



11216
UNIVERSIDAD NACIONAL 3
AUTONOMA DE MEXICO 2ej

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional

CURSO DE ESPECIALIZACION EN GENETICA MEDICA
ESTUDIO DE LA ASOCIACION DE LOS CROMOSOMAS
AGROCENTRICOS EN PACIENTES CON SINDROME
DE DOWN Y EN SUS FAMILIARES DE PRIMER GRADO

T E S I S
Que para obtener el Titulo de
ESPECIALISTA EN GENETICA MEDICA
p r e s e n t a

DR. CARLOS ARTURO SILVERA REDONDO



I.M.S.S.

MEXICO, D. F.

Director de Tesis:

DR. FABIO SALAMANCA GOMEZ

Fabio Salamanca Gomez
1990

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

TITULO.....	I
INTRODUCCION.....	1
ANTECEDENTES.....	4
HIPOTESIS.....	7
OBJETIVOS.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS Y DISCUSION.....	9
REFERENCIAS.....	14

ESTUDIO DE LA ASOCIACION DE LOS CROMO-
SOMAS ACROCENTRICOS EN PACIENTES CON
SINDROME DE DOWN Y EN SUS FAMILIARES
DE PRIMER GRADO.

INTRODUCCION.

Durante la formación de un nuevo ser producto de la unión del material genético de ambos progenitores, se pueden presentar errores en la constitución cromosómica de éste, dando como resultado aumento ó disminución en su número ó alteraciones en su estructura.

Las estadísticas muestran que el desorden más común en el humano, resultante de una segregación anormal de los cromosomas es el Síndrome de Down ó trisomía 21, que se encuentra en nuestra población con una frecuencia de 1:600 recién nacidos vivos. (1). Su cuadro clínico es muy característico y como quiera que su clasificación citogenética muestra un 92,5% de trisomías regulares, se deduce que el mecanismo etipatogénico más implicado en éste fenómeno es el conocido como NO DISYUNCIÓN CROMOSOMICA.

Ahora bien, en la patología motivo de nuestro estudio es el cromosoma 21 el cual junto con el 22 pertenecen al grupo G (pequeños acrocéntricos). Es útil recordar que en otras de las alteraciones cromosómicas más frecuentes en el humano y de tipo estructural como las translocaciones Robertsonianas, comprometen a los del grupo D (pares 13, 14, 15) y a los del grupo G, lo que ha hecho llamar la atención a los investigadores acerca de cómo es el comportamiento estructural y funcional de estos cinco pares de cromosomas acrocéntricos.

Así, una de las primeras observaciones acerca del comportamiento de estos cromosomas, fué hecha por el grupo de Ferguson-Smith y Handmaker (2), quienes observaron que su distribución en metafase no era al azar sino que se orientaban de tal manera que los brazos cortos y particularmente los satélites tienden a colocarse muy próximos fenómeno denominado como Asociación de Satélites, y al que se ha postulado como un factor predisponente a la no Disyunción autosómica en meiosis y posiblemente en las divisiones tempranas del cigoto, lo mismo que relacionado con la presencia de las translocaciones Robertsonianas.

Observaciones citogenéticas anteriores, habían demostrado que los brazos cortos de los acrocéntricos siempre se hallaban junto a los nucleolos en la Interfase, lo que hizo denominar a estas regiones como NOR (regiones de los organizadores nucleolares) y las investigaciones subsecuentes en éste campo demostraron que el nucleólo es el sitio para la síntesis del RNA ribosomal y que los genes (rDNA) que codifican para las unidades 18s y 28s del rRNA están localizadas en estas regiones NORs. Se calcula que en humanos hay aproximadamente 400 copias de genes RNA ribosomales, organizados como unidades en tandem y distribuidos en racimos sobre los brazos cortos de los cinco pares de acrocéntricos. (3).

De esta manera se tiene que durante la interfase, los nucleólos se uniran para formar uno común que pone en íntimo contacto los brazos cortos de los acrocéntricos que participaron como organizadores del nucleólo y se ha estimado que el número máximo que participa en esta acción es de seis acrocéntricos por célula.

Cuando la célula se divide desaparece el nucleólo, quedando remanentes entre uno y otro acrocéntrico, lo que sería responsable de su arreglo espacial observado en las metafases y al mismo tiempo favorecería la presentación de rupturas, translocaciones y no disyunción de los cromosomas asociados. (4).

