



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Expediente

Número

Sección

C. CESAR PALOMINO CUEVA
P R E S E N T E .-

Manifiestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "CONTRIBUCION DEL ANALISIS -- CITOGENETICO A LA DEFINICION DE UN FENOMENO MITOTICO: LA FRE-- CUENCIA AUMENTADA DE ANAFASES" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido - aceptado como Director de dicha tesis el M.en C. Alfredo Corona Rivera.

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., 27 de Mayo de 1993

EL DIRECTOR

M. ENC. JUAN LUIS CUARENTES LEMUS



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

EL SECRETARIO

BIOL. JESÚS ALBERTO ESPINOSA ARIAS

c.c.p.- El M.en C. Alfredo Corona Rivera, Director de Tesis.pte.-
c.c.p.- El expediente del alumno.

JLCL/JAEA/Cglr.

Al contestar este oficio citese fecha y número

INSTITUCION EN DONDE SE REALIZO EL TRABAJO:

**LABORATORIO DE GENETICA HUMANA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE
LA UNIVERSIDAD DE GUEDALAJARA A CARGO DEL DR. ENRIQUE CORONA
RIVERA. AREA DE CITOGENETICA. M. en C. ALFREDO CORONA RIVERA.**

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. ALFREDO CORONA RIVERA.

DEDICATORIAS:

**A MIS PADRES: EULOGIO Y RAFAELA QUIENES
HAN ENTREGADO LO MEJOR DE SUS VIDAS
PARA MI FORMACION, LES DEDICO EL
PRESENTE TRABAJO.**

A MIS HERMANOS: POR SU APOYO Y AMISTAD.

AGRADECIMIENTOS:

Al M.en C. Alfredo Corona Rivera por su amistad y apoyo para la realización de este trabajo.

A los Biólogos Yolanda Escobedo Ibarra, Teresa A. García Cobian y David Carrillo Navarro por sus consejos y apoyo incondicional en la realización de la presente.

Al Dr Enrique Corona Rivera por su apoyo y el haber permitido la realización del trabajo en las instalaciones a su cargo.

A mis compañeros de grupo: Bertha, Clara, Gerardo, Lucy, Luz, Martina, Rigo, Roberto, Sergio, Socorro y Yolanda.

A todos mis compañeros del área de citogenética del laboratorio de genética humana por su amistad, apoyo y confianza.

A la familia Rivera Falcon por su disposición para la realización del trabajo.

A la Universidad de Guadalajara.

A TODOS MIS AMIGOS.

INDICE.

RESUMEN.....	1
INDICE DE FIGURAS.....	2
INDICE DE CUADROS.....	3
INTRODUCCION.....	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
HIPOTESIS.....	7
OBJETIVOS.....	8
MATERIAL Y METODOS.....	9
RESULTADOS.....	12
DISCUSION.....	14
CONCLUSIONES.....	18
BIBLIOGRAFIA.....	19

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TÍTULO:

**CONTRIBUCION DEL ANALISIS CITOGENETICO A LA
DEFINICION DE UN FENOMENO MITOTICO: LA FRECUENCIA
AUMENTADA DE ANAFASES.**

PRESENTA:

CESAR PALOMINO CUEVA

RESUMEN:

La frecuencia aumentada de anafases de todos los cromosomas es un fenómeno citológico para el que se proponen dos explicaciones diferentes; anafases C y División prematura de centrómeros (DPC), dado que ambos hacen referencia a causas específicas, resultan confusos. A propósito de una familia con frecuencia aumentada de anafases (FAA), se evalúa dicha perturbancia mitótica mediante un análisis citogenético, por medio de la evaluación de mutantes de resistencia a mitostáticos, estimaciones de duración de etapas mitóticas, así como de duración de ciclo celular y actividad centromérica. La posible presencia de alguna mutación de resistencia a mitostáticos fué descartada, ya que se encontraron frecuencias basales de anafases mayores a las reportadas como normal en los miembros afectados, y en los cultivos con dipiridamol no se encontraron diferencias en los índices anafásicos. Al analizar la duración de las etapas mitóticas se observaron frecuencias mayores de anafases en los miembros afectados y por consiguiente, una disminución en metafases. La duración del ciclo celular también está alterada, puesto que en los miembros afectados es mayor que en la madre considerada como normal. La técnica de tinción Cd muestra una evidente actividad centromérica en todos los miembros estudiados. Los resultados obtenidos nos proporcionan elementos para precisar dicho fenómeno citológico.

INDICE DE FIGURAS.

- FIGURA 1** DURACION RELATIVA DE LAS ETAPAS MITOTICAS EN CULTIVOS ESTUDIADOS DE LOS MIEMBROS DE LA FAMILIA.
- FIGURA 2** VALORES DE LOS INDICES PROFASICOS DE LA FAMILIA.
- FIGURA 3** VALORES DE LOS INDICES METAFAASICOS DE LA FAMILIA.
- FIGURA 4** VALORES DE LOS INDICES ANAFASICOS DE LA FAMILIA.
- FIGURA 5** VALORES DE LOS INDICES MITOTICOS DE LA FAMILIA.
- FIGURA 6** CELULA METAFASICA OBTENIDA DE UN CULTIVO DE LINFOCITOS QUE MUESTRA ICH.
- FIGURA 7** CELULA EN METAFASE INTERMEDIA OBTENIDA DE UN CULTIVO DE LINFOCITOS TEÑIDA CON LA TECNICA DE TINCION Cd.
- FIGURA 8** CELULA EN ANAFASE OBTENIDA DE UN CULTIVO DE LINFOCITOS DEL HIJO DE LA FAMILIA ESTUDIADA.
- FIGURA 9** DIVISION PREMATURA DE CROMATIDAS EN PROFASE EN UNA CELULA MITOTICA OBTENIDA DE UN CULTIVO DE LINFOCITOS DEL PADRE DE LA FAMILIA ESTUDIADA.

INDICE DE CUADROS.

- TABLA 1 CULTIVOS CELULARES REQUERIDOS PARA EL TOTAL DE EVALUACIONES CITOGENETICAS.**
- TABLA 2 VALORES ESTIMADOS DE LA DURACION DE CICLO CELULAR EN LOS MIEMBROS ESTUDIADOS A PARTIR DE ICH.**
- TABLA 3 INDICES OBTENIDOS Y NUMERO DE CELULAS ANALIZADAS EN 5 CULTIVOS DE LINFOCITOS DE LOS MIEMBROS DE LA FAMILIA ESTUDIADA.**
- TABLA 4 CRITERIOS PROPUESTOS PARA DEFINIR EL FENOMENO OBSERVADO.**

INTRODUCCION:

La mitosis es el proceso por el cual las células eucariontes distribuyen a los cromosomas duplicados en dos núcleos hijos. Este proceso es solo la fase final y microscópicamente visible de cambios previos ocurridos a nivel molecular y bioquímico durante el ciclo celular. (1,2). La mitosis es un proceso dinámico y continuo, no obstante, su conceptualización exige dividirla en cuatro etapas básicas (profase, metafase, anafase y telofase), las cuales tienen una duración de pocos minutos cada una. En cultivos de linfocitos de sangre periférica (3), dicho proceso es modificado debido al uso de la colchicina que acumula el número de células en metafase. La colchicina actúa uniéndose específicamente a los dímeros α , β de tubulina, dicha interacción interfiere con la capacidad de polimerización de los microtubulos. Aunque aún se desconoce el mecanismo preciso de acción de la colchicina, al parecer este fármaco despolimeriza a los microtubulos ya existentes mediante su incorporación al extremo de agregación del polímero bloqueando la adición de otras subunidades en ese sitio, mientras tanto, el sitio opuesto continúa experimentando una despolimerización neta, lo cual da por resultado la disgregación del polímero. (1). En cultivos de linfocitos tratados con colchicina habitualmente en nuestro laboratorio se observa de 8 a 12% de células en metafase y una muy baja ocurrencia de anafases (menor al 1%), aunque en un estudio sistemático se propone no más de un 3% (4).

