

JULIO 1991 B

084472395

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE HETEROCROMATINA
CONSTITUTIVA EN PADRES Y PROPOSITI
SÍNDROME DOWN.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

DAVID ENRIQUE AGUILAR HERNÁNDEZ

GUADALAJARA, JALISCO, MÉXICO

JUNIO 1993



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Expediente

Número

Sección

C. DAVID ENRIQUE AGUILAR HERNANDEZ
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado el tema de Tesis "ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA EN PADRES Y PROPOSITI SD." 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., 21 de Mayo de 1993.
EL DIRECTOR



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

M. EN C. *Alfredo Corona Rivera* LEMUS

EL SECRETARIO

Jesus Alberto Espinosa Arias
BIOL. JESUS ALBERTO ESPINOSA ARIAS

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

JLCL>JAEA>Cg1r.

Al contestar este oficio dítese fecha y número

Realizado en:
Laboratorio de Citogenética
Fac. de Medicina
Universidad de Guadalajara

Director
M. en C. Alfredo Corona Rivera

AGRADECIMIENTOS

- A** mis Padres, por su ayuda incalculable e incondicional por más de 23 años.
- A** Alfredo C. R. por su gran apoyo y excelente dirección en esta Tesis.
- A** Teresa G. C. por su ayuda técnica e intelectual.
- A** Manuel R. D. por merecer la mas alta condecoracion al merito solidario en esta tesis.
- A** la Dra. Lidya L. y Dr. Jesús S., estadistas de excelencia y finisimos cubanos.
- A**l personal del Lab. de Citogenética y Depto. de Fotografía de la U.I.B.O. por permitirme equipo y su experiencia.
- A** mis excompañeros de carrera al haberme compartido su entusiasmo por la Biología ademas de su imborrable amistad: en especial a Jesús H. C., Roberto M. G., Rafael P. R. y Manuel R. D. (en orden alfabético) por los pasados, presentes y futuros recuerdos con los que entretendremos a nuestros nietos.
- A** mi muy querida Universidad de Guadalajara.
- Y** a todos aquellos que han puesto su granito de arena en esclarecer los fascinantes secretos de la naturaleza.

INDICE

Resumen.....	1
Introducción.....	3
Antecedentes.....	4
Planteamiento del problema.....	10
Objetivos.....	11
Hipótesis.....	12
Método.....	13
Resultados.....	19
Discusión.....	23
Conclusiones.....	28
Bibliografía.....	29

RESUMEN

El síndrome Down es la afección cromosómica más estudiada, debido a su gran incidencia en individuos vivos y a su impacto en la familia. El 96% es debido a la trisomía 21 por no disyunción y se desconocen las causas que la originan. El único factor bien establecido es el incremento de la edad materna. Son pocos los estudios sobre el riesgo de ocurrencia de que este síndrome se presente así como reportes que sugieren predisposición genética a dicho síndrome.

En el presente trabajo se evaluaron diferencias en la Heterocromatina constitutiva de los miembros mayor y menor del par de cromosomas 1, 9, 16 y Y en un estudio sistemático y con controles pareados, encontrando valores mayores en los casos estudio en los cromosomas 1 chico y 16 grande de papás, mientras que en los hijos en 16 grande y diferencia de 16, comparaciones de diferencias entre no homólogos mostraron diferencias sólo en hijos SD en donde la diferencia del cromosoma 16 estudio, fue mayor que la del 16 control, mientras que la diferencia del

del cromosoma 16 estudio fue mayor que la del cromosoma 1 control.

Son discutidas la implicaciones de estos hallazgos con la ocurrencia del síndrome Down.

INTRODUCCION

El Síndrome Down fue reconocido formalmente en 1866 por John Langdon Down.

A raíz de la determinación que el cromosoma 21 extra originado por no disyunción es el causante de esta afección en 1956, se ha investigado intensamente la forma en que este cromosoma provoca el fenotipo típico, así como los factores que determinan la ocurrencia de la no disyunción; sin embargo la posibilidad de determinar que probabilidad tienen los futuros padres de tener descendencia con este problema es aún un campo muy poco estudiado.

El objetivo del presente trabajo es establecer la ocurrencia de polimorfismos citogenéticos en familias con una afectado SD, y contribuir a la posibilidad de determinar este riesgo.

La utilidad de este descubrimiento (si en realidad fuese posible) sería de gran interés para la futura familia.

ANTECEDENTES.

