Comentarios sobre la correlación de parámetros y los gráficos de comparación de valores medios

Como ya dijimos en el capítulo anterior (RESULTADOS) las pruebas de correlación pretenden determinar si entre dos variables cuantitativas existe o no algún tipo de relación, si ambas están ligadas en alguna forma, si, en definitiva, variaciones de una arrastran variaciones de la otra.

En el capítulo de RESULTADOS expusimos los coeficientes de correlación de todas las parejas de parámetros que se podían comparar. Habíamos excluido en estas comparaciones el índice centromérico, al formarse éste a partir de dos parámetros que iban a compararse de forma individual. Los coeficientes obtenidos eran a simple vista muy significativos. No obstante, para demostrarlo, existe una prueba estadística que se denomina *Significación del Coeficiente de Correlación*. Esta prueba se basa en que cuando el coeficiente de correlación de Pearson (r) encontrado supere al error estándar multiplicado por el valor de la "t" de Student con n-2 grados de libertad ("n" es el tamaño de la muestra), consideramos que el coeficiente de correlación es significativo. En nuestro caso utilizamos una muestra de 22 elementos por lo que la "t" de Student valdrá

2.06 para una $p<0.05$, 2.84 para $p<0.01$ y 3.85 para una $p<0.001$.

La fórmula que vamos a utilizar es la siguiente :

$$r > t \quad \frac{1-r^2}{n-2}$$

r = Coeficiente de correlación de Pearson

t = Coeficiente corrector de Student

n = Tamaño de la muestra

Vamos a aplicar esta fórmula a los coeficientes de correlación encontrados en nuestras comparaciones. Como de entrada pensamos que existe un alto grado de significación vamos a utilizar una "t" de 3.851, correspondiente a una probabilidad de error menor de 1x1000 .

1.- <u>Comparación LONGITUD-AREA</u> :

r = 0.9974

t = 3.851

n = 22

$$3.851 \quad \frac{1-(0.9974)^2}{22-2} \; ; \; 0.9974 > 0.0009997$$

El coeficiente de correlación es muy significativo, con una $p<0.001$.

2.- Comparación LONGITUD-PERÍMETRO :

r = 0.9992

t = 3.851

n = 22

$$3.851 \quad \frac{1-(0.9992)^2}{22-2} \quad ; \quad 0.9992 > 0.0003078$$

El coeficiente de correlación es muy significativo con una $p<0.001$.

3.- Comparación LONGITUD-BRAZO CORTO :

r = 0.8310

t = 3.851

n = 22

$$3.851 \quad \frac{1-(0.8310)^2}{22-2} \quad ; \quad 0.8310 > 0.059567$$

El coeficiente de correlación es muy significativo, con una $p<0.001$.

4.- Comparación ÁREA-PERÍMETRO :

r = 0.9972

t = 3.851

n = 22

$$3.851 \quad \frac{1-(0.9972)^2}{22-2} \quad ; \quad 0.9972 > 0.0010764$$

El coeficiente de correlación es muy significativo, con una $P<0.001$.

5.- Comparación AREA-BRAZO CORTO :

$r = 0.8072$

$t = 3.851$

$n = 22$

$$3.851 \quad \frac{1-(0.8072)^2}{22-2} \quad ; \quad 0.8072 > 0.1962301$$

El coeficiente de correlación es muy significativo, con una $p<0.001$.

6.- Comparación PERÍMETRO-BRAZO CORTO :

$r = 0.8318$

$t = 3.851$

$n = 22$

$$3.851 \quad \frac{1-(0.8318)^2}{22-2} \quad ; \quad 0.8318 > 0.1845276$$

El coeficiente de correlación es muy significativo, con una $p<0.001$.

Como ya intuíamos todos los coeficientes de correlación son muy significativos con un alto grado de seguridad.

Existe otro método de "exploración" para ver si existe o no correlación entre dos variables cuantitativas, método un tanto *grosso modo*, que consiste en la realización de una nube de dispersión. En nuestro caso podría haber sido muy informativa, antes de determinar los coeficientes de correlación, pero dado que ésta ya ha sido probada no la consideramos ahora de interés.

En realidad lo que hemos comparado en cada coeficiente han sido los valores medios de cada cromosoma para cada dos parámetros considerados. El coeficiente mayor ha sido para la pareja Longitud total-Perímetro (0.9992), casi la unidad; el coeficiente menor ha sido para la pareja Longitud total-Brazo corto (0.8310). Por supuesto el que la longitud total de un cromosoma esté correlacionada con su perímetro no es algo que nos sorprenda en absoluto, tampoco nos sorprende el resto de las correlaciones pero una cosa es conocer la teoría y otra demostrarlo en la práctica. ésto además es importante pues al confirmar los teórico estamos, a su vez, demostrando que las mediciones están bien hechas, lo que hace más fiables los resultados que se desprenden de ellas. También hay que hacer notar que todas las correlaciones son positivas, por lo que, ¡naturalmente!, al aumentar un parámetro aumenta el otro y viceversa. Es preciso recordar, también, que en

el cálculo de los coeficientes de correlación no se han tenido en cuenta los cromosomas X e Y, pues el tamaño de sus muestras es diferente del resto de los cromosomas (autosomas, n= 100; X, n=71; Y, n=29).

Junto a los coeficientes de correlación hemos determinado las rectas de regresión que nos van a permitir, conocido el valor de uno sólo de los parámetros, determinar el valor que tomaría el otro. Estas rectas de regresión son tanto más válidas en cuanto que los coeficientes de correlación sean mayores. Como en nuestro caso los coeficientes están muy próximos a la unidad, su valor práctico aumenta considerablemente. Hemos calculado dos rectas de regresión por cada coeficiente de correlación, según queramos determinar un parámetro en función del otro o viceversa.

Por último hemos hecho una comparación de valores medios de los cromosomas para cada parámetro. Vamos a comentarla brevemente. Dos han sido los gráficos realizados por cada pareja:

- un DIAGRAMA DE BARRAS, donde cada cromosoma viene representado por dos barras de distinta calidad de relleno, simulando cada una de ellas un parámetro distinto. Se compara la altura que alcanza cada barra respecto de la otra del mismo cromosoma (la altura equivale al valor relativo en tantos por ciento).

- un POLíGONO DE FRECUENCIAS, donde lo que se compara no es cada cromosoma individualmente, sino más bien la curva quebrada que ofrecen el conjunto de todos los cromosomas. La línea contínua caracteriza un parámetro y la línea discontínua el otro.

En estos gráficos sí se han incluido los valores relativos medios de los cromosomas X e Y, para todos los parámetros.

1.- Comparación LONGITUD TOTAL-AREA (Gráficos nº XXII y XXIII)

En ambos gráficos, aunque más en el polígono de frecuencias, se puede ver la similitud de los valores medios relativos de los dos parámetros para cada cromosoma. Curiosamente se puede observar a la perfección como la concordancia es mayor en los cromosomas grandes (2,3,4,5,6,7 etc) y como a medida que descendemos hacia los cromosomas más pequeños (del 13 al 22) se observa una mayor diferencia entre estos valores medios. Atribuimos esta especie de "diástasis gráfica" a que la medición de los cromosomas grandes es más fácil y, si cabe, más exacta que la de los cromosomas pequeños; sobre todo es éstos últimos la medición de los brazos cortos es muy difícil.

2.- Comparación LONGITUD TOTAL-PERÍMETRO (Gráficos nº XXIV y XXV)

Como cabía esperar, al tener un coeficiente de correlación de 0.9992 , la similitud de valores medios de los dos parámetros, para cada cromosoma, es casi perfecta (si es que este término pudiera utilizarse frente a la variabilidad biológica).

Las dos líneas quebradas se inician en el valor, arbitrario, de 100 (equivalente al cromosoma nº 1). Desde aquí descienden, primero lentamente (cromosoma nº 2), luego de forma brusca (cromosoma nº 3) para continuar descendiendo suavemente (cromosomas nº 4,5,6,7,8,9,10) hasta un pequeño ascenso (cromosomas nº 11 y 12) con posterior caída brusca (cromosomas nº 13, 14, 15) y descenso contínuo hasta un fondo máximo (cromosoma nº 21) con un pequeño ascenso (cromosoma nº 22), un pico ascendente muy brusco (cromosoma X) y un último y definitivo descenso (cromosoma Y).

3.- Comparación LONGITUD TOTAL-BRAZO CORTO (Gráficos nº XXVI y XXVII)

Es una de las parejas de parámetros más discordantes, en base a su coeficiente de correlación (0.8310) y ello a pesar de que en la consideración de la longitud total interviene el valor del brazo corto, con el que luego va a compararse. La razón de esta discordancia estriba, a nuestro juicio, en la escasa

contribución del brazo corto (salvo en los cromosomas nº 1, 2, 3) frente a los brazos largos. lo que anula casi cualquier semejanza introduicida por el hecho de considerar, tanto en uno como en otro parámetro, el brazo corto. Así en los cromosomas denominados acrocéntricos (nº 13, 14, 15, 21, 22, e Y) y en los telocéntricos (nº 4 y 5) esta diferencia entre los valores medios de ambos parámetros se agudiza; mientras que en los cromosomas metacéntricos (3,16,19 y 20) las diferencias se miniminizan, y en los cromosomas submetacéntricos (2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18 y X) se mantiene en un término intermedio (ver diagrama de barras). Este patrón de comportamiento se mantiene muy parecido en todas las parejas de parámetros en las que interviene el brazo corto cromosómico.

4.- Comparación PERíMETRO-ÁREA (Gráficos XXVIII y XXIX)

Es una pareja de variables al estilo de la longitud total-área y longitud total-perímetro. Su coeficiente de correlación es alto (0.9972). Al igual que en las anteriores se observa el distanciamiento de valores medios para los dos parámetros al analizar los cromosomas más pequeños frente al análisis de los cromosomas más grandes.

Una observación importante, tanto en esta comparación como en el resto de ellas, es que el cromosoma nº 22 siempre muestra valores superiores respecto al cromosoma nº 21, cualquiera que sea el parámetro considerado. No es éste un descubrimiento personal, pero la constatación de este hecho nos recuerda que en la Convención de DENVER (Colorado, USA, 1960) se clasificaron los cromosomas en orden descendiente de su tamaño y que, por tanto, los cromosomas nº 21 y 22 no siguen ese criterio.

5.- Comparación BRAZO CORTO-AREA (Gráficos XXX y XXXI)

Es la pareja de parámetros que ofrece un coeficiente de correlación menor (0.8072) aunque en términos objetivos sigue siendo alto. La mayor concordancia parece darse en aquellos cromosomas en los que el brazo corto contribuye significativamente al área cromosómica total. Así, es máxima para los cromosomas nº 3, 16, 19, 20, 21 y 22; por otra parte, la discordancia es mayor para los cromosomas con brazos cortos muy cortos y brazos largos muy largos (cromosomas nº 4, 5, 12, 13, 14 etc). También podemos observar lo que decíamos anteriormente sobre los cromosomas nº 21 y 22.

6.- Comparación PERÍMETRO-BRAZO CORTO (Gráficos XXXII y XXXIII)

Más en la línea de la pareja brazo corto-longitud total, estos dos parámetros ofrecen una desviación similar a la ofrecida por aquella pareja. En la medida en que el brazo corto contribuya al perímetro así será la correlación, aumentando en los cromosomas de brazo corto grande y disminuyendo en los de brazo corto pequeño.

APARTADO II : COMPARACIÓN DE NUESTROS RESULTADOS CON OTROS TRABAJOS SIMILARES

Una vez discutidos los resultados de nuestro trabajo, se hace necesario establecer una comparación con trabajos parecidos que hayan tenido un objetivo similar al nuestro : la clasificación automática de los cromosomas en base a su morfología. Enseguida tropezamos con la primera dificultad : no tenemos constancia de que en España se hayan realizado este tipo de trabajos. Fuera de España el análisis automático de los cromosomas sí ha alcanzado cierto interés materializándose en la realización de algunos programas comerciales que pretenden dicho ordenamiento. No obstante, los esfuerzos actuales y desde principios de la década de los setenta han ido encaminados al estudio de cromosomas bandeados, sobre todo por medio de contrastes de densidad. Es preciso bucear en el tiempo para encontrar los primeros esfuerzos dirigidos hacia el análisis morfologico. En principio éstas se referían a la longitud de los cromosomas y a sus índices centroméricos; luego también a sus áreas. Numerosos métodos más o menos ingeniosos trataban de lograr esa clasificación morfologica de los cromosomas. Son notables los esfuerzos de algunos autores como Ledley y Ruddle (1965), Butler (1966), Mendelson et al. (1966), Rutovitz (1968) etc. Sin embargo, aún hoy, no se ha conseguido un programa fiable. El advenimiento de

nuevos ingenios computarizados ha ido seguido de nuevos intentos de resolver este problema, pero con poco éxito. Actualmente, los nuevos procesadores y analizadores de imágenes nos han hecho pensar que quizá pudiéramos aportar algo nuevo en la resolución de este problema.

Lo primero que vamos a hacer es comparar las determinaciones morfométricas que otros hicieron ya en este campo con lo que nosotros hemos conseguido.

Una dificultad sobreañadida estriba en el logro de la bibliografía adecuada, ya que suelen tratarse de trabajos experimentales, realizados en instituciones privadas, casi todos ellas EEUU.

Para nuestras comparaciones vamos a tomar tres momentos de referencia : 1.- Convención de DENVER (1960); 2.- Conferencia de PARIS (1971); 3.- Trabajos del Centro de Genética Médica del Hospital Henry Ford (Detroit, USA)(1986).

1) <u>CONVENCION DE DENVER (1960)</u> :

Históricamente representa el punto de arranque del intento de clasificar los cromosomas humanos. Diversos criterios, de todos conocidos, emanaron de dicha reunión. Seis grupos presentaron aquí sus trabajos de medición cromosómica. Tres de ellos habían sido publicados con anterioridad: Tjio y Puck (1958); Chu y

Giles (1959); Levan y Hsu (1959), mientras que otros tres se presentaban inéditos : Fraccaro y Lindsten; Lejeune y Turpin; Buckton, Jacobs y Harnden. En ellos se hacía referencia a tres tipos de parámetros o índices: longitud relativa de cada cromosoma respecto a la longitud total de la metafase, razón de los brazos (brazo largo:brazo corto) e índice centromérico. Vamos a comparar cada uno de estos trabajos con nuestros resultados. La comparación más directa la vamos a hacer entre los índices centroméricos. La razón de los brazos queda descartada, primero por que no la hemos determinado (aunque podíamos haberlo hecho con facilidad) y además por que creemos que dos comparaciones (longitud e índice centromérico) son suficientes para tener una idea de los valores morfométricos que cada autor y su equipo han determinado.

Las comparaciones las efectuamos por medio de dos tipos de gráficos :

- diagrama de barras : en ellos la comparación se realiza cromosoma a cromosoma.

- polígono de frecuencias : la comparación es de conjunto a conjunto y da una idea global de la relación interna entre los cromosomas.

1.a.) Trabajo de TJIO y PUCK (Gráficos XLIX y L)

En conjunto los valores que ofrecen Tjio y Puck, para el índice centromérico, guardan una relación importante con los nuestros, aunque existen matizaciones.

Nuestros valores son siempre más altos, con dos excepciones : los cromosomas 7 y 9. Parece que para estos autores esos cromosomas son más metacéntricos que submetacéntricos. Por otra parte las zonas del cariotipo donde existen más discordancias con nuestra serie son en las correspondientes a los cromosomas acrocéntricos (13,14,15,21 y 22) y en las de los telocéntricos (4 y 5). Ello es debido a que en estos cromosomas existe una característica común que son la brevedad de los brazos cortos. La medición de éstos es muy difícil de hacer y pensamos que aquí radica la diferencia entre ambas series de valores.

Otros cuatro puntos en los que estamos en total desacuerdo son :

- Tjio y Puck consideran el índice centromérico del cromosoma nº 5 más pequeño que el correspondiente del nº 4.

- Tjio y Puck ofrecen unos valores de índice centromérico para el grupo D (cromosomas 13, 14 y 15) en los que el cromosoma nº 15 muestra el valor más bajo de todos, haciendo una inflexión en su representación gráfica. Para nosotros está muy claro que, en circunstancias normales como las que se presuponen, el índice centromérico del cromosoma nº 15 no puede ser el menor del grupo sino, al contrario, el mayor y su representación gráfica debe estar incluida en una recta ascendente de izquierda a derecha.

- Para Tjio y Puck, el índice centromérico del cromosoma nº 19 es menor que el del nº 20, mientras que nosotros pensamos que ésto es al revés y recientes observaciones parecen confirmarlo (véase más adelante).

- Para el cromosoma Y, estos autores dan un valor de cero, suponemos que por no haberlo medido.

Resumiendo, con excepción de los últimos cuatro puntos el resto del cariotipo presenta una semejanza notable con los valores de nuestra serie. Intentando cuantificar el grado de semejanza hemos determinado el coeficiente de correlación entre sus valores y los nuestros, siendo éste de 0.9094 . Ello le coloca como una buena correlación. Veremos, no obstante, que este coeficiente es superado en otros trabajos.

1.b.) Trabajo de CHU y GILES (Gráficos LI y LII)

De entrada debemos considerar que existe una correlación algo menor entre su serie de valores y la nuestra, pues el coeficiente de Pearson es tan sólo de 0.8898 .

Analizando primero lo que de semejanza existe entre las dos series, destacamos los cromosomas nº 1, 2 y 3 los cuales, como ocurría con Tjio y Puck, presentan una semejanza buena (casi siempre es así porque se trata de cromosomas grandes y fáciles de medir). De forma general nuestros valores son más altos que los de Chu y Giles, con la única excepción del cromosoma nº 9 que para ellos es más metacéntrico que submetacéntrico.

Por otra parte, existe una notoria diferencia entre los valores de los cromosomas acrocéntricos, y algo menor para los telocéntricos.

Las discordancias más agudas, e inadmisibles para nosotros, son :

.- Al igual que los autores anteriores, Chu y Giles consideran el índice centromérico del cromosoma nº 5 menor que el del nº 4, mientras que para nosotros el del nº 5 es ligeramente mayor que el del nº 4.

- El índice centromérico del cromosoma nº 7 es menor que el del nº 6, cuando pensamos que es exactamente al contrario - Los índices centroméricos

atribuidos al grupo D representan una recta descendente, de izquierda a derecha, cuando en realidad debe ser ascendente de izquierda a derecha.

- El índice centromérico del cromosoma nº 20 esmucho mayor que el del cromosoma nº 19. Nosotros pensamos que es al contrario.

- El valor del índice centromérico del cromosoma Y continúa sin medirse.

En conjunto vemos que hay cierta correlación de las dos series de valores , con unas pocas pero esenciales discordancias.

1.c.) Trabajo de LEVAN y HSU (Gráficos LIII y LIV)

Este trabajo muestra un coeficiente de correlación de 0.9439, lo que le coloca, de momento, a la cabeza de los hasta ahora determinados. A simple vista el polígono de frecuencias ya nos indica el por qué de este notable aumento de la correlación : manteniendo las características generales de los trabajos anteriores, las diferencias de valores para los cromosomas acrocéntricos y telocéntricos se han minimizado.

De forma notable se observa como se han corregido algunos de los errores que se cometían en los trabajos anteriores (siempre desde nuestro particular punto de vista) :

- El índice centromérico de los cromosomas nº 4 y 5 guardan la relación debida, aunque quizás se den valores excesivamente altos para el cromosoma nº 5 .

- El cromosoma nº 9, para el que los trabajos anteriores daban un valor demasiado alto, ahora se ajustan casi perfectamente al dado por nosotros.

- Los cromosomas nº 19 y 20 muestran índices centroméricos iguales, lo que a nuestro juicio no es todavía correcto aunque, al menos, corrige la tendencia ascendente de su representación gráfica.

- Se ofrece por primera vez un valor para el índice centromérico del cromosoma Y, aunque éste diste aún del dado por nosotros.

Por otra parte, existen diferencias puntuales también importantes :

- El cromosoma nº 7, como para Chu y Giles, es considerado con un índice centromérico más bajo que el del cromosoma nº 6.

- Inadmisiblemente el índice centromérico del cromosoma nº 11 se considera ¡más bajo que el del cromosoma nº 10! ¡e incluso que el del nº 12!.

- Se mantiene la confusión en el grupo D, donde se dan valores de índice centromérico mayores para el cromosoma nº 14 que para el nº 15 .

- Se dan valores excesivamente altos para el cromosoma nº 22 .

En conjunto se observa que, aunque se superan ciertas diferencias, siguen existiendo unas discordancias puntuales muy importantes en aspectos básicos del estudio morfométrico del cariotipo.

1.d.) Trabajo de FRACCARO y LINDSTEN (Gráficos LV y LVI) De ntro del grupo de DENVER, este trabajo va a suponer el punto culminante en el grado de correlación con nuestra serie de valores. El coeficiente de Pearson se sitúa en 0.9481 ¡la tercera mejor serie de todas las que comparamos con nuestros resultados!.

Si observamos el polígono de frecuencias no nos puede extrañar esta buena correlación. Existe una concordancia gereral entre ambas series de valores :

- Las diferencias entre los valores para los grupos de acrocéntricos se ha minimizado.
- Los índices centroméricos para los cromosomas nº 4 y 5 son aceptables.
- Se ha corregido ¡por fin! la tendencia del grupo D y ahora muestra, gráficamente, la recta ascendente que le es característica.
- Los cromosomas nº 19 y 20 presentan, al menos, un índice centromérico similar (pero no invertido).
- Se ha cambiado, respecto a Levan y Hsu, la excesiva pendiente de ascenso de los cromosomas nº 21 y 22 .

- El valor del cromosoma Y se acerca al dado por nostros.

A pesar de todo, existe una confusión importante e indamisible para los cromosomas nº 7, 8, 9 y 11. Fraccaro y Lindsten dan unos valores de índice centromérico, para los cromosomas nº 7 y 8, iguales entre sí y a su vez menores que el del cromosoma nº 6. Ello no es posible porque el cromosoma nº 7 tiene unos brazos cortos apreciablemente mayores que los del nº 8, por lo que su índice centromérico no será igual sino mayor; por otra parte el índice centromérico del cromosoma nº 7 es mayor, y el del nº 8 menor, que el del cromosoma nº 6 .

Además Fraccaro y Lindsten proponen unos valores para los cromosomas nº 9 y 11 inversos a los dados por nosotros. Cualquiera que conozca el cariotipo humano sabe, sin necesidad de medición alguna, que el cromosoma nº 11 tiene un índice centromérico mayor que los de los cromosomas nº 8 y 10, y muy similar al del cromosoma nº 7. ésto puede variar algo pero lo que nunca puede suceder, en condiciones normales, es que sea menor que el de los citados cromosomas. De igual forma, el índice centromérico del cromosoma nº 9 es siempre mayor que el del nº 10.

En definitiva, el grado de correlación entre nuestras dos series es importante y, salvo esos

errores puntuales, nos satisface encontrar un trabajo realizado antes de 1960 que concuerda relativamente bien con el nuestro, marcando diferencias con los demás trabajos publicados en su época.

1.e.) Trabajo de LEJEUNE y TURPIN (Gráficos LVII y LVIII)

La serie de valores dada por estos autores es la que peor se correlaciona con nuestros resultados (coeficiente de Pearson = 0.8883).

Encontramos, como siempre, unos valores más bajos que los nuestros. La discordancia entre los acrocéntricos se vuelve a hacer importante.

De nuevo aparecen todos los graves errores que, antes del trabajo de Fraccaro y Lindsten, nos sorprendían :

- El grupo D muestra una tendencia descendente en la representación gráfica del índice centromérico.

- El grupo F muestra una tendencia ascendente.

- El valor para el cromosoma nº 22 es exageradamente alto.

- Reaparece el valor "cero" para el índice centromérico del cromosoma Y.

- El índice centromérico del cromosoma nº 7 continúa siendo menor que el del cromosoma nº 6.

No obstante, existen también algunos puntos de concordancia interesantes :

- El índice centromérico del cromosoma nº 5 es mayor que el del nº 4.

- La relación entre los valores de los cromosomas nº 7,8,9,10,11 y 12 es la correcta (aunque sus valores absolutos sean algo distintos de los nuestros).

En conjunto existe menos correlación que en otros casos y se repiten errores inadmisibles, aunque se solucionan bien algunos problemas como el del intervalo cromosómico 8-12 .

1.f.) Trabajo de Buckton, Jacobs y Harnden (Gráficos LIX y LX)

Muestra un coeficiente de correlación bueno (0.9165) pero en conjunto sigue mostrando ciertos errores ya comentados anteriormente.

Soluciona bien el problema de los cromosomas nº 4 y 5, y el del grupo D, pero continúa la confusión en el grupo 7-10, aunque da un valor más exacto para el cromosoma nº 11; el grupo F muestra una recta ascendente (contraria a la que debería de ser); se da un valor menor para el índice centromérico del cromosoma nº 22 que para el nº 21 (lo que no ocurre en

ningún caso anterior) y, por último, vuelve a dar valor para el cromosoma Y.

En conjunto existe buena correlación manteniendo errores puntuales básicos.

Resumiendo lo visto hasta ahora, nuestra serie tiende a dar valores más altos que el conjunto de series de la Convención de DENVER. La correlación suele ser buena y sólo llama la atención la existencia de errores básicos, casi de concepto, que de forma puntual salpican todos los trabajos (sobre todo para los cromosomas nº 7-11, 13-15 e Y). Para la época en que están hechos representan, no obstante, un loable esfuerzo que, con algunas pero decisivas modificaciones, pueden ser válidos en nuestros días

2.- CONFERENCIA DE PARIS (1971)

No es el momento de explicar lo que la Conf. de París supuso para la Genética, sobre todo para la Genética cromosómica, pero podemos decir que a partir de ella la Genética cambió. Fundamentalmente fue un intento, acertado, de poner orden en la ingente cantidad de nuevos conocimientos y, sobre todo, nuevas técnicas de estudio cromosómico (bandeos) que se

habían desarrollado. En este contexto situamos nuestro segundo punto de referencia, pues en ella se dieron unas series de valores morfológicos para los cromosomas (Lubs, Hostetter y Ewing) que es preciso tener en cuenta. De estos valores vamos a comparar dos: el índice centromérico y la longitud cromosómica referida al cromosoma nº 1. Como siempre utilizaremos los diagramas de barras y los polígonos de frecuencia.

2.a.) <u>índice centromerico</u> (Gráficos LXI y LXII)

Para comenzar aquellos que denominábamos "errores básicos o conceptuales" han desaparecido. Se trata ahora de comparar, más bien, los valores absolutos asignados a cada cromosoma una vez que la relación entre ellos ha quedado bien establecida.

El grado de concordancia, referido al coeficiente de correlación, se sitúa en 0.9345, bastante aceptable y si no es mayor se debe fundamentalmente a deficiencias de grado pero no de concepto.

Entre las diferencias existentes destacamos las siguientes :

- Nuestros valores son, en general, más altos .
- Continúa esa diferencia importante entre los valores correspondientes a los cromosomas acrocéntricos y telocéntricos.

