

Patrón de las asociaciones sateliticas en mujeres post-parto y en neonatos

Virgina Solís

Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

(Recibido para su publicación el 4 de enero de 1985)

Abstract: Different features of the satellite associations between the acrocentric chromosomes of 100 post-partum mothers, between 14 and 43 years of age, and 100 neonates (51 males and 49 females) from Puriscal, Costa Rica, were compared (400 cells were examined, 2 from each individual). Several types of satellite associations showed higher frequencies in the mothers than in the neonates. The associations most frequently found in the two groups were those of two chromosomes, followed by those of three chromosomes. The $\frac{D}{G}$ ratio was 1.43 in the children and 1.40 in the mothers. The number of associations per cell in the mothers was almost twice that of the children. The mean number of acrocentric chromosomes per association was 2.2 in the children and 2.35 in the mothers. No significant difference was found between observed and expected values of D and G chromosomes in the two groups. Thus the probable factors responsible for the increase of satellite associations in the mothers similarly influenced the two types of acrocentric chromosomes.

Los cromosomas acrocéntricos humanos (D y G) poseen un brazo corto con apariencia y estructura semejantes, pero presentan heteromorfismo para sus tres regiones (parte cercana al centrómero, pedúnculos sateliticos y satélites). En sus brazos cortos se encuentran los genes que codifican el ARNr, 18 S y 28 S, y existe gran polimorfismo con respecto al número de esos genes (Dittes *et al.*, 1975; Warburton *et al.*, 1976).

Estos cromosomas son frecuentemente encontrados en la metafase con sus brazos cortos dirigidos unos hacia los otros. Esta característica, conocida como asociaciones sateliticas (A.S.), fue informada por primera vez en 1961 por varios investigadores (Ferguson-Smith y Handmaker, 1961; Harden, 1961; Ohno *et al.*, 1961) (Fig. 1). El fenómeno de las A.S. es complejo e involucra tanto factores genéticos como no genéticos. La función nucleolar de los cromosomas acrocéntricos es probablemente uno de los mayores determinantes de la proximidad de estos cromosomas (Hens *et al.*, 1980).

Se ha encontrado una correlación significativa entre la frecuencia con la que un cromosoma acrocéntrico participa en A.S., con el tamaño, y por consiguiente, el grado de tinción con plata de la región organizadora del nucléolo

(R.O.N.), revelando un alto grado de actividad de esta región, en los cromosomas más frecuentemente involucrados (Sigmund *et al.*, 1979; DiLernia *et al.*, 1980; Galperin Lemaitre *et al.*, 1980; Morton *et al.*, 1981). Estudios en gemelos monocigóticos y dicigóticos indicaron, por otra parte, que el número y tamaño de las R.O.N. teñidas positivamente con plata son rasgos altamente heredables (Morton *et al.*, 1981; Zakharov *et al.*, 1982).

Investigaciones recientes llevan a pensar que las asociaciones entre acrocéntricos representan una característica biológica de cada individuo, tanto en el plano cuantitativo como en el cualitativo y que éstas no parecen ocurrir al azar. La distribución de diferentes cromosomas varía de un sujeto a otro, mientras que la asociación preferencial de ciertos cromosomas, en el caso de un mismo individuo, no varía con el tiempo (Mattei *et al.*, 1981).

Yip y Fox (1981) encontraron correlaciones positivas en las frecuencias de A.S. entre familiares, con valores mayores y más consistentes en gemelos monocigóticos, intermedios en padres y descendencia y más variables en gemelos dicigóticos. Anteriormente, Hansson (1979a) había informado sobre una diferencia significativa entre los dos tipos de gemelos con respecto a la razón $\frac{D}{G}$. Basándose en sus hallazgos, Yip

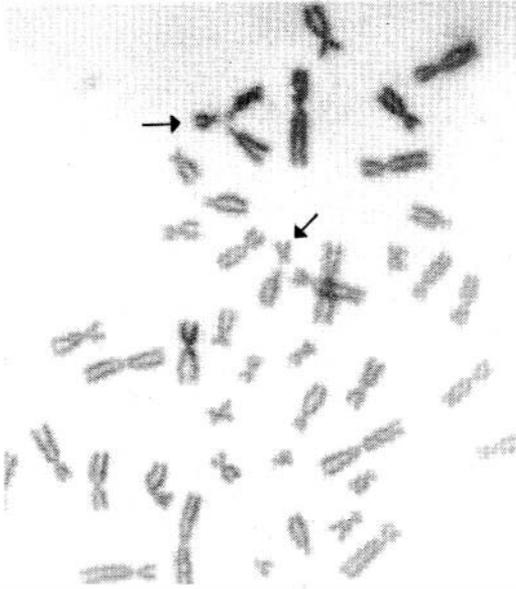


Fig. 1. Célula en metafase mostrando dos tipos de asociaciones sateliticas.

