



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"

EVALUACION DE LAS FRECUENCIAS DE ASOCIACIONES DE SATELITES Y SU POSIBLE RELACION CON SINDROME DOWN REGULAR Y TRANSLOCADO

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A

LINA ESTHER PEREZ LOPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. MARIO A. ALTAMIRANO LOZANO

ASESOR: BIOL. GUADALUPE CARDENAS GOMEZ

MEXICO, D. F.

1992





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.

RESUMEN.....1

INTRODUCCION.

ASOCIACION DE SATELITES.

A) FUNCION E IMPORTANCIA..... 2
B) CRITERIO DE EVALUACION DE ASOCIACIONES DE SATELITES..... 4
C) ANTECEDENTES..... 7

ABERRACIONES CROMOSOMICAS.

A) GENERALIDADES.....11
B) TRISOMIAS Y TRANSLOCACIONES.....11
C) MECANISMOS DE FORMACION DE:
TRISOMIAS.....12
REZAGO ANAFASICO.....14
TRANSLOCACIONES.....17

CROMOSOMAS.

A) MORFOLOGIA Y TIPOS DE CROMOSOMAS.....19
B) ULTRAESTRUCTURA DEL CROMOSOMA.....20

CICLO CELULAR.

A) IMPORTANCIA Y GENERALIDADES.....23
B) MITOSIS.....26

NUCLEOLO

A) ULTRAESTRUCTURA DEL NUCLEOLO.....27
B) NUCLEOLOGENESIS.....29

JUSTIFICACION.....31

HIPOTESIS.....32

OBJETIVOS.....32

MATERIAL Y METODO.....33

RESULTADOS.....36

DISCUSION.....50

CONCLUSIONES.....61

APENDICE.....64

REFERENCIAS.....65

RESUMEN.

En este trabajo se estudio la frecuencia de Asociaciones de satélites en personas con síndrome de Down, en sus progenitores y en una población normal para tratar de establecer una posible relación entre las asociaciones y el fenómeno de no disyunción y el de translocación (trisomía 21 y translocación Robertsoniana). Para tal efecto se contó con dos grupos: individuos con síndrome de Down regular y síndrome de Down con translocación con sus respectivos progenitores, así como otro de individuos normales como grupo testigo, el estudio se llevo a cabo en linfocitos de sangre periférica cultivados durante 48 horas. Se analizarón 50 células en metafase por individuo, determinando el total de células con AS; AS por célula, número de cromosomas por AS, el porcentaje de participación de los cromosomas del grupo D y G y los tipos de AS .

Los resultados obtenidos muestran que en forma individual hay variabilidad en los datos para cada parámetro cuantificado. Llevando acabo el análisis para el síndrome de Down regular: padres, madres e hijos, estos valores nos indican que no hay relación entre la frecuencia de AS de los progenitores con la presencia de trisomía 21 en la descendencia. Para el síndrome de Down con translocación los datos obtenidos son menores en los progenitores, y el análisis estadístico de estos datos indican que la AS en los padres no es la causa de la anomalía cromosómica en los hijos (trisomía y translocación Robertsoniana), pero en la descendencia se observó un incremento de AS.

INTRODUCCION.

ASOCIACION DE SATELITES.

A) FUNCION E IMPORTANCIA.

En las preparaciones de células humanas en metafase, preparadas bajo condiciones estándar, a menudo los cromosomas se sitúan cercanos uno a otro por casualidad, en especial, los cromosomas acrocéntricos (grupos D y G), en donde se ha observado que una gran proporción de estos están orientados por sus brazos pequeños, lo que se ha denominado "Asociación de Satélites".

El fenómeno de asociación de satélites (AS) fue descrito por primera vez por Ferguson-Smith y Handmaker (1961) y Harnden (1961), estableciendo que este fenómeno es importante en la producción de algunas anormalidades cromosómicas humanas, como las no disyunciones y las translocaciones, donde la probabilidad es superior entre cromosomas satelizados, reportando que al menos 5 pares de autosomas en el hombre presentan satélites (Figura 1), sin tener evidencia alguna de una variación individual en el número de cromosomas satelizados.

Es conocida la tendencia a la asociación entre cromosomas acrocéntricos en la organización de los nucléolos. El sitio de los organizadores nucleolares (NORS) en el cariotipo humano, está localizada en las constricciones secundarias de los cromosomas D y G (Heitz., 1931; Shaw., 1961; Ferguson-Smith y Handmaker., 1961 y 1963; Nankin., 1970 y De Capoa et al., 1978). La asociación de cromosomas satelizados a menudo sugiere que los satélites poseen

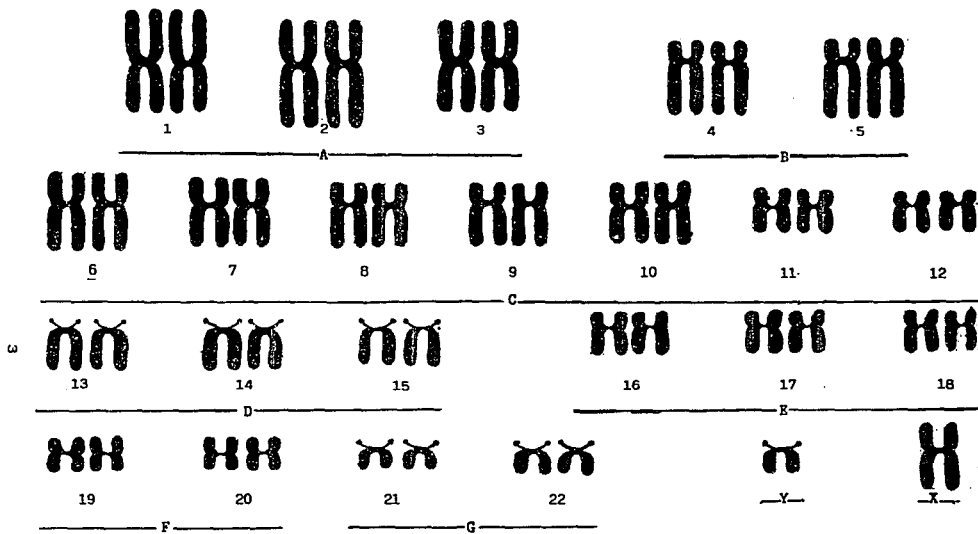


Figura 1. Cariotipo humano masculino, los cromosomas satelizados pertenecen a los

grupos D y G.

una especial propiedad de adhesión, probablemente esta cualidad esta directamente relacionada con la formación de material nucleolar en la región del satélite (Ferguson-Smith y Handmaker., 1961; Trent et al., 1981).

En los cromosomas acrocéntricos no todos los pares estan asociados, Ohno y colaboradores (1961) sugieren que al menos un cromosoma de estos pares no forma el nucléolo o que no todos los acrocéntricos estan activamente funcionales al mismo tiempo. Esta actividad de los NORs ha sido correlacionada con la cantidad de nitrato de plata ($AgNO_3$) que se acumula en estos sitios después de una tinción especial, siendo la relación directa, a una mayor intensidad en la tinción con plata en los NORs indica una alta actividad de estos organizadores nucleolares (Zankl et al., 1980).

La AS, es considerada un fenómeno de importancia porque es una posible causa del origen de varias translocaciones y no disyunciones cromosómicas, con las subsecuentes condiciones trisómicas o monosómicas de los cromosomas del grupo D y G (Liem et al., 1977).

B) CRITERIO DE EVALUACION DE ASOCIACIONES DE SATELITES.

Durante el análisis de las metafases, el estudio de las AS implica la normatividad de criterios para poder establecer si los cromosomas se encuentran o no asociados. Debido a una posibilidad de error en estos estudios, Zang y Back en 1968, propusieron una serie de criterios para su evaluación:

1) La distancia entre dos cromosomas acrocéntricos no pueden

exceder el largo del brazo "q" de los cromosomas del grupo G de la mitosis en cuestión (Figura 2a).

2) Las distancias mayores, arriba de la longitud de los brazos largos de los cromosomas D's son aceptadas cuando la asociación del compañero este orientado exactamente sobre el mismo eje longitudinal (Figura 2b).

3) Si la orientación de los brazos cortos de un cromosoma acrocéntrico adicional es directa hacia la asociación principal y no se queda por debajo de la "línea del centrómero" de cualquiera de los cromosomas acrocéntricos, se tomará como un cromosoma participante dentro de la asociación de satélites. Se define "línea del centrómero" como aquella que cruza el centrómero y es perpendicular al eje longitudinal (figura 2c).

4) Las distancias grandes en las asociaciones son aceptadas si entre los brazos cortos de los cromosomas estos se encuentran conectados por un hilo visible y claro, con una composición semejante a los mismos (Figura 2d).

Lampert et al., (1969), mostró que estas fibras intersatélites son del tipo B-nucleoproteínico (DNAr ó ácido desoxirribonucleico ribosómico y DNA-RNAr ó ácido desoxirribonucleico complementado con ácido ribonucleico ribosómico), componente estructural de los cromosomas condensados, y que un paquete de estas fibras pueden ser requeridos para producir un hilo visible, por lo que, se supone que las conexiones están presentes más a menudo, pero no son observables. Esta identificación de las conexiones

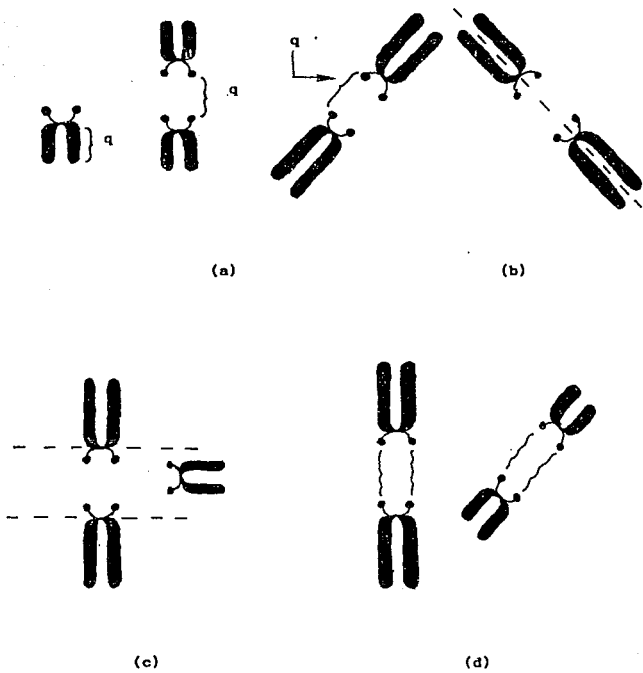


Figura 2. Modelos de AS segun el criterio de evaluación propuesto por Zang y Back., 1968.

intersatélites pudiera ser una explicación a la presencia de la variación individual de las asociaciones de satélites en los cromosomas humanos (Henderson et al., 1973).

C) ANTECEDENTES.

El estudio de las AS en las células metafásicas humanas muestra diferencias en las frecuencias, siendo esto la razón de que algunos investigadores hayan reportado asociaciones al azar (Cohen y Shaw., 1967; Nakagome., 1969; Shaw et al., 1969) y otros autores, asociaciones no al azar (Hecht et al., 1968; Zang y Back., 1968; Patil y Lubs., 1971).

Los cromosomas acrocéntricos han sido objeto de numerosas investigaciones debido a la gran importancia que revisten para el hombre, ya que presentan alto grado de heteromorfismo para las regiones de los brazos cortos (constricción secundaria y la región del satélite), además de que en estos brazos se encuentran localizados, en los NORs, los genes que codifican para el RNAr 18S y 28S (Hsu et al., 1967). Jiménez (1988), reporta la existencia de un precursor, el RNAr 45S, en el que se detalla el proceso de conversión para dar origen a los genes ribosómicos 18S y 28S.

A nivel citogenético se ha comprobado que las regiones satelizadas de los cromosomas presentan una mayor posibilidad de romper e intercambiar material, originando translocaciones balanceadas y Robertsonianas (Hansson., 1971; Henderson et al., 1973 y Moctezuma y Márquez., 1990), además de producir no disyunciones (Henderson et al., 1973; Curtis., 1974). Por otro

lado, estos cromosomas están involucrados con frecuencia en asociaciones en profase y metafase, considerándose que estas asociaciones pueden ser un reflejo de su participación anterior en la organización del nucléolo durante la interfase (Moctezuma y Márquez., 1990).

En condiciones trisómicas, en dos Síndromes clínicamente definidos; el Síndrome de Down y el de Patau, los cromosomas acrocéntricos están involucrados en una amplia variedad de anormalidades citogenéticas, las cuales incluyen aberraciones de tipo estructural como son las translocaciones (Hecht *et al.*, 1968), deleciones (Kelch *et al.*, 1971) y rearrreglos (Hauksdottir *et al.*, 1972), lo que implica que estos cromosomas son especialmente vulnerables a sufrir alteraciones (Curtis., 1974).

De las anormalidades estructurales descritas para los autosomas, las que se han definido con mayor claridad en el humano son las translocaciones, en las cuales hay intercambio de segmentos entre cromosomas no homólogos y las deleciones en las cuales se ha perdido un segmento del cromosoma (Emery., 1978).

En un trabajo desarrollado por Ferguson-Smith y Handmaker (1961), se propone la hipótesis de que la AS es uno de los factores determinantes en la producción de no disyunciones autosómicas durante la meiosis y posiblemente durante las primeras divisiones del cigoto, produciendo también aneuploidias en los cromosomas sexuales, lo mismo para las translocaciones en donde la probabilidad de translocación recíproca es superior entre cromosomas satelizados, evento que sugiere que estos

cromosomas involucrados en AS pueden estar más expuestos al rompimiento. Curtis (1974), cita que en poblaciones normales y con síndrome de Down los cromosomas acrocéntricos muestran una casual participación en asociaciones, donde el cromosoma 21 extra, altera significativamente las frecuencias esperadas.

La disfunción tiroidea es uno de los factores que pueden causar la no disyunción cromosómica (Fialkow *et al.*, 1965), algunos informes indican un incremento en la tendencia a asociaciones en niños con síndrome de Down e indican que este incremento puede estar atribuido a una alta actividad tiroidea (Hansson., 1971; Nilsson *et al.*, 1975). Zankl y Nagl (1980), estudiaron pacientes hipertiroideos, encontrando un número elevado de asociaciones cromosómicas, además reportan que en una persona con mosaico de trisomía 21, no hay diferencias en el número total de asociaciones de cromosomas acrocéntricos en los dos tipos celulares. Se advierte que los cromosomas 21, se asocian más a menudo en células trisómicas, mientras que los otros cromosomas acrocéntricos muestran una disminución en la tendencia a la asociación.

Los estudios realizados por Curtis (1974), muestran que en parejas donde existe un niño con síndrome de Down hay una tendencia en los padres a una mayor participación de los cromosomas acrocéntricos en asociaciones y se sugiere que el cromosoma 21 en hombres y los cromosomas 21 y 22 en mujeres están presentes en asociaciones más frecuentes y a estos se les atribuye la alteración cromosómica (trisomía 21).