Se han realizado estudios encaminados a verificar cual de las regiones de los brazos cortos (brazo corto propiamente, tallo-constricción secundaria, satélite) es la que funciona como organizadora del nucleólo. Goodpasture a través de la técnica Ag-As (5) demostró que el tallo (constricción cromática secundaria) contiene los cistrones ribosomales y son las NORs, las cuales varían en número por metafase, en número por individuo y en longitud. Por otra parte con el fin de establecer la relación entre las características de las regiones NORs y el fenómeno de la asociación de acrocéntricos, se han llevado a cabo trabajos como el de Orye y

cols (6), quienes estudiaron la asociación de satélites de acuerdo con la longitud de la constricción nucleolar, la que dividieron en 5 categorías (I-V) en orden ascendente y encontraron que a mayor longitud de la constricción hay mayor capacidad de síntesis de RNA por lo tanto menor asociación, en el caso de constricciones más cortas habría más asociaciones como un mecanismo compensatorio de aumento de síntesis de RNA. Schmid y cols. (7) en un estudio similar encuentran que entre cromosomas homólogos a mayor longitud de la constricción mayor frecuencia de asociación. Miller (8) estudio la frecuencia de asociación en relación a la cantidad de nitrato de plata en la NOR y encontró que a mayor cantidad de tinción depositada, mayor asociación, lo que reafirma lo anteriormente conocido de que las regiones que presumiblemente actuaron como organizadores nucleolares en la interfase, son las que se tiñen con plata y por lo tanto van a observarse asociadas en metafase.

De esta manera tenemos que la asociación de acrocéntricos no se puede considerar un hallazgo casual, sino que su origen y mecanismos de presentación pueden evidentemente estar jugando un papel importante en la etiología de las alteraciones cromosómicas con las cuales se relacionan, por lo que su estudio es materia de investigación.

ANTECEDENTES.

4.

Fueron Ferguson-Smith y Handmaker(2), quienes utilizaron inicialmente el término Asociación de Satélites para referirse a la estrecha relación observada entre los cromosomas acrocéntricos (satelitados) y sus posibles implicaciones patológicas, igualmente a la relación existente entre los satélites y las constricciones secundarias de otros cromosomas no satelitados como el 1, 9, 16 y Y. A partir de éste hallazgo se desarrolla un campo fértil de investigación que incluye estudios tanto cuantitativos como cualitativos de este fenómeno y sus implicaciones en la patología cromosómica.

Los estudios de Ing y cols.(9), informaron un patrón de asociación no al azar, con una frecuencia de asociación decreciente $21 \ll 13 \ll 15 \ll 14 \ll 22$ y propusieron que las discrepancias en los informes de la literatura se debían a diferencias intrínsecas entre individuos; Zang y Back(10), realizaron un estudio cuantitativo del arreglo cromosómico en metafase y no hallaron diferencia estadísticamente significativa entre ambos sexos, sin embargo encontraron patrones de asociación estables para cada individuo y además un aumento sobre lo esperado en las asociaciones D-D, D-G, y G-G.

Para conocer si existen diferencias relacionadas con el sexo Galperin(11), comparó los patrones de asociación en las mitosis de hombres y mujeres y encontró una distribución no al azar en ambos pero más marcada en la mujer lo cual relacionó con el origen del S. de Down.

Patil y Lubs(12), en el año 71 utilizando la técnica de fluorescencia recién descrita por Casperson(13) la cual permite una identificación más precisa de cada uno de los cromosomas, informaron una distribución no al azar con una frecuencia individual de asociación muy parecida entre el 14 y el 21. Jacobs(14), encontró heterogeneidad entre individuos en la frecuencia con la cual diferentes cromosomas entran en asociación, sin evidencia significativa de asociación preferencial entre cromosomas particulares ya sean homólogos o heterólogos.

Cooke(15), analizó el comportamiento asociativo de los cromosomas del grupo D y encontró valores significativamente apartados de los esperados para cada cromosoma, además relacionó la frecuencia de asociación del cromosoma 13 en las parejas con un producto, con trisomía de éste cromosoma.

