



00381

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ALTERACIONES CROMOSÓMICAS EN POBLACIÓN DE ALTO
RIESGO, SU FRECUENCIA EN DOS GRUPOS DE LA
POBLACIÓN MEXICANA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR(A) EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)

P R E S E N T A :

MABEL CERRILLO HINOJOSA

DIRECTOR(A) DE TESIS: DRA. PATRICIA RAMOS MORALES

MÉXICO, D. F.

SEPTIEMBRE, 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGIA

ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN POBLACION DE ALTO
RIESGO, SU FRECUENCIA EN DOS GRUPOS DE LA POBLACION
MEXICANA.

TESIS PARA OBTENER
EL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS (BIOLOGIA)
MABEL CERRILLO HINOJOSA

EL PRESENTE ESTUDIO ESTA DEDICADO
A LOS PACIENTES
QUE ME MOSTRARON
EL CAMINO PROFESIONAL A SEGUIR

A TODOS LOS MAESTROS
QUE HE TENIDO
EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE MI VIDA

A LOS AMIGOS

CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO

AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
QUE ME PERMITIÓ PREPARARME EN EL CAMPO
DE LA CITOGENÉTICA PRENATAL

AL C. M. N. 20 DE NOVIEMBRE, ISSSTE ,
QUE ME DIÓ LA OPORTUNIDAD
DE DESARROLLARME PROFESIONALMENTE

A LA CLÍNICA DE REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA, AGN
POR LA CONFIANZA PARA APLICAR
LOS CONOCIMIENTOS ADQUIRIDOS

INDICE

	Página
I.- RESUMEN	5
II.- INTRODUCCIÓN	7
III.- ANTECEDENTES	10
III.1-Defectos congénitos	10
III.2-Diagnóstico prenatal de alteraciones a través de una amniocentesis	11
III.3.- Aspectos éticos y legales del diagnóstico prenatal de alteraciones cromosómicas	17
III.4.- Situación del diagnóstico prenatal en México	19
III.5.- Hipótesis	19
III.6.- Objetivo General	19
III.7.- Objetivos Particulares	19
III.8.- Justificación	20
III.9.- Beneficios	21
IV.- MATERIAL Y MÉTODOS	21
V.- RESULTADOS	25
VI.- DISCUSIÓN	45
VII.- CONCLUSIONES	59
VIII.-BIBLIOGRAFÍA	61

I.- RESUMEN

Con el objeto de estudiar las alteraciones cromosómicas y su frecuencia en población de alto riesgo para tener un hijo con una cromosomopatía, se estudiaron dos grupos de la población mexicana, uno del Sector Salud (Grupo A) y otro de un Hospital Privado (Grupo B). El obtener esta información permitió calcular el riesgo que tienen parejas de procrear un hijo afectado, en base a datos de población mexicana y no de otros países como se hace actualmente.

Se incluyeron en este estudio pacientes que por su edad o antecedentes estaban en riesgo de tener un hijo afectado. La obtención del líquido amniótico se hizo mediante una amniocentesis, la cual se programó entre las semanas 14 a 17 del embarazo y la realizaron gineco-obstetras en ambos grupos. Las muestras se procesaron por triplicado con técnica de subcultivo o técnica directa. Se utilizó medio de cultivo MEM, HAM F10 y Chang C. Se tiñeron con bandas Q y/o G. Se analizaron mínimo 30 células (10 de cada frasco). Se microfotografiaron 6 metafases y el cariotipo de tres células se hizo de acuerdo al Sistema Internacional de Nomenclatura en Citogenética Humana.

Se estudiaron inicialmente 2,027 muestras de líquido amniótico, 637 del grupo A y 1390 del grupo B. Las indicaciones más frecuentes para realizar el estudio fueron: edad materna (66.1%), angustia materna (11.6%), tener un hijo Síndrome de Down (6.5%), antecedentes familiares de Síndrome de Down (2.5%) y presentar un triple/cuádruple marcador positivo (1.2%).

La amniocentesis se realizó antes de las 14 semanas en 7.2% de los casos, entre 15 y 17 semanas (68%), de las 18 a las 20 semanas (20.3%) y > 21 semanas (4.1%).

En el grupo A el resultado se obtuvo entre los 15 y los 21 días en las primeras 467 muestras y en 12 días en las últimas 167 muestras. En el grupo B el resultado se obtuvo en 15 a 16 días en los primeros 67 estudios y en 10.5 días en el resto de ellos.

De 2023 muestras estudiadas, obtuvo el cariotipo fetal en 1993 (98.5%), (95.8% en el grupo A y 99.8% en el grupo B). De estos el 49.5% correspondió al sexo femenino y el 50.5% al masculino. El cariotipo fue normal en 96.1% y alterado en 3.9%. De las alteraciones cromosómicas identificadas 62% fueron alteraciones numéricas y 38% estructurales. El 73% de las alteraciones numéricas involucraron autosomas y el 27% cromosomas sexuales. De las aberraciones estructurales el 86% fueron balanceadas y el 14% no balanceadas. La alteración cromosómica más frecuente fue la trisomía 21 seguida por la trisomía 18, con una incidencia de 28.5% y 9% respectivamente.

A las parejas que se les diagnosticó un feto con una alteración no balanceada se les propuso confirmar el diagnóstico prenatal. En dos casos con mosaico de cromosomas sexuales no se confirmó el diagnóstico lo que pudo deberse a que las células alteradas se originaron de las membranas extraembrionarias o a que su número era muy pequeño para identificarlas. En 25 casos en que se diagnosticó una aberración estructural balanceada, todos excepto uno (del cual no se tuvo información) nacieron normales. La frecuencia de alteraciones encontradas en el presente trabajo (3.9%) está dentro del rango descrito internacionalmente, que va de 2.21% a 3.9% reportado por Hsu y col. (1978), Eiben y col. (1997).

Al comparar entre sí a los dos grupos en estudio, hubo diferencias en los resultados obtenidos a causa de la selección de los pacientes y a los diferentes recursos materiales y de equipo con que contaron los dos laboratorios.

Con la finalidad de obtener tablas de frecuencia de alteraciones cromosómicas con un valor estadístico de mayor confiabilidad se incluyeron los resultados de 939 estudios adicionales realizados durante la elaboración de este manuscrito, cuyas indicaciones, semanas de gestación y resultados son similares a los observados en los primeros 2,027 estudios.

En la población considerada de alto riesgo no todas las parejas presentan la misma probabilidad de tener un hijo afectado, el riesgo dependió de la indicación para hacerse el estudio. Las indicaciones con el riesgo más alto fueron: a) presentar el feto malformaciones en el ultrasonido (36.6%), b) observar patología del embarazo (18.7%) y c) ser portador de una translocación/inversión (69%, aunque sólo el 8.3% fueron no balanceados). Un riesgo moderado se presentó en el grupo de edad materna (3.2%) y en parejas con un hijo previo con Síndrome de Down (4.1%). Un riesgo bajo se observó en las indicaciones angustia materna e hijo con alguna cromosomopatía (ejem. S. Turner, S. Klinefelter, etc). No se observó riesgo en progenitores con mosaico de cromosomas sexuales o con antecedentes familiares de Síndrome de Down.

Los riesgos identificados en las diferentes indicaciones son similares a los reportados en la literatura con excepción de un hijo previo con Síndrome de Down lo cual podría deberse al número relativamente bajo de casos estudiados en el presente trabajo.

II.- INTRODUCCION

Las estadísticas internacionales informan que aproximadamente el 5% de los recién nacidos presentan un defecto al nacimiento, entendiéndose éste como toda alteración orgánica o funcional, notoria o latente, que se presente en el momento del nacimiento y que impide la correcta adaptación del individuo al medio extrauterino en los aspectos biológicos, psíquicos y sociales, ocasionando la muerte o incapacidad para desarrollarse en las mejores condiciones. Se considera que el 20% de dichos defectos son de origen genético, de éstos el 4% son debidos a una alteración cromosómica, otro 20% es producido por causas ambientales, principalmente por radiaciones, infecciones, alteración metabólica materna, drogas y agentes químicos. El restante 60% tienen un origen multifactorial, es decir debido a la combinación de factores genéticos y ambientales (Carnevalle, 1981).

La importancia social de estos defectos aparece claramente al considerar que estos condicionan el 20% de las muertes fetales, el 15% de las neonatales, y el 10% de las ocurridas entre el primero y cuarto año de vida; además de que aproximadamente el 50% de los abortos del primer trimestre son causados por alteraciones cromosómicas (Boue y col, 1975). El problema se torna mas serio si se tiene en cuenta que en caso de sobrevivir, muchos de estos defectos congénitos serán responsables de diversos grados de invalidéz o estarán acompañados de subnormalidad (Instituto Dexeus, 1983).

En algunos países se han establecido programas para la detección oportuna de desórdenes genéticos, con la esperanza de un diagnóstico temprano que permita modificar la historia natural del padecimiento, mediante tratamiento *in útero* o al nacimiento con cirugía, etc. (Hsu, 1992) Sin embargo, no existe corrección o un tratamiento adecuado para un desorden cromosómico por lo que su prevención se basa en su detección oportuna (Nadler, 1969, 1972).

Actualmente, por medio de una amniocentesis transabdominal efectuada bajo ultrasonido entre la 15 y 17 semanas de gestación, y/o la biopsia de vellosidades coriales entre las 9 y 11 semanas del embarazo es posible extraer células de origen fetal que, al ser cultivadas proporcionan información de aproximadamente 1000 padecimientos hereditarios monogénicos y potencialmente cualquier alteración de los cromosomas. La detección temprana de estos padecimientos proporciona la información necesaria para que las familias con riesgo de procrear hijos afectados planeen concientemente su vida reproductiva (Milunsky, 1975, Simpson, 1980).

A pesar de los adelantos existentes en otros países y de las ventajas que ofrece el diagnóstico citogenético prenatal, en contados centros de nuestro país se realizan este tipo de estudios.

El objetivo de esta investigación fue determinar la frecuencia de alteraciones cromosómicas en población de alto riesgo con la finalidad de establecer, con base en datos nacionales el riesgo que tiene una pareja de procrear un hijo afectado.

III.- ANTECEDENTES

III.1 Defectos Congénitos

El conocimiento de la existencia de los defectos congénitos precede a la propuesta de las leyes de la herencia por Gregorio Mendel en 1865. Innumerables desviaciones del desarrollo fueron advertidas en animales, plantas y el hombre en diversas partes del mundo. En México, por ejemplo, en las culturas precolombinas, los defectos congénitos fueron representados en innumerables figurillas de barro o de piedra, como el acondroplásico de jade encontrado en Veracruz y que corresponde a los años 3,000 a 1,000 AC, o el dios Xólotl el cual parece ser una composición de las trisomías 13, 15, 18 y 21 (Guzmán, T. R, 1989)

La incidencia de los defectos congénitos oscila entre 4 y 8 por ciento, la cifra mas repetida y aceptada es la del 5 por ciento. En un estudio, que recopiló datos de 43 países, la incidencia fue del 0.83 al 6 por ciento, según se tuvieran en cuenta los datos simples que constaban en registros oficiales o que los recién nacidos fueran estudiados al nacer y controlados durante el primer año de vida (Dexeus y col., 1989). En general las cifras disponibles solo hacen referencia a las malformaciones mayores que son detectables a simple vista o al momento de la autopsia.

Una investigación que reunió información de 68,159 recién nacidos vivos, reveló que el 0.65% de ellos presentaban una cromosomopatía, esto es uno de 156 niños vivos, siendo la trisomía 21 la alteración mas frecuente con una incidencia de 0.12 por ciento (1 en 833 nacidos vivos). Las aneuploidías de cromosomas sexuales le siguieron en frecuencia, con una incidencia de 1 en 1000 varones recién nacidos para los Síndromes de Klinefelter y XYY y de 1 en 1000 para el Síndrome XXX en mujeres recién nacidas. Los rearrreglos estructurales balanceados tuvieron una frecuencia de 0.20, o sea de 1 en 500 recién nacidos vivos (Hsu, 1992).

En México, Mutchinick y col. publicaron en 1988 un estudio clínico de 248,934 recién nacidos vivos en el que reportan una incidencia 0.12% para Síndrome de Down (1 en 714); 0.008% para la trisomía 18 (1 en 12,446) y 0.003% (1 en 35,562) para trisomía 13. En esta investigación también observaron una correlación de la frecuencia de Síndrome de Down con la edad materna: en el intervalo de los 35 a 36 años el riesgo fue de 1 en 318 recién nacidos vivos, mientras que en el 43 a 44 años fue de 1 en 25 nacidos vivos.

Salamanca y col., 1978, en un estudio citogenético de 5,125 recién nacidos en un

hospital de Gineco obstétrica donde se atienden embarazos complicados, identificaron 34 niños con una cromosomopatía, esto es 1 de 151, siendo el Síndrome de Down la cromosomopatía más frecuente (1 de 427), seguido por los Síndromes de Klinefelter (1 en 845 varones) y XYY, (1 de 1281 varones). La trisomía 18 y la monosomía X presentaron una frecuencia de 1 en 2562. Las translocaciones robertsonianas presentaron una incidencia de 1 en 1708 recién nacidos vivos.

De acuerdo a los datos de la Secretaría de Salubridad y Asistencia y al INEGI (1995), las anomalías congénitas ocuparon el 12° lugar como causa de muerte en la población general y el segundo lugar como causa de mortalidad infantil.

III.2 Diagnóstico prenatal de alteraciones cromosómicas a través de amniocentesis

La amniocentesis es una técnica quirúrgica que ha sido utilizada para una variedad de indicaciones. Este procedimiento fue primero utilizado en Alemania en 1880 para tratar el polihidroamion (exceso de líquido amniótico). En 1930, Menees y col. (en Elias y Simpson, 1992) la utilizaron para evaluar al feto y localizar la placenta, para lo cual inyectaron en el saco amniótico medio de contraste. La utilización de la amniocentesis se incrementó rápidamente en los años 50's, para identificar fetos con problema de Rh mediante el análisis electroforético de las bilirrubinas del líquido amniótico (Elias y Simpson, 1992).