Recientemente se ha establecido discusión acerca de dos fenómenos citológicos aparentemente similares para los cuales existen diferentes explicaciones: la división prematura del centrómero (DPC) y las anafases C (AC).

El término AC es derivado de mitosis C y se refiere a características dependientes de colchicina (5,6), se caracteriza porque todos los cromosomas presentan centrómeros y cromátidas separados. Considerando la información publicada al respecto se proponen dos tipos: 1.- mutantes resistentes a mitostáticos, principalmente colchicina, consistentes en una disminución de la permeabilidad a la droga, además con tetraploidías y agregaciones celulares (6,7,8), y 2.- variantes normales citológicamente idénticas a las descritas en el fenotipo resistente a la colchicina (6). El término DPC fué propuesto inicialmente a cromosomas X de cromátidas paralelas sin constricciones centroméricas, supernumerarios y asociados con un

mecanismo de aneuploidía del cromosoma X en mujeres afeosas (9,10), posteriormente dicho término se extendió a los cromosomas 3, 18 y 21, (11,12,13,14) y más tarde a todos los cromosomas (15, 16, 17), proponiendo que el fenómeno observado es diferente del DPC X propuesto anteriormente por Fitzgerald (1975).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

El fenómeno citológico de cromátidas habitualmente divergentes con centrómeros separados en todos los cromosomas y evidenciado por una frecuencia aumentada de anafases (F.A.A.) se ha designado con términos diferentes, DPC (15,16,17) y AC.(5, 6, 7,8), algunos lo han asociado con aberraciones numéricas (7,8,15,16,17,18,19), por lo que existe confusión entre el fenómeno observado y los términos utilizados. Se han propuesto diferencias que proponen la existencia de más de un fenómeno citológico (5,6,7,15,16,17,19).

Considerando que la confusión en torno a la FAA. no es sólo semántica, sino que implica más de un mecanismo de origen y, resultaría de mucha utilidad el establecimiento de criterios objetivos que precisen las propiedades correspondientes a cada fenómeno. Por tal razón y a propósito de una familia detectada con FAA. familiar.(20), se pretende evaluar dicha disturbancia mitótica al realizar un análisis citogenético que evalúe: la posible existencia de mutantes a colchicina, utilizando el conocido sinergismo entre la presencia de dipiridamol y la eficiencia de dicho mitostático para penetrar a la célula (21,22), la proporción de células en cultivo en el 1o, 2o ó 3er ciclo celular, la secuencia de separación centromérica y la presencia de centrómeros inactivos, como una contribución a la definición de dicho fenómeno.

HIPOTESIS:

Es posible establecer criterios citológicos que permitan describir el fenómeno de F.A.A. y diferenciar los términos de AC y DPC con los cuales se les ha designado.

OBJETIVOS:

- 1- Realizar un estudio citogenético familiar que permita establecer criterios objetivos que contribuyan a precisar la naturaleza del fenómeno observado.
 - 1.1- Realizar un diagnóstico citogenético en cromosomas teñidos con bandas GTG.
 - 1.2- Implementar un método mediante el cual se pueda evaluar la existencia de mutantes de resistencia a mitostáticos.
 - 1.3- Determinar la actividad centromérica de los cromosomas en estudio, mediante la técnica de tinción Cd.
 - 1.4- Evaluar el tiempo estimado de la duración del ciclo celular en cada uno de los casos de la familia, mediante la técnica de ICH.
 - 1.5- Explicar en términos citológicos el fenómeno familiar observado.
- 2- Proponer criterios que contribuyan a precisar los fenómenos citológicos reportados y los términos utilizados para designarlos.

MATERIAL Y METODOS.

El presente estudio se llevó a cabo en una familia que presentó frecuencia aumentada de anafases en cultivos con colchicina.

Para realizar el total de evaluaciones se realizaron 6 cultivos de linfocitos de sangre periférica de 72hrs.(23) en cada uno de los miembros de la familia (tabla1) considerando las siguientes variables:

Cultivo 1- colchicina 0.05 $\mu\text{g/ml}$ durante 1 hora antes de las 72 horas.

Cultivo 2- vinblastina 0.5 $\mu\text{g/m}$ durante 1 hora antes de las 72 horas.

Cultivo 3- sin mitostáticos.

Cultivo 4- dipiridamol 5 $\mu\text{g/ml}$ y colchicina 5 $\mu\text{g/ml}$ 1 hora antes de las 72 horas.

Cultivo 5-dipiridamol 5 $\mu\text{g/ml}$ y vinblastina 5 $\mu\text{g/ml}$ durante 1 hora antes de las.7 horas.

Cultivo 6- 5-bromodeoxiuridina (5-BrdU) 0.0 525ml/cultivo agregada a las 24 horas de iniciado el cultivo y arresto metafásico con colchicina.

Tabla 1.- Cultivos celulares requeridos para el total de evaluaciones citogenéticas.

cultivos.	colchicina.	vinblastina.	Dipiridamol	5-Bdu.
1	+	-	-	-
2	-	+	-	-
3	-	-	-	-
4	+	-	+	-
5	-	+	+	-
6	-	-	-	+

1- Establecimiento de la secuencia de separación de centrómeros (ISC)

De acuerdo al procedimiento propuesto por Vig, 1981 (24, 25), se tomaron en cuenta los siguientes puntos en cada una de las muestras obtenidas de los cultivos.

a.- Se utilizan mitosis que presentan cuando menos un cromosoma separado hasta las que presentan todos menos uno.

b.- Se tifieron las mitosis con tinción común utilizando giemsa.

c.-Se evaluó el grado de separación de centrómeros asignando valores en base a los siguientes criterios:

0 - cromosomas con centrómeros unidos.

1 -cromosomas en los que halla empezado la separación con clara tendencia de desprendimiento.

2 - cromosomas claramente separados del centrómero.

Se registraron además si los cromosomas tienen una tendencia divergente(d) convergente(c) o paralela(p) de sus cromátidas al separarse.

El registro de las mitosis se realizó mediante un barrido transversal al azar de las laminillas en estudio, en cantidad suficiente para completar la secuencia de separación si la calidad del cultivo lo permite.

2.-Evaluación de la existencia de mutantes de resistencia a colchicina y vinblastina para ambos mitostáticos.

Se incluyeron los siguientes abordajes metodológicos:

1-Efecto del dipiridamol :

-Establecimiento del grado de compactación de los cromosomas obtenidos determinando el número de bandas GTG (26).

-Análisis de las posibles variaciones en la frecuencia de anafases (F.A.),

2-Se realizó un análisis del índice mitótico (proporción de células en mitosis con respecto al total de células en división activa del cultivo), tomando en cuenta el número de células en interfase o que se encontraron en cualquier etapa de la mitosis, así como el registro de endoreduplicaciones, endomitosis, aneuploidias, o agregaciones celulares entre otras.

3-Estimación de la duración del ciclo celular:

-Se cuantificaron el número de mitosis en 1er, 2o y 3er ciclo por medio de su respuesta a la presencia de 5-BrdU y consecuente formación de intercambios cromátidas hermanas (ICH),(27,28).

4.-Determinación de la actividad centromérica.

-Para evaluar la actividad centromérica se realizó la técnica modificada de Denton, para tinción Cd (29),cuantificando los cromosomas teñidos(30).

Las mitosis analizadas se observaron utilizando el objetivo 40X.
El diagnóstico fué confirmado con el objetivo 100X.