- La diferencia que aparece entre el índice centromérico de los cromosomas nº 10 y 11 es menos acusada de lo que nosotros pensamos que es.

- El grupo de cromosomas D muestra un índice centromérico igual para los cromosomas 13 y 14, y mayor para el 15, lo que no nos parece correcto pues en realidad existe un gradiente ascendente que se puede medir (el índice centromérico del cromosoma nº 13 es menor que el del 14, y éste a su vez menor que el del 15).

- Los cromosomas nº 21 y 22, de nuevo muestran un índice centromérico similar, aunque el del nº 22 debía ser mayor que el del nº 21.

- Al cromosoma Y se le asigna un valor demasiado bajo.

Un hecho favorable a destacar es que por primera vez se reconozca un índice centromérico mayor para el cromosoma nº 19 que para el nº 20.

En conjunto existe una buena correlación, los "errores básicos" se han suprimido y sólo algunas matizaciones, no obstante importantes, separan nuestras dos series de valores.

2.b.) <u>Longitud cromosómica respecto al cromosoma nº 1</u>

(Gráficos LXIII y LXIV)

Esta comparación nos interesa mucho pues la longitud cromosómica referida a la del cromosoma nº 1

es uno de los parámetros considerados en nuestro estudio, al margen naturalmente del índice centromérico.

El coeficiente de correlación entre las dos series respectivas es bastante alto, 0.9745, lo que da idea de su semejanza. En general nuestros valores son algo más elevados. Existen, no obstante, dos puntos de discrepancia :

- Para el grupo 8-12 Lubs et al dan unos valores decrecientes de longitud, mientras que nosotros hemos constatado un ligero aumento de la longitud de los cromosomas nº 11 y 12 respecto del cromosoma nº 10 .

- El segundo punto de discordancia es el ya citado de la asignación de valores similares para los cromosomas nº 21 y 22, con la cual no estamos de acuerdo.

Resumiendo, el grado de correlación entre nuestra serie de valores y la propuesta en la Conf. de París es importante y, una vez superados algunos errores de concepto, sólo nos separa de ella las diferencias de grado. Pensamos, naturalmente, que nuestros valores están más ajustados a la realidad que los de Lubs et al, puesto que hemos utilizado materiales de una precisión desconocida en aquella época.

3.- HOSPITAL HERY FORD (Detroit, USA)(1986) (Gráficos LXV y LXVI)

La última comparación que vamos a establecer se hace con un trabajo muy reciente realizado por Van Dyke y colaboradores en el Centro de Genética Médica del Hospital Henry Ford (Detroit, USA). Este trabajo representa un verdadero desafío a nuestra serie de resultados. Se trata de un trabajo moderno, realizado también con medios y métodos computarizados. Se ha utilizado un ordenador APPLE con tablero gráfico que, estamos convencidos, es de menor calidad que nuestro KONTRON-IBAS 2000 por razones técnicas que no es el lugar idóneo para detallar. Ello no disminuye, sin duda, el valor de este trabajo ni de sus resultados.

Una diferencia importante en el método de trabajo es que Van Dyke y colaboradores utilizan para la medición cromosomas bandeados, en metafases normales y en alta resolución, lo que, a nuestro juicio, puede alterar la precisión de los resultados pues los cromosomas sufren un proceso de distorsión estructural que afecta a su morfología y que, además, es difícil de estandarizar.

El coeficiente de correlación entre nuestra serie y la de Van Dyke es el mayor de los obtenidos hasta ahora para los índices centroméricos (0.9628), lo cual

era de esperar debido al material y métodos utilizados. Existe un acuerdo casi total en aquellos aspectos en los que diferíamos de los trabajos de Denver y París (cromosomas 6 y 7; cromosomas 13, 14 y 15; cromosomas 19 y 20; cromosomas 21 y 22 etc), lo que no quiere decir que no mantengamos algunas diferencias :

- Para los cromosomas acrocéntricos, y en menor grado para los telocéntricos, existe una diferencia excesiva de valores (los nuestros tienden a ser más altos que los de Van Dyke).

- Para el cromosoma nº 4 el valor del índice centromérico dado por Van Dyke es mayor que para el cromosoma nº 5 (al contrario que nosotros).

- El cromosoma nº 9 muestra un índice centromérico en transición entre el del nº 8 y el del nº 10 (nosotros hemos obtenido un índice centromérico, para el cromosoma nº 9, mayor que el de los cromosomas nº 8 y 10.

En el último punto, los resultados de la Conf. de París y cuatro trabajos de Denver están de acuerdo con nosotros. En el segundo punto, la Conf. de París es neutral pero cuatro de los seis trabajos de Denver coinciden con nosotros. Naturalmente nos basamos más en la confianza que nos ofrecen nuestros propios

resultados que en los de otros trabajos, pero es interesante que ambos coincidan .

Sin embargo, las diferencias que se establecen en el primer punto, referidas a los valores absolutos de los índices centroméricos de los cromosomas acrocéntricos, vienen a sumarse a las constatadas con las series de París y Denver (exceptuando Fraccaro y Levan). Ello merece una explicación.

Después de analizar detenidamente los diversos gráficos, tablas de valores, material y métodos etc, pensamos que estas llamativas diferencias pueden deberse a un diferente criterio en la determinación del centrómero en los cromosomas acrocéntricos. El tamaño del brazo corto en éstos se considera desde el centrómero hasta el punto más distal de los propios brazos cortos. Tanto Dyke como nosotros hemos prescindido de los satélites como parte constitutiva de los mismos, debido a su gran variabilidad. La situación del centrómero es difícil de determinar sobre los cromosomas pues está unido, sin solución de continuidad, a los brazos cortos. Si consideramos el centrómero como un único punto (aquel donde se unen los brazos cortos y se estrecha el cromosoma) la longitud de los brazos cortos será menor que si consideramos el centrómero como una zona, pues en éste último caso habría que tomar como referencia el centro

de gravedad de dicha zona con lo que el punto a partir del cual se inicia la medición desciende haciendo más largos los brazos cortos. Al aumentar el tamaño de los brazos cortos aumenta también el índice centromérico ("asciende" en la gráfica). Van Dyke no nos informa cómo ha determinado el centrómero pero nosotros lo hemos hecho de la segunda forma indicada (centrómero como "zona") y ello nos puede haber hecho "sobrevalorar" la longitud de los brazos cortos de los acrocéntricos y su índice centromérico. Es éste un punto que habrá que reconsiderar en un futuro.

Consideración final

La comparación de nuestros resultados con los obtenidos por otros autores nos confirman la bondad de los mismos. Si por una parte nos ha servido para corregir errores de trabajos anteriores, por otra nos ha hecho reflexionar sobre otros aspectos. Creemos que la precisión de nuestros resultados, sobre todo por los medios utilizados, es mayor que la del resto de trabajos. Los parámetros comparados (índice centromérico y longitud cromosómica relativa) dan una idea bastante aproximada del trabajo de cada autor. No obstante, quiero advertir de la existencia de un parámetro que, voluntariamente, ha sido excluido de la comparación y que es la longitud total de cada

cromosoma referida a la longitud de todos los autosomas. Este parámetro no lo hemos determinado (y no nos hubiera sido difícil hacerlo) por que a efectos prácticos pensamos que no ofrece nada nuevo e incluso, en algún momento, incluye factores de distorsión. En la práctica para determinar la longitud total de la metafase habría que excluir previamente los cromosomas sexuales y ello implica también que primero hay que determinarlos por lo que estamos en un círculo vicioso. Por si ésto fuese poco, la información suministrada por este parámetro difiere ligerísimamente de la suministrada por la longitud cromosómica referida al cromosoma nº 1, por lo que creemos que no merece la pena su inclusión en nuestro estudio. Para respaldar lo que decimos presentamos una comparación (gráfico LXVII) entre : a) valores determinados por la longitud cromosómica referida a la longitud de una dotación haploide (sin la"X", sólo autosomas) (Conf. de París); b) Idénticos valores determinados por Van Dyke; c) Valores determinados por la longitud cromosómica referida a la longitud del cromosoma nº 1 (nuestro trabajo). Salvando las lógicas diferencias al compararse parámetros distintos, la relación entre los cromosomas de la metafase vemos que es prácticamente similar o sea la información que suministran es la misma.