La amniocentesis con el fin de detectar alteraciones genéticas se inició a mediados de los 50's, cuando Serr y col. y Fuchs y Riis (1955) reportaron que la determinación del sexo fetal podía hacerse identificando el corpúsculo de Baar en células amnióticas. Una década más tarde Klingler, (1965) y Steele y Breg (1966) cultivando células amnióticas obtuvieron los primeros cariotipos fetales y un año más tarde Jacobson y Barter reportaron la primera cromosomopatía en células amnióticas, una translocación balanceada (D;D), y en 1968, Valente y col. y Nadler, 1969 reportaron la detección *in útero* de un feto con Síndrome de Down, estudio que confirmaron al interrumpirse el embarazo. En los años siguientes, numerosos investigadores reportaron resultados exitosos en el diagnóstico prenatal de gran variedad de desórdenes cromosómicos y metabólicos. En 1970, Nadler y Gerbie resumieron su experiencia sobre la amniocentesis genética en 142 pacientes, demostrando la certeza de diagnóstico y el relativo bajo riesgo del procedimiento (Elias y Simpson, 1992).

En los primeros años de estos estudios el interés de los investigadores estuvo centrado en valorar la seguridad del procedimiento. Mas tarde un estudio de colaboración sobre 1040 amniocentesis y 992 controles realizados en 9 centros de Estados Unidos y otro estudio similar llevado a cabo en los 13 centros de Canadá con 1223 amniocentesis y 900 controles, fueron diseñados específicamente para obtener datos sobre la certeza, eficacia y seguridad de la amniocentesis genética mostrando que ésta es un método seguro y confiable en el estudio de desórdenes genéticos (Golbus y col. 1979, Elias y Simpson, 1992).

En contraste con los estudios en Canadá y en EUA, un estudio en varios centros del Reino Unido (Working Party on Amniocentesis, 1978) en 2428 amniocentesis y 2248 controles llegó a diferentes conclusiones, indicando que hubo un incremento en el riesgo de pérdida fetal y dificultad respiratoria inexplicable en los recién nacidos, así que como anomalías posturales como el pie equinovarus y dislocación congénita de la cadera. La discrepancia observada se debió probablemente a que en los estudios Canadiense y de Estados Unidos las amniocentesis fueron realizadas principalmente por edad materna mientras que en el grupo inglés el 40% fueron pacientes con Defectos del Cierre del Tubo Neural, al excluir este último grupo ya no hubo diferencia estadísticamente significativa con relación a las pérdidas fetales (Elias y Simpson, 1992).

El estudio más reciente sobre la seguridad de la amniocentesis es del grupo Danés (Tabor y col. 1986), en el que se estudiaron 4606 amniocentesis y donde se reportó un ligero incremento en las pérdidas fetales, pero no en defectos posturales y tampoco en casos de Síndrome de estrés respiratorio.

En la actualidad se acepta que el riesgo de pérdida fetal atribuible a la amniocentesis es de 0.5% o menor, el riesgo para la madre es bajo y la posibilidad de daño al producto es mínima, siempre y cuando el procedimiento lo realicen personas experimentadas, con equipo apropiado (ultrasonido con tiempo real y aguja guiada) y en las condiciones adecuadas (Técnica quirúrgica), (Elias y Simpson, 1992).

En una segunda etapa el interés se centró en identificar las anomalías cromosómicas y su frecuencia sin dejar de lado los riesgos y problemas asociados con la prueba así como la evaluación de su costo-beneficio, un gran número de laboratorios publicó sus experiencias en este campo: Hsu, y col., 1978, Golbus y col., 1979; Crandal y col., 1980 y 1986; Daniel y col., 1982; Simoni y col., 1982; Benn y col., 1985; Dacus y col., 1985; Knott y col. 1986; Katayana y col. 1986; Grupo Canadiense 1989 y Ferguson 1990. La frecuencia de alteraciones cromosómicas varió de 0.97% a 3.9%, la indicación más frecuente fue la edad

materna, (63.9% a 89.4%) seguida por un hijo previo Síndrome de Down, de (1.27% a 8.7%). La alteración cromosómica más observada fueron la trisomía 21 (40 a 55 % de los casos).

En una tercera etapa, el interés de los investigadores fué calcular de manera mas precisa el riesgo de una cromosomopatía por intervalos de edad materna de 35 años en adelante, el riesgo de recurrencia para todas las alteraciones cromosómicas, los datos sobre mosaicismo y pseudomosaicismo (mosaicismo *in vitro*), valorar el significado clínico de las aberraciones de *novo*, y el significado de la contaminación con tejido materno, para ello se hicieron grandes estudios en colaboración que abarcaron la experiencia de laboratorios de Estados Unidos, Canadá y Europa. Algunos de esos trabajos son: la investigación realizada por Milunsky (1977) sobre 32,443 amniocentesis genéticas, el estudio Europeo presentado en la 3° conferencia sobre diagnóstico prenatal de desordenes genéticos (Munich, 1978) la Reunión Internacional sobre diagnóstico prenatal realizado en Quebec Canadá (1979), los estudios colaborativos sobre diagnóstico prenatal de alteraciones cromosómicas publicado en 1984, y la revisión sobre amniocentesis genética realizada por Hsu, en 1986 y 1992 y cuyos datos se muestran a continuación:

III.2.A Edad Materna

Se estudiaron 52,965 pacientes de 35 años en adelante, observándose 1200 alteraciones cromosómicas (2.6%), 613 correspondientes a fetos con Síndrome de Down (51.1%), 121 a productos con trisomía 18 (10%), 39 presentaron trisomía 13 (3.2%) un marcador extra se observó en 31 fetos (2.5%). Se observaron rearrreglos autosómicos balanceados en 94 productos (8.6%) y translocaciones robertsonianas (13q; 14q) en 26 (2.1%). En cuanto a alteraciones de cromosomas sexuales: hubo 65 productos 47 XXX (5.4%); 87 fueron 47, XXY (7.2%); 18 con Síndrome XYY (1.5%) y 24 con Síndrome de Turner (2%).

Para todas las trisomías autosómicas (cromosomas 21, 18 y 13) y para los Síndromes de 47, XXY y 47,XXX se observó que su incidencia se incrementaba con la edad materna, en cambio para los rearrreglos balanceados tanto autosomas como de cromosomas sexuales, así como para el Síndrome de Turner no hubo un incremento relacionado con la edad materna.

Al valorar la frecuencia de alteraciones de acuerdo a la edad se observó que en el grupo de 35 años, 1.29% de los fetos presentaban una alteración y de éstos 0.35% eran Síndrome de Down; a los 37 años 1.5% de las mujeres tuvieron un hijo afectado, siendo Síndrome Down 0.68%; a los 40 años hubo 2.36% fetos

afectados y con Síndrome de Down 1.23%; a los 43 años, 5.07% presentaron cromosomopatías, de las cuales 3.24% fueron trisomía 21 y a los 46 años tuvieron un hijo afectado 10.34% y con trisomía 21 el 8.19%. (Ferguson-Smith and Yates 1984).

III.2.B Hijo previo con una anomalía cromosómica

En una investigación realizada por Milusky 1979 y Hsu, 1992, en 4920 mujeres embarazadas con un hijo previo con Síndrome de Down se encontró un riesgo de recurrencia para trisomía 21 de 1.2% (61 de 4920). En un estudio Europeo con los datos provenientes de 12 países, el riesgo de recurrencia para una cromosomopatía en general fue de 1.24% (Stene y col. 1984). En parejas con un hijo previo con una cromosomopatía no heredada reportaron reincidencia de 1.42% (41 de 2890). En 1.49% de 2,353 parejas con un hijo previo con Síndrome de Down se identificó nuevamente un producto con cromosomopatía, de los cuales 0.80% presentaron trisomía 21 (19 de 2,323) y 0.69% otras trisomías (16 de 2,323).

Mikkelsen y Stene, 1979 observaron que la reincidencia variaba con la edad materna: para mujeres de ≤ 34 años fue de 1.3% (31 de 2323) y para mujeres de ≥ 35 años de 1.8% (10/567). En mujeres menores de 30 años de edad, el riesgo fue de 10 a 20 veces mayor al de mujeres de la misma edad pero que no habían tenido hijos con cromosomopatía. De acuerdo a la investigación de Mikkelsen el riesgo de recurrencia es el mismo para parejas con un hijo previo con trisomías 21, 18 ó con cualquier otra cromosomopatía (Stene y col, 1984).

III.2.C Segregación de rearrreglos cromosómicos en parejas portadoras de translocaciones robertsonianas, translocaciones recíprocas e inversiones.

La segregación de estos rearrreglos fue reportada por Boue y Gallano, 1984 con datos de un estudio colaborativo que incluyó 71 centros de diagnóstico prenatal de Europa. En 542 de un total de 1356 diagnósticos realizados, uno de los padres fue portador balanceado de un translocación robertsoniana, en 665 de una translocación recíproca y en 139 de una inversión. En el análisis de las translocaciones robertsonianas, 40% de los fetos presentaron un cariotipo normal (209), 54,4% (280) un cariotipo balanceado y 5.4% (28) una translocación no balanceada, en estos últimos casos fue la mujer la portadora del arreglo. En 27 de los 28 cariotipos alterados el cromosoma 21 estuvo involucrado y la translocación 14;21 fue la mas frecuente (21/27). El riesgo de un hijo afectado es mayor si la mujer es la portadora, particularmente si el cromosoma 21 está involucrado (15.3% riesgo). Daniel y col. 1989 reportaron un riesgo de 14.1% si la mujer era la portadora y 4.3% si era el

varón.

No hubo fetos afectados cuando la translocación involucró solo cromosomas de grupo D, el cariotipo fue normal en 104 de 251 casos o balanceado en 147 de 251. En un análisis posterior Daniel y col. (1989) reportaron un riesgo de 1 a 2% para estas parejas.

En el análisis de 609 translocaciones recíprocas, Boue y Gallano (1984) encontraron 71 translocaciones no balanceadas (11.6%), y aparentemente no hubo diferencia en el porcentaje de fetos afectados si la mujer fue la portadora o fue el hombre, sin embargo el riesgo se incrementó a 21% entre las parejas que se realizaron el diagnóstico prenatal por tener previamente un hijo con cariotipo no balanceado.

En un análisis posterior realizado por Daniel y col. (1989) en 1157 casos en que incluyeron los 609 datos de Boue y Gallano, el riesgo fue de 11.2% si la madre fue la portadora y de 9.8% si fue el padre. Estas frecuencias cambiaron de acuerdo a si la pareja solicitó el estudio prenatal por tener un hijo con una translocación no balanceada o por presentar abortos. Con un hijo previo con cromosopatía no balanceada el riesgo fue de 19.8% si la mujer era portadora y 22% si el varón era el portador y cuando la indicación para la amniocentesis fue por abortos el riesgo fue de 4.8% si la mujer presentaba el rearreglo y 1.4% si lo presentaba el varón.

Con relación a las inversiones pericéntricas en 118 diagnósticos prenatales colectados por Boue y Gallano, (1984), 7 fetos presentaron un cariotipo no balanceado (6%), 65 un cariotipo balanceado (55%) y 46 con un cariotipo normal (39%). El riesgo de tener un hijo afectado fue de 7.5% si la madre fue la portadora y de 4% si fue el padre. Daniel y col. (1989), en 173 estudios prenatales encontraron un riesgo de 3.3% y no observaron diferencias en cuanto a cuál de los miembros de la pareja era el portador.

III.2.D Rearreglos de Novo.

La frecuencia de rearreglos de *novo* fue analizada por Warburton (1984) con datos de un estudio colaborativo de laboratorios de citogenética de EUA. En 76,952 diagnósticos prenatales, hubo 66 rearreglos balanceados (0.085%) y 5 de ellos mostraron malformaciones (7.5%). Rearreglos no balanceados se detectaron en 10 estudios (0.012%) y en 6 de los cuales el feto presentó malformaciones (60%). En general las frecuencias de rearreglos de *novo* detectadas a través de una amniocentesis van de 0.06% a 0.09% para rearreglos balanceados y de 0.04% a 0.09% para rearreglos no balanceados. Esto significa que por cada 10,000 amniocentesis se van a encontrar 6 a 9 casos con rearreglos balanceados y 4 a 9

casos con alteraciones no balanceadas (Hsu, 1992).

El hallazgo de un rearrreglo balanceado de *novο* representa un gran problema de asesoramiento en diagnóstico prenatal. Esto se debe a que un gran número de individuos con retraso mental presentan frecuentemente un rearrreglo balanceado de *novο* (8 veces mayor). Esto muestra que los rearrreglos de *novο* aparentemente balanceados no siempre dan fenotipos normales debido a: 1) efectos de posición de un gen causados por el rearrreglo del material genético, 2) una mutación en los puntos de ruptura de cromosomas involucrados y 3) pequeñas deleciones o duplicaciones no detectadas citogenéticamente (Hsu, 1992).

En una encuesta Warburton (1991), reportó que las traslocaciones recíprocas y las inversiones de *novο* representan un riesgo 6 a 10 veces mayor que las translocaciones robertsonianas de que el feto tenga un fenotipo anormal. En las translocaciones robertsonianas de *novο* el riesgo es de 5%. MacGregor y col. (1989) reportaron que 7 de 8 fetos con diagnóstico prenatal de una translocación balanceada de *novο* tuvieron un fenotipo normal al nacimiento así como en revisiones posteriores hasta la edad de 10 a 14 años. En el octavo caso el feto presentó anencefalia y el embarazo se interrumpió. Wasman y col. 1989, reportaron 13 translocaciones balanceadas de *novο* y en todos los casos el producto nació normal, en 8 hubo un seguimiento hasta los 35 años (Hsu, 1992).

III.2.E Problemas en diagnóstico citogenético:

a) Mosaicismo y pseudomosaicismo cromosómicos

El hallazgo de células con cariotipo normal y alterado en la misma muestra de líquido representa un dilema para distinguir entre el verdadero mosaicismo (feto con la alteración) y el pseudomosaicismo (feto normal, la alteración se origina *in vitro*, o en el tejido placentario). El diagnóstico de mosaicismo verdadero solo se puede hacer si la alteración se encuentra mínimo en 2 diferentes frascos analizados y se considera un pseudomosaico cuando se observa una o varias células en sólo uno de los frascos de cultivo.