A pesar de las diferencias encontradas en los distintos estudios, la tendencia general es a presentar patrones con cierta estabilidad la cual podría hacerse más evidente al estudiar patologías específicas.

En el caso del Síndrome de Down, existen varios estudios como el de Curtis(16) y el de Cooke(17) quienes estudiaron personas normales, pacientes con S. de Down y padres con hijo afectado de S. de Down. Wegner(18), realizó un estudio peculiar tomando como base un paciente quien presentaba un mosaico Down y comparando las asociaciones en las células disómicas(46,XY), con las encontradas en las células trisómicas (47,XY +21) encontrando mayor asociación en las últimas como consecuencia de la acción del cromosoma 21 extra y al mismo tiempo demostró que no existe compensación de dosis para los genes rRNA ribosomales extras.

Como se puede apreciar por los antecedentes citados, la asociación de satélites es un mecanismo a tener en cuenta en el fenómeno de la No Disyunción(19,20) y recientemente se han encontrado otros factores implicados como son la presencia de secuencias satélites presentes en cromosomas acrocéntricos como el 13,14,21 y su intercambio entre no homólogos podrían influir en la presencia de las translocaciones Robertsonianas(21); y otros estudios sobre polimorfismos de los brazos cortos de los acrocéntricos en base a la técnica de bandas RHG por Balícek(22) reportan incremento de asociación a mayor longitud de las NORs.

La actividad de estas regiones organizadoras nucleolares, se considera vital para la célula, por lo que para un normal funcionamiento celular se requiere un cierto nivel de actividad, lo cual es sugerido

por Nikolis(23) quien encuentra un mecanismo regulador de la actividad de las Ag-NORs en familias con S.de Down por translocación 21;21. Por último tenemos el estudio de Martin-DeLeon (24) quien revisa la asociación de satélites en padres de pacientes con trisomías 21 y 13 en células marcadas con BrDU-Giemsa que permite ver la alineación de los cromosomas asociados y quien informa una diferencia no significativa en sus grupos ,pero sí un patron preferencial de asociación. Por todos estos antecedentes consideramos que la asociación de satélites ,es un fenómeno que sigue jugando papel importante en el mecanismo de la No Disyunción y debe ser objeto de Investigación.

HIPOTESIS.

En base a que el mecanismo de la No Disyunción, permanece aún en estudio y teniendo en cuenta que la asociación de satélites es un fenómeno implicado en su origen, proponemos la siguiente hipótesis:

" Los patrones de asociación de los cromosomas acrocéntricos observados en los pacientes con trisomía 21, están relacionados con los observados progenitores y hermanos y son significativamente diferentes de los de sus controles".

OBJETIVOS.

El presente estudio, tiene los siguientes objetivos:

- 1.- Establecer en forma cuantitativa el patron de asociación de los cromosomas acrocéntricos en cada uno de los grupos estudiados.
- 2.- Establecer la asociación de los acrocéntricos ,con aquellos cromosomas que presentan regiones de heterocromatina constitutiva.
- 3.- Correlacionar los patrones de asociación encontrados en los progenitores con los de sus hijos.
- 4.- Comparar los patrones de asociación de los progenitores entre sí y los encontrados en los hijos con S.de Down ,con los de sus hermanos y con los hallados en la población control.

MATERIAL Y METODOS.

Selección de la muestra.

Se escogieron al azar cinco pacientes con trisomía 21, en edades comprendidas de 1 a 7 años, cinco hermanos en el mismo rango de edad y a sus respectivos progenitores; además cinco adultos normales sin antecedentes de productos con cromosopatías o malformaciones y a dos niños sanos como grupo control, para estudio citogenético de asociación de acrocéntricos.

Se tomaron de cada uno 5ml. de sangre venosa para cultivo de Linfocitos según la técnica de Morehead y cols.(25) con las modificaciones de nuestro laboratorio y posteriormente se hicieron las laminillas de cada paciente que se trataron con la técnica de bandas GTG(26) para la identificación de cada uno de los cromosomas. Las preparaciones fueron codificadas y el observador desconocía el origen de la preparación. Las laminillas fueron observadas en un fotomicroscopio Zeiss Universal III, y se tomaron microfotografías de las asociaciones demostrativas. Los hallazgos fueron vaciados en un formato diseñado para éste estudio. Fig.1. Se analizaron 20 metafases por individuo.