RESULTADOS:

Las pruebas citogenéticas utilizadas se aplicaron a padre, madre e hijo de la familia en estudio.

En la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos de los 5 cultivos de las variables presentadas en la tabla 1 para cada miembro de la familia. En las figuras 2, 3, 4 y 5 se observan las gráficas de los índices profásico, metafásico, anafásico e índice mitótico respectivamente, para los 5 cultivos evaluados en los miembros de la familia. Debido a que los datos presentados corresponden sólo a los miembros de una familia, se realizó un análisis comparativo.

Al observar la figura 4 del índice anafásico se puede observar un valor disparado en el padre en el cultivo con colchicina, esto podría atribuirse a algún error técnico y no a una duración demasiado grande de la anafase, ya que en dos cultivos previos no se observaron valores tan grandes en donde se obtuvieron frecuencias en el padre de 0.4217 y 0.1608.

En los 5 cultivos analizados se observan en el padre 1.15% de tetraploidías, 1.88% de metafases intermedias y 1.58% de mitosis con división prematura de cromátidas en profase, en el hijo se observan 1.18% de tetraploidías, 0.94% de metafases intermedias y 0.47% de mitosis con división prematura de cromátidas en profase.

Los resultados del establecimiento de grados de compactación no presenta variaciones en los cinco cultivos estudiados de cada miembro de la familia, ya que los niveles de bandeo son homogéneos en todos los casos.

Al realizar la técnica de tinción Cd se analizaron 30 mitosis para cada miembro de la familia, resultando la tinción positiva para todos los cromosomas observados.

3-Estimación de la duración del ciclo celular:

-Se cuantificaron el número de mitosis en 1er, 2o y 3er ciclo por medio de su respuesta a la presencia de 5-BrdU y consecuente formación de intercambios cromátidas hermanas (ICH),(27,28).

4.-Determinación de la actividad centromérica.

-Para evaluar la actividad centromérica se realizó la técnica modificada de Denton, para tinción Cd (29),cuantificando los cromosomas teñidos(30).

Las mitosis analizadas se observaron utilizando el objetivo 40X.
El diagnóstico fué confirmado con el objetivo 100X.

DISCUSION:

La frecuencia de anafases en la madre en cultivos de rutina con colchicina resultó nula, dicho resultado se encuentra en el rango reportado como normal $\leq 3\%$ (4,16), mientras que en padre e hijo se observó significativamente aumentada de 22.88% y 7.8% respectivamente. El papel de la colchicina en los resultados obtenidos se clarifica al observar que en ausencia de colchicina la frecuencia aumentada de anafases en el padre e hijo de la familia en estudio disminuyó a valores todavía mayores que los observados con colchicina en la madre. Los valores sin colchicina podríamos considerarlos como frecuencias basales en los tres miembros de la familia. Estos resultados se repiten cuando se utiliza la vinblastina como arrestador metafásico, resultados similares reporta Rudd (1983) al realizar estudios con pacientes con DPC de todos los cromosomas, por lo que no podemos decir que el fenómeno observado es dependiente de colchicina (anafase C). La posibilidad de una mutante de resistencia a colchicina (7,8) que al impedir su entrada al interior de la célula incrementa la posibilidad de observar anafases en cultivo, no es apoyada por el hallazgo anterior. Para analizar mejor dicha posibilidad utilizamos el dipiridamol el cual facilita el paso intracelular a la colchicina o vinblastina, sin embargo no se observó diferencia en los índices anafásicos en el total de mitosis observadas, tampoco se observaron variaciones representativas en los grados de compactación de los cromosomas observados, por tal razón, se descarta la posibilidad de una mutante de resistencia a colchicina propuesta por Chamla (8) aunque es posible que la ausencia de diferencias (grados de compactación y frecuencias de anafases) se deba a un efecto insuficiente del dipiridamol.

La realización de estudios de microcinematografía para medir la duración de la mitosis en un paciente (All 3) investigado por Rudd et. al. (1983) presentan una reducción de la duración de metafase lo que podría llevar a la DPC. Al evaluar la duración del ciclo celular para los miembros de estudio mediante la observación de intercambios de cromátidas hermanas, se observa un porcentaje mayor de células en primer ciclo en padre e hijo con respecto a la madre, por lo que se podría especular sobre una duración

mayor en tiempo de ciclo celular en padre e hijo. Si asumimos que existe una relación directa entre el número de células en una etapa mitótica y la duración de ésta, podríamos analizar en forma indirecta la duración de cada una de ellas. El análisis de la figura 1 nos permitió ver que el porcentaje de células en metafase es siempre mayor en la madre y el porcentaje de células en anafase es siempre mayor en el padre y en el hijo, por lo que posiblemente la duración de la anafase es mayor en padre e hijo, y simultáneo a una disminución de la duración de las metafases.

Los índices de separación de centrómeros propuesto por Vig (24,25) obtenidos de las muestras, no son confiables, ya que no fué posible obtener una cantidad de células que proporcionaran información suficiente para una evaluación de las posibles variaciones en dicha secuencia, debido a que se han asociado dichas variaciones con la ocurrencia de aneuploidías (9,11,13,18,19) y separación fuera de fase (13,14,23,31).

La tinción Cd identifica una estructura específica relacionada a la función centromérica, estando ausente en centrómeros inactivos (32). Al realizar la tinción Cd no se observaron cromosomas Cd negativos, incluyéndose algunas anafases, por lo tanto podemos considerar que los casos en estudio presentan todos sus centrómeros activos y no presentan el fenómeno de DPC de acuerdo a la propuesto por Nakagome et, al. (1984). En contraste Madan y Palan 1987 reportan un caso de DPC con tinción C y Cd positivas. Se observaron cromosomas con aparente paralelismo y divergencia evidente con constricciones primarias bien definidas, por lo que las evidencias indican centrómeros funcionales.

En pacientes estudiados que presentan FAA se han relacionado con ciertas patologías, como retraso mental (15), abortos espontáneos (16,18), infertilidad (16), inmunodeficiencia, caracteres sexuales no determinados (19), así como agregaciones celulares, tetraploidías (7,8,16), trisomías (9,11,18,19), Síndrome de Roberts (17) y Disqueratosis congénita (33). Sin embargo la presencia de la FAA no se ha asociado a una entidad específica por lo que no es una evidencia directamente relacionada con dichas patologías, ya que se han encontrado frecuencias elevadas de anafases en cultivos de personas clínicamente normales (15) como en el padre de la familia en estudio. Sin embargo el padre presentó 1.15% de tetraploidías, 1.88% de metafases intermedias y 1.58% de mitosis que presentaron

división prematura de cromátidas en profase, mientras el hijo presentó 1.18% de tetraploidías, 0.94% de metafases intermedias y 0.47% de mitosis con división prematura de cromatidas en profase, las cuales son frecuencias suficientemente bajas como para considerarias relevantes aún cuando existen dos reportes con hallazgos similares, aunque inespecíficos dado que se observaron en un caso de gemelos que exhiben un bajo crecimiento, condrocitos multinucleados y leucocitos gigantes con doble ADN y 44% de tetraploidías, mientras que la madre fenotípicamente normal, presenta 11.1% de metafases intermedias y 38.4% de anafases. El hermano de la madre presenta agregaciones $4n$ y $8n$ (7), y en otro caso de una paciente con tres abortos espontáneos con un 8% de tetraploidías y una disminución en tiempo de metafases (16)

La anafase C deriva de mitosis C y se refiere a un carácter dependiente de colchicina, presentandose en pacientes con tetraploidías y agregaciones celulares por una mutante en la permeabilidad de membrana (5,6), aún cuando en pacientes sanos se han presentado frecuencias altas de anafases idénticas a las descritas en el fenotipo resistente a la colchicina (7). Por otro lado el término de DPC se ha utilizado para aneuploidías del cromosoma X (9,10), cromosomas 3, 18 y 21 (11,12,13,14) y para todos los cromosomas (15,16,17), ambos al hacer referencia a una causa específica no los consideramos adecuados a menos que se precise la misma. En nuestra familia al seguir presente la FAA. sin colchicina y evidenciar una reducción de la metafase y aumento de anafase, concluimos que el fenómeno de FAA. en forma genérica podría denominarse en forma específica como división prematura de centrómeros de todos los cromosomas (DPCtc) (Tabla 4).