v Fox (1981) proponen un modelo para explicar la variación en la frecuencia de A.S. que contiene dos elementos: primeramente el genotipo determina la proporción de un tipo cromosómico a otro en el total de cromosomas asociados, y en segundo lugar están los factores ambientales, que influyen sobre la frecuencia absoluta de asociación sin alterar la tasa básica.

Con respecto a la influencia del sexo sobre las A. S. se han publicado resultados contradictorios. Liem *et al.* (1977) encontraron una mayor frecuencia de A.S. en mujeres que en hombres, entre las edades de 3 a 50 años, mientras que otros investigadores no han detectado diferencia significativa entre los sexos (Mattei *et al.*, 1976; Yip y Fox, 1981; Kumagai, 1982).

Con relación al efecto de la edad sobre la frecuencia de A.S., la mayor parte de autores ha comunicado la influencia de esta variable (Vormittag, 1980; Kumagai, 1982), siendo el grupo de 15-30 años el que presenta la mayor frecuencia. Sin embargo algunos investigadores no han encontrado correlación con la edad (Yip y Fox, 1981).

Finalmente, la tendencia de A.S. registrada en las preparaciones, es también afectada por factores técnicos, como el tipo y la longitud del cultivo celular (Hansson, 1970b; Sigmund *et al.*, 1979; Vormittag, 1980).

El propósito del presente trabajo fue estudiar el comportamiento de los cromosomas



Fig. 2. Criterio utilizado para determinar la presencia de una asociación satelitica: $d_1 \leq d_2$.



Fig. 3. Asociación satelitica cuyos cromosomas aparecen unidos por filamentos.

acrocéntricos en la formación de asociaciones sateliticas, desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo, en mujeres post-parto y neonatos.

MATERIAL Y METODOS

Se seleccionaron por edad 100 mujeres post-parto y 100 neonatos (51 varones y 49 mujeres), procedentes de Puriscal, de una muestra de 160 madres y 122 hijos de fracción de éstas. Todos eran individuos normales, pertenecientes a un estudio de nacimientos consecutivos con otros propósitos, reclutados en el Hospital San Juan de Dios. Las 100 madres fueron distribuidas por edad en siete grupos. Se tomaron todas las madres correspondientes a los grupos de edades menos frecuentes en la población (24 casos), mientras que los tres grupos más numero-

CUADRO 1
Distribución de las madres
por grupos de edad

Grupos de edad (años)	Número de madres
Menor de 15	1
15-19	24
20-24	27
25-29	25
30-34	13
35-39	6
40-44	4

Los, fueron seleccionados al azar (76 casos) (Cuadro 1). La muestra de los niños fue escogida al azar.

Las madres fueron sangradas dentro de las 24 horas después del parto utilizando tubos "vacutainer" heparinizados. Se obtuvo sangre del cordón umbilical de los niños, una vez cortado, del extremo unido a la placenta, utilizando tubos con tapa de rosca heparinizados (0,1 ml de heparina de sodio en solución fisiológica de 1000 μ /ml, en ambos casos).

Se cultivó sangre completa de los dos grupos por 72 horas, a 37°C, en medio de cultivo McCoy 5A, con 15% de suero bovino fetal (Priest, 1977).

Las preparaciones se mantuvieron en refrigeración durante toda la noche. Al día siguiente se hicieron las láminas goteando la suspensión y pasándolas ligeramente por una llama. Se tiñeron en solución Giemsa al 5%, a pH 6,8.

Se analizó el número y tipo de asociaciones sateliticas presentes en dos metafases de cada individuo, las dos primeras completas y con buena dispersión, que aparecieron en la preparación correspondiente.

