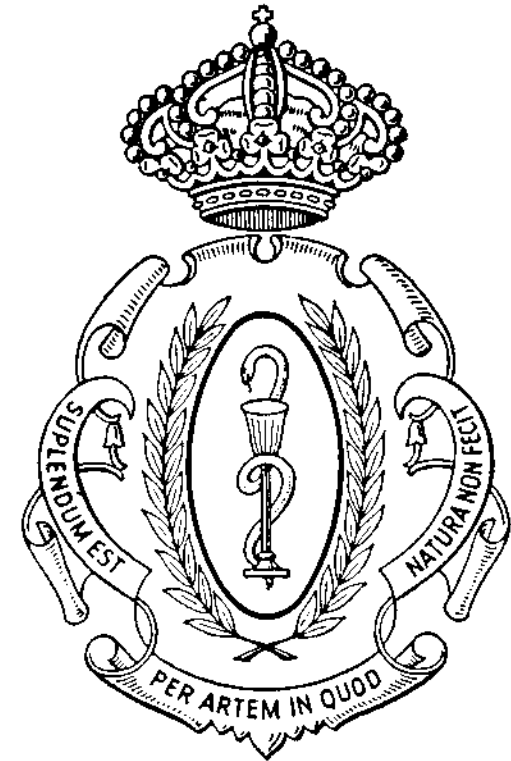


REIAL ACADÈMIA DE FARMÀCIA
DE BARCELONA



DISCURS

llegit per l'Acadèmic Corresponent
Molt Illtre. Dr. **Rafel Calafell i Clar**
a l'acte de la seva recepció
el dia 11 de maig de 1989

BARCELONA

1989

ORÍGENS I EVOLUCIÓ HISTÒRICA
DE LA CITOGENÈTICA

Discurs llegit a l'acte de recepció
de l'Acadèmic Corresponent
Molt Illtre. Dr. Rafel Calafell i Clar
a la Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona
el dia 11 de maig de 1989

BARCELONA

1989

Excel·lentíssim Sr. President
Excel·lentíssims i Il·lustríssims Srs. Acadèmics
Senyores i senyors,

En primer lloc, vull expressar la meva gratitud a tots els que d'alguna manera heu contribuït a l'honor que per mi representa haver estat elegit Acadèmic Corresponent d'aquesta prestigiosa Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona.

Però, a més d'un gran honor, és per mi una íntima satisfacció rebre aquest nomenament a Barcelona; en aquesta Universitat vaig cursar la meva llicenciatura en Farmàcia i en aquesta ciutat em vaig formar com a analista clínic i citogenetista. Catalunya, en general, i Barcelona, en particular, han estat sempre per als mallorquins la nostra segona casa, un lloc on, a més de preparació científica, se'n ha donat identitat cultural.

Voldria esmentar especialment tots els professors que dins i fora de la Facultat, pacientment em van ajudar en la meva formació i que amb el seu estímul i encoratjament han contribuït tant a les meves tasques professionals.

Així mateix, voldria fer una menció especial per als meus companys del Centre d'Anàlisis Biològiques de Palma, que em van oferir la seva ajuda i el seu suport per dur a la pràctica els meus coneixements.

El meu propòsit, en aquest discurs d'ingrés preceptiu segons el reglament de la Reial Acadèmia, és d'incidir en la idea de l'àmbit pluridisciplinari de la salut, en la qual els farmacèutics poden i han de ser presents en totes i cadascuna de les branques; i, entre elles, la genètica i la citogenètica, ciències que es troben en un moment de màxima actualitat per la seva projecció científica i social.

ISBN 84-404-4288-2
Dipòsit Legal: P.M. 358-1989

Taller Gràfic Ramon - Jaume Balmes, 43 - Tel. 75 44 32 - 07004 Palma de Mallorca

1. De l'antiga Grècia al segle XVIII

L'interès de l'home respecte a l'herència dels seus caràcters es perd en el temps i, potser, va néixer quan l'ésser humà va prendre consciència de si mateix com a individu i com a espècie.

Embolcallats en vestimentes màgiques, els coneixements sobre l'herència van ser adquirits lentament al llarg de generacions i van ser interpretats i transmesos en aquell moment segons l'argúcia i la memòria dels observadors.

Físics i filòsofs grecs van ser els primers que, a la llum dels documents i testimonis arribats fins als nostres dies, van intentar una aproximació teòrica a l'herència.

Així, en textos atribuïts a Hipòcrates (460-377 aC) es descriuen observacions sobre l'herència de trets normals i patològics, en la que es coneix com teoria de la panspèrmia; es designa el semen com a portador d'informació i la seva producció es realitza per totes les parts del cos, sa o malalt. Anaxàgores (500-428 aC) té un punt de vista similar i diu: «...el semen conté pèls, venes i artèries, tendons...»; segons la seva opinió, els homes fan la sembra i les dones la cria, en un símil de la terra fèrtil.

Aquestes teories van tenir el seu reflex i, al mateix temps, l'influx de la mitologia tant grega com romana: així, Zeus, el més gran dels déus hel·lènics, déu de la llum, del cel serè i del llamp, durant un son va deixar caure semen a la terra i aquest semen va engendrar Agdistis, segons la llegenda que narra Pausànies.

Erictoni, un dels primers reis d'Atenes, va ser, segons la llegenda, fruit d'una passió d'Hefest per Atena. En una vel·leïtat amorosa, Hefest deixà caure semen en el sòl; d'aquesta terra fecundada, en va néixer un nen, que la deessa va recollir i anomenà Erictoni.

El fènix és una au fabulosa, originària d'Ètiòpia, la llegenda de la qual, a Egipte, està relacionada amb el culte al sol. Herodot és el primer que ens parla del fènix; després poetes, mitògrafs, astròlegs, i naturalistes ens n'han donat una gran quantitat de detalls. La llegenda del fènix concerneix sobretot a la mort i al renaixement de l'au. És única en la seva espècie i quan sent aproximar-se la seva fi, acumula plantes aromàtiques, encens, cardamom i hi fabrica una espècie de niu. L'au s'ajeu al niu així format i mor impregnant-lo amb el seu semen. D'aquí neix el nou fènix, que recull el cadàver del seu pare i el diposita a l'altar del sol perquè els sacerdots l'incinerin.

La primera teoria completa sobre l'herència fou desenrotllada

per Aristòtil (384-322 aC), qui assignà una diferència qualitativa a la contribució de l'home i de la dona en la matèria, de manera semblant al fuster que dona forma a la fusta que prové del bosc, en una adaptació del concepte d'Esquil expressat en les «Eumúnides». Aristòtil va distingir, per primera vegada, els conceptes de valor hereditari i qualitat. Les seves teories sobre la formació del sexe femení a partir de la insuficiència per edat del pare, o qualsevol altre motiu del sexe «normal», és a dir, el masculí, tingueren una gran difusió i arribaren a influir en pensadors com Tomàs d'Aquí (1205-1274). Per contra, Hipòcrates i Galè pensaven que l'esperma no era suficient i que es podien heretar les qualitats de la mare.

Fins a Paracels (1493-1541) no es coneixen nous intents d'aproximació al model hereditari; aquest va descriure per primera vegada la relació nen-matriu materna, encara que va negar, seguint el model aristotèlic, qualsevol funció a la matriu materna que no fos la purament nutritiva. Paracels, fins i tot, va parlar del seu pare «...com aquell que m'ha parit...».

Una altra de les característiques que van cridar l'atenció dels científics fou l'evolució, entesa com el moviment orientat en els canvis que es produeixen en els éssers vius, al llarg de la vida de la terra. Anaximandre (611-547 aC) deia que els éssers vius havien nascut de l'aigua a mesura que aquesta s'evaporava per efecte de la calor del sol, i va afirmar que l'evolució era el sistema de formació de les espècies, i l'home entre aquestes. Aristòtil va intuir també, encara que fos per mitjà de la teoria de la generació espontània, l'epigènesi, que accepta l'evolució gradual de les estructures vives des de les més simples a les més complexes.

Fins al segle XVIII, no es produeixen avenços significatius que, en algunes ocasions van ser fins i tot ridiculitzats, com és el cas del cavaller de Lamarck (Jean Baptiste Pierre de Monet 1744-1829), que en el treball «Philosophie zoologique» (1802) va exposar les seves idees sobre els éssers vius i formulà la primera teoria positiva sobre l'evolució.

L'estudi comparatiu de poblacions animals en diferents punts del món, juntament amb una expedició a bord de la «Beagle» (1831-1836), dugueren Charles Darwin (1) [Fig. 1] a sentar les bases de la seva teoria de l'evolució definida per la selecció natural. Aquesta teoria es basa en l'avantatge, moltes vegades imperceptible als nostres ulls, d'una petita variació de l'organisme, avantatge que es xifria en una major capacitat de reproducció, amb una presència més

gran de la variació en la generació següent. L'evolució dels éssers vius resultaria de la suma d'aquests efectes simultanis o no, fins que passades moltes generacions, apareixeria un organisme tan diferent del primitiu que hauria de ser considerat com una espècie nova.

La teoria es va enfrontar a dos problemes seriosos: un de cultural i un altre de científic. El primer resultà de l'afirmació no purament especulativa que l'home no passava de ser un primat més, fet que repugnava la majoria de la gent i que, a més a més, estava aparentment en contradicció amb la Bíblia, cosa que va desencadenar una enorme polèmica, encara no tancada avui malgrat els esforços de T. de Chardín i altres teòlegs i filòsofs.

El segon problema que es va presentar a la teoria de l'evolució és la manera en què es produeixen i són transmeses les variacions. Desgraciadament, s'hauria d'esperar fins uns anys més tard per elucidar aquest segon apartat.

