

**EL CARIÒTIPUS D'UN GRUP HETEROGENI DE  
MALALTS DE L'HOSPITAL DE LA SANTA CREU  
I SANT PAU DE BARCELONA**

Comunicació presentada el dia 21 de març de 1968 per

**E. GIMFERRER i FELIP**

Metge del Servei d'Hematologia de l'Hospital de la Santa Creu  
i Sant Pau de Barcelona

## INTRODUCCIÓ

Aquesta comunicació segueix la primera feta amb PIÑOL, ESTELLER i ALIAGA l'any passat (1), en la qual era estudiat el cariotipus de 213 malalts afectats de genodermatosi i de diferents malalties amb participació dermatològica. Al cap d'un any de muntatge i posat a punt el nou Servei d'Hematologia a l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, fem amb gust una anticipació a aquesta SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA del treball que publicarem més endavant a la revista «Annals de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau».

Avui presentem els resultats obtinguts amb l'estudi cromosòmic dels limfòcits de sang perifèrica de 70 subjectes tractats en aquell centre. No pretenem de fer un estudi genètic, ni tan sols cromosòmic, a fons, sinó solament d'aplicar la tècnica gairebé com a rutina de laboratori, per tal de beneficiar amb conclusions diagnòstiques i pronòstiques les diferents especialitats mèdiques de l'Hospital. Els respectius serveis segueixen després els estudis que creuen necessaris segons el cas.

La nostra fita en el futur és, dins aquest mateix marc, d'estudiar exhaustivament les cromosomopaties hematològiques, i d'enriquir d'aquesta manera tots els estudis complementaris del nostre Servei d'Hematologia.

## MATERIAL

*Entitats clíniques estudiades.* El quadre núm. 1 il·lustra amb detall les diferents síndromes que han estat objecte del nostre estudi. El grup més nombrós el constitueixen els malalts amb síndrome de Down, i llurs familiars. Segueix un grup heterogeni de síndromes neurològiques, de genodermatosis, d'endocrinopaties i de leucèmies mieloides cròniques.

*Utilitatge.* En el laboratori del servei hem disposat del complex material tècnic imprescindible. Hem de remarcar que la cristalleria i els productes que calen per a l'estudi «in vitro» dels limfòcits i de llurs cromosomes han de reunir la més acurada netedat i esterilització, i han d'estar lliures de les més mínimes traces de detergent o altres productes

químics. D'altra banda, a causa de la laboriositat de la tècnica i del personal i temps de dedicació que exigeix, convé que els aparells microfotogràfics siguin com més automàtics millor.

Utilitzem normalment microscopi fotogràfic automàtic Reichert o Wild, i ampliadora fotogràfica d'enfocament automàtic de la casa Leitz, per a mida  $24 \times 36$  mm.; material sensible de la casa Kodak; productes químics de qualitat per a anàlisi Merck, Colcemid Ciba, Fitohemaglutinina de la casa Burroughs Welcome, medi de cultiu TC 199 de l'Institut Pasteur, Heparina Choay, i sèrum humà AB, preparat especialment pels Laboratoris Knickerbocker, de Barcelona.

### MÈTODES

Hem utilitzat la tècnica clàssica de Hungerford, modificada per Ruffié (2), amb lleugeres modificacions personals, perquè ja ens havia donat excel·lents resultats en els casos aportats a l'anterior publicació (1). Espècimen: sang capillar obtinguda per punció digital o plantar. Duració del cultiu: habitualment 72 hores, i 48 en els processos hiperleucocitòtics en general. Tots els cultius els fem en doble flascó, amb les corresponents embenadures de seguretat.

Un cop inflades les cèl·lules, fixades, esclatades sobre els portes, i tenyides amb Giemsa, cal procedir al cariotipatge seguint l'esquema següent:

Primer: Estudiem el nombre total de cromosomes de la dotació i la morfologia general, i fem el comptatge especial dels grups D i G en un total de 30 metafases especialment escollides per llur qualitat.

Segon: Retratem les 15 imatges més perfectes i confirmem l'estudi anterior sobre l'ampliació fotogràfica amb l'ajuda de marcadors de diversos colors.

Tercer: S'escolleixen 8 de les ampliacions per a retallar els cromosomes, construir l'idiograma i assentar definitivament les conclusions.