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-TJIO y PUCK

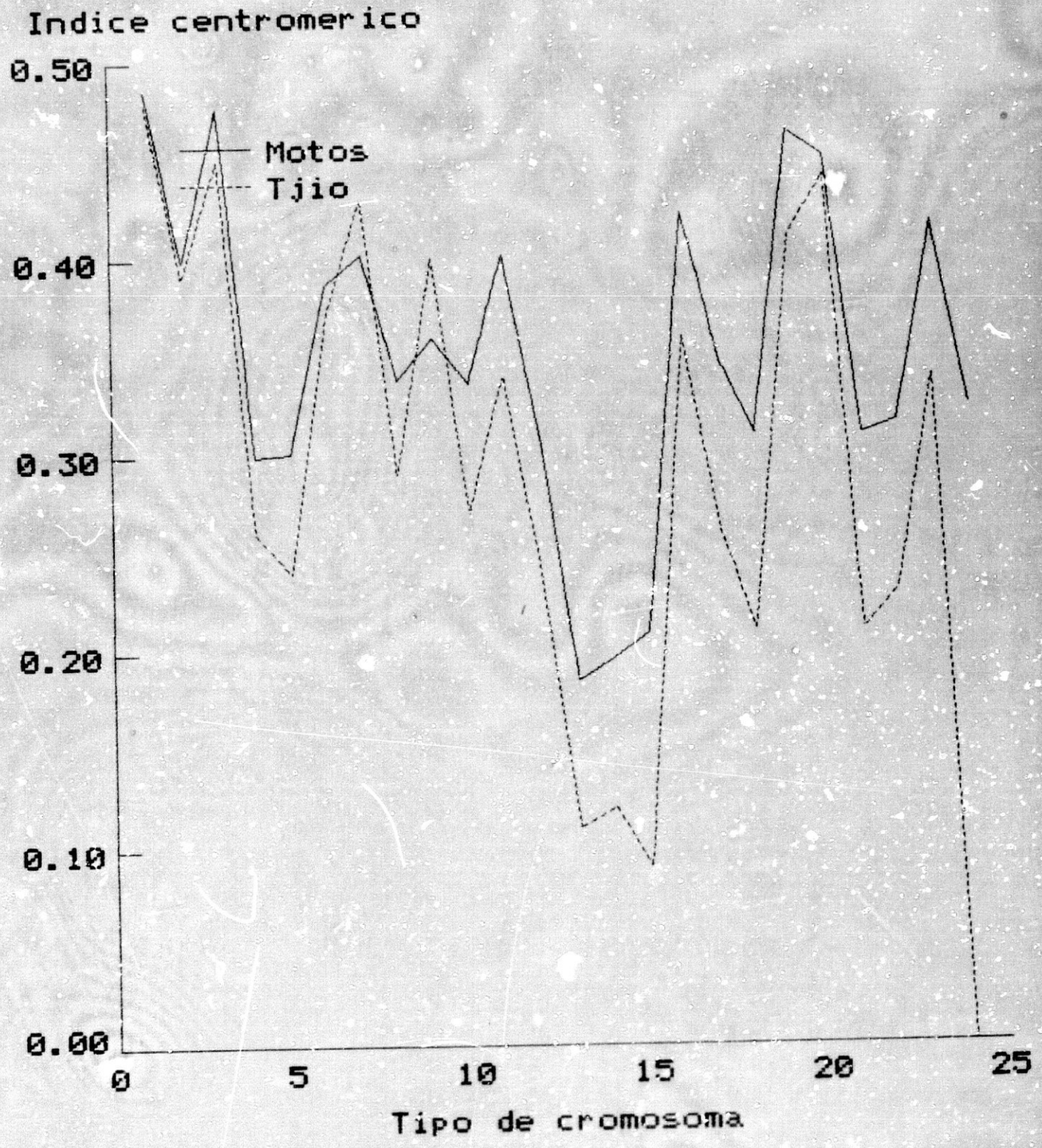


GRAFICO XLIX

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-TJIO y PUCK

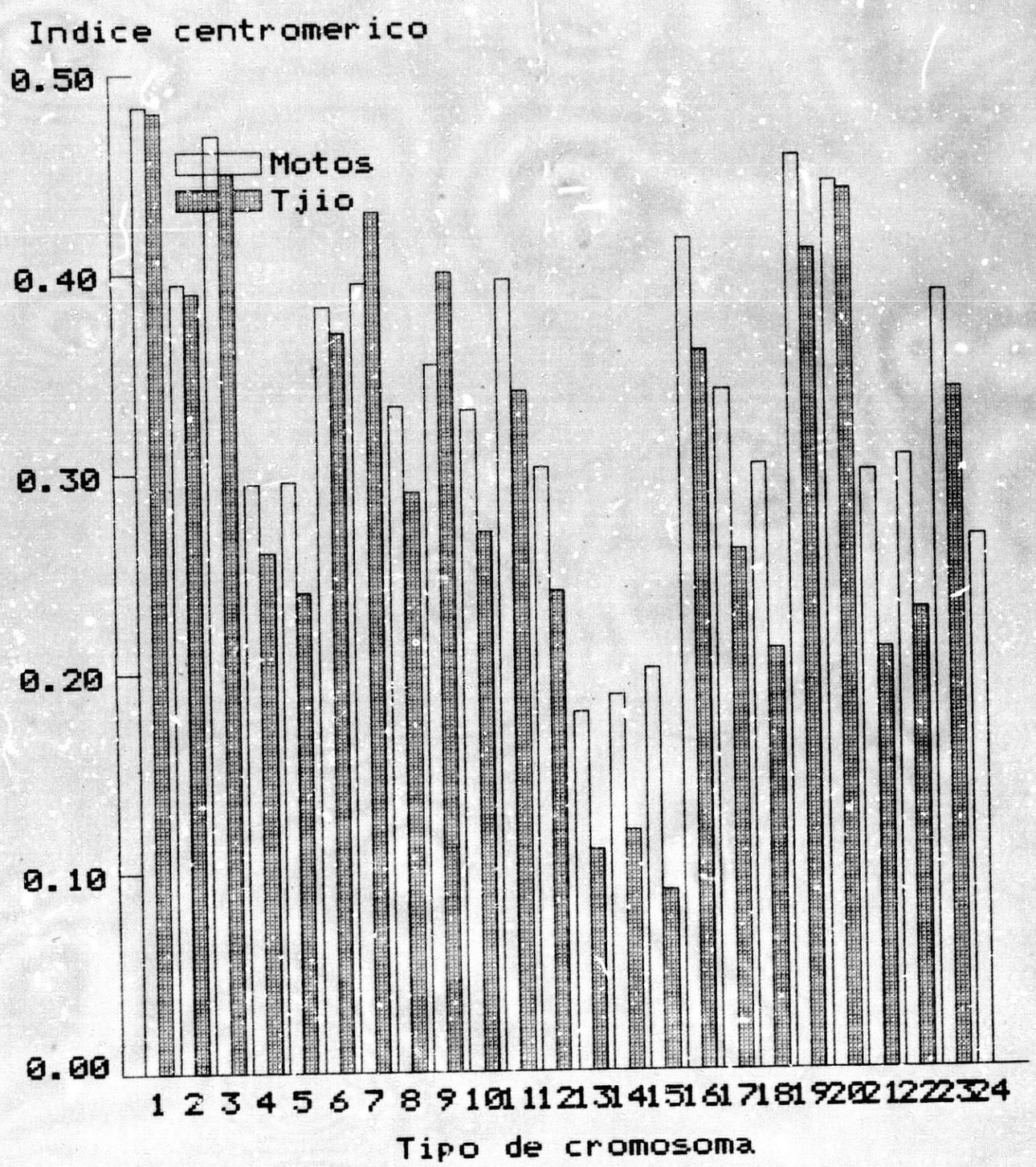


GRAFICO L

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-CHU y GILES

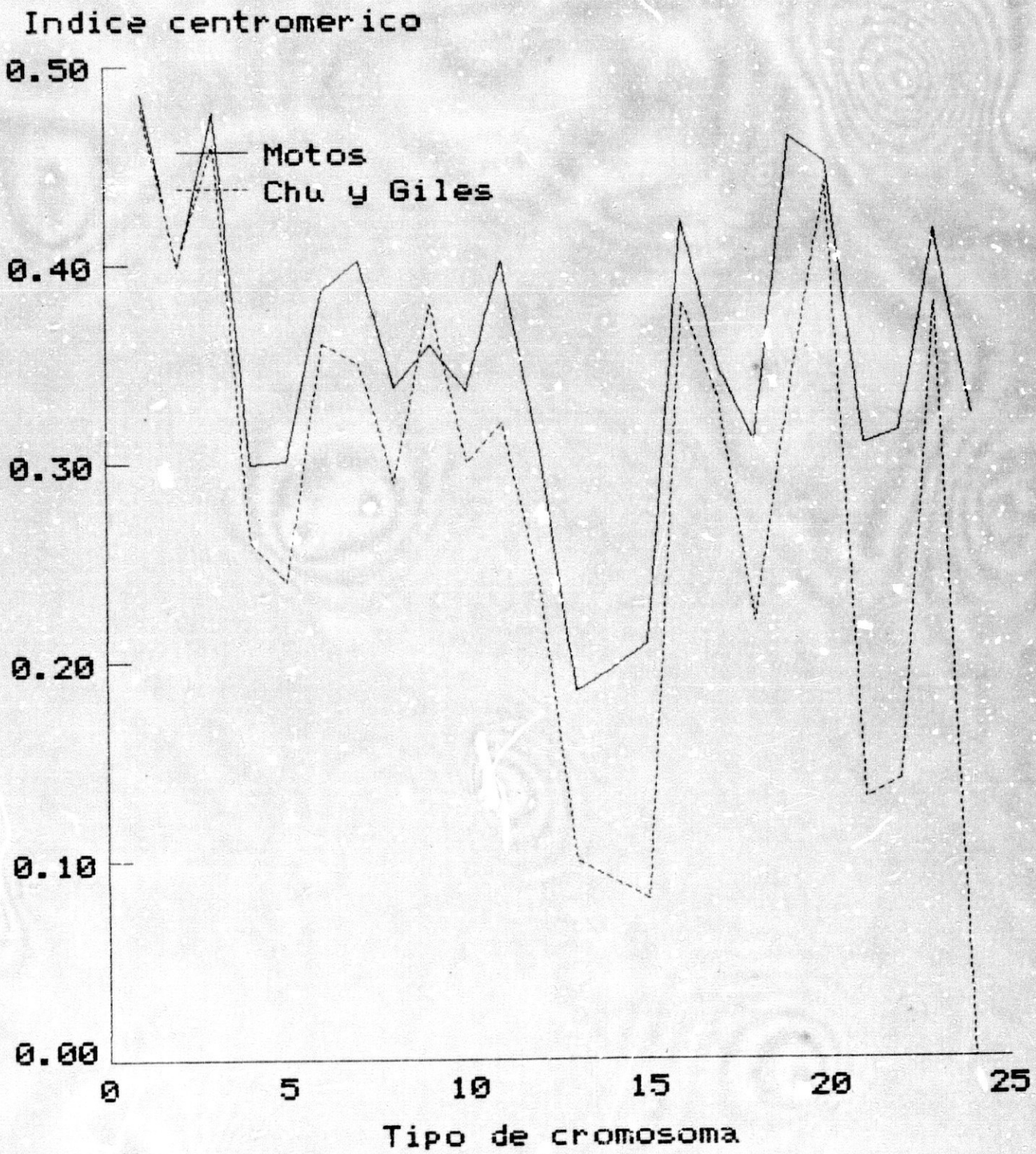


GRAFICO LI

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-CHU y GILES

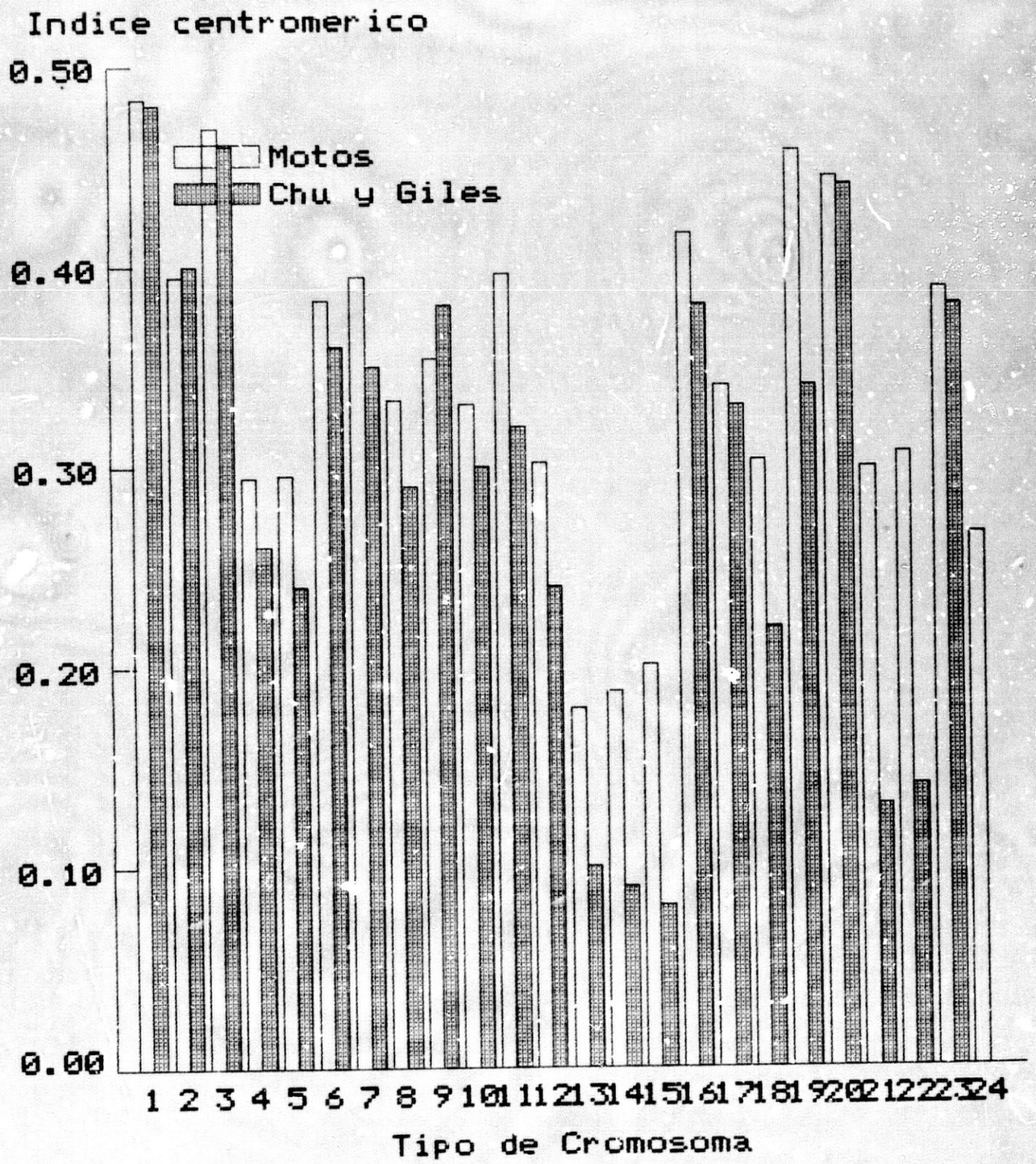


GRAFICO LII

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-LEVAN y HSU

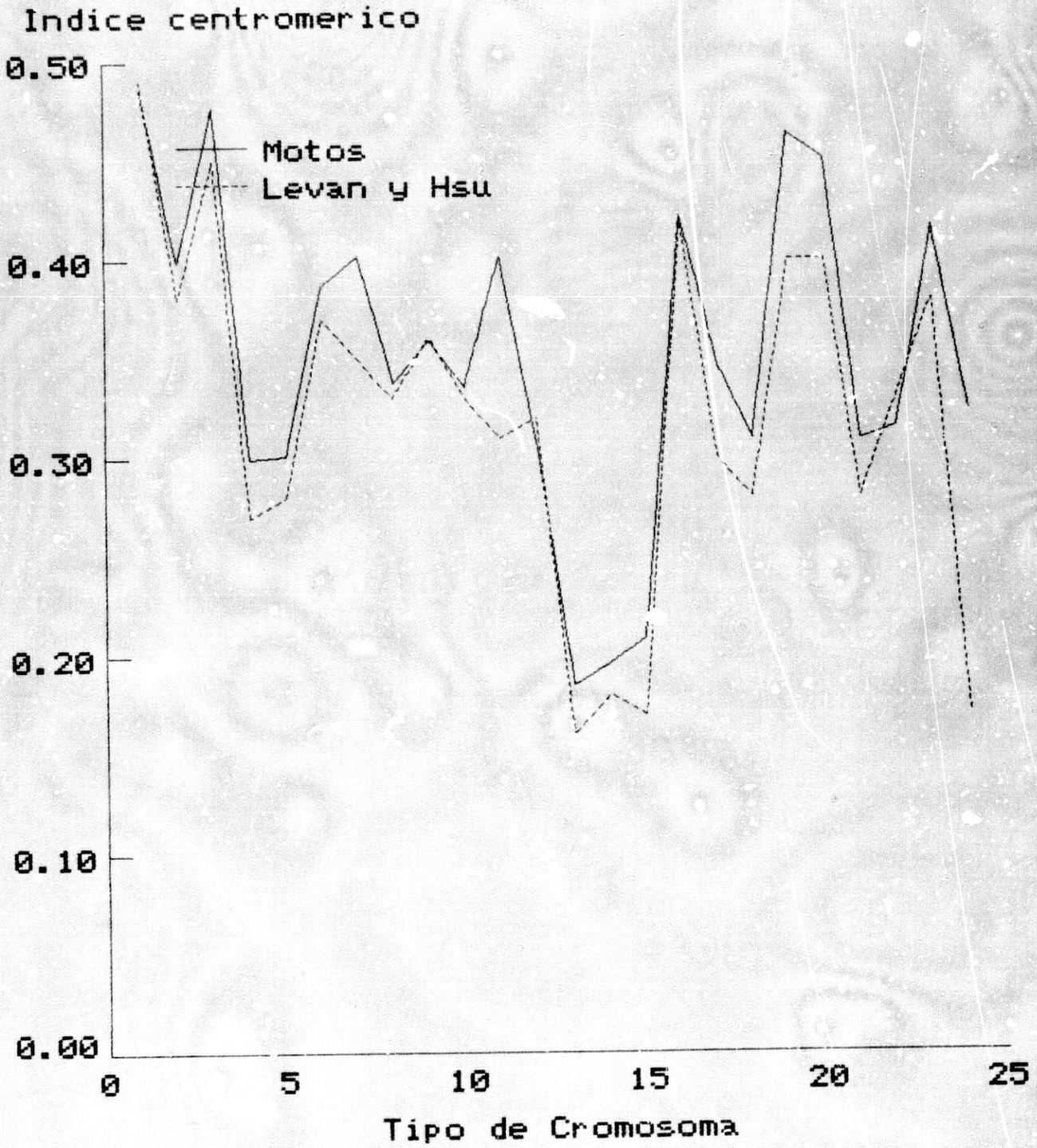


GRAFICO LIII

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-LEVAN y HSU

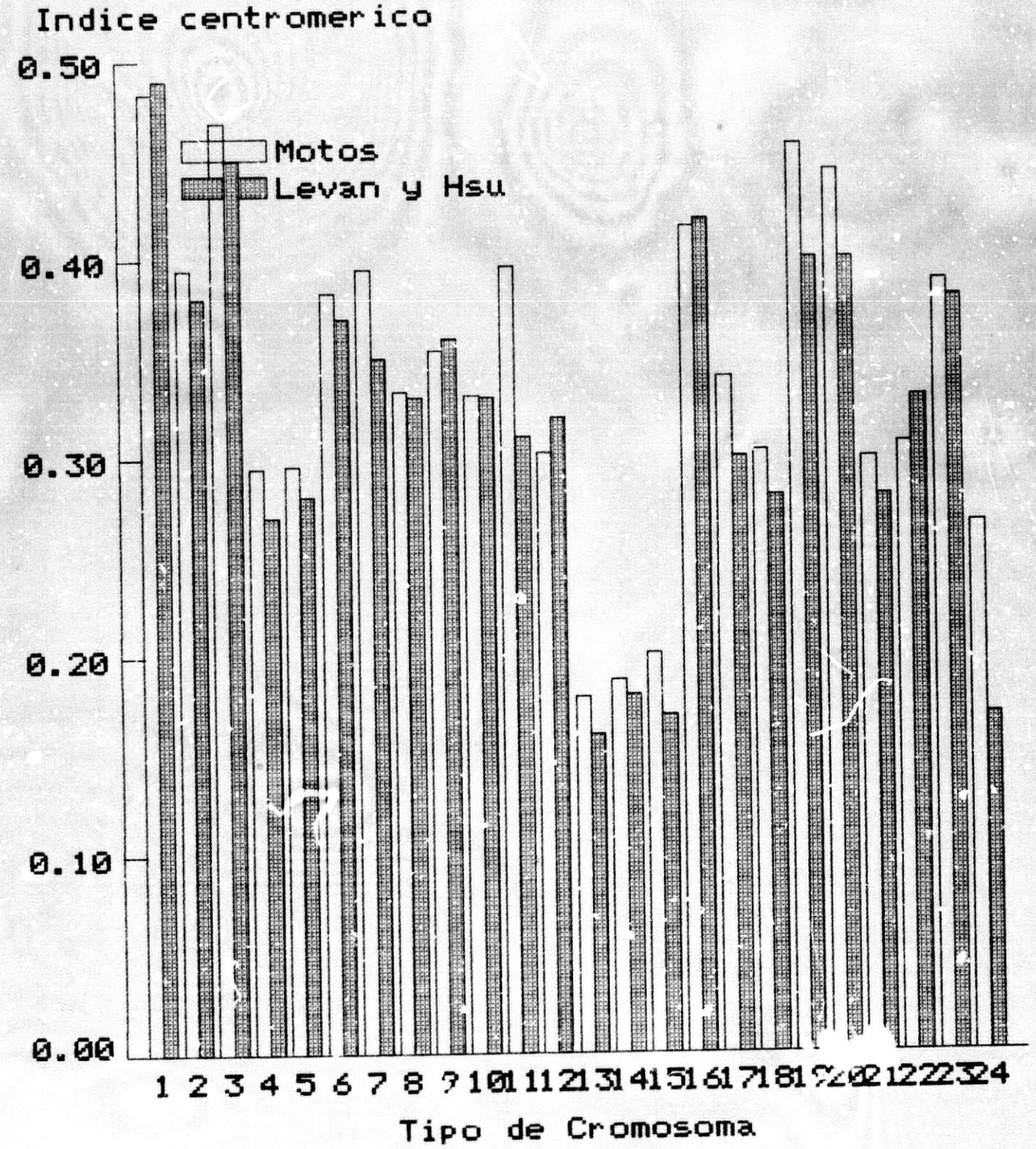


GRAFICO LIV

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-FRACCARO

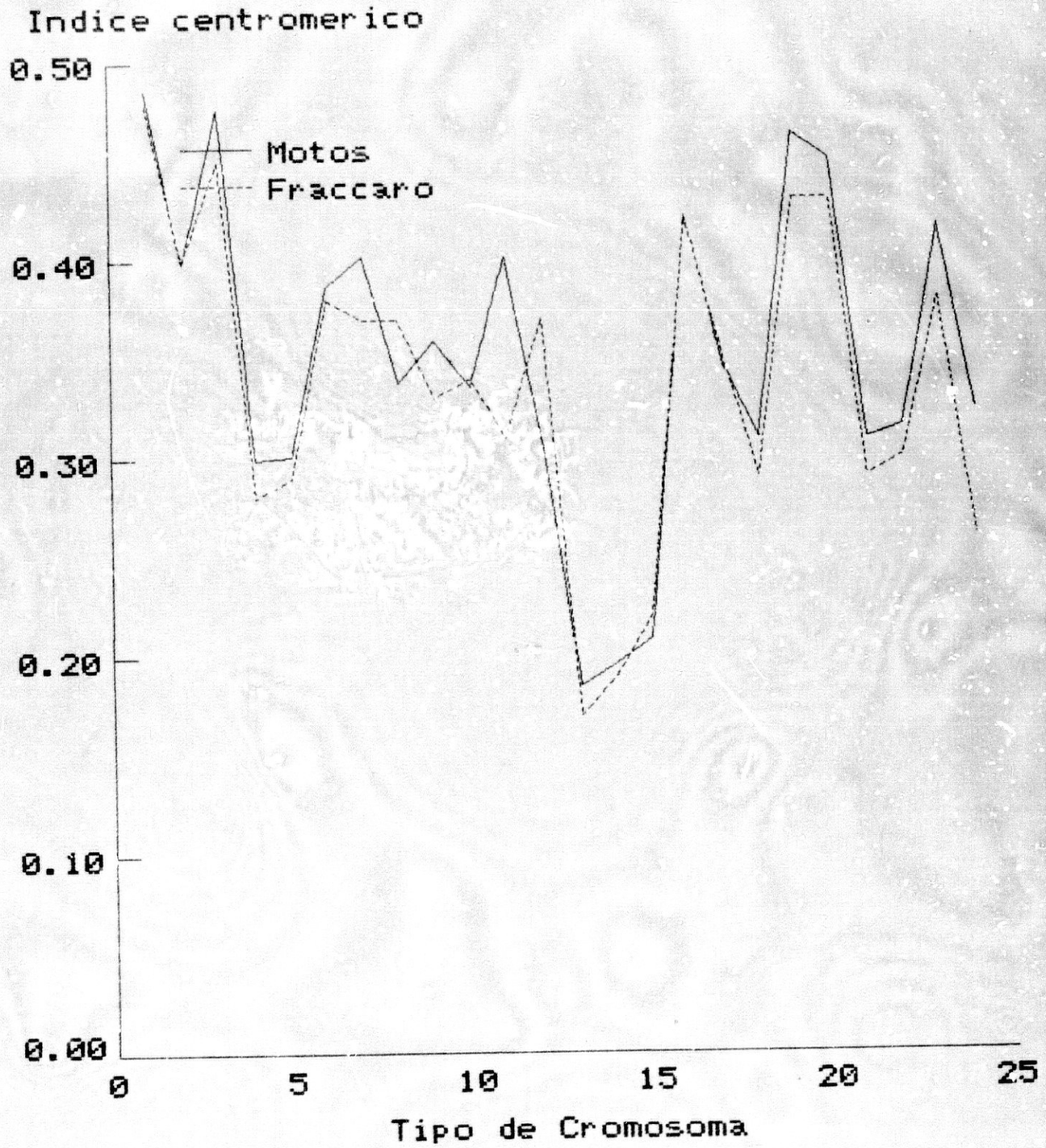


GRAFICO LV

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-FRACCARO

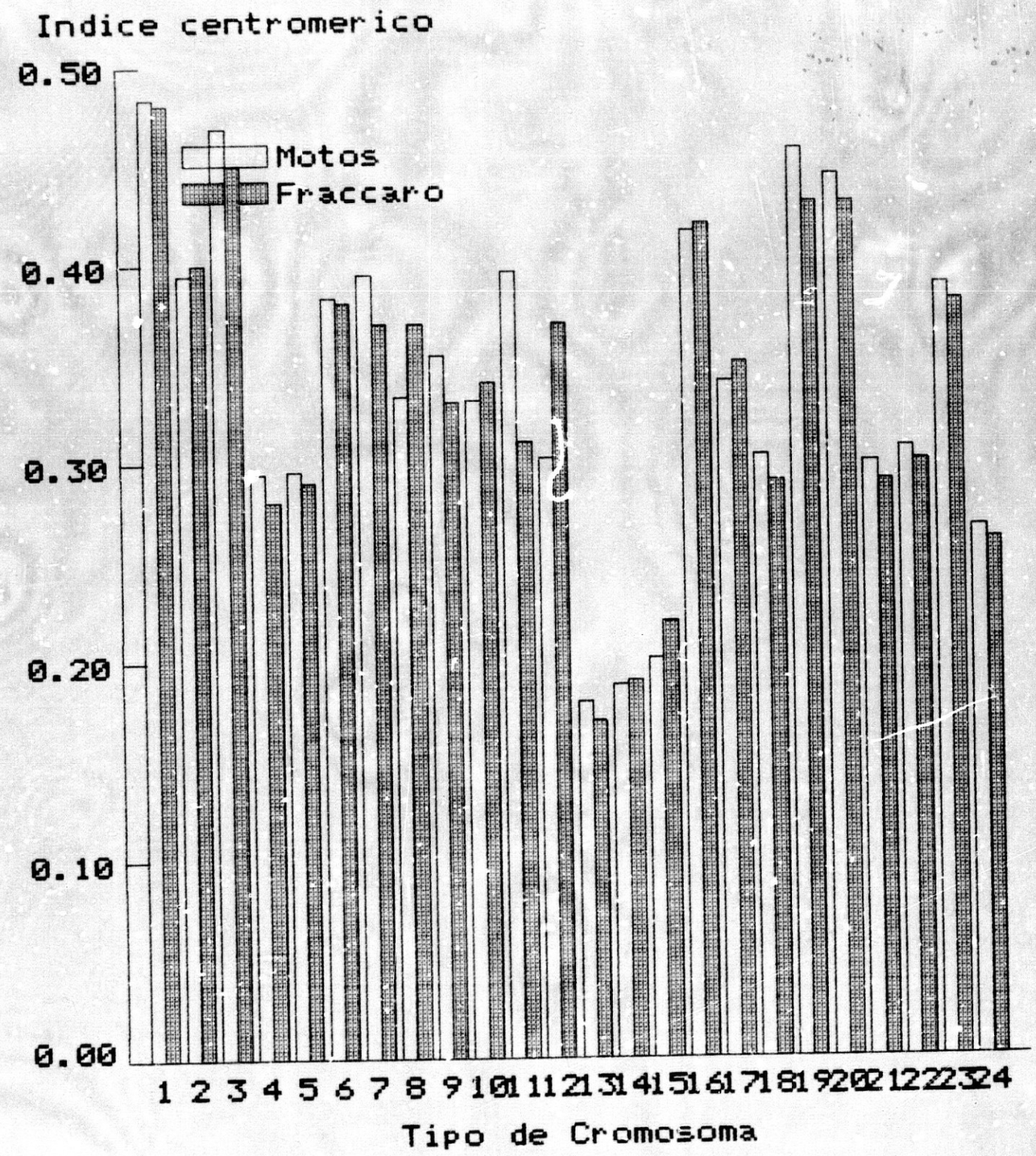


GRAFICO LVI

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-LEJEUNE

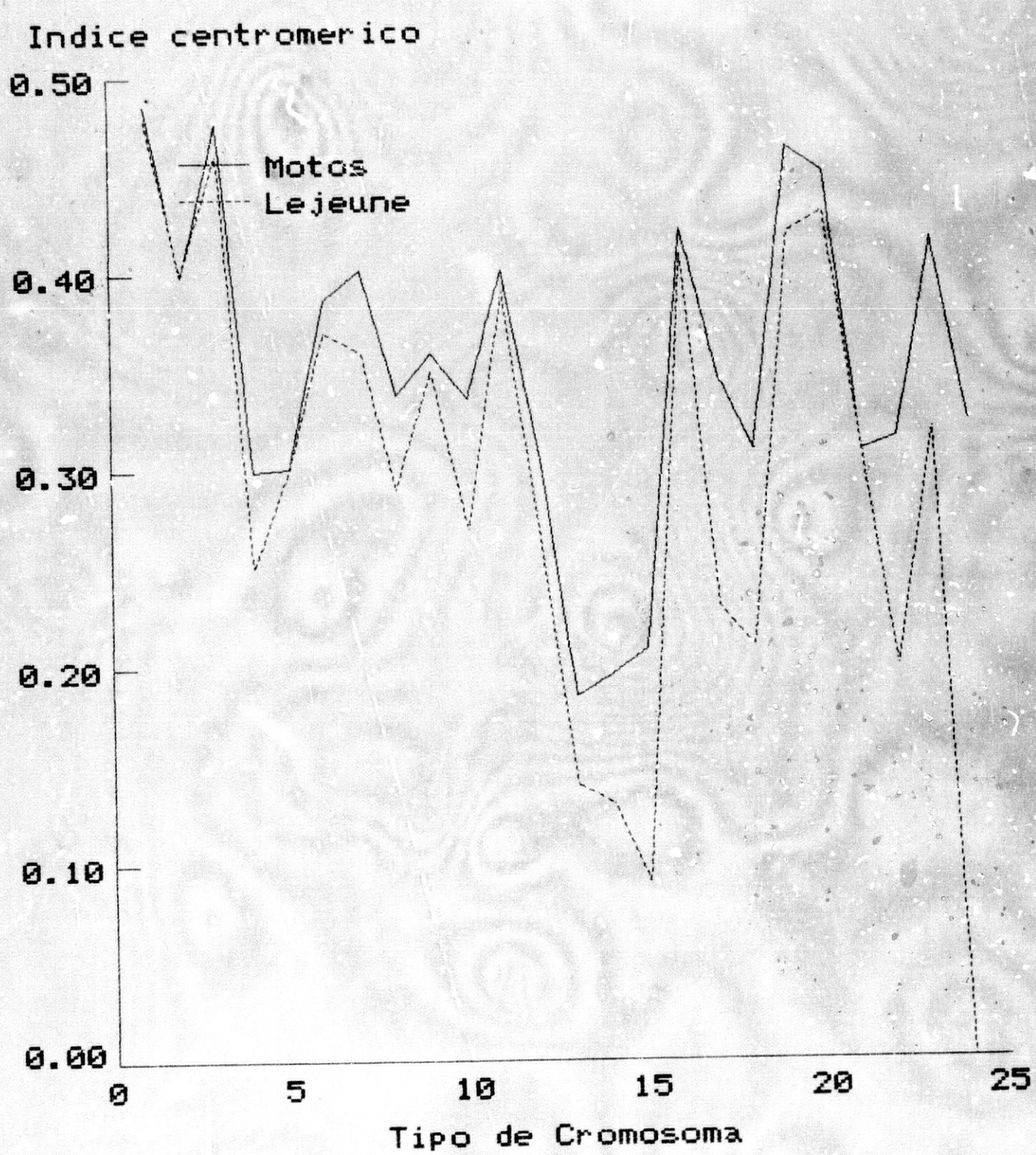


GRAFICO LVII

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-LEJEUNE

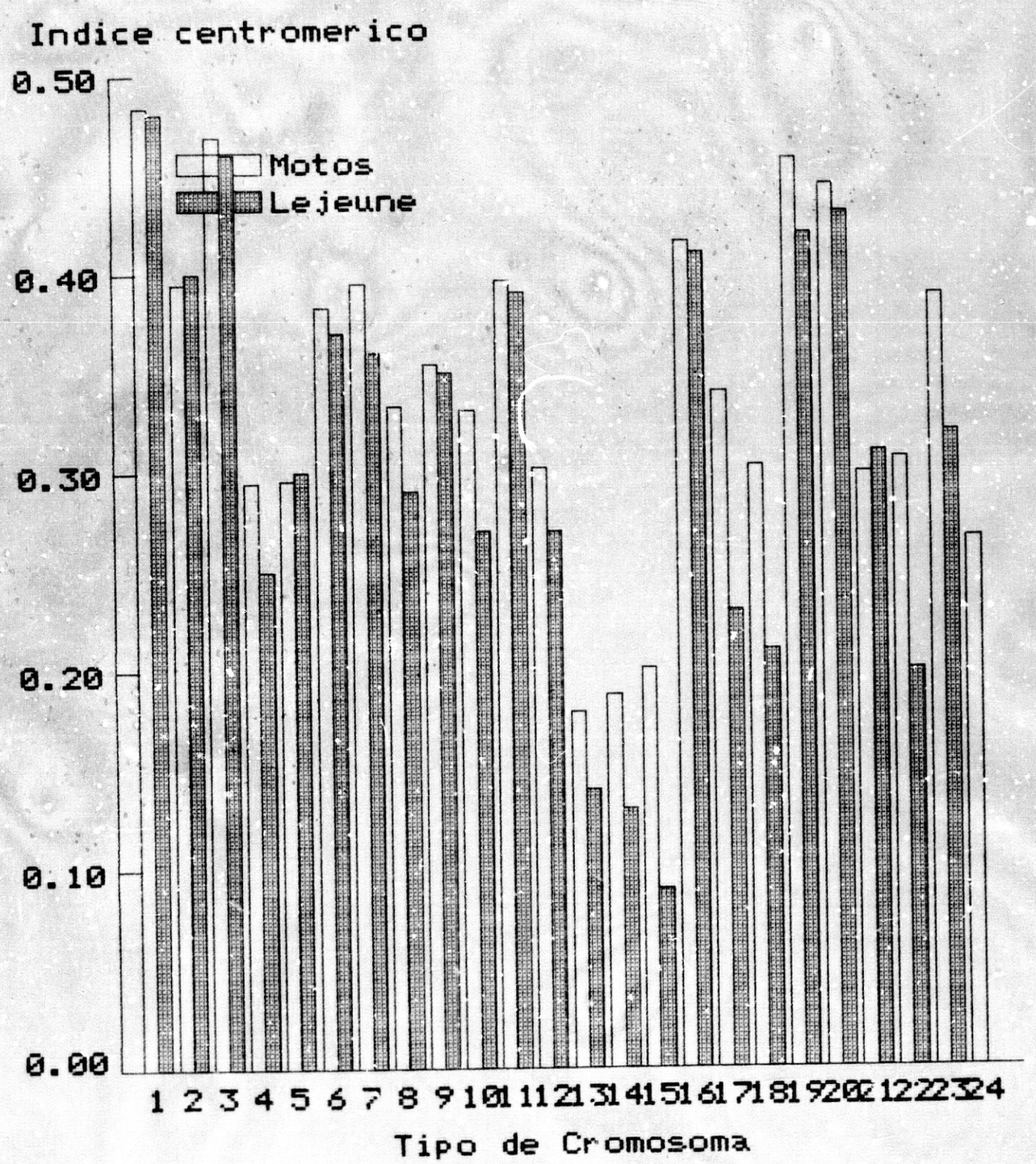


GRAFICO LVIII

INDICE CENTROMERICO
MOTOS-BUCKTON et al

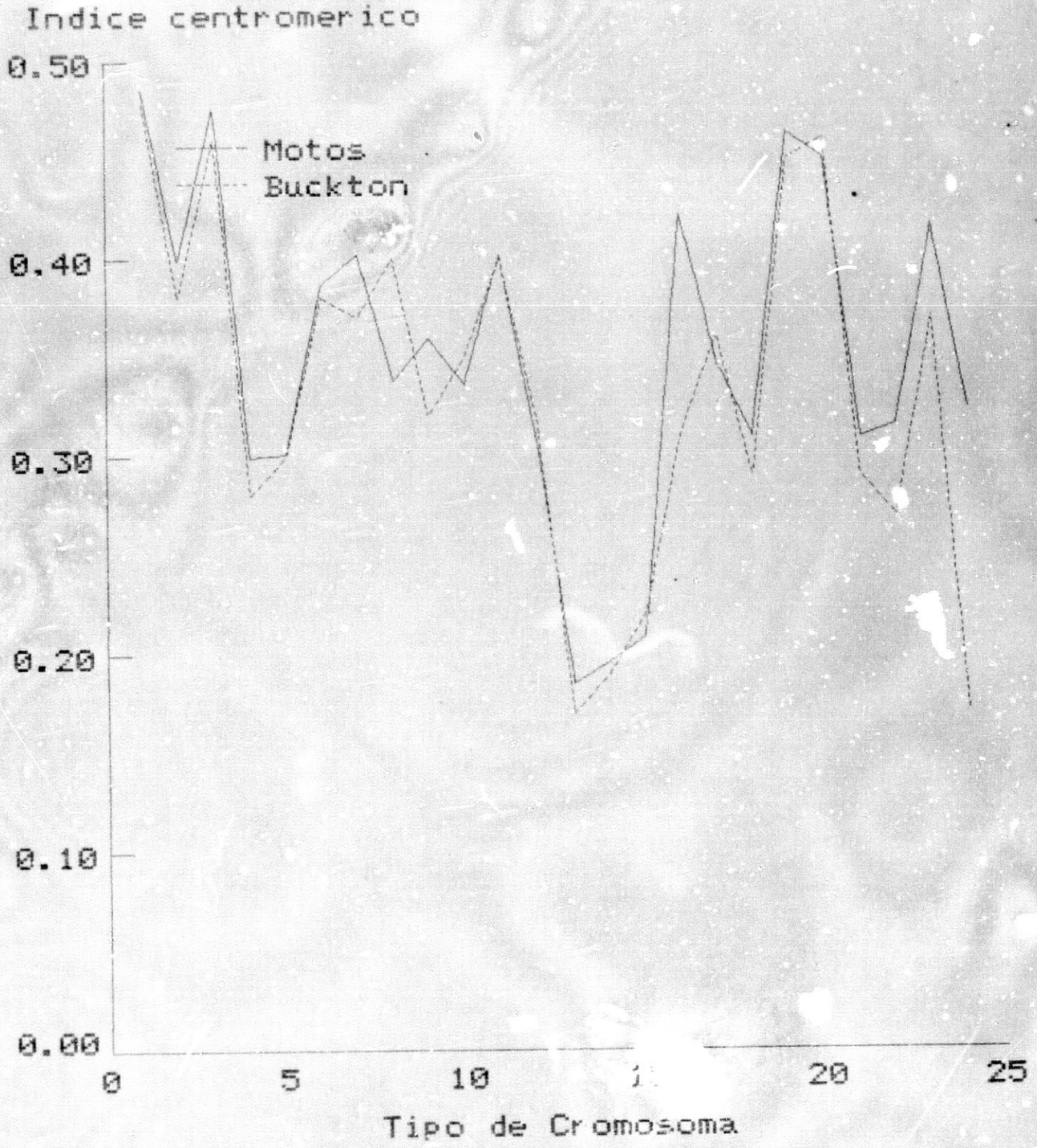


GRAFICO LIX

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-BUCKTON et al

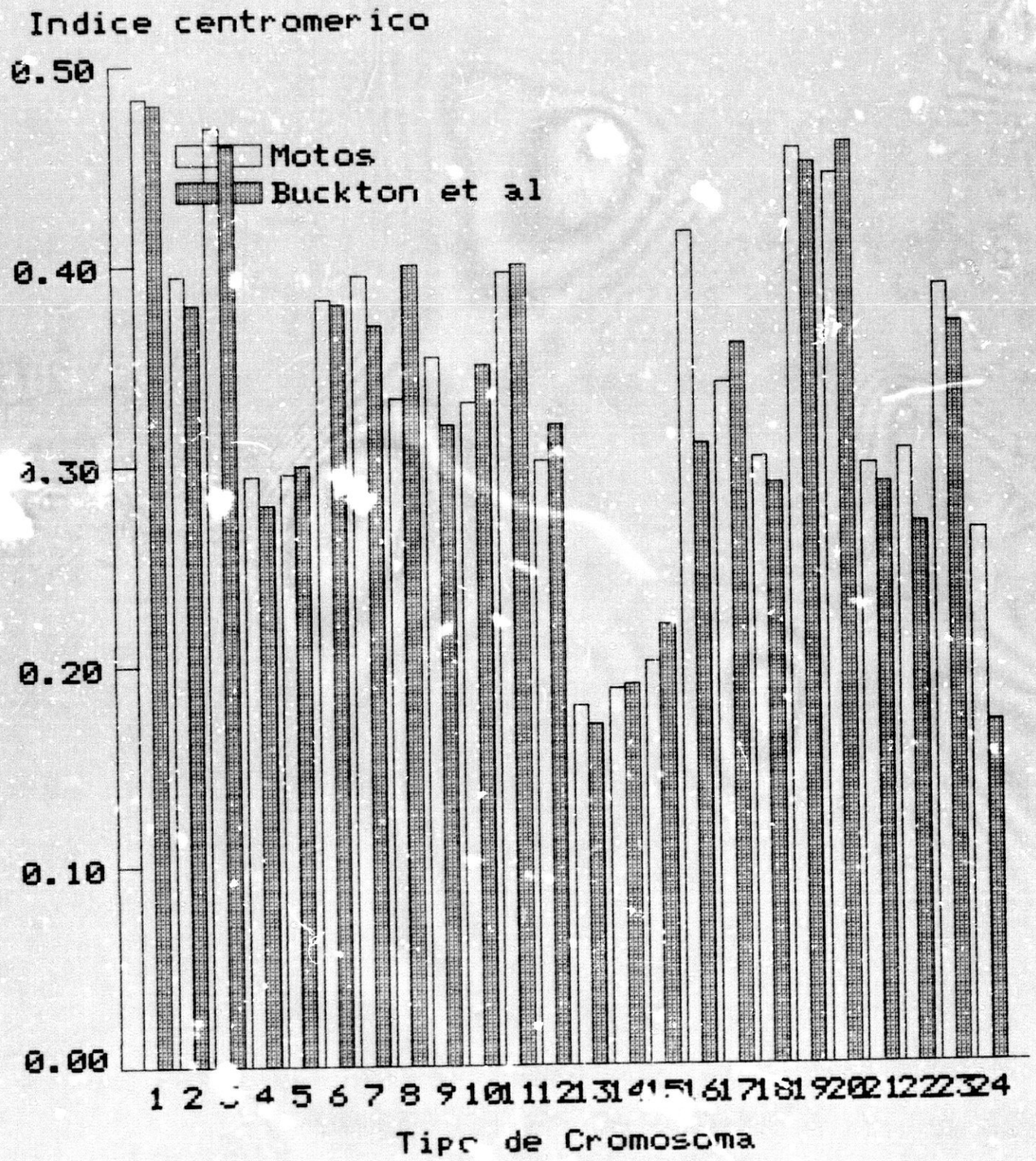


GRAFICO LX

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-LUBS et al

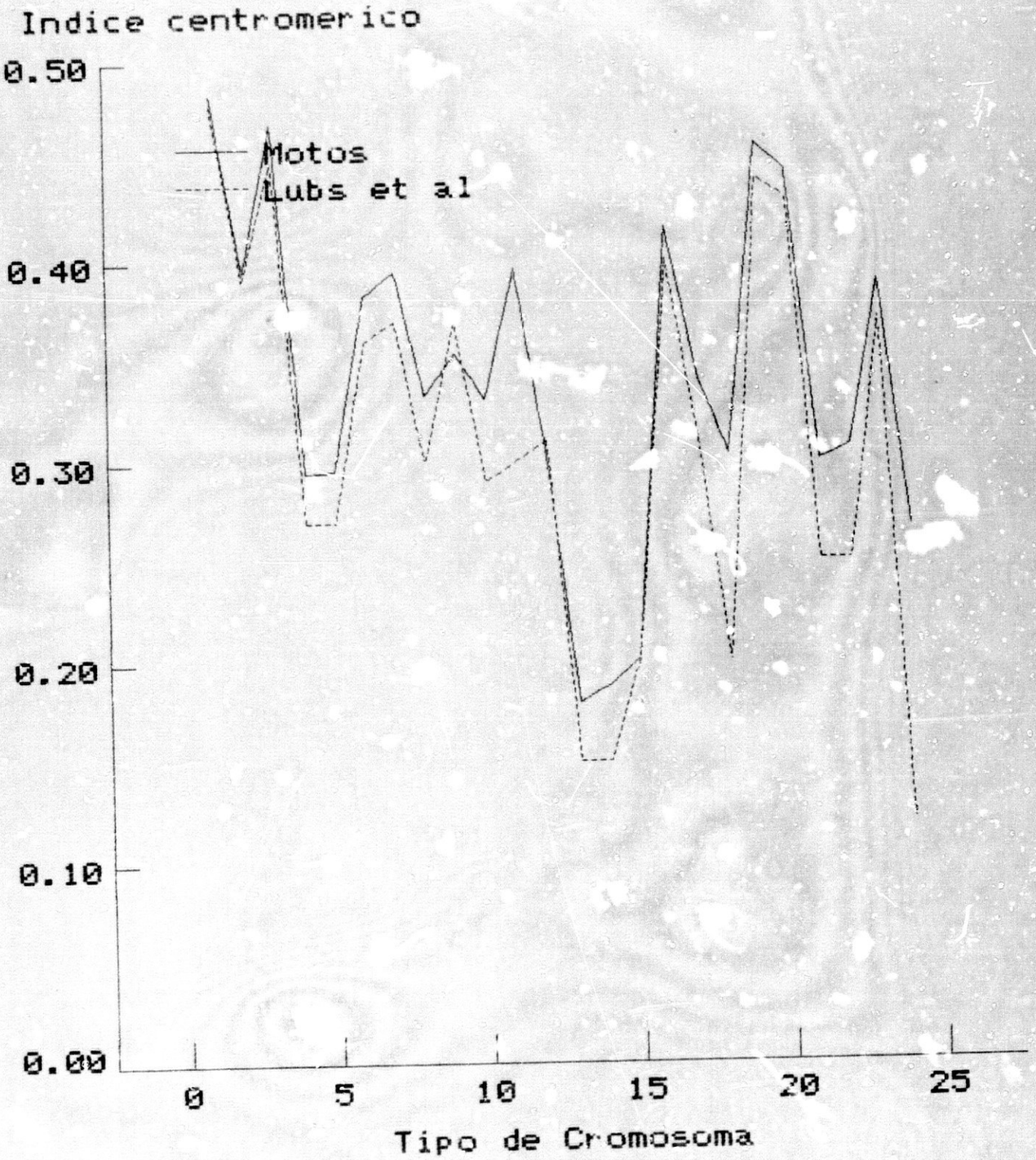


GRAFICO LXI

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-Conf. PARIS

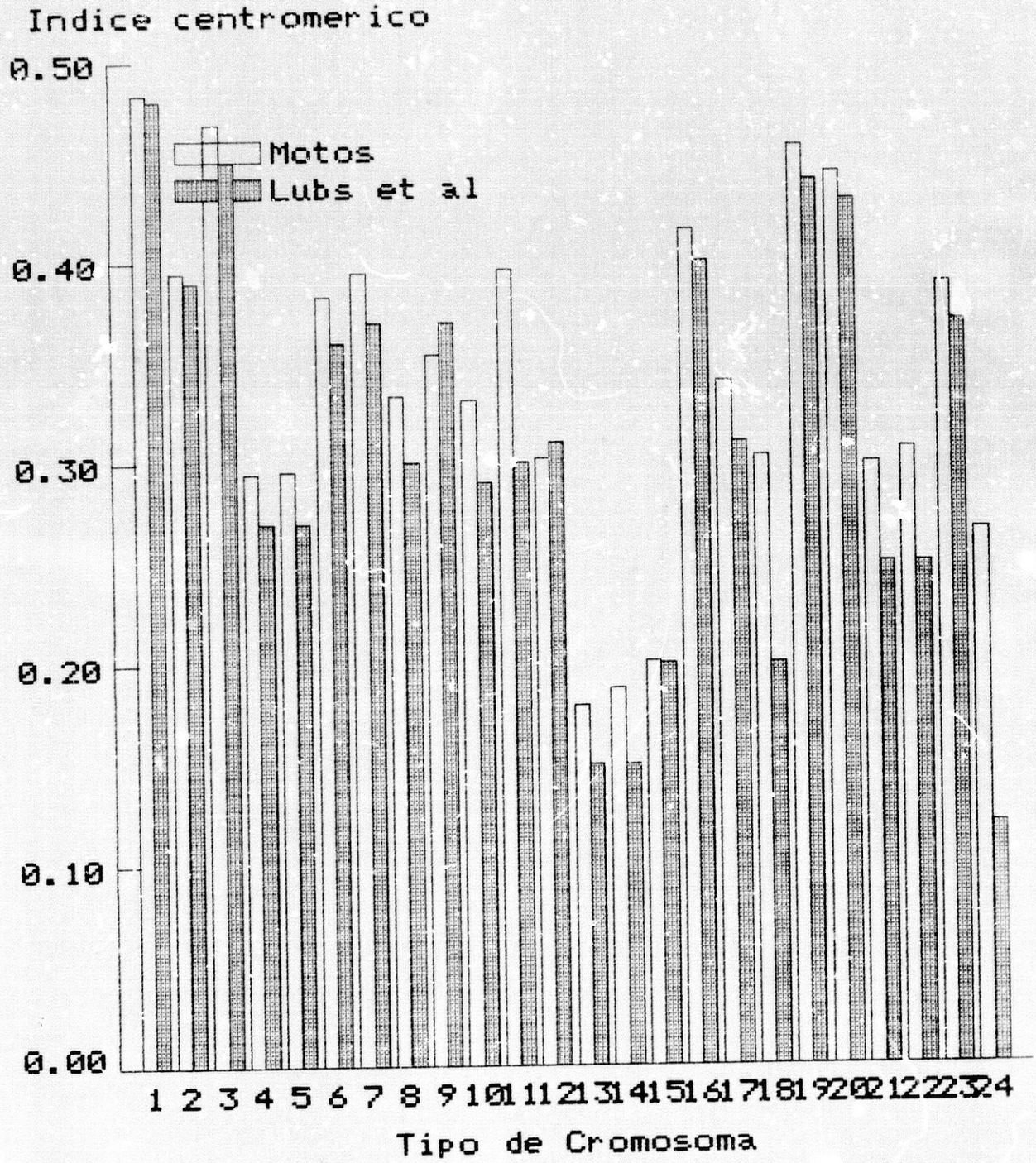


GRAFICO LXII

LONGITUD CROMOSOMICA

MOTOS-LUBS et al

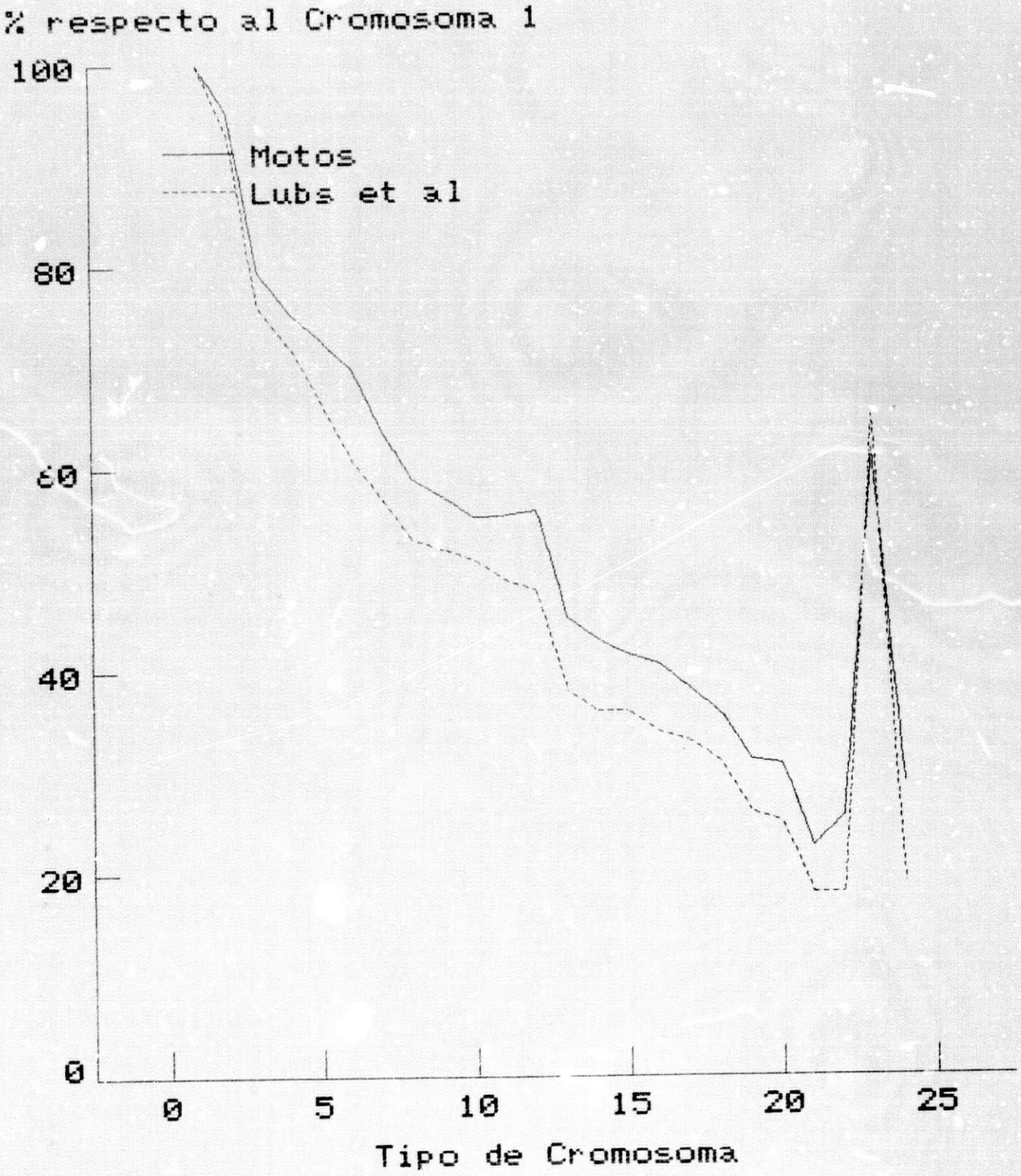


GRAFICO LXIII

LONGITUD CROMOSOMICA

MOTOS-LUBS et al

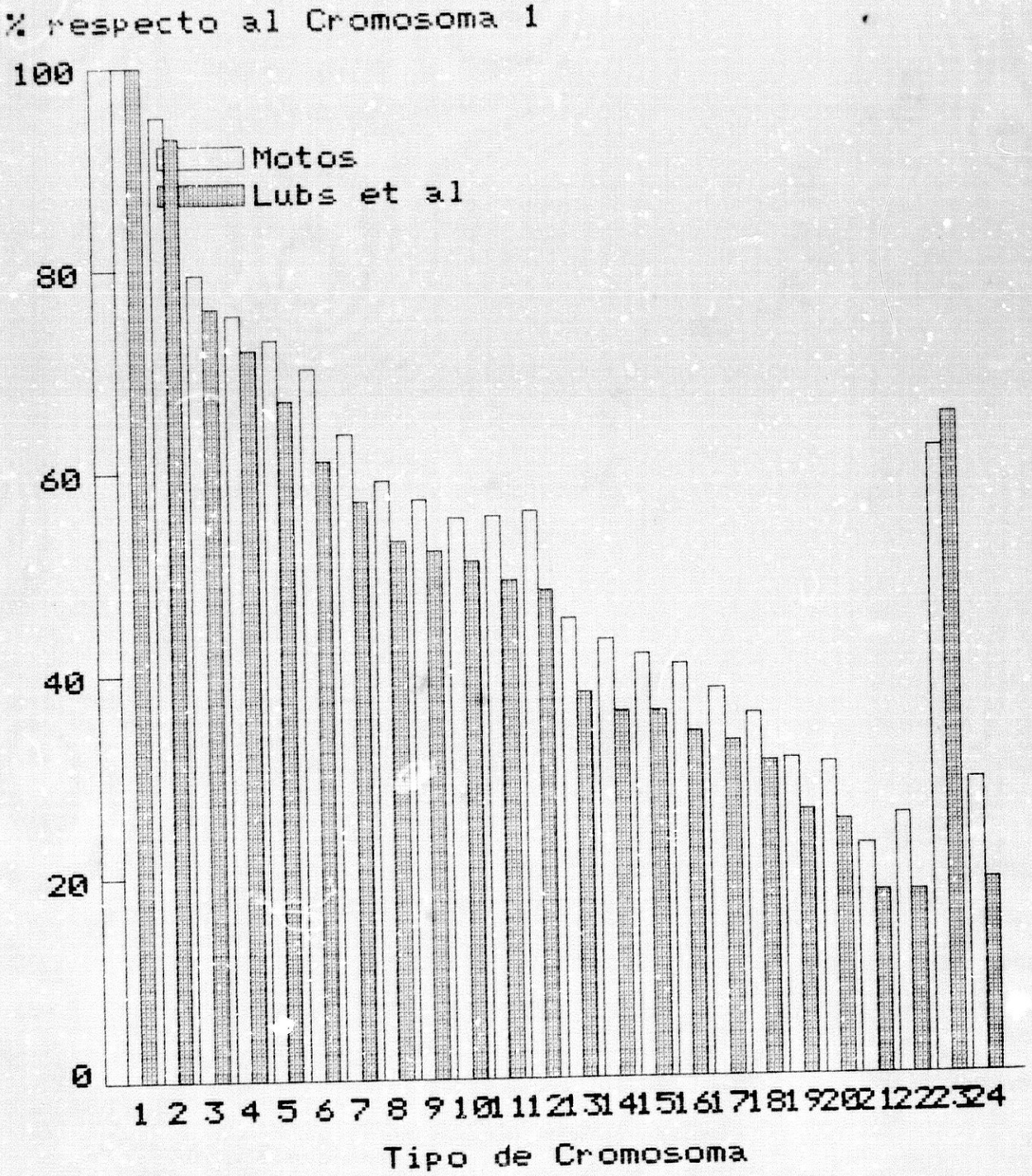