2. Teoria de l'herència de Mendel

El descobriment dels principis de l'herència per Mendel [Fig. 2], un monjo austríac, el 1865 (2), no va despertar cap interès entre els homes de ciència. En realitat, el treball original de Mendel passà virtualment inadvertit a la literatura científica durant 35 anys. Els treballs de Mendel podrien haver aclarit els conceptes de Darwin sobre els mecanismes de l'herència de la variabilitat, però no sembla que Darwin s'adonés mai de la importància d'aquells treballs i, potser, en va ignorar l'existència.

Francis Galton, una de les grans figures dels inicis de la genètica humana, tampoc va conèixer l'obra de Mendel. El mateix Mendel, desanimat en part per aquest desinterès i en part pels resultats d'altres experiències, optà per seguir el camí de molts altres homes de ciència: abandonà la investigació i es convertí en administrador.

Les lleis de Mendel, que constitueixen la pedra angular de la ciència genètica, van ser deduïdes de les experiències practicades amb pèsols per aquest investigador, en les quals va creuar estirps pures que diferien en una característica o més, i va seguir com a mínim durant dues generacions la progènia d'aquests creuaments.

Les tres lleis que va deduir són:

— Herència de la unitat: no es produeix la mescla de caràcters dels pares. És a dir, quan es creuen línies pures que difereixen en un



Fig. 1: Ch. Darwin.



Fig. 2: Gregor Mendel.

caràcter, els individus de la primera generació expressen usualment un dels caràcters amb l'exclusió de l'altre.

— Segregació: els caràcters que estan emmascarats en la primera generació, apareixen en la segona en una proporció específica.

— Principi de la distribució independent: els membres de parells d'al·lels diferents es distribueixen independentment quan es formen a l'atzar les cèl·lules germinals, si no estan lligats.

Les deduccions bàsiques del mendelisme, que s'han correlacionat amb el comportament dels cromosomes, han delimitat la «teoria cromosòmica de l'herència» que constitueix la base de la genètica actual.

L'inici de la genètica com a ciència independent data del redescobriment per H. de Vries [Fig. 3] del mendelisme el 1900 (3) i la naturalesa universal de l'herència mendeliana ja no tardà a ser reconeguda. El 1902, Sir Archibald Garrod (4), que ja havia introduït en la medicina el terme «inborn errors of metabolisme» per als trastorns bioquímics congènits, publicà el primer exemple de patologia clínica relacionada amb l'herència mendeliana: l'alcaptonúria.

La progressiva comprensió dels mecanismes bioquímics i la seva estreta relació amb els gens i l'herència gènica han significat un camí ininterromput de troballes que culminaren, en una primera etapa, en la hipòtesi de Beadle i Tatum (5) de 1941: «un gen = un enzim».

3. Índicis de l'existència dels cromosomes

La història de la citogenètica, primer com a estudi correlatiu entre la citologia i la genètica i més tard com a ciència independent, seguí un camí, en certa manera, atzarós i lent; la possibilitat de l'existència de vehicles o estructures portadores de la informació sobre l'herència, visibles, s'inicia el 1842, amb Nägeli, un botànic suís que en les seves investigacions descriu de manera poc comprensible estructures nuclears peculiars. El també botànic W. Hofmeister (1867) realitzà un primer dibuix més clar a partir de cèl·lules de pol·len de *Tradescantia*. Schneider (1873) (6) observà en els ous de platihel·mints la disolució del nucli cel·lular en filaments, que en la placa equatorial formen una roseta i després es divideixen i dirigeixen cap als pols de la cèl·lula. La utilització d'àcid acètic li va permetre una millor visualització dels citoblasts descrits per Nägeli. Gairebé al

mateix temps E. Russow descriu plaques de bastonets lleugerament encorbats en els nuclis cel·lulars (1872).

Els estudis sobre el comportament del material nuclear van continuar per part de molts investigadors, captivats per aquests canvis nuclears. L'any 1875, O. Hertwig (7) va observar la primera fecundació en un ou d'eriqó i va establir la continuïtat dels nuclis cel·lulars: «omnis nucleus e nucleo».

W. Flemming (1879) va descriure per primer cop l'aparellament d'aquells citoblasts i la seva divisió longitudinal durant la divisió cel·lular, procurant una igualtat distributiva del material cromosòmic, en una exposició sorprenentment precisa, i va anomenar el procés «mitosi».

J. Baranersky (1880) va parlar dels diferents graus d'espirilització dels blastòcits, com a mesura de la seva visualització.

El mateix Flemming, l'any 1882 (8), va descriure la «cromatina» en els nuclis de les cèl·lules, en l'estadi que precedeix la divisió cel·lular, gràcies a la seva afinitat pels colorants bàsics.

Al llarg d'aquests anys, i per diversos camins, es descriuen el nombre de blastòcits en meiosi i la seva intervenció en la fecundació. Van Beneden, el 1883, afirma que en un ou fecundat s'hi troben el mateix nombre d'elements del pare que de la mare i A. Weisman, el 1887, partint de reflexions teòriques va arribar a la conclusió que en general era necessària una divisió reduccional per evitar la duplicació del nombre de blastòcits en cada nova generació. Aquest mateix any Th. Boveri (9), en estudis d'ous d'*Ascaris* va deduir la individualitat dels elements filamentosos i així va fundar la base morfològica de la teoria que més endavant s'anomenaria «cromosòmica», ja que solament un any més tard W. Waldeyer va batejar aquells elements nuclears amb el nom de «cromosomes» (cossos de colors): un nom destinat a fer fortuna.

L'any 1892 Miescher va treballar sobre el problema de la naturalesa química de la informació genètica de manera sorprenentment semblant als conceptes moderns, i va deduir que n'hi havia prou amb un petit nombre de combinacions químiques, de la mateixa manera que operen les lletres d'un alfabet, que poden reproduir tots els mots i els conceptes d'una llengua.

En tot just quaranta anys, els citòlegs van aconseguir primer d'intuir i després descobrir en aquelles estructures nuclears un model d'herència absolutament nou.

El 1902, W. S. Sutton (10) va desenvolupar la primera teoria cromosòmica d'herència, en considerar l'aparellament dels cromosomes materns i paterns i la seva separació reduccional com la base material de les lleis de Mendel sobre l'herència.

Uns anys abans, el 1891, H. Henking va descriure que la meitat dels espermatozous de *Pyrrhocoris apterus* contenen un cos rodó de coloració intensa i de significat desconegut, que va denominar «X». Més endavant, quan C. E. McLung va descobrir el mecanisme cromosòmic de la determinació del sexe (1902), va decidir de conservar aquest nom. Aquestes troballes serien corroborades per E. B. Wilson l'any 1906.

El 1901, Von Winiwarter va descriure l'aparellament dels cromosomes en la primera divisió cel·lular en els ovaris de conilles i el 1905 J. B. Farmer i J. E. S. Moore van descriure la meiosi («reduction divisions in animals and plants»).

4. Primeres observacions dels cromosomes humans

La investigació en citogenètica humana s'inicia en els treballs d'Arnold (1879) i del ja esmentat Flemming (1882), que van examinar per primer cop cromosomes humans mitòtics. En els anys següents, es van realitzar nombrosos treballs a fi d'elucidar el nombre de cromosomes de l'espècie humana.

H. von Winiwarter va dur a terme l'any 1912 un treball que hauria de resultar molt influent, tant per la qualitat de la seva pulcra tècnica com per l'exactitud dels seus resultats: va concedir al cariotip femení 48 cromosomes amb dues X i va definir la morfologia del cromosoma X com un element gran i amb centròmer en posició central.

El mateix H. von Winiwarter va comptar en seccions de testicles 47 cromosomes i va admetre que el cariotip masculí humà era de 23 parells d'autosomes i un cromosoma X (11) [Fig. 4].

Un treball que va tenir una enorme repercusió va ser el de Painter (12), que el 1921 i també per mitjà de biòpsia de testicle, va discriminar el nombre de cromosomes humans com de 46 o 48. En un informe posterior es va decidir a favor de 48. Un error que fou donat per vàlid durant més de quatre dècades. No obstant això, té altres mèrits que li hem de reconèixer: per exemple, descriure el sexe bivalent, consistent en un cromosoma X i un altre Y, els quals en l'anafase de la meiosi migren a pols oposats [Fig. 5].

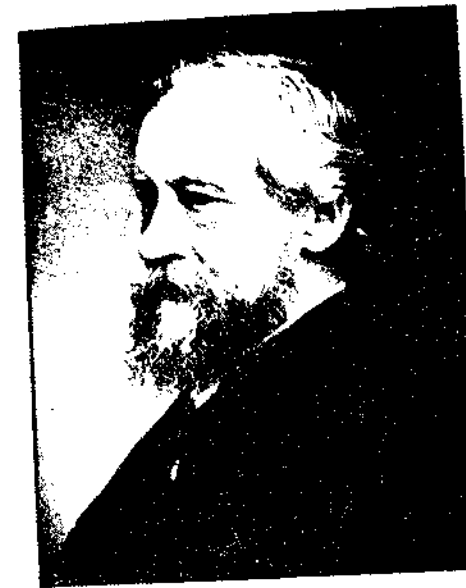


Fig. 3: H. de Vries.



Fig. 4: Divisió mitòtica en espermatogonia (Von Winiwarter, 1912).

El desenvolupament de la citogenètica es va interrompre durant diversos decennis; les causes foren en part els mètodes inadequats de preparació i en la part humana la dificultat d'accedir a cèl·lules en divisió per a l'obtenció de cromosomes visibles, i a la vegada el seu elevat nombre. Van tenir lloc alguns descobriments puntuals com ara els de Barr i Beltram (13), que en estudis sobre l'estimulació elèctrica de cèl·lules nervioses van descriure, l'any 1949, la presència de petites masses de cromatina en cada nucli. Aquestes masses localitzades en la perifèria del nucli interfàsic de les dones, absents en els homes, es van relacionar amb el cromosoma X.

