

Origen meiótico y parental del cromosoma 21 extra en niños con trisomía 21 regular

Yeminia Valle,¹
Guillermo Hernández,¹
Leticia Oralia
Barajas-Barajas,²
José Andrés
Vázquez-Herrera,²
Rocío Ortiz,¹
Jorge Ramón
Padilla-Gutiérrez,¹
Antonio
Quintero-Ramos,¹
Katya Rodarte,¹
Norma Olivares,³
Fernando Rivas¹

RESUMEN

Introducción: el síndrome Down es la anomalía cromosómica más común en los recién nacidos vivos. En la mayoría se trata de trisomía 21 regular secundaria a no disyunción materna. Recientemente se han investigado sus orígenes meiótico y parental mediante la segregación de marcadores genéticos de regiones hipervariables de ácido desoxirribonucleico.

Objetivo: identificar el origen meiótico y parental en niños con trisomía 21 regular.

Material y métodos: con los marcadores polimórficos D21S11, D21S1260 y D21S265, se analizaron 20 tríos, cada uno formado por un niño con síndrome Down y sus padres.

Resultados: en 13 casos, el origen de la no disyunción se identificó en la primera división meiótica y en los siete restantes, en la segunda; 12 de las 13 no disyunciones del primer grupo fueron maternas y una, paterna. El origen parental en el grupo de las no disyunciones en la segunda división meiótica no fue determinado.

Conclusiones: con los tres marcadores empleados fue posible determinar el origen meiótico de todos los casos. Al igual que en otras partes, en nuestro medio la trisomía 21 regular es principalmente secundaria a no disyunción en la primera división meiótica materna.

SUMMARY

Introduction: Down syndrome (DS) or trisomy 21 is the most common chromosomal abnormality in live birth children. Most cases are regular trisomies 21 secondary to a maternal non-disjunction (ND). Meiotic and parental origins have been recently investigated by segregating genetic markers from DNA hypervariable regions.

Objective: to identify the meiotic and parental origin in children with regular trisomy 21.

Materials and methods: there were analyze 20 groups of three (every group included parents and child with Down syndrome). There were used sooth the following markers: D21S11, D21S1260, and D21S265

Results: the ND occurred during the first meiotic division (M1) in 13 cases and at the second meiotic division (M2) in the other seven. Twelve out of the 13 NDs from the first group were maternal and one paternal. The parental origin within the M2 group was not elucidated. **Conclusions:** meiotic origin was identified in all cases. As in other reports, the origin of trisomy 21 in the present population is mainly secondary to a maternal ND in M1.

¹Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social

²Sistema para el Desarrollo Integral de la Familia

³Hospital General de Occidente, Secretaría de Salud

Guadalajara, Jalisco

Comunicación con:
Fernando Rivas-Solís.
Tel.: (01 33) 3618 9410.
Fax: (01 33) 3618 1756.
Dirección electrónica:
genesmx@hotmail.com

Introducción

El síndrome Down se denomina así en honor a John Langdon Down, quien publicó la primera descripción clínica de la condición en 1866.¹ En 1959, Lejeune asoció esta enfermedad con una alteración cromosómica,² al descubrir tres cromosomas 21 en las células de individuos afectados, por lo que el término trisomía 21 es usado también para referirse a esta condición. Los avances en el estudio del cromosoma 21 han mostrado que ciertas regiones en estado trisómico están involucradas en el síndrome Down.³ La región

21q22.2-22.3 es la principal responsable del fenotipo del síndrome Down, la cual se conoce también como *región crítica para síndrome Down* o RCSD.⁴

El síndrome Down es la anomalía cromosómica más común compatible con la vida y ocurre con una frecuencia estimada de uno por cada 600 a 1000 nacidos vivos.⁵ Puesto que el sistema nervioso central está comprometido en su estructura y función, el aspecto más importante del síndrome Down es el retardo mental. El diagnóstico puede hacerse desde el nacimiento o poco después. Aunque no existe una característica