La frecuencia de mosaicismo y pseudomosaicismo fue analizada en cuatro grandes estudios colaborativos: Hsu (1984) con datos de 60,000 amniocentesis de 59 laboratorios de citogenética de Estados Unidos, Worton y Stern (1984) en 12,386 estudios prenatales de 12 centros de Canadá, Boue y col. (1984) en 44,170 cariotipos fetales en 43 laboratorios de 11 países europeos y Hsu (1992) en 12,000 amniocentesis realizadas en ciudad Nueva York. Las frecuencias observadas se muestran en el siguiente cuadro:

MOSAICISMO Y PSEUDOMOSAICISMO

	No. de casos	Mosaicismo (%)	Pseudomosaicismo (%)
Hsu, 1984	60,000	(0.25)	(0.7)
Worton y Stern, 1984	12,386	(0.3)	(1.1)
Boue y col. 1984	44,170	(0.1)	(0.64)
Hsu, 1992	12,000	(0.2)	(1.05)

b) Contaminación con tejido materno

La contaminación del líquido amniótico con células maternas es una fuente potencial de error en diagnóstico prenatal. De acuerdo con los datos colectados en tres grandes series hubo contaminación materna en 367 casos de 149,323 amniocentesis (0.157%), Benn y col. (1989), Worton y Stern, (1984), Boue y col. (1984) y Hsu (1992). Entre laboratorios existe una considerable variabilidad de contaminación que va del 0 al 0.543 por ciento. En fetos con cariotipo XX no se puede identificar si hubo o no contaminación con tejido materno, a menos que se haga estudio de polimorfismos a todas esas muestras, por lo que se estima que la incidencia sea el doble de la reportada. En fetos con una mezcla de células 46,XX/46XY, por lo general el diagnóstico prenatal es de un feto masculino y en la mayoría de estos casos el diagnóstico es correcto.

III.3 Aspectos éticos y legales del diagnóstico prenatal de alteraciones cromosómicas

La finalidad del diagnóstico prenatal es brindar a los padres con alto riesgo la oportunidad de tener hijos no afectados en forma selectiva. Este avance tecnológico ha desencadenado problemas morales y éticos ante la ley (Guizar 1994).

Los problemas éticos son particulares a cada sociedad, sin embargo algunos puntos son comunes a todas ellas: 1) los recursos científicos y médicos con que cuente cada país, b) tradición cultural del papel de la mujer en la sociedad, c) leyes sobre el aborto, d) influencia de grupos religiosos y e) el tipo de sistema de salud.

El aborto selectivo fue el mayor problema con que se toparon los primeros investigadores en este campo, algunas personas contemplan el diagnóstico prenatal como un procedimiento que forzosamente termina en la interrupción del embarazo, lo cual es un error, ya que en la mayoría se diagnosticará un feto normal y sólo en menos de 4% se recurrirá a un aborto selectivo, porcentaje mucho menor cuando se

compara al realizado por causas socioeconómicas, fallas en la contracepción o razones personales (Cantu 1975, Fletcher and Wetz, 1992). Por el contrario, el diagnóstico prenatal se ha convertido para un número amplio de parejas en un método para otorgar la vida y no para quitarla pues la certeza de que el feto es normal evita que interrumpan el embarazo ante el temor de que venga afectado.

La prevención de alteraciones cromosómicas no sólo depende de la legislación sino también de otros factores como la falta de accesibilidad a servicios de genética con laboratorios de estudios prenatales.

La medicina actual, y en particular la genética humana, procura ofrecer a las mujeres condiciones biopsicosociales para el desarrollo de cada ser humano. En este sentido los pacientes con problemas genéticos o cromosómicos deben recibir atención médica. El nacimiento de niños con tales problemas tiene graves repercusiones psicológicas, sociales y económicas para la familia y la comunidad ya que los recursos con que esta cuenta no son ilimitados. El cuestionamiento entonces es: ¿resulta preferible para la familia y la sociedad, destinar recursos para la atención médica, quirúrgica y de rehabilitación de estos pacientes?, o establecer programas para su prevención ¿Es ético que los escasos recursos de salud se dediquen a la atención de niños con graves malformaciones y retardo mental, que por la cronicidad de su condición ocupan por tiempo prolongado las camas hospitalarias, con menoscabo de la atención de niños sin estos impedimentos físicos e intelectuales?. Desde el punto de vista económico ¿Qué resulta más ventajoso para la sociedad, prevenir la aparición de estos trastornos o su tratamiento? como ha sido discutido ampliamente por Milunsky (1976), el análisis costo-beneficio favorece ampliamente la implementación de las técnicas de diagnóstico prenatal (Salamanca, 1993).

Las recomendaciones de la comunidad internacional al respecto son:

- Distribución equitativa de los servicios de genética incluyendo el diagnóstico prenatal con prioridad para quienes realmente lo necesitan sin importar si puede o no pagar por él.
- Apoyo y protección a la decisión de los padres, ya sea que decidan tener el hijo afectado o abortarlo.
- Informar a los pacientes y a su familia los hallazgos más relevantes del estudio prenatal.

- Proporcionar asesoramiento genético no directivo, con excepción de pacientes incapacitados en los que el problema genético pueda afectar a terceros.
- Confidencialidad de los hallazgos, excepto cuando el daño genético sea serio y la pareja se niegue a discutirlo con sus familiares que pueden resultar afectados.
- El diagnóstico prenatal debe hacerse solo para conocer la salud del feto y no para selección de sexo, excepto en casos de enfermedades ligadas al X donde no se puedan realizar pruebas de ADN.
- El diagnóstico prenatal debe ser voluntario.

III.4 Situación del diagnóstico prenatal en México

Con respecto a la prevención de defectos congénitos en general y en particular de cromosomopatías, es evidente que la situación en México es semejante a la que existía hace más de 25 años en los países europeos, Estados Unidos y Canadá en los cuales existe desde hace tiempo un plan nacional de diagnóstico prenatal que fija prioridades, establece normas y satisface necesidades (Crawford, 1983). En nuestro país no se dispone de un programa similar, sólo se tienen tres centros del sector salud y 7 a nivel privado que cuentan con la tecnología para detectar prenatalmente alteraciones cromosómicas y que funcionan de manera independiente.

III.5 Hipótesis

Dado el origen de la población mexicana la cual presenta una carga genética particular se espera que la frecuencia de cromosomopatías difiera de la de otras poblaciones.

III.6 Objetivo General

Detectar alteraciones cromosómicas en población de alto riesgo, así como establecer estadísticas sobre su frecuencia.

III.7 Objetivos Particulares

III.7.A Contribuir a la detección temprana de alteraciones cromosómicas en productos de gestación.

III.7.B Establecer la frecuencia de alteraciones cromosómicas en la población mexicana de alto riesgo, en relación a:

- a) Frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales de “*novo*” y sus repercusión fenotípica.
- b) Incidencia de productos afectados en portadores de translocaciones balanceadas.
- c) Reincidencia de aberraciones cromosómicas en parejas con hijos anteriores con cromosopatías.
- d) Riesgo de tener un hijo afectado en parejas con antecedentes familiares con cromosopatías.
- e) Frecuencia de mosaicos y pseudomosaicos celulares y su repercusión diagnóstica.
- f) Efecto de la edad materna sobre la no disyunción.
- g) Frecuencia de la contaminación de la muestra con tejido materno y sus implicaciones.

III.8 Justificación

Las aberraciones cromosómicas ocurren con una frecuencia de 0.6% en los recién nacidos vivos y dos terceras partes de esas aberraciones están asociadas con una incapacidad importante, sin embargo y a pesar de lo severo del problema, no se vislumbra en el futuro inmediato la posibilidad de terapia génica u otras formas de tratamiento, tampoco la de una prevención primaria, ya que esto implicaría conocer las causas de la no disyunción así como el origen de las aberraciones estructurales, por lo que la única forma de reducir su incidencia, es identificando a tiempo el cariotipo fetal en aquellos embarazos de alto riesgo, ya que el diagnóstico temprano es un prerequisite para un adecuado manejo, tanto de las aberraciones tratables, como de aquellas que no lo son, el lograr establecer la metodología para su diagnóstico contribuirá al desarrollo de nuevas estrategias en nuestro país para el tratamiento y la prevención de alteraciones genéticas. Por otro lado en México no existen estadísticas sobre la frecuencia de cromosopatías en población mexicana de alto riesgo, por lo que el cálculo de posibilidades de tener un hijo afectado se basa en estadísticas de poblaciones americanas y europeas, siendo estas portadoras de una carga génica diferente a la nuestra. Obtener esta información permitirá elaborar tablas de frecuencia de alteraciones cromosómicas en población mexicana de alto riesgo con las cuales se podrá proporcionar a estas parejas un cálculo de éste en base a estos datos y no de una población extranjera como se hace hasta la fecha.

III.9 Beneficios

III.9.A Obtener información de la frecuencia de cromosopatías en población mexicana de alto riesgo.

III.9.B Brindar asesoramiento genético a estas parejas basado en datos de población mexicana.

III.9.C Establecer un programa oportuno de detección de alteraciones cromosómicas en una población mexicana de alto riesgo.

IV.- MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron pacientes con riesgo de tener un hijo con cromosopatía y que fueron referidos al laboratorio de Genética del C.M.N. 20 de Noviembre del ISSSTE (Grupo A) y al Laboratorio de Genética de la Unidad de Reproducción y Genética A.G.N. del Hospital Angeles (Grupo B).

Cuando fue posible, previo a la obtención de la muestra de líquido amniótico (Amniocentesis) se entrevistó a las parejas, solicitándoles información acerca de los antecedentes personales y de sus familias sobre enfermedades hereditarias, pérdidas reproductivas e hijos previos con malformaciones, así como las complicaciones del embarazo en estudio, como por ejemplo amenaza de aborto, enfermedades en la paciente y exposición a agentes mutágenos y teratógenos.

También se les informó sobre las ventajas, limitaciones y riesgos de la amniocentesis y del estudio citogenética y firmaron una hoja de consentimiento donde aceptaron dichas observaciones.

La amniocentesis se programó de acuerdo a la última fecha de menstruación entre las semanas 14 a 17 de la gestación.

La amniocentesis fue realizada por un gineco-obstetra, utilizando en el grupo A un equipo Phyllis de 1983 a 1991 y posteriormente con un equipo Toshiba y en el grupo B un equipo ATL Ultramark.

El día de la amniocentesis se practicó a los pacientes un estudio ultrasonográfico por una gineco-obstetra ultrasonografista en el grupo A y por una radióloga ultrasonografista en el grupo B, para determinar la semana exacta de la gestación, cantidad de líquido del saco amniótico, localización de la placenta y búsqueda de patología fetal y del embarazo. Si la semana de gestación, cantidad del líquido y la

localización de la placenta lo permitieron se realizó la amniocentesis, con técnica aséptica, en caso negativo, ésta se reprogramó una a dos semanas mas tarde.

En el grupo A se utilizaron agujas metálicas reesterilizadas del número 22 en las primeras muestras y aguja desechable del 22 marca Whitacre de Becton Dickinson, en las últimas muestras. En el grupo B (AGN) las muestras fueron tomadas con guía ultrasonográfica utilizando agujas desechables del número 22 marca Spinocan.

En ambos grupos los 3 primeros mililitros se eliminaron y con jeringa desechable (marca Plastipak) se obtuvieron 30 ml en los primeros estudios y de 10 a 20 ml en los mas recientes. A las pacientes con menos de 15 semanas de gestación se les extrajo un mililitro por cada semana gestacional. Una vez realizada la amniocentesis se dejó en reposo a la paciente durante mínimo 3 horas en el grupo A y 30 minutos en el B. Posteriormente se enviaron a casa con indicaciones de reposo relativo 2 días e ingesta abundante de líquidos.

IV.1 Métodos de Cultivo

Cuando la cantidad y calidad de las muestras lo permitieron se procesaron 3 diferentes frascos de cultivo utilizando uno de los siguientes métodos:

Método A.- Se utilizó técnica de subcultivo, frascos de cristal de 50 ml y medio de cultivo MEM (Mínima esencial medium Gibco) suplementando con 20% de suero fetal de ternera (SFF) (marca Biocel). El control del pH se hizo sin incubadora de CO₂ gaseando manualmente con CO₂ cada frasco de cultivo. La tinción fue con Giemsa y Bandas Q.

Método B.- Se utilizó técnica de subcultivo, frascos de cristal o frascos desechables de 50 ml, medio de cultivo MEM ó Ham F10 con 20 SFT y el control de pH se hizo con incubadora de CO₂ al 5% (marca Presition y Heradeus). La tinción fue con Giemsa y Bandas G.

Método C.- La técnica de cultivo fue directa, se utilizó medio MEM con 20% de Suero fetal de ternera, se emplearon frascos de cristal y el control del pH se hizo con incubadora de CO₂ al 5%. La tinción fué con Giemsa y Bandas G.

Método D.- Se empleó técnica de cultivo directa, medio de cultivo Chang, frascos desechables de 50 ml, y control automático de pH con incubadora de CO₂ al 5%. La tinción fue con Giemsa y Bandas G.

Método E.- Se utilizó la técnica de cultivo directa, medio de cultivo Chang/HAM F10 proporción 1:1 (Chang marca Irving, Ham F10 marca Gibco) y frascos

desechables de 50 ml (marca Falcon) El control de pH se hizo con dos incubadoras de CO₂ al 5%. La tinción fué con Giemsa y Bandas G. En las muestras recientes solo se utilizó bandas G.

En el grupo B todo el proceso de cultivo se realizó en un cuarto de cultivo adaptado exprofeso para ello con aire acondicionado y filtrado, con 99.9% de pureza, temperatura controlada a 22° C con equipo funcionando y sistema eléctrico conectado a la planta de emergencia del hospital. En el grupo A solo en las ultimas muestras se tuvieron estas condiciones.

IV.2 Cosecha

Varió de acuerdo al método de cultivo utilizado, y se realizó entre los 9 a los 15 días de iniciado el estudio.

- Se elaboraron 6 a 7 laminillas de cada frasco de cultivo haciendo un total de 18 a 21 laminillas por caso.

IV.3 Tinción y bandeo cromosómico

El día de la cosecha se tiñó una laminilla de cada frasco con Giemsa.