Tabla 4. Criterios propuestos para definir el fenómeno observado.

	DPDtc	AC	Padre	Hijo
FAA en cultivos con colchicina.	+	+	+	+
Frecuencias basales sin colchicina.	+	+	+	+
Reducción en tiempo de metafases.	+	-	+	+
Actividad centromerica (Cd)	+	+	+	+
Tetraploidías	+	+	+	+
Agregaciones celulares	+	+	-	-

Dado que se han sugerido mutantes resistentes a mitostáticos (5,7,8), mutaciones asociadas con DPC (15), o asociadas con disturbios mitóticos(16,19), así como asociaciones incorrectas de los cromosomas en el uso mitótico (24), disfunción del uso microtubular (18) y cromosomas estructuralmente anormales (16,13) se relacionan con la ocurrencia de FAA, consideramos que la FAA corresponde a un mismo fenómeno citológico con más de una causa.

CONCLUSIONES:

La FAA. fué evidente en el padre y en el hijo, no presentandose en la madre de la familia en estudio. El hijo de la familia estudiada, presentó patologías, pero no podemos asegurar que dicho fenómeno es directamente responsable, probablemente sea el reflejo de una causa común.

Los términos AC y DPC hacen referencia a mecanismos específicos de origen. Debido a que estos términos podrían causar confusiones para el fenómeno presentado, se propone el término de FAA. para dicho fenómeno, así como para fenómenos similares, a menos que estos precisen las causas específicas de dichas alteraciones.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.-Karp G, (1987) *Biología Celular*, Segunda edición, Editorial Mc Graw Hill, México.
- 2.-De Robertis y De Robertis (1987) *Biología Celular y Molecular*, Undécima Edición, Editorial El Ateneo, Barcelona.
- 3.-Srivastava. P.K.,(1979) *Basic genetics, for health professionals*. PSG. Publishin Company Inc. Massachusetts :6- 70.
- 4- Dominguez, M.G., Rivera, H.(1992), C anaphases: A mitotic variant, *Ann. Génét*, 35: 183-185.
- 5.-Chamla Y,(1988),C anaphases rediscovered,*Hum. Genet.*79:93-94.
- 6.-Chamla Y,(1988),C anaphases in lymphocyte cultures versus premature centromere division syndromes, *Hum. Genet.*78:111-114.
- 7.-Chamla Y, Roumy M,Lassegues M, and Battin J. (1980)Altered Sensitivity to Colchicine and PHA in Human Cultured Cells, *Hum. Genet.* 53:249-253.
- 8.-Chamla Y. and Bégueret J.,(1982), Colchicine Resistance in Human Cell Lines. Pleiotropic Phenotype and Decreased Membrane Permeability, *Hum. Genet.* 61:73-75.
- 9.-Fitzgerald P.H., Pickering A.F., Mercer M.J., and Miethke P.M.,(1975), Premature centromere division: A mechanisms of non-disjunction causing X chromosome aneuploidi in somatic cells of man, *Ann. Hum. Genet.*38:417-428
- 10-Fitzgerald P.H. (1975), A mechanisms of X chromosome aneuploidy in lymphocytes of aging women, *Humangenetik*, 28: 153-158.
- 11.-Fitzgerald P.H., Archer A. S., and Morris M. C.,(1986), Evidence for the repeated primary non-disjunction of chromosome 21 as a result of premature centromere division (PCD), *Hum. Genet.* 72:58-62.
- 12.-Méhes K.,and Kosztolányi,(1990) Premature centromere division of a translocation carrier autosome, *Hum. Genet* 85:379-380.
- 13.-Méhes K.,(1978) Non-Random Centromere Division:a Mechanism of Non-Disjunction Causing Aneuploidy?, *Hum. Hered* 28:255-260.

- 14.-Bajnóczky K, and Méhes(1988), Parental centromere separation sequence and aneuploidy in the offspring, *Hum. Genet.* 78: 286-28.
- 15.-Madan K, Lindhout D, and Palan A,(1987), Premature centromere division (PCD): a dominantly inherited cytogenetic anomaly, *Hum.Genet.*77:193-196.243-248.
- 16.-Rudd N.L.,Teshima E.I.,Martin H.R., Sisken e.J., and Weksberg R. (1983) A dominantly inherited cytogenetic anomaly: A possible cell division mutant, *Hum. Genet.* 65: 117-121.
- 17.-German J, (1979),Roberts' syndrome. I. Cytological evidence for a disturbance in chromatid pairing,*Clinical Genetics* 16:441-447.
- 18.-Murthy k,k Prabhekars (1990) Mitotic Disturbances associated with inversion 9qh, *Ann. Genet.* 33:3. 169-172.
- 19.- K Miller, W Muler, L Winkler, MR Hadam, JH Rhrich and SD Flatz (1990) Mitotic disturbance associated with mosaic aneuploidies, *Hum. Genet.* 84: 361-364.
- 20.-Corona, A, García, T. A., Bobadilla, L., López , M., Cruz, L.A. y Corona, E., (1989), Frecuencia elevada de anafases. Observaciones en una familia. XIV Congreso Nal. de Genética Humana, Mérida Yuc., 14-18 Nov., pp 55.
- 21-Nelson, N.A, and Drake, S.(1984), Potentiation of methotrexate toxicity by dipiridamole, *Cancer Research*, 44: 2493-2496.
- 22.-Aguilar,P.E., Ramos,A.R., García,V.E., Rábago,V.M., Mravko, M.E.(1991), Efecto de la vinblastina sobre la morfología cromosómica. Comparación con la colchicina y el colcemid. *Patología*, 29:219-222
- 23.-Barch,J.M. (1991), The ACT cytogenetics laboratory manual. Second Edition, ED. Raven Press, New York, 17-23.
- 24.-Vig K.B.,(1981),Sequence of centromere separation: Analisis of mitotic chromosomes in man.,*Hum.Genet.* 57:247-252.
- 25.-Vig K.B.,(1981), Centromere separation: existence of sequences, *Experientia* 37:566-567.
- 26.-Josifek, K., Haessig.C.,Pantzar, T.(1991), Evaluation of chromosome banding resolution: A simple guide for laboratory quality assurance. *Applied cytogenetics*, 17:4,101.
- 27.-Crossen,P.E., and Morgan, F.W.(1977), Analysis of human lymphocyte cell cycle time in culture measured by sister chromatid differential staining, *Exp. Cell. Res* 104: 453-457.
- 28.-Latt,S.A.(1974), Localization of sister chromatid exchanging in human chromosomes. *Sciences.*185:74-76.

- 29.- Denton, E.T., Brooke, W.R., Howell, M.W.(1977), A technique for the simultaneous staining of both nucleolar organizer regions and kinetochores of human chromosomes with silver., *Stainln Technology*, 1977, vol 52., 6, 311-313.
- 30.-Nakagome,Y. Abe, T. Misawa, S Takeshita, T. and Inuma, K.(1984), The "Loos" of centromere from chromosomes of age women.*Am. j. Hum. Gen.* 36: 398-404.
- 31.- Papi I, Montali E, Marconi G, Guazzelli R, Bigozzi U, Maraschio P, and Zuffardi U.(1989) Evidence for human mitotic with pleiotropic effect, *Ann. Hum. Genet.* 53:243-248.
- 32.-Maraschio P, Zuffardi O, and Curto I.,(1980), Cd Bands and centromeric function in dicentric chromosomes, *Hum. Genet.* 54:265-267.
- 33.-Scappaticci S, Fraccaro M, Cerimele O, (1989)Chromosomes abnormalities in Dyskeratosis congenita, *American Journal of Medical Genetics* 34: 609-610.