Palabras clave

- ✓ síndrome Down
- ✓ trisomía 21
- ✓ origen meiótico
- ✓ origen parental

Key words

- ✓ Down syndrome
- ✓ trisomy 21
- ✓ meiotic origin
- ✓ parental origin

fenotípica patognomónica, la combinación de rasgos dismórficos hace que el síndrome Down sea reconocible y específico. Los signos clínicos más comunes en el periodo de la lactancia son braquicefalia, fisuras palpebrales oblicuas, nistagmus, base de la nariz o puente nasal aplastado, paladar estrecho, pabellones auriculares doblados, cuello corto y ancho, clinodactilia, aumento de la distancia entre el primer y segundo dedo del pie e hipotonía.⁶

Se consideran principalmente tres formas citogenéticas del síndrome Down. La más común es la trisomía 21 regular, que ocurre en 94 % de los pacientes. En esta forma se observan tres copias del cromosoma 21 en cada célula; 4 % de los casos corresponde a translocación entre cromosomas acrocéntricos (robertsoniana), y una mínima proporción de casos con síndrome Down tiene un mosaico cromosómico con una línea trisómica y una normal.⁷ La etiología de la trisomía 21 es distinta para cada forma citogenética. La trisomía 21 regular es secundaria a un fenómeno de separación cromosómica anormal o no disyunción que ocurre durante la meiosis.⁸

El 90 % de los errores en la separación cromosómica durante la meiosis tiene lugar en la ovogénesis, y la mayoría en la primera división meiótica. En la gametogénesis paterna, la mayoría de las no disyunciones ocurre en la segunda división meiótica.⁹ Los errores en la disyunción cromosómica en la primera división meiótica se han asociado con una recombinación reducida o ausente en el cromosoma 21, lo que predispone a que los cromosomas homólogos no se separen y se generen gametos aneuploides.

En la no disyunción materna se ha descrito una posible asociación entre la división meiótica en la que ocurre la no disyunción y la localización y el número de las recombinaciones.^{10,11}

Algunos factores de riesgo aumentado para síndrome Down, tanto genéticos¹² como metabólicos y ambientales,¹³ pueden estar limitados o circunscritos a uno de los progenitores, por lo que el origen parental de las no disyunciones en el síndrome Down es conveniente para entender la etiología de esta anomalía. Para este fin, es útil el uso de marcadores genéticos polimórficos.¹⁴

Los microsatélites o repeticiones en tandem cortas (*short tandem repeats*, STR), consisten en fragmentos de ácido desoxirribonucleico repetidos en un número de copias variable (2 a 7 pb) y corresponden a regiones hipervariables del genoma no codificador. Además de ser altamente polimórficos, los microsatélites segregan con un patrón de herencia mendeliano y son fáciles de amplificar mediante la reacción en cadena de la polimerasa.¹⁵ Estas propiedades los hacen instrumentos útiles para resolver el origen meiótico y parental de la trisomía 21.

Métodos y resultados

Se estudiaron por conveniencia y por la disponibilidad de muestras para analizar, 20 niños con síndrome Down por trisomía 21 regular, así como sus padres; todos con residencia en la ciudad de Guadalajara y sus alrededores. Los pacientes eran atendidos en la Clínica de Aten-

Cuadro I
Condiciones de temperatura y tiempo de la reacción en cadena
de la polimerasa para cada microsatélite en estudios de trisomía 21

	Desnaturalización	Alineamiento	Extensión	Número de ciclos
D21S11	94 °C, 48 seg	60 °C, 48 seg	72 °C, 48 seg	27
D21S1260	94 °C, 40 seg	61 °C, 40 seg	72 °C, 40 seg	30
D21S265	94 °C, 48 seg	56 °C, 30 seg	72 °C, 30 seg	30

Para los tres sitios, la desnaturalización inicial y la extensión final fue de 94 °C y 72 °C durante 5 minutos, respectivamente.

ción Down del DIF en Guadalajara, Jalisco; los padres asentaron por escrito la participación familiar voluntaria en esta investigación. Los estudios de cariotipo se realizaron en el laboratorio del DIF y los de tipificación de ácido desoxirribonucleico, en el Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Se obtuvo una muestra de sangre de cada participante y se procedió a la extracción del ácido desoxirribonucleico por el método de Miller.¹⁶

Preparación de las muestras y condiciones de la reacción en cadena de la polimerasa

