

## Cromatina de Barr: análisis de su valor actual

T.M. Vera Daher N.; T.M. Cecilia Be R.; Dr. Ronald Youlton R.<sup>1</sup>

### The Barr body: analysis of its current value

X chromatin identification was performed in 610 individuals along the years 1980-1985. Among 321 males, Barr bodies were present in the cells of 27 subjects, 18 of whom were submitted to karyotype studies, all them, with only two exceptions (that were positive only at 2% level), had a second X chromosome. One newborn with ambiguous external genitalia and 27% positive Barr bodies was a 46, XX true hermaphrodite. Of 25 female newborns, three showed no Barr bodies; two of them were karyotyped and found to be 45, X. The percentage of positive cells in the newborn period was slightly lower compared to later ages. Of 263 females older than one month, 175 had a positive sex-chromatin 20% or over. Sixteen female were negative; of these, thirteen were karyotyped and found to be abnormal. Seventy two females had a positive sex chromatin but lower than 20%; 38 of these were karyotyped and eleven of them were abnormal. In this group, the lower the percentage of positive Barr bodies the higher was the incidence of X chromosomal abnormalities found in their karyotypes. The limitations in the interpretation of this laboratory test in females are discussed.

(Key words: Barr body, X Chromatin, Chromosomal sex).

Está plenamente demostrado que el corpúsculo de Barr resulta de la condensación e inactivación parciales de todo cromosoma X en exceso de uno<sup>1,2,3</sup>.

En la década de 1950 este examen fue utilizado para determinar el "sexo genético"<sup>4,5</sup>. Con el advenimiento de las técnicas para el estudio de los cromosomas humanos, se pudo establecer la buena correlación existente entre la cromatina de Barr y los cromosomas X<sup>6, 7, 8, 9</sup>.

La proliferación de laboratorios de citogenética y la extensión de esta disciplina a la práctica clínica han hecho que el estudio citogenético sea solicitado directamente, desplazando el examen de la cromatina, el que en algunos laboratorios ha sido suprimido por su poca fidelidad.

La presente comunicación tiene por objeto analizar el resultado de este examen y correlacionarlo con el cariotipo para estimar su validez actual.

### MATERIAL Y METODO

Durante el período 1980-1985, se estudiaron 610 individuos en los laboratorios de citogenética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile y de Clínica Las Condes. Los diagnósticos de referencia más frecuentes fueron: retraso de crecimiento en niñas, azoospermia, amenorrea primaria y ambigüedad genital. Trescientos veintidós pacientes eran de sexo masculino, 20 recién nacidos; y 288 de sexo femenino, 25 recién nacidas. Un recién nacido resultó ser un hermafrodita verdadero.

Se obtuvieron células de la mucosa bucal mediante raspado con espátula; las células fueron transferidas a una lámina porta-objetos y fijadas en una mezcla de etanol éter, o con una solución alcohólica al 5% de carbowax 1500 o con citospray durante no menos de una hora. Las láminas fueron sumergidas en etanol 70% durante 10 a 15 minutos, teñidas con una solución alcohólica de carbolfucsina básica al 3% durante 15 minutos, pasadas por una batería de alcoholes de etanol de 70%, 95% y 100% y luego dejadas en xilol durante 10 minutos<sup>10</sup>.

El recuento se realizó en no menos de 300 células, utilizando un microscopio óptico con lente de inmersión, considerándose sólo aquellas que presentaban una membrana nuclear intacta. De acuerdo con publicaciones previas y nuestras propias observaciones los valores normales de cromatina X son 20% a 60% en el sexo femenino y 0% en el sexo masculino<sup>6, 7, 11, 12</sup>. Cuando se observó valores diferentes a los mencionados se realizó, en los que fue posible, estudio cromosómico según métodos previamente descritos<sup>13</sup>.