GRAFICO LXIV

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-VAN DYKE

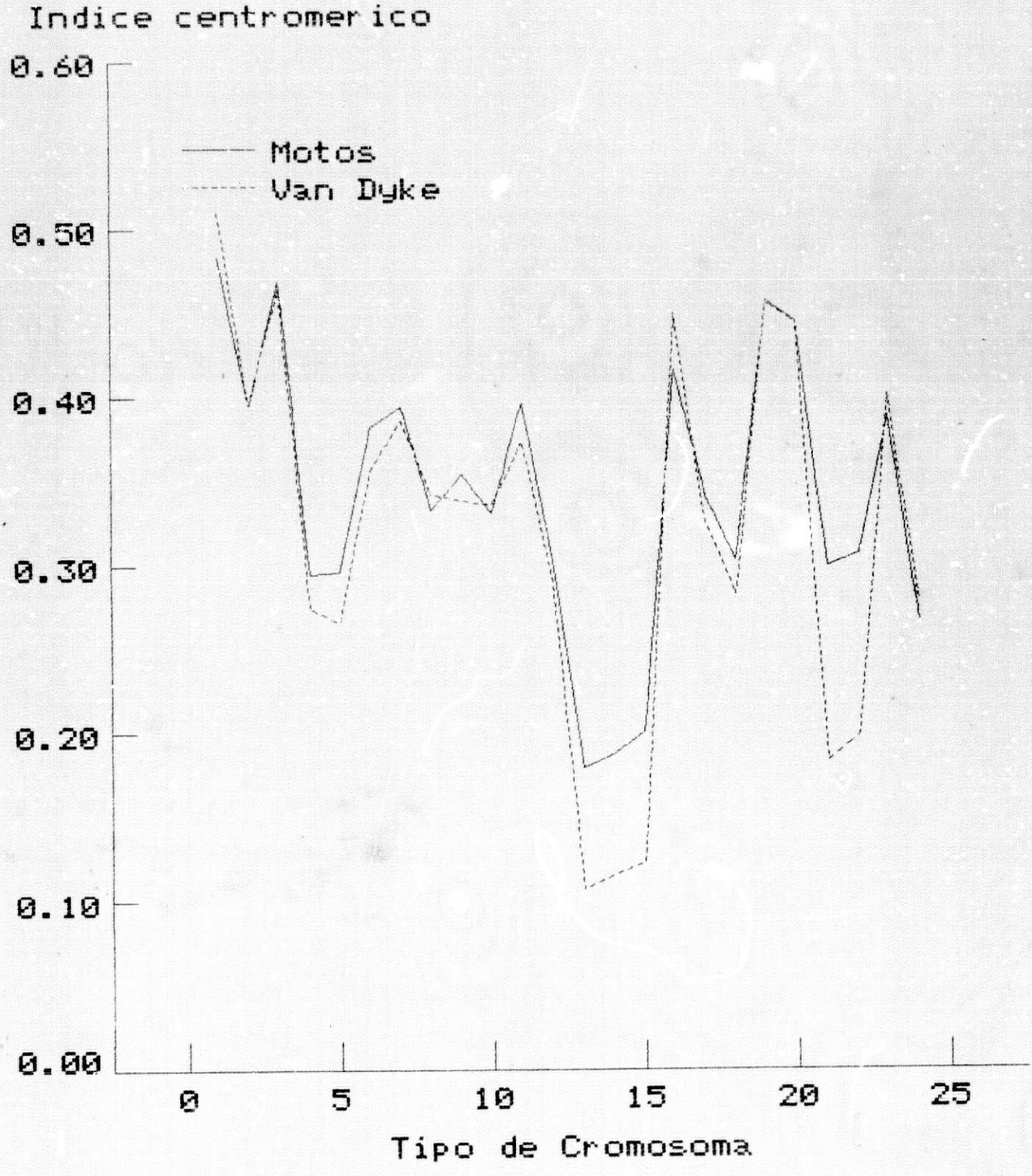


GRAFICO LXV

INDICE CENTROMERICO

MOTOS-VAN DYKE

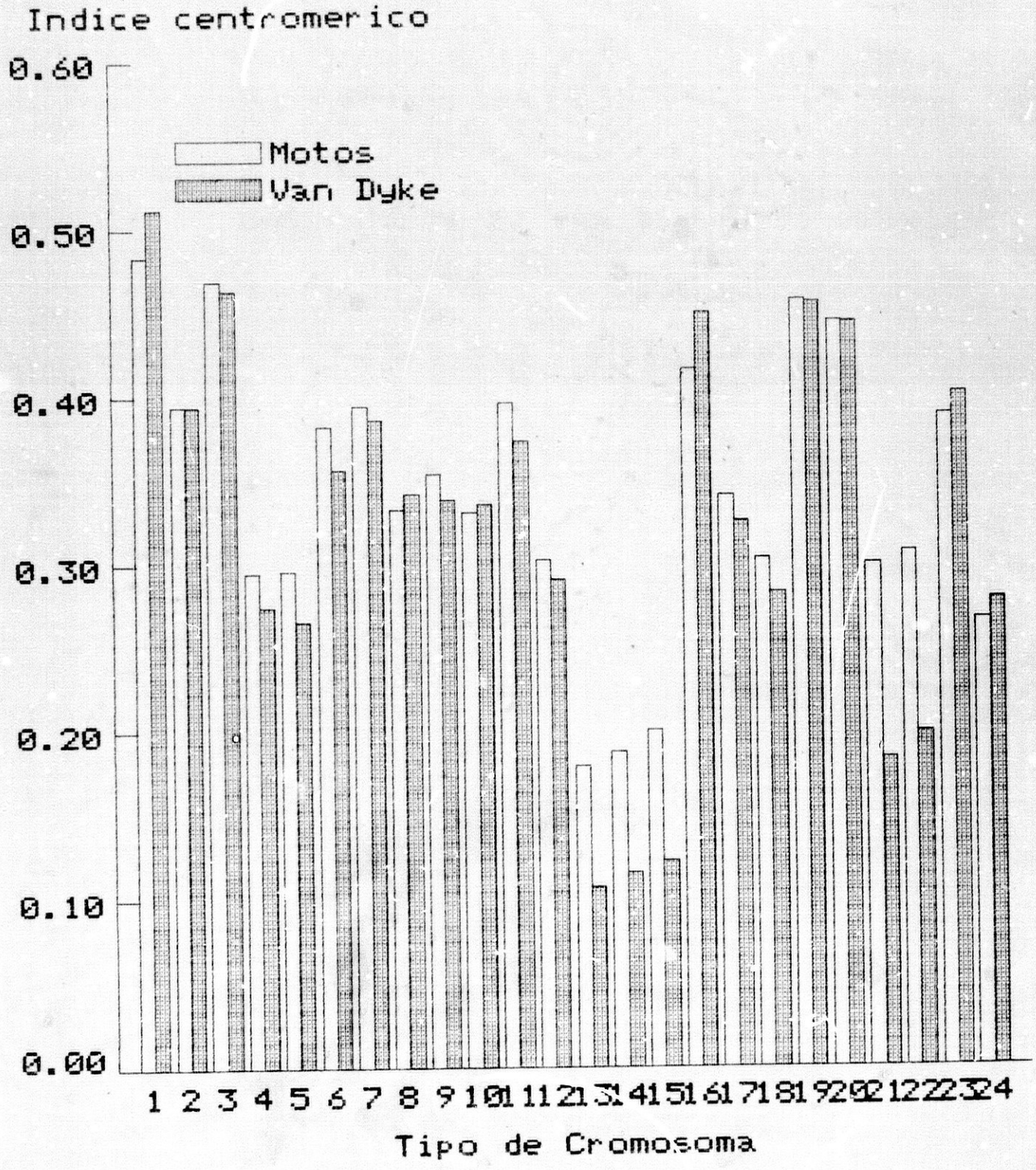


GRAFICO LXVI

LONGITUD CROMOSOMICA

Comparacion

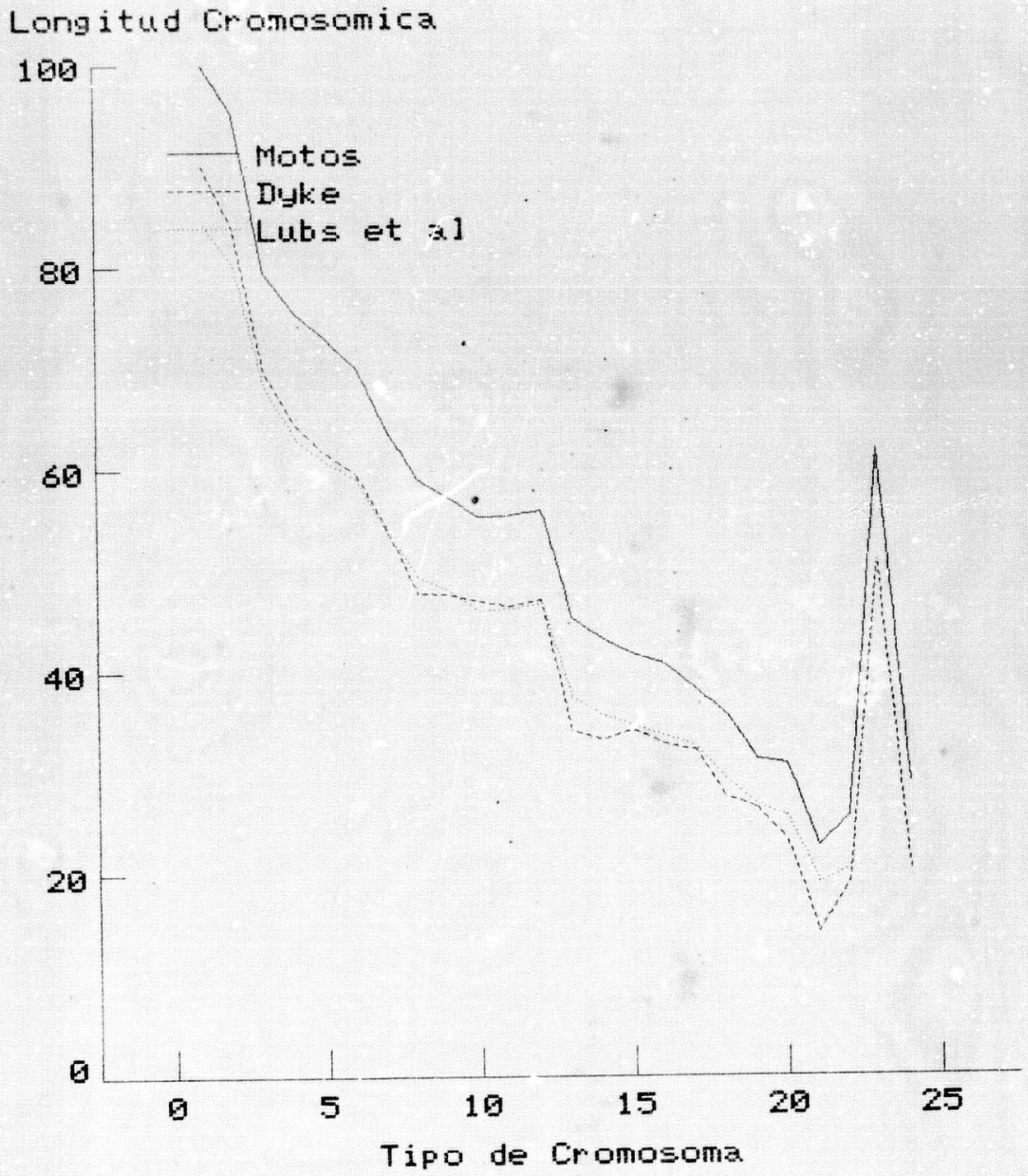


GRAFICO LXVII

APARTADO III : DISCUSIÓN DE LOS INTERVALOS DE ACEPTACIÓN

Una vez discutidos los resultados de nuestro trabajo y comparados éstos con los obtenidos por otros autores rápidamente hay que señalar que esos resultados, tal y como están, no se pueden extrapolar directamente a la población general. Cuando decimos, por ejemplo, que la longitud del cromosoma nº 6 está comprendida entre el 69.18% y 70.92% de la longitud del cromosoma nº 1 con un 90% de confianza, queremos decir si medimos un cromosoma cualquiera de nuestra muestra, si su longitud está comprendida entre esas cifras, con un 90% de confianza se tratará de un cromosoma nº 6. Fijémonos en que hemos dicho de nuestra muestra. Ahora bien, si pretendemos extrapolar esos mismos resultados a la población general tendremos que determinar los denominados "intervalos de aceptación". En éstos, en definitiva, lo que se hace es considerar no ya el error estándar sino la propia desviación típica. Aún más, la desviación típica se "penaliza" con un factor de correción "k" que aumenta al disminuir el tamaño de la muestra y, por supuesto, también aumenta al pretenderse una mayor confianza o que abarque a una mayor proporción de individuos de la población. Los intervalos de aceptación se entienden de forma que, para cada tamaño de muestra "n", el interva $\bar{x}$ +/- k.σ contiene al menos una proporción π de individuos de la población,

con una confianza $1-\alpha$. Los valores n, k y α se recogen en las tablas estadísticas correspondientes.