Tabla 3. Índices obtenidos y número de células analizadas en 5 cultivos de linfocitos de los miembros de la familia estudiada.

CELULAS ACTIVAS													CELULAS INACTIVAS	TOTAL
CULTIVO	INTERFASES	MITOSIS								TOTAL CELULAS MITOTICAS	INDICE MITOTIC	TOTAL CELULAS ACTIVAS		
		PROFASES		METAFASES		METAFASES INTERM.	ANAFASES		OTRAS					
		Cantidad	Indice	Cantidad	Indice		Cantidad	Indice						
H 1	6974	14	0.1953	161	2.2470	1	15	0.2093	0	191	2.6657	7165	4411	11576
M 1	3092	20	0.6184	121	3.7414	1	0	0	0	142	4.3908	3234	1929	5163
P 1	4060	15	0.3453	193	4.4429	8	65	1.4963	3	284	6.5377	4344	1294	5638
H 2	8071	27	0.3247	148	1.7803	8	53	0.6375	6	242	2.9111	8313	5300	13613
M 2	6458	17	0.2554	176	2.6446	1	3	0.0450	0	197	2.9601	6655	2154	8809
P 2	17073	39	0.2226	307	1.7523	8	82	0.4680	10	446	2.5458	17519	5525	23044
H 3	7089	36	0.4993	79	1.0957	0	6	0.0832	0	121	1.6782	7210	4495	11705
M 3	6011	11	0.1805	72	1.1814	0	0	0	0	83	1.3619	6094	2446	8540
P 3	14487	12	0.0825	39	0.2681	0	3	0.0206	1	55	0.3782	14542	5456	19998
H 4	1728	8	0.4429	65	3.5991	0	5	0.2768	0	78	4.3189	1806	1035	2841
M 4	8329	24	0.2794	233	2.7134	0	1	0.0116	0	258	3.0045	8587	2600	11187
P 4	7047	17	0.2356	130	1.8020	1	19	0.2633	0	167	2.3149	7214	2455	9669
H 5	7330	42	0.5418	321	4.1414	7	50	0.6450	1	421	5.4315	7751	3104	10855
M 5	6209	27	0.4194	198	3.0759	1	2	0.0310	0	228	3.5420	6437	2208	8645
P 5	12341	30	0.2359	279	2.1940	4	54	0.4246	8	375	2.9490	12716	4897	17613

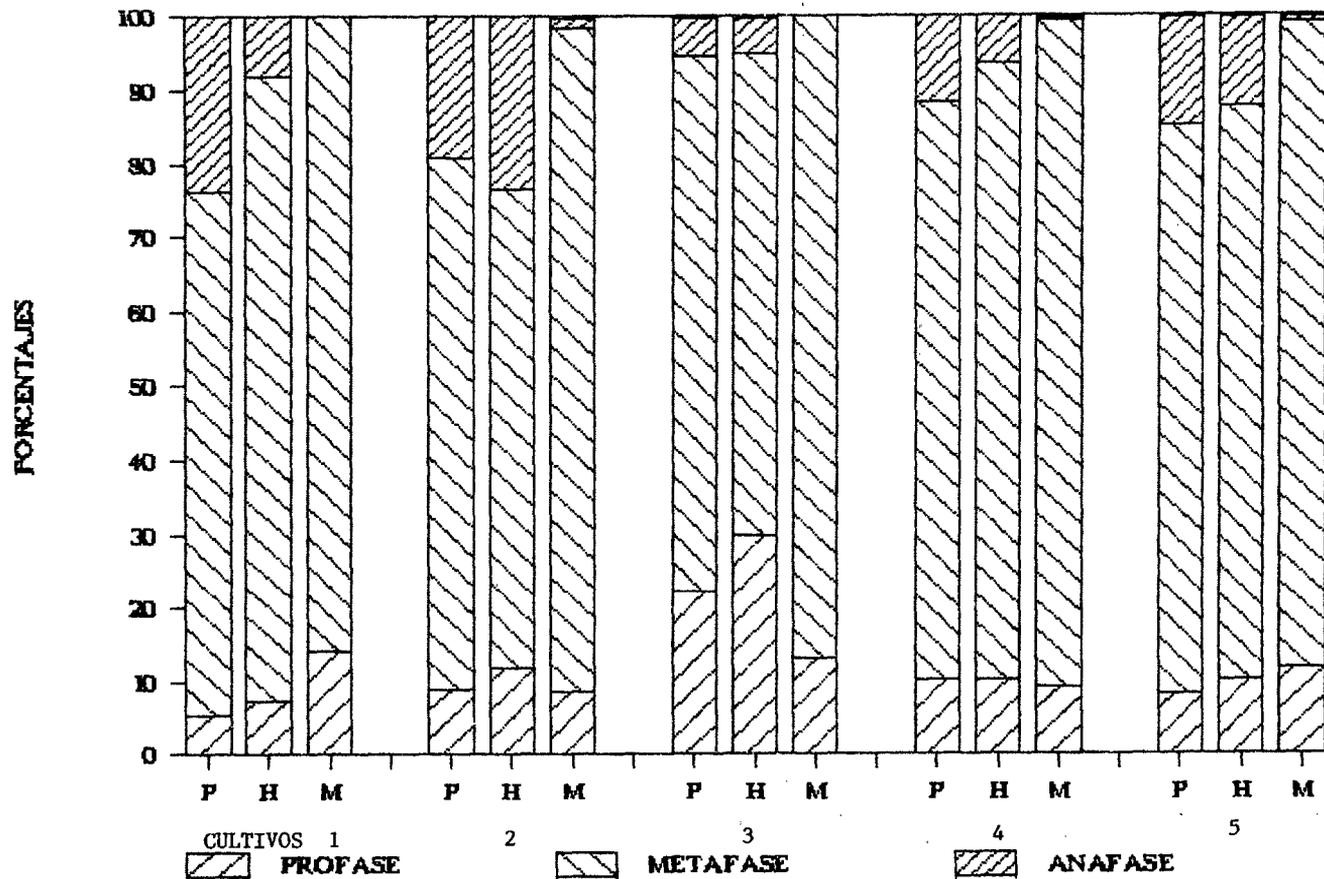


FIGURA 1 DURACION RELATIVA DE LAS ETAPAS MITOTICAS EN CULTIVOS ESTUDIADOS DE LOS MIEMBROS DE LA FAMILIA H HIJO M MADRE P PADRE