Se usó el siguiente criterio para determinar la presencia de una asociación satelitica: los extremos sateliticos de los cromosomas asociados deben estar dirigidos unos hacia los otros, y la distancia entre los centrómeros no debe exceder la longitud total de un cromosoma G, excluyendo los satélites. Si se observa un hilo conectando los brazos cortos de dos cromosomas, la distancia debe ser menor que la longitud total de un cromosoma D, excluyendo los satélites (Cohen y Shaw, 1967; Zang y Back, 1967; Hansson, 1970a; Figs. 2 y 3).

Se compararon las proporciones y tipos de asociaciones sateliticas encontradas en las madres y niños, y los datos fueron analizados estadísticamente utilizando la prueba de Z, considerando un nivel de error del 5%, de la siguiente manera:

$$Z = \frac{PN - PM}{\sqrt{\frac{2P(1-P)}{200}}}$$

en donde:

PN = $\frac{\text{No. de A.S. en los niños}}{\text{No. de células analizadas en los niños}}$

PM = $\frac{\text{No. de A.S. en las madres}}{\text{No. de células analizadas en las madres}}$

\bar{P} = $\frac{\text{No. de A.S. en los niños} + \text{No. de A.S. en las madres}}{\text{No. total de células analizadas.}}$

El valor de Z para un porcentaje de error del 5% fue de 1,645.

Se utilizó la prueba de X^2 para determinar si el número de cromosomas D y G implicados en asociaciones en ambos grupos, correspondía o no con la participación teórica esperada de cromosomas D:G en A.S. de 3:2, si solamente factores debidos al azar influenciaran las asociaciones. Se calcularon además los siguientes parámetros: relación $\frac{D}{G}$, número de asociaciones por célula y número medio de acrocéntricos por asociación satelitica.

RESULTADOS

Varios tipos de asociaciones sateliticas presentaron una proporción significativamente mayor en las madres (Cuadro 2).

Las asociaciones de dos cromosomas fueron las más frecuentes, tanto en niños como en madres, en el siguiente orden decreciente: D/G, D/D, G/G y fueron seguidas en frecuencia por dos tipos de asociaciones de tres cromosomas, D/D/G y D/G/G.

Hubo varios tipos de asociaciones más complejas, con participación de 4 a 6 cromosomas, observadas casi exclusivamente en las madres, pero únicamente una de ellas (D/D/G/G), fue estadísticamente significativa.

Se encontró una relación $\frac{D}{G}$ de 1,43 en los neonatos y de 1,40 en las madres. El número de asociaciones por célula fue de 0,72 en los neonatos y de 1,37 en las madres. El número medio de cromosomas por A.S. correspondió a 2,2 en los niños y 2,35 en las madres.

Las diferencias entre los valores observados y esperados para el número de cromosomas D y G

CUADRO 2

*Distribución de los tipos y frecuencias de las asociaciones sateliticas en los niños y madres.
Resultado de la prueba de Z.*

Tipo de asociación	Número de A.S.		Resultado prueba de Z*
	Niños	Madres	
D/D	37	56	+
D/D/D	3	8	-
D/D/D/D	1	2	-
G/G	17	28	+
G/G/G	1	0	-
D/G	65	116	+
D/D/G	11	30	+
D/G/G	8	17	+
D/D/D/G	2	4	-
D/D/G/G	0	9	+
D/G/G/G/	0	2	-
D/D/D/G/G	0	1	-
D/D/D/D/G/G	0	1	-

* + = Diferencia significativa; - = Diferencia no significativa.

involucrados en asociaciones sateliticas fueron muy pequeñas en ambos grupos ($P > 0,7$ en los niños y $P > 0,3$ en las madres), o sea que las desviaciones son debidas al azar en los dos tipos de muestras.

DISCUSION

El fenómeno de las asociaciones sateliticas es complejo y está influenciado por varios factores ya discutidos.

La relación con la edad ha sido muy estudiada y a pesar de que los resultados han sido algunas veces contradictorios, las investigaciones más recientes coinciden, en general, en que la frecuencia de asociaciones sateliticas es menor en recién nacidos y niños y en individuos de más de 50 años, registrándose los valores más altos en el intervalo de edad de 15 a 30 años, con variaciones en los límites de un autor a otro. Aproximadamente después de los 30 años las frecuencias comienzan a decrecer (Cooke, 1972; Mattei *et al.*, 1976; Liem *et al.*, 1977; Hansson, 1979 b; Vormittag, 1980; Kumagai, 1982). En la muestra de madres de Puriscal analizada, 85 correspondieron al intervalo de edad de 15 a 30 años, de manera que el mayor número de asociaciones encontrado en ellas en comparación con los neonatos, está probablemente relacionado con este intervalo de edad. Considero que esta situación podría ser consecuencia de los cambios fisiológicos y metabólicos que ocurren en las mujeres después de la pubertad, correlacionados con la aparición de las hormonas sexuales. En este sentido, varios