De forma general, para cada intervalo de confianza (90-95-99%) podemos escoger entre una π del 90-95-99-99.9% . En nuestro caso tenemos que ser modestos en nuestras aspiraciones, pues las desviaciones típicas que hemos obtenido en nuestro estudio no son pequeñas, como corresponde a la gran variabilidad biológica de la morfología de los cromosomas. Vamos a comentar los valores que hemos determinado para intervalos de aceptación que contengan, al menos, una proporción del 90% de individuos de la población general, con una confianza del 90-95-99%.

1.- AREA CROMOSóMICA (Tablas CXXVII, CXXIII, CXXIX; Gráficos XXXIV, XXXV y XXXVI)

1.a.) Intervalo del 90% de confianza : A efectos de comparación se considera cada cromosoma con su respectivo intervalo de confianza.

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma de referencia. Se le asigna de forma arbitraria el valor de 100% .

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 3, 4 y 5.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8 y X.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y X .

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15 y X

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 18 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y X.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, X e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 18, 19, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, y 13.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Al 90% de confianza, como cabía esperar, las superposiciones son numerosísimas.

1.b.) Intervalo del 95% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma de referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 3, 4 y 5.

CROMOSOMA nº 3 . Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8 y X.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 18 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 18 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y X.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superponen sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 18, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 18, 19, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Al 95% de confianza han aparecido, además de las existentes al 90% de confianza, las siguientes superposiciones : 8-15, 9-16, 10-16, 11-18, 14-20, 14-Y, 14-X, 15-Y, 15-X y 18-21.

1.c.) Intervalo del 99% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 3, 4, y 5.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 18 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 18, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 18, 19, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Al 99% de confianza y 90% de población abarcada han aparecido, además de las ya existentes, las siguientes superposiciones : 3-9, 3-10, 3-11, 3-12, , 9-18, 10-18, 11-17, 12-17, 13-20, 13-Y, 14-Y, 14-X y 15-Y, 15-X, 16-X.

En conjunto vemos que la introducción de las severas condiciones para determinar los intervalos de aceptación ha hecho que no se pueda independizar absolutamente ningún cromosoma. Ello hará que tengamos que identificar cada cromosoma de otra forma, como veremos más adelante.

2.- PERÍMETRO CROMOSÓMICO (Tablas CXXX, CXXXI, CXXXII; Gráficos XXXVII, XXXVIII y XXXIX).

2.a.) Intervalo del 90% de confianza : A efectos de comparación se considera cada cromosoma con su respectivo intervalo de confianza.

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma de referencia. Se le asigna, de forma arbitraria, el valor de 100%.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 3, 4, 5 y 6.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11. 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 16, 17, 18, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Al 90% de confianza, comprendida el 90% de la población, las superposiciones son muy numerosas.

2.b.) Intervalo del 95% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 3, 4, 5 y 6.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cormosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 17, 18, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Para el 90% de población abarcada con un 95% de confianza aparece una nueva superposición: 8-18.

2.c.) Intervalo del 99% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 3, 4, 5, 6 y X.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 14, 15, 16, 17, 18, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 24 (Y) . Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y X.

Para el 90% de la población con un 99% de confianza las nuevas superposiciones cromosómicas han sido : 2-X, 10-19, 13-22, 14-22, 16-21, 20-X y X-Y.

En resumen, para el perímetro cromosómico no se puede individualizar tampoco ningún cromosoma.

3.- LONGITUD CROMOSÓMICA (Tablas CXXXIII, CXXXIV, CXXXV; Gráficos XL, XLI y XLII)

3.a.) Intervalo del 90% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1 y 3.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5 y 6.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 5, 6, 7 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 6, 7, 8 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17 y 18.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 18, 19, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Para el 90% de la población abarcada con el 90% de confianza las superposiciones cromosómicas son muy numerosas pero evidentemente menores que para el área o el perímetro.

3.b.) Intervalo del 95% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1 y 3.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5 y 6.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 5, 6, 7 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 6, 7, 8, 9 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18 y 19.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 18, 19, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Para el 90% de la poblacion abarcada con el 95% de confianza han aparecido las siguientes superposiciones cromosómicas 5-9, 13-19, 14-19, 14-20 y 14-Y.

3.c.) Intervalo del 99% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1 y 3.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6 y 7.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 5, 6, 7 y X

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, X e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 18, 19, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Para el 90% de la población abarcada con el 99% de confianza aparecen las siguientes nuevas superposiciones : 3-7, 5-11, 5-12, 9-15, 13-20, 13-X y 13-Y.

En conjunto la longitud cromosómica no puede individualizar ningún cromosoma para ningún intervalo de confianza, pero los grupos de cromosomas superpuestos son menores que para el área o el perímetro, lo que sin duda convierte a este parámetro

en la base de valores para determinar morfométricamente los cromosomas.

4.- BRAZO CORTO (Tablas CXXXVI, CXXXVIII, CXXXVIII; Gráficos XLIII, XLIV y XLV)

4.a.) Intervalo del 90% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre el cromosoma nº 3.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre el cromosoma nº 2.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 19 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 9, 11 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 16, 19 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 16, 19 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 16, 17, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 8, 9, 10, 11, 16, 17, 18 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 15, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 19 y 20.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18 y 20.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 10, 12, 15, 16, 17, 18 y 19.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 18, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 18, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 17, 18, 19, 21 y 22.

Para una población abarcada del 90%, al 90% de confianza, existen numerosas superposiciones cromosómicas entre los valores propuestos, aunque la composición es algo distinta a las determinadas por el área o el perímetro.

4.b.) Intervalo del 95% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre el cromosoma nº 3.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre el cromosoma nº 2.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 19 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 9, 11 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 16, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 16, 19 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 16, 17, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15, 17, 18, 19, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 19 y 20.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 10, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 22 y X .

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18 y 19.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 18, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 18, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 16 y 19.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 17, 18, 19, 21 y 22.

Para una población abarcada del 90%, al 95% de confianza no aparecen nuevas superposiciones.

4.c.) Intervalo del 99% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Es el cromosoma referencia.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre el cromosoma nº 3.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre el cromosoma nº 2.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 19 y X.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 19 y X.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 8, 9, 11 y X.

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 16, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 16, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 16, 18, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16, 19 y X.

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 16, 17, 18, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15, 17, 19, 21, 22 Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 19, 20 y X.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20 y 22.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 18, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 17, 18, 20, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 16.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

Para el 90% de la población con el 99% de confianza las nuevas superposiciones cromosómicas son : 4-19, 6-10, 7-16, 8-17, 9-17, 10-18, 11-19, 12-15, 12-X, 20-X y 19-Y.

Para el conjunto del brazo corto vemos que continúan existiendo numerosas superposiciones, aunque por la naturaleza del parámetro son distintas a las consideradas con el área, perímetro y longitud total.

5.- ÍNDICE CENTROMÉRICO (Tablas CXXXIV, CXL, CXLI; Gráficos XLVI, XLVII, XLVIII).

5.a.) Intervalo del 90% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 19 y 20.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y X.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 16, 19 y 20.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5,8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 7, 8, 9, 10, 12, 17, 19, 20, 21, 22 y X .

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 6, 8, 9, 10, 11, 16, 17, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y X .

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 15, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15 e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 15, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 12, 13, 14, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 16, 20 y X.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 16, 17, 19 y X.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 17, 18, X e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 21, 22 y X.

Para el 90% de la población, con el 90% de confianza se obtienen numerosas superposiciones cromosómicas que no merecen la pena detallarse.

5.b.) Intervalo del 95% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 19 y 20.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y X.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 16, 19 y 20.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5,8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 7, 8, 9, 10, 12, 17, 19, 20, 21, 22 y X .

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 6, 8, 9, 10, 11, 16, 17, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y X .

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 15, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15 e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 15, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 12, 13, 14, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 16, 20 y X.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 16, 17, 19 y X.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 17, 18, X e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 21, 22 y X.

Para el 90% de la población, con el 95% de confianza no aparece ninguna nueva superposición.

5.b.) Intervalo del 99% de confianza :

CROMOSOMA nº 1 : Se superpone sobre los cromosomas nº 3, 19 y 20.

CROMOSOMA nº 2 : Se superpone sobre los cromosomas nº 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 3 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 16, 19 y 20.

CROMOSOMA nº 4 : Se superpone sobre los cromosomas nº 5, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 5 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 6 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 7, 8, 9, 10, 12, 17, 19, 20, 21, 22 y X .

CROMOSOMA nº 7 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 6, 8, 9, 10, 11, 16, 17, 19, 20, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 8 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 9 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 10 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 11 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y X .

CROMOSOMA nº 12 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 15, 17, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 13 : Se superpone sobre los cromosomas nº 14, 15 e Y.

CROMOSOMA nº 14 : Se superpone sobre los cromosomas nº 13, 15, 21 e Y.

CROMOSOMA nº 15 : Se superpone sobre los cromosomas nº 4, 5, 12, 13, 14, 18, 21, 22 e Y.

CROMOSOMA nº 16 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 3, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 19, 20 e Y.

CROMOSOMA nº 17 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 18, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 18 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 21, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 19 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 16, 20 y X.

CROMOSOMA nº 20 : Se superpone sobre los cromosomas nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 16, 17, 19 y X.

CROMOSOMA nº 21 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 22, X e Y.

CROMOSOMA nº 22 : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 17, 18, X e Y.

CROMOSOMA nº 23 (X) : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22.

CROMOSOMA nº 24 (Y) : Se superpone sobre los cromosomas nº 2, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 21, 22 y X.

Para el 90% de la población con un 99% de confianza aparece una nueva superposición: 2-Y.

En conjunto, como en casos anteriores, existen numerosos sobrecruzamientos cromosómicos (entiéndase, de sus intervalos de aceptación) que van a interferir notablemente nuestros próximos intentos de individualización.

APARTADO IV: BASES PARA LA ELABORACIÓN DE UN PROGRAMA COMPUTARIZADO DE ANALISIS CROMOSÓMICO

A la vista de nuestros resultados y su interpretación es evidente que no es posible una individualización precisa de todos y cada uno de los cromosomas que componen el cariotipo humano, en base a criterios morfológicos obtenidos tras la medición de los diversos parámetros considerados. Ello, en principio, es lógico pues sabemos que actualmente los únicos medios de clasificación exacta del cariotipo son aquellos que envuelven procesos de bandeo (singularmente bandas G, R o Q). Otra cosa es que en base a dichos parámetros la individualización se haga con mayor o menor seguridad. Vimos que para los cromosomas de nuestro trabajo era posible dar unos márgenes de confianza (90-95-99%) independientes para cada tipo, pero ello no ha sido posible al determinar los intervalos de aceptación. ésto es debido, por una parte, a las severas condiciones que se establecen para determinar dichos intervalos y, por otra, a la excesiva desviación típica de nuestras medidas fruto, a su vez, de la dificultad para realizar las mediciones y de la alta variabilidad biológica de la morfología de los cromosomas humanos. Nótese que los intervalos de aceptación que hemos definido lo son para que al aplicarlos den cobertura al menos al 90% de la población que se estudie, con un 90-95-99% de

confianza. Por supuesto podríamos intentar dar valores que abarcaran al 95 o 99% de la población pero en este caso los intervalos se irían superponiendo de tal forma que no nos servirían pues en el intervalo de aceptación para un parámetro determinado de un cromosoma cualquiera podrían definirse otros cromosomas. No obstante, para nuestros intervalos de aceptación (90% de población, 99% de confianza) hay algunos cromosomas que sí se pueden individualizar.

Ante ésto es necesario replantearse nuestros objetivos. No era nuestra intención lograr una individualización perfecta de todos los cromosomas, pues en ese caso hubiéramos utilizado el modelo de bandas y otros criterios de clasificación. Por otra parte, un citogenetista experto tampoco lograría una clasificación exacta de cromosomas sólamente teñidos con Giemsa. Nuestro objetivo, en realidad, es explorar los límites en que los criterios morfológicos nos pueden ayudar en ese intento de clasificación. Rechazada pues una clasificación directa, precisa y total de los cromosomas del cariotipo en base a dichos criterios podemos intentar la definición de grupos de cromosomas, al estilo de la Convención de Denver, que sí queden definidos por esos criterios. En una etapa posterior, los cromosomas así distribuidos se intentarían individualizar aplicando bien criterios morfológicos bien otros criterios más subjetivos

(comparación relativa entre cromosomas del mismo grupo). En definitiva se pretende que el ordenador "clasifique" los cromosomas del cariotipo humano utilizando el método automático y teniendo en cuenta la posibilidad de que, en un proceso interactivo, el citogenetista pueda, con mucho menor esfuerzo, completar, modificar o revalidar los resultados que el ordenador ofrezca.

Como ha quedado demostrado los parámetros longitud total, área y perímetro son casi superponibles en cuanto a su comportamiento para cada cromosoma. Por ello vamos a utilizar en nuestros criterios solamente uno que, por comodidad nuestra, será la longitud cromosómica total aunque igualmente podrían haber sido el área o el perímetro. Esta longitud total se acompaña de la longitud del brazo corto y del índice centromérico. A partir de ellos intentaremos dar unos criterios de clasificación válidos.

Antes de pasar a definir estos criterios es preciso recordar lo siguiente :

1.- No es nuestra intención describir el funcionamiento de un programa de ordenador sino sentar las bases morfoestructurales sobre las que éste debe desarrollarse.

2.- No vamos a abordar el complejo problema que plantea la aparición de alteraciones estructurales en

los cromosomas que se pretenden clasificar. Se va a trabajar única y exclusivamente con cromosomas normales desde el punto de vista morfoestructural.

3.- Basaremos estos criterios en los intervalos de aceptación anteriormente determinados.

CRITERIOS MORFOMÉTRICOS DE CLASIFICACIÓN AUTOMÁTICA DE CROMOSOMAS HUMANOS

1.- Definición de grupos cromosómicos

Atendiendo a sus características morfológicas y estructurales hemos definido 10 grupos de cromosomas en el cariotipo, procurando que su terminología coincida, en lo posible, con la establecida en la Conferencia de Londres (1963).

GRUPO A-1 : Cromosomas nº 1
GRUPO A-2 : Cromosomas nº 2 y 3
GRUPO B : Cromosomas nº 4 y 5
GRUPO C-1 : Cromosomas nº 6, 7 y X
GRUPO C-2 : Cromosomas nº 8, 9, 10, 11 y 12
GRUPO D : Cromosomas nº 13, 14 y 15
GRUPO E-1 : Cromosomas nº 16
GRUPO E-2 : Cromosomas nº 17 y 18
GRUPO F : Cromosomas nº 19 y 20

GRUPO G : Cromosomas nº 21, 22 e Y

2.- Determinación del cromosoma nº 1

Es el punto clave pues sobre él se van a basar el resto de los valores relativos de los cromosomas. Para ello se mide automáticamente la longitud total de cada cromosoma a partir de sus dos brazos. El brazo mayor viene definido por el mayor segmento centrómero - extremo cromosómico mientras que el brazo menor se define por el menor segmento centrómero - extremo cromosómico. La determinación del centrómero es automática. A partir de sus brazos se halla el índice centromérico de todos los cromosomas.

De los cuatro cromosomas más largos, los dos que a su vez presenten un índice centromérico comprendido entre 0.4837 +/- 0.017 o, en su defecto, los dos cromosomas, de entre éstos, con un índice centromérico mayor se identifican con los cromosomas nº 1.

La semisuma de las longitudes totales de ambos cromosomas nº 1 será el valor medio equivalente al 100% con el cual habrá que comparar el resto de las longitudes de los demás cromosomas para determinar sus valores relativos. Este proceso se repite de igual forma para las longitudes de los brazos cortos. Una

vez conocidos la longitud total y la longitud de los brazos cortos se determina el índice centromérico de cada uno de los cromosomas.

3.- Definición de "supergrupos"

Definimos "supergrupo" como la asociación de varios grupos cromosómicos. Hemos considerado dos supergrupos; uno abarca los grupos A-1, A-2, B, C-1 y C-2 (cromosomas 1-12 y X) al cual denominamos SUPERGRUPO I; el otro contiene los grupos D, E-1, E-2, F y G (cromosomas 13-22 e Y) al que denominamos SUPERGRUPO II. La utilidad de dicha separación es que podemos elaborar dos grupos de criterios que analicen por separado los correspondientes cromosomas. El SUPERGRUPO I se caracteriza por estar compuesto de cromosomas de longitud grande y mediana e índice centromérico por lo general también grande; el SUPERGRUPO II lo forman cromosomas de longitud pequeña e índices centroméricos o muy grandes o muy pequeños.

La definición de los supergrupos se hace en base a los siguientes criterios :

- Todos aquellos cromosomas cuya longitud relativa total sea menor o igual a 47.42% (límite inferior del intervalo de aceptación para el cromosoma nº 12) se

consideran clasificados dentro del SUPERGRUPO II. Debe incluir los cromosomas nº 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 e Y.

- Todos aquellos cromosomas cuya longitud relativa total sea mayor de 53.21% se consideran clasificados dentro del SUPERGRUPO I. Debe incluir los cromosomas nº 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y X.

- Existe una zona de superposición entre los SUPERGRUPOS I y II, situada entre 47.42.00%-53.21%. Para todos aquellos cromosomas comprendidos dentro de esta zona se procederá a evaluar la longitud relativa de su brazo corto. Si ésta es menor o igual a 25.00% se considerará que el cromosoma pertenece al SUPERGRUPO II; por el contrario si es mayor de 25.00% se considerará que es un cromosoma del SUPERGRUPO I.

- Si, a pesar de todo, en el conjunto final el SUPERGRUPO I tiene algún cromosoma de más (normalmente, 23 o 24 según el sexo) y el SUPERGRUPO II alguno de menos (normal, 20 o 21) el cromosoma de menor longitud pasa del I al II. Si ocurriera al contrario sería el cromosoma de mayor longitud total el que pasaría del II al I.

4.- Definición *a priori* del sexo

La mayoría de las veces el sexo se conocerá de antemano en base al fenotipo, pero como ello no nos asegura que exista coincidencia con el sexo cromosómico es interesante hacer una determinación previa. Para ello el ordenador compara el número de cromosomas que componen los supergrupos :

SUPERGRUPO I + SUPERGRUPO II # 46 ⇒⇒⇒ cariotipo numéricamente anormal ⇒⇒⇒ sexo no determinable *a priori*

SUPERGRUPO I + SUPERGRUPO II = 46 ⇒⇒⇒ cariotipo numéricamente normal ⇒⇒⇒ sexo potencialmente determinable *a priori*

SUPERGRUPO I = 25
SUPERGRUPO II = 21 ⇒⇒⇒⇒ SEXO *previo* MASCULINO

SUPERGRUPO I = 26
SUPERGRUPO II = 20 ⇒⇒⇒⇒ SEXO *previo* FEMENINO

Naturalmente esta determinación previa debe confirmarse con el estudio citogenético *a posteriori* del cariotipo.

5.- Determinación de grupos

Vamos a utilizar criterios puramente morfométricos basados en los límites de aceptación determinados para dar cobertura al menos al 90% de la población con un 99% de confianza.

5.1 SUPERGRUPO I :

GRUPO A-2 (pares cromosómicos 2 y 3)

Longitud total (L) = 104.88%-70.68%

Longitud del Brazo Corto (BC) = 88.18%-66.43%

índice centromérico (IC) = 0.4945-0.3447

GRUPO B (pares cromosómicos 4 y 5)

Longitud total (L) = 84.13%-64.57%

Longitud del Brazo Corto (BC) = 59.10%-29.43%

índice centromérico (IC) = 0.3377-0.2529

GRUPO C-1 (pares cromosómicos 6, 7 y X)

Longitud total (L) = 78.10%-52.93%

Longitud del Brazo Corto (BC) = 63.88%-40.10%

índice centromérico (IC) = 0.4338-0.3432

GRUPO C-2 (pares cromosómicos 8,9,10, 11 y 12)

Longitud total (L) = 69.9[illegible].42%

Longitud del Brazo Corto (BC) = 54.00%-25.60%

índice centromérico (IC) = 0.4544-0.2436

El grupo C-2 se ha dividido en subgrupos considerando como límite el valor de 38,5% para la longitud del BC. Así, BC > 38.5% define el subgrupo C-21 (pares cromosómicos 8, 9 y 11); BC </= 38.5% define el subgrupo C-22 (pares cromosómicos 10 y 12).

Tras esta clasificación inicial de los cromosomas del SUPERGRUPO I pueden surgir las siguientes dificultades :

a) <u>Uno o más cromosomas no se han clasificado en ninguno de los grupos de referencia</u> :

Es infrecuente pero puede ocurrir. En este caso se colocan los cromosomas "inclasificables" en orden descendente de la longitud de su brazo corto y directamente se asignan a los grupos donde faltan cromosomas, comenzando a explorar primero el grupo A-2 y luego, sucesivamente, los grupos B, C-1 y C-2.

Otra posibilidad sería la de ampliar los límites de los criterios numéricos de cada grupo, por ejemplo considerando un 95% o un 90% de confianza en vez del 99%, pero se ha visto que el primer método descrito es más práctico y más exacto.

b) <u>Uno o más cromosomas están clasificados en dos o más grupos simultaneamente</u> :

Es un caso más frecuente que el anterior, pero de fácil solución. Lo que hacemos es considerar la

característica más diferencial entre los grupos en los que está comprendido el cromosoma simultáneamente (normalmente dos). Una vez determinada esa característica acudimos a un proceso que hemos denominado de "centralización". Este proceso consiste en tomar el valor intermedio del intervalo que hemos definido como criterio de selección para ese grupo y parámetro determinado; por ejemplo, si tenemos un cromosoma clasificado a la vez en los grupos A-2 y B, su criterio más diferencial será la longitud de su brazo corto; a continuación tomamos el valor intermedio de la longitud del brazo corto para el grupo A-2, 77.30%, y para el grupo B, 44.26%; restamos ahora la longitud del brazo corto del cromosoma en cuestión, 56.38%, de las dos cifras anteriores (77.30 - 56.38 = 20.92; 56.38 - 44.26 = 12.12); el resto menor de esta diferencia (12.12) nos indica que el valor del cromosoma está más centrado en el intervalo de ese grupo (grupo B) que respecto al otro grupo (grupo A-2), por lo que pasamos a asignar el cromosoma al grupo B. Esta forma de diferenciación entre grupos por "centralización" es muy eficaz y resulta de gran utilidad. En el raro caso que se hallaran involucrados tres grupos realizaríamos el proceso de centralización entre cada dos de ellos comparando los resultados. Esta última eventualidad es excepcional. A

continuación exponemos los parámetros diferenciadores entre los diversos grupos :

- Grupos A-2 y B : centralización por BC
- Grupos B y C-1 : centralización por IC
- Grupos B y C-2 : centralización por L
- Grupos A-2 y C-1 : centralización por BC
- Grupos A-2 y C-2 : centralización por BC
- Grupos C-1 y C-2 : centralización por BC

c) Hay grupos en los que faltan cromosomas y en otros sobran :

Es una circunstancia posible ya que la morfología de ciertos cromosomas es muy similar (por ejemplo el cromosoma 11 del grupo C-1 y el cromosoma X del grupo C-2). Atendemos primero a los grupos donde sobran cromosomas. En este caso cada grupo tiene una característica fundamental y lo que hacemos es comparar todos los cromosomas de ese grupo con esa característica. Los cromosomas que están más alejados de esa característica son "expulsados" del grupo. Por ejemplo, el grupo B ha de tener necesariamente cuatro cromosomas (estamos hablando de cariotipos normales de 46 cromosomas). Si aparecen cinco cromosomas en ese grupo por fuerza ha de haber otro grupo en donde falte. En este caso comparamos el índice centromérico de todos los cromosomas asignados a tal grupo y el que

presente un índice centromérico mayor lo "expulsamos". ésto se realiza tantas veces como grupos aparezcan con un número excesivo de cromosomas. Los criterios de "expulsión" de cromosomas dentro de cada grupo son :

GRUPO A-2 : el cromosoma de menor BC
GRUPO B : el cromosoma de mayor IC
GRUPO C-1 : el cromosoma de menor BC
GRUPO C-2 : el cromosoma de mayor BC

Una vez que hemos expulsado los cromosomas en exceso los unimos a los cromosomas no clasificados si los hubiera y por el mismo procedimiento explicado en el apartado "a)" se procede a una reasignación de los mismos. Esta reclasificación no suele afectar a más de cuatro o cinco cromosomas cada vez.