Si el cas ho requereix, comencem novament des del principi, i estudiem fins a 60, 90, 120 o més metafases. Amb el procediment habitual de 30 metafases creiem que tenim un bon marge de seguretat per a detectar els mosaïcismes.

### RESULTATS

El quadre núm. 2 resumeix les anomalies cromosòmiques que hem trobat. Per tal com els malalts estudiats ens han estat referits de forma selectiva per alguns Serveis d'aquest Hospital, no és possible d'arribar a conclusions estadístiques de cap mena.



De 14 casos de síndrome de Down clínica s'ha efectuat la trisomia G (21) en 12. Un presenta constriccions secundàries augmentades i fragmentacions cromosòmiques, i un altre presenta cariotipus normal. Això concorda amb la freqüència de la trisomia a què es refereixen els autors (3, 4, 5, 6, 7, 8,9). En 5 d'aquestes trisomies han estat estudiats també els pares, en una el pare i en una altra la mare solament. Només hem trobat anomalia en el pare d'una nena trisòmica, el qual tenia el gonosoma Y de la mida d'un cromosoma E. Desgraciadament, no hi havia cap altre mascle en aquesta família per a comprovar la presència de l'alteració. Alguns autors han descrit aquest mateix tipus de gonosoma Y en les famílies de mongòlics, individus d'altra part sense cap alteració somàtica evident (10, 11, 12).

Dos malalts enviats amb el diagnòstic clínic de síndrome de Turner han demostrat tenir cariotipus normal.

Un malalt diagnosticat de síndrome de Klinefelter presentà clarament l'anomalia gonosòmica XXY.

Una malalta de 30 anys amb amenorrea primària i fenòtipus una mica viriloide, la qual havia passat sempre socialment per una dona, presenta un cariotipus normal masculí.

Del grup de 7 genodermatosis estudiades, cal fer ressaltar un cas de psoriasi en un malalt mascle i fèrtil (set fills), el qual tenia un gonosoma Y diminut, constitucional o possiblement defecte dels braços llargs, defecte que es pot interpretar com a casualment coincident, atès el gran nombre de malalts psoriàsics que han estat objecte d'estudi cromosòmic a tot arreu.

Han estat estudiats també 6 malalts diagnosticats de leucèmia mieloide crònica. Tres presentaven cariotipus normal. Els altres tres presentaven nombroses alteracions cromosòmiques: constriccions augmentades, aneuploidies, i de manera especial un fragment defecte petit, acèntric, molt característic, així com un gran acrocèntric supernumerari també molt característic, el qual es trobava repetidament en diferents metafases. A part aquestes alteracions, dos d'aquests malalts presentaven el típic cromosoma Philadelphia (Ph<sub>1</sub>). Cal dir que tots sis malalts havien estat intensament tractats amb citostàtics i radiacions abans de l'estudi cromosòmic. El quadre núm. 3 tracta d'esquematzar la repartició d'aquestes lesions en un d'aquests malalts.

Un malalt amb una angiomasosi de Rendu Osler, rebel, presenta un evident augment de les constriccions secundàries, les quals sovint arriben a ésser veritables trencadures cromosòmiques. El quadre núm. 4 en sintetitza la repartició.

Igualment creiem d'interès de fer notar les nombroses constriccions que hem trobat en els cromosomes d'un nen de 6 anys, el qual presentava disminució mental i de creixement. No sabem la relació que pot tenir el

seu quadre cromosòmic amb els trastorns fenotípics, però creiem d'interès de relacionar aquest cas amb un dels de mongolisme clínic sense trisomia G al qual ens hem referit abans i que presentava el mateix tipus de constriccions cromosòmiques.

Els altres malalts no presentaven cap alteració cromosòmica evident.