No va ser fins a la troballa purament accidental de T. C. Hsu (14) en el seu laboratori de tractament de cèl·lules en cultiu amb solucions hipotòniques, que la citogenètica va obtenir el seu certificat de naixement. Aquesta tècnica ja havia estat utilitzada per altres autors, entre ells Makino, i es feia servir en l'assaig de Hsu per a l'estudi dels cromosomes en diferents tonicitats. Hsu va comprovar que utilitzada com a xoc hipotònic cel·lular s'obtenien preparacions amb els cromosomes separats entre ells, salvant així una de les dificultats clàssiques dels estudis cromosòmics.

Altres millores tècniques durant aquests anys van ser els mètodes de squash o d'esclafament introduïts per Sachs el 1953 a partir de les tècniques de Heitz (1936) i Koller (1942), però mancava una segona gran aportació per consolidar la revolució en cariologia dels mamífers i aquesta va ser la de Tjio i Levan, l'any 1956 (16), que van adequar una tècnica utilitzada durant anys en genètica vegetal, per obtenir un gran nombre de metafases en els cromosomes amb les cromatines contretes i separades. Aquesta tècnica consistia a tractar les cèl·lules amb un verí extret del *Colchicum autumnale*, la colquicina, que interfereix la formació de l'ús acromàtic [Fig. 6].

5. Naixement de la Citogenètica humana

Totes aquestes troballes, petites conquestes de la tècnica, culminaren en els mateixos Tjio i Levan, els quals van descriure per primera vegada el nombre diploide humà de 46 cromosomes, corroborat per Ford i Hamerton per meïosi el mateix any. Aquesta data, que significa el punt de partida de tota la citogenètica actual, en general no va despertar cap expectació i passà a engruixir algun petit apartat dels llibres de biologia. El fet més xocant és que aquest descobriment



Fig. 5: Anafase meiótica (Painter, 1923).



Fig. 6: Cromosomes mitòtics.

s'hauria pogut produir molt abans, si no hagués estat per la manca d'interès de la medicina clínica per la genètica (17) [Fig. 7].

No hi va haver cap comunicació entre els laboratoris de biologia de les universitats o de les estacions agrícoles i animals i els centres clínics, fet que va proporcionar que les avançades metodologies aplicades tardassin anys a adaptar-se als laboratoris dedicats a la recerca humana.

La necessària col·laboració va acabar per arribar forçosament, a causa, en gran part, de Ford i Court-Brown a la Gran Bretanya i Leujene a França.

A la Gran Bretanya, amb el suport del Medical Research Council, els equips de Ford a Harwel i de Court-Brown a Edimburg van propiciar una primera aproximació entre medicina i citogenètica. Els equips van treballar intercanviant informació i membres d'un i altre equip participaven en estades en l'altre laboratori. J. Strong, físic, professor de la facultat de medicina va tenir la idea de treballar, juntament amb Patricia Jacobs, en els aspectes citogenètics de la Síndrome de Klinefelter (18), descrita el 1942. Mentrestant, el grup de Ford investigava, en el Guy's Hospital amb P. Polani al capdavant, en la Síndrome de Turner (19), descrita el 1938. Ambdues síndromes eren congènites, amb malformacions genitals i fenotípiques característiques, la primera en homes i la segona en dones.

Per la seva banda, Leujene treballava sobre les hipòtesis de Waardenburg de 1932 (20), que apuntava que el mongolisme, descrit per primera vegada per Saquin el 1846, caracteritzat per un quadre malformatiu congènit acompanyat de retard mental, estava associat a una deficiència cromosòmica o a una duplicació i, fins i tot, insinuava que la seva aparició podia estar influïda per l'edat materna.

Va ser precisament a Leujene i al seu equip (21), a qui va correspondre l'honor de descriure el primer cas de cromosomopatia associada a un quadre clínic patològic, en trobar la presència per triplicat d'un cromosoma 21 en els pacients afectats de mongolisme, i van marcar d'aquesta manera una fita en la història de la medicina [Fig. 8].

Només uns dies més tard, els equips britànics també van obtenir fruits dels seus treballs en descobrir Jacobs i Strong (22) el cariotip 47 XXY associat a la Síndrome de Klinefelter. L'abril del mateix any, Ford i el seu grup descriuen per la seva banda el cariotip 45 XO per a la Síndrome de Turner (23).

La demostració d'anormalitats cromosòmiques com a causa de malalties ja conegudes o bé la seva responsabilitat per anomalies en

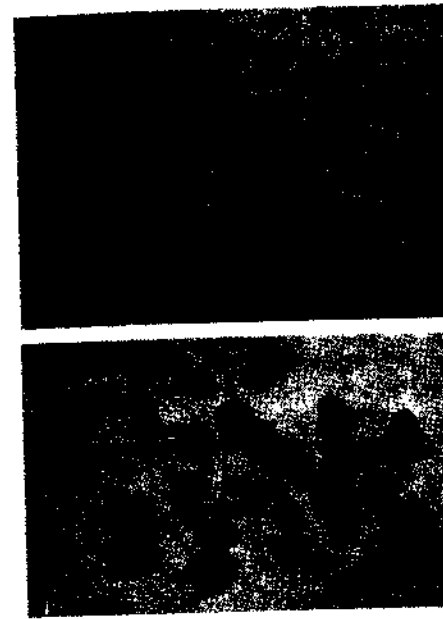


Fig. 7:

A dalt: Metafase precoç en fibroblasts pulmonars embrionaris (Tjio i Levan, 1956).

A baix: Espermatòcit I, 23 bivalents amb la parella XY (Ford i Hamerton, 1957).

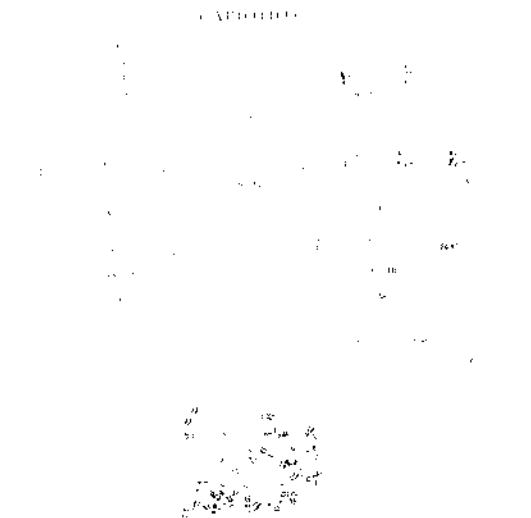


Fig. 8: Síndrome de Down. Cariotip 47, XX (21+).

el nombre o estructura, en processos malformatius congènits múltiples l'associació repetida dels quals havia passat desapercebuda, fou el fruit immediat del sobtat interès despertat per la citogenètica en amplis sectors mèdics. En poc temps es van descriure les Síndromes de Patau o trisomia 13 (24) i la Síndrome d'Edwards o trisomia 18 (25), ambdues el 1960. Aquest mateix any Turpin descriu la primera translocació i Böök i Santerson un individu 69 XXY.

El 1963, en plena expansió de les tècniques en gran nombre de laboratoris, es descriu la monosomia $5p^-$ per a la Síndrome del «crit del gat» (26) i Wolf el 1965 (27) publica la monosomia parcial $4p^-$. Per la seva banda, nombrosos autors posen en evidència que un gran nombre d'avortaments precoços espontanis tenen una composició cromosòmica anòmala.

Aquesta situació de màxim interès per a una nova ciència descoberta recentment coincidia amb els espectaculars avenços en els dissenys de models mol·leculars de l'herència, entre ells el de Watson i Crick (1953) [Fig. 9], que exposava com es transmet la informació genètica d'una generació a una altra gràcies a un codi específic conservat juntament amb els gens i, per tant, en els cromosomes (28). Això va permetre a Jerónimo Forteza Bover, un dels pioners espanyols en citogenètica, definir els cromosomes (29) com a «estructures integrades pels factors hereditaris de Mendel o gens de Johansson, les quals poden transmetre el missatge genètic de què són portadores, tant a altres cèl·lules (duplicació) com als ribosomes de la mateixa cèl·lula (transcripció)».

En els inicis, els estudis citogenètics es realitzaven en preparacions directes de teixits, que havien de ser rics en metafases. Les preparacions obtingudes d'aquesta manera tenen l'avantatge de reflectir amb major fidelitat el que ocorre en el nucli cel·lular, però tenen l'inconvenient de la dificultat que habitualment existeix per obtenir-les, ja que els teixits rics en metafases només són: la medul·la, la melsa i el testicle.

T. Kemp (1929) fou el primer a investigar cromosomes humans en cultius cel·lulars, però els seus resultats no van ser especialment encoratjadors. L'optimització de les fases terminals dels cultius amb les millores de Hsu i de Tjio i Levan, juntament amb la preparació de millors medis de cultiu sintètics, n'han popularitzat l'ús rutinari en els laboratoris. Actualment, es continuen utilitzant cultius a llarg i mitjà termini com a tècnica habitual en la citogenètica, fonamentalment líquid amniòtic i pell.

Els primers cultius de líquid amniòtic daten de 1966 i els van dur a terme Steele i Greg, amb un èxit escàs; millors resultats van obtenir Jacobson i Barter un any després i ja més endavant tenim les experiències més positives de Nadler (30) i Emerly (31).

Un altre gran pas cap a la definitiva consolidació de la citogenètica dins els camps biològic i mèdic fou la possibilitat de realitzar anàlisis cromosòmiques a partir de sang perifèrica, fet que va permetre per primera vegada dur a terme estudis a partir d'un teixit d'obtenció fàcil. Aquesta possibilitat fou introduïda per Rigas i Osgood (32) i Nowell (33) utilitzant la phitohemaglutinina (PHA) extreta de la mongeta (*Phaesolus vulgaris*). La PHA és capaç d'induir «in vitro» la divisió dels limfòcits de sang perifèrica d'individus no leucèmics. Utilitzant verí antimitòtic com la colquicina després d'unes hores de cultiu, habitualment 72, és possible obtenir una gran quantitat de metafases, amb les cromatines contretes i separades entre elles. El somni dels primers citogenetistes és ara ja una realitat. Aquesta tècnica fou resumida i optimitzada per Moorhead i el seu grup, el 1960 (34). En realitat, es concentraven en una tècnica senzilla de amb prou feines 72 hores els esforços dels citòlegs i el seu progrés lent en el camí d'obtenir preparacions de bona qualitat.