Se analizaron tres sitios polimórficos de tipo de repetición en tandem corta del cromosoma 21, todos localizados en la región crítica para síndrome Down: D21S11, D21S1260 y D21S265. En este orden se tipificaron uno, dos o los tres microsatélites, de acuerdo con las necesidades de cada caso. El marcador D21S11 fue el primero utilizado debido a su alto valor informativo.¹⁷

Para la reacción en cadena de la polimerasa se utilizaron iniciadores obtenidos de la base de datos Genome Database¹⁸ y 5 ng de ácido desoxirribonucleico genómico. Los fragmentos amplificados se sometieron a electroforesis en gel de poliacrilamida a 10 % y tinción argéntica, con estándares de peso molecular conocido y escaleras alélicas como referencia. Las condiciones particulares en la reacción en cadena de la polimerasa se muestran en el cuadro I.

El rango de los alelos observados fue de 208 a 240, 198 a 216 y 240 a 260 pb para D21S11, D21S1260 y D21S265, respectivamente. Se definió no disyunción en la primera división meiótica ante la presencia de tres bandas en el caso índice, equivalentes a tres cromosomas 21. Los casos con origen en la segunda división meiótica se concluyeron con la exclusión de no disyunción en la primera división meiótica en ambos padres.

Los resultados de la tipificación y la conclusión en cada trío se presentan en los cuadros II y III.

Discusión

Aunque son múltiples los reportes en la literatura internacional, no se conocen publicaciones que investiguen el origen de la no disyunción en el síndrome Down, con marcadores moleculares en pacientes mexicanos. Los estudios recientes sobre síndrome Down en nuestro país son escasos y se refieren a ciertas complicaciones clínicas¹⁹ o al riesgo de acuerdo con la edad materna,²⁰ más no al origen de la no disyunción en los progenitores.

Yeminia Valle et al.
Trisomía 21: origen meiótico y parental

Cuadro II
Genotipos para cada trío y el origen parental en los casos con no disyunción en la primera división meiótica

Trío	Microsatélite	Caso índice	Genotipos		Origen parental
			Madre	Padre	
1	D21S11	4/5/10	4/10	5/6	Materno
2	D21S11	3/4/8	3/4	5/8	Materno
3	D21S11	1/6/8	1/6	8/8	Materno
4	D21S11	4/5/8	5/8	4/6	Materno
5	D21S11	2/3/4	2/3	4/11	Materno
6	D21S11	3/4/9	4/9	3/7	Materno
7	D21S11	4/7	4/7	4/12	Materno
	D21S1260	3/8/10	3/8	3/10	
8	D21S11	4/5	4/5	5/5	Materno
	D21S1260	1/4/6	1/6	4/9	
9	D21S11	4/5	4/5	4/5	Materno
	D21S1260	2/4/10	2/4	7/10	
10	D21S11	5/8	8/8	5/8	Materno
	D21S265	4/6/7	4/6	2/7	
11	D21S11	3/5	3/5	3/5	Paterno
	D21S1260	1/4/7	1/6	4/7	
12	D21S11	2/5	5/5	2/4	Materno
	D21S1260	4/8	4/8	4/8	
	D21S265	1/3/7	1/3	3/7	
13	D21S11	5/8	8/8	5/5	Materno
	D21S1260	4/9	4/9	4/9	
	D21S265	5/7/8	5/7	4/8	

Equivalencias de los alelos por el tamaño del fragmento amplificado (pb):
D21S11

1 = 208, 2 = 212, 3 = 216, 4 = 220, 5 = 224, 6 = 228, 7 = 230, 8 = 232, 9 = 234, 10 = 236, 11 = 238, 12 = 240

D21S1260

1 = 198, 2 = 200, 3 = 202, 4 = 204, 5 = 206, 6 = 208, 7 = 210, 8 = 212, 9 = 214, 10 = 216

D21S265

1 = 240, 2 = 244, 3 = 246, 4 = 248, 5 = 250, 6 = 252, 7 = 254, 8 = 260

Recientemente se ha propuesto que el metabolismo del ácido fólico, ya sea por ingesta materna¹³ o por variantes genéticas de enzimas que en él intervienen, como el SNP C677T, puede asociarse con riesgo para síndrome Down.²¹ En México, la deficiencia de folato se considera un problema de nivel moderado²² y la variante 677T tiene una frecuencia relativamente alta.²³⁻²⁵ Es por ello que resulta relevante la investigación del origen parental del síndrome Down en nuestro medio.