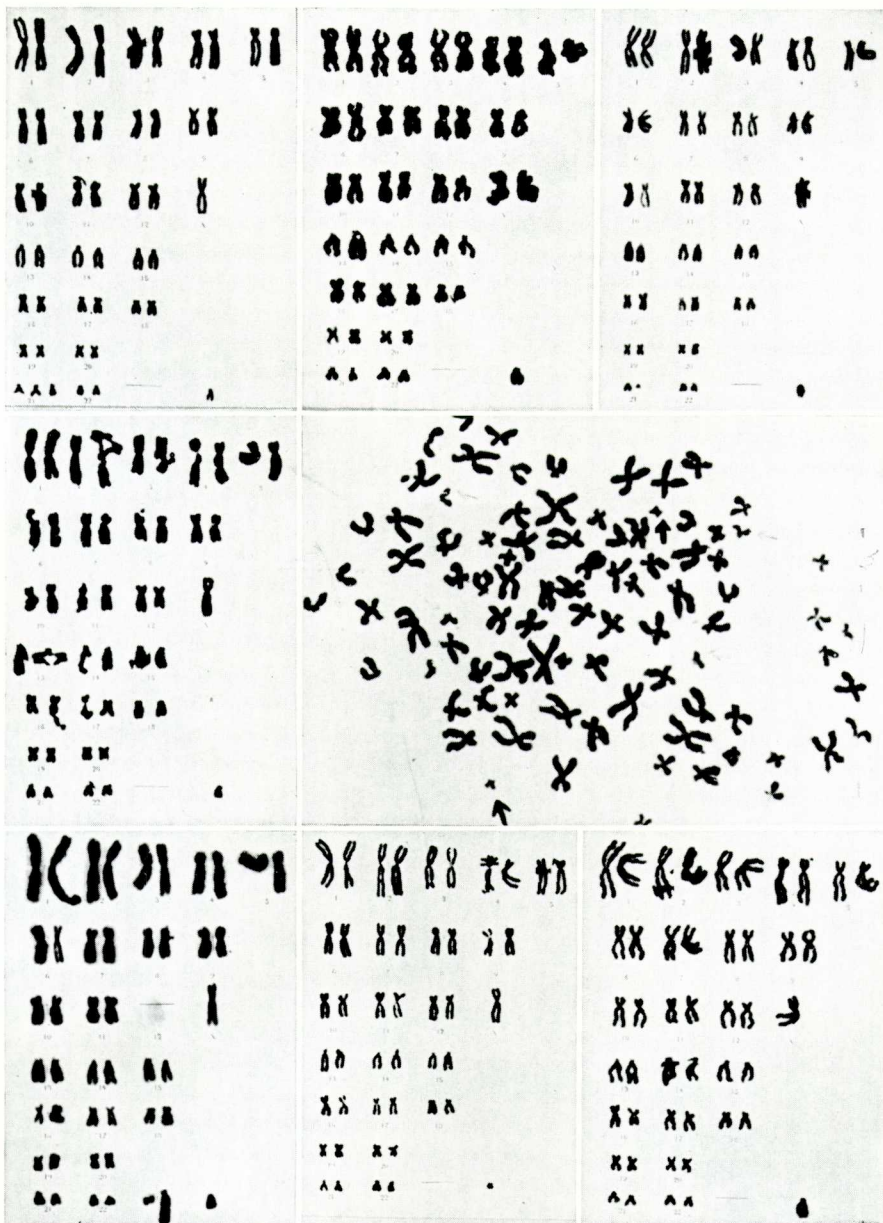
### DISCUSSIÓ

1. Hem comprovat que els anomenats «fracassos de cultiu» són deguts en la totalitat dels casos a error o descuit tècnic (contaminació bacteriana o bé oblit dels requisits esmentats anteriorment en el material). Solament en malalts tractats intensament amb citostàtics en el moment de l'extracció de l'espècimen, hem comprovat el fracàs persistent del creixement dels cultius o bé llur mala qualitat, tal com citen la majoria dels autors.

QUADRE 1

<i>Entitat clínica</i>	<i>Nombre de casos</i>
Síndrome de Down . . . . .	14
Familiars de síndrome de Down . . . . .	15
Degeneració hepatolenticular . . . . .	2
Paràlisi de vel del paladar . . . . .	1
Catalèpsia familiar . . . . .	1
Atròfia espinal . . . . .	1
Síndrome estriopalidal . . . . .	1
Encefalopatia amb fissura palatina . . . . .	1
Distròfia amiotònica . . . . .	1
Familiars de síndromes neurològics . . . . .	4
Genodermatosi de teixit conjuntiu . . . . .	3
Psoriasi . . . . .	4
Familiars de genodermatosi . . . . .	1
Hipogonadismes masculins . . . . .	2
Síndrome de Turner . . . . .	2
Amenorrea primària . . . . .	1
Síndrome de Klinefelter . . . . .	1
Hiperplàsia suprarenal . . . . .	1
Disminució mental, creixença, cardiopatia . . . . .	4
Familiars dels anteriors i pares de fetus morts . . . . .	3
Malaltia de Rendu Osler . . . . .	1
Leucèmia mieloide crònica . . . . .	6
Total d'entitats. 18. . . . .	70