El Síndrome Down (SD) representa un trastorno del crecimiento y desarrollo, con características evidentes desde el nacimiento. El 92.5% de los casos son debidos a la presencia de un cromosoma 21 extra (trisomía 21 regular), el cual se originó por no disyunción (ND) en la 1a. o 2a. división meiótica de cualquiera de los padres (1), aunque se estima que ésta, en un 90% de los casos es materna y en meiosis I (2). La trisomía 21 es la aberración cromosómica que llega a término más frecuentemente, con una proporción de 1:700 nacimientos (3, 4, 5) por lo que resulta el síndrome cromosómico más estudiado, en particular para estudios de ND.

El único factor asociado y confirmado con el origen de la trisomía 21 es la edad materna, donde el riesgo se incrementa considerablemente a partir de los 30 años, llegando a ser de 1:46 a los 45 años de edad (6). No obstante lo anterior, se han sugerido gran cantidad de factores intrínsecos y extrínsecos que incrementan el riesgo de eventos no disyuncionales (tabla 1), de los cuales los

TABLA 1. Factores asociados con la ocurrencia de trisomía 21

EVIDENCIAS

A. Factores extrínsecos.

-Exposición paterna y materna a la radiación	Strigini, 1990
-Exposición materna al fluoruro de sodio	Rapaport, 1956
-Infecciones virales maternas	Evans, 1967
-Títulos altos de antistreptolisinas	Zsako, Kaplan, 1969
-Anticonceptivos orales	Kariap, 1979
-Espermaticidas vaginales	Kothman, 1982
-Inductores de la ovulación	Bou, 1973
	Hassold, 1984
-Tabaquismo	Christianson, 1988
-Alcoholismo	Kaufman, 1983
-Frecuencia de relaciones sexuales	Olshan, 1969

B. Factores intrínsecos.

* Epigenéticos

-Anticuerpos tiroideos en madres de SD	Torfs, 1971
-Predisposición a enfermedades tiroideas	

-Edad materna avanzada	Fialkow, 1971
-Edad paterna avanzada	Smith, 1985
-Asociación de alfa antitripsina	Brincarelli, 1985
-Dermatoglifos en padres de SD	Fineman, 1976
	Kuklik, 1986
	Izuzuziza, 1986
-Frecuencia de abortos aumentada	Corona, 1986
	Lippman, 1984
	Ayme's, 1985
	Daniel, 1989
	Murdoch, 1984

-Características paternas

* Genéticos

Autosómicos recesivos

-Endogamia	Devoto, 1985
------------	--------------

-Posibles mecanismos mendelianos para aneuploidia familiar

Autosómicos dominantes

-Frecuencia aumentada de asociación de satélites de mosaicismos y traslocaciones en SD	Grell, 1971
* Citogenéticos	Zellweger, 1965

-Efecto intercromosómico

-Asociación de acrocéntricos elevada	Hassold, 1980
-Satélites gigantes	Jacobs, 1981
-Satélites dobles	Robinson, 1977
-Variaciones en la heterocromatina	Antonarakis, 1983
-Polimorfismos AgHOR	Ford, 1983
	Jackson-Cook, 1985
	Stewart, 1988
	Schwartz, 1989
	Spiner, 1989
-Polimorfismos Cg	Nakagome, 1984

eventos citogenéticos resultan tal vez los más confiables como indicadores de dichos eventos, en particular los polimorfismos cromosómicos.

Las regiones polimórficas de los cromosomas humanos son las constituidas de heterocromatina constitutiva (HC) en los cromosomas 1, 9, 16 y Y, así como satélites y tallos (regiones NOR) de cromosomas acrocéntricos. Si bien habitualmente se considera que los polimorfismos cromosómicos no son el origen de patologías genéticas, existen evidencias que relacionan diferencias en la proporción de HC con disminución de fertilidad (8), con cáncer de colon, cervix, ovario y leucemia mieloide crónica (9, 10), con pérdida reproductiva recurrente (11) o inmunodeficiencia (12). Dichas asociaciones no han sido suficientes para considerar a las variantes heterocromáticas como indicadores de riesgo.

Respecto a la ocurrencia de ND en humano en el caso de trisomías, las cuales acontecen al menos en el 4% de todos los embarazos clínicamente distinguibles llegados a término (3), se ha sugerido una predisposición debido a la ocurrencia de eventos citogenéticos, los cuales se pueden agrupar por diferencia de estados funcionales o estructurales. (tabla 1).