Ja es dominava la tècnica i es coneixia el nombre total de cromosomes de l'ésser humà, s'havia demostrat l'associació patològica clínica-anomalia cromosòmica, però aparegué una nova limitació en la problemàtica d'identificació dels cromosomes, atesa la gran similitud morfològica que existeix entre els diferents grups que formen el cariotip.

De fet, la denominació cariotip fa referència de manera estricta al complement cromosòmic d'un organisme tal com apareix en metafase; en canvi, idiograma correspon a l'ordenació del cariotip en parells d'homòlegs. Malgrat això, l'ús de la paraula cariotip es va generalitzar per indicar el complement cromosòmic d'un organisme ordenat en parells. Aquesta ordenació es fa d'acord amb la mida del cromosoma, la posició del centròmer i d'altres característiques com ara l'existència de construccions secundàries satèl·lits (Ford, 1961) (35). La coloració amb Giemsa només permet la identificació dels parells 1, 2, 3 i 16 i, algunes vegades, els 9, 17 i 18. Els altres solien ser ordenats d'acord amb criteris objectius del citogenetista.

La introducció de tècniques autoradiogràfiques que es basen en la substitució en el medi de cultiu de la timina per un homòleg, la timidina tritiada, i la posterior valoració de la seva incorporació als

cromosomes mitjançant la impressió d'una pel·lícula o emulsió, per part de Taylor i col·laboradors el 1957 (36), (37), va significar un nou pas endavant.

Amb l'ús d'aquesta tècnica, la identificació s'obtenia per comparació amb el patró de replicació esperat per a cada cas; era particularment útil en el cas de translocacions, ja que el procés de translocació no alterava el patró de replicació dels cromosomes implicats, que conservaven el seu propi patró, fet que permetia observar una asimetria en el segment de cromosoma translocat. Tanmateix, l'ús era necessàriament limitat a grans centres a causa de la complexitat del procés autoradiogràfic i en emprar substàncies radioactives, així com per la incomoditat del seu ús rutinari.

La nomenclatura dels cromosomes i la seva ordenació en el cariotip va constituir una àrdua tasca que va provocar forces enfrontaments personals entre pioners de l'actual citogenètica. Nombrosos autors proposaren diversos sistemes de nomenclatura; gairebé cada citogenetista tenia, en realitat, el seu de propi, però únicament alguns d'importants els publicaren, entre ells Ford i el seu equip (1958), Chu i Giles (1959), Tjio i Puck (1958) o Levan i Hsu el 1959.

Un dels primers intents d'unificació, el van dur a terme Ford i Puck, que reuniren un important grup de genetistes a Denver (Colorado), EUA, per formar, el 1960, el «Human Chromosome Study Group» (38). Aquest grup va elaborar una primera nomenclatura unificada, malgrat les nombroses i esperades crítiques que la seva tasca va provocar. Certament, algunes solucions eren, com a mínim, discutibles, per exemple, la situació del cromosoma X, però va significar almenys un punt de partida. En realitat, la discussió sorgia de la dificultat objectiva de situar alguns cromosomes; així, de les dades morfològiques i autoradiogràfiques de què disposaven, es podien identificar i aïllar 15 dels 23 parells cromosòmics. Una dècada més tard, encara es discutia, per exemple, la possibilitat de separar els parells 21 i 22, la qual cosa ens dóna idea de les limitacions que existien. Uns sistemes millorats van ser proposats, entre altres, per Patau (39), utilitzant patrons de mesura com ara la relació entre els braços del cromosoma (q/p) i l'índex centromètric (p/longitud total cromosoma). Patau, un home especialment actiu en aquest sentit, va defensar sempre una posició raonable des de la nostra òptica actual que, per mitjà dels mètodes convencionals, únicament es podia assignar un determinat cromosoma a un grup i no a un parell [Figs. 10, 11 i 12].

A Denver, es van classificar els cromosomes d'acord amb la seva

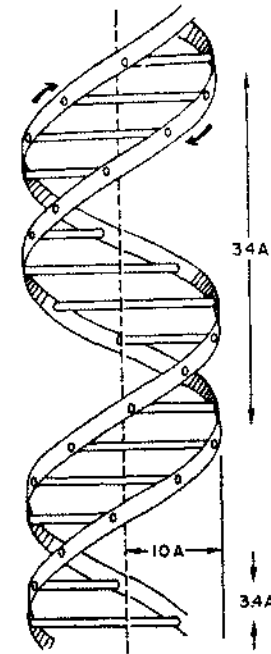


Fig. 9: Model de Watson i Crick (1953).

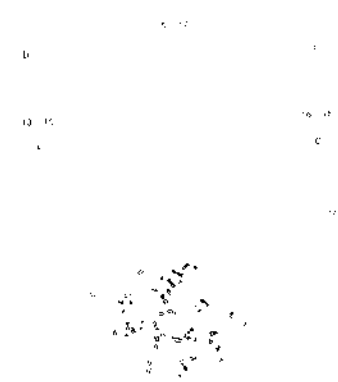


Fig. 10: Cariotip d'home normal, 46 XY.

mida i la posició del centròmer (que definia els cromosomes com sub-metacèntrics, metacèntrics, acrocèntrics i telocèntrics) en set grups (A-G) a més a més del parell sexual. Dels set grups, l'A compta amb tres parells, el B dos, el C en té set (sis al dotze), el D tres més (tretze-quinze) igual que l'E (setze-divuit), mentre que l'F i el G en tenen dos parells cada un (dinou-vint) i (vint-i-un - vint-i-dos), respectivament.

En una conferència posterior a Chicago (1966) (40) es va convenir d'afegir al sistema original una sèrie de símbols que designarien determinades característiques normals o rares dels cromosomes, entre elles, la línia «/» per als mosaics, els signes «+» i «-» per assenyalar l'accés o manca d'un cromosoma o una part d'aquest, «p» i «q» per als braços curt i llarg del cromosoma, «r» per al cromosoma en anell i «t» per a translocació.

Després d'una dècada de troballes continuades, cap a la meitat dels anys 60, es va produir un important aturament que coincidiria amb la descripció imprecisa de noves síndromes. Només cal recordar el cas de Wolf que, en definir el que més tard seria monosomia parcial 4p⁻, és a dir, en el grup B, no va tenir cap més alternativa que descriure-la com delecció del braç curt d'un cromosoma B, sense síndrome del «crit del gat», per diferenciar-la de la descrita per Leujene. Tot això era degut a la ja comentada impossibilitat d'identificar els cromosomes. Semblava que la citogenètica hagués passat de la infància a la senilitat d'un sol salt.

6. La maduresa

El 1968, s'obriria l'etapa de la maduresa per a la citogenètica, quan Casperson i els col·laboradors del Karolinska Institutet de Stockhòlm observaren un peculiar patró de fluorescència en els cromosomes de *Vicia faba* i *Trillium ferectum* (41), seguint una tècnica de coloració de les preparacions amb mostassa de quinacrina i posterior activació amb llum ultraviolada. En altres paraules, «algun» DNA cromosòmic semblava que reaccionava amb els fluorocroms i donava zones fluorescents amb diferent patró d'intensitat.

Aparentment, aquest fet no motivà especialment els investigadors de la citogenètica humana seguint una ancestral tradició, i va ser únicament quan el mateix Tobjörn Caspersen juntament amb Lore Zech publicaren el 1970, a la revista «Chromosome», el cariotip humà complet ordenat d'acord amb les bandes obtingudes aplicant la

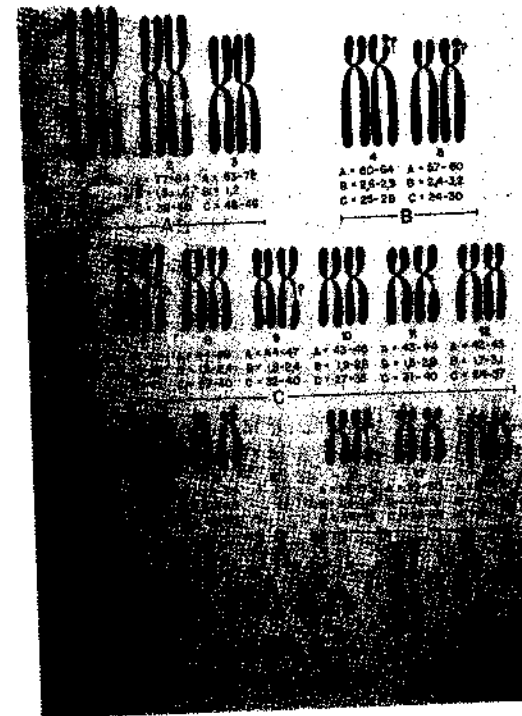


Fig. 11: Cariotip de dona normal, 46 XX.

Fig. 12: Cariotip masculí (Eggen 1965).

A: longitud relativa.
B: relació entre braç llarg i curt.
C: índex de centròmers.

seva tècnica (42), que es va desencadenar en els laboratoris una veritable febre amb l'objectiu d'aconseguir noves tècniques de bandatge.