Criterios de Asociación.

Se consideraran asociados los cromosomas acrocéntricos cuando:

- 1.- Sus brazos cortos esten uno frente al otro ó mirando hacia un mismo punto, y que la distancia entre estos sea menor ó igual al diámetro de la cromátide de cualquiera de ellos.
- 2.- Si los brazos cortos estan conectados por una estructura filiforme claramente visible, aún estando a cierta distancia.

Cálculos a realizar.

- 1.- Promedio de asociaciones por célula.
- 2.- El número de asociaciones de los cromosomas D.
- 3.- El número de asociaciones de los cromosomas G.
- 4.- El promedio de asociación para cada uno de los cromosomas acrocéntricos.
- 5.- Promedio y Desviación Standar para cada uno de los grupos, de sujetos estudiados.
- 6.- Acrocéntricos asociados con los cromosomas que presentan regiones de heterocromatina.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

RESULTADOS Y DISCUSION.

Posterior al análisis, se le codificaron las preparaciones, se identificaron cada uno de los individuos y se agruparon por familias para realizar los cálculos.

Dé los pacientes con S. de Down, 4 fueron varones con cariotipo 47,XY +21 y una mujer con cariotipo 47,XX +21.

De los hermanos estudiados, 3 fueron mujeres con cariotipo 46, XX y dos varones con cariotipo 46, XY. En los controles adultos 3 varones 46, XY y dos mujeres 46, XX. En los controles niños, una mujer 46, XX y un varón 46 XY. Como no hubo diferencia en los valores encontrados, en los controles según la edad, estos fueron analizados como un solo grupo.

En el grupo estudiado se analizaron 382 metafases, encontrando 498 asociaciones de las cuales 409 eran únicas y 89 múltiples, 64 asociaciones con regiones de heterocromatina constitutiva de otros cromosomas que son los pares 1, 9 y 16. El cromosoma Y no se encontró asociado en ninguna ocasión a los cromosomas acrocéntricos.

En el grupo control se analizaron 139 metafases encontrando 180 asociaciones de las cuales 149 eran únicas, 31 múltiples y 23 con regiones de heterocromatina constitutiva.

En las tablas 1 a 5 se incluyen los valores encontrados para cada una de las familias con un hijo con S. de Down, para cada uno de los siguientes parámetros: Promedio de asociación por célula, asociaciones para los grupos D y G y el promedio de asociación para cada uno de los cromosomas acrocéntricos. Aparece igualmente la asociación de estos cromosomas con las porciones heterocromáticas de los cromosomas 1, 9 y 16.

En la tabla 6 aparecen los resultados para las mismas variables encontradas en el grupo control.

Es necesario señalar que para el análisis de estos resultados debe de tenerse en cuenta, que el grupo D cuenta con 6 cromosomas, mientras el grupo G tiene 4 cromosomas en los sujetos normales; por consiguiente, si la asociación ocurriera al azar las probabilidades de asociación son de 60% para el grupo D y 40% para el grupo G; mientras que en los pacientes con

S de Down estas probabilidades se modifican dado que existe un cromosoma G adicional, por consiguiente en ellos las probabilidades son 54.5% y 45.5% respectivamente.

Por otra parte se llevó a cabo la prueba de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors, para conocer si cada una de las variables presentaba una distribución normal; esto fué cierto para todos los valores menos para los correspondientes al grupo D y el cromosoma 13.

En la tabla No. 7 aparecen los valores promedio y las comparaciones respectivas para las asociaciones por célula encontradas en los distintos grupos analizados.

En la tabla No. 8 aparecen las comparaciones de las asociaciones encontradas en los grupos D y G. Llama la atención que los valores encontrados con diferencias estadísticamente significativas son las de los Down contra sus hermanos.

En la tabla 9 se comparan los promedios y las desviaciones estándar de las asociaciones según el par cromosómico involucrado. Se encontró diferencia significativa al comparar los resultados obtenidos en los pacientes con S de Down contra los de sus hermanos ($p < 0.0083$) en el cromosoma número 13 y ($p < 0.006$) en el 21 contra los controles.