autores han encontrado influencia de las hormonas sexuales sobre la tendencia de asociaciones sateliticas (Cooke, 1972; Bishun *et al.*, 1972; Hansson, 1979 a). De esta manera, las bajas frecuencias de asociaciones sateliticas publicadas en neonatos y mujeres de edad avanzada serían una consecuencia de la ausencia o disminución de la producción de estas hormonas, respectivamente, asunto que debe ser aún más investigado, y que demandaría la realización de estudios longitudinales.

Hansson (1970 a) encontró en individuos normales asociaciones de dos y de tres cromosomas en orden decreciente de frecuencia. Complejos mayores fueron muy poco frecuentes. El mismo fenómeno fue observado en los dos grupos de este estudio.

Con respecto al número de cromosomas por asociación, Liem *et al.*, (1977) no encontraron en recién nacidos, asociaciones con más de cuatro cromosomas, resultado muy parecido al informado en el presente estudio. Por otra parte, el número medio de cromosomas acrocéntricos por A.S., resultó ser más bajo en los niños que en las madres de Puriscal, al igual que en grupos comparables del estudio de Hansson (1979 b).

La razón $\frac{D}{G}$ en los dos grupos analizados fue muy parecida (1,43 y 1,40) y se acercó mucho a la teórica de $1,5 \left(\frac{9D}{4G}\right)$, sin embargo los valores encontrados implican una mayor participación en asociaciones de los cromosomas del grupo G, aunque no estadísticamente significativo. Resultados concordantes fueron informados en otros dos estudios (Vormittag, 1980; Kumagai, 1982).

A pesar de que el número de asociaciones por célula fue casi el doble en las madres, en relación con los neonatos, la prueba de X^2 resultó no significativa con respecto al número de cromosomas D y G implicados en asociaciones sateliticas; de manera que los factores, no determinados aún, implicados en la mayor producción de A.S. en las madres, afectan en la misma medida a los dos tipos de cromosomas acrocéntricos.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, y por el préstamo AID-515-T-026.

Se agradece la gran colaboración de Leonardo Mata, Director del Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), de Juan Bautista Chavarría, la ayuda técnica de Vilma Alfaro y de la señora Margarita Rojas.

RESUMEN

Se compararon diferentes aspectos de las asociaciones sateliticas, presentes en dos grupos de 200 células cada uno (2 por individuo), correspondientes a 100 madres post-parto, con edades comprendidas entre 14 y 43 años y 100 neonatos (51 hombres y 49 mujeres), provenientes de la población de Puriscal, Costa Rica.

Varios tipos de asociaciones sateliticas mostraron una proporción significativamente mayor en las madres.

Las asociaciones más frecuentes en los dos grupos fueron las de dos cromosomas, seguidas en frecuencia por las de tres cromosomas.

La relación $\frac{D}{G}$ fue de 1,43 en los niños y de 1,40 en las madres; el número de asociaciones por célula fue casi el doble en las madres; el número medio de acrocéntricos por asociación fue de 2,2 en los niños y de 2,35 en las madres.

No se reveló diferencias significativas entre los valores observados y esperados de cromosomas D y G involucrados en asociaciones en ambos grupos, de manera que los factores no determinados aún, implicados en el aumento de asociaciones sateliticas en las madres, influenciaron de manera similar a los dos tipos de cromosomas acrocéntricos.