Els patrons de bandes són, en realitat, una tinció selectiva i característica per a cada cromosoma, després de sotmetre'l a tractaments físico-químics o enzimàtics. A partir d'aquests patrons, els cromosomes van adquirir una personalitat pròpia, que impedia que un cromosoma pogués confondre's amb cap altre. Realment, era el que s'havia estat buscant durant una dècada i es va produir una eclosió de treballs per a la recerca de noves tècniques que millorassin la de fluorescència. La diversitat de tortures que s'infringiren a les cromàtides dels cromosomes per obtenir-ne informació, va ser espectacular, es van bullir, es van digerir amb enzims de tot tipus, es van atacar amb àcids o àlcalsis, o es van intoxicar amb sals. Molt aviat es va veure que els patrons de bandes obeïen a tres grups, fossin quines fossin les tècniques utilitzades: les bandes G i Q, les bandes R (de revers) i T, i finalment les C, que es corresponen amb les regions pericentromètriques i heterocromàtiques. S'hi poden afegir les NOR o regions organitzadores nucleolars, situades en els braços curts dels cromosomes acrocèntrics [Fig. 13].

La tècnica més usual per a l'obtenció de les bandes Q és la de Caspersen; aquestes bandes responen al mateix patró de les G, el tractament de les quals és o bé enzimàtic (43) o bé iònic (44). Les bandes R responen al patró invers de les G i Q, i s'obtenen per tractament tèrmic en solucions salines que, si és més enèrgic, originarà les bandes T (terminals) (45) (46). Existeix un tractament alternatiu amb fluorocroms (47). En les bandes C s'utilitza un tractament amb hidròxid de bari i SSC (48). La tècnica del NOR es basa en tincions amb nitrat de plata i va ser descrita per Goodpasture (49).

La popularització de les tècniques de bandes va tornar a plantejar els vells problemes de nomenclatura, però aquesta vegada els científics reaccionaren amb rapidesa i del 6 a l'11 de setembre de 1971 es reuniren en una conferència a París (50) per a l'«standardization in human cytogenetics» amb una triple finalitat: primera, definir un sistema internacionalment acceptable de nomenclatura per a cada cromosoma humà, d'acord amb les tècniques actuals i suficientment flexible per poder acceptar les futures adequacions a unes noves tècniques; segona, considerar possibles esmenes a la nomenclatura de Chicago i tercera, discutir altres àrees relacionades amb els cromosomes humans en els quals hi hagués acord. Es va crear un comitè compost per Dutrillaux, Evans, Ford, Hamerton, Linsden i Rudle, que

Fig. 13: Cromosomes bandeats amb tripsina-giemsa (Bandes GTG).

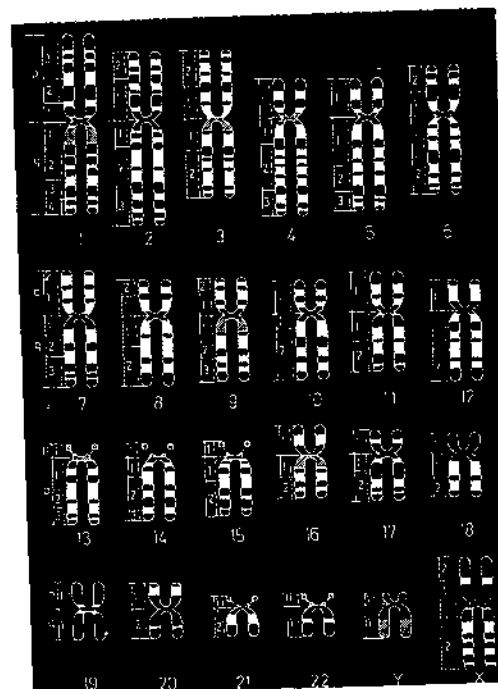


Fig. 14: Cariotip amb patrons de bandes G, segons la classificació de París (1971).

va treballar en l'elaboració d'una sèrie de ponències que bàsicament consistiren en l'acceptació, amb alguns retocs, del cariotip de Caspersen, i el manteniment de les definicions convencionals per als cromosomes 1 al 5, 9, 13 al 18 i per a l'Y. Hi va haver una excepció a la regla de la nova distribució i va ser que el cromosoma 21 es va retenir com a associat a la síndrome de Down, malgrat que, amb els nous criteris i amb les mesures dels cromosomes evidenciats en bandes, a aquest cromosoma li correspondria el 22 perquè és el més petit dels G. Aquesta circumstància ja havia estat posada de relleu per Prieto i col·laboradors, el 1970, per mitjà de l'autoradiografia. La confusió que això hagués originat en els àmbits mèdic, genètic i històric, va ser suficientment tinguda en compte per mantenir l'antiga regla [Fig. 14].

Un apèndix a la conferència es va publicar el 1975 (51) i el 1978 es va donar a conèixer l'International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) (52), que per la seva part el 1981 va realitzar un apèndix per a les bandes d'alta resolució (53).

Les diferències químiques que revelen les bandes són discutides; bàsicament, la informació que se n'obté podria resumir-se en (54): 1. Composició del DNA: per a les bandes R, riques en G - C; per a les G, bases A - T i per a les C, de tipus mixt. 2. Tipus de seqüències de DNA: de tipus únic per a les R, repetitiu per a les G/Q i altament repetitiu per a les C. 3. Temps de replicació: curt (S) per a les R, de tipus mitjà per a les G/Q i nul per a les C. 4. Les bandes R contenen euromatina i les G/Q i C, heterocromatina.

Per a alguns autors (55) la sola hipòtesi del tipus de DNA no és concloent i per explicar les bandes caldria recórrer al complex proteïna - DNA, que conforma l'estructura del cromosoma.

Al llarg d'aquest treball hem esmentat l'interès mèdic de les anomalies cromosòmiques com una de les causes de l'actual desenvolupament de la citogenètica, i dins d'aquest interès cal fer especial esment dels efectes deleteris que aquestes anomalies produeixen, així com la possibilitat de prevenir-ne l'aparició.

Els dos trets clínics més importants que apareixen en les cromosopaties són: retard mental i malformacions congènites. El grau de major o menor gravetat vindrà donat pel o pels cromosomes implicats. Existeixen anomalies cromosòmiques incompatibles amb la vida ja des de les primeres fases del desenvolupament embrionari i avui dia hom creu que més d'un 50 % dels avortaments espontanis obeeixen a anomalies cromosòmiques.

Les alteracions cromosòmiques poden ser dividides en dos tipus principals: numèriques i estructurals. Una cèl·lula amb el nombre haploide o un múltiple exacte es coneix com a euploide. En el cas de l'home el nombre haploide n és de 23 cromosomes i de $2n$ el nombre de cèl·lules somàtiques, és a dir, 46 cromosomes; les cèl·lules euploides de nombre més gran que el diploide normal reben el nom de poliploides. Les cèl·lules amb qualsevol variació d'un dels nombres euploides s'anomenen aneuploides.

El tipus més comú d'aneuploidia és la trisomia, és a dir l'existència de tres cromosomes homòlegs en lloc del parell que normalment és present. L'absència d'un cromosoma rep el nom de monosomia. Les aneuploidies parcials es corresponen amb la presència en excés o el dèficit d'una part del cromosoma o la seva translocació sobre un altre, homòleg o no, i són generalment el resultat de ruptures i posteriors recombinacions anormals dels fragments produïts. Ambdues alteracions, les totals i les parcials, tenen lloc fonamentalment en la meiosi o més rarament en alguna divisió mitòtica, i designam genèricament els mecanismes que les produeixen amb el terme «no disjunció», que al·ludeix a l'error de segregació de dos cromosomes o cromàtides germans en la separació anafàsica de la divisió cel·lular [Fig. 15].

La incidència d'aneuploidies en l'espècie humana és excepcionalment alta; així, les aneuploidies autosòmiques totals tenen una incidència del 0.31 % en els nounats, però la xifra creix espectacularment si parlem de la incidència que tenen en els avortaments, atès que un 65 / 75 % de tots els avortaments de causa cromosòmica són deguts a aneuploidies; de tot això, se'n dedueix el gran nombre de fracassos de fertilitat que es produeixen a nivell dels gàmetes, o en les primeres fases del desenvolupament embrionari (56).

En les aneuploidies parcials les xifres d'incidències varien entre un 0.2 i un 0.4 per 1000 nounats. En grups seleccionats, tanmateix, aquests valors s'apugen fins a un 8 per 1000 en pacients amb retard mental, un 14 per 1000 en nounats morts i un 33 per 1000 en grups amb retard mental i altres malformacions associades.

El fenomen de no disjunció és conegut de fa anys i C. E. Bridges ja el va descriure l'any 1916 (57); tanmateix, i malgrat el temps transcorregut, les causes del fenomen continuen essent en gran mesura desconegudes. Com ja hem dit, l'origen sol tenir lloc fonamentalment en la primera divisió meiótica materna (58, 59) i més rarament en la segona o en les dues paternes.

L'efecte de l'edat sobre la incidència d'algunes síndromes i més concretament de la Síndrome de Down ha donat lloc des de 1960 a un gran nombre de treballs. No obstant això, tal com diu Polani (60), avui dia es desconeix quin és el mecanisme a nivell cel·lular i si l'efecte de l'edat materna en relació amb la disjunció no es posa de manifest per l'edat, sinó amb l'edat [Fig. 16].

Per explicar aquesta i altres hipòtesis s'han manipulat una gran quantitat de dades, tant experimentals i epidemiològiques com teòriques. Entre aquestes dades n'hi ha que són especialment suggerents, com ara la persistència dels gàmetes femenins en profase meiótica des de la vida fetal, cosa que permetria deduir la possible importància de l'envelliment prenatal i no el postnatal. Un altre exemple seria l'edat materna com un factor determinant per a l'aparició d'alteracions cromosòmiques que és selectiu solament per a uns determinats cromosomes i no per a uns altres.

En realitat només existeixen tres hipòtesis globals que expliquin les causes de les aneuploidies i són les d'Ohno de 1961 (61) sobre la influència dels cromosomes acrocèntrics i la d'Edwards de 1962 (62) sobre el procés de terminalització dels quiasmes; tots dos han resultat incomplets i ja en el seu temps aquest darrer fou molt controvertit.

Avui es tendeix a designar com a hipòtesi més correcta el desequilibri hormonal.