Con anterioridad al desarrollo de la técnica de bandas se conocía bien la participación de los cromosomas acrocéntricos en el fenómeno de la asociación cromosómica, por participar en la organización nucleolar durante la interfase; se sospechaba que la asociación pudiera favorecer el mecanismo de la no disyunción cromosómica y predispones así a la aparición de la trisomía 21. Con el advenimiento de las técnicas de bandas Q y G fué posible distinguir la participación de cada uno de los cromosomas acrocéntricos en este proceso, ya que se logró la identificación plena de los pares de cromosomas del cariotipo humano. Además, con el desarrollo de la tinción con nitrato de plata se pudo precisar, que la región organizadora del nucleólo, corresponde a los tallos de los satélites de los cromosomas acrocéntricos (14) donde se localizan los genes que contienen la información para el rRNA, ya que se tiñe esta región en los cromosomas que han participado en su organización en el ciclo celular presente.

Por los estudios aparecidos en la literatura existe controversia en los resultados con relación a la participación que la asociación cromosómica juegue en

el fenómeno de la no disyunción cromosómica. Así mientras Patil y Luba, Cooke han demostrado una diferencia significativa en la asociación de acrocéntricos tanto de los niños con S. de Down y sus progenitores, Jacobs (14) y Martín-Delón (24) no han corroborado estos hallazgos. En nuestros resultados llama la atención que el promedio de las asociaciones por célula es mayor en el S. de Down que en los hermanos y los controles, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. (Tabla 7). Por otra parte, las madres mostraron un promedio de asociación menor que el de los padres aunque las diferencias tampoco fueron significativas. Lo que sí es importante recalcar es la participación significativamente mayor de los cromosomas del grupo G en los niños con S. de Down cuando se comparan con la de los controles (Tabla 8), y que esta diferencia se debe a una mayor participación del cromosoma 21 en el primer grupo que en el segundo (Tabla 9).

Es igualmente llamativo el hecho de encontrar una participación significativamente mayor del cromosoma 13 en los niños con S. de Down que en sus hermanos, aunque no existe diferencia con los controles. Es bien conocido el efecto de la edad materna sobre las trisomías autosómicas incluyendo la del cromosoma 13, pero por otra parte se conoce que de las translocaciones D/G la más frecuente es la 14/21.

En las madres también se encontró una tendencia mayor a la participación del cromosoma 21 en el fenómeno de la asociación, aunque la diferencia con los controles están en límite de significancia.

En nuestro estudio, no hubo aparente diferencia según la edad de los sujetos estudiados, sin embargo algunos autores sí han encontrado esta diferencia (10, 11). A este respecto debe mencionarse que Salamanca (27) ha postulado que la teoría de genes que codifican para el rRNA a medida que aumenta la edad pudiera explicar la mayor tendencia a la no disyunción en las madres mayores de 35 años ya que se recurriría a una mayor tendencia a la asociación cromosómica como un mecanismo compensatorio. Con relación a la participación de otras regiones que del genoma tienen heterocromatina constitutiva, reviste interés señalar que con relación a las contricciones secundarias de los cromosomas 1, 9 y 16 en los

niños con S. de Down los cromosomas 21 y 22 mostraron una tendencia marcada a asociarse con cromosomas número 1; esta tendencia también fué observada en los hermanos de los niños con S. de Down, con relación al cromosoma 21 y al cromosoma 1. Mientras que es constante lo apreciado en los controles; en estos, el 21 muestra una tendencia menor de asociación con el 1 y en cambio que esta tendencia es marcada en el 22.

Llama la atención que ninguno del grupo analizado se observó asociación del cromosoma Y con ninguno de los acrocéntricos. Se conoce que en la porción distal de tal cromosoma se localizan genes que corresponden a regiones de heterocromatina constitutiva y se encuentran todos los tipos de ADN satélite.

En conclusión, podemos afirmar que nuestros hallazgos apoyan la mayor participación del cromosoma 21 en el fenómeno de asociación como un factor predisponente al fenómeno de la no disyunción. Que una mayor participación del cromosoma 13 pudiese favorecer este fenómeno lo mismo que la mayor tendencia que la asociación con el cromosoma número 1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los patrones de asociación de los progenitores aunque si hubo diferencias entre los pacientes con S. de Down y sus hermanos. Tampoco se apreciaron marcadas diferencias según la edad y el sexo de los sujetos estud dos.