### RESULTADOS

En 294 de los 321 varones, no se encontró corpúsculo de Barr (Tabla 1). En 27 casos la cromatina X fue positiva entre 2% y 49%. En dieciséis de estos pacientes se pudo hacer estudio cromosómico, encontrándose 10 individuos cuyo cariotipo era 47,XXY, un varón XX que será motivo de otra publicación y tres casos de mosaico, una de cuyas líneas celulares era XXY. Los otros dos casos que corresponden a un recién nacido y a un adulto, ambos con cromatina X positiva en un 2%, tuvieron cariotipo normal. El hermafrodita verdadero tenía una constitución

1. Servicio de Genética. Departamento de Medicina. Hospital Clínico Universidad de Chile.

cromosómica 46,XX siendo la cromatina X positiva en un 27% de las células observadas.

El resultado del estudio de la cromatina X en el sexo femenino se muestra en la Tabla 2, donde se ha separado a los recién nacidos de los individuos mayores de un mes. En tres recién nacidos la cromatina X fue negativa; en dos de estos tres casos se hizo estudio cromosómico, encontrándose un cariotipo 45,X. En tres recién nacidos en que la positividad de la cromatina X fue 13%, 15% y 17% el examen fue repetido con posterioridad encontrándose una positividad de 30%, 22% y 20% respectivamente. En la Tabla 3 se muestra la correlación de la cromatina X con el cariotipo en 88 individuos de sexo femenino mayores de 1 mes con cromatina negativa o positiva en un porcentaje inferior a 20. Dieciséis

presentaron cromatina X negativa, determinándose el cariotipo en 13. Nueve pacientes tenían cariotipo 45,X; las restantes cuatro tenían un mosaico cromosómico, una de cuyas líneas celulares era 45,X. Hubo doce casos con cromatina positiva entre 1% y 9%. Seis de estos tenían un mosaicismo cromosómico con una línea celular 45,X: uno tenía una delección Xp y dos tenían un cariotipo normal; en tres pacientes de este grupo no se hizo cariotipo.

De las 29 mujeres con cromatina X positiva entre 10% y 14%, tres tenían mosaicismo con una línea celular 45,X y 16 tenían un cariotipo normal. No se estudiaron 10 casos de este grupo. La cromatina fue positiva entre 15 y 19% en 31 casos, de los que en 10 se hizo cariograma: detectándose un caso de mosaico con una línea 45,X y normalidad en las restantes. Once individuos tenían algunas células con doble cuerpo de Barr. En seis de ellos en los que se hizo estudio cromosómico, se encontró al menos una línea celular con tres o más cromosomas X. En las mujeres mayores de un mes en que la cromatina X fue positiva en un porcentaje inferior a 20%, se repitió el examen. El resultado fue discordante en 23 casos.

En trece de los 23 casos, 3 de ellos con un valor inicial < 10%, la segunda determinación fue 20% o más. En nueve de estas pacientes se estudiaron los cariotipos; en una se encontró una delección Xp (cromatina inicial 6%), siendo normales las restantes ocho.

Tabla 1.  
Cromatina X en varones

	Nº Individuos
Negativo (0%)	294
Positivo	27
1 - 9%	2
10 - 19%	6
20 - 29%	6
30 - 39%	5
40 - 49%	8
50 + %	0
Total	321

Tabla 2.  
Cromatina X en mujeres % positividad

	0	1-9	10-14	15-19	20-29	30-39	40-49	50+
Recién nacidos (N=25)	3	0	2	9	7	2	1	1
Mayores 1 mes (N=263)	16	12	29	31	123	40	9	3

Tabla 3.  
Mujeres con cromatina X positiva inferior a 20% correlación con cariotipo

% Positividad	Cariotipos observados	Nº Casos	Sin cariotipo	Total
0%	45,X	9		16
	mos 45,X/46,XX	2	3	
	mos 45,X/45,X + frag Y	2		
1 - 9%	mos 45,X/otro	6		12
	46,X del (X) (p)	1	3	
	46,XX	2		
10-14%	mos 45,X/otro	3	10	29
	46,XX	16		
15-19%	mos 45,X/otro	1	21	31
	46,XX	9		

Cinco de las 23 mujeres tuvieron una cromatina inicial entre 8% y 13% y una repetición entre 17 y 18% en todas; en la que se hizo cariotipo, este fue normal. En una paciente la cromatina fue 6% y 14% respectivamente y su cariotipo fue mosaico 45,X. En otra, con positividad de 4% y 12% respectivamente, el cariotipo fue normal. Tres pacientes con cromatinas iniciales de 13%, 15% y 13% tuvieron una segunda determinación de 4%, 3% y 6% respectivamente. La primera de éstas tenía mosaico 45,X, la segunda, un cariotipo normal y en la tercera no se hizo estudio cromosómico.