Las evidencias citogenéticas funcionales se refieren a variaciones en la función de las estructuras cromosómicas o su comportamiento durante el ciclo celular. Con el método de tinción Cd se puede establecer si un centrómero es funcional (Cd+) o no (Cd-), al ser evaluados en mujeres jóvenes y añosas se encontró un aumento de Cd- con la edad, lo que sugiere una relación con el aumento conocido de ND con la edad (13).

Respecto a la trisomía 21 se ha reportado una mayor asociación de acrocéntricos en padres de casos SD en donde ocurrió la ND, lo cual no fue confirmado en cromosomas de abortos trisómicos (14). Otro estudio, reporta un incremento en el número de asociaciones de acrocéntricos con la edad en madres de casos SD así como una disminución de tallos funcionales (15). A nivel molecular se reporta la asociación de un haplotipo de secuencias de ADN del cromosoma 21, con la ocurrencia de trisomía 21 (2).

Respecto a evidencias citogenéticas estructurales, se ha reportado que en cultivo de linfocitos con 9qh+ e inversión pericéntrica en 9qh+, presentan un incremento de hiperdiploidias lo cual sugiere que dichas variantes causen un incremento de ND inespecífica mitótica in vitro (8). La presencia significativa entre

heterocromatina disminuida del cromosoma 1 y aumentada en el cromosoma 9 se ha asociado con pérdida reproductiva recurrente y por lo tanto propuesto como una evidencia indirecta de ND inespecífica meiótica (11); indicando esto que los cromosomas interactúan aún no siendo homólogos, e influyendo en la ND de otros, nombrándose a este fenómeno Efecto Intercromosómico (11, 15, 16).

En relación a polimorfismos de tallos y satélites del cromosoma 21, se encontró una asociación entre satélites grandes fluorescentes positivos en padres de casos SD y propósitos con respecto a controles, lo cual sugiere que dichos polimorfismos son una consecuencia de predisposición paterna a la ND (17). Por otro lado la propuesta de que la presencia de tallos dobles (NORd) del cromosoma 21 incrementa 20 veces el riesgo de ocurrencia de SD (18), no fue confirmada al analizar variantes de tallos (NOR) en padres de abortos espontáneos trisómicos (19), un estudio posterior no encontró diferencias entre familias con un hijo SD y un control (20), por lo que se ha sugerido que dicha discordancia se pueda deber a técnicas variables de definición y medición de NORd, a que sólo se ha detectado en individuos trisómicos vivos, que están limitados a unos cromosomas acrocéntricos, o a que el

descubrimiento de Jackson y Cook (18) pudo haber sido fortuito (21).

La determinación del tamaño de las regiones polimórficas en cromosomas humanos, habitualmente se realiza por procedimientos cualitativos (22, 23), existen además algunos procedimientos cuantitativos (24, 25), los cuales han permitido establecer que las regiones polimórficas se comportan de manera Mendeliana, que presentan una distribución normal en la población muy probablemente y existe poca variabilidad racial (24); además se detectó que aparece mosaicismo en el 2.35% de los casos y de novo en 1.96% (24).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Se ha establecido que cuando aparecen elevadas proporciones de HC, se incrementa la inestabilidad y asociación cromosómica como un mecanismo propiciador de la ND no específica es decir para cualquier cromosoma (8, 9, 11, 15, 16, 26) o asociado al cromosoma 21 (17, 18). Si consideramos además la necesidad de analizar dicho evento en padres de casos SD, resulta importante establecer si en familias con un hijo SD las variantes heterocromáticas que presentan los padres, evidencian un riesgo mayor de ocurrencia de SD respecto a la población normal.

OBJETIVOS

1.- Verificar la posible relación entre SD y la presencia de polimorfismos de cromosomas 1, 9, 16 y Y, así como la predisposición familiar a SD que dichos polimorfismos indiquen.

1.1.- Determinar cuantitativamente la HC de los cromosomas 1, 9, 16 y Y en cada uno de los casos estudio y control.

1.2.- Contrastar estadísticamente los datos cuantitativos entre familias con un hijo SD y familias control.

1.3.- Discutir la posibilidad de definir marcadores de riesgo de SD.

HIPOTESIS

En padres con un hijo SD existen proporciones de HC en los cromosomas 1, 9, 16 y Y diferentes con respecto a las familias control.