FORMATO DE VACIAMIENTO DE DATOS

ASOCIACION DE ACROCENTRICOS, EN PACIENTES CON S. DOWN Y FAMILIARES 1er. GRADO

FECHA: _____

CODIGO: _____

LAMINILLA: _____

NOMBRE.	SEXO	EDAD	PARENTESCO	CARIOTIPO.
---------	------	------	------------	------------

MICROSCOPIO: _____

M E T A F A S E S

No.	Vander	Torres	Unesco	Mulligh	21-21	21-22	21-13	21-14	21-15	25-22	22-13	22-14	22-15	13-13	13-14	13-15	14-14	14-15	15-15	Metacromatino.	OTRAS	

TABLA. 1 ASOCIACION DE ACROCENTRICOS EN FAMILIA 1

	\bar{X} asoc. col.	asoc. D	asoc. G.	\bar{X} asoc. 21	\bar{X} asoc. 22	\bar{X} asoc. 13	\bar{X} asoc. 14	\bar{X} asoc. 15	HETEROCROMATINA.
S. DOWN	1.3	20	26	0.94	0.76	0.64	0.35	0.41	9 13 14 12 22
PADRE	1.5	26	23	1	0.52	0.70	0.76	0.35	1 21 13 14
MADRE	1.15	21	27	0.75	1	0.5	0.5	0.43	1 14 22 16 15
HERMANO	1.2	18	29	1.2	0.86	0.33	0.73	0.26	1 14 21 16 13 21

TABLA. 2 ASOCIACION DE ACROCENTRICOS EN FAMILIA 2

	\bar{X} asoc. col.	asoc. D	asoc. G.	\bar{X} asoc. 21	\bar{X} asoc. 22	\bar{X} asoc. 13	\bar{X} asoc. 14	\bar{X} asoc. 15	HETEROCROMATINA.
S. DOWN	1.55	26	41	1.5	0.83	0.55	0.77	0.55	9 15 21
PADRE	1.4	23	26	0.72	0.72	0.44	0.61	0.27	16 13 15 21 1 13 14 15
MADRE	1	17	18	0.86	0.53	0.6	0.53	0.2	16 14 21 22 1 15 22
HERMANA	1.2	16	14	0.81	0.12	0.25	0.56	0.56	

TABLA.3

ASOCIACION DE ACROCENTRICOS EN FAMILIA. 3

	\bar{X} asoc. cel.	asoc. D	asoc. G.	\bar{X} asoc. 21	\bar{X} asoc. 22	\bar{X} asoc. 13	\bar{X} asoc. 14	\bar{X} asoc. 15	HETEROCROMATINA.
S. DOWN	1.52	26	18	0.75	0.37	0.62	0.81	0.75	16 13 14 21 9 13
PADRE	1.1	24	17	0.82	0.23	0.64	0.58	0.52	1 21 14 9 13 15
MADRE	1.5	33	18	0.63	0.42	0.78	0.84	0.68	9 14 22 16 22
HERMANO	1.13	13	14	0.83	0.41	0.58	0.5	0.33	1 21 22 16 21 15

TABLA.4

ASOCIACION DE ACROCENTRICOS EN FAMILIA. 4

	\bar{X} asoc. cel.	asoc. D	asoc. G.	\bar{X} asoc. 21	\bar{X} asoc. 22	\bar{X} asoc. 13	\bar{X} asoc. 14	\bar{X} asoc. 15	HETEROCROMATINA.
S. DOWN	1.31	26	19	1	0.53	0.86	0.6	0.66	1 21 22
PADRE	1.55	28	22	0.94	0.38	0.77	0.61	0.5	1 21 9 21
MADRE	0.85	12	13	1.57	0.64	0.55	0.28	0.35	16 13 21
HERMANA	1.1	16	15	1	0.33	0.33	0.5	0.16	