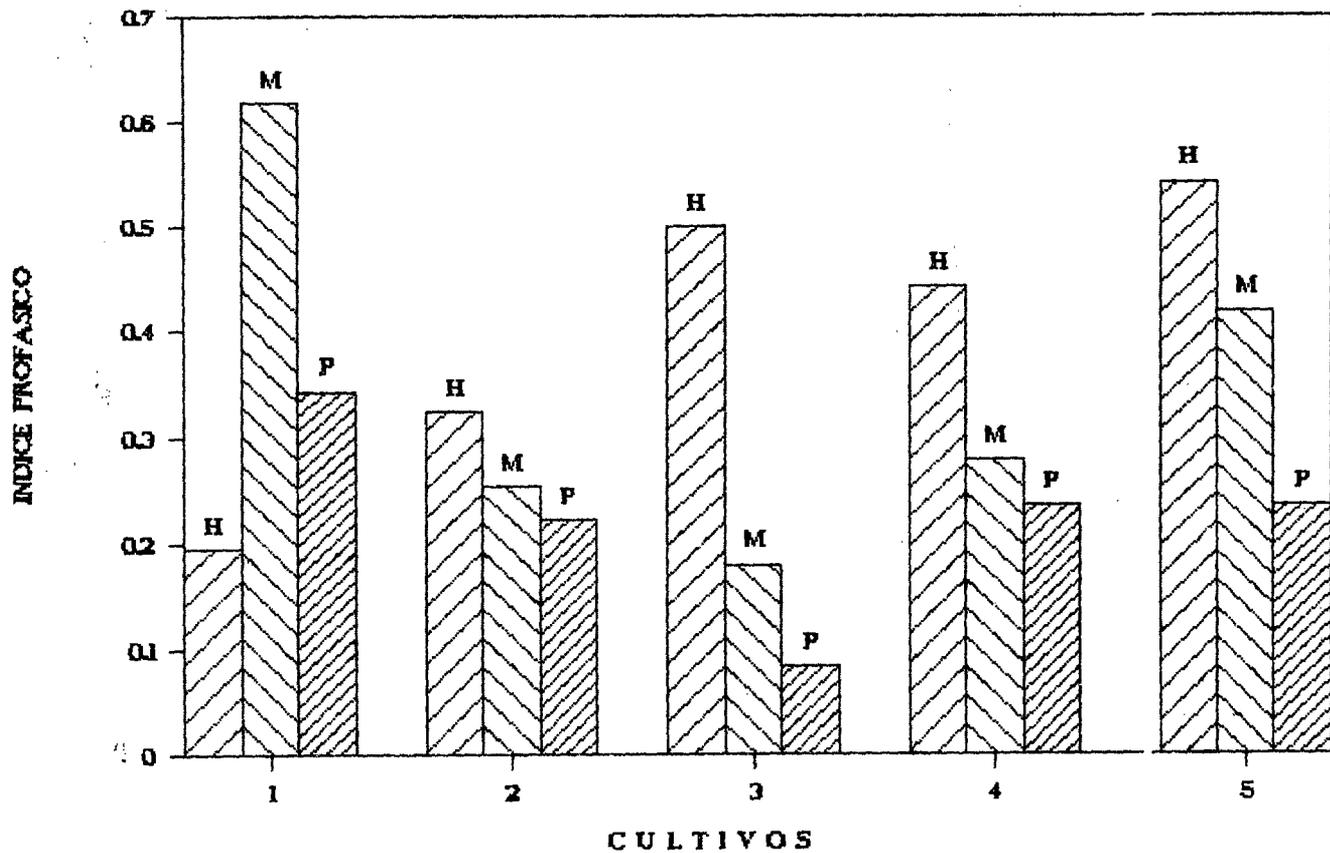


FIGURA 2 VALORES DE LOS INDICES PROFASICOS DE LA FAMILIA.
 H HIJO M MADRE P PADRE

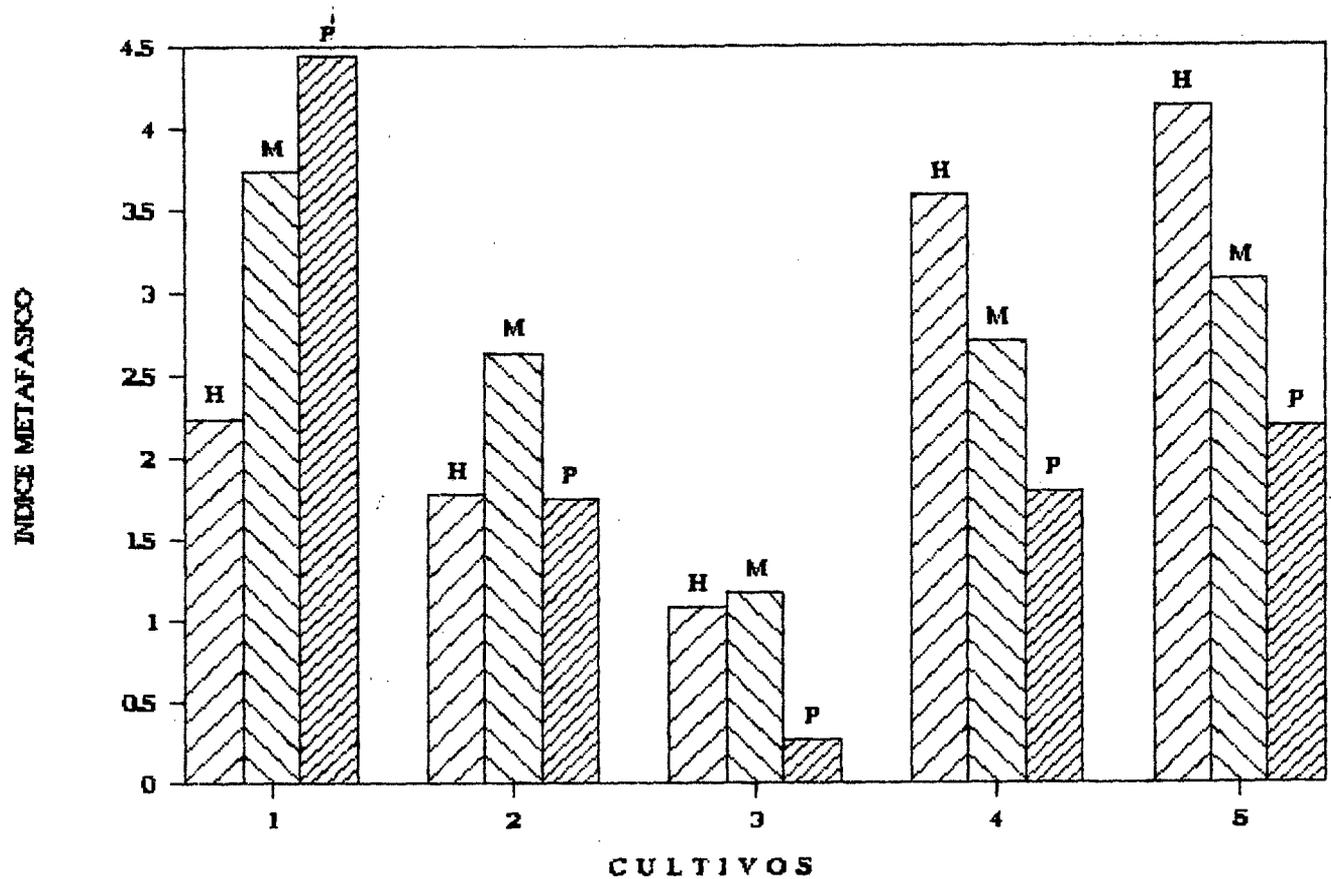


FIGURA 3 VALORES DE LOS INDICES METAFISICOS DE LA FAMILIA.
 H HIJO M MADRE P PADRE

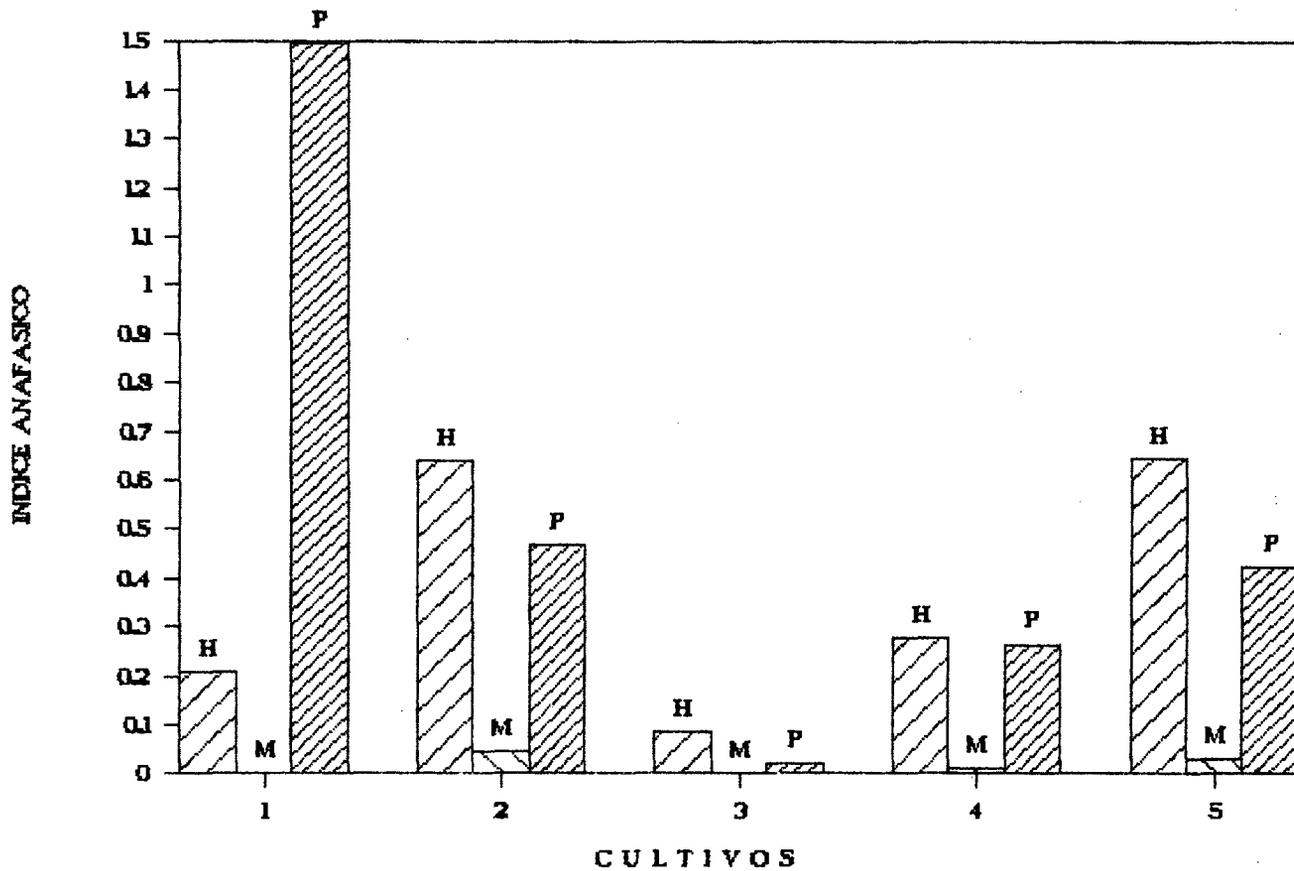


FIGURA 4 VALORES DE LOS INDICES ANAFASICOS DE LA FAMILIA .