2. La presència de constriccions secundàries i trencadures cromosòmiques, associades moltes vegades a trastorns fenotípics importants ens indueix a considerar la importància d'estudiar-les de forma sistemàtica, començant per la valoració del factor tècnic artefacte —el qual, malgrat la cura tècnica, no pot descartar-se encara definitivament—, i seguint per



6

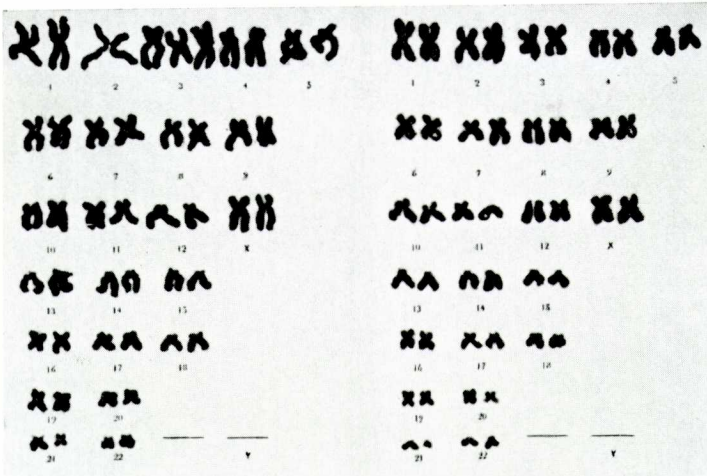
7

8

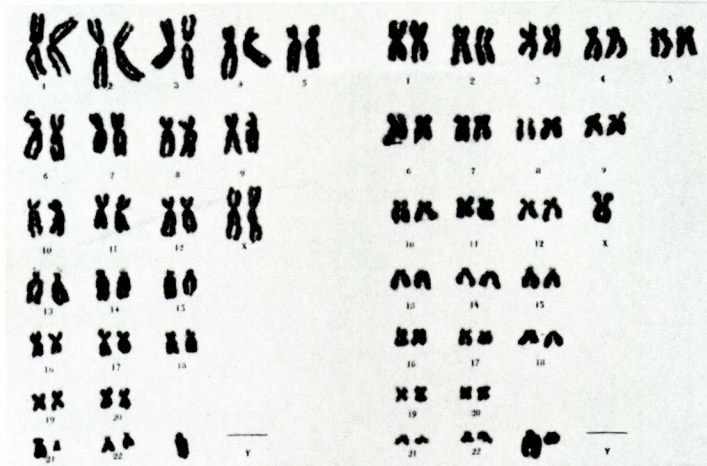
1. Idiograma d'un mascle afectat de trisomia G (21). — 2. Idiograma d'un malalt amb síndrome de Klinefelter. — 3. Idiograma d'un mascle afectat de leucèmia mieloide crònica: cromosoma Ph 1. — 4. Idiograma d'un mascle diagnosticat clínicament de mongolisme: Nombroses constriccions i fragmentacions cromosòmiques. — 5. Metafase de dona afectada de leucèmia mieloide crònica:  $2n = 89$ , amb doble Ph 1. — 6. Mascle afectat de leucèmia mieloide crònica: doble monosomia C, cromosoma marker tipus acrocèntric, fragment marker, cromosoma 1 dicèntric. — 7. Idiograma de mascle afectat de psoriasi: gonosoma Y delecte de braços llargs. — 8. Idiograma de mascle, pare de trisòmica G, amb un gonosoma Y de mida d'E