TABLA 5 ASOCIACION DE ACROCENTRICOS FAMILIA 5

	$\bar{X}_{\text{asoc.01}}$	asoc. D	asoc. G.	$\bar{X}_{\text{asoc.21}}$	$\bar{X}_{\text{asoc.22}}$	$\bar{X}_{\text{asoc.13}}$	$\bar{X}_{\text{asoc.14}}$	$\bar{X}_{\text{asoc.15}}$	HETEROCROMATINA.
S. DOWN	0.94	20	16	0.92	0.46	0.76	0.53	0.38	1-21-22-9-14
PADRE	2.35	47	37	1.15	0.89	0.94	1.05	1.10	16-15-15-22
MADRE	1.10	21	18	0.92	0.42	0.5	0.92	0.35	16-14-15-9-18-22
HERMANO	1.12	19	14	0.57	0.42	0.5	0.57	0.64	1-13-5-21

ASOCIACION DE ACROCENTRICOS EN CONTROLES

	\bar{x} asoc. esp.	esp. D	esp. G.	\bar{x} asoc. 21	\bar{x} asoc. 22	\bar{x} asoc. 13	\bar{x} asoc. 14	\bar{x} asoc. 15	METERO Cromatina.
CONTROL (NIÑO)	1.15	25	23	0.75	0.81	0.43	0.75	0.43	10 13 14 15 1 13 15 21
CONTROL (NIÑA)	1.45	23	24	0.77	0.77	0.5	0.68	0.44	10 13 15 9 15
CONTROL (ADULTA)	0.95	23	17	0.66	0.46	0.46	0.8	0.55	1 22 1 21 22 9 14
CONTROL (ADULTA)	1.51	27	22	0.66	0.64	0.47	0.82	0.52	1 14 22 9 21
CONTROL (ADULTO)	1.3	27	25	0.66	0.66	0.35	0.55	0.55	9 13 14 15 1 15 22
CONTROL (ADULTO)	1.4	29	15	0.70	0.29	0.82	1.11	0.78	10 21 22 7 13 14
CONTROL (ADULTO)	1.5	30	23	0.63	0.44	0.66	1	0.27	1 13 22

Tabla No.7 Promedio de asociación por Célula.

S.Down	$\bar{X}=1.324 \pm 0.244$
Padres	$\bar{X}=1.589 \pm 0.464$
Madres	$\bar{X}=1.140 \pm 0.216$
Hermanos	$\bar{X}=1.150 \pm 0.047$
Controles	$\bar{X}=1.294 \pm 0.190$
S.Down vs Padres	p= ns.
S.Down vs Madres	p= ns.
S.Down vs Hermanos	p= ns.
S.Down vs Controles	p= ns.

Tabla No.8 Comparación de la Asociación en los grupos D y G.

	Grupo D	Grupo G
S.Down	$\bar{X}:23.6 \pm 3.30$	$\bar{X}:24 \pm 10.22$
Padres	$\bar{X}:29.6 \pm 8.4$	$\bar{X}:25 \pm 7.45$
Madres	$\bar{X}:20.8 \pm 3.21$	$\bar{X}:18.8 \pm 5.07$
Hermanos	$\bar{X}:16.4 \pm 2.30$	$\bar{X}:17.2 \pm 6.61$
Controles	$\bar{X}:27.85 \pm 85$	$\bar{X}:21.28 \pm 3.77$
S.Down vs Padres	ns.	ns.
S.Down vs Madres	ns.	ns.
S.Down vs Hermanos	ns.	s.
S.Down vs Controles	ns.	ns.

*t student.

Tabla No.9 Promedios de asociación segun el par Cromosómico.

	13	14	15	21	22
S.Down	0.686 ±0.123	0.612 ±0.187	0.55 ±0.159	1.022 ±283	0.590 ±0.197
Padres	0.698 ±0.183	0.722 ±0.196	0.548 ±0.326	0.926 ±0.165	0.548 ±0.263
Madres	0.66 ±0.19	0.614 ±0.263	0.402 ±0.176	0.946 ±0.366	0.602 ±0.240
Hermanos	0.398 ±0.137	0.572 ±0.094	0.390 ±0.203	0.882 ±0.235	0.428 ±0.270
Controles	0.544 ±0.153	0.813 ±0.191	0.500 ±0.149	0.781 ±0.086	0.581 ±0.190

+ Sólo son estadísticamente significativas, las comparaciones entre Down vs Hermanos en el cromosoma 13 ($p < 0.0083$) y

Down vs Controles en el cromosoma 21 ($p < 0.006$).

P;t $-X^2$.

REFERENCIAS.