METODO

A) Familias de estudio.

Se realizó un muestreo de 10 familias con un hijo SD, tomadas al azar de la Clínica de Asesoramiento Genético del Laboratorio de Genética Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad de Guadalajara. El grupo control fue de 8 familias voluntarias. Cada una de ellas fue pareada con una de las familias de estudio de la siguiente manera: los padres control tuvieron la misma edad que los padres estudio (± 3 años) al momento de nacer su hijo control y su hijo SD respectivamente, además de un mismo número de gestas hasta ese momento. Sólo se estudiaron estos tres miembros de ambos grupos de familias. Todos los individuos control no presentaron datos de patología obstétrica o enfermedad genética evidente.

B) Procesamiento de muestras.

En el grupo estudio y control se aplicaron las siguientes técnicas:

1o. Cultivo de linfocitos de sangre periférica de 72 hs., estimulados con fitohemaglutinina para obtención de cromosomas con el procedimiento de rutina (Moorhead 1960) (27).

2o. Bandas GTG con tripsina y Giemsa por el método habitual (28).

3o. Bandas CBG con hidroxido de Bario y Giemsa por el método habitual (28).

C) Procesamiento.

Se seleccionaron 10 mitosis por muestra, que fueron de buena calidad, no presentaron cromosomas entrecruzados en exceso y de fácil identificación.

Por medio de las bandas GTG se realizó el diagnóstico citogenético, y la cuantificación de la HC de los cromosomas 1, 9, 16 y Y utilizando bandas GTG y CBG; se eligió de cada método de tinción las 3 mejores mitosis (6 mitosis en total) para microfotografiar (objetivo 100x, película Ektacrome ASA 100), en un microscopio Zeiss FOMI 3 y posteriormente proyectadas sobre una pantalla blanca lisa con un proyector Kodak Carrousel 520 a una distancia de 2.56 Mts. que corresponde a aproximadamente 1000 aumentos adicionales. Con dichas proyecciones se hicieron las mediciones con 2 observadores (12 valores por cromosoma), utilizando un Vernier con resolución de 0.1 mm

tomando como límites de medición el punto entre la punta más larga y la más corta de la HC en un extremo y por el centrómero por el otro; además se midió la eucromatina (EC) de los brazos largos (q) en estos cromosomas, desde el extremo de la HC hasta el extremo distal de q (esquema).

En cada caso los resultados de las mediciones se utilizaron para obtener el siguiente índice:

$$I = \frac{HC + EC}{EC}$$

I= Índice de Heterocromatina.
 HC=Longitud de Heterocromatina.
 EC= Longitud de eucromatina de q.

El utilizar esta fórmula nos permite obtener del cromosoma su valor individual cuantitativa (11), además de eliminar las diferencias producidas por la ampliación en la transparencia y por el proyector.

El índice de cada individuo fue el promedio total de los índices obtenidos en cada mitosis por cromosoma, del total de fotografías.

D) Análisis estadístico.

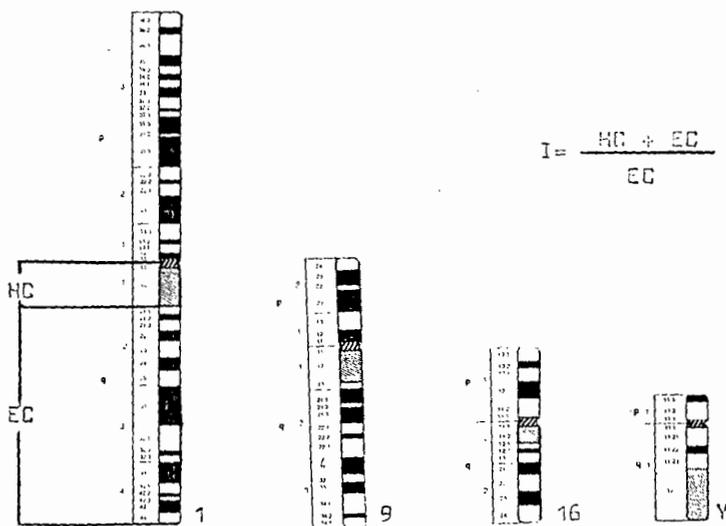
Los resultados se contrastaron de la siguiente manera:

a) Comparando los índices promedios totales entre:

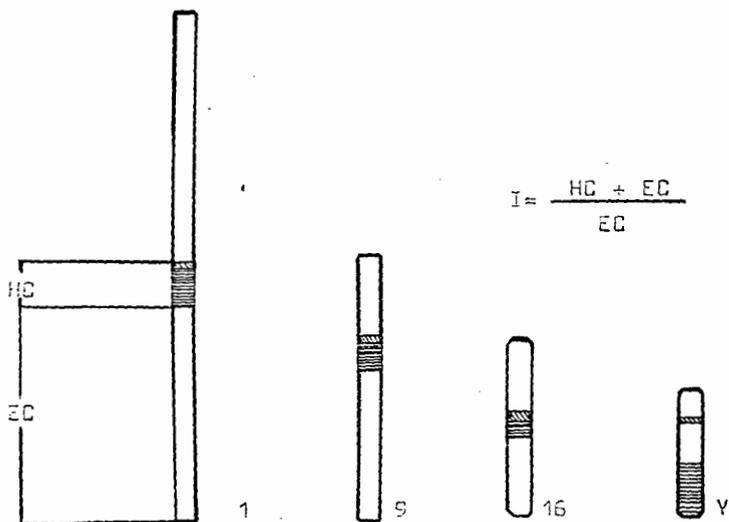
1.- SD vs control.

2.- Papás SD vs Papás control

Esquema 1.- Mediciones y fórmula de índices.



Bandas STG



Bandas CGG

3.- Mamás SD vs Mamás control.

4.- Familias SD vs Familias control.

5.- Papás SD vs SD.

6.- Mamás SD vs SD.

b) Separando los índices promedio totales del conjunto de cromosomas homólogos 1, 9 y 16 con valor menor de HC (Ch=chico) y del conjunto de cromosomas homólogos con valor mayor de HC (G-grande), para contrastarlos entre el grupo estudio y control.

PE= Papá estudio PC= Papá control ME= Mamá estudio

MC= Mamá control SD= Síndrome Down C= Hijo control

1G= Cromosoma 1 grande 1Ch= Cromosoma 1 chico

$\Delta 1$ = Diferencias entre cromosomas 1

9G= Cromosoma 9 grande 9Ch= Cromosoma 9 chico

$\Delta 9$ = diferencia entre cromosomas 9

16G= Cromosoma 16 grande 16Ch= Cromosoma 16 chico

$\Delta 16$ = Diferencia entre cromosomas 16 Y= Cromosoma Y

$\Delta 1E$ = Diferencia entre cromosomas 1 estudio

$\Delta 1C$ = Diferencia entre cromosomas 1 control

$\Delta 9E$ = Diferencia entre cromosomas 9 estudio

$\Delta 9C$ = Diferencia entre cromosomas 9 control

$\Delta 16E$ = Diferencia entre cromosomas 16 estudio

$\Delta 16C$ = Diferencia entre cromosomas 16 control

Se utilizó prueba de análisis discriminante para confrontar los dos grupos de familias, esta prueba resuelve si existen o no dos grupos diferentes y además, que tantos elementos pertenecen a cada uno. La prueba Mann-Whitney se utilizó como la más adecuada debido al relativo desconocimiento de las características del total de la población (no paramétrica), y al tamaño de la muestra. Y la prueba no paramétrica de comparación de dos muestras relacionadas se utilizó para confrontar a padres SD vs SD (29, 30)

Todas las pruebas se realizaron con el programa computacional STATGRAPHICS 5.0.

RESULTADOS

correspondencia grupos	PADRES Y MADRES ESTUDIO		PADRES Y MADRES CONTROL	
	n	%	n	%
PADRES Y MADRES ESTUDIO	17	(85)	3	(15)
PADRES Y MADRES CONTROL	4	(25)	12	(75)

Tabla 1.- Análisis discriminante del total de mediciones de HC entre los grupos de padres y madres control y padres y madres con un hijo SD.

Al aplicar análisis discriminante incluyendo el total de mediciones de HC de los cromosomas 1, 9 y 16 del grupo de 20 padres con un hijo SD y 16 control, 3 de ellos presentaron valores que se comportaron como en el grupo de padres control. A su vez 4 individuos del grupo de padres control presentaron valores que se comportaron como en el grupo de estudio.

En este análisis se detectó un 80.5% de buena clasificación, indicando esto que los resultados

anteriores son confiables y que en realidad existen diferencias entre ambos grupos.