Templado (1981) (63) i Egozcue (1983) (64), a partir de models d'animals (ratolí femella, hámster mascle i nounat de hámster femella), i en humans mascles, van observar una sèrie de mecanismes citològics en el procés sinàptic que podien contribuir a la no disjunció: la desinapsi precoç, la no disjunció provocada per filaments nucleolars, l'heterosinapsi i la desinapsi i finalment la presència d'univalents en la metafase I.

Aquest és un dels camps en què la citogenètica necessàriament haurà d'aprofundir i que, segons el meu parer, juntament amb l'enginyeria genètica i el consell reproductor constituïran les especialitats que, unes amb el suport de les altres, conformen el present i el futur de la citogenètica.

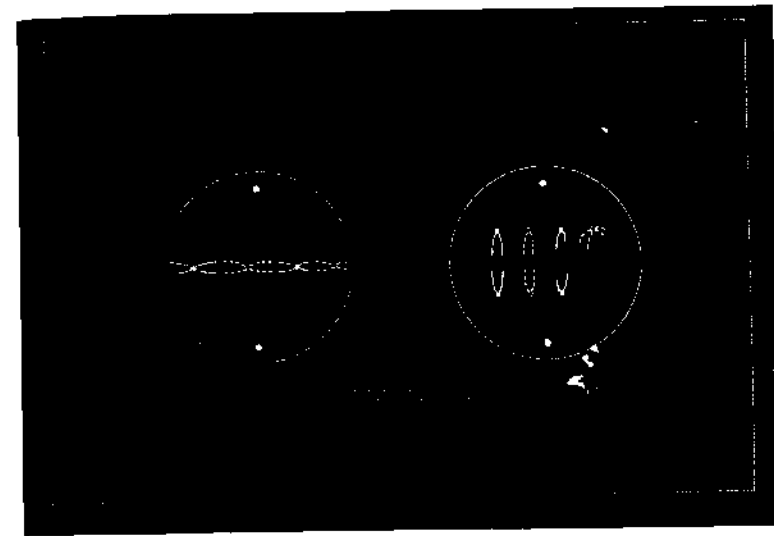


Fig. 15: No disjunció cromosòmica.

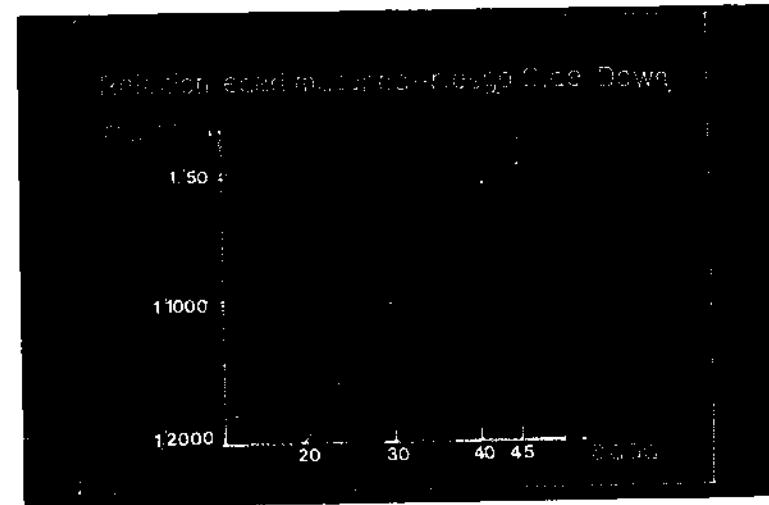


Fig. 16: Influència de l'edat materna en l'aparició de cromosomopaties.

7. Present i futur

L'enginyeria genètica, els aspectes tècnics de la qual no tractarem aquí, és el pont entre la genètica molecular i la citogenètica. Les seves increïbles possibilitats permetran i permeten ja de realitzar diagnòstics impensables només fa uns anys [Fig. 17].

Un dels projectes més importants de la propera dècada serà sens dubte el «Genome», aprovat recentment per l'Acadèmia de Ciències dels EUA amb un pressupost de tres mil milions de dòlars i que té per objecte la confecció d'un mapa genètic humà complet.

La seva culminació permetrà, al costat d'altres millores en les condicions i expectatives de vida, disposar de sondes genètiques precises que permetin conèixer el grau d'afectació d'un cromosoma o cromosomes d'un determinat individu. Això ha de ser un instrument particularment útil en diagnòstic prenatal, ja que dispondrem de la possibilitat d'avaluar objectivament situacions que actualment no ho són, com ara la fragilitat del cromosoma X, certs cromosomes de més o petites alteracions cromosòmiques estructurals.

Entram, doncs, de ple en un dels camps més interessants de la genètica en general i de la citogenètica en particular: el consell genètic. Seguint una proposta de la Societat Americana de Genètica Humana, cal entendre per consell genètic aquell procés de comunicació que tracta dels problemes associats a la recurrència o al risc d'ocurrència d'un desordre genètic en una família. El seu objectiu fonamental és la prevenció de l'aparició de l'anomalia en el sector més ampli possible de la població.

El primer antecedent històric es remunta al Dr. John Adams (1756-1818) (65), metge anglès que va publicar un llibre amb el títol de «A treatise on the supposed hereditary properties of disease», en el que recomanava una eugenèsia negativa.

El terme «consell genètic» fou introduït en medicina per primera vegada per Sheldon Reed el 1945, a qui el terme «higiene genètica» no convenia perquè el considerava proeugenèsic.

El consell genètic pot ser retrospectiu, si en la família estudiada hi ha antecedents, o prospectiu quan no n'hi ha: en tots dos casos s'estudien les històries clíniques i es realitzen les proves que es consideren oportunes. A la llum d'aquestes dades es formula el corresponent risc de recurrència o ocurrència i el consell reproductor consegüent amb les possibles mesures alternatives, si n'hi hagués. Aquesta és una tasca pluridisciplinària complexa i delicada on la informació ha

de ser oferta als interessats per personal mèdic qualificat, en ser d'una enorme responsabilitat humana i social.

En el cas de les cromosopaties, la problemàtica és una mica diferent a la que es presenta en les malalties gèniques, i avui dia la majoria dels riscos són empírics.

Els riscos depenen de cada cas concret i de si els pares són portadors o no d'anomalies equilibrades. Però a més de factors empírics com ara l'edat materna, cal tenir en compte altres factors correctors que puguin induir a pensar que en la parella s'han seleccionat gàmetes anòmals. Patricia A. Jacobs (66) cita entre aquestes dades nous nats morts, avortaments previs i infertilitat. Naturalment aquests factors s'incrementen en el cas que hi hagi constància que aquests gàmetes hagin format un nen afectat d'alguna cromosopatia o bé malformat.

De la importància de les aneuploidies en l'espècie humana i de la influència que en la seva formació tenen els mecanismes meiótics, es dedueix l'interès creixent per l'estudi dels gàmetes que ha tingut lloc els últims anys.

Tanmateix, Ford i Hamerton ja el 1956 (66) suggerien que l'estudi meiótic podia ser de gran ajuda en l'avaluació de l'home infèril.

Les millores tècniques, tant en els estudis de biòpsia testicular com en preparacions directes de semen han popularitzat la seva demanda; no obstant això, la certesa d'obtenir resultats en un 100% en biòpsia i en un 50% en preparacions directes (68) els estudis meiótics demanen una gran preparació i experiència als citogenetistes que les realitzen, cosa que en limita la pràctica a uns pocs laboratoris qualificats. Segons Egozcue i els seus col·laboradors (69) és aconsellable de fer aquests estudis meiótics en tot individu amb infertilitat o esterilitat de causa desconeguda, o en aquells portadors d'anomalies equilibrades a fi d'avaluar el seu comportament meiótic i les possibilitats que té de segregat desequilibrat. La detecció d'anomalies a aquest nivell permet a més d'evitar al pacient exploracions o tractaments inútils i oferir un consell reproductor adequat.

Una mesura alternativa a l'estudi de meiosi clàssica llargament buscada ha estat l'estudi directe del material cromosòmic de l'espermatozou. La dificultat més gran de l'estudi resideix en el fet que a partir de la segona divisió meiótica, els cromosomes de l'espermatozou resten condensats i això impedeix que siguin estudiats. Solament després de la fecundació es fan els cromosomes durant la primera divisió del zigot. L'any 1976 Yanagimachi (70) va demostrar que els

espermes humans capacitats eren capaços de penetrar oòcits d'hàms-ter desprovistos de zona pel·lúcida per tractament enzimàtic i formar un pronucli masculí. L'altre oòcit d'hàms-ter contenia, doncs, factors descondensadors de la cromatina i els convertia en un bon substitut de l'humà.

La tècnica de Yanagimachi va ser adoptada per Rudak el 1978 (71) amb l'objecte d'aprofitar la descondensació cromàtica per analitzar directament els cromosomes de l'esperma, en ser el complement cromosòmic de l'home fàcilment identificable gràcies al diferent nombre, morfologia i patró de bandes, i al fet que s'impedeix la singàmia. Avui dia la tècnica d'elecció és la de Martín de 1983 (72) i amb ella s'ha pogut demostrar que un 5 % del total dels espermes són portadors d'anomalies.

Un altre aspecte de fertilitat en què la citogenètica ha influït i influeix és la dels programes de Fertilització «in vitro» i Transferència embrionària. Els primers programes de FIV-TE en medicina humana foren duts a terme per R. G. Edwards el 1963, i a partir de 1968 juntament amb P. Steptoe (73) i van culminar amb el primer ésser humà concebut en condicions «in vitro» l'any 1978.

Actualment les tècniques de FIV-TE s'han desenvolupat en l'àmbit mèdic alhora que tècnicament s'han simplificat i constitueixen una alternativa seriosa per a casos concrets d'infertilitat i són una ajuda preciosa per al consell genètic.