Con el fin de confirmar el estado trisómico e identificar los orígenes de una trisomía 21, desde 1991 se han empleado los marcadores polimórficos de ácido desoxirribonucleico y en particular las repeticiones en tandem cortas.^{26,27}

Para este tipo de investigaciones se han utilizado marcadores de diversos tipos, desde los polimorfismos en longitud de los fragmentos de

restricción^{28,29} hasta los microsatélites.^{27,30-32} En este trabajo se eligieron repeticiones en tandem cortas de uso frecuente que tienen una informatividad alta.³³

La no disyunción cromosómica es la causa más común del síndrome Down, que en 90 % de los casos ocurre en la madre. Dentro del grupo de origen materno, 78 % de las no disyunciones ocurre en la primera división meiótica. En contraste, 60 % de las trisomías 21 de origen paterno es secundario a no disyunción en la segunda división meiótica.^{26,34}

Se conoce que las dos divisiones meióticas se diferencian en su duración y en otras características, por lo que es probable que los factores que las afectan sean diferentes. En consecuencia, además del origen parental, es también importante evaluar en qué parte de la meiosis está ocurriendo la no disyunción.

Cuadro III
Genotipos en los casos de no disyunción en la segunda división meiótica

Trío	Repeticiones en tandem cortas	Caso índice	Genotipos		Exclusión del origen parental en M1
			Madre	Padre	
14	D21S11	4/6	2/4	5/6	Materno, Paterno
15	D21S11	4/5	4/5	4/5	Tipificación no informativa
	D21S1260	4/7	5/7	4/12	Materno, Paterno
16	D21S11	2/5	2/5	2/8	Paterno
	D21S1260	4/6	4/8	1/6	Materno, Paterno
17	D21S11	7/9	7/9	6/9	Paterno
	D21S1260	4/6	6/10	4/7	Materno, Paterno
18	D21S11	9/11	9/11	5/9	Paterno
	D21S1260	10/10	4/10	8/10	Materno, Paterno
19	D21S11	4/6	4/4	3/6	Paterno
	D21S1260	4/5	4/8	5/8	Materno, Paterno
20	D21S11	4/8	4/8	6/8	Paterno
	D21S1260	6/9	6/7	6/9	Materno

M1 = primera división meiótica

Equivalencias de los alelos por el tamaño del fragmento amplificado (pb):

D21S11

1 = 208, 2 = 212, 3 = 216, 4 = 220, 5 = 224, 6 = 228, 7 = 230, 8 = 232, 9 = 234, 10 = 236, 11 = 238, 12 = 240

D21S1260

1 = 198, 2 = 200, 3 = 202, 4 = 204, 5 = 206, 6 = 208, 7 = 210, 8 = 212, 9 = 214, 10 = 216

D21S265

1 = 240, 2 = 244, 3 = 246, 4 = 248, 5 = 250, 6 = 252, 7 = 254, 8 = 260

En el presente estudio, 35 % de los casos analizados pudo ser resuelto con el empleo del primer marcador, el D21S11. En el resto de los casos se necesitaron dos (55 %) o tres marcadores (10 %). No es posible evaluar la utilidad de cada uno de los tres marcadores individualmente, ya que mientras D21S11 se tipificó en todos los casos, D21S1260 se utilizó sólo en aquéllos no resueltos con el primero, y D21S265 únicamente después de no ser concluyentes los dos marcadores previos.

Como se señaló en la sección de material y métodos, la presencia de tres bandas en el caso índice equivalió al hallazgo de tres cromosomas 21 distinguibles. Las tres bandas indicaron que dos correspondían a cromosomas homólogos en uno de los padres, los cuales no se separaron en la primera división meiótica. La concordancia de los alelos en el caso índice con los de los padres, permitió identificar el origen parental (cuadro II). El origen de la no disyunción en la primera división meiótica se concluyó exclusivamente con el primer marcador en los casos 1 a 6, con dos marcadores en los casos 7 a 11, y se requirieron tres en los casos 12 y 13.