Galperin (1968 y 1969), reporta una alta frecuencia de asociaciones en mujeres, sin considerar la edad, mientras trabajos de Froland y Mikkelsen (1964), Zang y Back (1967 y 1968) reportan lo contrario.

Zang y Back (1968), suponen que los cromosomas acrocéntricos pequeños están menos expuestos a influencias mecánicas durante el proceso de secado que los cromosomas acrocéntricos largos, por lo tanto, es posible que un par de cromosomas D puedan ser separados fácilmente que un par de cromosomas G, además señalan que el mismo número de cromosomas G participan en asociaciones en mitosis de hombres y mujeres. Brink y colaboradores (1962), apuntan que la participación del cromosoma Y es improbable, pero en contraparte, los descubrimientos de Cohen y Shaw (1967), reportan la participación del cromosoma Y en 5% de las mitosis investigadas en un modelo de asociación de hombres de diferentes grupos étnicos.

La razón de correlación entre la edad y el sexo con asociaciones de satélites es desconocido; Cooke (1972), cree que la correspondencia es debido a algunos factores de crecimiento como las hormonas sexuales o la hormona tiroxina.

Delinassios et al (1981), examinó la frecuencia de asociaciones en células diploides, aneuploides y poliploides de una línea celular epitelial humana, y los resultados mostraron que los cromosomas del grupo D participan más activamente en asociaciones que los cromosomas del grupo G.

ABERRACIONES CROMOSOMICAS.

A) GENERALIDADES.

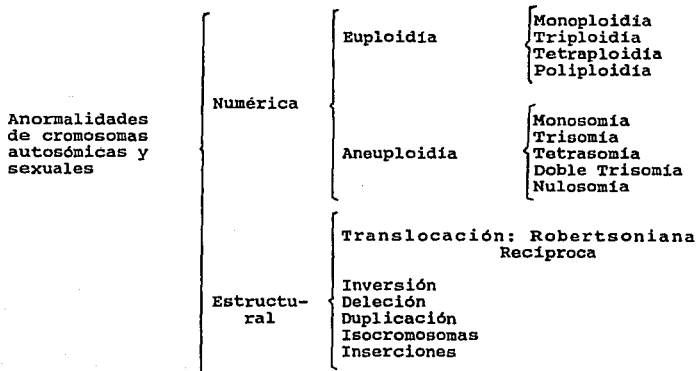
Tjio y Levan (1956), descubrieron que el número de cromosomas para la raza humana es de 46. A los tres años apareció el primero de muchos artículos que demostró claramente que algunas de las enfermedades del hombre guardaban relación neta con anomalías cromosómicas específicas (Emery., 1978).

Las aberraciones cromosómicas se dividen en autosómicas y sexuales y se subdividen en numéricas y estructurales (Figura 3) (Emery., 1978; Rostenberg., 1980; Stansfield., 1983; Salamanca., 1988).

B) TRISOMIAS Y TRANSLOCACIONES.

Si bien las aneuploidias de los autosomas se manifiestan siempre como una enfermedad, sus rearrreglos estructurales pueden

Figura 3.- CLASIFICACION DE LAS ABERRACIONES CROMOSOMICAS



ocurrir en forma balanceada, usualmente sin repercusión fenotípica, o desbalanceada con manifestaciones patológicas (Rivera y Cantú., 1988).

En humano, la cromosopatía autosómica numérica más común es la trisomía, participando con mayor frecuencia los pares de cromosomas 13-21. Las cromosopatías numéricas más frecuentes son: trisomía 21 (síndrome de Down), trisomía 18 (síndrome de Edward) y trisomía 13 (síndrome de Patau). El 95% de los casos de síndrome de Down son por no disyunción: trisomía regular y el 5% restante por translocación Robertsoniana (Rostenberg., 1980). Aparte de los tres grandes Síndromes ya mencionados existe alrededor de 75 enfermedades más debidas a aberraciones de los autosomas (Rostenberg., 1980; Rivera y Cantú., 1988).

Las anomalías estructurales pueden afectar cualquier cromosoma, si hay ruptura de segmentos cromosómicos puede ocurrir una translocación, cuando se presenta ruptura y se fusionan los cromosomas no homólogos (Rostenberg., 1980); existe un tipo especial de translocación y es la llamada fusión céntrica o Robertsoniana que ocurre generalmente entre cromosomas acrocéntricos (Figura 4), y la cual ha desempeñado un importante papel en la evolución al permitir la reducción del número cromosómico en las especies (Rostenberg., 1980; Salamanca., 1988).

C) MECANISMOS DE FORMACION DE: TRISOMIA.

Las alteraciones numéricas (monosomía y trisomía) se

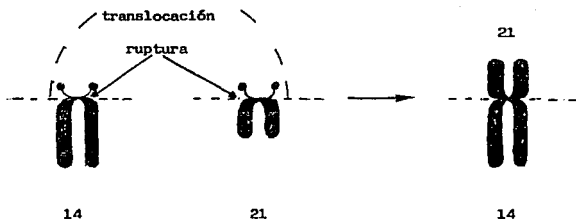


Figura 4. Aberración cromosómica de tipo estructural entre acrocéntricos (translocación Robertsoniana).

producen por una falla en la separación de los cromosomas o de las cromátidas en anafase, ya sea durante la meiosis o la mitosis y la alteración se conoce como no disyunción. Si la no disyunción sucede durante la ovogénesis o espermatogénesis se producen gametos desbalanceados con exceso o déficit cromosómico (Figura 5) (Rostenberg., 1980).

La mayoría de los casos de trisomía resultan de no disyunciones ocurridas en las primeras divisiones meióticas maternas, por lo que esto puede ser el origen más común para estas alteraciones (Hassold., 1985).

Los dos únicos factores que se han podido asociar a la no disyunción en ovogénesis son la edad materna y la fertilización retardada. Se desconocen los factores que propician la no disyunción en espermatogénesis. Si la no disyunción ocurre durante la división mitótica del cigoto, se formará un mosaico (Figura 6) (Rostenberg., 1980).

REZAGO ANAFASICO.

Es también una de las causas de la aneuploidía , consiste en que uno de los miembros de un par de cromosomas no hace sinapsis con las fibras del huso mitótico y por lo tanto no se mueve correctamente, siendo alcanzado por la citocinesis sin haber arribado a ningún polo, de manera que la distribución de estos cromosomas puede ser al azar, ya sea en una de las células hijas o bien se pierde, por esto el rezago anafásico puede dar como consecuencia células normales, células trisómicas o células monosómicas (Frias, 1988).

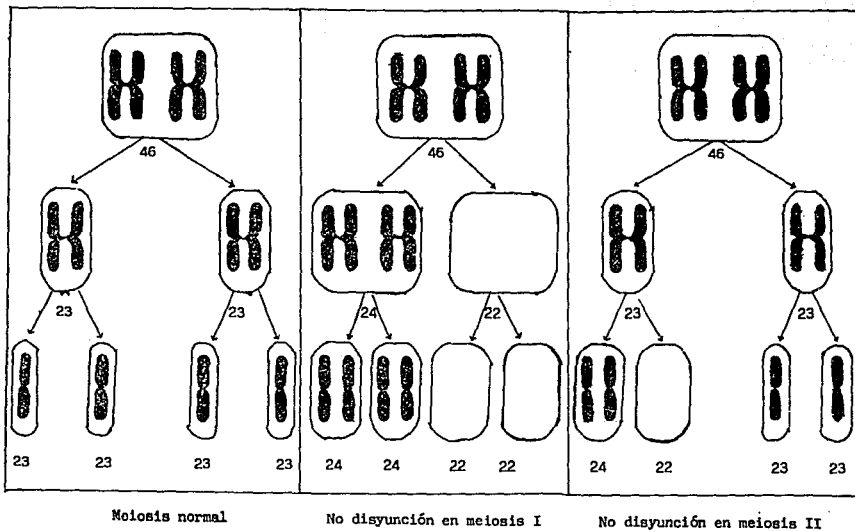
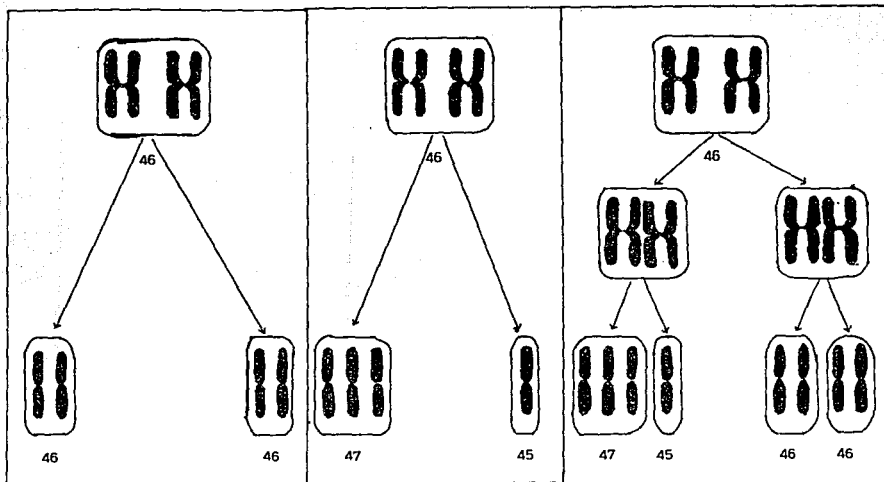


Figura 5. Mecanismo de no disyunción (trisomía) en meiosis.



Mitosis normal.

Primera división mitótica
del cigoto.

Segunda división mitótica del
cigoto.

Figura 6. Mecanismo de no disyunción (trisomía) en mitosis.

TRANSLOCACION.

Las translocaciones se definen como la transferencia de un fragmento más o menos largo de cromosoma sobre otro, cambiando la morfología cromosómica. Se distinguen diversas variedades según el número de roturas, una de ellas es la translocación Robertsoniana que se lleva a cabo entre cromosomas de los grupos D y G, las rupturas se dan en la región pericentromérica, se intercambian los brazos y dan como resultado cromosomas metacéntricos por la fusión de dos brazos largos, y un pequeño metacéntrico por la unión de dos brazos cortos; así tenemos las siguientes combinaciones $t(Dq Dq)$; $t(Dq Gq)$ y $t(Gq Gq)$ (Figura 7) (Frézal et al., 1974; Bernard y Freeman., 1975; Frías., 1988).

Ferguson-Smith y Handmaker (1961), indican que los satélites de los cromosomas del grupo D y G poseen una propiedad de adhesión y posiblemente esta sea la causa de las translocaciones. Por otro lado Guichaoua y colaboradores (1986), explican que esta propiedad de adhesión esta relacionada con la cantidad de DNA (ácido desoxirribonucleico) en el satélite del cromosoma y la homología de sitios recombinantes. Gosden et al., (1981), mencionan que la tendencia de los cromosomas acrocéntricos para la formación de translocación Robertsoniana puede resultar de una homología a nivel molecular, donde se demuestra que los puntos de rompimiento de dichas translocaciones son preferentemente localizadas en el DNA del satélite constituyendo los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos y que en el satélite se encuentran varios grupos de repeticiones

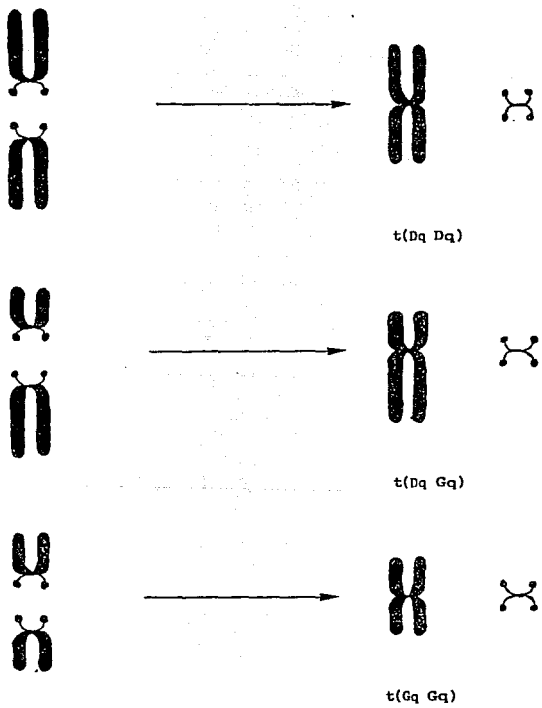


Figura 7. Presentación de las diferentes translocaciones ocurridas entre cromosomas acrocéntricos.(translocaciones Robertsonianas)

idénticas o estrechamente relacionadas de DNA. Sthal y su equipo de trabajo (1983), indican que estas características del DNA del satélite junto con la interrelación de las fibras de cromatina da como resultado un riguroso arreglo de los cromosomas acrocéntricos bivalentes no homólogos conectados al mismo centro nucleolar fibrilar explicando la ocurrencia de la translocación Robertsoniana en la fase de paquiteno de la meiosis.

Las translocaciones más frecuentes son: 13/14 (D/D) seguida de 14/21 (D/G), juntos representan el 80% de los casos (Choo et al., 1988). Se ha observado que estos cromosomas presentan una mayor frecuencia de AS (Solange., 1982).

Las consecuencias de las translocaciones abocan a la formación de gametos aneusómicos. Durante la mitosis y sea cual sea el tipo de translocación, dos de los cuatro gametos formados son equilibrados en el sentido de que contienen un juego haploide de cromosomas y entre ellos uno esta translocado. Estos gametos darán lugar, tras la fecundación a cigotos normales, los dos restantes gametos son aneusómicos (Frézal et al., 1974).

CROMOSOMAS.

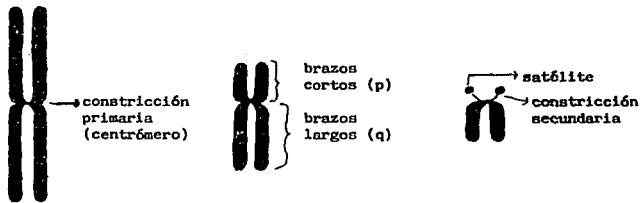
A) MORFOLOGIA Y TIPOS DE CROMOSOMAS.

Los cromosomas son estructuras constituidas de proteínas y ácidos nucleicos que varían de forma y tamaño dependiendo de la especie, de las condiciones ambientales, la temperatura, el medio químico, etc. Los cromosomas mitóticos humanos cuando están duplicados tienen una forma similar a una "X". Las cromátidas hermanas se mantienen unidas en una región de constricción

llamada "centrómero" o constricción primaria. La posición del centrómero es variable, si se encuentra en la parte media del cromosoma, son metacéntricos; si se encuentra desplazado hacia un extremo (dando brazos de diferente tamaño), produce cromosomas submetacéntricos; si esta cerca del extremo final serán acrocéntricos, presentando generalmente sobre sus brazos cortos los satélites y las constricciones secundarias (Figura 8) (Levine., 1971; Passarge., 1974; Bianchi., 1978 y Salamanca., 1988).

B) ULTRAESTRUCTURA DEL CROMOSOMA.