El resto de las laminillas se “añejaron” a 60°C en una estufa bacteriológica por 24 horas, posteriormente se hicieron las bandas Q y/o G.

IV.4 Análisis al microscopio

De las laminillas tenidas con Giemsa se analizaron 5 células de cada frasco. En cada célula se contó el número de cromosomas y se identificó el grupo al que pertenecían. Con bandas Q y/o G se valoraron mínimo 5 metafases de cada frasco, anotando el número de cromosomas de cada célula y se identificaron individualmente cada uno de ellos siguiendo su patrón de bandeo.

Se microfotografiaron 6 a 8 metafases de cada caso (mínimo 2 de cada frasco de cultivo) utilizando una película blanco y negro (Technical pan de Kodak). El microscopio utilizado en el Grupo A fue un fotomicroscopio de epifluorescencia marca Zeiss del modelo FOMI III. En el grupo B el microscopio fue un modelo 7 K, marca Zeiss con epifluorescencia y una cámara Olympus adaptada.

IV.5 Elaboración del cariotipo

Se seleccionaron las 5 mejores microfotografías, se amplificaron y el cariotipo se elaboró en 3 de ellas. La interpretación se hizo de acuerdo al Sistema Internacional de Nomenclatura en Citogenética Humana 1985 y 1995.

IV.6 Estudio de Polimorfismos

En las muestras de líquido amniótico hemáticas con un resultado de cariotipo 46,XX se solicitó sangre a la pareja haciéndoles un cultivo de linfocitos de acuerdo a la técnica modificada del Moorhead. Con bandas Q se identificaron los polimorfismos (variantes) de los cromosomas 1, 9, 13, 14, 15, 16, 21 y 22, se compararon los polimorfismos presentes en las células amnióticas con los identificados en las células de los progenitores.

IV.7 Información del resultado

El resultado del estudio fue reportado al médico o a la paciente vía telefónica el día del análisis al microscopio y el reporte escrito se les entregó 2 días después.

IV.8 Confirmación de resultados alterados

Con el objeto de confirmar el diagnóstico citogenético, en los casos en los que el resultado mostró un cariotipo con una alteración no balanceada se solicitó una muestra de vellosidades coriales o bien piel del producto en las parejas que decidieron no continuar con el embarazo, o sangre venosa al nacimiento del bebé.

IV.9 Confirmación de resultados normales

Cuando el resultado fue normal, la confirmación del diagnóstico se hizo directamente con el médico que solicitó el estudio o vía telefónica con la paciente.

IV.10 Análisis estadístico

Para comparar ambas poblaciones se utilizaron los siguientes métodos estadísticos:

IV.10.A Análisis de datos de frecuencia:

- a) Prueba de χ^2 con corrección de Yates corregida y Mantel- Haenzel y
- b) Razón de momios

IV.10.B Análisis de varianza de 1 y 2 factores

IV.10.C Prueba de homogeneidad de Bartlett

IV.10.D Prueba de Kruskal-Wallis (análisis de varianza no paramétrico)

V RESULTADOS

De mayo de 1983 a enero de 1999 se estudiaron 2,027 muestras de líquido amniótico: 637 del grupo A (ISSSTE) y 1390 del grupo B (AGN) (tabla I). En el grupo B, 496 muestras fueron de pacientes de la Unidad (35.7%), 321 de pacientes referidas para realizar la amniocentesis por médicos de la unidad (23.1%) y en 573 casos el médico de la paciente tomó la muestra (41.2%).

V.1 Indicaciones para el Estudio Citogénético

Las indicaciones para realizar el cariotipo fetal en general y por cada grupo se muestran en la tabla I. En la tabla II se presentan el número y la semana a la que se tomaron las muestras de ambos grupos:

**TABLA I INDICACION PARA REALIZAR UNA AMNIOCENTESIS
EN 2027 CASOS**

	GRUPO A ISSSTE $n = 637$(%)	GRUPO B AGN $n = 1390$ (%)	TOTAL 2027 (%)
Edad materna ($\leq 19 \geq 35$)	385 (60.4)	956 (68.7)	1341 (66.1)
Angustia materna (≤ 34 años)	15 (2.4)	221 (15.9)	236 (11.6)
Hijo previo con Síndrome de Down	90 (14.1)	41 (2.9)	131 (6.5)
Hijo con cromosomopatía (excepto Síndrome de Down)	19 (2.9)	22 (1.6)	41 (2.0)
Portador de translocación ó inversión	13 (2.0)	7 (0.5)	20 (1.0)
Progenitor con mosaico celular	8 (1.3)	5 (0.4)	13 (0.6)
Antecedentes familiares de Síndrome de Down	19 (2.9)	32 (2.3)	51 (2.5)
Triple marcador positivo	1 (0.2)	23 (1.7)	24 (1.2)
AFP ≤ 0.4 M.O.M.	3 (0.5)	9 (0.6)	12 (0.6)
APP ≥ 2.5 M.O.M.	0 (0.0)	7 (0.5)	7 (0.3)
Determinación del sexo	3 (0.5)	3 (0.2)	6 (0.3)
Feto malformado x US	4 (0.6)	14 (1.0)	18 (0.9)
Ultrasonido Alterado	4 (0.6)	3 (0.2)	7 (0.3)
Otros	73 (11.4)	48 (3.5)	121 (5.9)

TABLA II SEMANA DE GESTACION EN LAS QUE SE REALIZO LA AMNIOCENTESIS EN 2027 PAREJAS

Semana	GRUPO A ISSSTE n = 637 (%)	GRUPO B AGN n = 1390 (%)	TOTAL 2027 (%)
≤ 14	20 (3.1)	126 (9.0)	146 (7.2)
15	72 (11.3)	305 (21.9)	377 (18.6)
16	206 (32.3)	398 (28.6)	604 (29.8)
17	132 (20.7)	266 (19.1)	398 (19.6)
18	103 (16.1)	129 (9.3)	232 (11.4)
19	47 (7.3)	66 (4.7)	113 (5.6)
20	22 (3.4)	45 (3.2)	67 (3.3)
21	16 (2.5)	9 (0.6)	25 (1.2)
22	3 (0.5)	16 (1.1)	19 (0.9)
23	4 (0.6)	10 (0.7)	14 (0.7)
24	4 (0.6)	7 (0.5)	11 (0.5)
25 ≥ 34	8 (1.2)	13 (0.9)	21 (1.0)

V.2 Método utilizado para realizar los cultivos celulares

A lo largo de esta investigación se utilizaron 5 métodos diferentes. En el grupo A se emplearon 4 de ellos y en el grupo B sólo 3. Las características de cada método, así como el número de muestras procesadas con cada uno se muestran en la tabla III.

TABLA III METODOS UTILIZADOS PARA REALIZAR LOS CULTIVOS CELULARES

METODO	GRUPO A	GRUPO B	TOTAL
A) Técnica de Subcultivo Medio MEM 20% SFT Control de CO2 manual Frasco cristal Tinción homogénea y bandas Q	170		170
B) Técnica de Subcultivo Medio MEM/*HAM con 20 % SFT Frasco cristal /*Desechable Control automático del CO2 Tinción Homogénea, Bandas G.	48	63*	111
C) Técnica Directa Medio MEM+20% SFT Frasco Cristal Control automático del CO2 Tinción homogénea y Bandas G	249		249
D) Técnica Directa Medio de cultivo Chang Frasco desechable Control automático del CO2 Tinción homogénea, Banda G		843	843
E) Técnica Directa Medio de Chang/Ham (1;1) Frasco desechable Control automático del CO2 Bandas G	167	482	649

V.3 Número de frascos empleados para procesar los cultivos:

En el Grupo A se emplearon: 1 frasco en 29 muestras (5.8%); 2 frascos, en 141 (28.1%); 3 frascos en 325 (64.9%) y 4 frascos 6(1.2%). La media fue 2.6 ± 0.6 frascos, y la mediana de 3 frascos.

En el Grupo B se utilizaron: 1 frasco en 5 casos (0.4%); 2 frascos en 70 (5.4%); 3 frascos en 1222 líquidos (94.1%), 4 frascos en 1 caso (0.1%) y 6 frascos en otro caso (0.1%). La media fue de 2.94 ± 0.3 frascos y la mediana de 3 frascos.

V.4 Repetición de amniocentesis

Se repitieron 20 amniocentesis 11 en el grupo del A (2%) y 9 en el grupo B (0.6%).

Grupo A: Las causas por los que se realizó una segunda amniocentesis en el grupo A fueron: Falla del crecimiento en 6 muestras, 3 por problemas de pH del medio de cultivo y 3 por suero citotóxico; 4 por ser muestras hemáticas con cariotipo 46,XX y donde el estudio de polimorfismos no fue informativo. En un segundo estudio el cariotipo fue nuevamente 46,XX en los cuatro casos. El onceavo caso para descartar un mosaico cromosómico, el segundo estudio mostró un cariotipo normal. En el grupo B: Se repitió la amniocentesis en 3 casos debido a que el crecimiento celular no fue suficiente para terminar el estudio, otros 3 para descartar un mosaico celular, el cual se confirmó en un caso y en los otros dos el cariotipo fue normal. Los casos 7 y 8 fueron muestras hemáticas con cariotipo 46,XX y el estudio de polimorfismos no fue informativo, en el segundo estudio se obtuvo nuevamente un cariotipo 46, XX y en el noveno caso, la mala calidad de las metafases no permitió descartar aberraciones estructurales en la primera muestra.

V.5 Resultados del cariotipo fetal

El cariotipo fetal se obtuvo en 1993 muestras (98.5%), 610 del grupo A (95.8%) y 1383 del grupo B (99.8 %). Por fallas en los cultivos celulares no se obtuvieron 30 resultados y las causas fueron: Problemas del pH en 15 casos (cuando no se contaba con incubadoras de CO₂); suero citotóxico que destruyó 11 cultivos, 2 por problemas técnicos de la incubadora y 2 fallas inexplicables, en una de ellas se repitió el estudio y nuevamente no hubo desarrollo de los cultivos. En el grupo B se eliminaron 4 muestras, 2 por estar el líquido totalmente hemático y las otras 2 que fueron enviadas del interior del país, llegaron contaminadas con bacterias.

El cariotipo fue normal en 1916 casos (96.1%), 948 sexo femenino (49.5%) y 968 del masculino (50.5%). Los resultados y su distribución por grupo se presentan en la tabla IV.

**TABLA IV RESULTADOS OBSERVADOS
EN 2023 ESTUDIOS CITOGENETICOS**

	GRUPO A n 637 (%)	GRUPO B n 1386 (%)	TOTAL n 2023 (%)
CON RESULTADO	610 (95.8)	1383 (99.8)	1993 (98.5)
NORMAL	582 (95.5)	1334 (96.5)	1916 (96.1)
46,XX	285 (48.9)	663 (49.7)	948 (49.5)
46,XY	297 (51.1)	671 (50.3)	968 (50.5)
ALTERADO	28 (4.5)	49 (3.5)	77 (3.9)
No balanceado	17 (2.8)	35 (2.5)	52 (2.6)
Balanceado	11 (1.7)	14 (1.0)	25 (1.2)
SIN RESULTADO	27 (4.2)	3 (0.2)	30 (1.5)

Las alteraciones cromosómicas identificadas, así como la indicación para realizar el estudio, edad de la madre, semana de gestación (SG) a la que se realizó la amniocentesis y antecedentes heredo familiares se muestran en la tabla V para las 52 cromosomopatias no balanceladas y en la tabla VI para las 25 alteraciones estructurales balanceadas.

TABLA V CARIOTIPO OBSERVADO EN 52 ABERRACIONES CROMOSÓMICAS NO BALANCEADAS EN 1993 ESTUDIOS CITOGENETICOS

Indicación	Edad	Sem. Gest.	Resultado	Observaciones
Edad materna	41	17.5	46,XX/47,XX,+21 75%	Interrupción.Confirmado en piel fetal
Edad materna	40	18	47,XX,+21	
Edad materna	39	16	47,XXX	Llegó a término
Edad materna	42	21	47,XX,+21	
Edad materna	41	22	47,XX,+21	
Edad materna	43	15	47,XX,+21	Interrupción del embarazo
Edad materna	38	15.5	47,XY,+21	Interrupción.Confirmado en piel fetal
Edad materna	42	16.2	46,XX,der(13;13),+13 novo	Inter. conf. en piel fetal. Cariotipo normal en los padres
Edad materna	39	16	47,XX,+21	Llegó a término
Edad materna	39	16.3 y 17.5	46,XX/47,XX,+20 12%	Nació con fenotipo normal
Edad materna	40	15	47,XY,+21	
Edad materna	42	15	47,XXY	
Edad materna	43	14	47,XY,+21	
Edad materna	35	28	47,XY,+21	Retraso de crecimiento intrauterino
Edad materna	40	16.2	47,XY,+21	
Edad materna	42	17	47,XX,+21	
Edad materna	36	16	47,XX,+18	
Edad materna	39	17	47,XY,+21	Interrupción del embarazo
Edad materna	42	18	47,XY,+18	Interrupción.Confirmado en piel fetal
Edad materna	45	13	47,XX,+18	Interrupción.Confirmado en piel fetal
Edad materna	39	18	47,XY,+21	Interrupción.Confirmado en sangre y piel fetal
Edad materna	40	19	47,XY,+18	Interrupción.Confirmado en sangre y piel fetal
Edad materna	39	17.5	47,YYY	Confirmado al nacer
Edad materna	40	29	47,XY,+21	Confirmado al nacer
Edad materna	40	17	47,XX+21	Interrupción del embarazo
Edad materna	40	21	47,XY,+21	Aborto Espontáneo
Edad materna	36	16.5	47,XX+21	
Edad materna	36		47,YYY	Llegó a término
Edad materna	38	16	47,YYY	Llegó a término
Edad materna	43	17	47,XY,+18	
Edad materna	43	19.3	47,XY,+18	Quiste nucal. Interrupción.Confirmado en sangre y piel fetal
Edad materna	40	15.3 y 17	47,YYY	Llegó a término
Edad materna	41	19	46,XX/47,XX,+i(12p)	Interrupción del embarazo. Clínicamente Síndrome Pallister. Hijo Previo 47,XXY
Angustia	26	14.3	47,XXY	Padre 46, XY/47,XXY. Embarazo con semen de donador. Llegó a término
Angustia materna	34	16	45,X	Cariotipo en sangre 45,X/47,XXX
Hijo previo S. Down		16	45,X/46,XX (30%)	Nació normal, cariotipo en sangre 46,XX
Hijo previo S. Down	34	24	47,XY,+21	
Hijo previo S. Down	30	15.5	47,XX,+mar. Heredado	Madre portadora del marcador
2 hijos previos con Síndrome Down	20	17 y 23	47,XY,+21	Interrupción.Confirmado en sangre y piel fetal
Hijo previo S. Down	34	18	46,XY/47,XXY(15%)	Confirmado al nacer
Madre t(7;11)	33	16	46,XX,der(7),t(7;11)	Interrupción.Confirmado en piel fetal
AFP-SM<0.4 MOM	33	17.5	47,XY,+18	Interrupción.Confirmado en piel fetal
Triple marcador Positivo (1:16)	41	19	47,XY,+21	Aborto espontáneo
U.S. Anormal	28	19.4	45,X	Interrupción.Confirmado en piel fetal
U.S. Anormal	29	31	47,XY,+18	Malf. por US. Interrupción.Confirmado en piel fetal
U.S. Anormal	25	16	69,XXY	Aborto espontáneo. Malformaciones
U.S. Anormal	34	17	47,XY,+18	Higroma quístico
U.S. Anormal	24	21	45,X	Higroma quístico, Hidrops fetales. Interrupción
U.S. Anormal		34	47,XX,+18	Polihidramios, cardiopatía. Interrupción
U.S. Anormal	28	15	47,XY,+21	Higroma quístico, Interrupción
U.S. Anormal	26	17	45,X	Higroma quístico. Interrupción.Confirmado en Piel fetal
U.S. Anormal	28	19	46,XX.der(3)t(3:7)(p25;p13)pat	Oligohidamnios severo, Malformaciones.Padre portador de la translocación 3;7. Hijo 46,XY

