & A.J. Hale. Mi-
togenic activity of Phytohemagglutinin.
Lancet 2: 210. 1961.*
22. Court Brown, W.M., P. Jacobs & M. Brunton.
Chromosome studies on randomly chosen men
and women. Lancet 2: 561. 1965.
23. Court Brown, W.M., P. Jacobs & R. Doll. In-
terpretation of chromosome counts made
on bone marrow cells. Lancet 1: 160.
1960.*

24. Cowie, V. & J. Kahn. A Mongol child without Trisomy G. *Lancet* 2: 58. 1965.
25. Cox, D., C. Yuncken & A. Spriggs. Minute chromatin bodies in malignant tumours of children. *Lancet* 2: 55. 1965.*
26. De LaChapelle, A. Factor stimulating cell division in cultured leucocytes. *Lancet* 1: 1348. 1961.*
27. De Robertis, E.D.P., W.W. Nowinski & F.A.Saez. *Biologia Celular*. Argentina, "El Ateneo." 1965. pp. 275-450.
28. Edwards, J.H. Chromosome analysis from capillary blood. *Cytogenetics* 1: 90-96. 1962.*
29. Edwards, J.H. et al. A new trisomic syndrome. *Lancet* 1: 787. 1960.
30. Edwards, J.H. & R.B. Young. Chromosome analysis from small volumes of blood. *Lancet* 2: 48-49. 1961.*
31. Eggen, R.R. Cytogenetics: Review of recent advances in a new field of Clinical Pathology. *Amer. J. Clin. Path.* 39 (1):

3-37. 1963.

32. Eggen, R.R. Manual for Workshop on Cyto-
genetics. San Diego, Calif. Amer. Soc.
Clin. Path. n.d. 67p?
33. Elves, M.N. & J.F. Wilkinson. The effects
of Phytohaemagglutinin on normal and leu-
kaemic leucocytes when cultured in vitro.
Exper. Cell Res. 30: 200-207. 1963.*
34. Feldmann, H. & H.G. Zachau. Chemical evidence
for the 3'-linkage of amino acids to solu-
ble ribonucleic acid (sRNA). Biochem.
Biophys. Research Commun. 15 (1): 13-
17. 1964.
35. Ferguson-Smith, M.A. & S.D. Handmaker. Ob-
servations on the satellited human chro-
mosomes. Lancet 1: 638. 1961.
36. Ford, C.E. A sex chromosome anomaly in a
case of gonadal dysgenesis (Turner's syn-
drome) Lancet 1: 711. 1959.
37. Ford, C.E. & J.L. Hamerton. The chromosomes
of man. Nature. 178: 1020. 1956.

38. Ford, C.E., et al. The chromosomes in a patient showing both Mongolism and Klinefelter Syndrome. Lancet 1: 709. 1959.
39. Fraccaro, M., K. Kaiser & J. Lindsten. Chromosomal abnormalities in father and mongol child. Lancet 1: 724. 1960.
40. Froland, A. A micromethod for chromosome analysis on peripheral blood cultures. Lancet 2: 1281. 1962.*
41. Genest, P. Production of a semi-purified PHA (mucoprotein) of high potency for the study of chromosomes of leucocytes. Lancet 1: 828. 1963.*
42. Goldschmidt, R.B. Understanding Heredity: an Introduction to Genetics. New York, John Wiley & Sons, 1952. pp. 57-76.
43. Greenblatt, R.B., et al. Oral mucosal smears in detection of genetic sex. J.A.M.A. 161: 682-685. June 25, 1956.
44. Greig, H.B.W. A Substitute for the Feulgen staining technique. J. Clin. Path.

12 (1): 93. January, 1959.*

45. Griboff, S.I. & R. Lawrence. A proposed genetic theory for the pathogenesis of certain congenital gonadal defects. *Lancet* 1: 602. 1960.
46. Griboff, S.I. & R. Lawrence. The Chromosomal etiology of congenital gonadal defects. *Amer. J. Med.* 30: 544-563. 1961.
47. Gropp, A., A. Jussen & K. Ofteringer. Multiple congenital anomalies associated with a partially ring-shaped chromosome, probably derived from chromosome No. 18 in man. *Nature*. 202 (4934): 829-830. May 23, 1964.
48. Gruenwald, H. et al. Philadelphia chromosome in Eosinophilic Leukemia. *Amer. J. Med.* 39 (6): 1003. 1965.*
49. Gustavson, J.H., L. Atkins & I. Patricks. Diverse chromosomal anomalies in two siblings. *Acta Pediat.* 53: 371-387. July, 1964.