El material genético (DNA, RNA (ácido ribonucleico) y proteínas: histonas y no histonas) en los núcleos de las células se encuentran en forma de redes de cromatina en la interfase y en los cromosomas durante los procesos de división, lo cual indica un cambio de estructura a través del ciclo celular de un estado difuso a uno condensado. En la cromatina, las histonas interaccionan con la cadena de DNA y entre ellas, considerándose como un complejo de nucleoproteína, el modelo para explicar esta interacción es uno de los principales adelantos a nivel molecular y lo constituye la existencia de una unidad estructural básica, el nucleosoma, que se encuentra en forma repetitiva y periódica en los cromosomas mitóticos y en la cromatina de interfase (Ford., 1973; Lewin., 1980 y Alberts et al., 1986; Beaudet et al., 1989). Las proteínas no histónicas no intervienen en la formación del nucleosoma, probablemente tengan funciones estructurales y regulatorias de la expresión genética e incluyan



Metacéntrico

Submetacéntrico

Acrocéntrico

Figura 8. Morfología y tipos de cromosomas humanos.

las enzimas necesarias para la replicación, reparación y transcripción del DNA (Lewin., 1980).

La participación del DNA en la organización de la cromatina ha estado sujeta a múltiples modelos y especulaciones. El DNA de la cromatina adopta diferentes niveles de enrollamiento o helicidad; el primero lo constituye la doble hélice de la molécula de DNA (20 Å) y el segundo, el filamento de nucleosomas (100 Å). Para la hélice cada cadena efectúa un giro completo a cada 34 Å; hay 10 nucleótidos por cada giro de la hélice en cada una de las cadenas. Existen cuatro nucleótidos, cada uno contiene un residuo de 2'desoxirribosa, un grupo fosfato y una base purina (adenina y guanina) o pirimidina (timina y citosina). Estos nucleótidos se unen a través de los grupos fosfatos, formando la doble estructura helicoidal del DNA. El enlace de los grupos azúcar y fosfato en la cadena polinucleótida, implica siempre los mismos grupos químicos, de ahí que esta parte de la molécula sea muy regular, en contraste con la ordenación de los residuos de purina y pirimidina a lo largo de la cadena que es extremadamente irregular y varía de una molécula a otra. Las dos cadenas se hallan unidas entre sí mediante puentes de hidrógeno entre los pares de bases, la adenina se aparea con la timina y la guanina con la citosina (Ford., 1973; Bianchi., 1978 y Lewin., 1980; Beudet *et al.*, 1989).

Las histonas son proteínas pequeñas con carga positiva, ricas en aminoácidos básicos: arginina y lisina y carentes de triptófano, han sido clasificadas de acuerdo a su contenido

relativo de arginina y lisina. Las regiones globulares de las histonas parecen estar fuertemente empaçadas y rodeadas por vueltas de DNA y se considera que la partícula tiene un eje de simetría doble y que las histonas son las únicas responsables de la constricción del DNA para adquirir la superhelicidad y determinar la estructura básica de la cromatina (nucleosoma) (Figura 9) (Bianchi., 1978; Olins y Olins., 1978 y Lewin., 1980).

Cuando se observan las células en metafase, cada cromosoma está formado de una fibra de un diámetro de 20-30 nm, bastante apretada e irregularmente doblada en la estructura característica del cromosoma (Ford., 1973; Lewin., 1980). Esta fibra básica es la base de la estructura molecular de los cromosomas, que sufre cambios conformacionales por procesos de condensación y descondensación a través del ciclo celular. Varios procesos han sido involucrados en el curso de la condensación de la cromatina, principalmente a nivel de modificaciones de las proteínas cromatínicas, en especial por reacciones tales como fosforilación, acetilación, etc. Entre estas reacciones, la fosforilación de las histonas es el candidato más favorable para ser el factor regulador de la condensación cromosómica (Bianchi., 1978 y Lewin., 1980).

CICLO CELULAR.

A) IMPORTANCIA Y GENERALIDADES.

La replicación cromosómica es el proceso por el cual el material hereditario se duplica como paso previo a su transmisión de célula a célula y en última instancia de individuo a

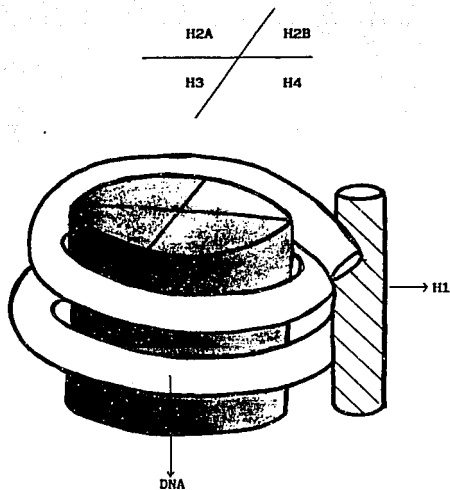


Figura 9. Estructura del nucleosoma, el tubo representa la doble hélice de DNA, la histona H1 se encuentra unida al complejo pero no forma parte de la estructura central de histonas (H2A, H2B, H3, H4).

individuo. Por esta razón, el comprender los factores que regulan este fenómeno y los mecanismos moleculares que entran en juego durante el mismo, es de capital importancia. Estas fases del ciclo celular pueden presentar eventos inoportunos que darán origen a cambios de interés, sobre todo translocaciones (balanceadas o no balanceadas) y/o no disyunciones en mitosis.

El ciclo de la célula se ha dividido en tres partes, primero en período de desarrollo, conocida generalmente como interfase (se subdivide en $G_1 + S + G_2$); el segundo período, cuando las divisiones nucleares toman lugar y recibe el nombre de mitosis; y el tercer período consiste en la separación en dos paquetes del citoplasma acompañados de los núcleos hijos (Wolfe., 1981; Smith-Keary., 1982 y Alberts *et al.*, 1986)

En la interfase, el tiempo de intervalo, llamado G_1 (Gap= separación), los núcleos contienen la cantidad somática usual de DNA, las células adquieren una velocidad elevada de biosíntesis y en algún tiempo avanzado de G_1 , se inicia el período S (S= síntesis), donde primero se duplicaron los centriolos, después la producción de ácidos nucleicos (DNA), proteínas (histonas), carbohidratos y lípidos, por lo tanto, la célula incrementa su masa y termina cuando el contenido del DNA del núcleo se ha duplicado y los cromosomas se han replicado, después que la replicación esta completa otro intervalo, el post-sintético G_2 se presenta y es al finalizar esta, donde se ha sugerido que una proteinquinasa se activa y facilita la transición desde G_2 hasta mitosis, pudiendo ser la responsable de la fosforilación de las

proteínas de la lámina nuclear que a su vez origina la desintegración de la envoltura nuclear que se observa durante la fase de la mitosis. La quinasa fosforiliza la histona H1 que esta presente en los nucleosomas, por lo tanto, antes de la fase de la mitosis, si hay fosforilización se condensan los cromosomas (Bianchi., 1978; Wolfe., 1981; Smith-Keary., 1982 y Alberts et al., 1986).

B) MITOSIS.

En la primera etapa de la mitosis, llamada profase, la cromatina se condensa lentamente, los cromosomas se ven como entidades discretas, divididas longitudinalmente en dos cromátidas hermanas. El nucléolo ha desaparecido, los cromosomas continúan condensándose y los centriolos se han desplazado a los polos y aparece el huso mitótico que salen de estos últimos, en las dos caras de los centrómeros se desarrollan los cinetocoros y un conjunto de fibras cinetocóricas que entran en interacción con las fibras del huso mitótico. Para la segunda fase de la mitosis, la metafase, los cromosomas se colocan en un solo plano, cada cromosoma se mantiene en tensión sobre la placa metafásica por los pares de cinetocoros y sus fibras asociadas con las del huso mitótico. En la fase siguiente, la anafase, se separan los cinetocoros apareados de cada cromosoma por las fibras del huso que se contraen, arrastrando a las cromátidas hijas hacia los polos. Y la última fase, la telofase, desaparece el huso y las fibras cinetocóricas, se reforma el nucléolo y la membrana nuclear, las cromátidas se desespiralizan, dando lugar a dos

núcleos en estado de reposo. Se forma una nueva membrana celular entre las células hijas, siendo esta la citocinesis (Smith-Keary., 1982; Alberts et al., 1986).

NUCLEOLO.

A) ULTRAESTRUCTURA DEL NUCLEOLO.

El nucléolo puede ser considerado el componente ribonucleoprotéico más complejo y altamente ordenado en eucariontes. Sus constituyentes moleculares están distribuidos en dominios ultraestructurales bien definidos en tal forma que llevan a cabo secuencialmente los eventos de síntesis y procesamiento del pre-RNAr y el ensamblaje de partículas preribosómicas (Busch y Smetana., 1970; Gimenez-Martin et al., 1977; Hadjiolov., 1985; Alberts et al., 1986).

El nucléolo está compuesto de (Figura 10):

- a) Centros Fibrilares (FCs)
- b) Región Fibrilar Densa (DFR)
- c) Región Granular (G)
- d) Región Fibrogranular o Nucleolonema (F)

Las regiones FCs contienen una fibra de material cromatínico que es el organizador nucleolar (NORs) (Hsu et al., 1967; Mirre y Knibiehler., 1982; Hozak et al., 1986), los genes ribosómicos (DNAr, 18S, 5.8S, 28S), RNA polimerasa I, proteínas del organizador nucleolar (proteínas Ag-NOR), la proteína nucleolar fibrilarina y la fosfoproteína C23, representando quizá el sitio en donde ocurre la transcripción temprana del pre-RNAr

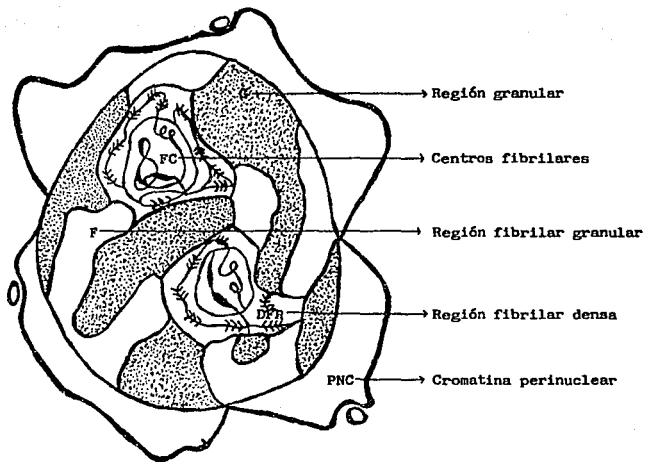


Figura 10. Ultraestructura del nucléolo.

(Hernández-Verdun et al., 1978; Hernández-Verdun., 1983; Spector et al., 1984; Ochs et al., 1985(a); Fakan et al., 1986).

Las zonas DFR contienen proteínas Ag-NOR, fibrilarina y las fosfoproteínas C23 y B23 y pueden ser el sitio donde tiene lugar la actividad transcripcional más abundante y el procesamiento del pre-RNAr (Hernández-Verdun et al., 1978 y 1979; Phillips y Phillips., 1979; Spector et al., 1984; Hadjiolov., 1985; Ochs et al., 1985(b); Fakan et al., 1986).

La región G es una zona de gránulos de 150 a 2000 Å de diámetro y es abundante en la fosfoproteína B23 y productos intermedios del procesamiento del precursor pre-RNAr, representa el sitio de procesamiento más tardío, maduración y almacenamiento de los pre-ribosomas (Hernández-Verdun et al., 1978; Spector et al., 1984).

La zona F, también llamada nucleolonema, es el lugar donde se mezclan las fibras de la región DFR y los gránulos de la región G, se lleva a cabo el procesamiento pre-RNAr.

La cromatina perinuclear (PNC) no es un constituyente nucleolar, es una cubierta de cromatina que rodea al nucléolo y ocasionalmente penetra en éste a través de fibras delgadas que quizá tienen conexión con los CF. Se considera un tipo especial de cromatina en donde se localizan los genes que intervienen en el funcionamiento nucleolar (Goessens., 1984).

B) NUCLEOLOGENESIS

La formación del nucléolo se lleva durante la anafase tardía con material nucleolar presente en la vecindad y sobre la

superficie de los cromosomas, algunas veces la forma de envoltura pericromosómica. Este material semejante a los nucléolos es condensado en estructuras discretas, llamados cuerpos prenucleolares (PNBs), que subsecuentemente se unen a las regiones organizadoras nucleolares cromosómicas (NORs) en telofase e interfase temprana y provee las bases de la formación de los nucléolos maduros de interfase (Ochs et al., 1985 a y b).

JUSTIFICACION.

Los estudios de asociación de satélites en los cromosomas acrocéntricos humanos pares 13, 14, 15, 21 y 22 han recibido mucha atención, ya que estos cromosomas parecen estar predispuestos a una posible no disyunción, translocación y alteraciones estructurales menores. Debido a esto, el presente trabajo pretende conocer la frecuencia de asociación de satélites en los cromosomas de pacientes con síndrome de Down por trisomía regular y por translocación, así como en sus progenitores y buscar la posible relación entre estos dos grupos al ser comparadas las frecuencias con una población normal, ya que se piensa que las regiones proximales de cromosomas acrocéntricos son sitios involucrados en rompimientos e intercambios de material que dan origen a translocaciones balanceadas y Robertsonianas siendo estas últimas uno de los más frecuentes rearrreglos en el humano, además de las no disyunciones, las cuales pueden ser tal vez uno de los factores relacionados con las trisomías (Henderson et al., 1973).

HIPOTESIS.

Si las asociaciones de satélites están relacionadas con las translocaciones y no disyunciones, en los pacientes con síndrome de Down así como en sus padres, habrá una mayor frecuencia de estos eventos con respecto a los individuos normales.

OBJETIVOS.

a) Evaluar las frecuencias de asociación de satélites y su posible relación con el síndrome de Down regular y translocado en comparación con una población normal.

b) Determinar el tipo de asociación más frecuente en las muestras de síndrome de Down regular y translocado en comparación con una población normal.

c) Determinar la frecuencia de asociación de satélites en los padres de niños con síndrome de Down.

d) Establecer el posible papel de las asociaciones de satélites en el síndrome de Down.

MATERIAL Y METODOS.

a) MUESTRAS

Para realizar este trabajo se analizaron metafases de cultivos de sangre periférica de pacientes que acudieron al servicio de Genética del Hospital General, C.M. "La Raza" y que presentaron síndrome de Down regular (4 muestras) y con translocación (4 muestras), como también los padres de los mismos. Las muestras de sangre se tomaron en condiciones de asepsia con 0.1 ml de heparina (heparina sódica de 1000U) para 5 ml de sangre. Las muestras para el grupo testigo (5 muestras) se obtuvieron en las mismas condiciones. La edad de los individuos con síndrome de Down (regular y translocado) fue de 1 a 3 meses de edad y de los grupos de testigos y progenitores se estableció en un rango de 20 a 30 años.

b) CULTIVO.