**TABLA VI CARIOTIPO OBSERVADO EN 25 ABERRACIONES ESTRUCTURALES
BALANCEADAS IDENTIFICADAS EN 1993 ESTUDIOS CITOGENETICOS**

Indicación	Edad	Sem Gest	Resultado	Observaciones
Edad materna	39	17	46,XY,inv(2)(p11;q13) mat.	Madre con la inv(2). Siguiendo embarazo fue un feto con la inv(2) y trisomía 18 Historia de abortos en la familia.
Edad materna	37	16	45,XY,der(13;14)novo	Fenotipo normal al nacimiento
Edad materna	39	16	45,XY,der(13;14)pat	Padre con t(13;14). Dos abortos previos en la pareja.
Edad materna	37	18	46,XY,inv(20)mat. 46,XY,inv(20)mat.	Embarazo gemelar. Madre portadora de la inversión. Ambos con fenotipo normal al nacimiento
Edad materna	36	12	45,XX, der(13;14)novo	Fenotipo normal al nacimiento
Edad materna	42	15,4	46,XX,t(1;13) (p34.1;q21.2)pat	Padre portador
Edad materna	41	17,2	46,XX,t(2;14)novo	Mamá mosaico 46,XX/47,XX,+21
Angustia materna	31	16	46,XX,t(9;12)(q24;q22)	Hijo de otra pareja con deficiencia mental.
Angustia materna	29	15	46,XX/46,XX,t(6;18)(q21;q1.1) novo	En 2 de 3 frascos se observó la alteración
Angustia materna	34	16	46,XY,t(1;2)novo	Varón normal, 13 años de edad
Hijo con S. Down	29	13,18	45,XX,der(14;21)mat	Hijo con S.Down que falleció. Madre portadora
Hijo previo S. Down	28	16	46,X,inv(Y)pat	Fenotipo normal al nacimiento. Padre portador de la inversión
Hijo previo con malformaciones	33	16	45,XX,der(13;14) (heredada ?)	Hijo previo malformado, clínicamente con trisomía 13
Hijo previo con malformaciones	29		46;XY,t(8;14)(p23;q24)pat	Padre portador de t(8;14). Hijo con trisomía parcial 14q
Madre con t(4;12)	32	15	46,XX,t(4;12) (q12;p13.3)mat	Fenotipo normal al nacimiento
Madre portadora de t(4;12)	33	15	46,XX,(4;12)(q12;p13.3)mat	Fenotipo normal al nacimiento
Madre t(19;20)	29		46,XX,t(19;20)mat	Pareja con aborto habitual
Madre portadora der(13;14)	33	16	45,XX,der(13,14)mat	Fenotipo normal al nacimiento
Madre portadora t (15;21)	27	16	45;XX,der(15;21)mat	Hijo Síndrome de Down.
Padre portador de t(3;14)	34	16,4	46,XX,t(3;14)pat.	Fenotipo normal al nacimiento
Padre portador de t(14;21)	27		45;XY,t(14;21)pat	Fenotipo normal al nacimiento
Padre portador de der(13;14)	29		45,XY,der(13;14)pat	Fenotipo normal al nacimiento
Padre portador de der(14;15)	25	15,5	45,XX,der(14;15)pat	Fenotipo normal al nacimiento
Madre 46,XX,inv(2)	29	15	46,XY,inv(2)(p11;q13)mat.	Hijo previo Síndrome de Down

V.6 Alteraciones cromosómicas identificadas en 1993 cariotipos fetales.

De los 1993 fetos con cariotipo, 77 presentaron una alteración cromosómica (3.9%), de las cuales 48 fueron alteraciones numéricas, (62%) y 29 aberraciones estructurales (38%). De las alteraciones numéricas 35 involucraron cromosomas autosómicos (73%) y 13 cromosomas sexuales (27%) y de las aberraciones estructurales 25 fueron balanceadas (86%) y 4 no balanceadas (14%) (Tabla VII).

Alteraciones Numéricas: Las alteraciones numéricas identificadas en cromosomas autosómicos fueron 22 fetos con Síndrome de Down por trisomía libre, 12 varones y 10 mujeres una de ellas con mosaico cromosómico; 10 presentaron trisomías 18, 6 hombres y 4 mujeres; 1 producto masculino triploide (69,XXY), un producto femenino con trisomía 20 por mosaico (46,XX/47,XX,+20 12%), cariotipo que se confirmó en una segunda amniocentesis y un feto femenino, con un cromosoma marcador(47,XX, + mar) que al estudiarlo con bandas Q resultó ser un cromosoma bisatelitado. El cariotipo a la pareja mostró que el marcador lo heredó de la madre.

Las alteraciones identificadas en cromosomas sexuales fueron: 5 fetos con Síndrome de Turner (45, X) uno de ellos por mosaico; 5 productos con Síndrome XYY, uno de ellos por mosaico (46,XY/47,XYY); 2 con Síndrome de Klinefelter y un producto femenino XXX.

Alteraciones Estructurales: De las 25 alteraciones cromosómicas balanceadas (86%), 9 fueron translocaciones robertsonianas (36%), 5 mujeres y 4 varones, 7 fueron heredados 2 *de novo*; 11 fueron translocaciones recíprocas (44%), 7 mujeres y 2 varones, heredadas 5, *de novo* 3 y sin información 2, las 5 restantes fueron inversiones pericéntricas, todos los fetos fueron del sexo masculino y todas las inversiones heredadas.

De las 4 alteraciones estructurales no balanceadas (14%), 3 fueron derivadas de translocaciones que dieron origen a: un producto femenino con trisomía 13 por translocación 13;13 *de novo* ya que el cariotipo a los padres fue normal; un feto femenino con trisomía parcial 3 derivado de una translocación paterna 3;7; y un feto femenino con delección de un cromosoma 7 derivado de una translocación 7;11 materna. El cuarto caso fue un producto femenino con un isocromosoma de brazos cortos del cromosoma 12 por mosaico que dió origen a un feto con tetrasomía de brazos cortos de un cromosoma 12, esta pareja se hizo la amniocentesis por tener un hijo previo Klinefelter.

**TABLA VII ALTERACIONES CROMOSOMICAS OBSERVADAS
EN 1993 CARIOTIPOS FETALES**

1. -ALTERACIONES NUMERICAS	48
A.- AUTOSOMAS	35
Síndrome de Down	22
Trisomía 18	10
Triploidía	1
Trisomía 20 por mosaico	1
47,XX,+mar	1
B.- CROMOSOMAS SEXUALES	13
Síndrome de Turner (Uno por mosaico)	5
47,XYY (uno por mosaico)	5
Síndrome de Klinefelter	2
47,XXX	1
2. -ALTERACIONES ESTRUCTURALES	29
A.- TRANSLOCACIONES	24
Balanceadas	20
Robertsonianas	9
- Heredadas 7, <i>de novo</i> 2	
Recíprocas	11
- Heredadas 6, <i>de novo</i> 3, 2 sin información	
No Balanceadas	4
- 2 heredadas	
- Todas del sexo femenino	
INVERSIONES PERICENTRICAS	5
- Todas heredadas	
- Todos del sexo masculino	

V.7 Alteraciones cromosómicas y su frecuencia vs indicación para el estudio prenatal.

Edad Materna

Con esta indicación se estudiaron 1341 pacientes (66%), 9 de 15 a 19 años de edad y 1332 de 35 años en adelante. En 1320 estudios se obtuvo el cariotipo fetal, el cual fue normal en 1279 casos (96.8%) 639 mujeres y 640 varones. Los 41 cariotipos alterados (3.2%), así como la edad en la que se identificaron se muestran en la tabla VIII.

**TABLA VIII ALTERACIONES CROMOSOMICAS OBSERVADAS EN 1320
AMNIOCENTESIS DEL GRUPO DE EDAD MATERNA**

EDAD	η	BALANCEADA	η	NO BALANCEADA	η	TOTAL	(%)
≤ 19	9		(0)		(0)		(0.0)
35	137			47,XY,+21	(1)	1	(0.72)
36	147	45,XX, der(13;14) novo	(1)	47,XX,+18 47,XX,+21 47,XXY	(3)	4	(2.72)
37	198	45,XY,der(13;14)novo 46,XY,inv(20)mat 46,XY,inv(20)mat	(3)		(-)	3	(1.5)
38	195			47,XY,+21 47,XXY	(2)	2	(1.02)
39	199	46,XY,inv(2)mat 45,XY,der(13;14)pat	(2)	47,XXX 47,XX,+21 46,XX/47,XX,+20 47,XY,+21 47,XY+21 47,XXY	(6)	8	(4.0)
40	154		(0)	47,XX,+21 47,XY+21 47,XY+21 47,XY+18 47,XY+21 47,XX+21 47,XY+21	(7)	7	(4.5)
41	123	46,XX,t(2;14)novo	(1)	46,XX/47,XX,+21 47,XX,+21 46,XX/47,XX,+ i (12p)	(3)	4	(3.25)
42	86	46,XX,t(1;13)mat	(1)	47,XX,+21 46,XX,der(13;13)+13 47,XXY 47,XX,+21 47,XY+18	(5)	6	(6.9)
43	42		(0)	47,XX,+21 47,XY,+21 47,XY+18 47,XY+18 47,XXY	(5)	5	(11.9)
44	24						
45	14			47,XX+18	(1)	1	(7.14)
46-49	8		(0)		(0)		(0.0)
TOTAL	1320		(8)		(33)	41	(3.2)

Angustia Materna

Angustia materna es la indicación que incluye mujeres menores de 35 años que no tienen antecedentes de hijos afectados. Esta indicación se incluye con base a que toda pareja sin importar su edad o antecedentes esta en riesgo de tener un hijo afectado. La ansiedad que genera este temor y el riesgo de una demanda en caso procrear un hijo afectado han sido los motivos para incluir esta indicación en el grupo de alto riesgo. Se estudiaron 236 pacientes por esta indicación (11.6%) presentando un cariotipo normal 231 fetos (98%); 103 mujeres y 128 varones. De los 5 cariotipos alterados (2%), 3 fueron translocaciones recíprocas, y dos alteraciones de cromosomas sexuales (45,X y 47,XXY).Tabla IX.

TABLA IX ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN EL GRUPO DE ANGUSTIA MATERNA

	GRUPO A n=15	GRUPO B n=221	TOTAL 236
Cariotipo Normal	13	218	231 (98%)
Cariotipo Alterado	2 45,X 46,XY t(1;2)novo	3 46,XX,t(9;12)novo? 46,XX/46,XX,t(6;18) 47,XXY	5 (2%)

Hijo previo con Síndrome de Down

Con esta indicación se estudiaron 131 parejas (6.5%) que tuvieron un hijo previo con Síndrome de Down por trisomía libre, de 123 resultados obtenidos 117 fueron normales 63 mujeres y 54 varones (95%) los 6 restantes (5%) presentaron un cariotipo alterado el cual se muestra en la tabla X

TABLA X ALTERACIONES CROMOSOMICAS OBSERVADAS EN PAREJAS CON UN HIJO PREVIO SINDROME DE DOWN

	GRUPO A n=82	GRUPO B n=41	TOTAL 123
Cariotipo Normal	79	38	117 (95%)
Cariotipo Alterado	3 47,XY,+21* 46,XY/47,XYY 46,X,inv(Y)pat	3 47,XY,+21* 45,X/46,XX,(70%) 47,XX,+mar**	6(5%)

*2 hijos anteriores con Síndrome de Down

** Heredado de la madre

Hijo previo con cromosomopatía

Se estudiaron 40 parejas (2%) con un hijo previo con alguna de las siguientes cromosomopatías: Síndrome de Turner, trisomías 8, 13, 18, hijo Síndrome Cri-du-chat y delección de brazos cortos de un cromosoma 18. Presentaron un cariotipo normal 39 fetos,(97.5%), 22 fueron mujeres y 17 varones, y un feto con cariotipo alterado (2.5%) se identificó en una pareja que se realizó la amniocentesis por tener el antecedente de un hijo con malformaciones compatibles con trisomía 13, el cual falleció. El feto en estudio presentó una translocación robertsoniana balanceada [(45,XX,der(13;14)(q10;q10)]. A la pareja se le recomendó que se hicieran el cariotipo, pero no se lo practicaron.