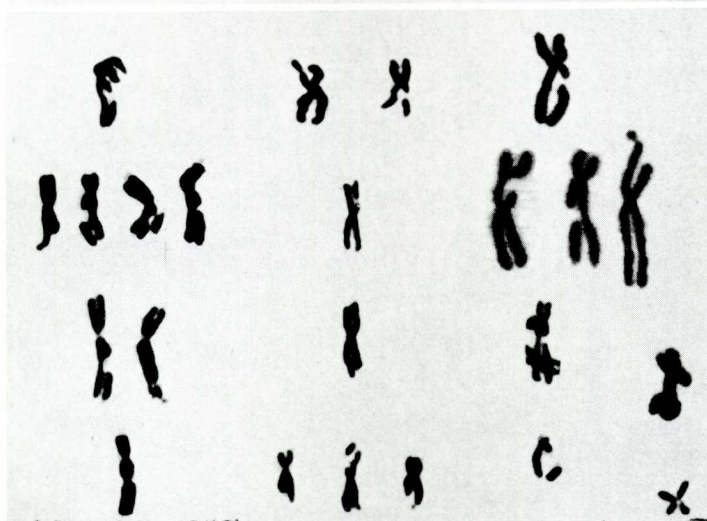
9



10



11



9. Idiograma de dues metafases de dona afectada de leucèmia mielòide crònica: totes dues mostren el cromosoma Ph 1. — 10. Doble idiograma de la mateixa malalta, en els quals es mostra el Ph 1, marker acrocèntric, fragment delecte i monosomia X. — 11. Diverses mostres de constriccions i fragmentacions cromosòmiques d'un mascle afectat de malaltia de Rendu Osler

l'estudi del major nombre de casos. Des que començarem a veure cromosomes hem trobat certs casos que avui ja creiem interessants i possiblement significatius. Potser més endavant trobarem entitats concretes repetitives en aquest nivell.

QUADRE 2

<i>Diagnòstic clínic</i>	<i>Nombre de casos</i>	<i>Tipus de cariotípus</i>	
Síndrome de Down . . . . .	14	Trisomia G (21) . . . . .	12
		Constriccions secundàries augmentades . . . . .	1
		Normal . . . . .	1
Pares de síndrome de Down . . . . .	15	Gonosoma X augmentat . . . . .	1
		Normal . . . . .	14
Síndrome de Turner . . . . .	2	Normal . . . . .	2
Síndrome de Klinefelter . . . . .	1	Gonosomes XXY . . . . .	1
Amenorrea primària . . . . .	1	Canvi de sexe . . . . .	1
Psoriasi . . . . .	4	Gonosoma Y deleïte . . . . .	1
		Normal . . . . .	3
Leucèmia mieloide crònica . . . . .	6	Aneuploidia, constriccions, deleció marker, acrocèntric marker amb Ph . . . . .	2
		Idem, sense Ph . . . . .	1
		Normal . . . . .	3
Malaltia de Rendu Osler . . . . .	1	Constriccions augmentades i trencadures . . . . .	1
Disminució mental i alteració de creixença . . . . .	4	Constriccions secundàries augmentades. . . . .	1
		Normal . . . . .	3
Degeneració hepatolenticular . . . . .	2	} NORMALS . . . . .	22
Paràlisi vel paladar . . . . .	1		
Catalèpsia familiar . . . . .	1		
Atròfia espinal . . . . .	1		
Síndrome estriopalidal . . . . .	1		
Encefalopatia amb fissura palat. . . . .	1		
Distròfia amiotònica . . . . .	1		
Familiars síndromes neurològics. . . . .	4		
Genodermatosi . . . . .	3		
Familiars genodermatosi . . . . .	1		
Hipogonadismes masculins . . . . .	2		
Hiperplàsia suprarenal . . . . .	1		
Familiars disminuïts mentals, creixença, pares de fetus morts. . . . .	3		
Total . . . . .			70



3. Creiem aportar el primer cas de concomitància de cromosoma Y delecte constitucional o no, amb el psoriasi, bé que el més probable és que no tingui cap significació especial.

4. En les leucèmies granulocítiques cròniques pot tenir interès la recerca del cromosoma Ph, per tal d'intentar de separar aquestes malalties en dos grups diferents des de tots els punts de vista.

## QUADRE 3

Malalt J. C. C. de 21 anys, el qual ha rebut tractament citostàtic i irradiació esplènica.

Diagnòstic: leucèmia mieloide crònica.

Metafases cariotipades . . . . .	231
Idiograma normal . . . . .	210
Cromosoma Philadelphia . . . . .	2
Aneuploidia simple . . . . .	3
Aneuploidia amb fragment delecte marker . . . . .	10
Aneuploidia amb fragment delecte marker, i gran acrocèntric marker . . . . .	5
Aneuploidia amb fragment delecte marker, acrocèntric marker Ph 1 . . . . .	1

## QUADRE 4

Malalt S. V. 34 anys, amb història d'antiga irradiació a mucosa nasal.  
Diagnòstic: malaltia de Rendu Osler.