En campana de flujo laminar se colocaron los matraces estériles, se añadió 1 ml de sangre heparinizada en 4.5 ml de medio Mc.Coy 5'A modificado (microlab), 10% de suero fetal de ternera y 0.5 ml de PHA (fitohemaglutinina) (microlab), la siembra se realizó por duplicado para cada muestra. Se incubaron los matraces a 37°C por 48 horas, pasado este tiempo se agregó a cada matraz 0.2 ml de colcemid (microlab) y se incubaron nuevamente por 20 minutos a 37°C. Una vez transcurrido este tiempo, se pasó el contenido de los matraces en tubos cónicos y se centrifugaron a 1800 rpm (revoluciones por minuto) por diez minutos, se eliminó el sobrenadante y el botón celular se sometió

a un choque hipotónico con una solución de cloruro de potasio (KCl 0.075M), se incubó por 20 minutos a 37°C. Posteriormente se centrifugaron las células a 1800 rpm por otros diez minutos, se desechó el sobrenadante y el botón celular se lavó 5 veces con solución de Carnoy (1:3 ácido acético:metanol) fresca y fría, finalmente se resuspendió el botón celular con 0.5 ml de solución de Carnoy, quedando las células fijas en metafase. En laminillas limpias y frías, se gotearon las células en suspensión a una altura de 50 cm aproximadamente, y se dejaron secar al aire.

c) TINCION DE CROMOSOMAS.

Una vez obtenidas las preparaciones, estas se tiñieron con colorante Giemsa (6%) en Buffer de fosfatos (0.6M, pH 6.8) durante 4 minutos, se lavaron las laminillas con agua corriente para eliminar el exceso de colorante y se dejaron secar al aire.

d) TINCION DE BANDAS G.

Las laminillas, a los dos días de haberse preparado, se introdujeron en una solución de 50 ml de Buffer de fosfatos (pH 6.8) suplementado con Tripsina (0.1mg/ml) durante 10 a 20 segundos. Al término de este tiempo se pasaron a una segunda solución de EDTA (40 ml de agua destilada más 1 g de EDTA= Etilen-diamin-tetra-acético) y se dejaron por 10 segundos. Posteriormente se pasaron las laminillas dos veces en una solución de Buffer de fosfatos (40 ml cada uno) por diez segundos, para luego teñirlas con Giemsa al 5% en Buffer de fosfatos de 5 a 7 minutos, se lavaron las laminillas con agua destilada y se dejaron secar al aire (Seabright., 1971) (apendice

I).

e) EVALUACION.

Todas las apreciaciones se realizaron en el microscopio con objetivo de 100X, se analizaron al azar 50 metafases para cada muestra, y se cuantificó:

- 1) Alteraciones numéricas (trisomía) y/o
- 2) Alteraciones estructurales (translocaciones Robertsonianas).
- 3) Número de células con asociaciones de satélites.
- 4) Número de asociaciones de satélites en cada metafase y el tipo de asociación de satélites, tomando como parámetro los criterios de asociación de Zang y Back (1968).
- 5) el Número de asociación de satélites con dos o más cromosomas agrupados.
- 6) el Número de células con 1 o más asociaciones de satélites.
- 7) Los porcentajes de participación de los cromosomas del grupo D y G.

f) ANALISIS ESTADISTICO.

Para analizar la frecuencia de células con AS, AS por célula, cromosomas por AS, así como el número de células con una o más asociaciones, el número de asociaciones con más de dos cromosomas y para los diferentes tipos de asociaciones se aplicó la prueba de "t" de Student, mientras que, para determinar las diferencias entre las proporciones de cromosomas asociados D y G se aplicó la prueba de X^2 (Ji-cuadrada).

RESULTADOS.

En la tabla 1 y 2, se muestran los resultados del total de células con AS, AS por célula, cromosomas por AS y la frecuencia de participación de asociación de los cromosomas D y G para individuos con síndrome de Down regular y con translocación, respectivamente.

Al analizar los resultados del total de células con AS, se observó que, independientemente, que dentro de cada uno de los grupos de individuos estudiados existan variaciones en las frecuencias, los promedios de cada uno de estos (hijos Down y sus padres) indican que no existen diferencias significativas al ser comparados con el grupo testigo (individuos normales) ni al ser comparados entre ellos (Tabla 1 y 2).

Con respecto al número de AS por célula (Tabla 2), se encontró que en el grupo de padres de Down translocado (PADWTR) hubo una disminución del promedio de AS presentes al ser comparados con el grupo testigo (1.47 ± 0.04 de PADWTR vs 1.74 ± 0.08 del testigo, $P < 0.05$), mientras que en el grupo de hijos Down (translocado) (HIDWTR) existió un aumento significativo en comparación con el grupo PADWTR (1.91 ± 0.07 vs 1.47 ± 0.04 , $P < 0.05$). En los demás casos no se encontraron diferencias significativas entre grupos ni con respecto al testigo (Tabla 1 y 2).

El número de cromosomas que intervienen en cada AS se analizó y los resultados muestran que el grupo HIDWTR presentó una disminución con respecto al grupo testigo (2.11 ± 0.02 vs 2.28 ± 0.05 , respectivamente con $P < 0.05$) (Tabla 2). En el resto de

los casos no se observaron diferencias a este respecto, ni entre grupos ni con relación al testigo (Tabla 1 y 2).

La frecuencia de participación de los cromosomas D y G en las AS se espera sea de un 60 y 40% respectivamente, (Zang y Back., 1968 y DiLernia et al., 1980), en los resultados entre las muestras que forman cada grupo se observa variabilidad en los porcentajes. El análisis de estos datos muestran que en el caso de PADWRE (padres de Down regular) 2 y 3; madres de Down (regular) (MADWRE) 2 y 4; hijos Down (regular) (HIDWRE) 4 (Tabla 1); padres de Down (translocado) (PADWTR) 1; madres de Down (translocado) (MADWTR) 1 y 4 e hijos Down (translocado) (HIDWTR) 3 y 4 (Tabla 2); existen desviaciones estadísticamente significativas con respecto a las frecuencias esperadas. A pesar de las diferentes frecuencias encontradas en las muestras que forman cada grupo, sólo los HIDWTR presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo (45.19 ± 6.11 vs 58.33 ± 2.11 para el cromosoma D y 54.80 ± 6.11 vs 41.66 ± 2.04 para el cromosoma G, $P < 0.05$) (Tabla 2).

En la tabla 3 y 4, se muestran los resultados del número de células con uno a cuatro AS para Down regular y hasta con cinco AS para síndrome de Down con translocación. La frecuencia de células con una AS muestra que no hay diferencias entre los grupos ni con respecto al testigo (Tabla 3 y 4), mientras que con dos AS se encontró que en PADWTR disminuyó con respecto al testigo (12.25 ± 1.08 vs 18.60 ± 1.0 del testigo, $P < 0.05$) (Tabla 4). En el mismo caso cuando se compararon los datos entre HIDWTR

(19.75±0.73) con respecto a PADWTR (12.25±1.08) se encontró un incremento significativo en el primer caso con respecto al segundo ($P<0.05$) (Tabla 4). En el caso de las células con tres y cuatro AS el grupo HIDWTR fue el único que mostró diferencias significativas (9.5±1.47 para células con 3 AS y 1.5±0.55 para células con 4 AS, $P<0.05$) al ser comparado con PADWTR (3.0±0.61 para células con 3 AS y 0.0 para células con 4 AS) ($P<0.05$) (Tabla 4). Para células con cinco AS el único grupo que las presenta es HIDWTR (0.25±0.21) (Tabla 4).

La tabla 5 y 6, presenta las frecuencias de AS con dos a seis cromosomas por AS. Los resultados para el número de AS con dos cromosomas muestran diferencias significativas. En las madres de Down regular (MADWRE) (35.75±2.72) (Tabla 5) y PADWTR (48.0±0.61) (tabla 6), se obtuvieron valores más bajos que el testigo (59.4±3.30, $P<0.05$), mientras que para HIDWTR el valor obtenido es mayor (83.75±4.43, $P<0.05$) (Tabla 6). Al comparar los datos entre los grupos se observó que para HIDWRE la frecuencia de AS con dos cromosomas fue mayor que el grupo formado por las madres (MADWRE) (62.5±3.09 vs 35.75±2.72, $P<0.05$) (Tabla 5), mientras que el grupo HIDWTR presentó diferencias con respecto a sus padres (PADWTR y MADWTR) (83.75±4.43 vs 48.0±0.61 y 56.25±6.77, $P<0.05$; respectivamente) (Tabla 6). En AS con tres, cuatro, cinco y seis cromosomas los resultados muestran disparidad en las frecuencias de las muestras que forman los grupos, pero el análisis de los promedios de estos indica que no hay diferencias significativas entre ellos y el testigo (Tabla 5

y 6). Las AS con seis cromosomas son muy escasas ya que solo se obtuvieron en el testigo (0.2 ± 0.17).

La tabla 7 y 8 se muestran los tipos de asociaciones cromosómicas obtenidas (Figura 11). El análisis entre grupos y de estos con respecto al testigo, indica que en el caso de la frecuencia de asociaciones de tipo DG solo HIDWRE presentaron un aumento significativo con respecto al grupo PADWRE (33.75 ± 2.65 vs 22.25 ± 1.13 , $P < 0.05$) (tabla 7).

En la combinación DGGG, esta asociación, se encontró una disminución significativa en los grupos de MADWRE y HIDWRE (00.00) con respecto al grupo testigo (tabla 7).

Para las asociaciones GGG se encontró una disminución significativa en el grupo HIDWTR (00.00) con respecto a MADWTR (1.0 ± 0.35 , $P < 0.05$) y este último, un aumento con respecto al grupo de PADWTR (00.000) (tabla 8).

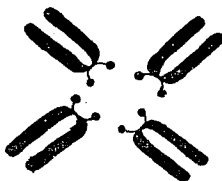
En las asociaciones DDGG se obtuvo un aumento significativo en MADWTR (1.0 ± 0.35) y HIDWTR (1.0 ± 0.21) con respecto a PADWTR, el cual no mostró este tipo de asociación cromosómica ($P < 0.05$) (tabla 8).

En la combinación de los cromosomas acrocéntricos para formar el siguiente tipo DGGG, el grupo MADWTR no presentó esta asociación, solo el grupo HIDWTR (1.0 ± 0.21) mostrando un aumento significativo con respecto a MADWTR (tabla 8).

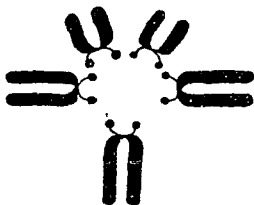
En la combinación de cromosomas para una asociación DDDGG, las frecuencias observadas en los grupos mostraron que solo en el caso HIDWTR la frecuencia fue estadísticamente significativa al



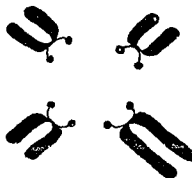
DG



DDDD



DDGG



DGGG

Figura 11. Ejemplos de algunos de los tipos de AS encontradas en las muestras de síndrome de Down.

ser comparado con el grupo PADWTR (1.0 ± 0.21 vs 0.0 , $P < 0.05$) (tabla 8).

En el caso de las asociaciones de tipo DD, GG, DDD, DDG DGG DDDG, DDDD, GGGG, DDDDG, DDGGG y DDDDGG se presentaron en algunos de los grupos, pero sus frecuencias indican que no existen diferencias significativas al ser comparados con el grupo testigo ni al ser comparados entre ellos (tabla 7 y 8).

TABLA 1. DISTRIBUCION DE AS EN PADRES E HIJOS CON SINDROME DE DOWN REGULAR.

	TOTAL DE CELULAS CON AS (TOTAL DE AS)	AS POR CELULA	CROMOSOMAS POR AS	D (%)	G (%)
TESTIGO1	46 (74)	1.60	2.21	50.60	49.40
TESTIGO2	47 (80)	1.70	2.41	60.62	39.38
TESTIGO3	46 (82)	1.78	2.17	56.57	43.43
TESTIGO4	47 (97)	2.06	2.45	59.66	40.34
TESTIGOS	44.40±1.88	1.74±0.08	2.28±0.05	58.33±2.11	41.66±2.04
PADWRE1	50 (111)	2.22	2.25	64.40	35.60
PADWRE2	44 (63)	1.43	2.38	70.60	20.40
PADWRE3	31 (63)	2.03	2.25	76.76	23.24
PADWRE4	30 (42)	1.40	2.19	57.60	42.40
PADWRE	38.75±4.26	1.77±0.18	2.26±0.03	67.34±3.56	32.66±3.56
MADWRE1	47 (77)	1.63	2.48	50.78	49.22
MADWRE2	34 (55)	1.61	2.40	77.27	22.73
MADWRE3	36 (55)	1.52	2.12	55.55	44.45
MADWRE4	40 (65)	1.62	2.20	50.00	50.00
MADWRE	39.25±2.48	1.60±0.02	2.30±0.07	58.40±5.54	41.60±5.54
HIDWRE1	46 (82)	1.78	2.17	56.17	43.83
HIDWRE2	49 (76)	1.55	2.23	68.23	31.77
HIDWRE3	42 (80)	1.90	2.16	54.91	45.09
HIDWRE4	37 (66)	1.78	2.25	50.38	49.62
HIDWRE	43.50±2.25	1.75±0.06	2.20±0.01	57.42±3.30	42.57±3.30

TOTAL DE CELULAS CON AS, AS POR CELULA Y CROMOSOMAS POR AS: PRUEBA "T" DE STUDENT, $P < 0.05$.

PORCENTAJES DE CROMOSOMAS D Y G: PRUEBA DE χ^2 , $P < 0.05$.

PADWRE: PADRE DE PACIENTE CON SINDROME DE DOWN.

MADWRE: MADRE DE PACIENTE CON SINDROME DE DOWN.

HIDWRE: PACIENTE CON SINDROME DE DOWN.

TABLA 2. DISTRIBUCION DE AS EN PADRES E HIJOS CON SINDROME DE DOWN CON TRANSLOCACION.

	TOTAL DE CELULAS CON AS (TOTAL DE AS)	AS POR CELULA	CROMOSOMAS POR AS	D (%)	G (%)
TESTIGO1	46 (74)	1.60	2.21	50.60	49.40
TESTIGO2	47 (80)	1.70	2.41	60.62	39.38
TESTIGO3	46 (82)	1.78	2.17	56.57	43.43
TESTIGO4	47 (97)	2.06	2.45	59.66	40.34
TESTIGOS	44.40 ± 1.88	1.74 ± 0.08	2.28 ± 0.05	58.33 ± 2.11	41.66 ± 2.04
PADWTR1	42 (63)	1.50	2.25	76.76	23.24
PADWTR2	41 (56)	1.36	2.19	52.84	47.16
PADWTR3	35 (55)	1.57	2.10	62.06	37.94
PADWTR4	36 (53)	1.47	2.15	53.50	46.50
PADWTR	38.50 ± 1.52	1.47 ± 0.04 (A)	2.17 ± 0.02	61.29 ± 4.82	38.71 ± 4.82
MADWTR1	44 (65)	1.47	2.35	71.24	28.76
MADWTR2	46 (95)	2.06	2.23	55.66	44.34
MADWTR3	40 (65)	1.62	2.13	52.51	47.49
MADWTR4	36 (47)	1.30	2.10	41.41	58.59
MADWTR	41.50 ± 1.92	1.61 ± 0.14	2.20 ± 0.04	55.20 ± 5.33	44.80 ± 5.33
HIDWTR1	44 (75)	1.70	2.05	57.14	42.86
HIDWTR2	50 (106)	2.12	2.09	57.65	42.35
HIDWTR3	50 (96)	1.92	2.13	31.70	68.30
HIDWTR4	50 (96)	1.92	2.18	34.28	65.72
HIDWTR	48.50 ± 1.29	1.91 ± 0.07 (B)	2.11 ± 0.02 (A)	45.19 ± 6.11*	54.80 ± 6.11*

A: P<0.05 VS TESTIGO (PRUEBA "T" DE STUDENT)

B: P<0.05 VS PADWTR (PRUEBA "T" DE STUDENT)

*: P<0.05 VS TESTIGO (PRUEBA X²)

PADWTR: PADRE DE PACIENTE CON SINDROME DE DOWN CON TRANSLOCACION.