	IG vs IG	1 Ch vs 1 Ch	Δ 1 vs Δ 1	9G vs 9G	9 Ch vs 9 Ch	Δ 9 vs Δ 9	16 G vs 16 G	16 Ch vs 16 Ch	Δ 16 vs Δ 16	Y vs Y
<input type="checkbox"/> PEvsPC	N.S	P<0.01 ***	N.S	N.S	N.S	N.S	P<0.05 *	N.S	N.S	N.S
<input type="checkbox"/> MEvsMC	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	
<input type="checkbox"/> SDvsC	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	P<0.05 *	N.S	P<0.05 *	N.S
<input type="checkbox"/> PEvsSD	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	
<input type="checkbox"/> MEvsSD	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	

PRUEBA MANN-WHITNEY.

PRUEBA NO PARAMETRICA PARA MUESTRAS RELACIONADAS.

Tabla 2.- Comparación entre cromosomas homólogos y sus diferencias, entre individuos del grupo estudio y control.

Las diferencias estadísticamente significativas en la tabla 2 se encontraron en los papás de estudio, donde el cromosoma 1Ch estudio más grande que el correspondiente cromosoma 1Ch control de manera altamente significativa y el cromosoma 16G resultó significativamente más grande en el padres estudio que en el control. En los hijos encon-

tramos que el cromosoma 16G resultó significativamente más grande en los SD que en los control; y además que la diferencia entre los cromosomas 16 resulto ser significativamente más grande en los casos SD que en los control.

Es notable que en ambos resultados, los casos estudio poseen los valores mayores. En las madres no se encontraron diferencias significativas para ninguna contrastación.

	$\Delta 1E$ vs $9C\Delta$	$\Delta 1E$ vs $\Delta 16C$	$\Delta 9E$ vs $\Delta 16C$	$\Delta 1C$ vs $\Delta 9E$	$\Delta 1C$ vs $\Delta 16E$	$\Delta 9C$ vs $\Delta 16E$
PEvsPC	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
MEvsMC	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
SDvsC	N.S	N.S	P<.002	N.S	P<.005	N.S

PRUEBA MANN-WHITNEY

Tabla 3.- Comparación entre las diferencias de cromosomas no homólogos de individuos del grupo estudio.

En la tabla 3 sólo se encontraron diferencias significativas entre los hijos, observándose que fue $\Delta 9SD$ más grande de manera altamente significativa que $\Delta 16C$, y además que $\Delta 16SD$ fue

DISCUCION

La segregación aleatoria de los cromosomas (Mendeliana), provee de una gran variedad de combinaciones de los polimorfismos cromosómicos de una generación a la siguiente, en donde las diferencias observadas, al analizar grupos poblacionales dependerán de la frecuencia particular de cada polimorfismo. En el análisis discriminante global del total de las mediciones (tabla 1) se encontró que trabajaríamos con dos grupos estadísticamente distinguibles (familias SD y familias control) respecto a sus proporciones de HC. Al hacer el análisis detallado, se descubrió que solamente los padres e hijos estudio tenían diferencias en los cromosomas 1, 9 y 16 observando la mayor cantidad de HC con respecto al grupo control. Es notable que la HC significativamente aumentada del cromosoma 1Ch en padres SD no se observa en el grupo de hijos SD, mientras que el cromosoma 16G significativamente mayor, sí se sigue observando en el hijo SD. Ambos casos pueden explicarse aleatoriamente si consideramos que un cromosoma del par cualquiera de un hijo SD fue un

evento de dos opciones que en 10 familias nos da $2^{10} = 1,024$ combinaciones posibles y al considerar al otro miembro del par tendríamos 1'048, 576 combinaciones posibles. En el caso de la HC del 1Ch no observada en SD, debió haber influido más el hecho de que se observó poca dispersión en los datos, en particular para madres de SD y miembros del grupo control (se disolvió la diferencia presente en padres). Y en el caso de 16G significativa en el padre y también 16G significativa en el hijo, la combinación resultante fue significativa con respecto al control.

No podemos descartar un baja influencia de variaciones de HC de novo, donde normalmente se presenta en el 2.1% de los casos (24).

En la tabla 2 se observa que padres estudio e hijos SD poseen 16G significativamente mayores, sin embargo al confrontar sus respectivas diferencias de 16G con las control encontramos valores no significativos en padres y significativos en hijos, esto se explica porque en ambos casos se restaron valores significativos con no significativos (16Ch) dándonos un tercer valor, éste último conjunto se denominó $\Delta 16$, esta diferencia acercó los valores a confrontar, por lo tanto existe la posibilidad que el acercamiento

fuera tal que desapareciera la diferencia o que se conservara.