## DISCUSION

La cromatina X es un examen solicitado como método diagnóstico por diversos especialistas, en particular Pediatras, Gineco-Obstetras y Urólogos, a pacientes en los que se sospecha alguna anomalía de los cromosomas X. En este estudio retrospectivo, se analizan los resultados desde un punto de vista crítico, con el objeto de demostrar la utilidad y limitaciones de este examen.

Hubo 27 varones cuya cromatina X fue positiva en porcentaje variable (Tabla 1). De éstos, en 16 se hizo cariograma, corroborándose en 14 la anormalidad en el número de cromosomas X. En los otros dos, un recién nacido y un adulto, se encontró un 2% de corpúsculo de Barr; en ambos el cariotipo fue 46,XY sin evidencias de mosaicismo, a pesar del mayor número de mitosis contadas. Uno de estos individuos tenía aumento de las regiones heterocromáticas en los cromosomas 1, 9 y 16. Acúmulos de heterocromatina en los núcleos interfásicos podrían dar una apariencia de cuerpos de Barr. También esta escasa positividad, podría ser producto de artefactos de técnicas. Es por ello que en algunos laboratorios se considera normal un 2% a 4% de positividad en el hombre<sup>6,7</sup>. No compartimos este último criterio basándonos en nuestros resultados, ya que los dos casos en que se observó este fenómeno representaban menos del 1% de los varones estudiados.

En el sexo femenino, 175 mujeres (66,5%) mayores de un mes tuvieron una cromatina X positiva en 20% o más de sus células. En las restantes fue negativa o positiva en porcentajes inferiores al 20%. En las trece mujeres con cromatina negativa en las que se hizo cariotipo, este fue anormal. Es interesante considerar que en un tercio de ellas se encontró un mosaico cromosómico. Cuando la cromatina fue positiva entre 1% y 9%, en siete de nueve casos con cariotipo se observó un mosaicismo, el que también se encontró en tres de 19 casos con cromatina positiva 10-14% y en uno de 10 casos con positividad de 15%-19%. Se sabe que en el

período neonatal el porcentaje de positividad de la cromatina en las niñas es inferior respecto de edades posteriores, prestándose a errores diagnósticos en esta etapa de la vida<sup>1,4</sup>. Como lo muestra la Tabla 2, tres recién nacidas tuvieron cromatina negativa, de las que en sólo dos se pudo realizar el cariotipo el que fue 45,X. También se observa en esta tabla, que la máxima acumulación de individuos ocurre cuando la cromatina X es positiva entre 15% a 19%, en circunstancias que en niñas mayores y mujeres adultas esto se presenta en el rango de 20% a 29%. No hubo casos con positividad inferior al 10%.

La información presentada permite concluir que: La cromatina X positiva (<2%) en un varón, es indicativa de la presencia de un segundo cromosoma X en por lo menos algunas células. En estas circunstancias, es aconsejable no basar el diagnóstico de síndrome de Klinefelter sólo en este examen, pues no permite distinguir al varón XX del XXY. Se estima que la incidencia del primero es uno de cada 20.000 hombres.

Las niñas recién nacidas, tienen menor porcentaje de expresión de la cromatina de Barr, pero nunca al extremo de aparecer falsamente negativa.

El hallazgo de la cromatina negativa en una mujer indica una constitución cromosómica 45,X pero en 30% de los casos en forma de mosaico. El examen no permite pesquisar la existencia de una línea XY en estos últimos, siendo el análisis del cariotipo obligado en estas circunstancias ya que el riesgo de transformación neoplásica gonadal en estas pacientes es alto.

La ausencia (0%) de positividad asegura que existe anormalidad cromosómica, y en la medida que el porcentaje aumenta y se acerca a 20% las posibilidades de encontrar un cariotipo anormal disminuyen. Por otra parte, datos ya publicados por nuestro Servicio señalan que una cromatina positiva en 20% o más no garantiza normalidad del cariotipo.