La citogenètica ha prestat un important suport a les tècniques de reproducció assistida no solament des d'un punt de vista pràctic, amb les seves experiències en medis de cultiu «in vitro», per exemple, i amb personal format en els seus laboratoris, sinó també en l'avaluació de programes per a determinar si les tècniques de FIV poden produir o no un nombre més gran d'embrions genèticament anòmals en relació amb la fecundació «in vivo». En el cas que existís un augment d'aquest risc, això seria una circumstància que caldria tenir en compte a l'hora d'aplicar aquesta tècnica sobretot en grups de risc en ells mateixos [Fig. 18].

Fins ara els programes en animals d'experimentació duts a terme per diversos equips, entre ells el de Santaló (74), no han demostrat diferències significatives.

Alguns autors, entre ells el mateix Edwards, sostenen que en els programes de FIV la incidència de cromosopaties hauria d'estar -i està de fet- per sota de les xifres de la fecundació normal (75).

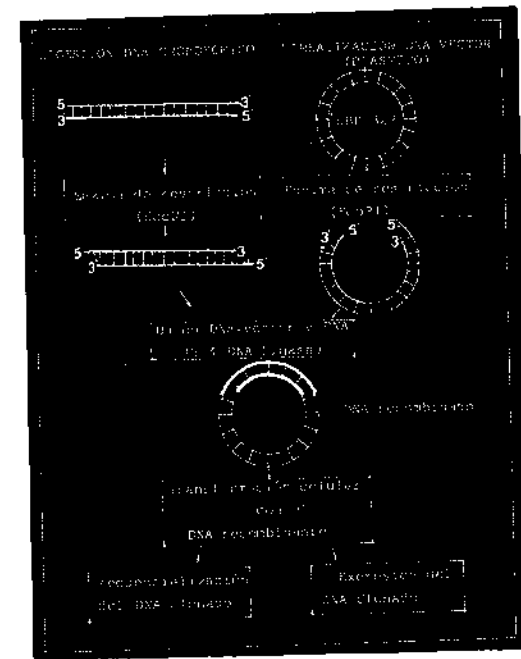


Fig. 17: Enginyeria genètica: esquema d'actuació dels enzims de restricció.



Fig. 18: Embrió de 4 cèl·lules obtingut per FIV.

Però els programes de FIV-TE com a alternativa reproductiva presenten altres possibilitats apassionants, que constitueixen un desafiament tant ètic com metodològic. La criopreservació d'embrions humans amb què Throuson i Mohr van aconseguir un primer embaràs (76) va significar una alternativa real als estudis citogenètics en embrions humans pre-implantacionals introduïts per Rudak (76). Avui diversos equips treballen en l'estudi citogenètic d'alguns blastòmers d'embrions obtinguts per FIV, abans de transferir-lo a la mare, per descartar anomalies cromosòmiques, al mateix temps que es congela la resta de les cèl·lules a l'espera de conèixer els resultats.

Lògicament els embrions solament seran transferits en cas de normalitat.

Estam certament a les portes d'un nou món, amb el que inevitablement ens haurem d'encarar. Recordem que la teoria de l'evolució va ser una aportació decisiva a la formació del pensament modern i va significar un profund canvi filosòfic, polític, social i religiós i va incidir de manera clara en el seu temps. La polèmica que va aixecar ha arribat fins i tot al nostre temps; els seus defensors van ser atacats, ridiculitzats i anatemitzats per uns i altres, simplement perquè es tractava d'una proposta nova i que en apariència podia canviar l'òptica de l'home respecte a la seva pròpia identitat. La persecució no va tenir fronteres i si encara avui dia la seva difusió és prohibida en alguns estats dels EUA, l'any 1948 la teoria va comportar l'excomunicació dels científics soviètics de l'Acadèmia Lenin. I tanmateix el descobriment del codi genètic va dotar a la teoria de l'evolució d'una base física, en paraules de J. Monod.

Avui no solament se'n coneix el funcionament bàsic, sinó que també s'està desxifrant el codi genètic humà; es pot realitzar «in vitro» enginyeria genètica, i d'aquí uns anys es podrà modificar inevitablement la dotació genètica de l'home prevenint o guarint anomalies hereditàries. Aquesta nova tecnologia, juntament amb les tècniques de reproducció assistida que hem descrit breument, han causat en la societat un impacte emocional tan gran com el que va causar en el seu temps la teoria de l'evolució, potser amb l'única diferència que els mètodes de comunicació de masses moderns han donat una més gran –que no millor– informació a la societat.

L'explicació d'aquest impacte social és clara en el sentit que aquests nous coneixements incideixen en alguns dels punts bàsics que ha utilitzat l'home per elaborar la seva pròpia autoestima i la seva relació de prepotència amb la natura, la vida i el món en general.

És evident que tota nova troballa tècnica i científica planteja noves possibilitats, davant les quals la societat en general i els mateixos científics han de reflexionar. És evident també que l'activitat científica té un component ètic i una responsabilitat social: on es troben els límits? És possible aturar la recerca? És desitjable? Com ha dit recentment el professor Egozcue: «aquests límits els ha de marcar el propi científic i alhora han d'estar tipificats en una llei, que per altra banda no caldrà aplicar mai als científics honests i responsables; el científic seriós es manté sempre dins uns límits ètics que, per descomptat, varien segons les creences personals de cadascú».

Penso que qualsevol científic, sigui del nivell que sigui, podria subscriure aquestes paraules.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—C. DARWIN: *On the tendence of species to form varietis and species by natural means of selection*. J. Linn. Soc. Zoology 3 (1859) 45.
- 2.—MENDEL: *Experiments in plant hibridization*. Naturforschender Verein. Brünn (8 March 1865).
- 3.—DE VRIES H.: *Intracellulare Pangenesis*. Fisher, Jena 1889.
- ‡.—GARROD A. E.: *The incidence of alcaptonuria. A study in chemical individuality*. Lancet 1929 II, 1616-1620.
- 5.—BEADLE G. W., TATUM E. L.: *Genetic control of biochemical reactions in Neurospora*. Proc. Soc. Nat. Acad. Sci. (Wash), 27, 499-506 (1941).
- 6.—SCHNEIDER A.: *Untersuchungen über plathelminthen*. Ber. Oberhess. Ges. Natur-Heilk Giessen, 14 (1873) 69.
- 7.—HERTWIG O.: *Beiträge zur Kenntnis der Bildung, Befruchtung und Teilung des tierischen Eres*. 1. Abn. Morph. J., 1 (1875) 347.
- 8.—FLEMING W.: *Zellsubstanz Kern und Zellteilung*. Vogel, Leipzig. 1882.
- 9.—BOVERI TH.: *Überr die befruchtung der eier von ascaris megalocephala*. S. B. Ges. Morph. Physiol., 3 (1887) 71.
- 10.—SUTTON W. S.: *On the morphology of the chromosome group in Brachystolla Magna*. Biol. Bull. 4 (1902) 24.
- 11.—PAINTER T. S.: *Studies in mammalian spermatogenesis II The spermatogenesis in man*. J. Exp. Zool. 37, 291-321 (1923).
- 12.—DE WINIWARDER H.: *Etudes sur la spermatogenese humaine*. Arch. Biol. (Paris) 27, 1912, 1.
- 13.—BARR ML., BERTRAN LF.: *A morphological distinction between neurones of the male and the female and the behavior of the nuclear satellite during accelerated nucleoprotein syntesis* Nature 163, 676-677 (1949).
- 14.—HSU T. C., POMERAT C. M.: *Mammalian chromosome in vitro. A method for spreading the chromosomes of cells in tissue culture*. J. Hered. 44, 23 (1953).
- 15.—TJIO J. H., LEVAN A.: *The cromosome number of man*. Hereditas (Lund) 42: 1, 1956.
- 16.—Vogel Motulsky. Spring Verlag Ed. Berlin (1979) 1-7.