La presencia de dos o una banda en el caso índice permitió concluir el origen de la no disyunción en la segunda división meiótica, cuando para cada padre (en uno u otro marcador) se observó heterocigocidad, con la presencia inequívoca de sólo uno de los dos alelos del padre heterocigoto en el caso índice. La identificación de no disyunción en la segunda división meiótica (por exclusión de no disyunción en la primera, cuadro III) se alcanzó con un solo marcador para ambos padres en seis casos (tríos 14 a 19). En uno de ellos (caso 14), el marcador informativo fue D21S11 y en los cinco restantes, D21S1260. Por otro lado, el caso 20 requirió dos marcadores distintos, uno que excluyó la primera división meiótica materna y otro la primera división meiótica paterna. En los casos de no disyunción en la segunda división meiótica, el origen parental sólo podría estimarse con la cuantificación de las bandas o del producto de la amplificación, técnicas que no se realizaron en este trabajo. De acuerdo con lo anterior, 13 de los 20 casos (65 %) correspondieron a no disyunción en la primera división meiótica y siete (35%) en la segunda; 12 de las no disyunciones en la primera división

meiótica (92 %) fueron maternas y una (8 %), paterna. En general, los resultados son concordantes con los datos conocidos en otras partes del mundo.

En resumen, con los marcadores D21S11, D21S1260 y D21S265, fue posible determinar el origen meiótico en todos los casos de trisomía 21 regular. Aunque el origen parental de las no disyunciones en la segunda división meiótica no son susceptibles de resolverse con esta metodología, todas las originadas en la primera, que constituye la mayoría, fueron determinadas también en cuanto al origen parental. Este estudio muestra que el origen de la trisomía 21 regular en nuestro medio es principalmente, al igual que en otras partes del mundo, secundaria a una no disyunción en la primera división meiótica materna.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado en parte por el Sistema de Investigación Regional Morelos (Simorelos, proyecto 2000-0302-023). Los autores agradecen al CONACyT este apoyo, así como la beca durante el programa de estudios de posgrado de Yeminia Valle Delgadillo.

Referencias

1. Down J.L.H. Observations on an ethnic classification of idiots. London Hospital Reports 1866;3: 259-262. Disponible en: <http://www.neonatology.org/classics/down.html>.
2. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. CR Acad Sci 1959;248:1721-1722.
3. Pennisi E. Human genome project. Chromosome 21 done, phase two begun. Science 2000;288:939.
4. Shapiro BL. The Down syndrome critical region. J Neural Transm 1999;57(Suppl):41-60.
5. Hassold TJ, Jacobs PA. Trisomy in man. Annu Rev Genet 1984;18:69-97.
6. Tolmie JL. Chromosomal disorders. En: Emeryy Rimoin, editores. Principles and practices of medical genetics. Fourth edition. London: Churchill Livingstone; 2002. p. 1129-1183.
7. de Arruda M, Borsatto B. Down's syndrome, ageing and fragile sites. Mechanisms Ageing Dev 1998; 101:167-173.
8. Flannery DB. Nondisjunction in Down syndrome. Am J Med Genet 1988;31:181-182.