H HIJO M MADRE P PADRE

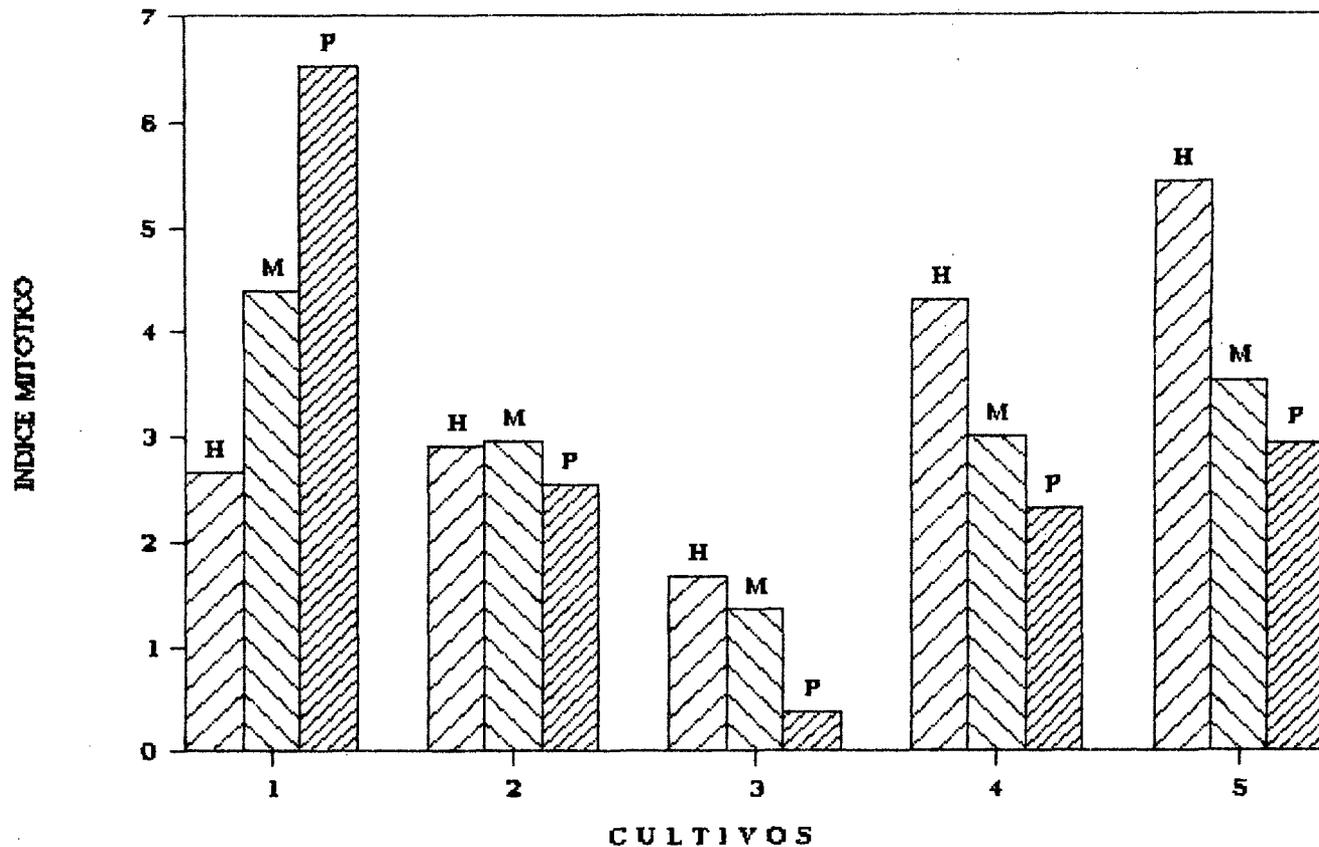


FIGURA 5 VALORES DE LOS INDICES MITOTICOS DE LOS CULTIVOS DE LA FAMILIA.

H HIJO

M MADRE

P PADRE



FIGURA 6 CELULA METAFASICA OBTENIDA DE UN CULTIVO
DE LINFOCITOS QUE MUESTRA ICH.



FIGURA 7 CELULA EN METAFASE INTERMEDIA OBTENIDA DE UN CULTIVO DE LINFOCITOS TEÑIDA CON LA TECNICA DE TINCION CD.