MADWTR: MADRE DE PACIENTE CON SINDROME DE DOWN CON TRANSLOCACION.

HIDWTR: PACIENTE CON SINDROME DE DOWN CON TRANSLOCACION.

TABLA 3. FRECUENCIA DE ASOCIACIONES DE SATELITES EN LINFOCITOS DE INDIVIDUOS CON SINDROME DE DOWN REGULAR Y SUS PROGENITORES.

	NO. DE CELULAS			
	CON 1 AS	CON 2 AS	CON 3 AS	CON 4 AS
TESTIGO1	24	16	06	00
TESTIGO2	20	21	06	00
TESTIGO3	19	19	07	01
TESTIGO4	12	21	13	01
TESTIGOS	18.60 \pm 1.73	18.60 \pm 1.00	6.80 \pm 1.58	0.4 \pm 0.21
PADWRE1	06	31	09	04
PADWRE2	27	15	02	00
PADWRE3	22	09	00	00
PADWRE4	18	11	01	00
PADWRE	18.25 \pm 3.87	16.5 \pm 4.32	3.0 \pm 1.76	1.0 \pm 0.86
MADWRE1	20	24	03	00
MADWRE2	16	15	03	00
MADWRE3	20	13	03	00
MADWRE4	20	15	05	00
MADWRE	19.0 \pm 0.86	16.75 \pm 2.13	3.5 \pm 0.43	0.0 \pm 0.0
HIDWRE1	24	12	07	03
HIDWRE2	27	17	05	00
HIDWRE3	14	19	08	01
HIDWRE4	22	11	04	00
HIDWRE	21.75 \pm 2.40	14.75 \pm 1.67	6.0 \pm 0.79	1.0 \pm 0.61

PRUEBA "T" DE STUDENT, P<0.05.

TABLA 4. FRECUENCIA DE ASOCIACIONES DE SATELITES EN LINFOCITOS DE INDIVIDUOS CON SINDROME DE DOWN CON TRANSLOCACION Y SUS PROGENITORES.

	NO. DE CELULAS				
	CON 1 AS	CON 2 AS	CON 3 AS	CON 4 AS	CON 5 AS
TESTIGO1	24	16	06	00	00
TESTIGO2	20	21	06	00	00
TESTIGO3	19	19	07	01	00
TESTIGO4	12	21	13	01	00
TESTIGOS	18.60 \pm 1.73	18.60 \pm 1.00	6.80 \pm 1.58	0.40 \pm 0.21	0.0 \pm 0.0
PADWTR1	26	11	05	00	00
PADWTR2	28	11	02	00	00
PADWTR3	17	16	02	00	00
PADWTR4	22	11	03	00	00
PADWTR	23.25 \pm 2.10	12.25 \pm 1.08(A)	3.00 \pm 0.61	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
MADWTR1	27	11	06	00	00
MADWTR2	10	24	11	01	00
MADWTR3	21	14	03	02	00
MADWTR4	25	11	00	00	00
MADWTR	20.75 \pm 3.28	15.00 \pm 2.66	5.00 \pm 2.03	0.75 \pm 0.41	0.0 \pm 0.0
HIDWTR1	19	19	06	00	00
HIDWTR2	15	18	14	03	00
HIDWTR3	18	20	10	02	00
HIDWTR4	18	22	08	01	01
HIDWTR	17.50 \pm 0.75	19.75 \pm 0.73(B)	9.50 \pm 1.47(B)	1.50 \pm 0.55(B)	0.25 \pm 0.21

(A): P<0.05 VS TESTIGO (PRUEBA "T" DE STUDENT)

(B): P<0.05 VS PADWTR (PRUEBA "T" DE STUDENT)

TABLA 5. FRECUENCIAS DE ASOCIACIONES CON DOS O MAS CROMOSOMAS ACROCENTRICOS EN LINFOCITOS DE INDIVIDUOS CON SINDROME DE DOWN REGULAR Y SUS PROGENITORES.

	NO. DE ASOCIACIONES				
	C/2	C/3	C/4	C/5	C/6
	C R O M O S O M A S				
TESTIGO1	60	12	02	00	00
TESTIGO2	57	16	05	01	01
TESTIGO3	69	12	01	00	00
TESTIGO4	64	23	09	01	00
TESTIGOS	47	07	02	00	00
TESTIGOS	59.40 \pm 3.30	14.00 \pm 2.37	3.80 \pm 1.30	0.40 \pm 0.21	0.2 \pm 0.17
PADWRE1	88	18	05	00	00
PADWRE2	47	09	06	01	00
PADWRE3	49	12	02	00	00
PADWRE4	34	08	00	00	00
PADWRE	54.50 \pm 10.09	11.75 \pm 1.94	3.25 \pm 1.19	0.25 \pm 0.21	0.0 \pm 0.0
MADWRE1	48	22	06	01	00
MADWRE2	38	13	03	01	00
MADWRE3	48	07	00	00	00
MADWRE4	53	11	01	00	00
MADWRE	35.75 \pm 2.72 (A)	13.25 \pm 2.74	2.50 \pm 1.14	0.50 \pm 0.25	0.0 \pm 0.0
HIDWRE1	68	14	00	00	00
HIDWRE2	61	12	03	00	00
HIDWRE3	68	11	01	00	00
HIDWRE4	53	10	02	01	00
HIDWRE	62.5 \pm 3.09 (B)	11.75 \pm 0.73	1.50 \pm 0.55	0.25 \pm 0.21	0.0 \pm 0.0

A: P<0.05 VS TESTIGO (PRUEBA "T" DE STUDENT)

B: P<0.05 VS MADWRE (PRUEBA "T" DE STUDENT)

TABLA 6. FRECUENCIAS DE ASOCIACIONES CON DOS O MAS CROMOSOMAS ACROCENTRICOS EN LINFOCITOS DE INDIVIDUOS CON SINDROME DE DOWN CON TRANSLOCACION Y SUS PROGENITORES.

	NO. DE ASOCIACIONES				
	C/2	C/3	C/4	C/5	C/6
	C R O M O S O M A S				
TESTIGO1	60	12	02	00	00
TESTIGO2	57	16	05	01	01
TESTIGO3	69	12	01	00	00
TESTIGO4	64	23	09	01	00
TESTIGO5	47	07	02	00	00
TESTIGOS	59.40±3.30	14.00±2.37	3.80±1.30	0.40±0.21	0.2±0.17
PADWTR1	49	12	02	00	00
PADWTR2	48	05	03	00	00
PADWTR3	49	06	00	00	00
PADWTR4	46	06	01	00	00
PADWTR	48.00±0.61(A)	7.25±1.38	1.50±0.55	0.0±0.0	0.0±0.0
MADWTR1	47	14	03	01	00
MADWTR2	78	13	03	01	00
MADWTR3	57	07	01	00	00
MADWTR4	43	03	01	00	00
MADWTR	56.25±6.77	9.25±2.24	2.00±0.50	0.25±0.25	0.0±0.0
HIDWTR1	71	04	00	00	00
HIDWTR2	96	10	00	00	00
HIDWTR3	85	09	02	00	00
HIDWTR4	83	09	03	01	00
HIDWTR	83.75±4.43(A) (B) (C)	8.0±1.17	1.25±0.64	0.25±0.21	0.0±0.0

A: P<0.05 VS TESTIGO (PRUEBA "T" DE STUDENT)
 B: P<0.05 VS PADWTR (PRUEBA "T" DE STUDENT)
 C: P<0.05 VS MADWTR (PRUEBA "T" DE STUDENT)

TABLA 7. FRECUENCIA DE LAS COMBINACIONES DE ASOCIACIONES DE CROMOSOMAS ACROCENTRICOS OBSERVADOS EN LINFOCITOS DE INDIVIDUOS CON SINDROME DE DOWN REGULAR Y SUS PROGENITORES

TIPO DE AS	TESTIGOS $\bar{X} \pm e.e.$	PAOWRE $\bar{X} \pm e.e.$	MADWRE $\bar{X} \pm e.e.$	HIDWRE $\bar{X} \pm e.e.$
DD	19,60±1,63	27,00±8,23	14,50±2,86	19,75±3,83
DC	30,40±3,97	22,25±1,13	26,00±3,51	33,75±2,65(B)
CC	9,20±1,63	5,25±1,98	6,25±1,59	9,0±1,00
DDD	2,60±1,14	3,75±1,63	2,75±3,83	1,0±0,35
DDC	5,20±0,86	3,75±1,43	7,00±1,96	5,75±0,96
DCC	5,80±1,90	3,50±0,90	3,25±1,08	4,25±1,19
CCC	0,60±0,35	0,75±0,64	0,25±0,21	0,75±0,41
DDDD	0,20±0,17	0,75±0,41	0,25±0,21	0,00±0,00
DDDC	1,20±0,51	1,25±1,08	0,50±0,25	1,00±0,35
DDCC	1,80±2,03	0,25±0,21	1,75±1,02	0,25±0,21
DCCC	0,60±0,21	1,00±0,86	0,00±0,00(A)	0,00±0,00(A)
CCCC	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,25±0,21
DDDC	0,20±0,17	0,00±0,00	0,25±0,12	0,25±0,21
DDDC	0,20±0,17	0,00±0,00	0,25±0,21	0,00±0,00
DDCCC	0,00±0,00	0,25±0,21	0,00±0,00	0,00±0,00
DDDC	0,20±0,17	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

A: P<0,05 VS TESTIGO (PRUEBA "T" DE STUDENT)
 B: P<0,05 VS PAOWRE (PRUEBA "T" DE STUDENT)

TABLA 8. FRECUENCIA DE LAS COMBINACIONES DE ASOCIACIONES DE
 CROMOSOMAS ACROCENTRICOS OBSERVADOS EN LINFOCITOS DE
 INDIVIDUOS CON SINDROME DE DOWN CON TRANSLOCACION Y SUS
 PROGENITORES.

TIPOS DE AS	TESTIGOS $\bar{X} \pm e.e.$	PADWTA $\bar{X} \pm e.e.$	MADWTA $\bar{X} \pm e.e.$	HIDWTA $\bar{X} \pm e.e.$
DD	19,60±1,63	16,50±2,56	14,00±3,22	16,75±1,78
DG	30,40±3,97	25,25±1,29	35,25±9,30	36,75±11,39
GG	9,20±1,63	6,25±1,19	7,00±2,57	30,25±11,08
DDD	2,60±1,14	2,50±1,88	0,50±0,25	1,00±0,35
DDG	5,20±0,86	2,75±3,16	5,50±2,27	4,25±0,21
DGG	5,80±1,90	2,00±0,35	2,25±0,54	2,75±0,81
GGG	0,60±0,35	0,00±0,00	1,00±0,35(B)	0,00±0,00(C)
DDDD	0,20±0,17	0,50±0,43	0,25±0,21	0,00±0,00
DDDG	1,20±0,51	0,25±0,21	0,75±0,64	0,91±0,32
DDGG	1,80±2,03	0,00±0,00	1,00±0,35(B)	1,00±0,21(B)
DGGG	0,60±0,21	0,75±0,41	0,00±0,00(A)	1,00±0,21(C)
DDDDG	0,20±0,17	0,00±0,00	0,25±0,21	0,00±0,00
DDDDG	0,20±0,17	0,00±0,00	0,25±0,21	1,00±0,21(B)
DDDDGG	0,20±0,17	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

A: P<0,05 VS TESTIGO (PRUEBA "T" DE STUDENT)

B: P<0,05 VS PADWTA (PRUEBA "T" DE STUDENT)

C: P<0,05 VS MADWTA (PRUEBA "T" DE STUDENT)

DISCUSION.

El síndrome de Down o trisomía 21, es una de las cromosópatías autosómicas mejor conocidas, su frecuencia es aproximadamente de 1-700 recién nacidos vivos y no depende de factores étnicos, pero sí de la edad materna (Rivera y Cantú., 1988).

En México, se han realizado estudios de las diversas malformaciones, donde el más representativo corresponde, al Registro y Vigilancia Epidemiológica de Malformaciones Congénitas Externas (RYVEMCE) la cual indica la incidencia de malformaciones por 10,000 recién nacidos vivos, en una muestra de población mexicana, siendo para el síndrome de Down de 14.40% en 1982 (Mutchinick et al., 1988), mientras que por su lado el Instituto Nacional de Perinatología, de febrero de 1978 a junio de 1986, reportó una incidencia de 14.30% para el mismo síndrome (Zafra de la Rosa., 1988).

La asociación de satélites es considerado como un mecanismo para la producción de anormalidades cromosómicas, como la no disyunción autosómica en meiosis y en las divisiones del cigoto (trisomía 13 y 21) y las translocaciones del tipo Robertsoniano, donde estan involucrados los cromosomas acrocéntricos (Ferguson-Smith y Handmaker., 1961; Hecht y Kimberly., 1971; Mikkelsen et al., 1975; Galperin-Lemaitre et al., 1977; Rostenberg., 1980 y Pulliam y Huether., 1986).

Se piensa que una alta incidencia de asociación de satélites, pueda ser considerada una tendencia y predisposición

a una no disyunción, ocasionando las trisomías D y G. A partir de este fenómeno, también se pueden presentar las translocaciones, donde están involucrados los cromosomas acrocéntricos (Kiosoglou et al., 1964; Lyons et al., 1965 y Zellweger et al., 1966), sin embargo, aún no hay una coherencia en los resultados de diversos investigadores.

Aunque algunos estudios sobre asociaciones de acrocéntricos han demostrado que existe una variabilidad en el número y tipo de las asociaciones, debido a las técnicas de cultivo, preparación de laminillas, edad y sexo de los individuos estudiados muchos de estos han tratado de demostrar que el número y tipo de asociaciones varían en ciertas anomalías cromosómicas, principalmente las trisomías y en algunas alteraciones endocrinas (Nankin., 1970; Curtis., 1974; De Capoa et al., 1978).

TOTAL DE CELULAS CON ASOCIACIONES DE SATELITES.

Trabajos realizados por Curtis (1974) y Hansson (1979), en pacientes con síndrome de Down mostraron que en estos individuos no hay diferencias entre el número total de células con AS en comparación con individuos normales, sin embargo, Hansson (1970), encontró que en el caso de individuos con deficiencias mentales si había un incremento en el número de células con AS al ser comparados con una población normal.