9. Yoon PW, Freeman SB, Sherman SL, Taft LF, Gu Y, Pettay D, et al. Advanced maternal age and the risk of Down syndrome characterized by the meiotic stage of chromosomal error: a population-based study. *Am J Hum Genet* 1996;58:628-633.
10. Hassold T, Sherman S. Down syndrome genetic recombination and the origin of extra chromosome 21. *Clin Genet* 2000;57:95-100.
11. Lamb NE, Sherman SL, Hassold TJ. Effect of meiotic recombination on the production of aneuploid gametes in humans. *Cytogenet Genome Res* 2005;111:250-255.
12. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
13. James SJ, Pogribna M, Pogribny IP, Melnyk S, Hine RJ, Gibson JB, et al. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999;70:495-501.
14. Lamb NE y Hassold TJ. Nondisjunction a view from ringside. *N Engl J Med* 2004;351:1931-1934.
15. Schlötterer C. A microsatellite-based multilocus screen for the identification of local selective sweeps. *Genetics* 2002;160:753-763.
16. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
17. Budowle B, Shea B, Niezgoda S, Chakraborty R. CODIS STR loci data from 41 sample populations. *J Forensic Sci* 2001;46:453-489.
18. Genome Database (GDB). Disponible en: <http://www.gdb.org.mx/> Accesion number GDB:200158, GDB:188664 y GDB:188463.
19. Mejía-Arangur JM, Fajardo-Gutiérrez A, Flores-Aguilar H, Martínez-García MC, Salamanca-Gómez F, Palma-Padilla V, et al. Environmental factors contributing to the development of childhood leukemia in children with Down's syndrome. *Leukemia* 2003; 17:1905-1907.
20. Romero-Maldonado S, Quezada-Salazar CA, López-Barrera MD, Arroyo-Cabral LM. Effect of risk on the child of an older mother (case-control study). *Ginecol Obstet Mex* 2002; 70:295-302.
21. Hobbs CA, Cleves MA, Lauer RM, Burns TL, James SJ. Preferential transmission of the MTHFR 377T allele to infants with Down syndrome: implications for a survival advantage. *Am J Med Genet* 2002;113:9-14.
22. Villalpando S, Montalvo-Velarde I, Zambrano N, García-Guerra A, Ramírez-Silva CL, Shamah-Levy T, et al. Estado nutricional de las vitaminas A y C y de folato en niños mexicanos menores de 12 años y mujeres entre 12 y 49 años de edad. Una encuesta probabilística nacional. *Salud Publica Mex* 2003; 45(Suppl 4):S508-S519.
23. Mutchinick OM, López MA, Luna L, Waxman J, Babinsky VE. High prevalence of the thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase variant in Mexico: a country with a very high prevalence of neural tube defects. *Mol Genet Metab* 1999;68: 461-467.
24. Dávalos IP, Olivares N, Castillo MT, Cantu JM, Ibarra B, Sandoval L, et al. The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Mexican mestizo neural-tube defect parents, control mestizo and native populations. *Ann Genet* 2000;43:89-92.
25. González-Herrera I, García-Escalante G, Castillo-Zapata I, Canto-Herrera J, Cevallos-Quintan J, Pinto-Escalante, et al. Frequency of the thermolabile variant C677T in the MTHFR gene and lack of association with neural tube defects in the State of Yucatan, Mexico. *Clin Genet* 2002;62:394-398.
26. Antonarakis S. Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 as indicated by analysis of DNA polymorphisms. *N Engl J Med* 1991;324: 872-876.
27. Petersen MB, Schinzel AA, Binkert F, Tranebjærg L, Mikkelsen M, Collins FA, et al. Use of short sequence repeat DNA polymorphisms after PCR amplification to detect the parental origin of the additional chromosome 21 in Down syndrome. *Am J Hum Genet* 1991;48:65-71.
28. Rudd NL, Dimnik LS, Greentree C, Mendes-Crabb K, Hoar DI. The use of DNA probes to establish parental origin in Down syndrome. *Hum Genet* 1988;78:175-178.
29. Antonarakis SE. Human chromosome 21: genome mapping and exploration. *Trends Genet* 1993; 9:142-148.
30. Peterson MB, Frantzen M, Antonarakis SE, Warren AC, Van Broeckhoven C, Chakravarti A, et al. Comparative study of microsatellite and cytogenetic markers for detecting the origin of the nondisjoined chromosome 21 in Down syndrome. *Am J Hum Genet* 1992;51:516-525.
31. Ahlborn BE, Goetz P, Korenberg JR, Pettersson U, Seemanova E, Wadelius C, et al. Molecular analysis of chromosome 21 in a patient with a phenotype of Down syndrome and apparently normal karyotype. *Am J Med Genet* 1996;63:566-572.
32. Ballesta F, Queralt R, Gómez D, Solsona E, Guitart M, Ezquerro M, et al. Parental origin and meiotic stage of non-disjunction in 139 cases of trisomy 21. *Ann Genet* 1999;42:11-15.
33. Aita VM, Liu J, Knowles JA, Terwilliger JD, Baltazar R, Grunn A, et al. A comprehensive linkage analysis of chromosome 21q22 supports prior evidence for a putative bipolar affective disorder locus. *Am J Hum Genet* 1999;64:210-217.
34. Sherman S L, Freeman S B, Grantham M, Peters J, Jacobs PA, Kurnit DM, et al. Non-disjunction of trisomy 21: comparison of centromere maps resulting from maternal meiosis I and II non-disjunction. *Am J Hum Genet* 1992;51:A24. **III**