50. Haggis, G.H.,ed. Introduction to Molecular Biology. London, Longmans, Green and Co. Ltd. 1964. pp.193-328.
51. Hirschhorn, K. & H.L. Cooper. Chromosomal aberrations in human disease. Amer. J. Med. 31 (3): 442-470. September, 1961.
52. Holum, J.R. Elements of General and Biological Chemistry: an Introduction to the Molecular Basis of Life. New York, John Wiley and Sons, 1962. pp. 385-407.
53. Hsia, D.Y.Y.,ed. Lectures in Medical Genetics; A Course for Medical Students. Chicago, Year Book Medical Publishers. 1966. pp. 1-224.
54. Hungerford, D.A. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl, Stain Technology 40: 6. 1965.*
55. Jacob, F. & J. Monod. Genetic regulation mechanism in the synthesis of proteins.

- J. Molec. Biol. 3: 318. 1961.
56. Jacobs, P., et al. Abnormalities involving X chromosome in women. Lancet 1: 1213. 1960.
57. Jacobs, P., et al. Chromosomal sex in Syndrome of Testicular Feminization. Lancet 2: 591. 1959.
58. Kiossoglou, K., W.J. Mitus & W. Dameshek. Chromosomal aberrations in acute Leukemia. Blood 26 (5): 610-642. November, 1965.
59. Kwiterovich, P.O., H. Cross & V.A. McKusick. Mongolism in an inbred population. Bull. Johns Hopkins Hosp. 119 (4): 268-275. October, 1966.*
60. Lele, K., T. Dent & J. Delhanty. Chromosome studies in five cases of Coloboma of the Iris. Lancet 1: 576. 1965.*
61. Lennox, B. Chromosomes for beginners. Lancet 1: 1046. 1961.
62. London Conference on the Normal Human Karyotype, the,. Cytogenetics 2: 264. 1963.

63. Maclean, N. et al. Sex chromosome abnormalities in new born babies. *Lancet* 1: 286. 1964.
64. McCracken, J.S. & R.R. Gordon. Cri du Chat Syndrome; sex chromatin & chromosome analysis. *Lancet* 1: 23. 1965.
65. Mella, B. & D.J. Lang. Leucocyte mitosis: Suppression in vitro associated with acute Infectious Hepatitis. *Science* 155: 80-81. January 6, 1967.
66. Miles, C.P. Karyotypes in Klinefelter's & Turner's Syndrome. *Lancet* 1: 603. 1960.
67. Miller, O.J., et al. Alternative DNA replication patterns associated with long arm length of chromosome 4-5 in the Cri du Chat Syndrome. *Cytogenetics* 5: 137-151. 1966.*
68. Moorhead, P.S., et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exper. Cell Res.* 20: 613. 1960.*

69. P.E.C. The clinical significance of research on human sex chromosomes. (Editorials and Comments). Canad. Med. Ass. J. 84 (3): 167-69. January 21, 1961.
70. Papac, R.J. Effect of Phytohaemagglutinin on marrow regeneration in rats. Lancet 1: 63. 1966.*
71. Patau, K. Chromosome identification and the Denver Report. Lancet 1: 933. 1961.
72. Patau, K. The identification of individual chromosomes, especially in man. Amer. Human Genet. 12: 250. 1960.
73. Patau, K. et al. Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome. Lancet 1: 790. 1960.
74. Pauling, L. et al. Sickle Cell Anemia, a molecular disease. Science 110: 543. 1949.*
75. Platt, L. & E. W. Kailin. Sex chromatin frequency. J.A.M.A. 187: 182-186. January 18, 1964.*

76. Polani, P.E. Cytogenetics of Down's Syndrome (Mongolism). *Pediat. Clin. North Amer.* May 1963. pp. 423-448.
77. Proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes, a. *Lancet* 1: 1063. 1960.
78. Raker, J.K., P.D. Taft & E.E. Edmonds. Significance of megakaryocytes in the search for tumor cells in the peripheral blood. *New Eng. J. Med.* 263: 993-996. November 17, 1960.*
79. Reisman, L. et al. Anti-Mongolism studies in an infant with a partial monosomy of the 21 chromosome. *Lancet* 1: 394. 1966.
80. Schlegel, R.J. et al. An XX sex chromosome complement in an infant having male type external genitals, renal agenesis and other anomalies. *J. Pediat.* 69 (5 part 1): 812-814. November, 1966.*
81. Sigler, A.T., et al. Radiation exposure in