Las diferencias encontradas en los hijos que aparecen en la tabla 3, nos hablan que poseen características propias como grupo SD; podrían considerarse como una característica citogenética más (adicionales a la observación del cromosoma 21 extra).

Es importante mencionar que existen estudios que relacionan polimorfismos de la HC del cromosoma 1 con cáncer de colon, cervix y ovario (9), pérdida reproductiva recurrente (11), síndrome de inmunodeficiencia variable (12), y síndrome ICF (16).

Ninguna de las pruebas hechas en madres presentó resultados significativos. Debido a que en aprox. 90% de los casos la madre proporciona el cromosoma 21 extra y en meiosis I en un caso SD (2), y que además al incrementarse la edad de la madre a partir de los 35 años también se incrementa el riesgo de SD (6), se esperaría que la madre presentara diferencias en HC importantes las cuales no se observaron. Sin embargo, el hecho de que las frecuencias de polimorfismos al compararse madres SD contra hijos SD no indicaron diferencias, sugiere que sus valores de HC son ligeramente mayores al grupo control. El haber

encontrado diferencias significativas en los cromosomas 1 y 16 en papás de SD, sugieren la ocurrencias de Efecto Intercromosómico (11, 15, 16).

El poco conocimiento de la función de la HC sólo permite hacer conjeturas acerca de como podrían participar en la presencia del SD los polimorfismos del 1 Ch y 16G del padre estudio, pero estos resultados invitan a pensar que el padre puede tener una influencia mayor de la que se supone.

El establecer marcadores citogenéticos de riesgo nos conduce a considerar en el presente trabajo a los papás estudio en particular a los cromosomas 1 Ch y 16G con HC significativamente aumentada. Estos marcadores citogenéticos (diferencias significativas) deben de formar parte de una serie de marcadores génicos, fenotípicos, genealógicos, etc. (si es que existen) que permitan incrementar la fiabilidad de algún pronóstico, que a su vez en un futuro nos llevaran a determinar las causas de SD.

Serán necesarios estudios posteriores para precisar la totalidad de posibles marcadores citogenéticos de riesgo de ocurrencia de trisomía 21.

CONCLUSIONES.

- 1.- Las cantidades de HC en familias con un hijo SD y familias control son diferentes, siendo los cromosomas 1Ch y 16G del padre los que podrían ser considerados como candidatos a marcadores de riesgo debido a que son más grandes que los normales.
- 2.- No se encontraron diferencias significativas en las madres de SD.
- 3.- Los hijos SD presentan polimorfismos de HC, consistentes en 16G y $\Delta 16$ mayores que los respectivos control, y $\Delta 9E$ mayor que $\Delta 16C$ además de $\Delta 16E$ mayor que $\Delta 1C$; los cuales podrían considerarse características de este grupo.
- 4.- El hallazgo de 1Ch y de 16G significativamente mayores en padres de SD, se debe de considerar para estudios posteriores o al estudiar SD, su relevancia o significado dependerá de confirmar y precisar en lo futuro el presente descubrimiento.

BIBLIOGRAFIA.

1- Jean de Grounchy, Catherine Turleau. Clinical Atlas of Human Chromosomes. Wiley Medical. United Estates of America, p. 344-345. 1984.

2- Antonarakis, S.E., Kittur, S.D., Metaxotor, C. et al.: Linkage map of chromosome 21q and the association and trisomy 21. Ann. N.Y. Acad. of Sci. 450: 95-107, 1985.

3- Hassold, T.J. and Jacobs, P-A.: Trisomy in man. Ann. Rev. Genet., 18: 69-97, 1984.

4- Kajii, T., Ferrier, A., et al.: Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. Hum. Genet., 55: 87-98, 1980.

5- Coco, R., Migliorini, A.M., Negrotti, T.: Citogenética y aborto habitual. Arch. Arg Ped. 79(2): 197-202. 1980.

6- Smith, G.F. and Warren, S.T.: The Biology of Down Syndrome. Annals New York Academy of Sciences. 450: 1-9, 1985.

7- Corona R.A.: Evaluación de abortos como indicadores de no disyunción en Síndrome Down. (Tesis). Fac. Ciencias U. de G., México. 1981.