5.2. SUPERGRUPO II :

GRUPO D (pares cromosómicos 13, 14 y 15)
Longitud total (L) = 52.21%-33.63%
Longitud del brazo corto (BC) = 9.50%-24.37%
índice centromérico (IC) = 0.2697-0.1293

GRUPO E-1 (par cromosómico 16)
Longitud total (L) = 47.03%-34.37%
Longitud del brazo corto (BC) = 40.61%-28.54%
índice centromérico (IC) = 0.4656-0.3661

GRUPO E-2 (pares cromosómicos 17 y 18)

Longitud total (L) = 43.36%-29.69%

Longitud del brazo corto (BC) = 32.25%-16.43%

índice centromérico (IC) = 0.3919-0.2433

GRUPO F (pares cromosómicos 19 y 20)

Longitud total (L) = 38.15%-24.15%

Longitud del brazo corto (BC) = 37.69%-21.00%

índice centromérico (IC) = 0.5100-0.3913

GRUPO G (pares cromosómicos 21, 22 e Y)

Longitud total (L) = 38.74%-16.90%

Longitud del brazo corto (BC) = 23.76%-7.39%

índice centromérico (IC) = 0.3776-0.1810

Al igual que ocurría para el SUPERGRUPO I también pueden aparecer las mismas dificultades :

a) Cromosomas "inclasificables"

Ver el apartado "c)".

b) Cromosomas clasificados en dos o más grupos simultáneamente

Ya se ha explicado en qué consisten (ver apartado "b)" en 5.1. Los parámetros diferenciadores entre grupos son :

Grupos D y E-1 : centralización por IC

Grupos D y E-2 : centralización por IC

Grupos D y F : centralización por IC

Grupos D y G : centralización por L

Grupos E-1 y F : centralización por L

Grupos E-2 y F : centralización por IC

Grupos E-2 y G : centralización por L

Grupos F y G : centralización por IC

Grupos E-1 y E-2 : centralización por IC

c) Cromosoma que sobra en un grupo y falta en otro

El procedimiento a seguir se basa en el proceso de "centralización" ya explicado (apartado "c)" en 5.1.). Los criterios de "expulsión" son los siguientes :

GRUPO D : centralización por IC

GRUPO E-1 : centralización por L

GRUPO E-2 : centralización por L

GRUPO F : centralización por L

Una vez expulsados, los cromosomas en exceso se unen a los cromosomas no clasificados y juntos se centralizan en base a su IC, respetando el siguiente orden : grupo D, G, E-2, E-1 y F. En cada grupo donde falte un cromosoma se centralizan todos y el que esté más cercano al valor intermedio del IC para ese grupo se asigna a él. El resto pasa al siguiente grupo

deficitario donde se repite la operación, y así sucesivamente hasta reclasificarlos a todos.

6.- Clasificación de los cromosomas dentro de cada grupo

Ya hemos dicho que, en principio, no siempre hay criterios morfométricos fiables para hacer una clasificación exacta, salvo para valores extremos y por tanto infrecuentes de los parámetros considerados. Por ello nos vamos a basar en un segundo orden de criterios, quizás menos objetivos, consistentes en comparar las magnitudes de los cromosomas que componen cada grupo. En aquellos casos donde sea posible la clasificación morfométrica directa ésta se realizará en primer lugar.

GRUPO A-2 (cromosomas 2 y 3)

Aquellos cromosomas de IC mayor de 0.4436 se consideran cromosomas nº 3. Si hubiera más de dos cromosomas, los dos de mayor IC son cromosomas nº 3 y los otros cromosomas nº 2.

Aquellos cromosomas de IC menor de 0.4445 se consideran cromosomas nº 2. Si hubiera más de dos cromosomas, los dos de mayor IC son cromosomas nº 2 y el resto cromosomas nº 3.

Aquellos cromosomas de IC comprendido entre 0.4445 y 0.4436 si faltan cromosomas nº 3, serán por tanto cromosomas nº 3; si faltan cromosomas nº 2, serán cromosomas nº 2; si faltan cromosomas nº 2 y 3, los de mayor IC serán nº 3 y los de menor IC nº 2. Con estos criterios los cromosomas nº 2 y 3 se clasifican bien en la inmensa mayoría de los casos.

GRUPO B (cromosomas 4 y 5)

En este caso no hay criterios morfométricos fiables pero sí se ha demostrado que el brazo largo del cromosoma nº 5 es más corto, en general, que el del cromosoma nº 4. En base a este criterio los dos cromosomas de mayor brazo largo serán dos nº 4, mientras que los dos cromosomas de brazo largo menor serán dos nº 5. Con estos criterios pueden existir dudas en la clasificación morfométrica pues la diferencia de longitud de los brazos largos no siempre es evidente.

GRUPO C-1 (cromosomas 6, 7 y X)

Como criterios numéricos previos tenemos que aquellos de L > 69.90% se consideran cromosomas nº 6; los cromosomas de BC > 58.88% también se consideran cromosomas nº 6; los cromosomas de L < 57.44% son cromosomas X. En general los dos cromosomas de mayor longitud total (o mayor longitud del BC) son los dos

cromosomas nº 6; el o los cromosomas de menor longitud del BC son los cromosomas X; los dos cromosomas restantes son dos nº 7. Si hubiera más de dos cromosomas nº 6 los dos de mayor BC serían los seises. Con estos criterios los cromosomas nº 6 casi siempre se clasifican bien. Puede haber casos de confusión entre los cromosomas 7 y X.

GRUPO C-2

Subgrupo C-21 (cromosomas 8, 9 y 11)

Si el BC > 50.12% se trata de un cromosoma nº 11; si el IC > 0.3926 es un cromosoma nº 11; si el BC está comprendido entre 54.00% y 46.82% se trata de un cromosoma 9 u 11; si el IC está comprendido entre 0.3723 y 0.4508 se trata de un cromosoma 9 u 11. De forma general, los dos cromosomas con mayor BC son dos cromosomas nº 11; los dos cromosomas con los BC más pequeños son cromosomas nº 8, y los dos restantes son dos nº 9. Con estos criterios el cromosoma nº 11 se suele clasificar bien, existiendo posibles confusiones entre los cromosomas 8 y 9.

Subgrupo C-22 (cromosomas 10 y 12)

Si el IC es mayor de 0.3643 es un cromosoma nº 10; si el IC < 0.286 es un cromosoma 12; si el BC es menor de 29.35% también es un cromosoma nº 12. De una forma

general, los dos cromosomas de menor BC son los 12 y los dos cromosomas de BC mayor son los 10.

En general los criterios morfométricos se aplican antes de hacer la separación en subgrupos teniendo en cuenta, entonces, si ya hay algún cromosoma clasificado de forma directa.

GRUPO D (cromosomas 13, 14 y 15)

Si la L > 49.71% se trata de un cromosoma nº 13; si la L < 36.69% se trata de un cromosoma nº 15. En general los dos cromosomas de brazos largos más largos son dos 13; los dos cromosomas de brazos largos más cortos son dos 15; los dos cromosomas restantes son dos 14. Los cromosomas nº 13 suelen clasificarse bien, pudiendo haber más confusiones entre los 14 y 15.

GRUPO E-1 (cromosoma 16)

En este caso, al ser los cromosomas nº 16 los únicos ocupantes de este espacio, no son necesarios criterios adicionales. Suelen identificarse bastante bien y sólo algunos cromosomas 19 o 20 de gran tamaño pueden dar lugar a confusiones.

GRUPO E-2 (cromosomas 17 y 18)

Si la L > 41.73% se trata de un cromosoma nº 17; si la L < 33.08% es un cromosoma nº 18; si el BC >

28.15% es un cromosoma nº 17; si el BC < 21.27% es un cromosoma nº 18; si el IC > 0.3625 es un cromosoma nº 17; si el IC < 0.2883 es un cromosoma nº 18. En general los dos cromosomas de mayor L son dos 17 y los dos de menor L son dos 18. Con estos criterios se suele definir bien este grupo, y sólo cromosomas Y gigantes pueden ocasionar dudas.

GRUPO F (cromosomas 19 y 20)

Si el IC > 0.4970 se trata de un cromosoma nº 19; si el IC < 0.4039 es un cromosoma nº 20. En general los dos cromosomas más largos son dos 19 y los dos más cortos son 20. La distinción es difícil y suele haber confusiones.

GRUPO G (cromosomas 21, 22 e Y)

Aquí hay que considerar dos opciones, que existan cinco cromosomas (se trata de un varón) o que existan cuatro cromosomas (se trata de una hembra).

- Con cuatro cromosomas : la L > 28.36% es un 22; L < 20.34% es un 21; BC > 19.86% es un 22; BC < 10.65% es un 21; IC < 0.2384 es un 21. En general los dos cromosomas de mayor longitud son dos 22 y los dos de menor longitud son dos 21.

- Con cinco cromosomas : L > 30.80% es una Y; L < 19.09% es un 21; BC >21.63% es una Y; IC < 0.2212 es una Y. En general el de mayor longitud del brazo largo es una Y; los dos de mayor L son 22 y los dos de meno longitud son dos 21.

Con el fin de comprobar el grado de seguridad de estas "bases morfométricas" respecto a la correcta clasificación cromosómica del cariotipo y para comparar su eficacia con la de la clasificación visual de los genetistas, hemos realizado una experiencia consistente en medir y clasificar 460 cromosomas, en tinción simple de Giemsa, pertenecientes a 10 metafases de diferentes varones. Como referencia se ha tomado la clasificación de esos mismos cromosomas en bandas G. Además dos citogenetistas expertos y un citotécnico experimentado han clasificado también esos mismos cromosomas con arreglo a criterios visuales de longitud e índice centromérico (únicos parámetros valorados en este caso por el ordenador), pero que además, de forma inevitable, incluyen otras apreciaciones referidas a áreas, perímetros, volúmenes, densidades, principio de cariotipaje etc . No se ha impuesto límite de tiempo a los citogenetistas.

A continuación se exponen los resultados de la experiencia :

A) <u>ORDENADOR</u>

DISCUSION

Material : 10 metafases de varón en tinción simple de Giemsa .

n = 460 cromosomas

Cromosomas identificados correctamente : 305

Cromosomas mal identificados : 155

Proporción de cromosomas que se han identificado correctamente : 66.30% (Fracasos : 33.70%)

Proporción de cromosomas clasificados de forma correcta en sus respectivos grupos : 92.45%

Seguridad de clasificar correctamente cada cromosoma considerado individualmente :

CROMOSOMA	%		CROMOSOMA	%
1	100		13	65
2	100		14	35
3	100		15	55
4	65		16	80
5	55		17	70
6	95		18	60
7	75		19	65
8	40		20	60
9	40		21	85
10	30		22	65
11	75		X	60
12	55		Y	50

DISCUSION

Seguridad de clasificar cada cromosoma en el grupo que le corresponde :

GRUPO	%
A1	100
A2	100
A3	100
B	95
C1	90
C2	93
D	100
E1	80
E2	85
F	90
G	84

Para comprobar los cromosomas que se han confundido presentamos en la página siguiente una *MATRIZ DE CONFUSIÓN* donde se recogen todos los cromosomas acertados y fallados.

MATRIZ DE CONFUSION

Asignación por el ordenador

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	X	Y
1	20																							
2		20																						
3			20																					
4				13	7																			
5				7	11							1												
6						19	1																1	
7							15	1	1		2												1	
8					1			8	5	6		2												
9								4	8	4	2												1	
10								4	3	6		6												
11							1		2		15												1	
12					1	1		2	1	4		11												
13													13	5	2									
14													6	7	7									
15													1	8	11									
16																16	1		1	1				1
17																1	14	4						2
18																	4	12		1		1		1
19																2			13	5				
20																1		1	6	12		3		
21																		1			17	3		
22																		2		1	3	13		1
X							3	1				1					1						6	5
Y																								

Asignación por bandeo

B) CITOGENETISTAS : Se consideran los valores intermedios entre los tres citogenetistas.

Material : Las mismas 10 metafases de varón estudidas por el ordenador.

n= 460 cromosomas

Cromosomas identificados correctamente : 332

Cromosomas mal identificados : 128

Proporción de cromosomas que se han clasificado correctamente : 72.17% (fracasos : 27.83%)

Proporción de cromosomas clasificados de forma correcta en sus respectivos grupos : 99.27%

Seguridad de clasificar correctamente cada cromosoma considerado individualmente :

CROMOSOMA	%		CROMOSOMA	%
1	100		13	66.66
2	100		14	48.33
3	100		15	60
4	70		16	100
5	70		17	100
6	93.33		18	100
7	66.66		19	61.66
8	41.66		20	61.66
9	60		21	61.66
10	41.66		22	61.66
11	73.33		X	43.33
12	45		Y	100

DISCUSION

Seguridad de clasificar cada cromosoma en el grupo que le corresponde :

GRUPO	%
A1	100
A2	100
A3	100
B	100
C1	96
C2	96
D	100
E1	100
E2	100
F	100
G	100

En páginas siguientes se muestran las *MATRICES DE CONFUSIÓN* correspondientes a cada uno de los citogenetistas que han participado en la experiencia.

MATRIZ DE CONFUSION

Asignación por el citogenetista 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	X	Y
1	20																							
2		20																						
3			20																					
4				14	6																			
5				6	14																			
6						19	1																	
7							15				3												2	
8								7	2	3		8												
9								4	12		2												1	
10								3	3	11		3												
11							2	1	2		15													
12								5		6		9												
13													14	4	1									
14													4	8	6									
15													2	8	13									
16																20								
17																	20							
18																		20						
19																			11	9				
20																			9	11				
21																					14	6		
22																					6	14		
X						1	2		1														7	
Y																								10

Asignación por bandeo

MATRIZ DE CONFUSION

Asignación por el citogenetista 2

Asignación por bandeo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	X	Y
1	20																							
2		20																						
3			20																					
4				14	6																			
5				6	14																			
6						19	1																	
7							13		1		5												4	
8								8	3	6		3												
9							1	3	12															
10								7		7		6												
11							1		4		14												1	
12						1		2		7		11												
13													14	3	3									
14													3	12	5									
15													3	5	12									
16																20								
17																	20							
18																		20						
19																			13	7				
20																			7	13				
21																					13	7		
22																					7	13		
X							4				1												5	
Y																								10

Asignación por bandeo

MATRIZ DE CONFUSION

Asignación por el citogenetista 3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	X	Y
1	20																							
2		20																						
3			20																					
4				14	6																			
5				6	14																			
6						18	2																	
7							12				2												6	
8								10	2	4	1	3												
9							1	4	12	1		1											2	
10								3	2	7		8												
11								1	2		15	1											1	
12								2	2	8		7												
13													12	4	4									
14													6	9	5									
15													2	7	11									
16																20								
17																	20							
18																		20						
19																			13	7				
20																			7	13				
21																					10	10		
22																					10	10		
X						2	5				2												1	
Y																								10

Asignación por bandeo

Veamos que comparaciones se pueden establecer entre estas dos series de resultados. En primer lugar es evidente que la proporción de cromosomas correctamente clasificados es muy similar : 66.30% (ordenador) frente a 72.17% (citogenetistas) (gráfico LXVIII) y su diferencia se sitúa en torno al 6% (5.87%); la diferencia entre proporciones de cromosomas correctamente asignados a sus grupos tampoco es muy grande, en torno al 7% (6.82%) (ordenador, 92.45% y citogenetistas, 99.27%). Pensamos que esas diferencias pueden reducirse ampliando el tamaño de la muestra estudiada (por lo menos hasta 1000 cromosomas). Naturalmente siempre que comparemos los resultados de citogenetistas expertos con los del ordenador éste va a estar en desventaja, pues al suministrarle los criterios de clasificación va a existir una "pérdida de información" más o menos intangible que va a actuar negativamente sobre su rendimiento. Por otra parte, los citogenetistas tienen en cuenta, a la hora de clasificar, otros criterios además de los que estrictamente utiliza el ordenador (longitud del brazo corto, longitud total del cromosoma e índice centromérico) como son el grado de tinción, la anchura del cromosoma, comparaciones relativas entre cromosomas, grado de condensación etc. Esta pérdida de información es uno de los graves problemas que dificultan la correcta clasificación

automática de los cromosomas, y ha sido estudiado en profundidad por Lundsteen (1980).

Para valorar correctamente el grado de éxito alcanzado por nuestros criterios morfométricos en la clasificación cromosómica hay que tener en cuenta que, por supuesto, la tinción simple de Giemsa no es el método idóneo para esa identificación, ni nosotros lo pretendemos. Dicho ésto, está fuera de lugar objetar el que aproximadamente un 33% de error sea una tasa demasiado alta para ser aceptable. Ya lo sabemos. ésto es un problema inherente al tipo de tinción y no, como hemos visto al comparar con los resultados de los citogenetistas, al propio método computarizado. Además, numerosos estudios (Granlund, 1973; Meller y Nilsson, 1973; Lubs y Ledley, 1973; Marimuthu, Selles y Neurath, 1974 etc) han demostrado que los cromosomas bandeados pueden clasificarse computarizadamente con una tasa de error que oscila entre el 5-25%, dependiendo del material y métodos empleados. Teniendo en cuenta que con el material bandeado la tasa de error de un citogenetista experto ronda el 0.1% (Lunsteen et al, 1976) ello nos da idea de que las proporciones de error del ordenador son, de forma relativa, mayores para las bandas que para la tinción simple de Giemsa.

Volviendo a la comparación entre los resultados del ordenador y de los citogenetistas (véanse matrices de confusión respectivas y gráfico LXIX), los cromosomas nº 10 y 14 han sido los más difíciles de clasificar. No es de extrañar si tenemos en cuenta que ambos cromosomas reunen, en sus respectivos grupos, las características intermedias de los mismos. También el cromosoma nº 8 ha sido particularmente difícil de determinar. En el extremo opuesto, los cromosomas nº 1, 2 y 3 se clasifican bien siempre, tanto para el ordenador como para los citogenetistas. Los cromosomas nº 16, 17, 18 e Y se clasifican muy bien para los citogenetistas y en proporciones en torno al 70% para el ordenador. Para el cromosoma Y la causa de su baja tasa de identificación automática (50%) es el pequeño tamaño de la muestra estudiada (n = 29); para el cromosoma 16, y menos para el cromosoma 17 y 18, existe una evidente pérdida de información que puede y debe subsanarse. Un aspecto a favor del ordenador es que clasifica el cromosoma nº 21 bastante mejor que los citogenetistas (un 24% más) y ello es muy importante dada la alta frecuencia de presentación de la trisomía 21 en la clínica diaria. En general los cromosomas nº 6, 7, 11, 12, 19, 21, 22 y X parece ser que son clasificados mejor por el ordenador que por los citogenetistas.

Las proporciones de error en la clasificación cromosómica por grupos se compara en el gráfico LXX. Salvo para los grupos E1 y E2, donde las diferencias son manifiestas a favor de los citogenetistas, en el resto de los grupos son muy similares, siempre inferior al 10% (la diferencia absoluta total es de 6.82% a favor de los citogenetistas). Además, el grupo más conflictivo, el C, es clasificado mejor por el ordenador (62.3% de éxito) que por los citogenetistas (60.05%) y desglosado, el grupo C1 lo clasifica mucho mejor el ordenador, mientras que el grupo C2 lo clasifican mejor los citogenetistas (gráfico LXIX).

En conjunto, para ver si las diferencias halladas en el grado de seguridad en la clasificación de cromosomas por ambos métodos son o no son estadísticamente significativas, hemos de tener en cuenta que lo que vamos a comparar son dos clasificaciones pertenecientes a la misma muestra, por lo que el test estadístico indicado es el de comparación de dos proporciones apareadas. Además, como la muestra cumple el requisito $(n_{12} + n_{21})/2 > 5$, entonces el test que vamos a utilizar es el de *Mc. Nemar*. La comparación no puede hacerse directamente entre el ordenador y la media de los resultados obtenidos por los los citogenetistas, sino que debe hacerse de uno en uno. Las diferencias han resultado significativas con una $t_{exp} = 2.516$ y $p < 0.02$ y t_{exp}

= 2.071 y $p < 0.05$, para los citogenetistas 1 y 2, respectivamente. Hemos de decir que no nos sorprende esta significación pues pensamos que ella pone de manifiesto la ya aludida pérdida de información al confeccionar y suministrar a ordenador los descriptores y, sobre todo, la insuficiente utilización de los mismos (el genetista ha utilizado descriptores no previstos, en este caso, por el ordenador). Por otra parte, creemos que estas diferencias no se reparten por igual entre todos los cromosomas del cariotipo. Así, los cromosomas nº 16, 17, 18 e Y, que el genetista identifica siempre (100%), no son identificados por el ordenador más que en un 60% de los casos. De los 27 cromosomas que el ordenador ha fallado de más, respecto a los citogenetistas, 23 (85.18%%) pertenecen, precisamente, a los tipos 16, 17, 18 e Y (téngase en cuenta, además, que el cromosoma Y ha sido insuficientemente estudiado por nosotros, n= 29). Por todo ello pensamos que las diferencias, aunque estadísticamente significativas, no constituyen un argumento en contra de la utilización del método automático sino un aviso de las debilidades del mismo. Estamos seguros que en igualdad real de condiciones, subsanadas las pérdidas de información, el método automático superará seguro los resultados del método visual, además de hacerlo con

una velocidad y capacidad de trabajo mucho mayor que la del genetista.

Comparando nuestros resultados con los de Low, Selles y Neurath (1971), quienes utilizaron unos parámetros parecidos a los nuestros (longitud total, área, índice centromérico por área y por longitud etc), vemos que ellos obtenían una tasa de error del 37.4% en la clasificación general de los cromosomas, 3.7% de diferencia con nuestros resultados. Para comprobar si las medias de estas dos muestras son homogéneas (hipótesis nula) o si existe una diferencia superior a la que al azar puede explicar (hipótesis alternativa) hemos realizado un test χ^2, obteniendo que dicha diferencia no es estadísticamente significativa. Cualitativamente si hay diferencias importantes, por ejemplo la determinación del cromosoma nº 1 no es absolutamente fiable, lo que es vital para noso ros. A continuación exponemos las proporciones en que los cromosomas se han clasificado con certeza en el trabajo de Low et al, tanto aisladamente como por grupos.

Clasificación de cromosomas aislados, proporción de aciertos :

CROMOSOMA	%		CROMOSOMA	%
1	99		13	65.6
2	98.2		14	47.9
3	97.7		15	65.7
4	74		16	92.7
5	74		17	85.7
6	42.8		18	85.7
7	28.1		19	60.1
8	38.8		20	60.1
9	32.5		21	53.4
10	61.2		22	55.3
11	63		X	32.4
12	43.6		Y	44.9

Clasificación de cromosomas por grupos, proporción de aciertos :

GRUPOS	%
A1	99
A2	98.2
A3	97.7
B	74
C1	34.43
C2	47.82
D	59.7
E1	92.7

E2	85.7
F	60.1
G	53.3

En definitiva, no debemos sacar conclusiones rígidas de esta experiencia pues, entre otras cosas, el tamaño de la muestra es pequeño. Sí debemos tener en cuenta las tendencias que aparecen en él :

- La seguridad de la clasificación morfométrica por ordenador (tanto por grupos como aisladamente), según el modelo propuesto por nosotros, es muy similar a la de la clasificación visual de los genetistas.

- Para algunos cromosomas (6, 7, 11, 12, 19, 21, 22 y X) la seguridad de clasificación parece mayor por el método computarizado que por el método visual.

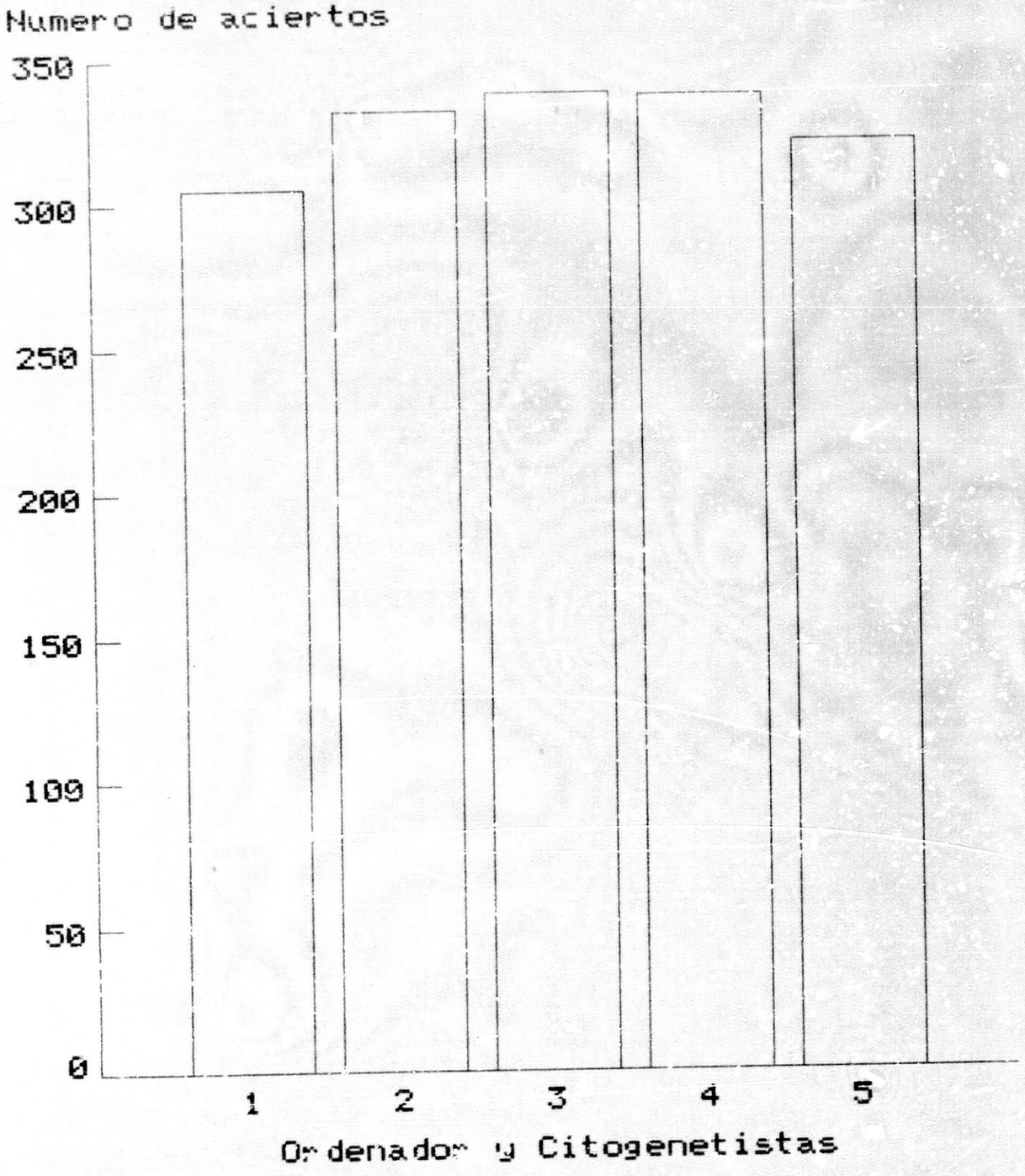
- Es posible mejorar mucho la seguridad del método morfométrico automático, hasta superar la de la clasificación visual de los citogenetistas, de la siguiente manera :

- aumentando la muestra estudiada
- haciendo intervenir un número mayor de descriptores (no se ha tenido en cuenta, por ejemplo, ni el área ni el perímetro cromosómico).
- mejorando la confección de los programas computarizados.

- perfeccionando la tecnología de medición de las estructuras biológicas.