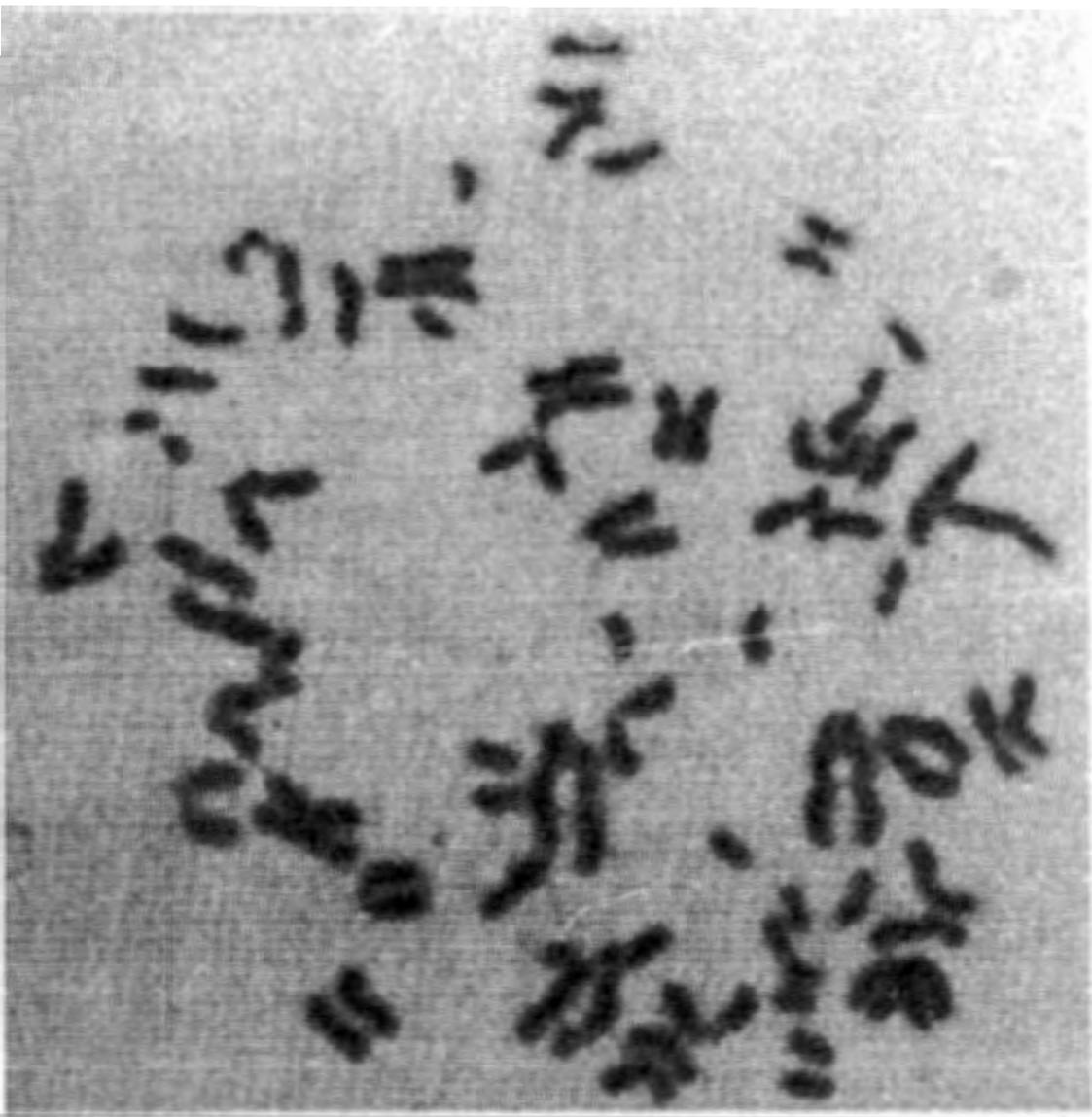


FIGURA 8 CELULA EN ANAFASE OBTENIDA DE UN CULTIVO DE LINFOCITOS DEL HIJO DE LA FAMILIA ESTUDIADA.

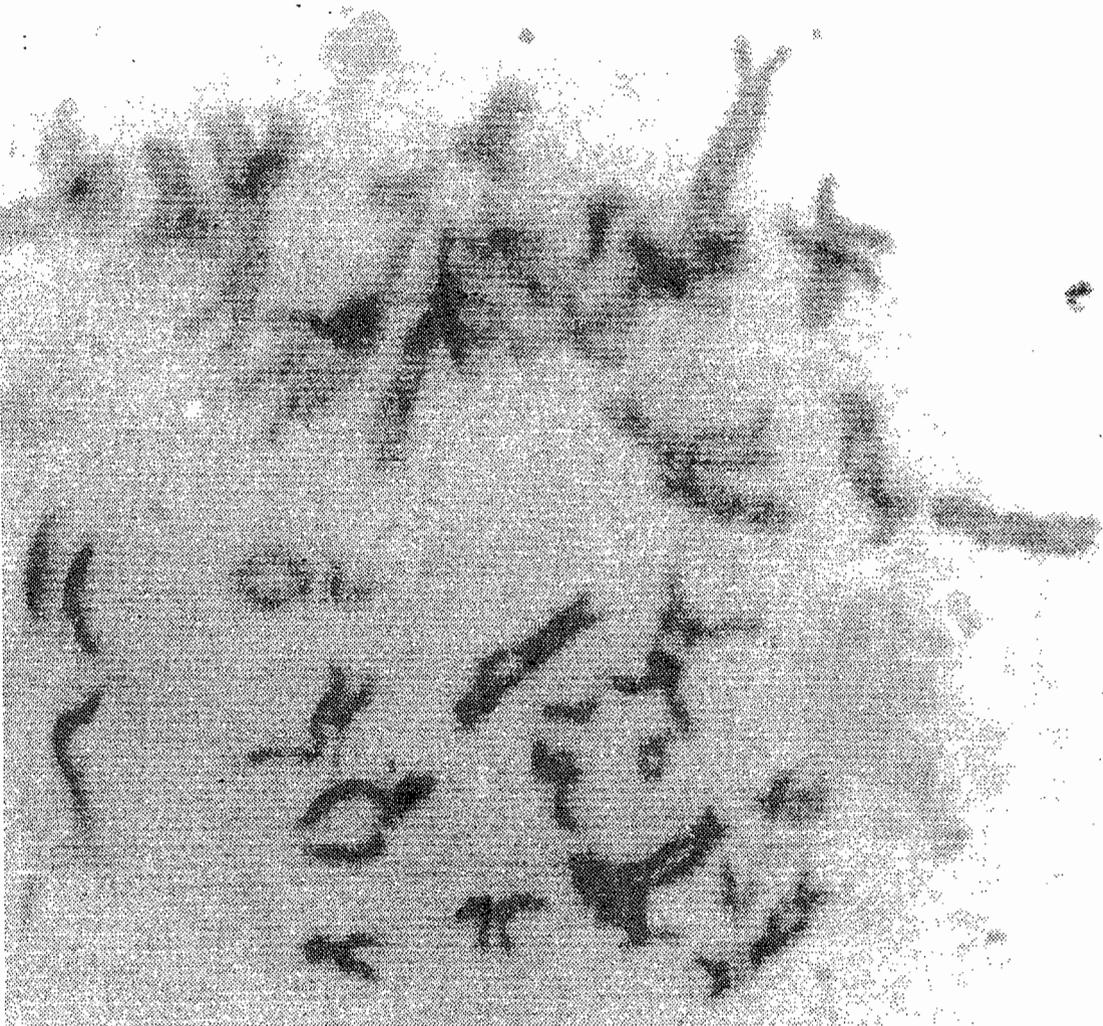


FIGURA 9

DIVISION PREMATURA DE CROMATIDAS EN PROFASE EN UNA CELULA MITOTICA OBTENIDA DE UN CULTIVO DE LINFOCITOS DEL PADRE DE LA FAMILIA ESTUDIADA.