1. RyVENCE, L.IV. Reunión de la asociación de Investigación
Pediátrica.
2. Ferruson-Smith MA, Handmaker SO. Observations on the satellited human chromosomes. *Lancet* 1961;2:126-8.
3. Miller DA. Relationship between the number and functions of human ribosomal genes. *Hum Genet* 1988;79:301-4.
4. Ohno S, Trujillo JM, Kaplan WD, Kinoshita R. Nucleolus Organizers in the causations of chromosomal anomalies in man. *Lancet* 1961;1:123-6.
5. Goodpasture C, Bloom SE, Hsu TC, Arrigui FE. Human Nucleolus organizers: The satellites or the stalks?. *Am J Hum Genet* 1976;28:559-66.
6. Orye E. Satellite associations and variations in length of the nucleolar constriction of normal and variant human G Chromosomes. *Human Genetik* 1974;22:299-309.
7. Schmid M, Krone W, Vogel W. On the relationship between the frequency of association and the nucleolar constriction of individual acrocentric chromosomes. *Human Genetik* 1974;23:267-77.
8. Miller DA, Tantravahi R, Dev VC, Miller OJ. Frequency of satellited association of human chromosomes is correlated with amount of Ag-Staining of the nucleolar organizer region. *Am J Hum Genet* 1977;29:490-502.
9. Ing P, Yu P, Palmer C. Variation in the patterns of satellite associations. *Am J Hum Genet* 1973;25:34A.
10. Zang KD, Back E. Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes. *Cyto-genetics* 1968;7:455-470.

11. Galperin H. Comparative study of the association of human acrocentric chromosomes in male and female mitosis. *Cytogenetics* 1968;7:447-54.
12. Patil SR, Lubs HA. Non-random association of human acrocentric chromosomes. *Humanheretik* 1971;13:157-9.
13. Caspersen T, Lomakka G, Zech L. The 24 fluorescence patterns of the human metaphase chromosomes distinguishing characters and variability. *Hereditas(Lund)* 1971;67:89.
14. Jacobs PA, Mayer M, Morton NE. Acrocentric chromosome associations in man. *Am J Human Genet* 1976;28:567-76.
15. Cooke P. Non-random participation of chromosomes 13, 14 and 15 in acrocentric associations. *Humanheretik* 1971;13:309-14.
16. Curtis DJ. Acrocentric associations in Mongol Populations. *Humanheretik* 1974;22:17-22.
17. Cooke P, Curtis DJ. General and specific patterns of acrocentric association in parents of Mongol Children. *Humanheretik* 1974;23:279-87.
18. Wegner RD, Aldenhoff P, Sperline K. Activity of rRNA genes in cells of a patient with Down Syndrome mosaic. *Hum Genet* 1980;55:227-9.
19. Houh顿 JA. The study of chromosome non-disjunction in man. *Irish Journal of Med Sci* 1981;150:357-66.
20. Magenis y cols. On the origin of chromosome anomaly. *Am J Hum Genet* 1988;42:529-33.

21. Choo KH, Vissel B, Brown R, Filby RC, Earle E. Homologous alpha satellite sequences on human acrocentric chromosomes with selectivity for chromosomes 13, 14 and 21: Implications for recombination between nonhomologous and Robertsonian translocations. *Nucleic Acids Research* 1988;16:1273-1284.
22. Balicek P, Zizka J, Skalska H. RHF-Band polymorphism of the short arms of human acrocentric chromosomes and relationship of variants to satellite associations. *Hum Genet* 1982;62:237-9.
23. Nikolis and Kekic. Evidence for a compensatory mechanism regulating A γ -NOR activity in families with de novo 21; 21 translocations Down Syndrome. *Cytogenetics and cell genetics* 1988;47:197-200.
24. Martin DeLeon P, Gould SI. BrDU-Giemsa labeling studies of satellite associations in parents of children with trisomy 13 or 21. *Am J Med Genet* 1987;26:971-81.
25. Morehead PS, Nowell PC, Mellman NJ, Battips D. Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613-6.
26. Seabright MA. Rapid banding technique from human chromosome. *Lancet* 1971;ii:971-2.
27. Salamanca Gómez F. Ribosomal RNA, maternal age and Down Syndrome. *Acta Genet Med Gemell* 1975;24:245-50.