- 17.—KLINEFELTER HF JR., REIFENSTEIN EC JR., ALBRIGHT F.: *Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis, without a Leydig cell and increased excretion of follicle-stimulating h. J. of clinical End. and Met.*, 2: 615-627 (1942).
- 18.—TURNER H. H.: *A Syndrome of infantilism, congenital webbed neck and cubitus valgus*. *Endocrinology*, 23: 566-574 (1938).
- 19.—WAARDENBURG P. J.: *Das menschliche Auge und seine Erbanlagen*. *Bibliogr. Genet.*, 7: 1932.
- 20.—LEUJENE J., GAUTIER M., TURPIN R.: *Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliques*. *Compte Rendus de l'Academie des Sciences*. Paris, 248: 1721 (1959).
- 21.—JACOBS P. A., STRONG JA.: *A case of human intersexuality having a possible XXY sex determining mechanism*. *Nature* 183: 302 (1959).
- 22.—FORD CE, MILLER OJ, POLANI PE, ALMEIDA JC DE, BRIDGES JH.: *A sex chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's Syndrome)*. *Lancet* 1959 II 711-713.
- 23.—PATAU K., SMITH DW., TIETMAN E., INHORN SL., WAGNER HP.: *Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome*. *Lancet* I, 7128: 790 (1960).
- 24.—EDWARDS JH., HARNDEN DG., CAMERON AH., CROSSE VM., WOLF OH.: *A new trisomic syndrome*. *Lancet* I 787 (1960). 0
- 25.—LEUJENE J., LAFOURCADE J., BERGER R., VIALATTE BOESWILLWALD M., SLRINGE P., TURPIN R.: *Trois cas de deletion partielle du bras court d'un chromosome 5*. *Compte Rendus de l'Academie des Sciences*. Paris 257: 3098 (1963).
- 26.—WOLF V., PORSCH R., BAITSCH H., REINWEIN M.: *Deletion on short arm of a B chromosome without «cri du chat» Syndrome*. *Lancet* I 7388: 769 (1965).
- 27.—WATSON JD., CRICK HC.: *The structures of DNA*. *Col. Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 123-132 (1953).
- 28.—FORTEZA G., BAQUENA R.: *Diagnóstico Hematológico*. 1 533-585 (1972). Ed. Jims (Barcelona).
- 29.—NADLER HL., GERBIE AB.: *Amniocentesis in the intrauterine detection of genetic disorders*. *New Engl. J. Med.* 282. 11 596-599 (1970).
- 30.—EMERY AEH.: *Antenatal diagnosis of genetic disease*. Ed. AEH Emery. p. 267-296. Butterworths. London (1970).
- 31.—RIGAS DA., OGOOD EE.: *Purification and properties of the PHA of Phaeolus vulgaris*. *J. Biol. Chem.* 212. 607 (1955).
- 32.—NOWELL PC.: *PHA, an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes*. *Cancer Res.*, 20: 462 (1960).
- 33.—MOORHEAD PS., NOWELL PC., MELLMAN WJ., BATTIPS DM., HUGERFORD DA.: *Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood*. *Exp. Cell. Res.* 20. 613-616 (1960).
- 34.—FORD CE.: *Methodology of chromosomal analysis in man*. Syverton Memorial Symp. on analytic cell. culture. Detroit Michigan 1961 (National Cancer Institut Monograph, n.° 7. 1961).
- 35.—TAYLOR JH.: *The time and mode of duplication of chromosome*. *Amer. Nat.* 91 (1957) 209.
- 36.—TAYLOR JH., WOODS PS., HUGHES WL.: *The organization an duplications of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium labeled Thymidine*. *Proc. nat. Acad. Scie. (Wash.)*. 43 (1957) 122.
- 37.—*Denver Conference*. *Lancet* I (1960) 1063.
- 38.—PATAU K.: *The identification of individual chromosomes especially in man*. *Amer. J. Human Genet.* 12. 250-276 (1960).
- 39.—*Chicago Conference: Standardization in human cytogenetics Birth Defects: Original articles*. The National Found. New York. Vol. 2 n.° 2 (1966).
- 40.—CASPERSON T., DELA CHAPELLE S., FOLEY GE., KUDYNOWSKI J., MODEST EJ., SIMONSSON E., WAGH V., ZICH L.: *Chemical differentiation along metaphase chromosomes*. *Exp. Cell. Res.*, 49 (219). 1968.
- 41.—CASPERSON T., ZICH L., JOHANSON C.: *Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes*. *Exp. Cell. Res.* 60: 315-319 (1970).
- 42.—SEABRIGHT M.: *A rapid banding technique for human chromosome*. *Lancet* II. 971-972 (1971).
- 43.—SUMNER AT., EVANS HJ., BUCKLAND R.: *New techniques for distinguishing between human chromosomes*. *Nature* 323: 31-32 (1971).
- 44.—DUTRILLAUX B., LEUJENE J.: *Nouveau systeme du marquage du caryotype humain*. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 272: 2638-2640 (1971).
- 45.—DUTRILLAUX B.: *Nouveau systeme de marquage chromosomique: les bandes T*. *Chromosome* 41: 395-402 (1973).
- 46.—BOBROW M., COLLAUOT HEAL., NADAN K.: *Chromosome banding with acridine orange*. *Lancet* II 1311 (1972).
- 47.—PARDUE ML., GALL JG.: *Chromosome localization of mouse satellite DNA*. *Science* 168: 1356-1358 (1970).
- 48.—GOODPASTURE C., BLOOM SE.: *Visualization of NORs in mammalian chromosome using silver stain*. *Chromosome* 53: 37-50 (1975).
- 49.—*Paris Conference. Standardization in human cytogenetics Birth Defects: Original Articles*. Vol. 8 n.° 7. The National Foundat. New York. 1971.
- 50.—*Paris Conference. Supplement 1975. Birth Defects: Original Articles*. Vol. 11 n.° 9. The National Foundation. New York (1975).
- 51.—*An International System for Human Cytogenetics Nomenclature. (ISCN). Birth Defects: Original Articles*. Vol. 14 n.° 8 (1978).
- 52.—*An International System for human Cytogenetics Nomenclature. High resolution banding. Cytogenetics and cell genetics*. Vol. 31. n.° 1. Karger pp. 1-32. (1981).

- 53.—MILLER O.J.: *Chromosomal basis of inheritance. Principles and practice of medical genetics.* Churchill-Livingstone Ed. Edinburgh, pp. 49-64 (1983).
- 54.—VOGEL-MOTULSKY. *Human Genetics.* Springer-Verlag Berlin pp. 24 (1979).
- 55.—FORD CE: *The time is development at wich gross genome imbalance is expressed. The early developemtu of mammals.* M. Balls & AE Wild Ed., Cambridge University Oress. pp. 285-304 (1975).
- 56.—BRIDGES CB.: *Non disjunction of the sex-chromosome of brosofila.* J. Exp. Zool., 15: 587-606 (1913).
- 57.—EGOZCUE J., GUITART M., FREIXA L., PONSÀ M.: *Origen meiótico de las aneuploidias.* XII Congreso Nacional de Genética Humana. Oviedo 1984 (61-72).
- 58.—MEULENBROECK GHM., GERAEDTS JMO.: *Parenteral origin of chromosome abnormalities in spontaneous abortions.* Human. Genet. (1982) 336-354.
- 59.—POLANI PE.: *Paternal and maternal non disjunction in the hight of colour vision studes.* Ed. WM Davidson & D. Robertson Smith. Staples Press, pp. 80-83 (1961).
- 60.—OHNO S., TRUJILLO SM., KEPLAN WD., KINOSITA R.: *Nucleolus Organizars in the causation of chromosome anomalies.* Lancet (1961) 2: 123-126
- 61.—EDWARDS RG.: *Meiosis in ovarian oocytes of adults mammals.* Nature (1962) 196: 446-447.
- 62.—TEMPLADO C., VIDAL F., MARINA S., POMEROL JM., EGOZCUE J.: *A new meiotic mutation: desynapsis of individual bivalents.* Hum. Genet. 1981 (59: 345-348).
- 63.—EGOZCUE J., TEMPLADO C., VIDAL F., NAVARRO J., MORER FARGAS F., MARINA S.: *Meiotic studies in a series of 1100 infertile and sterile man.* Hum. Genet. (1983) 65: 185-188.
- 64.—MOTULSKY AG.: *Joseph Adams (1756-1818).* AMA. Arch. Inter. Med. 104 (490-496) 1959.
- 65.—JACOBS A. P.: *Birth Defects: Original articles series.* Vol. XV, n.º 5 C (71-80).
- 66.—FORD CE., HAMERTON JL., BARNES DWH y LKOUJIT JF.: *Identification of radiation chimeras.* Nature 177: 452 (1956).
- 67.—TEMPLADO C., VIDAL F., NAVARRO J.: J. Hum. Genet. 59: 335-348 (1981).
- 68.—EGOZCUE J., TEMPLADO C., VIDAL F., NAVARRO J., MORER FARGAS F., MARINA S.: *Hum. Genet.* 65: 185-188 (1983).
- 69.—YANAGIMACHI R.: *Mechanism of fertilization in mammals. Fertilization and embryonic development in vitro.* L. Mastroiani Jr., JD Bridges eds. Plenum Press pp. 81-182.
- 70.—RUDAK KE., JACOBS PA., YANAGIMACHI R.: *Direct analysis of the chromosome constitution of human spermatozoa.* Nature 274 (911-913) 1978.
- 71.—MARTIN RH.: *A detailed method for obtaining preparations of human sperm chromosomes.* Cytogenet. Cell. Genet. 35 (252-256) 1983.
- 72.—SIEMTÖE PC., EDWARDS RG.: *Birth after the reimplantation of a human embryo.* Lancet, 2: 336 (1978).
- 73.—SANTALÓ J.: *Fertilización in vitro y anomalías cromosómicas.* XIII Congreso Nacional de Genética Humana. Murcia. 17-26 (1985).
- 74.—EDWARDS RG.—IV Simposio Internacional sobre embarazos inducidos. Barcelona 1986. (Comunicación personal).
- 75.—TROUSON A., MOHR C.: *Human pregnancy following cryopreservation. Thawing and transfer of an eight-cell embryo.* Nature 305, 707, 1983.

Í N D E X

	Pàg.
Presentació	5
1. De l'antiga Grècia al segle XVIII	6
2. Teoria de l'herència de Mendel	8
3. Indicis de l'existència dels cromosomes	10
4. Primeres observacions dels cromosomes humans	12
5. Naixement de la Citogenètica humana	14
6. La maduresa	22
7. Present i futur	30

ÍNDEX D'IL·LUSTRACIONS

	Pàg.
Fig. 1: Ch. Darwin	9
Fig. 2: Gregor Mendel	9
Fig. 3: H. de Vries	13
Fig. 4: Divisió mitòtica en espermatogonia (Von Winiwarter, 1912)	13
Fig. 5: Anafase meiòtica (Painter, 1923)	15
Fig. 6: Cromosomes mitòtics	15
Fig. 7: A dalt: Metafase precoç en fibroblasts pulmonars embrionaris (Tjio i Levan, 1956) A baix: Espermatòcit I, 23 bivalents amb la parella XY (Ford i Hamerton, 1957)	17
Fig. 8: Síndrome de Down. Cariotip 47, XX (21 +)	17
Fig. 9: Model de Watson i Crick (1953)	21
Fig. 10: Cariotip d'home normal, 46 XY	21
Fig. 11: Cariotip de dona normal, 46 XX	23
Fig. 12: Cariotip masculí (Eggen 1965)	23
Fig. 13: Cromosomes bandeats amb tripsina-giema (Bandes GTG)	25
Fig. 14: Cariotip amb patrons de bandes G, segons la classificació de París (1971)	25
Fig. 15: No disjunció cromosòmica	29
Fig. 16: Influència de l'edat materna en l'aparició de cromosomopaties	29
Fig. 17: Enginyeria genètica: esquema d'actuació dels enzims de restricció	33
Fig. 18: Embrió de 4 cèl·lules obtingut per FIV	33