Portador de translocación o Inversión

Con esta indicación hubo 20 casos (1%), 18 de las amniocentesis se hicieron por ser uno de los progenitores portador de una translocación balanceada y 2 por ser portadores de una inversión pericéntrica. De las translocaciones, 10 pacientes fueron portadores de translocaciones recíprocas, (7 mujeres y 3 varones) y 8 de translocaciones robertsonianas (4 mujeres y 4 varones). Con respecto a las inversiones una fue portada por una mujer (inversión del par 2) y otra por un hombre (inversión del par 7).

En este grupo, el cariotipo fue normal en 6 casos 3 hombres y 3 mujeres (30%). En 13 fetos la translocación o inversión fue balanceada (65%), 9 mujeres y 3 varones y sólo en una pareja se identificó un feto con una delección de brazo corto de un cromosoma del par 7 (5%), la cual fue el resultado de una translocación no balanceada 7;11 que portaba la madre. La descripción de los rearrreglos balanceados en los progenitores, sus antecedentes, así como el cariotipo de los fetos se muestran en la tabla XI.

TABLA XI RESULTADO DEL CARIOTIPO FETAL EN 20 PAREJAS PORTADORAS DE TRANSLOCACION O INVERSION

Portador	Edad	Semana Gestación	Resultado	Comentario
46,XX,t(7;11)	33	16/18	46,XX.der(7),t(7;11)mat	Se interrumpió
46,XX,t(4;12)	32	15	46,XX,t(4;12)(q12;p13.3)mat	
46,XX,t(8;15)	32	14,3	46,XX	
46,XX,t(4;12)	33	15	46,XX,t(4;12)(q12;p13.3)mat	
45,XX,der(14;21)	29	18,5	45,XX,der(14,21) mat	Dos hijos con Síndrome Down, uno falleció
46,XX,t(9;10)	27	18	46,XY	Translocación familiar, hija con trisomía parcial 9
46,XX,t(14;15)	34	16	46,XX	Hijo con trisomía parcial 15q. Dos abortos
46,XX,t(19;20)	29	16	46,XX,t(19;20) mat	3 abortos, un hijo portador balanceado de la translocación
45,XX,der(14;21)	27	16	45,XY,t(14,21) mat	Hijo Síndrome Down
45,XX,der(13;14) (q10,q10)	27	16	45,XX, der(13;14) mat	
45,XX,der(15;21)	27	16	45,XX,der(15;21)mat	Hijo Síndrome Down
46,XY,t(3;14)	34	16,4	46,XX,t(3;14)(q27;p25)pat	
45,XY,der(14;21)	34	18	46,XX	Hermana Síndrome Down
46,XY,t(8;14)	29	18	46,XY,t(8;14) pat	Hijo con trisomía parcial 14q
45,XY,t(5;14)	27	16	46,XY	Translocación familiar
45,XY,t(13;14)	29	15	45,XY,t(13;14) mat	Hijo intersexo y translocación balanceada
45,XY,der(14;15)	25	15.5	45,XX, der(14;15) pat	
45,XY,der(13;14)	30	16.2	46,XY	Abortos
46,XX,inv(2)	29	15	46,XY,inv(2)(p11,q13) mat	Hijo previo Síndrome Down
46,XY,inv(7)	31	15	46,XY	

Progenitor con un mosaico celular

Se estudió el feto de 13 pacientes con esta indicación. En 12 parejas uno de los progenitores presentó el mosaico, 8 mujeres y 4 hombres, y en una pareja ambos fueron portadores de un mosaico. El cariotipo del progenitor con el mosaico cromosómico y el del feto se muestran en la tabla XII. A las 13 parejas se les diagnosticó un feto con cariotipo normal, 9 varones y 4 mujeres.

TABLA XII RESULTADO DEL CARIOTIPO FETAL EN 13 PAREJAS EN DONDE UN PROGENITOR PRESENTO UN MOSAICO CELULAR

	Cariotipo del Progenitor	Edad	Sem Gest	Resultado
1	46,XX/47,XXX (6%)	41	16	46,XY
2	46,XX/47,XXX (5%)	31	18	46,XY
2	46,XX/47,XXX (2%)	27	16	46,XY
4	46,XX/47,XXX /49XXXXX	35	14.3	46,XX
5	45,X/46,XX	27	16	46,XY
6	45,X/46,XX	32	19	46,XY
7	45,X/46,XX 46,XY/47,XXY	25	18	46,XX
8	45,X/46,XX/47,XXX	30	15	46,XX
9	46,XX/47,XX,+21	32	16	46,XY
10	46,XY/47,XXY	29	17.2	46,XX
11	46,XY/47,XXY	32	17	46,XY
12	46,XY/47,XXY	33	18	46,XY
13	46,XY/47,XXY/47,XY,+21	33	13	46,XY

Antecedentes familiares de Síndrome de Down

Con esta indicación se estudiaron a 51 parejas que tuvieron un familiar con Síndrome de Down del que no conocían el cariotipo. En todos los casos se diagnosticó un feto normal.

Triple marcador positivo

La prueba se consideró positiva cuando el riesgo para tener un hijo con Síndrome de Down fué de 1 en 270, que es el riesgo para una mujer de 35 años al término del embarazo. Se estudiaron 25 pacientes con un triple marcador positivo, en 24 la edad fue menor de 34 años, y en una, la edad fue de 41 años, la cual fue incluida en el grupo de edad materna. En las 24 pacientes menores de 34 años se diagnosticó un feto normal, 17 mujeres y 7 varones y en la paciente de 41 años con un riesgo para Síndrome de Down de 1:16, se diagnosticó una niña con trisomía 21.

Alfafetoproteínas en suero materno alteradas (AFP)

Se consideró un valor normal de las AFP cuando los múltiplos de la mediana (MOM) se encuentran entre 0.4 y 2.5. En 12 pacientes el valor de las AFP fue menor de 0.4 MOM y en 7 mayor de 2.5 MOM. En 18 de las parejas se identificó un feto

normal, 8 mujeres y 10 varones y en una pareja con unas AFP en suero materno ≤ 0.4 M.O.M se diagnóstico un feto con trisomía 18.

Determinación de sexo

Se estudiaron 6 pacientes con esta indicación, en 5 por ser ellas portadoras del gen de la Distrofia Muscular Duchenne (DMD) y un caso por ser portadora de hemofilia. Cuatro varones y una mujer con cariotipo normal fueron identificadas en las parejas en riesgo de DMD. Se realizó el estudio molecular por PCR en uno de los varones, el cual resultó afectado. A la paciente portadora de hemofilia se le diagnosticó una niña con cariotipo normal.

Alteraciones cromosómicas observadas en parejas con un ultrasonido alterado.

Se estudiaron 25 pacientes con esta indicación, 18 por presentar el feto una o más malformaciones y 7 por presentar patología del embarazo como oligohidramnion (poco líquido amniótico) o polihidramnion (aumento de líquido amniótico).

Feto con Malformaciones

En 15 de los 18 fetos con malformaciones se obtuvo el cariotipo y con una alteración se identificaron 8 de ellos (46.6%). Las alteraciones observadas fueron: 2 trisomías 18, un síndrome de Down, un producto triploide y 3 Síndromes de Turner. En el octavo caso la solicitud del estudio fue por presentar el feto un quiste nucal, pero se incluyó en el grupo de edad materna por presentar la madre 43 años, el cariotipo en este caso fue el de un producto masculino con trisomía 18. Tabla XIII

Patología del embarazo

En 2 de 7 casos con patología del embarazo (28%), uno con polihidramnion y otro con oligohidramnion severo, se observó un cariotipo alterado: un feto presentó una trisomía 18 y otro una trisomía parcial del cromosoma 7. En este último caso el cariotipo de los progenitores reveló que el padre era portador balanceado de la translocación 3;7. (tabla XIII)

**TABLA XIII ALTERACIONES CROMOSOMICAS OBSERVADAS EN 21 PAREJAS
CON UN ULTRASONIDO ALTERADO**

Edad	Sem Gest	Indicación	Resultado
28	19.3	Malformaciones	45,X
29	31	Malformaciones	47,XX,+18
25	16.2	Malformaciones	69,XXY
34	17	Higroma quístico, muerte fetal	47,XY,+18
24	21	Higroma quístico, Hidrops fetales	45,X
28	15	Higroma quístico	47,XX,+21
26	17	Higroma quístico	45,X
28	19	Oligohidramnion severo,malformaciones fetales	46,XX,der(3) t(3;7) (p25;p13)pat
	34	Polihidramnion, Cardiopatía	47,XX,+18

Alteraciones de Novo

Se identificaron 5 alteraciones de novo (0.25%), 2 en el Grupo A y 3 en el grupo B. La indicación para realizar los estudios fue la edad materna en 3 casos y angustia materna en 2 casos. Se identificaron 4 translocaciones balanceadas (una por mosaico) y una no balanceada, en este caso el embarazo se interrumpió y el diagnóstico se confirmó en piel fetal. La indicación, el cariotipo del feto así como el fenotipo del producto se muestran en la TABLA XIV.

**TABLA XIV TRANSLOCACIONES DE “novo” IDENTIFICADAS
EN 1993 CARIOTIPOS FETALES**

Indicacion	Edad	Sem Gest	Resultado	Fenotipo
Edad materna	41	17	46,XX,t(2;14)	Fenotipo normal
Edad materna	36	12	45,XY,der(13;14)	Fenotipo normal
Edad materna	42	16	46,XX,der(13;13),+13	Interrup.Confir. en piel fetal
Angustia materna	34	16	46,XY,t(1;2)	Fenotipo normal
Angustia materna	29	15	46,XX/46,XX, t(6,18)	Sin información

Otros

En la indicación “otros” se incluyeron pacientes menores de 35 años con alguno de los siguientes problemas: hijo previo con malformaciones, pérdidas reproductivas (abortos, muertes fetales) medicamentos o exposición a radiaciones durante el embarazo, hijo previo con algún Síndrome génico, y uso de drogas por uno de los

cónyuges. Los 121 casos con una de las indicaciones anteriores, tuvieron un cariotipo normal.

Complicaciones en el Diagnóstico

Mosaicos Celulares

En 1993 estudios se diagnosticaron 6 fetos con un mosaico cromosómico (0.3%). En 3 parejas donde la indicación del estudio fue el antecedente de un hijo previo con cromosomopatía (2 por Síndrome de Down y una con un Klinefelter), en una pareja se encontró un producto masculino con un mosaico XYY con 15% de las células estudiadas, el mosaico se confirmó al nacimiento en sangre periférica, el fenotipo del recién nacido fue normal, en el otro caso se diagnosticó un producto femenino con un mosaico de Síndrome de Turner, con 30% de las células alteradas, la recién nacida presentó fenotipo normal y el cariotipo en sangre también fue normal, y en el tercer caso se diagnosticó un feto masculino con un isocromosoma extra de brazos cortos de un cromosoma 12, en 39% de las células valoradas (51:131) que dió lugar a un producto con tetrasomía 12p, el embarazo se interrumpió y el feto presentó malformaciones compatibles con el Síndrome de Pallister. En los casos 4 y 5 la amniocentesis se realizó por edad materna, en un caso la paciente de 39 años logró su embarazo mediante GIFT (transferencia embrión a trompas) diagnosticándole un producto femenino con Síndrome de Down en donde 75% de las células analizadas presentaron la trisomía, el embarazo se interrumpió y el mosaico se confirmó en piel fetal. En el quinto caso se diagnosticó un producto femenino con trisomía 20 en el 12% de las células estudiadas, la amniocentesis se repitió y nuevamente se observó el mosaico. Al nacimiento el fenotipo de la recién nacida fue normal. Datos posteriores no se tienen pues la paciente cambió de médico. El sexto caso se realizó por angustia, el diagnóstico de un producto femenino con una t(6;8) se hizo en 2 de 3 frascos analizados en donde 15 células de 83 valoradas presentaron la translocación (18%). En este caso no se tiene información del desenlace del embarazo. Tabla XV

**TABLA XV MOSAICOS CROMOSOMICOS IDENTIFICADOS
EN 1993 CARIOTIPOS FETALES**

Indicación	Edad	Sem Gest	Resultado	Observaciones
Edad materná	39	17	46,XX/47,XX+20 (12%)	Se confirmó en una segunda amniocentesis. Nació con fenotipo normal
Edad materna	41	17	46,XX/47,XX+21 (75%)	Se confirmó en piel fetal. Fenotipo Down
Hijo previo Síndrome Down	34	18	46,XY/47,XY (15%)	Se confirmó al nacer con un cariotipo en sangre. Fenotipo Normal
Hijo previo Síndrome Down		16	45,X/46,XX (30%)	Nació con fenotipo normal, cariotipo en sangre 46,XX
Hijo previo 47, XXY	41	19	46,XX/47,XX,i (12p)(p10)	Se interrumpió el embarazo. Malformaciones compatibles con el Síndrome de Pallister
Angustia	29	15	46,XX/46,XX, t(6;8%)[18%]	Sin información del nacimiento

Pseudomosaicos

Se identificaron 18 casos en los 1993 estudios realizados (0.8%), 7 en el grupo A y 11 en el grupo B. En todos los casos se encontraron más de 2 células con la alteración en 1 de 3 frascos analizados. Las alteraciones observadas fueron principalmente trisomía 18 (8 casos), trisomía 10 en 2 casos y las siguientes alteraciones se presentaron en un caso: trisomía X, un isocromosoma de brazos largos de un X, translocaciones: t(8;9), t(2;12), t(1;14), t(2;13), delección de brazos cortos de un cromosoma 1 y de un cromosoma 5 e inversión pericéntrica de un cromosoma 20. En todos los casos el producto nació normal. Tabla XVI

Contaminación con tejido materno

En cuatro casos, 2 con un líquido amniótico claro y 2 con un líquido hemático, se observaron células masculinas y femeninas (0.2%). En 3 de esos casos predominaron las células 46,XY. En los cuatro casos se diagnóstico el cariotipo como masculino, lo cual se confirmó al nacimiento. (Tabla XVI)

**TABLA XVI PROBLEMAS DE DIAGNOSTICO
EN 1993 CARIOTIPOS FETALES**

MOSAICOS CELULARES	6	(0.3%)
PSEUDOMOSAICOS	18	(0.8%)
CONTAMINACION CON TEJIDO MATERNO	4	(0.2%)

V.8 Tiempo de obtención del resultado

El tiempo requerido para obtener el resultado en ambos grupos, estuvo en función del método utilizado y de las características de la muestra enviada. Los datos se presentan en la Tabla XVII.