- parents of children with Mongolism (Down's Syndrome). Bull. Johns Hopkins Hosp. 117 (6): 374-399. December, 1965.
82. Smith, D. et al. Lower incidence of sex chromatin in buccal smears of new born females. Pediat. 30 (5): 707-711. November, 1962.*
83. Sohval, A.R. Recent progress in human chromosome analysis and its relation to the sex chromatin. Amer. J. Med. 31 (3): 397-441. 1961.
84. Steele, M.W. & W.R. Breg, Jr. Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. Lancet 1: 383. 1966.*
85. Stewart, J.S.S. Genetic mechanisms in human intersexes. Lancet 1: 825. 1960.
86. Taft, P., P. Dodge & L. Atkins. Mental retardation and multiple congenital anomalies. Amer. J. Dis. Child. 109: 554-557. June, 1965.

87. Taft, P., et al. Sex chromatin body size and its relation to X chromosome structure. *Cytogenetics* 4: 87-95. 1965.
88. Teplitz, R. L. & E. Beutler. Mosaicism, chimerism and sex chromosome inactivation. *Blood* 27: 258-271. February, 1966.
89. Tjio, J.H. & A. Levan. The chromosome number of man. *Hereditas* 42 (1-2): 1-6. 1956.
90. Tjio, J.H. & J. Whang. Chromosome preparations of bone marrow cells without prior in vitro culture or in vivo colchicine administration. *Stain Technology* 37 (1): 17-20. January, 1962.
91. Tjio, J.H. & T.T. Puck. Somatic chromosomes of man. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 44: 1229. 1958.
92. Tjio, J.H. et al. The Philadelphia Chromosome and chronic Myelogenous Leukemia. *J. Nat. Cancer Inst.* 36 (4): 567-584. April, 1966.
93. Turner, B. et al. A self-perpetuating ring

chromosome. Med. J. Aust. 2 (2): 56-58.

July 14, 1962.

94. Valentine, G. H. The Chromosomal Disorders;
An Introduction for Clinicians. London,
Whitefriars Press Ltd. 1966. 129 p.
95. Villa, L. & S. Eridaui. Cytological effects
of Thalidomide. Lancet 1: 725. 1963.*
96. Walker, N.F. The use of dermal configurations
in the diagnosis of Mongolism. J. Pediat.
50: 19. 1957.*
97. Walker, N.F. Inkless methods of finger, palm
& sole prints. J. Pediat. 50: 27. 1957.*
98. Wang, Hsi-Chang et al. Ring chromosomes in
human beings. Nature. 195 (4842): 733-
734. August 18, 1962.
99. Watson, J.D. & F.H.C. Crick. Molecular
structure of nucleic acids; a structure
for desoxyribonucleic acid. Nature. 171:
737. 1953.
100. Williams, E.D. et al. Gonadal dysgenesis
and ulcerative colitis. J. Med. Genet.

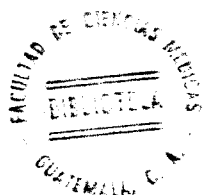
3 (1): 52-55. March, 1966.*

101. Wiseman, A. Organization for Protein Biosynthesis. Oxford, Blackwell Scientific Publications. 1965. pp. 3-127.*

* No citado por el autor en el texto del trabajo,
solamente se consultó.

Vo. Bo.

Ruth R. de Amaya
Ruth de Amaya
Bibliotecaria



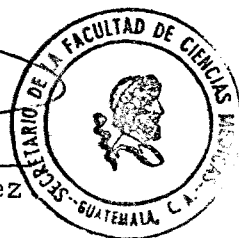
Margit de Rosenthal
Br. Margit Uhlmann de Rosenthal

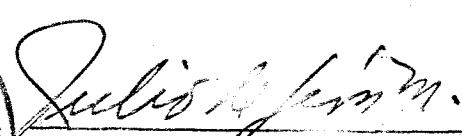
J. Cohen
Dr. Jaime Cohen A.
Asesor.

R. Robles
Dr. Rodolfo Robles
Revisor


Dr. Jorge E. Rosal M.
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA


Dr. Ernesto Alarcón Estévez
Secretario




Dr. Julio De León Méndez
Decano