Los resultados del total de células con asociación de satélites de los grupos trabajados, muestran que no hay diferencias significativas entre los individuos con síndrome de

Down regular y con translocación (tabla 1 y 2). Estos resultados, sin embargo requieren de un mayor número de individuos en estudio, ya que como se observó, dentro de las poblaciones existen variaciones individuales importantes, lo cual puede estar escondiendo algunos resultados.

ASOCIACION DE SATELITES POR CELULA.

En el análisis de los individuos con síndrome de Down regular y con translocación, los promedios de asociaciones de satélites por célula, no mostrarán diferencias significativas entre los grupos estudiados de síndrome de Down regular (tabla 1), sin embargo, para el síndrome de Down con translocación se encontró que el promedio de AS por célula en la población de padres de pacientes con Down con translocación fué estadísticamente menor que la mostrada por la población testigo, mientras que, en los individuos con Down esta proporción fue mayor con respecto a sus padres (tabla 2).

Froland y Mikkelsen (1964) y Zang y Back (1968), trabajando poblaciones normales, reportan un rango de asociaciones por célula en hombres de 1.63 a 2.36 y en mujeres de 1.61 a 2.42, por lo que concluyen que por lo menos haya dos asociaciones de satélites por célula.

Los datos obtenidos en el grupo de madres, en los dos tipos de síndrome de Down, regular y translocado, así como en el de padres de individuos con síndrome de Down regular se encuentran en el rango establecido por Froland y Mikkelsen (1964), Zang y Back (1968), lo que no sucede para los padres de síndrome de

Down con translocación en el que hay una disminución en el valor de asociaciones presentes por célula (1.47 ± 0.04).

Ferenc et al., (1988), cita que en hombres de 20 - 45 años se presentan metafases con un promedio de una asociación de satélites. Estas variaciones reflejan la posibilidad de que algunos factores como son las condiciones y tamaño del cultivo, la preparación de las laminillas, así como también, el hecho de que los cromosomas pequeños tienen menor influencia mecánica en el proceso de secado, por lo que es más fácil la separación de los cromosomas del grupo D que los del grupo G, puedan estar influenciando las frecuencias de AS por célula (Zang y Back., 1968; Nankin., 1970; Mattevi y Salzano., 1975; y De Capoa et al., 1976). Por otra parte, se sabe que no todos los cromosomas acrocéntricos son funcionales al mismo tiempo, por lo que no se encontrarán formando asociaciones y por consiguiente, no formarán parte de la organización del nucléolo (Ohno et al., 1961).

Para el estudio se tomó una muestra total de sangre que fue cultivada, desconociéndose, el número de células en el cultivo y su cinética de división, con lo que se podrían tener más células en metafase y de división más rápida, lo cual puede influir en el valor obtenido, sobre todo si se toma en cuenta que existen evidencias de que en linfocitos que se han dividido una sola vez la frecuencia de AS es mayor que en aquellos que se han dividido por dos o más ocasiones (Sigmund et al., 1979; Ardito et al., 1983; Frolov., 1986).

El hecho de que en el grupo HIDWTR se presentaran translocaciones D/G (14/21) y G/G (21/21), aberraciones estructurales de tipo Robertsoniano, (Mikkelsen et al., 1975; Emery., 1978; Rostenberg., 1980 y Pulliam y Huether., 1986), implica rupturas y reunión de cromosomas y el valor obtenido de AS presente por célula en este grupo es mayor con respecto a los demás (1.91 ± 0.07).

Se sabe que durante el rompimiento para dar origen a la translocación se involucran regiones de los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos, los cuales se reúnen para dar origen a un cromosoma metacéntrico pequeño (Moctezuma y Marquez., 1990). En el momento de la división celular generalmente se pierde la información de los brazos cortos de cada uno de los cromosomas translocados (Bernard y Freeman., 1975), información necesaria para la codificación del RNA ribosómico. La pérdida de estas copias de cistrones puede desencadenar en una respuesta compensatoria de dosificación génica entre los NORs de los diferentes cromosomas acrocéntricos, produciendo que se asocien el resto de los cromosomas, teniendo como consecuencia un posible aumento en la frecuencia de AS por célula y de cromosomas asociados (Hsu y Mead., 1969; Hendersson et al., 1972; Zankl y Nagl., 1980; Delinassios et al., 1981 y Zankl et al., 1982)

Por otro lado, aunque Nankin (1970), Zankl y Nagl (1980), y Zankl et al., (1980), encontraron que el cromosoma 21 se asocia más frecuentemente en células trisómicas que en células normales y que además, el hecho de tener un cromosoma extra, como es en el

caso de síndrome de Down, aumenta la posibilidad de asociaciones, en nuestro caso no encontramos diferencias a este nivel, aunque las variaciones individuales hacen difícil el hecho de realizar un análisis más profundo a este nivel.

CROMOSOMAS POR ASOCIACION

Cuando se describen las frecuencias de asociaciones de satélites, una de las variables que debe de tomarse en cuenta es el número de cromosomas acrocéntricos involucrados por asociación (Sigmund et al., 1979).

Los resultados obtenidos en los diferentes grupos formados, mostraron que únicamente en la población de síndrome de Down con translocación, hubo una disminución del número de cromosomas por asociación con respecto a la población normal, debido a que están involucrados solo 9 cromosomas acrocéntricos en las asociaciones de satélites.

Un estudio llevado a cabo por Curtis (1974), para diferentes poblaciones de individuos, da a conocer el valor medio de cromosomas por asociación en muestras de niños y niñas con síndrome de Down (2.289 y 2.355 respectivamente), padres de niños con síndrome de Down (2.324) y de hombres y mujeres normales (2.304 y 2.385, respectivamente), valores que son ligeramente superiores a los reportados en este trabajo para el síndrome de Down regular, mientras que para las muestras de síndrome de Down con translocación, se presenta una mayor diferencia con respecto a los datos de Curtis (1974).

Resultados obtenidos por Nankin (1970), al estudiar

poblaciones normales, muestran que son de dos a tres cromosomas acrocéntricos los que participan por asociación, mientras que Liem y colaboradores (1977), indican que en mujeres se encuentran más asociaciones simples, es decir, formados por dos cromosomas. Por su lado DiLernia (1980), obtiene un rango de 2.178 ± 0.176 para la media de cromosomas por asociación, pudiéndose observar que, en general dos es el rango mas común (Ferenc *et al.*, 1988; Moctezuma y Marquez., 1990), por lo que los datos de los pacientes con síndrome de Down con translocación, se encuentran dentro de los rangos propuestos por estos autores.

PORCENTAJE DE PARTICIPACION DE LOS CROMOSOMAS D Y G

Los porcentajes teóricos de participación de los cromosomas acrocéntricos deben de ser del 60% para los cromosomas del grupo D (6 cromosomas) y del 40% para los del grupo G (4 cromosomas) (Zang y Back., 1968), datos que fueron confirmados por DiLernia (1980), el cual encontró en una población normal, que el porcentaje de participación para estos cromosomas acrocéntricos era de un 59.44% para el grupo D y de un 40.56% para el grupo G.

Los porcentajes obtenidos muestran una gran variabilidad individual, sin embargo, los promedios de cada una de las poblaciones son semejantes a lo calculado, (no hay diferencias estadísticamente significativas), para las participaciones de cada uno de los grupos de cromosomas a excepción, de los individuos con translocación, observándose un aumento en la proporción de participación de los cromosomas G (Tabla 2).

En el grupo de individuos con síndrome de Down por translocación se encuentran 2 pacientes con translocación D/G (14/21) y cuyas frecuencias se encuentran estas cercanas al 60-40% teórico, sin embargo, los 2 pacientes restantes con translocación G/G (21/21) son los que presentan una desviación estadísticamente significativa a estos porcentajes. Estos resultados pueden deberse a que en el caso de la translocación G/G en el cual hay un incremento de AS con dos cromosomas, observándose que fueron del tipo GG para el grupo HIDWTR.

Las distribuciones del número de AS por célula muestran una gran variabilidad individual (tabla 3 y 4). Sin embargo, solo en el caso de los individuos con la translocación se encontraron diferencias a este nivel, en los que se obtuvieron frecuencias más elevadas de células con 2, 3 y 4 AS con respecto a sus padres (tabla 4).

Estos resultados, están de acuerdo a lo obtenido previamente, ya que en el caso de las frecuencias de AS por célula, el grupo de individuos con síndrome de Down por translocación mostraron un incremento significativo, debido a un posible fenómeno de compensación, por lo que este puede ser el motivo por el cual se incrementan células con AS, así como el número de estas por célula.

Por otro lado, también se observó que la frecuencia de las distribuciones del número de células con 2 AS en los padres de niños con translocación, hubo una diferencia menor con respecto a los testigos (12.25 ± 1.08 vs 18.60 ± 1.00 , $P < 0.05$) (tabla 4). De

acuerdo a lo reportado por Mikkelsen et al., (1975) y Guichaoua et al., (1986), se esperaba que los padres presentaran un incremento de AS por célula, lo cual incrementa la posibilidad de dar origen a no disyunciones y/o translocaciones, sin embargo, en este caso tenemos una relación contraria.

La formación de las AS depende principalmente de la funcionalidad fisiológica de la región organizadora del nucléolo y de la presencia de DNAR (Markovic et al., 1978; Houghtone., 1979), por lo que cualquier alteración de la funcionalidad o la pérdida parcial de DNAR puede conducir a que las proporciones de AS disminuyan (Schmid et al., 1974; Mattei et al., 1974). Los resultados encontrados en este grupo parecen indicar que en particular los padres pueden estar presentando alguna de estas alteraciones, sin embargo, esto no pudo ser comprobado ya que se requiere emplear tinción de plata para NOR e hibridización in situ para el DNAR (Houghtone., 1979).

En el caso del número de cromosomas que participan por AS para el Down regular (tabla 5), se observaron algunas modificaciones solo en cuanto al número de AS con dos cromosomas, sin embargo, no existe relación alguna con los demás parámetros cuantificados, por lo que estos resultados pueden ser por variaciones individuales.

Para el caso de los padres (PADWTR), se presentó una disminución significativa en el número de AS con dos cromosomas al compararlos contra los testigos, mientras que para los niños Down con translocación se encontró un incremento en este tipo de

AS con respecto a todos los grupos (tabla 6). El hecho de que este tipo de síndrome sea derivado de una translocación, incrementa por si sola la posibilidad de encontrar asociaciones D/G o G/G (Galperin-Lemaitre., 1977; Mikkelsen et al., 1975; Ferenc et al., 1988), incrementándose por consiguiente las frecuencias de AS con dos cromosomas, datos que fueron corroborados al encontrar una mayor incidencia de estas (Tabla 8).

TIPO DE ASOCIACION.

Denton et al., (1976), indicó que de las 32 posibles combinaciones entre cromosomas de los grupos D y G en el hombre, solo 17 han sido observadas en las metafases, dividiendolas en cinco grupos de acuerdo al número de cromosomas asociados.

En este trabajo se encontraron 16 combinaciones y fueron agrupadas en la misma forma que Denton et al., (1976), encontrando que el número total de asociaciones de satélites disminuye con respecto a un incremento en el número de cromosomas asociados, comportamiento previamente descrito, (Curtis., 1974; Denton et al., 1976; Liem et al., 1977; DiLernia ., 1980 y Moctezuma y Marquez., 1990) y donde las asociaciones de satélites más comunes están formados por dos cromosomas para los síndrome de Down regular y con translocación (DiLernia., 1980; Ferenc et al., 1988 y Moctezuma y Marquez., 1990). Para las muestras analizadas, tanto del síndrome de Down regular como translocado este comportamiento es similar (Tabla 7 y 8).

Los padres de individuos con síndrome de Down regular,

mostraron variaciones en cuanto a la frecuencia de cromosomas asociados al ser comparados con sus hijos y con los testigos, sin embargo, no se puede obtener una relación entre estas asociaciones y la posibilidad de herencia del cromosoma 21 (tabla 7).

En el caso de los individuos con síndrome de Down por translocación (tabla 8), se sabe que al ser los padres normales la translocación se formó de novo en las células germinales de alguno de los progenitores (Emery., 1978; Rockman-Greenberg et al. ., 1982). Este hecho se ve reflejado en las frecuencias de AS del tipo DD, DG y GG, las cuales son similares entre los progenitores y los testigos. La presencia de la translocación en los pacientes estudiados se manifestó en un incremento en las frecuencias de AS del tipo GG, comportamiento ya esperado, ya que existe un cromosoma 21 extra, lo cual incrementa por sí solo la posibilidad de que estas AS se incrementen, además de que, como se mencionó anteriormente, se puede presentar una mayor actividad en la región NOR de los cromosomas 21 no translocados, lo que conduce a una mayor probabilidad de asociación (Zankl y Nagl., 1980; Zankl et al., 1982).

CONCLUSIONES

Se ha establecido que existe un mecanismo de compensación en la actividad de los cromosomas acrocéntricos al asociarse para reformar el nucléolo, como sucede en la actividad del NOR del cromosoma extra, o en la pérdida cromosómica, (considerándose la translocación como esta última) ya que las regiones organizadoras se rompen y se pierden por lo que solo se unen los brazos largos de los cromosomas acrocéntricos.

Los resultados indican, que en la frecuencia de AS en linfocitos de pacientes con síndrome de Down, regular y con translocación, existe variabilidad en forma individual, donde la pérdida o ganancia de uno o más NOR activos pueden ser la causa de una reacción diferente de la célula. Sin embargo, en la trisomía 21 este mecanismo de compensación parece no ser completa, ya que se reportado que hay un ligero aumento en la frecuencia de asociación en las células con 47 cromosomas (Zankl y Nagl., 1980).

Por los resultados analizados se concluye que, para el síndrome de Down regular no hay relación entre la frecuencia de AS de los padres con la presencia de trisomía 21 en los hijos, ya que los padres se comportan como la muestra testigo, por lo que se piensa que la presencia de síndrome de Down regular fue una mutación de novo, aunque no hay que olvidar que existen agentes que interfieren en la actividad de los genes de los NORs y estos pueden alterar las AS, por lo que se requiere realizar un estudio de la actividad génica en los NORs por hibridización in situ o

tinción con plata.

Para el síndrome de Down con translocación, se indica que el número total de células con AS, AS por célula, células con diferentes valores de AS y tipos de AS no hay diferencias significativas con respecto a la población normal, pero en los padres se presentan valores bajos para los diferentes parámetros estudiados, por lo que las frecuencias de AS de los progenitores no son la causa de las anomalías cromosómicas presentes en los hijos. Por otro lado, hay que tener en cuenta que se presentó una translocación y una no disyunción en la descendencia, por lo que este grupo solamente presentara el incremento de AS en sus células. Posiblemente el no presentar un incremento de AS en las células de los padres, se deba a que tengan alguna alteración en la funcionalidad de los NORs o que exista pérdida de DNAr, por lo que también, se deberá realizar un estudio empleando la técnica de plata o hibridización del DNAr para poder establecer la causa.

Independientemente, que se hayan observado variaciones individuales en las muestras analizadas y que no se pudiera obtener una clara relación entre la presencia de las AS y su participación en la inducción del síndrome de Down, los datos se encuentran dentro de los rangos reportados por otros autores, por lo que sería recomendable, incrementar el número de individuos con estas características, así como en número de células a analizar.