TABLA XVII TIEMPO DE OBTENCION DEL RESULTADO EN FUNCION DEL METODO Y CALIDAD DE LA MUESTRA

METODO	DIAS	COLOR		PAQUETE CELULAR		
		Ambar	Hemático	Bueno	Regular	Escaso
		Días		Días		
GRUPO A						
A	20.6±4.9	20.7±4.7	20.2±4.6	18.9±4.0	18±0	26.5±0.7
B	17.3±2.9	17.2±3	17.8±2.9	16.1±1.9	18±23	15.3±2.0
C	15.2±2.6	14.7±2.4	16.5±3.5	14.6±2.4	15.6±2.7	15.9±3.4
E	12±1.9	12±1.9	12.9±1.9	11.8±2.0	12±1.8	12.3±1.9
GRUPO B						
B	15.7±2.6	15.7±2.8	15.5±1.3	15.7± 1.4	15.7±1.4	15.7±2.8
D	10.7±1.5	10.6±1.3	11.5±2.0	11.0± 1.6	10.7 ±1.6	10.5±1.4
E	10.5±1.4	10.3 ±1	12.7±2.8	10.8± 1.6	10.5±1.6	10.2±0.9

Adendum

Con la finalidad de obtener la frecuencia de alteraciones cromosómicas, según la indicación para realizar el estudio prenatal, con un valor estadístico de mayor confiabilidad, se incluyeron los resultados de 939 estudios adicionales realizados durante la elaboración de este manuscrito y que se presentan en las tablas XVIII, XIX y XX. En la tabla XVIII se muestran las indicaciones para realizar los estudios así como el número de cariotipos fetales alterados, de acuerdo a cada indicación y en las tablas XIX y XX se presentan los cariotipos fetales alterados, así como la semana de gestación, indicación, edad de la paciente, la resolución del embarazo y antecedentes familiares en caso de haberlos.

TABLA XVIII INDICACION Y ALTERACIONES CROMOSOMICAS OBSERVADAS EN 939 AMNIOCENTESIS

Indicación	Grupo A (n=181)	Grupo B (n=758)	Total (n=939)	Alteraciones Cromosomicas (n=38)	(%) (4.0)
Edad	122	526	648	24	(3.7)
Angustia	3	89	92	-	(0)
Hijo previo S. de Down	13	8	21	-	(0)
Hijo con cromosomopatía	3	6	9	-	(0)
Portador de translocación ó inversión	2	4	6	5	(83.0)
Progenitor mosaico	3	1	4	-	(0)
Antecedentes familiares de Síndrome de Down	2	12	14	-	(0)
Tripe/Cuadruple marcador positivo	2	51	53	1	(1.9)
AFP \downarrow \leq 0.4 M.O.M.	-	5	5	1	(20.0)
AFP \uparrow \geq 0.4 M.O.M.	-	3	3	-	(0)
Feto Malformado por US	5	10	15	4	(26.6)
Ultrasonido Alterado	6	4	10	1	(10)
Otros	20	39	59	2	(3.4)

M.O.M= Múltiplos de la mediana

**TABLA XIX ABERRACIONES CROMOSOMICAS NO BALANCEADAS OBSERVADAS
EN 939 ESTUDIOS CITOGENETICOS (n=32)**

Indicación	Edad	Sem Gest	Resultado	Observaciones
Edad Materna	42	16.4	47,XY,+21	Se interrumpió
Edad Materna	40	16.2	47,XY,+21	Se interrumpió
Edad Materna	44	16.0	47,XY,+21	Se interrumpió
Edad Materna	38	15.0	47,XY,+21	Se interrumpió
Edad Materna	42	17.0	47,XX,+21	Se interrumpió
Edad Materna	39	16.6	47,XX,+21	Triple marcador positivo. Se interrumpió
Edad Materna	39	16.0	47,XX,+21	
Edad Materna	41	16.0	47,XY,+21	
Edad Materna	39	16.0	47,XY,+21	
Edad Materna	46	15.0	47,XY,+21	Se interrumpió
Edad Materna	40	18.6	47,XY,+21	Triple marcador positivo. Se interrumpió
Edad Materna	42	20.6	47,XY,+21	Llegó a término
Edad Materna	41	16.0	47,XX,+21	Se interrumpió
Edad Materna	44	16.0	46,XX/47,XX, r(15) (16%)	Confirmación con FISH. Se interrumpió
Edad Materna	43	19.0	46,XX,add(13q)	Feto con malformaciones (Quiste nuczal Hidrotorax). Se interrumpió
Edad Materna	41	26.0	46,XX,der(13;13),+13/47,XX,der(13;13),+13+mar	Marcador bisatelitado. Se interrumpió
Edad Materna	42	16.6	47,XX,+mar	Marcador bisatelitado. Se interrumpió
Edad Materna	38	16.0	45,X	
Edad Materna	38	20.6	47,XXY	Llegó a termino
Edad Materna	41	20.0	46,X,del (Y)(q12)pat	Papá portador. Llegó a término
Edad Materna	40	16.0	46,X,del (Y)(q12)	Llegó a termino
Edad Materna	36	14.6	46,X,del (Y)(q12)	Llegó a termino
Edad Materna	42	16.0	46,X,del (Y)(q12)	Embrarazo en evolución. Un aborto espontáneo con trisomía 16
Portadora de t(13,16)	32	15	46,XX,der(13)t(13,16)(q12,q22)mat	Se interrumpió
Triple marcador positivo para t(18)	32	21	69,XXX	Feto con Malformaciones. Se interrumpió
AFP bajas	31	20	47,XY,+21	Llegó a término
Feto Malf. x US	27	20	45,X	Se obitó. Pérdida espontánea
Feto Malf. x US	29	18	45,X	Higroma Quistico. Aborto espontáneo
Feto Malf. x US	28	13	45,X(66%)/46,X,r(XóY) (33%)	Se interrumpió
Feto Malf. x US	33	25	47,XY,+18	
Ultrasonido alterado	34	23	45,X	Oligohidroamnion
Otros	28	15	46,X de (Y)(q12)	Hijo previo con prob. Sind. D' George. FISH para Sind. D'George fue Normal

**TABLA XX ABERRACIONES CROMOSOMICAS BALANCEADAS
OBSERVADAS EN 939 AMNIOCENTESIS (n = 6)**

Indicación	Edad	Sem Gest	Resultado	Observaciones
Edad Materna	41	15.4	46,XY,t(5;17)(q11;q11)mat	S.I.N
Madre portadora de rob(13;14)	41	16.5	45,XY,der(13,14)(q10;q10)mat	S.I.N
Madre portadora de rob(13;14)	32	17.5	45,XX,der(13;14)(q10;q10)mat	S.I.N
Padre portador de t(5;14)	35	17.5	46,XX,t(15;14)pat	S.I.N
Padre portador de inv(2)	31	15	46,XX,inv(2)pat	Hijo previo con inversión no balanceada
Otros. Hijos con malformaciones	33	16	46,XX,t(9;21)mat	Madre con t (9;21)

S.I.N= Sin información al nacimiento

VI.- DISCUSION

La mayoría de las alteraciones cromosómicas que presenta el feto ocurren en parejas cromosómicamente normales, estas alteraciones se originan como eventos “de novo” principalmente durante la gametogénesis. Se estima que de 18 a 19% de los ovocitos y 3 a 4% de los espermatozoides son aneuploides, por lo que no es sorprendente que 1 de cada 13 concepciones presenten alguna alteración cromosómica (Milunsky 1992). Estudios más recientes, realizados con técnicas moleculares como FISH (hibridización "in situ" con fluorescencia) en embriones producidos en programas de fertilización “in vitro”, muestran que 20% de éstos presentan un cariotipo alterado. La gran mayoría de estos embriones, principalmente aquellos con monosomías, se pierden muy temprano en el embarazo, apareciendo incluso como retrasos de la menstruación y otros como las trisomías y triploidías son abortados en el primer trimestre (50 al 60%). Debido a esta gran cantidad de pérdidas embrionarias y fetales, sólo el 0.65% de los recién nacidos vivos presentan alguna alteración cromosómica, que en la mitad de los casos es causa de un defecto congénito grave y del 5% de la mortalidad perinatal.

Las alteraciones cromosómicas presentes en el recién nacido tienen implicaciones tanto médicas como económicas y sociales, no sólo para la familia, sino para la sociedad en general, por lo que países como Cánada, Estados Unidos, Israel, Australia y la Comunidad Europea han establecido programas preventivos mediante el diagnóstico prenatal *in útero* lo más precoz posible y en donde la demanda por estos estudios fue incrementándose principalmente por dos factores: mayor

conocimiento de la población general sobre los estudios y a que las mujeres profesionistas retrasan su maternidad después de los 30 años. Por otro lado los cambios sociales producidos en los últimos años, originaron que un buen número de parejas por razones económicas, culturales y de formas de vida han decidido tener menos hijos y en etapas más tardías de su vida, por lo que han adoptado las medidas necesarias para lograr este fin (Hsu, 1992).

Diferentes estudios muestran que las amniocentesis se realizan con mayor frecuencia en mujeres que viven en grandes ciudades, son profesionistas, con mayor ingreso familiar y son atendidas por gineco-obstetras jóvenes (Naber, 1987). Modell y col. estimaron que en Estados Unidos en 1987, 25% de las mujeres mayores de 35 años tuvieron una amniocentesis. En el estado de Nueva York la utilización fue de 45.8% en 1986 (Hsu, 1992). En un estudio publicado por Corwell en 1994, muestra que en 25 regiones de 13 países europeos (Bélgica, Croacia, Dinamarca, Francia, Alemania, Grecia, Suiza, Reino Unido, Irlanda, Italia, Luxemburgo, Malta y Holanda) hubo un incremento en la utilización del diagnóstico citogenético prenatal llegando a un 10% en el norte de Italia y a 88% en Suiza. En Israel, Shohat y col. (1995) reportaron que el 67% de las mujeres ≥ 37 años se practicaron un estudio prenatal. En México no hay datos al respecto, de los pocos estudios reportados se infiere que un bajo índice de la población hace uso de estos servicios. Cerrillo y col. en 1986, Violante y col. 1989, Grether y col., 1991 y Méndez y Col., 1994 en conjunto han reportado alrededor de 1,300 estudios.

En México, la frecuencia de alteraciones cromosómicas en el recién nacido vivo es de 1 en 151 (Salamanca y Col., 1978) y en abortos del primer trimestre del 50 al 60%, (Cerrillo y Col., 1995), frecuencias muy similares a las reportadas en otros países. Por otro lado, también se están produciendo cambios reproductivos estimulados por campañas gubernamentales encaminados a disminuir el número de hijos, por lo que ahora las parejas tienen menos hijos y muchas mujeres ya retrasan su maternidad.

Establecer la metodología y un programa para hacer diagnóstico prenatal en parejas de alto riesgo fue una necesidad ya que sólo un número reducido tenía acceso a él, pues había que viajar al extranjero para poder hacerse dichos estudios.

Por el reducido número de estudios realizados y de publicaciones en nuestro país, el asesoramiento genético sobre el riesgo de un hijo afectado, se ha basado en datos obtenidos en el extranjero. En el presente estudio se muestra el resultado de alrededor de 3,000 amniocentesis, que generaron datos que podrán utilizarse para estimar el riesgo de una pareja particular en nuestro país.

En los dos grupos estudiados del presente trabajo, se siguieron los lineamientos internacionales con respecto a : a) selección de la población estudiada, b) etapa de la gestación para realizar el estudio, y c) en la adaptación de las técnicas que permitieron obtener resultados en los tiempos establecidos para este tipo de estudios.

En países en los que existe una política nacional sobre diagnóstico citogenético prenatal son generalmente cinco las indicaciones aceptadas para hacer el estudio: 1) edad materna, 2) tener un hijo previo con una alteración cromosómica, 3) que uno de los padres sea portador de un rearrreglo balanceado, 4) que la mujer sea portadora de una enfermedad ligada al X y no haya diagnóstico molecular del gen afectado y e) cuando por un ultrasonido, el feto presente malformaciones o se observe patología del embarazo como por ejemplo oligohidroamnios (poca cantidad de líquido amniótico), Corwell, 1994. Otras indicaciones aceptadas solo por algunos grupos son: angustia materna, marcadores bioquímicos alterados (Triple y cuadruple marcador), y exposición a teratógenos. En ambos grupos de este estudio se siguieron dichos lineamientos.

La indicación más frecuente para estudiar el cariotipo fetal en nuestra población fue la edad de la mujer (en la mayoría de los estudios, la edad materna avanzada se consideró cuando la mujer tenía 35 años o más al término de embarazo) 66% seguida por la angustia materna (11.6%) y en tercer lugar el haber tenido un hijo con Síndrome de Down (6.5%) En todos los reportes de la literatura, la edad materna fue la principal indicación para solicitar estos estudios, con una demanda de 61% a 94.5% (Hsu y col., 1978, Golbus y col., 1979, Benn y col., 1985, Crane y col., 1988, Dick y col., 1996, Eiben y col., 1997). El tener un hijo con Síndrome de Down o alguna otra cromosomopatía fue la segunda indicación en países europeos (Cornel y col. 1994), con una frecuencia de utilización del 9% al 16%. Para otros grupos la segunda indicación fue angustia materna haciéndose por esta causa del 5% al 20% de los estudios (Daniel y col. 1998, Eiben y col., 1997).

La amniocentesis o toma de la muestra de líquido amniótico es una etapa muy importante del estudio prenatal, su realización requiere de personal entrenado y equipo adecuado, esto para evitar que por el procedimiento se pierda el embarazo. En ambos grupos las muestras fueron obtenidas por ginecólogos experimentados. En el grupo A se perdieron 4 embarazos en la primera semana posterior a la punción (0.6%), en el grupo B, en 817 amniocentesis realizadas por médicos del grupo hubo 3 pérdidas, dos el día de la punción (en uno de los embarazos el producto era triploide), y la tercera se perdió a la semana de realizado el procedimiento. Con excepciones, los productos triploides se abortan espontáneamente en el primer trimestre del embarazo, por lo que esta pérdida no se debió a la punción la cual se

realizó a la semana 16 de la gestación, así en grupo B se tuvo un 0.36% de pérdidas debidas al procedimiento. En promedio de ambos grupos el porcentaje de pérdidas fue de 0.45% el cual está dentro de los lineamientos internacionales que señalan alrededor de 0.5% (Elias S. and Simpson LJ, 1992). En las dos semanas posteriores a la punción Hanson y col., (1987) reportaron un 0.4% de pérdidas, Grether y col., (1991) un 0.57% y Eiben y col., (1997) un 0.86%.