Metafases cariotipades . . . . .	100
Idiograma normal . . . . .	83
Idiograma amb constriccions secundàries intenses i trencadures. . . . .	17

Distribució de les trencadures pels Grups de Denver:

En el grup A . . . . .	62 %
En el grup B . . . . .	14 %
En el grup C . . . . .	14 %
En el grup D . . . . .	9 %

## BIBLIOGRAFIA

1. PIÑOL, J.; ESTELLER, J.; ALIAGA, A., i GIMFERRER, E. — *Citogenética en Dermatología*. «Editorial Científico Médica», 1968.
2. RUFFIÉ, J. — *Les techniques d'étude des chromosomes dans les cellules du sang circulant*. «Tolosa Med.» 63, 207-222.
3. CARR, D. H. — *The chromosome abnormality in mongolism*. «The Canad. Med. Ass. J.» 87, 490-495.
4. CARTER, C. O., i MAC CARTHY, D. — *Incidence of mongolism and its diagnosis in the newborn*. «Brit. J. Soc. Med.» 5, 83.
5. DEKABAN, A. S.; BENDER, M. A., i ECONOMUS, G. E. — *Chromosome studies in mongoloids and their families*. «Cytogenetics» 2, 61-75.
6. FORSSMAN, H.; LEHMAN, O., i THYSELL, J. — *Reproduction in mongolism: chromosome studies and re-examination of a child*. «Am. J. Ment. Defic.» 65, 495.
7. JACOBS, P. A. i col. — *The somatic chromosomes in mongolism*. «Lancet» 1, 710.
8. LEJEUNE, J., i TURPIN, R. — *Somatic chromosomes in mongolism*. «In. Mental Retardation» 39, 67-77.
9. POLANI, P. E. — *Mongolism*. «J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.» 69, 822-830.
10. MAKINO, S.; YAMADA, K., i KOHNO, G. — *A long Y chromosome in male twins-brothers and their father*. «Proc. Jap. Ac.» 39, 770-773.
11. BISHOP, A.; BLANK, C. E., i HUNTER, H. — *Heritable variation in the length of the Y chromosome*. «Lancet» ii, 18-20.
12. UNNERUS, V.; FELLMAN, J., i A. DE LA CHAPELLE. — *The length of the human Y chromosome*. «Cytogenetics» 6, 213-227, 1967.

## DISCUSSIÓ

Dr. ALEMANY

Pregunta al doctor Gimferrer si els malalts examinats han estat sotmesos diverses vegades a la prova. S'interessa per la persistència, al llarg de la vida, dels limfòcits lesionats. Demana si amb la sola visió dels cromosomes un metge pot diagnosticar la malaltia.

Dr. GIMFERRER

Contesta al doctor Alemany que, efectivament, els malalts han estat sotmesos diverses vegades a la prova. Les lesions, certament, es mantenen al llarg de la vida. No; excepcionalment, sí, però, en les entitats que actualment sabem que tenen una lesió cromosòmica característica (mongolisme, síndromes de Turner, Klinefelter, etc.).

*Dr. PARÉS*

Després de donar les gràcies i de felicitar els qui han presentat les comunicacions, pregunta al doctor Prevosti si fóra possible de resumir la situació actual del coneixement sobre els cromosomes en els següents termes:

- 1.<sup>r</sup>: Cromosomes humans. - Dada de gran valor anatomopatològic.
- 2.<sup>n</sup>: Citologia de cromosomes. - Existència, en organismes no humans, de materials molt més favorables per a l'estudi; consciència que l'estructura fina dels cromosomes ens és encara fonamentalment desconeguda malgrat els nombrosos treballs i hipòtesis existents en aquest respecte; gran interès d'estendre la recerca sobre cromosomes de cara a la utilització, tant en sistemàtica animal com vegetal de critens cromosòmics.
- 3.<sup>r</sup>: Genètica i Bioquímica dels àcids nucleics. - Molt millors que els cromosomes humans i que els cromosomes dels altres organismes eucariotes, són —de cara a l'estudi— els àcids nucleics dels bacteris i dels virus, a través sobretot dels mètodes peculiars d'estudi de la Biologia molecular.

*Dr. PREVOSTI*

Està d'acord amb aquestes conclusions, però assenyala que per la raó que els cromosomes humans són molt més estudiats que altres materials, hi han estat posats en relleu fenòmens biològics de tipus general abans que en altres materials. En altres camps de la recerca biològica —diu— han passat coses semblants.