REFERENCIAS

- Bishun, N., J. Mills, N. LLOYD, D.C. Williams, & E. Gristwood. 1972. Chromosomal satellite association in women using oral contraceptives and their progeny. *Cytologia*, 37: 639-642.
- Cohen, M.M., & M.W. Shaw. 1967. The association of acrocentric chromosomes in 1000 normal male metaphase cells. *Ann. Hum. Genet.*, 31: 129-139.
- Cooke, P. 1972. Age-related variation in the number of secondary associations between acrocentric chromosomes in normal females and patients with Turner's syndrome. *Humangenetik*, 17: 29-35.
- DiLernia, R., M.L. Riva, L. Dalpra, & E. Ginelli. 1980. Satellite associations and silver staining in a case of multiple G and D variants. *Hum. Genet.*, 53: 237-240.
- Dittes, H., W. Krone, K. Bross, M. Schmid, & W. Vogel. 1975. Biochemical and genetic studies on the nucleolus organizing regions (NOR) of man. II. A family with the 15/21 translocation. *Human-genetik*, 26: 47-59.
- Ferguson-Smith, A.A., & S.D. Handmaker. 1961. Observations on the satellited human chromosomes. *Lancet*, 1: 638-640.
- Galperin-Lemaitre, H., L. Hens, & B. Sele. 1980. Comparison of acrocentric associations in male and female cells. Relationship to the active nucleolar organizers. *Hum. Genet.*, 54: 349-353.
- Hansson, A. 1970 a. Differences in the satellite association pattern in the human population. *Hereditas*, 66: 21-30.
- Hansson, A. 1970 b. The influence of culture method on the satellite association pattern in human lymphocytes: macroculture versus microculture. *Hereditas*, 66: 31-34.
- Hansson, A. 1979 a. Associations between human acrocentric chromosomes. Resumen de tesis. Universidad de Lund, Lund, Suecia. 17 p.
- Hansson, A. 1979 b. Satellite association in human metaphases. A comparative study of normal individuals, patients with Down's syndrome and their parents. *Hereditas*, 90: 59-83.
- Harnden, D.G. 1961. The chromosomes, p. 19-38. *In* Recent advances in human genetics. Little Brown, Boston.
- Hens, L., M. Kirsch-Volders, F.E. Arrighi, & C. Susanne. 1980. Relationship between measured chromosome distribution parameters and Ag-staining of the nucleolus organizer regions. *Hum. Genet.*, 53: 363-370.

- Kumagai, M. 1982. Influence of ageing on satellite association in human chromosomes. *Acta Schol. Med. Univ. Gifu*, 30: 494-510.
- Liem, S.L., T.E. Denton, & K.M. Cheng. 1977. Distribution patterns of satellite association in human lymphocytes relative to age and sex. *Clin. Genet.*, 12: 104-110.
- Mattei, J.F., S. Ayme, & M.G. Mattei. 1976. Quantitative and qualitative study of acrocentric associations in 109 normal subjects. *Hum. Genet.*, 34: 185-194.
- Mattei, M.G., N. Souiah, S. Aymé, J.F. Mattei, & F. Giraud. 1981. Variabilité interindividuelle des associations entre chromosomes acrocentriques. *J. Génét. Hum.*, 29: 181-189.
- Morton, C.C., L.A. Corey, W.E. Nance, & J.A. Brown. 1981. Quinacrine mustard and nucleolar organizer region heteromorphism in twins. *Acta. Genet. Med. Gemellol.*, 30: 39-49.
- Ohno, S., J.M. Trujillo, W.D. Kaplan, & R. Kinosita. 1961. Nucleolus-organizers in the causation of chromosomal anomalies in man. *Lancet*, 2: 123-126.
- Priest, J.H. 1977. *Medical Cytogenetics and Cell Culture*. Lea & Febiger, Philadelphia, 2a ed. 344 p.
- Sigmund, J., H.G. Schwarzacher, & A.V. Mikelsaar. 1979. Satellite association frequency and number of nucleoli depend on cell cycle duration and NOR activity: Studies on first, second, and third mitoses of lymphocyte cultures. *Hum. Genet.*, 50: 81-91.
- Vormittag, W. 1980. Effect of age and cultivation time on acrocentric associations in females. *Aktuel. Gerontol.*, 10: 309-318.
- Warburton, D., K.C. Atwood, & A.S. Henderson. 1976. Variation in the number of genes for rRNA among human acrocentric chromosomes: correlation with frequency of satellite association. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 17: 221-230.
- Yip, M.Y., & D.P. Fox. 1981. Variation in pattern and frequency of acrocentric association in normal and trisomy-21 individuals. *Hum. Genet.*, 59: 14-22.
- Zakharov, A.F., A.Z. Davudov, V.A. Benjush, & N.A. Egolina. 1982. Genetic determination of NOR activity in human lymphocytes from twins. *Hum. Genet.*, 60: 24-29.
- Zang, K.D., & E. Back. 1967. Individual satellite association patterns. *Lancet*, 2: 1423.