CROMOSOMA ACERTADOS

Ordenador-Genetistas



1 = ORDENADOR ; 2 = media de CITOGENETISTAS ; 3 = CITOGENETISTA-1 ;
4 = CITOGENETISTA-2 ; 5 = CITOTÉCNICO-3 ;

GRAFICO LXVIII

GRUPOS CROMOSOMICOS

Ordenador-Citogenetistas

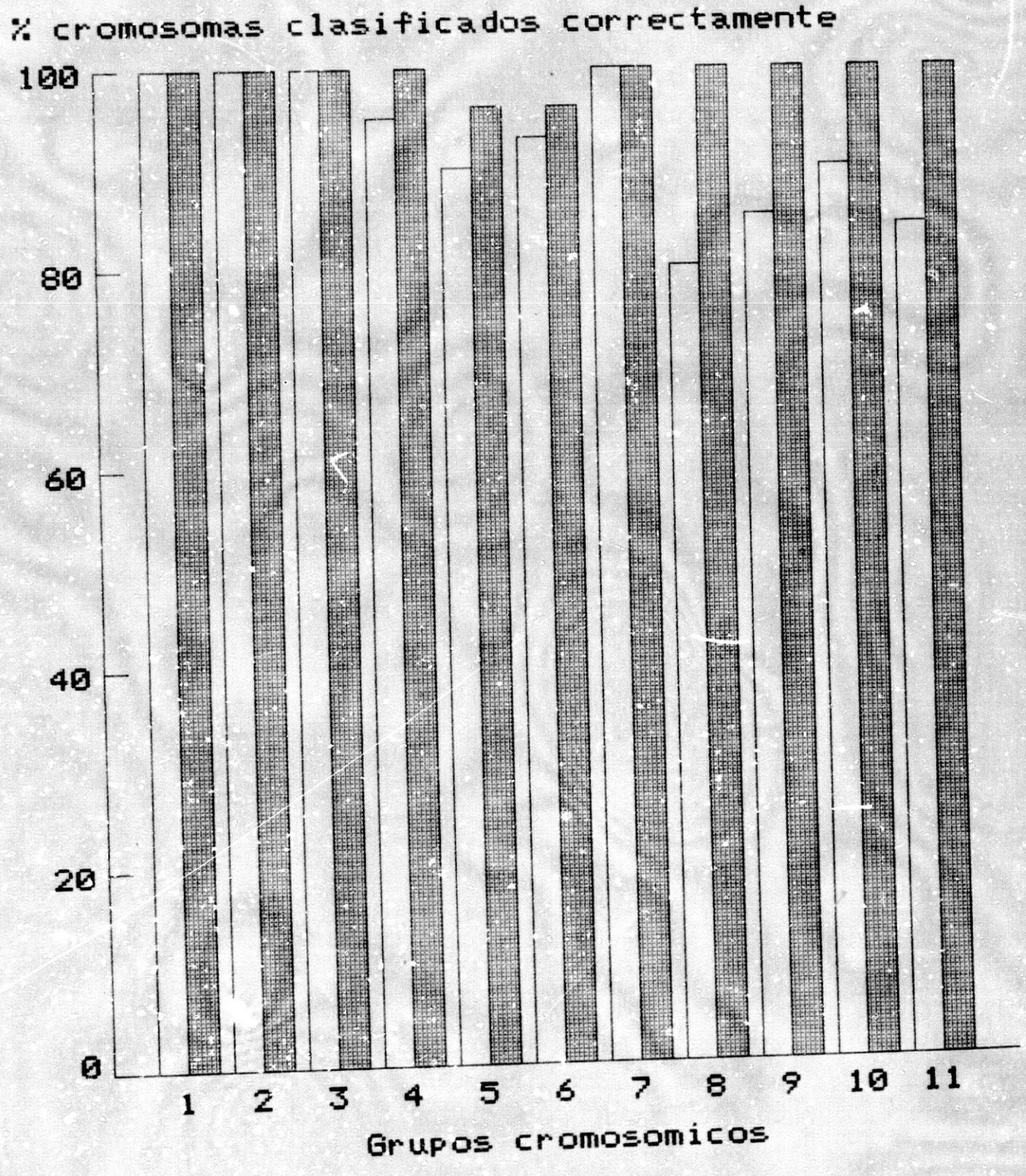


GRAFICO LXIX

1 = GRUPO A-1 : 2 = GRUPO A-2 : 3 = GRUPO A-3 : 4 = GRUPO B
5 = GRUPO C-1 : 6 = GRUPO C-2 : 7 = GRUPO D : 8 = GRUPO E-1
9 = GRUPO E-2 : 10 = GRUPO F : 11 = GRUPO G

BLANCO : ORDENADOR ; NEGRO : CITOGENETISTAS ;

CROMOSOMAS ACERTADOS

ORDENADOR-GENETISTAS

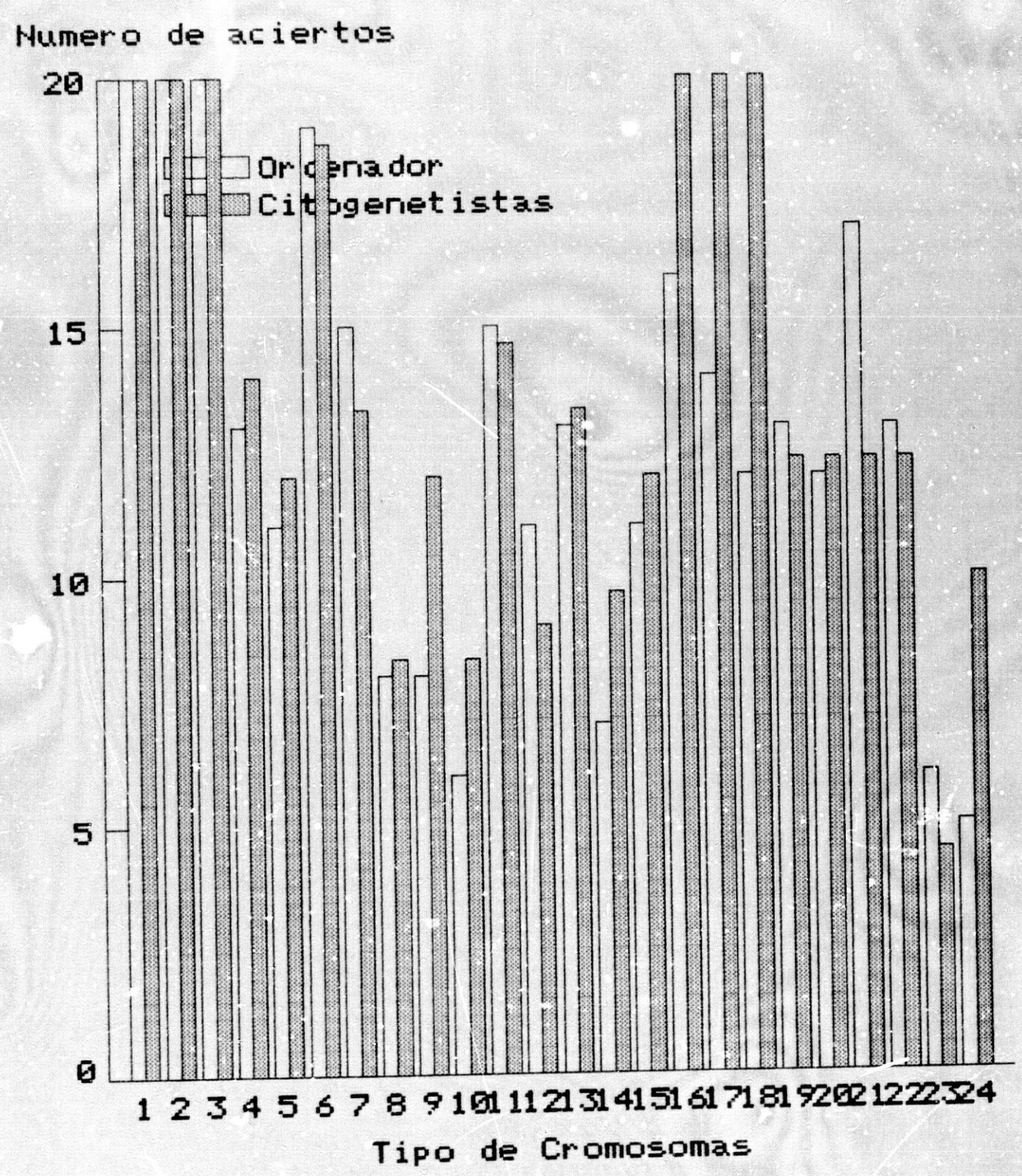


GRAFICO LXX

APARTADO V : APLICACIONES CLÍNICAS DEL ANÁLISIS CROMOSÓMICO AUTOMÁTICO

DISCUSION

Este es un capítulo muy interesante para nosotros, genetistas clínicos, que de ninguna manera debe quedar circunscrito a las indicaciones que a continuación vamos a describir sino que éstas deben ampliarse a medida que lo permitan nuevos perfeccionamientos en la sistemática de este medio de estudio.

Algunas de las posibilidades clínicas que vamos a comentar no son de aplicación directa con el método que hemos propuesto. Una vez más recordamos que el objeto de este trabajo de investigación no es ofrecer un programa computarizado totalmente terminado y listo para funcionar, sino establecer las bases morfométricas sobre las que aquel debe desarrollarse, teniendo en cuenta que en su realización van a intervenir tanto un programador experimentado como el genetista clínico/citogenetista.

1.- La primera aplicación clínica del análisis automático de cromosomas no es totalmente inherente a él sino que depende de otro sistema íntimamente ligado al mismo, nos referimos a la *búsqueda automática de metafases* .

Efectivamente, uno de los procesos que retardan más el diagnóstico citogenético es la búsqueda de metafases aptas para su estudio. Diversos factores influyen en ello:

- necesidad de que las metafases estén completas (una causa frecuente de pérdida de cromosomas es un excesivo choque hipotónico)

- necesidad de que los cromosomas tengan suficiente longitud (importantísimo para un estudio fiable de su estructura y para la obtención de bandas de buena calidad)

- necesidad de que los cromosomas seleccionados tengan buena tinción y no existan artefactos que dificulten su identificación

- necesidad de que los cromosomas estén bien separados, dentro de la propia metafase, y de que no existan entrecruzamientos

- necesidad de obtener un número determinado de metafases (15 o 20 por lo general)

Todas estas exigencias pueden ser asumidas por el ordenador, el cual decidirá con arreglo a ellas si una metafase es apta o no para ser analizada citogenéticamente. A la ventaja de una calidad óptima en las metafases seleccionadas hay que añadir la rapidez de ejecución, el gran volumen de material que puede analizar y el poco gasto que ello origina. El equipo básicamente consta de un ordenador que controla una cámara de T.V., la cual se aplica al ocular del miscroscopio, y una platina motorizada sobre la que se disponen los portaobjetos a estudiar. Electivamente

puede existir un control automático de foco y de intercambio de objetivo. Las ventajas de este sistema no se limitan a la búsqueda rápida de numerosas metafases sino que puede mejorar su propia presentación. Así es posible no sólo obtener las mejores metafases sino además contar el número de cromosomas que posee, eliminar artefactos de las mismas, obtener copias en papel etc. Cada metafase queda almacenada en la memoria del ordenador como un conjunto de coordenadas lo que permite la localización de la misma o, mucho mejor, lo que se almacena es la propia imagen de la metafase con lo que el acceso a la misma es prácticamente instantáneo. Esta búsqueda y recuento automatizados posibilita un estudio muy bueno de mosaicismos cromosómicos (Jakson y Pulley, 1966), patología ésta cuya detección ha estado tradicionalmente limitada por imperativos de tiempo y dedicación. Seguro que la aplicación de los métodos computarizados hace "ascender" la frecuencia de presentación de los mismos. Un interesante método de búsqueda automática de metafases ha sido descrito por Schoëvaërt-Brossault et al (1983); otro sistema comercial es el descrito por J. Jaschul (1985).

2.- Otra aplicación clínica del análisis automático de los cromosomas es la *determinación rápida del sexo citogenético*. El sistema se basa *a priori* en el

recuento del número de cromosomas que integran cada grupo definido; *a posteriori* se puede confirmar con el reconocimiento del número y tipo de cromosomas sexuales. ésto, sin embargo, no siempre es posible por existir, a veces, alteraciones morfológicas importantes de esos cromosomas que impiden su reconocimiento o por tratarse de una metafase aneuploide. También hay que tener en cuenta la posibilidad, infrecuente, de que sexo citogenético y sexo fenotípico no concuerden.

3.- Una aplicación clínica que debe haber quedado muy clara durante la exposición de todo este trabajo es la *ordenación de los cromosomas (obtención del cariotipo)*. El sistema propuesto por nosotros presenta una proporción de error muy similar a la de los citogenetistas pero además la velocidad de ejecución es mayor y se elimina la necesidad de fotografiar, recortar y pegar los cromosomas. Una posibilidad muy interesante es la de suministrar copias directamente por la impresora.

4.- Otra aplicación clínica muy importante es la *detección de anormalidades citogenéticas* (Hazout et al, 1979). En este caso es bueno distinguir entre anormalidades numéricas y estructurales, puesto que su

forma de identificación y la fiabilidad de la misma son diferentes.

A) Alteraciones numéricas : Son las más fáciles de detectar pues un simple recuento de varias decenas de metafases nos ponen ya sobre aviso de las mismas. Los casos simples de exceso (trisomías) o falta (monosomías) de un cromosoma son fácilmente detectables y reconocibles por el método morfométrico. Anormalidades más complejas como triploidías y tetraploidías son mucho más raras y de difícil presentación en personas vivas (son frecuentes, en cambio, en abortos espontáneos). Una excepción lo constituye la hiperploidía de los cromosomas sexuales. El hecho de que el ordenador pueda identificar con relativa facilidad las anomalías numéricas de los cromosomas es de singular importancia puesto que en este grupo se encuentran las causas más frecuentes e importantes de subnormalidad y alteraciones fenotípicas: síndromes de Down, Patau, Edwards, Turner, Klinefelter etc. Recordemos, además, cómo la identificación morfométrica del cromosomas 21 por el ordenador es más fiable que la realizada por los citogenetistas, en cuanto a cromosomas con tinción simple de Giemsa.

B) Alteraciones estructurales : Menos frecuentes que las anteriores, constituyen también una causa importante de patología genética. Su posibilidad de estudio por el ordenador es, a nuestro juicio, menor que las alteraciones numéricas. Efectivamente, la identificación automática de los cromosomas que intervienen en una translocación es muy difícil incluso considerando el estudio de cromosomas bandeados. La mayoría de las veces esta identificación se hace de forma indirecta en base a los cromosomas que faltan en el cariotipo, existiendo a la vez uno o más cromosomas que no se ajustan a ninguno de los parámetros previamente definidos. A pesar de ello existen numerosos programas que pretenden identificar éstas y otras alteraciones estructurales más complejas. Respetando el interés científico de estas iniciativas y, en algunos casos, su posible aplicación práctica (Dickerson et al, 1972; Bruschi et al, 1981), creemos que las rutinas no son por ahora fiables y que la mayoría de ellas sólo contemplan aspectos parciales de esta problemática.

En defiritiva pensamos que así como las alteraciones numéricas se pueden identificar con garantías por el ordenador, las alteraciones estructurales constituyen un problema aún sin resolver. En estos casos creemos que la misión del ordenador debe ser detectar rápidamente la existencia

de esa anomalía y, en todo caso, "sugerir" su posible origen bien por una eventual identificación directa en los casos más simples (translocaciones robertsonianas, delecciones etc) bien indirectamente al detectar los cromosomas que faltan en el cariotipo. El genetista debe interaccionar entonces para lograr un diagnóstico correcto.

5.- Una de las aplicaciones clínicas que puede tener más futuro, a nuestro parecer, la constituye la realización de *screening* a amplias muestras de población (Chromosomes and Computers, 1974). Efectivamente, cada vez es más evidente que el conocimiento de la dotación cromosómica del indivíduo puede ser un medio eficaz para la prevención de la subnormalidad de este origen. La aplicación del estudio citogenético a grandes masas de población ha contado siempre con el problema de que es un estudio caro que necesita personal muy especializado y un tiempo de dedicación muy grande. La introducción del análisis automático de cromosomas por ordenador puede cambiar radicalmente esta situación. Consideremos por ejemplo un hospital materno-infantil donde diariamente nacen 10-15 niños. No es posible que, en circunstancias normales, un servicio de Genética pueda estudiar diariamente esta cifra de casos. La realización de ese estudio por ordenador podría ser,

en cambio, factible tanto por su coste (ahorra todo el proceso fotográfico y la dedicación de personal auxiliar) como por su rapidez. Las ventajas que se obtendrían de este *screening* serían muchas pues además de detectar precozmente posibles causas de subnormalidad, quizá no corregibles pero sí paliables, ayudaría indirectamente a localizar parejas portadoras equilibradas de alteraciones cromosómicas y evitar subsiguientes abortos y/o nuevos nacimientos de niños afectados. Por otra parte a estos estudios no debería exigirse un calidad perfecta (por ejemplo la detección de inversiones paracéntricas) sino unos resultados cuantitativamente importantes (por ejemplo que no escapara ninguna alteración numérica ni estructural). Los casos anormales detectados pasarían a ser objeto de un estudio más detenido por parte del genetista.

Otros grupos de población a los que podría aplicarse este *screening* serían por ejemplo los formados por las parejas en edad reproductiva (como un consejo preconcepcional) y algún grupo en edad escolar (por ejemplo al inicio de la adolescencia). También es posible aplicar este método a poblaciones especialmente en riesgo : trabajadores de ciertas industrias químicas o farmaceúticas (de una forma periódica) o colectivos interesados como atletas y otros deportistas profesionales antes de obtener un título federativo etc.

6.- *El diagnóstico prenatal de alteraciones cromosómicas* presenta unas características especiales que le hacen suceptible a la aplicación del análisis automático de cromosomas por ordenador. Efectivamente, existen diversos problemas inherentes al mismo como son :

- escaso número de metafases (en caso de biopsia de corion)
- baja calidad de los cromosomas y de los estudios de bandeo
- necesidad de un diagnóstico rápido
- posibilidad de contaminación materna

Todo ésto hace que el estudio computarizado de las muestras pueda ser de interés (Chromosomes and Computers, 1974). Por ejemplo, el escaso número de metafases hace que sea conveniente su búsqueda automatizada; la baja calidad de los bandeos tiene una alternativa en la identificación morfométrica de los cromosomas; la rápidez de estudio es mayor; por último, la posible contaminación materna hace muy aconsejable estudiar el sexo de todas o la mayoría de las metafases disponibles. Un sistema de análisis automático de cromosomas aplicado al diagnóstico prenatal ha sido descrito por Leonard et al (1979).

7.- *Estudios de mutagenicidad por tóxicos* : La detección de roturas cromosómicas puede ser un índice de mutagenicídad debida a cierto tóxicos. También en los denominados síndromes de inestabilidad cromosómica (anemia de Fanconi, ataxia-telangiectasia, S. de Bloom etc) se suelen producir roturas. La detección, identificación de los cromosomas implicados y análisis de numerosas metafases hace que ésta pueda ser una aplicación clínica del sistema computarizado de estudio cromosómico (Castleman et al, 1976).

8.- *Estudio cromosómico de cánceres* : Sabemos que numerosos cánceres cursan con diversas alteraciones cromosómicas tales como roturas, trisomías, translocaciones, reestructuraciones extrañas etc que normalmente no se presentan en todas las células (mosaicismo frecuente). ésto hace que sea necesario el estudio de un gran número de ellas para un correcto diagnóstico. Por ejemplo, se ha hecho un intento de relacionar los cambios en la ploidía de células de tumores ginecológicos (vulva y cuello uterino) con su estadío evolutivo (Katayama y Jones, 1972) buscando un sentido pronóstico. En esas determinaciones el estudio computarizado de los cromosomas ha jugado un papel decisivo.

9.- *Estudio de polimorfismos cromosómicos* : Por lo que se conoce actualmente, los polimorfismos cromosómicos carecen de significación patológica conocida. Esto lo único que hace es poner de manifiesto, posiblemente, nuestra ignorancia sobre los mecanismos de interacción genotipo-fenotipo. Existen diversos trabajos que pretenden relacionar, de alguna manera, la variación del tamaño del brazo largo del cromosoma Y con pérdidas fetales precoces (Westlake et al, 1983). Todos estos estudios se ven facilitados en gran manera por la capacidad de trabajo que ofrece el análisis computarizado. Nuestros estudios morfométricos pueden constituir aquí un punto de partida para futuras investigaciones en este campo. En nuestro país, muy recientemente, el equipo dirigido por el profesor J.A. Abrisqueta ha publicado un interesante trabajo sobre la posible relación entre la variabilidad de la longitud de las bandas C y la pérdida reproductiva (Rodríguez-Gómez , Martín Sempere y Abrisqueta, 1987). No cabe duda que el análisis morfométrico computarizado de las zonas heterocromáticas cromosómicas podría dar unos resultados más precisos que los obtenidos por métodos convencionales. También es posible la obtención del índice Y/F (en nuestro caso este índice se sitúa en 0.94, cercano al límite superior pero dentro del rango 0.70-0.97 definido enel trabajo anteriormente citado). Este tipo de estudios

van a realizarse cada vez más frecuentemente y en ellos es ya imprescindible el análisis morfométrico por ordenador.

APARTADO VI: FUNCIONAMIENTO DE UN SERVICIO COMPUTARIZADO DE GENÉTICA C NICA Y CITOGENÉTICA

El funcionamiento de una Unidad Computarizada de Genética Clínica no difiere especialmente del modelo clásico. Sus objetivos siguen siendo, naturalmente, la detección de la patología genética, génica y cromosómica, prevención de la subnormalidad de este origen, consejo genético etc. El personal que la atiende puede ser el mismo sólo que con funciones más especializadas. Todo el trabajo que en ella se realice debe estar informatizado al máximo: registro de datos burocráticos, citas, registro de historias, almacenamiento y tratamiento estadístico de resultados, protocolos de diversos estudios que se realicen estudios citogenéticos etc.

Refiriéndonos a estos últimos, la forma de trabajo en estas Unidades podría ser la siguiente (figuras 28 y 29):

Una vez teñidos los portaobjetos éstos se disponen sobre la platina motorizada del microscopio (podrían estudiarse cromosomas sin teñir con un dispositivo de contraste de fases, pero la definición morfológica sería menor. El número de preparaciones que pueden analizarse de una vez es variable dependiendo de la capacidad de la platina . El trabajo de búsqueda y selección de las metafases es completamente automático, por lo que una vez inciado puede ser continuado por el sistema hasta agotar todo

el material. Ésto es importante por que permite que el sistema trabaje durante ciertas horas "muertas", normalmente no aprovechables por el personal humano (por ejemplo durante la noche). Una vez seleccionadas las metafases también pueden ser estudiadas en cuanto a número de cromosomas, sexo citogenético y confección inicial del cariotipo. Para esto último, el ordenador basará su estudio en criterios morfométricos, criterios densitométricos (para cromosomas bandeados) o criterios mixtos según la información previa que se le haya suministrado. En el caso propuesto por nosotros, el ordenador mediría los parámetros área, perímetro, longitud total, longitud del brazo corto e índice centromérico de cada uno de los cromosomas que componen cada metafase. A la mañana siguiente, el citogenetista puede establecer un "diálogo" con el ordenador, que bien podría transcurrir así :

- citogenetista (C) : respecto del caso X informa los resultados obtenidos.
- ordenador (O) :

caso nº X nº metafases estudiadas = x

metafase nº 1 (coordenadas)= nº de cromosomas (x)

...

metafase nº 20 (coordenadas)= nº de cromosomas (x)

SEXO CITOGENÉTICO = x

NÚMERO MODAL DE CROMOSOMAS = x

Alternativamente puede mostrar las medidas obtenidas.

-(C): muéstrame las imágenes de las metafases

-(O): A continuación el ordenador muestra, de una en una las imágenes almacenadas de las metafases seleccionadas.

-(C) : sugiere el cariotipo de las metafases nº x, x+1, x+3 etc.

-(O): muestra una imagen compuesta por los cromosomas que ha identiiicado, ordenados por pares homólogos al estilo de la convención de DENVER. Los cromosomas que no identifica bien puede suministrarlos aparte, planteando la duda, por ejemplo: la imagen de un cromosoma (8 o 10) duda si el cromosoma representado es un nº 8 o un nº 10.

- (C) : el citogenetista repasa los cromosomas clasificados y por medio del tablero digital y un lápiz óptico o un ratón cambia la localización de aquellos que le parecen mal clasificados . En este paso se incluyen aquellos cromosomas que el ordenador, en su caso, no ha sabido clasificar.

Este proceso interactivo, hoy por hoy, es fundamental para un diagnóstico correcto de cada caso. Su duración es variable dependiendo de los criterios

utilizados. Una vez que el citogenetista está satisfecho con la clasificación puede etiquetar esa metafase, por medio del uso del teclado, :

VARÓN - NO ALTERACIONES NUMÉRICAS

NO ALTERACIONES ESTRUCTURALES

A continuación pasa a la siguiente metafase y de nuevo comienza el proceso. El número de metafases estudiadas es variable (en nuestro laboratorio se estudian normalmente cuatro) y dependerá del resultado (normal/anormal) y de la experiencia del propio citogenetista. Posteriormente se pueden obtener copias de los cariotipos que se desee mediante la impresora.

Todo este proceso se repite hasta agotar el material procesado por el ordenador. Los casos hallados "normales" pueden ser informados inmediatamente; los casos "anormales" deberían ser estudiados con mayor detenimiento sobre todo con vistas a la realización de otras técnicas para las que el ordenador no está preparado: en su caso bandas Q, bandas C, bandas T, bandas NOR etc. La información obtenida puede almacenarse en bancos de datos, las copias de papel en archivos tradicionales y los portaobjetos utilizados en cajas al efecto. De esta forma el sistema queda libre para recibir una nueva tanda de material.

Este es, a grandes rasgos, el procedimiento que se seguiría en Unidades Computarizadas de Genética Clínica y Citogenética. Estas Unidades no se han generalizado debido a su alto coste inicial . En ellas el ordenador no pretende, por ahora, sustituir al hombre sino sólamente ayudarle. El análisis cromosómico computarizado es una nueva herramienta al servicio de los genetistas.