El análisis del número de cromosomas por asociación (tabla 6) y el tipo de cromosomas que interviene por cada una de ellas

(tabla 8), mostró que en el caso de los pacientes con síndrome de Down por translocación, hubo un incremento muy grande de las AS con dos cromosomas y del tipo GG. Estos datos pueden estar reflejando el tipo de evento que condujo a la aparición del síndrome, sin embargo, se requiere un mayor análisis para poderlo comprobar.

La facilidad para la determinación por medio de las AS de la posible presencia de no disyunción y translocación que pudiera presentarse en los descendientes, sobre todo, cuando se conoce que en la familia existe un individuo con estos problemas de trisomía y/o translocación, puede ser una herramienta predictiva complementaria.

El trabajo se efectuó con padres jóvenes, sin embargo, no hubo relación entre la edad y la presencia de AS, lo cual de esta manera también se hubiera podido conocer el riesgo de la presencia de tener un descendiente con estas aberraciones cromosómicas.

Es por lo tanto, importante llevar a cabo más estudios respecto a AS ya que, de alguna manera existe una relación entre estas regiones del cromosoma y las alteraciones conocidas como translocación y no disyunción, lo cual nos daría una visión complementaria para poder entender el mecanismo de formación de estas.

APENDICE I.

PREPARACION DE REACTIVOS PARA BANDAS G.

1.- Buffer de fosfatos:

Buffer A. KH_2PO_4 (fosfato monobásico de potasio). Pesar 113.4 g y disolver en 2.5 litros de agua destilada.

Buffer B. Na_2HPO_4 (fosfato dibásico de sodio). Pesar 148.3 g y disolver en 2.5 litros de agua destilada, ajustar el pH a 6.8 con HCl o NaOH.

2.- Giemsa al 5% con Buffer de fosfatos.

3.- Tripsina: pesar 250 mg y disolver en 100 ml de buffer de fosfatos. Tomar una alícuota de 0.2 ml y aforar a 50 ml con buffer de fosfatos, distribuir en alícuotas de 0.2 ml y guardar en congelación.



Fotografía de una célula en metafase, mostrando una asociación del tipo DDG, en un individuo normal.



Fotografía de una célula en metafase, mostrando un tipo de AS de los cromosomas del grupo D, en un individuo con síndrome de Down regular.

REFERENCIAS

- ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., WATSON, J.D. 1986. MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL. GARLAND. PUBLISHING. INC. NEW YORK Y LONDON.
- ARDITO, G., LAMBERT, L., BIGATTI, P., AND ATANYON, R. 1983. THE EFFECT OF CELL KINETICS AND HARVEST TIME ON SCE AND NOR ASSOCIATIONS IN MADACA FUSCATA LYMPHOCYTES. CYTOGENET CELL GENET 36: 532-536.
- BEAUDET, A.L., SCRIVER Ch.R., SLY W.S., VALLE, D., COOPER D.N., Mc.KUICK, V.A., SCHMIDKE, J. 1989. GENETICS ANS BIOCHEMISTRY OF VARIANT HUMAN PHENOTYPES. IN. SCRIVER, Ch.R. THE METABOLIC BASIS OF INHERITED DISEASE. TOMO I. Mc.GRAWHILL, MEXICO, D.F. p 3-53
- BERNARD, J. AND FREEMAN, M. 1975. CAUSES AND CONSEQUENCES OF ROBERTSONIAN EXCHANGE. CHROMOSOMA 52: 123-136.
- BIANCHI, N.O. 1978. DUPLICACION CROMOSOMICA Y HETEROCROMATINA A NIVEL MOLECULAR Y CITOLOGICO. PROGRAMA REGIONAL DE DESARROLLO CIENTIFICO Y TECNOLOGICO. DEPARTAMENTO DE ASUNTOS CIENTIFICOS DE LOS ESTADOS AMERICANOS. WASHINGTON, D.C.
- BRINK, J.M., LOS, P.L. AND NIENHAUS, A.J. 1962. SATELLITE ASSOCIATIONS AND THE IDENTIFICATION OF THE Y CHROMOSOME IN MAN. GENETICA 33: 45-51.
- BUSCH, H. AND SMETANA, K. 1970. THE NUCLEOLUS. ACAD. PRESS, NEW YORK.
- CHOO, K.H., VISSLER, B., BROWN, R., FILBY, R.G. AND EARLE, E. 1988. HOMOLOGOUS ALPHA SATELLITE SEQUENCES ON HUMAN ACROCENTRIC CHROMOSOMES WITH SELECTIVITY FOR CHROMOSOMES 13, 14 AND 21: IMPLICATIONS FOR RECOMBINATION BETWEEN NONHOMOLOGUES AND ROBERTSONIAN TRANSLOCATIONS. NUCLEIC ACIDS RES, FEB 25; 16(4): 1273-1284.
- COHEN, M.M. AND SHAW, M. 1967. THE ASSOCIATION OF ACROCENTRIC CHROMOSOMES IN 1000 NORMAL MALE METAPHASE CELLS. ANN. HUM. GENET. 31: 129-140.
- COOKE, P. 1972. AGE-RELATED VARIATION IN THE NUMBER OF SECONDARY ASSOCIATIONS BETWEEN ACROCENTRIC CHROMOSOMES IN NORMAL FEMALES AND PATIENTS WITH TURNER'S SYNDROME. HUM. GENET. 17: 29-35.
- CURTIS, D.J. 1974. ACROCENTRIC ASSOCIATIONS IN MONGOL POPULATION. HUMANGENETIK 22: 17-22.

- DE CAPOA, A., FERRARO, M., MENENDEZ, F., MOSTACCI, C., PELLICCIA, F. AND ROCCHI, A. 1978. Ag STAINING OF THE NUCLEOLUS ORGANIZER (NO) AND IT'S RELATIONSHIP TO SATELLITE ASSOCIATION. HUMAN. GENET. 44:71-77.
- DELINASSIOS, J.G., VOLOUDAKIS-BALTATZIS, I., KOTTARIDIS, S.D. AND GARAS, J. 1981. NONRANDOM ASSOCIATION OF ACROCENTRIC CHROMOSOMES IN HUMAN EPITHELIAL CELLS. EXPERIENTIA 37:476-477.
- DENTON, T.E., HOWELL, W.M. AND BARRETT, J.V. 1976. HUMAN NUCLEOLAR ORGANIZER CHROMOSOMES: SATELLITE ASSOCIATIONS. CHROMOSOMA 55: 81-84.
- DILERNIA, R., RIVA, M. L., DALPRA, L., AND GIMELLI, E. 1980. SATELLITE ASSOCIATIONS AND SILVER STAINING IN A CASE OF MULTIPLE G AND D VARIANTS. HUM. GENET. 53: 237-240.
- EMERY, A.E.H. 1978. GENETICA MEDICA. NUEVA EDITORIAL INTERAMERICANA. MEXICO. D.F. 4'- ed.
- FAKAN, S. AND HERNANDEZ-VERDUN, D. (EDS) . 1986. THE NUCLEOLUS AND THE NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS. BIOL. CELL. 56: 189-206.
- FERENC, TOMASZ, HENRYK, HUEBNER AND FRANCISZEK BYCZKIEWICZ. 1988. AN ANALYSIS OF SATELLITE ASSOCIATIONS OF HUMAN ACROCENTRIC CHROMOSOMES : II AN ANALYSIS OF CHROMOSOME PATTERNS IN PERSONS AT THE AGE OF 20-25 AND 35-45 YEARS. GENET POL. 29(2): 199-214.
- FERGUSON-SMITH, M.A. AND HANDMAKER, S.D. 1961.OBSERVATIONS ON THE SATELLITED HUMAN CHROMOSOMES. LANCET, MARCH 25: 638-640.
- FERGUSON-SMITH, M.A. AND HANDMAKER, S.D. 1963. THE ASSOCIATION OF SATELLITES CHROMOSOMES WITH SPECIFIC CHROMOSOMAL REGIONS IN CULTURED HUMAN SOMATIC CELLS. ANN.HUM. GENET. 27: 143-156.
- FIALKOW P.J., UCHIDA, J.A., HECHT F., MOTULSKY, A.G. 1965. INCREASED FREQUENCY OF THYROID AUTOANTIBODIES IN MOTHERS OF PATIENTS WITH DOWN'S SYNDROME. LANCET II: 868-870.
- FORD, E.H.R. 1973. HUMAN CHROMOSOMES. ACADEMIC PRESS. NEW YORK.
- FREZAL, J,, FEINGOLD, J., TUCHMANN-DUPLESSIS, H. 1974. GENETICA. ENFERMEDADES HEREDITARIAS DEL METABOLISMO. EMBRIOPATIAS. ESPAXS PUBLICACIONES MEDICAS. ESPAÑA.
- FRIAS V.S. 1988. CICLO CELULAR EN PACIENTES CON

ALTERACIONES CROMOSOMICAS. TESIS, FACULTAD DE CIENCIAS,
U.N.A.M. MEXICO, D. F.

- FROLAND, A. AND MIKKELSEN, M. 1964. STUDIES ON SATELLITE ASSOCIATIONS IN HUMAN CELLS. HEREDITAS (LUND) 52: 248.
- FROLOV, A.K. 1986. FREQUENCY OF ACROCENTRIC CHROMOSOME ASSOCIATIONS IN LONG-TERM CULTURE OF HUMAN LYMPHOCYTES. TSITOL GENET. 20(3): 166-171.
- GALPERIN, H. 1968. COMPARATIVE STUDY OF THE ASSOCIATION OF HUMAN ACROCENTRIC CHROMOSOMES IN MALES AND FEMALES MITOSIS. CYTOGENETICS 7: 447-454.
- GALPERIN, H. 1969. RELATIVE POSITIONS OF HOMOLOGOUS CHROMOSOMES OR GROUPS IN MALES AND FEMALES METAPHASES FIGURES. HUM. GENET. 7: 265-274.
- GALPERIN-LEMAITRE, H., HENS, L., KIRSCH-VOLDERS, M., SUSANNE, C. 1977. NON-RANDOM ASSOCIATION OF TRYPSIN-BANDED HUMAN ACROCENTRIC. CHROMOSOMES HUM. GENET. 35:261-268.
- GIMENEZ-MARTIN, G., DE LA TORRE, C., LOPEZ-SAEZ, J.F., ESPONA P. 1977. PLANT NUCLEOLUS: STRUCTURE AND PHYSIOLOGY. CITOBIOLOGIE 14: 421-462.
- GOESSENS, G. 1984. NUCLEOLAR STRUCTURE. INT.REV. CYTOL. 87: 107-158.
- GOSDEN, J.R., LAWRIE, S.S., GOSDEN, C.M. 1981. SATELLITE DNA SEQUENCES IN HUMAN ACROCENTRIC CHROMOSOMES: INFORMATION FROM TRANSLOCATIONS AND HETEROMORPHISMS. AM. J. HUM. GENET. 33:243-251.
- GUICHAOUA, M.R., DEVICTOR, M., HARTUNG, M., LUCIANI, J.M. AND STHAL, A., 1986. RANDOM ACROCENTRIC BIVALENT ASSOCIATIONS IN HUMAN PACHYTENE SPERMATOCYTES. MOLECULAR IMPLICATIONS IN THE OCURENCE OF ROBERTSONIAN TRANSLOCATIONS. CYTOGENET. CELL. GENET. 42: 191-197.
- HADJIOLOV, A.A. 1985. THE NUCLEOLUS AND RIBOSOME BIOGENESIS. SPRINGER- VERLAG, NEW YORK.
- HANSSON, A. 1970. DIFFERENCES IN THE SATELLITE ASSOCIATION PATTERN IN THE HUMAN POPULATION. HEREDITAS 66: 21-30.
- HANSSON, A. 1971. SATELLITE ASSOCIATION IN THE HUMAN METAPHASE CHROMOSOMES. HEREDITAS 69: 269.
- HANSSON, A. 1979. SATELLITE ASSOCIATION IN HUMAN METAPHASES. A COMPARATIVE STUDY OF NORMAL INDIVIDUALS PATIENTS WITH DOWN SYNDROME AND THEIR PARENTS. HEREDITAS 90: 59-83.

- HARDEN, D.S. 1961. THE CROMOSOMES. IN L.S.P., ED: RECENT ADVANCES IN HUMAN GENETICS. LITTLE, BROWN, BOSTON.
- HASSOLD, T.J. 1985. THE ORIGIN OF ANEUPLOIDY IN HUMANS. IN. DELLARCO, V.L., VOYTEK, P.E., HOLLAENDER, A. (EDS) ANEUPLOIDY ETIOLOGY AND MECHANISMS. NEW YORK: PLENUM.
- HAUKSDOTTIR, H., HALLDORSSON, S., JENSSON, O., MIKKELSEN, M., McDERMONT, A. 1972. PERICENTRIC INVERSION OF CHROMOSOME No. 13 IN A LARGE FAMILY LEADING TO DUPLICATION DEFICIENCY CAUSING CONGENITAL MALFORMATIONS IN THREE INDIVIDUALS. J. MED. GENET. 9: 413-420.
- HECHT, F., CASE, M.P., LOVRIEN, E.W., HIGGINS, J.V. THULINE, H.C., AND MELNYK, J. 1968. NON-RANDOMNESS OF TRANSLOCATION IN MAN: PREFERENTIAL ENTRY OF CHROMOSOMES INTO 13-14/21 TRANSLOCATIONS. SCIENCE 161: 371.
- HECHT, F. AND KIMBERLING, W.J. 1971. PATTERNS OF D CHROMOSOME INVOLVEMENT IN HUMAN (DqDq) AND (DqGq) ROBERTSONIAN REARRANGEMENTS. AM. J. HUM. GENET. 23:361-367.
- HEITZ, E. 1931. DIE URSACHE DER GESETZMÄßIGEN ZAHL, LAGE FORM UND GROBE PFLANZLICHER NUKLEOLEN. PLANT 12: 775-844.
- HENDERSON, A.S., WARBURTON, A., AND ATWOOD, K.C. 1972. LOCALIZATION OF RIBOSOMAL DNA IN THE HUMAN CHROMOSOME DNA IN THE HUMAN CHROMOSOME COMPLEMENT. PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 69: 3394-3398.
- HENDERSON, A.S., WARBURTON, D., AND ATWOOD, K.C. 1973. RIBOSOMAL DNA CONNECTIVES BETWEEN HUMAN ACROCENTRIC CHROMOSOMES. NATURE VOL 245: 95-97.
- HERNANDEZ-VERDUN, D., HUBERT, J., BOURGEOIS, C. AND BOUTELLE, M. 1978. IDENTIFICATION ULTRASTRUCTURALE DE L'ORGANISATEUR NUCLEOLAIRE PAR LA TECHNIQUE A L'ARGENT. C.R. ACAD. SCI (PARIS), 287: 1421-1423
- HERNANDEZ-VERDUN, D., BOUTELLE, M., EGE, T., RINGERTZ, N.R. 1979. FINE STRUCTURE OF NUCLEOLI IN MICRO-NUCLEATED CELLS. EXP. CELL. RES. 124: 223-235.
- HERNANDEZ-VERDUN, D. 1983. THE NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS. BIOL. CELL. 49: 191-202.
- HOUGHTONE, J.A. 1979. RELATIONSHIPS BETWEEN SATELLITE ASSOCIATION AND THE OCURENCE OF NON-DISJUNCTION IN MAN. MUTATION RESEARCH 61: 103-114.
- HOZAK, K.P., ZATSEPINA, O., VASILYEVA, I. AND CHENTSOV, Y. 1986. AN ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF NUCLEOLUS-ORGANIZING