La presencia del doble cuerpo de Barr coincidió siempre con la existencia de por lo menos una línea celular triple X.

Es la experiencia clínica del médico solicitante la que debe juzgar el resultado obtenido y decidir la prosecución del estudio citogenético.

Los resultados que se presentan comprueban las limitaciones de la interpretación de la cromatina de Barr en el sexo femenino. Sin embargo, ésta continúa siendo un examen en la detección de posibles mosaicismos y un método de rastreo de fácil realización y bajo costo.

## RESUMEN

Entre los años 1980 y 1985 se hicieron estu-

dios de cromatina X en 610 individuos. En 321 varones había cuerpos de Barr en las células de 27 individuos; en 18 de ellos se estudiaron los cariotipos, encontrándose un segundo cromosoma X en casi todos, con sólo dos excepciones que tenían sólo 2% de positividad. Un recién nacido con genitales externos ambiguos y 27% de cuerpos de Barr positivos resultó ser un hermafrodita verdadero (46,XX). En tres de 25 niñas recién nacidas no se detectaron cuerpos de Barr, sus cariotipos resultaron 45,X en dos de ellas. La proporción de células positivas en los recién nacidos fue ligeramente menor que en edades posteriores. Entre 263 mujeres mayores que 1 mes de edad, 175 tenían 20% o más de cromatinas positiva. En dieciséis mujeres se obtuvieron resultados negativos, los cariotipos se estudiaron en 13 y fueron todos anormales. Setenta y dos mujeres tuvieron cromatinas sexuales positivas en niveles inferiores que 20%, 38 fueron estudiados con cariotipo y en 11 éste resultó alterado. En este grupo se observó que mientras menor era la proporción de cuerpos de Barr presentes, mayor era la incidencia de anomalías del cromosoma X.

#### REFERENCIAS

1. *Bianchi, N.*: Duplicación cromosómica y heterocromatina a nivel molecular y citológico. Monografía 19. Serie Biológica. O.E.A., 1978.
2. *De Mars, R.*: Sex chromatin patterns and the Lyon Hypothesis. *Science* 141: 649, 1963.
3. *Davidson, R.G.*: The Lyon Hypothesis. *J. Pediatr.* 65: 765, 1964.
4. *Barr, M.L., Bertram, E.G.*: A morphological distinction between neurones of the male and the female, and the behavior of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature* 163: 676, 1949.
5. *Barr, M.L.*: Sex chromatin and phenotype in man. *Science* 130: 679, 1959.
6. *Jadresic, A.*: Endocrinología. Fundamentos y Clínica. Ediciones Universidad de Chile. Santiago de Chile, 1968.
7. *Williams, R.*: Text. Book of Endocrinology Ed. W.B. Saunders Company Philadelphia. Third Edition cap. 8, 1963.
8. *Armendares, S.*: Síndrome de Turner. Diagnóstico y manejo Terapéutico. Ed. Salvat México, 1979.
9. *Barr, M.L.*: The sex chromosomes in evolution and in medicine. *Can. Med. Assoc. J.* 95: 1137, 1966.
10. *Klinger, H.P., Ludwig, K.S.*: Universal stain for the sex chromatin body. *Stain Techn.* 32: 235, 1957.
11. *Paunsegrau, D.G., Peterson, R.E.*: Improved staining of sex chromatin. *Am. J. Clin. Pathol.* 41: 266, 1964.
12. *Youlton, R.*: Síndrome de Turner. Caracteres Clínicos y hallazgos citogenéticos en 11 casos. *Rev. Méd. Chil.* 99: 125, 1971.
13. *Youlton, R., Be, C.*: Rendimiento y eficacia de un laboratorio de citogenética. *Rev. Méd. Chil.* 112: 1030, 1984.
14. *Smith, D.W., Warden, P.M., McDonald, M.J., Speckhard, M.*: Lower incidence of sex chromatin in buccal smears of newborn females. *Pediatrics* 30: 707, 1962.
15. *Youlton, R., Fanjsztejn, M., Be, C., Arellano, F., Santos, M.*: Síndrome de Turner: Estudio clínico y citogenético de 30 casos. *Rev. Méd. Chil.* 110: 746, 1982.