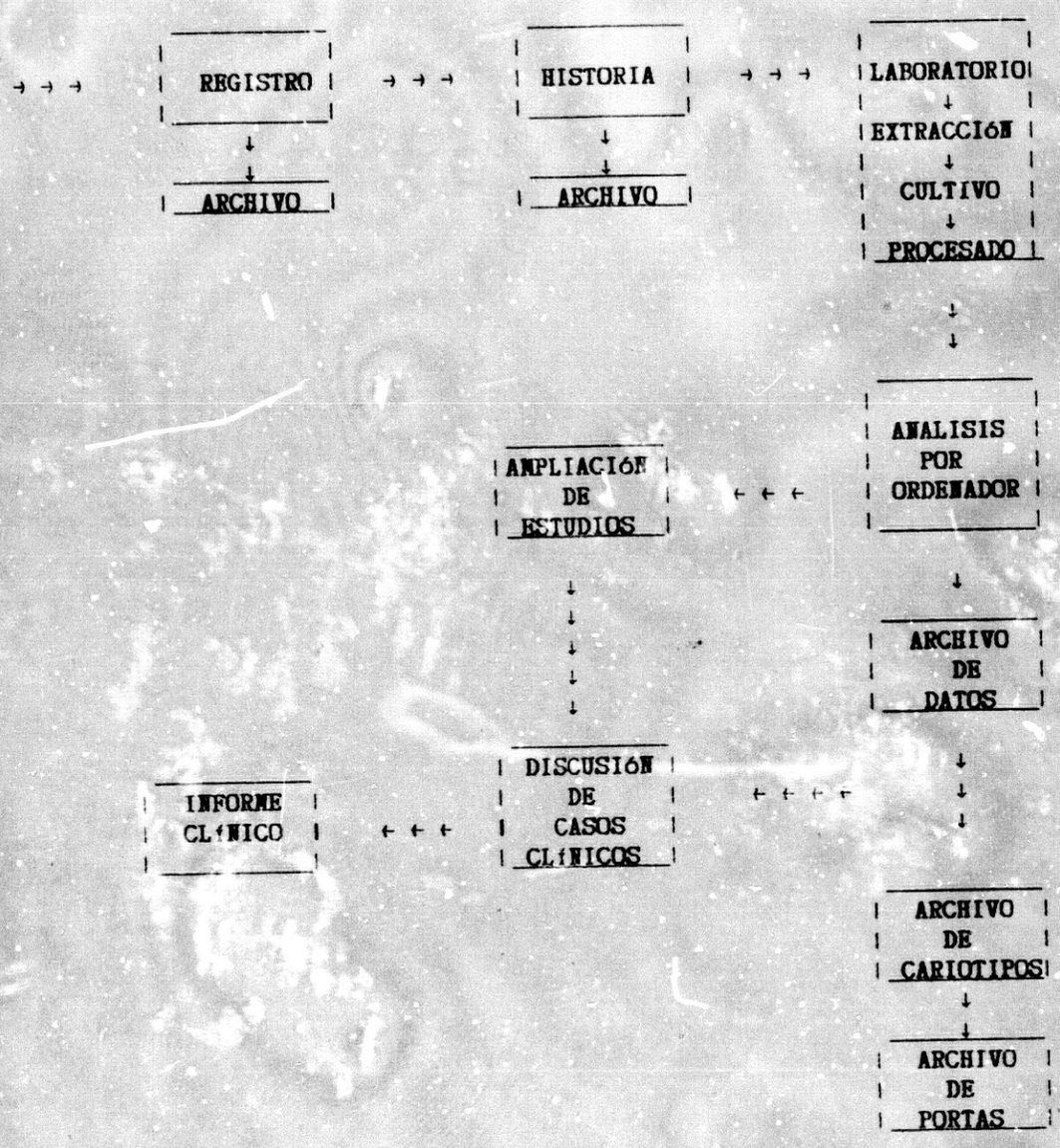


FIGURA nº 28: FUNCIONAMIENTO DE

UNIDADES DE GENÉTICA CLÍNICA Y CITOGENÉTICA

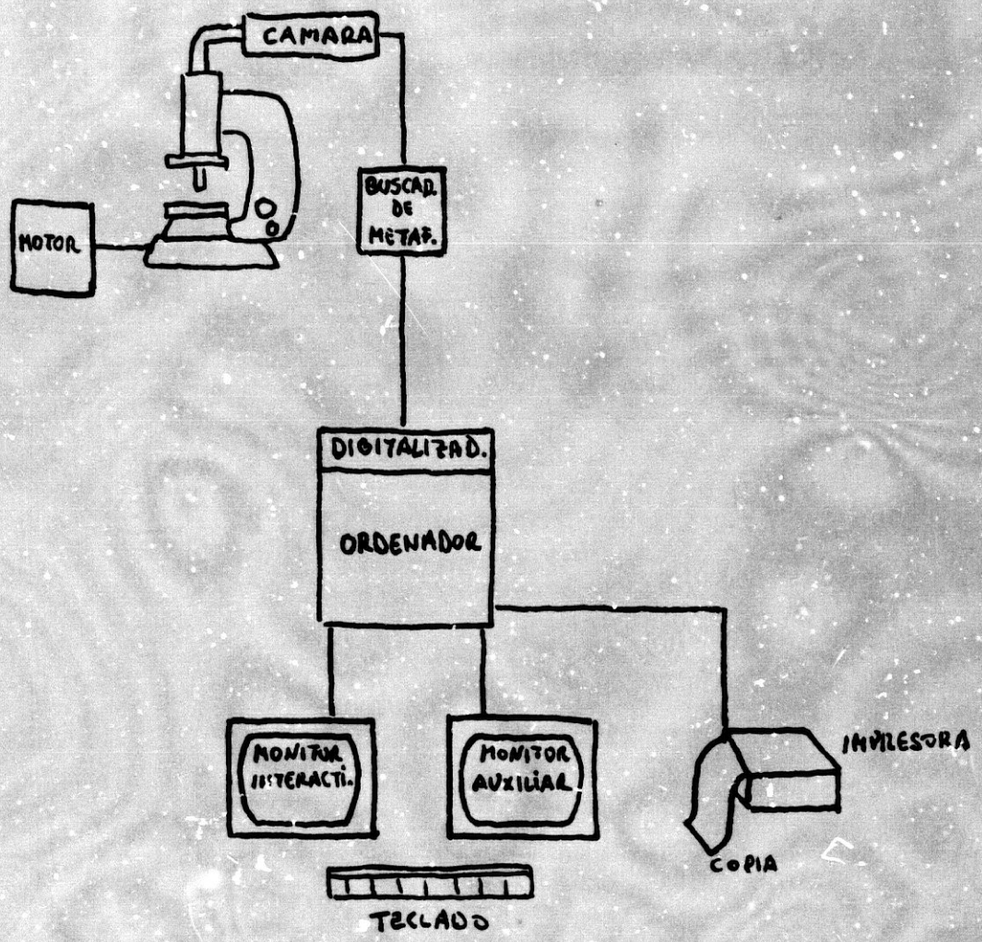


FIGURA nº 29 : CONFIGURACIÓN RESUMIDA DEL SISTEMA

X. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1) Los parámetros morfológicos que definen perfectamente la estructura de los cromosomas son: área, perímetro, longitud total, longitud de brazos cortos y largos e índice centromérico.

2) Con arreglo a estos parámetros hemos estudiado morfométricamente 2300 cromosomas humanos, demostrando, con los resultados de nuestras mediciones, que la longitud cromosómica total, el área y el perímetro cromosómico, guardan una correlación aproximada 1 : 1 : 1 (0.997 : 0.997 : 0.999). Esta relación matemática es, por supuesto, bien conocida pero de difícil demostración en estructuras biológicas dada su gran variabilidad morfoestructural.

3) A partir de este estudio morfométrico hemos podido obtener una serie de valores medios que permiten la identificación y clasificación de los cromosomas de nuestra muestra, con al menos un 90% de confianza (en la mayoría de los cromosomas un 95 o 99%).

4) Con arreglo a esta serie de valores hemos podido obtener los siguientes resultados destacables:

a) El cromosoma nº 21 es más pequeño en todos y cada uno de los parámetros de referencia que el cromosoma nº 22.

b) Igual podemos decir sobre los cromosomas nº 10, 11 y 12: el primero ha resultado ser de menor longitud total que el segundo, y ambos de menor longitud media que el tercero.

c) Estos resultados (coincidentes con los de Lubs et al, 1971; y los de Van Dyke et al, 1986) nos permiten concluir que la Clasificación de Denver presenta, presumiblemente, dos series equivocadas de cromosomas: la correspondiente a los cromosomas nº 10, 11 y 12, y la de los nº 21 y 22; ambas tendrían que ser invertidas para mantener el criterio de clasificación cromosómica en orden descendente de tamaños.

5) Los intentos de generalizar nuestra serie de valores medios a cualquier población considerada encuentran unas exigencias estadísticas muy severas. No obstante, hemos generado una nueva serie de valores, de los citados parámetros que permiten identificar y clasificar los cromosomas en el 90% de individuos de cualquier población considerada, con un 90% de confianza.

6) Esta serie de valores puede servir de referencia para la clasificación automática de los cromosomas .

En base a ello hemos propuesto un modelo de programa computarizado capáz de clasificar los cromosomas del cariotipo y descubrir posibles alteraciones citogenéticas. Este modelo, en experimentación, emplea sólo la longitud y el índice centromérico, y hasta el momento se ha utilizado para comparar su eficacia con la de los genetistas al evaluar esos mismos parámetros.

7) Tras el análisis automático de 460 cromosomas, utilizando el modelo de programa propuesto por nosotros, el ordenador ha obtenido un 92.45% de seguridad (oscilando entre 84-100%) en la clasificación de cromosomas por grupos y un 66.82% de seguridad (oscilando de un 30-100%) en la identificación individual de los cromosomas. Los genetistas han obtenido, respectivamente, un 99.27% (oscilando entre 96-100%) y un 72.17% (oscilando entre 41.66-100%).

Como vemos existen diferencias entre los resultados obtenidos por el ordenador y los de los genetistas. Estas diferencias son debidas a los siguientes factores:

a) Al diseñar los *descriptores*, en los cuales se basa la actuación del ordenador, existe una evidente

pérdida de información debida a *error humano*, error que se repite al confeccionar las rutinas de programación (falta el *principio de cariotipaje*)

b) Al medir estos *descriptores* existe otra pérdida de información, imputable esta vez a *error técnico*.

8) Aún reconociendo la existencia de estas diferencias, y conocidos los factores que las producen, consideramos que los resultados son altamente satisfactorios. Basamos esta afirmación en el hecho de que en la evaluación morfométrica realizada por el ordenador no se han incluido ni los parámetros área y perímetro cromosómico ni la comparación relativa y simultánea de varios cromosomas (*principio de cariotipaje*) ni el volumen aparente ni la comparación entre homólogos etc, cuya inclusión hará disminuir, sin duda, la proporción de error.

9) La evidente aproximación entre los resultados obtenidos por nuestro procedimiento computarizado y los obtenidos por el método visual de los genetistas, indica que la clasificación de los cromosomas por ordenador no debe alejarse del modo de hacer del operador humano quien a su vez, apoyado en las especiales características del ordenador, se verá, sin duda, enriquecido en rapidez y volumen de trabajo. Este hecho pone de manifiesto que no es aconsejable,

por el momento, prescindir de la interacción genetista-ordenador, aunque estamos en vías de poder hacerlo una vez que se corrijan las dificultades antes señaladas.

10) Dado que la clasificación de los cromosomas debe basarse no sólo en criterios morfológicos sino también bioquímicos (bandeo), la aplicación del método morfométrico conjuntamente con los datos que proporciona el sistema de bandas, permitirá la identificación definitiva del cromosoma mediante métodos computarizados.

11) Entre las aplicaciones clínicas a las que el método morfométrico contribuye, en el análisis computarizado de los cromosomas, destacamos las siguientes:

a) *Confección rápida del cariotipo*, lo que permite una dinámica mayor de los servicios de Genética, una mayor rapidez en los diagnósticos, un volumen de trabajo más grande y un menor coste por célula estudiada, al ahorrar etapas tan onerosas en tiempo y dinero como son la búsqueda manual de metafases, el fotografiado y revelado, y los procesos de recorte, clasificación y pegado de los cromosomas.

En consecuencia se posibilita el desarrollo de un *screening citogerético*, que puede aplicarse a amplias masas de población.

b) Otras aplicaciones derivadas también de la rapidez y el automatismo del sistema son :

- Estudio de mosaicismos.
- Diagnóstico Prenatal.
- Estudio de la mutageneidad.
- Estudio de polimorfismos cromosómicos.

12) La introducción del análisis de los cromosomas por ordenador permite la creación de *Unidades Computarizadas de Genética Clínica y Citogenética* con unas características propias y excelentes perspectivas de trabajo.

13) En resumen, en vista de todo lo expuesto anteriormente, concluimos diciendo que el Análisis Computarizado de cromosomas constituye ya una nueva técnica de estudio que ha de ser implantada en todos los Servicios de Genética Clínica y Citogenética.

Esta Bibliografía ha sido confeccionada siguiendo las normas dictadas en 1981 por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (antes denominado Grupo de Vancouver).

Anónimo. Medicine and the computer. Classifying chromosomes. Editorial. *Br Med J* 1968; 3:426.

Anónimo. Chromosomes and computers. Editorial. *Lancet* 1974; *ii*, 1186-1187.

Bengtsson E, Eriksson O, Holmquist J, Stenkvist B. A software system to record and analyze digitized cell images. *Comput Programs Biomed* 1977; 7:233-246.

Berkaloff A, Bourguet J, Favard P, Lacroix J.C. Biología y Fisiología celular. IV. Cromosomas, Nucléolos, Envoltura celular. Barcelona: Ed. Omega, 1984; 69.

Brody T. Histones in cytological preparations. *Exp Cell Res* 1974; 85:255-263.

Bruschi C, Tedeschi F, Puglisi P, Marmiroli N. Computer-assisted karyotyping system of banded chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 1981; 29:1-8.

Bullerdiek J, Rutkowski U, Bartnitzke S, Schoot W. Chromosomenkondensation nach unterschiedlicher Colcemid-Arretierung II: Untersuchung einzelner Zellen von MonolayerKulturen diploider Fibroblasten. *Abstracts* 7. Tagung Sektion Cytogenetik der Gesellschaft für Anthropologie und Humangenetik, 1980, Essen.

Bullerdiek J, Bartnitzke S. Hypotonic treatment in visual and automatic chromosome analysis. *Clin Genet* 1982; 22:150.

Burkholder G. The ultrastructure of G- and C-banded chromosomes. *Exp Cell Res* 1975; 90:269-278.

Burkholder G. The ultrastructure of R-Banded Chromosomes.

Chromosoma 1981; 83:473-480.

Burkholder G, Duczek L. Proteins in chromosome banding. I. Effect of G-banding treatments on the proteins of isolated nuclei. *Chromosoma* 1980a; 79:29-41.

Burkholder G, Duczek L. Proteins in chromosome banding. II. Effect of R- and C-banding treatments on the proteins of isolated nuclei. *Chromosoma* 1980b; 79:43-51.

Burkholder G, Duczek L. The effect of chromosome banding techniques on the proteins of isolated chromosomes. *Chromosoma* 1982; 87:425-435.

Burkholder G, Weaver M. DNA-protein interactions and chromosome banding. *Exp Cell Res* 1977; 110:251-262.

Butler J, Butler M, Stroud A. Automatic classification of chromosomes, III. En: Enslein ed. *Data Aquisition and Processing in Biology and Medicine*. New York: Pergamon Press, 1974.

Caspersson T, Zech L, Johansson C. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp Cell Res* 1970; 60:315-319 .

Caspersson T, Kastleman K, Lomakka G et al. Automated karyotiping of quinacrine mustard stained human chromosomes. *Exp Cell Res* 1971; 67:233-235.

Castleman K, Melnyk J. An automated system for chromosome analysis-final report, JPL Document nº 5040-30, *Jet Propulsion Laboratory* 1976, Pasadena, California 91103.

Castleman K, Wall R. Automatic systems for chromosome identification. En: Caspersson y Zech eds. Chromosome Identification.

The Nobel Foundation. Academic Press, 1973.

Castleman K, Melnyk, Frieden H, Persinger G, Wall R. Karyotype analysis by computer and ist application to mutagenicity testing of environmental chemicals. *Mutat Res* 1976; 41:153-162.

Chu E, Giles N. Human chromosome complements in normal somatic cells in culture. *Am J Hum Genet* 1959; 11:63

Comings D, Avelino E. Mechanisms of chromosome banding. II. Evidence that histones are not involved. *Ex Cell Res* 1974; 86: 202-206 .

Dewald G, Robb R, Gordon H. A computer-based videodensitometric system for studyng banded human chromosomes illustrated by the analysis of the normal morphology of chromosome 18. *Am j Hum Genet* 1977; 29:37-51 .

Dickerson R, Yuong N, Jones O. Reciprocal chromosome translocations: analysis of two mutants by interactive computer. *J Med Genet* 1972; 9:422-429.

Drets M. Bandscan. A computer program for on-line linear scanning of human banded chromosomes. *Comput Programs Biomed* 1978; 8:283-294 .

Fontana G, Matteuzzi P, Fabiani G, Forabosco A. Interactive system for automatic analysis of human R-banded metaphases. 1. Interactive procedure in selection of metaphase digitized images. *Acta Genet Med Gemellol* 1975; 24:299-306.

Forabosco A, Fontana G, Fabiani G, Bolzani R, Toni G, Sarti E. Computer analysis of reverse banded chromosomes in human metaphases. En : Biomedical computing. Pitmans Medical Publishing, 1975.

France H, Van Den Berg H. Metaphase location and chromosome identification by means of the Quantimet 720 D. A semi automatic approach. *Microsc Acta, suppl 1* 1977; 105-111.

Freed C. Computer counting of lithium-treated metaphase chromosome. A population survey technique. *Comput Biomed Res* 1973; 6:245-256.

Frey H. An interactive computer program for chromosome analysis. *Comput Biomed Res* 1969; 2:274-290.

Gallus G, Montanaro N, Maccacaro G. A problem of pattern recog recognition in the automatic analysis of chromosomes: locating the centromere. *Comput Biomed Res* 1968; 2:187-197.

Gilbert C. A computer programme for the analysis of human chromosomes. *Nature* 1966; 1437-1440.

Le Gê R. Un système de sélection automatique des métaphases. *CR Acad Sci* 1972; 274:108-111.

Grandlund G. The use of distribution functions to describe integrated density profiles of human chromosomes. *J theor Biol* 1973; 40:573-589.

Grandlund G. Identification of human chromosomes by using integrated density profiles. *IEEE Trans Biomed Eng* 1976; 23:182.

Green D, Cameron J. Metaphase cell finding by machine. *Cytogenetics* 1972; 11:475-487.

Green D. Machine to find metaphase cells. *Exp Cell Res* 1974; 86:170-174.

Green D, Neurath P. The desing, operation and evaluation of a

high speed automatic metaphase finder. *J Histochem Cytochem* 1974; 22:531-535.

Green D, Myers P, Reyna D. CHROMPAC III: an improved package for microcomputer-assisted analysis of karyotypes. *J Hered* 1984; 75:143.

Harrison C, Britch M, Allen T, Harris R. Scanning electron microscopy of the G-banded human karyotype. *Exp Cell Res* 1981; 134:141-153.

Harrison C, Allen T, Britch M, Harris R. High resolution scanning electron microscopy of human metaphase chromosomes. *J Cell Sci* 1982; 56:409-422.

Harrison C, Allen T, Haris R. Scanning electron microscopy of variations in human metaphase chromosome estructure revealed by Giemsa banding. *Cytogenet Cell Genet* 1983; 35:21-27.

Hozier J, Furcht L, Wendelshafer-Grabb G. Structure of human chromosomes visualized at the electron microscopic level. *Chromosoma* 1981; 82:55-64.

Hazout, S. Venuart A, Valleron A, Rosenfeld C. Computer-aided analysis of chromosomal aberration ocurring in an abnormal human karyotype. *Hum Genet* 1979; 49:133-135.

Human Chromosome study Group (Denver). A proposed standart of nomenclature of human mitotic chromosomes. *Lancet 1960; 2:1063* .

Ing P, Ledley R, Lubs H. Chromosome analysis at the National Biomedical Research Foundation, Automation of Cytogenetics. Asilomar Workshop. Mendelsohn ed., Virginia : Springfield. National Technical Information Service, 1976; p 27.

Jackson J, Pulley P. Detection of chromosomal mosaicism by computer methods. J Med Genet 1966; 3:70-73 .

Jaschul J. Análisis semiautomático de cromosomas con IBAS 2000 *Acta Microsc* 1985; 8:309-316.

Jeppesen P, Bankier A, Sanders L. Non-histone proteins and the structure of metaphase chromosomes. *Exp Cell Res* 1978; 115:293-302.

Katayama P, Jones H. Estudios cromosómicos de cánceres ginecológicos por cariología orientada para uso en computadoras. *Clin Obstet Gynecol* 1972; 15:236-248.

Kember N. Laboratorios clínicos e investigación. En: Salvat ed Introducción a las aplicaciones de los ordenadores en medicina. Barcelona : Salvat, 1985; 91-95.

Kontron Bildanalyse GMBH. Chromosome analysis package. 1985.

Leonard C, Saint-Jean P, Schoëvaërt D, Eydoux P, Girard S, Le Gô R. An automatic system for chromosomal analysis applied to prenatal diagnosis. *Hum Genet* 1979; 47: 319-327.

Ledley R, Ruddle F. Automatic analysis of chromosome karyograms. En: Mathematics and Computer Science in Biology and Medicine, Proceedings of Oxford Conference of medical Research Council, Londres, 1965.

Levan A, Shu T. *Hereditas* 1959; 45: 665.

London Conference: On the normal human karyotype. *Cytogenetics* 1963; 2:264-268.

Low D, Selles W, Neurath P. Bayes' Theorem applied to chromosome classification. *Comput Biomed Res* 1971: 4:561-570 .

Lubs H, Ledley R. Automated analysis of differentially stained human chromosomes. *Nobel Symp* 1973; 23:61.

Lundsteen C. Aspects of automated chromosome analysis. *Dan Med Bull* 1980; 27:1-21

Lundsteen C, Granum E. Visual classification of banded human chromosomes. II. Classification and karyotyping of integrated density profiles. *Ann Hum Genet* 1977; 40:431-442.

Lundsteen C, Granum E. Description of chromosome banding patterns by band transition sequences. A new basis for automated chromosome analysis. *Clin Genet* 1979; 15:418-429.

Lunsteen C, Gerdes T, Granum E, Philip J, Philip K. Automatic chromosome analysis. II. Karyiotyping of banded human chromosomes using band transition sequences. *Clin Genet* 1931; 19:26-36 .

Lundsteen C, Lind A, Granum E. Visual classification of banded human chromosomes. I. Karyotyping compared with classification of isolated chromosomes. *Ann Hum Genet* 1976; 40:87-97

Marimuthu K, Selles W, Neurath P. Computer analysis of Giemsa banding patterns and automatic classification of human chromosomes. *Am J Hum Genet* 1974; 26:369-377.

Mayal B, Carrano A, Moore D et al. Cytophotometric analysis of human chromosomes. En : Mendelsohn, ed. Proceedings of Workshop on Automation of Cytogenetics. Asilomar, California 1975; p 135.

Mayal B, Carrano A, Golbus M, Conte F, Epstein C. DNA cytophotometry in pre-natal cytogenetic diagnosis. *Clin Genet* 1977; 11:273.

Mendelsohn M, Conway T, Hungerford D, Kolman W, Perry B, Prewit J. Computer-oriented analysis of human chromosomes I, Photometric estimation of DNA content. *Cytogenetics* 1966 5:223 .

Mendelsohn M, Mayal B, Bogart E, Moore D, Perry B. DNA content and DNA based centromeric index of the 24 human chromosomes. *Science* 1973; 179:1126-1129.

Miller O, Erlanger B. Immunological approaches to chromosome banding. En: Sparkes R, Comings D, eds. Human cytogenetics: ICN-UCLA Symposia on molecular and cellular biology, vol VII, New York: Academic p 87.

Moller A, Nilsson H. Computerized statiscal analysis of banding patterns. *Nobel Symp* 1973; 23:56.

Moller A, Nilsson H, Caspersson T. Identification of human chromosome regions by aid of computerized pattern analysis Exp Cell Res 1972; 70:475-478.

Moorhead P, Nowell P, Mellman W, Battips D, Hungerford D. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960; 20:613-616.

Neurath P, Bablouzian B, Warms T, Serbagi R. Human chromosome analysis by computer-an optical pattern recognition problem *Ann NY Acad Sci* 1966; 128: 1013-1028.

Norgren P. *Ann Acad Sci* 1969; 157:514.

Oosterlinck A, Van Daele J, De Boer J, Dom F, Reynaerts A, van den Berghe. Computer-assisted karyotyping with human interaction. *J Histochem Cytochem* 1977; 25:754-762.

Paris Conference: Standardization in Human Cytogenetics. *Birth*

Defects 1972; VIII:7.

Patil S, Merrick S, Lubs H. Identification of each human chromosome with a modified Giemsa stain. *Science* 1971; 173:821-822.

Paton K. Automatic chromosome identification by the maximumlikelihood method. *Ann Hum Genet* 1969; 33:177-184.

Paton K. *Ann Hum Genet* 1971; 35:67

Picciano D, Kilian J. A semi-automated cytogenetic analysis system. *Exp Cell Res* 1977; 107:431.

Piper J, Mason D, Rutovitz D, Ruttledge H. Smith L. Efficient cient interaction for automated chromosome analysis using synchro. s parallel processes. *J Histochem cytochem* 1979 27:432-435.

Poole M, Costoff A. A computer program for the morphometric analysis of cell profiles. *Comput Programs Biomed* 1979; 10: 143-150.

Preston K. Optical and electro-optical information processing, MIT:Cambridge: Mass 1969; 59

Rodríguez-Gómez M, Martín-Sempere M, Abrisqueta A. C-Band lenght variability and reproductive wastage. *Human Genetics* 1987; 75:56-61.

Rutovitz D. Automatic chromosome analysis. *Br Med Bull* 1968; 24:260-267.

Rutovitz D. Image analysis aids in cytogenetics. En: P.L. Pearson y K.R. Lewis (eds): *Chromosomes today* , vol. 5. New York: J.Wiley & Sons 1976; p 421.

Schövaërt-Brossault D, Leonard C, Selva J. A new method for automatic metaphase finding adaptable to differente chromosome preparations. *Comput Programs Biomed* 1983; 16:195-202.

Schwartz H. Chromosome identification. Automation by image analysis. *Medical Focus* 1986; 6:36-40.

Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes *Lancet* 1971; ii 971-972.

Servicios Técnicos de la Universidad de Granada: Proceso y análisis de la imagen. 1986.

Sivak A, Wolkmar S. Chromosomal proteins in fixed metaphase cells. *Histochemistry* 1974; 42:345-349.

Shafer D, Selles W, Prenner J. Computer image analysis of variance between human chromosome replicatio sequences and G-bands. *Am J Hum Genet* 1982; 34: 307-321.

Sharma A, Talukd[illegible] G. Laboratory procedures in human genetics. vol.1. Chromosome methodology. The Nucleus, ed. Calcuta: 1974.

Stengel-Rutkowski S, Gundlach H, Zang D. Quantitative electronic analysis of chromosome autoradiographs using a televisión image analysing computer. *Exp Cell Res* 1974; 87:313-325.

Tjio J, Puck T. *Proc Nat Acad Sci* 1958; 44:1229.

Van Dyke D, Worsham M, Fisher L, Weiss L. The centromere index and relative lengh of human hig-resolution G - banded chromosomes. *Hum Genet* 1986; 73:130-132.

Wald N, Ranshaw W, Herron J, Castle J. En: Human Population *Cytogenetics*. Edinburgh: University Press 1970; 264.

Westlake J, Robertson R, Leddet I, Funderburk S, Sparkes R. Y chromosome length related to fetal loss. *Clin Genet* 1983; 24:413-419.

Wulf H. Operator-assisted semi-automatic karyotyping of banded metaphases. *Cytogenet Cell Genet* 1977; 19:146.