- REGIONS AT SOME STAGES OF THE CELL CYCLE (G_0 PERIOD, G_2 PERIOD, MITOSIS). BIOL.CELL. 57 197-206.
- HSU, T.C., BRINKLEY, B.R., AND ARRIGHI, F.E.. 1967. THE STRUCTURE AND BEHAVIOR OF THE NUCLEOLUS ORGANIZER IN MAMMALIAN CELL. CHROMOSOMA 23: 137-153.
- HSU, T.C., AND MEAD, R.A. 1969. MECHANISMS OF CHROMOSOMAL CHANGES IN MAMMALIAN SPECIATION I: COMPARATIVE MAMMALIAN CYTOGENETICS. BERLIN-HEIDELBERG-NEW YORK. SPRINGER. P 8-17.
- JIMENEZ G.L.F. 1988. EL NUCLEOLO. RELACION ENTRE LA DISTRIBUCION ESPACIAL DE ACIDOS NUCLEICOS Y PROTEINAS. TESIS, FACULTAD DE CIENCIAS, U.N.A.M. MEXICO, D.F.
- KELCH, R.P., FRANKLIN, M., SCHMICKEL, R.D. 1971. GROUP G DELETION SYNDROMES. J. MED. GENET. 8: 341-345.
- KIOSSOGLU, K.A., ROSENBAUM, E.H., MITUS, W.J. AND DAMESHEK, W. 1964. MULTIPLE CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN A PATIENT WITH ACUTE GRANULOCYTIC LEUKEMIA ASSOCIATED WITH DOWN'S SYNDROME AND TWINNING. BLOOD 24: 134-159.
- LAMPERT, F., BAHR, G.F., AND DUPRAW, E.J. 1969. ULTRASTRUCTURE OF A BURKITT'S LYMPHOMA MARKER CHROMOSOME AS INVESTIGATED BY QUANTITATIVE ELECTRON MICROSCOPY. CANCER 24: 367.
- LEVINE, H. 1971. CLINICAL CYTOGENETICS. LITTLE, BROWN AND Co. BOSTON.
- LEWIN, B. 1980. GENE EXPRESSION: II EUKARYOTIC CHROMOSOMES. JOHN WILEY AND SONS. NEW YORK.
- LIEM. S.L., DENTON, T.E. AND CHENG, K.M. 1977. DISTRIBUTION PATTERNS OF SATELLITE ASSOCIATIONS IN HUMAN LYMPHOCYTES RELATIVES TO AGE AND SEX. CHCAL GENETICS 12: 104-110.
- LYONS, R.B., THOMPSON, H., AND BIGLEY, R.H. 1965. THE "STICKY CHROMOSOME" SYNDROME. PROC. AMER. SOC. HUM. GENET. 20:25.
- MARKOVIC, V.D., WORTON, R.G., BERG, J.M. 1978. EVIDENCE FOR THE INHERITANCE OF SILVER-STAINED NUCLEOLUS ORGANIZER REGIONS. HUM. GENET. 41: 181-187.
- MATTEI, J.F., MATTEI, M.G., AYME, S., GIRAUD, F. 1974. ETUDE CHROMOSOMIQUE CHEZ LES PARENTS D'ENFANTS TRISOMIQUES. HUMANGENETIK 25:29-48.
- MATTEVI, M.S. AND SALZANO, F.M. 1975. EFFECT OF SEX, AGE AND CULTIVATION TIME ON NUMBER OF SATELLITE AND ACROCENTRIC ASSOCIATIONS IN MAN. HUM. GENET. 28: 265-270.

- MIKKELSEN, M., HENSON, A., JACOBSEN, P., AND HOLBOLTH, N. 1975. TRANSLOCATION (13q21q). FOUR GENERATION FAMILY STUDY WITH ANALYSIS OF SATELLITE ASSOCIATIONS, FLUORESCENT MARKERS AND PRENATAL DIAGNOSIS. HUMANGENETIK 27:303-307.
- MIRRE, C. AND KNIBIEHLER, B. 1982. A RE-EVALUATION OF THE RELATION-SHIPS BETWEEN THE FIBRILLAR CENTRES AND THE NUCLEOLUS-ORGANIZING REGIONS IN RETICULATED NUCLEOLI: ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION, NUMBER AND DISTRIBUTION OF THE FIBRILLAR CENTRES IN THE NUCLEOLUS OF THE MOUSE SERTOLI CELLS. CELLS. J. CELL. SCI. 55: 247-259.
- MOCTEZUMA, R. Y MARQUEZ, C. 1990. LAS ASOCIACIONES DE LOS CROMOSOMAS ACROCENTRICOS HUMANOS OBTENIDOS DE CULTIVOS DE LINFOCITOS PROCESADOS BAJO CONDICIONES SIMILARES. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA, ENSENADA, B.C. 1er. CONGRESO NACIONAL DE GENETICA . SOC. MEX. DE GENETICA, TLAXCALA.
- MUTCHINICK, O; LISKER, R Y BABINSKI, V. 1988. PROGRAMA MEXICANO DE "REGISTRO Y VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE MALFORMACIONES CONGENITAS EXTERNAS". SALUD PUBLICA DE MEXICO 30: 88-100.
- NAKAGOME, Y. 1969. DNA REPLICATION STUDIES ON HUMAN D-GROUP CHROMOSOME IN SATELLITE ASSOCIATIONS. CYTOGENETICS 8: 296-303.
- NANKIN, H.R. 1970. IN VITRO ALTERATION OF SATELLITE ASSOCIATION AND NUCLEOLAR PERSISTENCE IN MITOTIC HUMAN LYMPHOCYTES. CYTOGENETICS 9: 42-51.
- NILSSON, C., HANSSON, A., NILSSON, G. 1975. INFLUENCE OF THYROID HORMONES ON SATELLITE ASSOCIATION IN MAN AND THE ORIGIN OF CHROMOSOME ABNORMALITIES. HEREDITAS 80: 157-166.
- OCHS, R.L., LISCHWE, M.A., SHEN, E., CARROL, R.E., AND BUSCH, H. 1985a. NUCLEOLOGENESIS: COMPOSITION AND FATE OF PRENUCLEOLAR BODIES. CHROMOSOMA (BERL), 92: 330-336.
- OCHS, R.L., LISCHWE, M.A., SPOHN, W.H. AND BUSCH, H. 1985b. FIBRILLARIN: A NEW PROTEIN OF THE NUCLEOLUS IDENTIFIED BY AUTOIMMUNE SERA. BIOL. CELL. 54: 123-134.
- OHNO, S., TRUJILLO, J.M. KAPLAN, W.D. AND KINOSITA, R. 1961. NUCLEOLUS-ORGANIZER IN THE CAUSE OF CHROMOSOMAL ANOMALIES IN MAN. LANCET 11: 123-126.
- OLINS, D.E., OLINS, A.L. 1978. NUCLEOSOMAS: THE STRUCTURAL QUANTUM IN CHROMOSOMES. AMERICAN SCIENTIFIC 66: 704-711.
- PASSARGE, E. 1974. THE HUMAN KARIOTYPE. ANALYSIS OF CHROMOSOME IN HUMAN CYTOGENETICS. SCHWARZACHER, H.G., WOLF, V.,

SPRINGER VERLAG NEW YORK. p. 135-205.

- PATIL, S.R. AND LUBS, H.A. 1971. NON-RANDOM ASSOCIATION OF HUMAN ACROCENTRIC CHROMOSOMES. HUM. GENET. 13: 157-159.
- PHILLIPS, S.G., PHILLIPS D.D. 1979. NUCLEOLUS-LIKE BODIES IN MICRONUCLEI OF CULTURED XENOPUS CELLS. EXP. CELL RES. 120:295-306.
- PULLIAM L.H. AND HUETHER, C.A. 1986. TRANSLOCATION DOWN'S SYNDROME IN OHIO (USA) 1970-1981: EPIDEMIOLOGIC AND CYTOGENETIC FACTORS AND MUTATION RATE ESTIMATES. AM. J. HUM. GENET. 39(3): 361-370.
- RIVERA, H. Y CANTU G.J.M. 1988. ABERRACIONES CROMOSOMICAS DE LOS AUTOSOMAS. EN GUIZAR-VAZQUEZ, J.J. GENETICA CLINICA. DIAGNOSTICO Y MANEJO DE LAS ENFERMEDADES HEREDITARIAS. ED EL MANUAL MODERNO S.A. DE C.V., MEXICO, D.F.
- ROCKMAN-GREENBERG, C. RAY, M., EVANS, J.A., CANNING, N., HAMERTON, J.L. 1982. HOMOZYGOUS ROBERTSONIAN TRANSLOCATIONS IN A FETUS WITH 44 CHROMOSOMES. HUM. GENET. 61: 181-184.
- ROSTENBERG, I. 1980. MANUAL DE GENETICA MEDICA. EDITOR Y DISTRIBUIDOR FCO. MENDEZ OTEO. MEXICO, D.F.
- SALAMANCA G.F. 1988. ASPECTOS CITOGENETICOS DE LA HERENCIA. EN: GUIZAR-VAZQUEZ., J. J. GENETICA CLINICA. DIAGNOSTICO Y MANEJO DE LAS ENFERMEDADES HEREDITARIAS. ED. EL MANUAL MODERNO S.A. DE C.V., MEXICO D.F.
- SCHMID, M., KRONE, W., VOGEL, W. 1974. ON THE RELATIONSHIP BETWEEN THE FREQUENCY OF ASSOCIATION AND THE NUCLEOLAR CONSTRICTION OF INDIVIDUAL CHROMOSOMES. HUM. GENET. 23: 267-277.
- SEABRIGHT, M. 1971. A RAPID BANDING TECHNIQUE FOR HUMAN CHROMOSOME. THE LANCET . OCTOBER 971 Y 972.
- SIGMUND, J., SCHWARZACHER, H.G., AND MIKELSAAR, A.V. 1979. SATELLITE ASSOCIATION FREQUENCY AND NUMBER OF NUCLEOLI DEPEND ON CELL CYCLE DURATION AND NOR-ACTIVITY STUDIES ON FIRST, SECOND, AND THIRD MITOSIS OF LYMPHOCYTE CULTURES. HUM GENET 50:81-91.
- SHAW, N.W. 1961. ASSOCIATION OF ACROCENTRIC CHROMOSOMES WITH THE CENTROMERE REGION OF CHROMOSOME No. 1. LANCET i: 1351-1352.
- SHAW, M.W., CRAIG, A.P., AND RICCIUTI, F.C. 1969. RANDOM ASSOCIATION OF HUMAN ACROCENTRIC CHROMOSOMES. AMER. J. HUM. GENET. 21: 513-515.

- SMITH-KEARY, P.F. 1982. GENETICA, ESTRUCTURA Y FUNCION. PUBLICACIONES CULTURAL, S.A. 1era. REIMPRESION, MEXICO, D.F.
- SOLANGE, B.F. 1982. ORGANIZADORES NUCLEOLARES E ALTERACOES CROMOSSOMICAS NA ESPECIE HUMANA. CIENCIA E CULTURA, ABRIL, 34 (4).
- SPECTOR, O.L., OCHS, R.L. AND BUSCH, H. 1984. SILVER STAINING, IMMUNOFLUORESCENCE AND IMMUNOELECTRON MICROSCOPIC LOCALIZATION OF NUCLEOLAR PHOSPHOPROTEINS B23 AND C23. CHROMOSOMA (BERL) 90: 139-148.
- STAHL A., LUCIANI, J.M., HARTUNG, M., DEVICTOR, M., BERGELFRANC, J.L., GUICHAOUA, M.R. 1983. STRUCTURAL BASIS FOR ROBERTSONIAN TRANSLOCATIONS IN MAN: ASSOCIATION OF RIBOSOMAL GENES IN THE NUCLEOLAR FIBRILLAR CENTER IN MEIOTIC SPERMATOCYTES AND OOCYTES. PROC. NATN ACAD. SCI USA 80: 5946-5950.
- STANSFIELD, W.D. 1983. TEORIA Y PROBLEMAS DE GENETICA. MC. GRAW. HILL, MEXICO, D.F.
- TJIO, J.H. AND LEVAN, A. 1956. THE CROMOSOME NUMBER OF MAN. HEREDITAS 42: 1-6.
- TRENT, J.M., CARLIN, D.A., AND DAVIS, J.R. 1981. EXPRESSION OF SILVER-STAINED NUCLEOLAR ORGANIZING REGIONS (Ag-NORS) IN HUMAN CANCER CYTOGENET. CELL. GENET. 30: 31-38.
- WOLFE, S.L. 1981. BIOLOGY OF THE CELL. WADSWORTH PUBLISHING COMPANY BELMONT, CALIFORNIA .
- ZAFRA DE LA ROSA, G. 1988. IMPORTANCIA DE LA GENETICA EN MEDICINA. EN: GUIZAR-VAZQUEZ, J.J. GENETICA CLINICA. DIAGNOSTICO Y MANEJO DE LAS ENFERMEDADES HEREDITARIAS. ED. EL MANUAL MODERNO S.A. DE C.V., MEXICO D.F.
- ZANG, K.D. AND BACK, E. 1967. INDIVIDUAL SATELLITE ASSOCIATION PATTERNS. LANCET ii, 1423.
- ZANG, K.D. AND BACK, E. 1968. QUANTITATIVE STUDIES ON THE ARRANGEMENT OF HUMAN METAPHASE CHROMOSOMES. I. INDIVIDUAL FEATURES IN THE ASSOCIATION PATTERN OF THE ACROCENTRIC CHROMOSOMES OF NORMAL MALES AN FEMALES. CYTOGENETICS 7: 455- 470.
- ZANKL, H., MAYER, C., AND ZANG, K.D. 1980. ASSOCIATION FREQUENCY AND SILVER STAINING OF NUCLEOLUS ORGANIZING REGIONS IN HYPERTHYROID PATIENTS. HUM. GENET. 54: 111-114.
- ZANKL, H., HUWER, H., ZANG, K.D. 1982. CYTOGENETIC STUDIES ON

THE NUCLEOLAR ORGANIZER REGION (NOR). ACTIVITY IN MENINGIOMA CELLS WITH NORMAL AND HYPODIPLOID KARYOTYPES. CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS. 6: 47-53.

ZANKL, H. AND NAGL, H. 1980. SATELLITE ASSOCIATIONS AND NOR STAINING IN MITOSIS OF TRISOMY 21 MOSAICISM. HUM. GENET. 55: 115-117.

ZELLWEGER, H., ABBO, G., GUANY, R. 1966. SATELLITE ASSOCIATION AND TRANSLOCATION MONGOLISM. J. MED. GENET. 3:186-189.