8- Ford J.H., Lester P.: Chromosomal variants and nondisjunction, Cytogenet. Cell. Genet. 21: 300-303, 1987.

9- Köpf I., Islam M.Q., et al.: Familial occurrence of cancer and heteromorphism of the heterochromatic segment of chromosome 1. Hereditas 110: 79-83. 1989.

10- Kristofferson U., Bernhem A., et al.: Constitutional C-Band polymorphism in lymphocytes from patients with chronic myeloid leukemia. Hereditas, 110: 145-148, 1989.

11- Ford J.H., Callen D.F., et al.: Interactions Between C-Bands of Chromosomes 1 and 9 in Recurrent Reproductive Loss. Hum. Genet. 63: 58-62, 1983.

- 12- Haas O.A.: Centromeric heterochromatin instability of chromosomes 1, 9 and 16 in variable immunodeficiency Syndrome -a virus- induced phenomenon?. Hum. Genet. 85: 244-246, 1990.
- 13- Ndagome y., Abe T. et al.: The "Loss" of Centromeres from Chromosomes of Aged Women. Am. J. Hum. Genet. 36: 398-404, 1984.
- 14- Jacobs P.A., Mayer M.: The origin of human trisomy: A study of heteromorphisms and satellite associations. Ann. Hum. Genet., 45: 357-365, 1981.
- 15- Leal G., C.H., Riojas V., V.M., Garza Ch.R.: Actividad de los genes ribosomales y asociación de cromosomas acrocéntricos en la trisomía 21 y el aborto habitual. Archiv. Invest. Méd. (Mex.), 20: 349-354, 1989.
- 16- Maraschio P., Zuffard O. et al.: immunodeficiency, centromeric heterochromatin instability of chromosomes 1, 9 and 16 facial anomalies: the ICF syndrome, Journal of Medical Genetics 25_ 173-180, 1988.

- 17- Robinson J.A., Newton M.A.: Fluorescence polymorphism associated with Down's Syndrome? J. Med. Genet., 14: 40-50, 1977.
- 18- Jackson-Cook, et al.: Nucleolar organizer region variants as risk factor for down syndrome. Am. J. Hum. Genet. 37: 1049-1061, 1985.
- 19- Hassold T, Chen N., et al.: A cytogenetics study of 1000 spontaneous abortions. Ann. Hum. Genet. 44: 151-178, 1980.
- 20- Spinner N.B., Enpu D.C., et al.: The Role of cytologic NOR variants in the Etiology on trisomy 21. Am. J. Hum. Genet. 44: 631-638, 1989.
- 21- Schuartz's, Roulston D., Cohen M.M.: Invites Editorial: dNORS, and Meiotic Nondisjunction. Am. J. Hum. Genet. 44: 627-630, 1989.
- 22- Patil S., Lubs H.: Classification of qh regions in human chromosomes 1, 9 and 16 by C-Banding. Hum. Genet. 38: 35-38, 1977.
- 23- Report of the Stading committee on human cytogenetic nomenclature (ISCN) 1978, páq. 48

24- Muchinick O., Sánchez F., et al.: Heterocromatin C sizes distribution of cromosomes 1, 9, 16 and Y in sample of the mexican population: comparisons of two quantitarive methods of measurement. La Rev. Invest. Clin. (Mex.). 39: 123-130. 1987.

25- Simi S., Tursi F.: Polimorphism of human chromosomes 1, 9, 16 y Y: Variations, Segregation and Mosaicism. Hum. Genet. 62: 217-220, 1982.

26- Hansson A., Mikkelsen M.: An Increased tendency to satellite association of human chromosome 21: a factor in the etiology of Down's Synfrome IRCS-Anat, Pediat, Psychiat 2: 16-17, 1974.

27- Moorhead P.S., P.C. Nowell, W.S. Mellman D.M. Battips, and D.A. Hungerford, 1960. Chromosome preparation of leukocytes from human peripheral blood. Exp. Cell. Res. 20: 613-616.

28- Dutrillaux B., Coutorier J.: Techniques D'analyses Chromosomiques, Monographie Annuelle de la Soc. Fr. Biol. Clin. p.5, 1972.

29- Miller I., Freund J.E.: Probabilidad y Estadística para ingenieros. 3ª ed. Edit. Prentice Hall. 1989.

30- Siegel S.: Estadística no paramétrica. 3ª reimposición. Edit. Trillas. 1976.