El realizar la amniocentesis en las semanas 15 a 17 de la gestación se debe a que los resultados deben estar disponibles antes de las 20 semanas, pues en países donde la interrupción de la gestación es legal, la ley establece que un aborto se considera cuando el producto tiene 20 semanas de gestación o 500 grs de peso.

Tomando en cuenta que en ocasiones es necesario repetir la amniocentesis (porque no se haya obtenido líquido durante la punción, por discrepancia en los resultados del cariotipo, etc) es necesario que se realice en ese período de la gestación. En el presente estudio el 69% de las amniocentesis se hicieron entre las 15 y 17 semanas, el 7% fueron amniocentesis tempranas (a la semana 14 o antes) y el restante 24% se hicieron más tardíamente por varias razones: a) solicitaron el estudio de la semana 18 en adelante, b) necesidad de una segunda amniocentesis, c) malformaciones detectadas por ultrasonido en el feto.

En citogenética prenatal han habido avances tecnológicos importantes que han permitido evitar la contaminación de los cultivos, obtener resultados en menor tiempo e identificar los cromosomas de manera más precisa. Todo esto se ha logrado con el uso de campanas de flujo laminar, medios de cultivo enriquecidos para que las células amnióticas se desarrollen más rápido (ej. Medio de cultivo Chang), así como técnicas de cosecha más rápidas. En ambos grupos de este estudio se fueron adoptando estos avances como el uso de campanas de flujo laminar, logrando reducir la falla de los cultivos (problema que se tuvo en el grupo A). El uso del medio Chang y la técnica de cosecha directa permitieron obtener resultados en 10 a 12 días como se exige internacionalmente a un laboratorio que realice este tipo de estudios (Hsu, 1992). Cuando no se contaba con medios enriquecidos y la cosecha se hizo con técnica de subcultivo, los resultados se obtuvieron en 15 a 20 días, tiempos muy similares a los de Hsu y col., 1980, Crandall y col., 1980, Benn y col., 1985, quienes reportaron sus resultados en 3 a 4 semanas.

Se obtuvieron resultados en el 98.5% de los casos (95.8% en el grupo A y 99.8% en el grupo B), porcentaje que se encuentra dentro de los lineamientos internacionales, que indican que se debe tener un 95% de éxito. En la literatura se reporta un

porcentaje de éxito que va del 95.7% al 99.75% (Hsu y col. 1978, Benn y col., 1985, Ríos y col., 1994, Grether y col., 1991, Eiben y col., 1998).

La frecuencia de alteraciones cromosómicas observadas fue de 3.9%, (4.5% en el grupo A y 3.5% en el grupo B), la cual es similar a lo reportado por Hsu y col., (1978) que fue de 3.9%, pero más elevada que lo observado por Golbus y col., (1979) 2.9%, Crandall y col., (1980) 2.16%, Benn y col., (1985) 2.13%, Katayama y col., 1989 (2.6%), Naber y col., (1987) 2.18% y Eiben y col., (1997) 2.21%. La frecuencia fue menor que lo reportado por el grupo del Instituto Nacional de Perinatología que tuvo un 8.4%. La diferencia en las frecuencias observadas puede explicarse en parte por los diferentes criterios para seleccionar la población de estudio, por ejemplo, Crandall consideró la edad materna desde los 34 años, en cambio en el grupo de INPer desde los 38 años. En otros grupos se incluyeron un mayor número de parejas por angustia materna como Naber y col., (1987) y Eiben y col., (1997), o más parejas portadoras de translocaciones o con embarazos que por ultrasonido mostraron patología como en el INPer.

En relación con las alteraciones cromosómicas identificadas, las alteraciones numéricas (62%) fueron más frecuentes que las estructurales (38%). Las alteraciones numéricas de los autosomas fueron más frecuentes (73%) que las de cromosomas sexuales (27%). En forma individual, la Trisomía 21 fue la cromosomopatía más frecuente, seguida por la trisomía 18 con una incidencia de 28.5% y 9% respectivamente. En la literatura la incidencia de Síndrome de Down va del 19% al 57% (Grether y col., 1991 [19%], Crandall y col., 1980 [35%], Terzian col., 1985 [57%]), mientras que para la trisomía 18 fue del 5% al 23% (Hsu y col., 1979 [8%], Dacus y col., 1985 [13%], Ríos y col., 1994 [23%], Kerber y col., 1993 [5%]). Las alteraciones de cromosomas sexuales tuvieron una incidencia de 16.6% en nuestro estudio, en la literatura se reporta de un 6.4% a un 20% (Ríos y col., 1994 [6.6%], Kerber y col., 1993 [20%], Naber y col., 1987 [15.5%], Dacus y col., 1985 [6.4%]).

A las parejas que se les diagnosticó un feto con cromosomopatía se les propuso confirmar el diagnóstico, por lo que se les solicitó una muestra de sangre del recién nacido o tejido fetal si decidieron no continuar con el embarazo. De las 52 parejas en que se diagnosticó un feto con una alteración no balanceada se tuvo información o una muestra en 36 casos. Se interrumpieron 26 embarazos, 19 de los cuales fueron confirmados en piel o sangre fetal, los 7 casos que no se confirmaron fue debido a: no enviaron muestra (4 casos), la enviaron en formol (2 casos) ó estaba en descomposición (1 caso). En dos casos el médico informó que el embarazo se perdió

espontáneamente y tampoco envió material. El embarazo fue llevado a término por 8 parejas, todos con alteraciones en cromosomas sexuales, en 6 se confirmó el diagnóstico, 5 por valoración clínica y uno con el cariotipo en sangre del recién nacido. El séptimo caso, se diagnóstico como un producto con Síndrome de Turner, en una segunda amniocentesis realizada en otra institución se confirmó el diagnóstico de 45, X, sin embargo el nacimiento del cariotipo en sangre periférica y fibroblastos de piel mostró un mosaico 45,X/47,XXX. El octavo caso fue diagnosticado prenatalmente como un mosaico 45,X(30%)/46,XX, el cariotipo en sangre de la recién nacida mostró solo células 46,XX (cariotipo realizado por otro laboratorio). En la literatura se han reportado otros casos en donde el diagnóstico prenatal en células amnióticas mostró un cariotipo 45,X y su confirmación en tejido de aborto o sangre del recién nacido mostró que fueron mosaicos de cromosomas sexuales como pasó en el séptimo caso (Hsu y col. 1978, Milunsky A, 1976, Nocera y col., 1985, Roland y col. 1990). Esto puede deberse a que las diferentes líneas celulares presentes en el feto no estén distribuidas homogéneamente en los tejidos o a que el porcentaje de células de una u otra línea sea muy pequeño, en ambos casos la detección del mosaico celular es difícil. En una revisión sobre mosaicos 45,X/46,XX realizado por Johnson y Wapner, (1997), mostraron que de 210 casos diagnosticados prenatalmente, sólo el 79% fueron confirmando citogenéticamente. Esto puede deberse a que las células alteradas se hayan originado de las membranas extraembrionarias o a que las células aneuploides deben de buscarse en diferentes tejidos, ya que las células alteradas pueden estar presentes en unos tejidos y en otros no. En el octavo caso el mosaico sólo se buscó en células de sangre periférica.

En los 25 casos en que se hizo un diagnóstico de aberración estructural balanceada, 21 fueron heredados y 4 de novo y todos, excepto uno de cual no se tuvo información, nacieron normales.

En este estudio se incluyeron dos grupos de la población mexicana, uno que asistió a un hospital del sector salud (GRUPO A) y otro que fue atendido en un hospital privado (GRUPO B). Las indicaciones y semanas para realizar el cariotipo fetal fueron las mismas para ambos grupos, sin embargo hubo diferencias en los resultados obtenidos debido a la selección de los pacientes y a los diferentes recursos materiales y de equipo con que contaron los dos laboratorios.

En relación a cuales fueron las indicaciones mas solicitadas, con excepción de la edad materna que fue la opción número uno y el tener el antecedente de un familiar con Síndrome de Down, que fue la opción número cuatro en ambos grupos, hubo diferencias. El tener un hijo Síndrome de Down fué la segunda opción en el grupo A y la tercera en el grupo B, la angustia materna ocupó el quinto lugar en el grupo A y

el segundo en el grupo B, presentar un triple marcador positivo para Síndrome de Down prácticamente no existió en el grupo A, el ser portador de una translocación balanceada representó la opción número 6 para el grupo A y la novena para el grupo B. Al comparar la frecuencia con que fueron solicitadas una u otra de las indicaciones hubo diferencias estadísticamente significativas en la edad materna ($p=0.0003$), en angustia materna ($p=0.000001$), en tener un hijo Síndrome de Down ($p=0.000001$), en ser portador de una translocación balanceada ($p=0.0026$) y en tener un triple marcador positivo para síndrome de Down ($p=0.0075$). No hubo diferencias para las indicaciones: antecedentes familiares de Síndrome de Down, hijo previo con cromosomopatía que no fuera Síndrome de Down y feto con malformaciones por ultrasonido. Por el número reducido de solicitudes no pudo hacerse un cálculo estadístico en el resto de solicitudes. Las diferencias observadas se debieron a que hubo criterios de selección más estrictos en el hospital del sector salud, pues los recursos disponibles deben destinarse a parejas con más riesgo. En el hospital privado, la indicación del médico o el deseo de la pareja fueron los criterios para realizar el estudio.

Al analizar la etapa de la gestación en la que se realizaron los estudios se observó que se hicieron mayor número de amniocentesis tempranas (semana 14 o antes) en el grupo B (9%) que en grupo A (0.3%), también se observó que las amniocentesis tradicionales (realizadas idealmente en las semanas 15 a 18 de la gestación) se practicaron más tempranamente en grupo B que en A (En el grupo B el 21.9% se realizaron a las 15 semanas mientras que en el grupo A sólo el 11.3%) y que hubo un mayor número de amniocentesis tardías en el grupo A (15%) que en el grupo B (12%). El análisis estadístico mostró que en grupo A, la semana promedio en que se realizaron las amniocentesis fue la 17 ± 2.4 (mínimo 13 semanas, máximo 40 semanas) con una mediana de 17 semanas, en el grupo B la media fue de 16.5 ± 2.2 semanas (mínimo 10 semanas, máximo 36 semanas) con una mediana de 16 semanas. De acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis hubo una diferencia significativa con una $p=0.000001$. En términos generales, la amniocentesis se hicieron más tempranamente en el grupo B porque se contó desde un principio con un mejor equipo de ultrasonido que permitió realizar el procedimiento con mayor seguridad en una etapa más temprana del embarazo.

El porcentaje de cariotipos alterados observados en el grupo A (4.5%) no fue estadísticamente significativo con relación al grupo B (3.5%) de acuerdo a la prueba χ^2 (Yates corregida) ($P>0.05$); en donde si hubo diferencias fue en el tiempo de obtención de los resultados, en el grupo A se obtuvieron en promedio 13.3 ± 6.4 (mínimo 8 días, máximo 37 días) con una mediana de 14 días y en el grupo B la

media fue 10.8 ± 2.0 (mínimo 7 días , máximo 25 días) con una mediana de 10 días, el análisis estadístico mostró una $p=0.000001$. Estas diferencias se explican porque el grupo B siempre contó con las condiciones óptimas para realizar los estudios, como fueron trabajar con incubadoras de CO₂, frascos desechables, medio de cultivo Chang y un cuarto especialmente adaptado con temperatura controlada a 22°C con equipo trabajando, aire filtrado con 99.9% de pureza y conectado a planta de luz de emergencia. En el grupo A estas condiciones sólo se tuvieron en los últimos 167 estudios. El rango tan amplio para obtener los resultados se explica por los diferentes métodos que se utilizaron para procesar las muestras.

El contar con las condiciones óptimas para desarrollar los cultivos celulares permitió que en el grupo B el número de fallas fuera mínimo (0.3%), y explica porqué en el grupo A se tuvo un porcentaje de 4.5% . En la actualidad en ambos grupos se cuenta con los mismos recursos materiales, de equipo y de área acondicionada para tal fin.

En población considerada de alto riesgo para tener un hijo con una cromosomopatía, no todas las parejas tienen el mismo riesgo, ya que la probabilidad va a depender de la indicación, así por ejemplo, el riesgo para parejas que se realizaron la amniocentesis por edad materna es diferente de aquellas que se hicieron el estudio porque el feto mostró malformaciones en el ultrasonido. Los resultados muestran que hay parejas con un riesgo más elevado que otras. Las indicaciones con el riesgo mas alto fueron feto con malformaciones por ultrasonido (36.6%), patología en el embarazo (18.7%) y ser portador de una translocación/inversión (69%). Un riesgo moderado se observó en el grupo de edad materna (3.2%) aunque la probabilidad se fue incrementando paralelamente a la edad de la madre, así a los 35-36 años el riesgo fue de 1.4%, mientras que a los 43-44 años fue de 8.3%. También un riesgo moderado se presentó en parejas con un hijo previo Síndrome de Down (4.1%), mientras que un riesgo bajo se presentó en parejas con un hijo con cromosomopatía (excepto Síndrome de Down), angustia materna y otros. No se observó riesgo en progenitores portadores de un mosaico cromosómico o en parejas con antecedentes familiares de Síndrome de Down.

Los marcadores bioquímicos como el cuadruple/triple marcador y las alfafetoproteínas en suero materno, son pruebas de escrutinio realizadas en población abierta y en donde el 5% de las muestras son positivas, tienen una sensibilidad de 75%, 65% y 30% respectivamente. En México la prevalencia de Síndrome de Down en recién nacidos es de 1 en 714. Si a una población de 7,140 mujeres embarazadas se le practicara una de estas pruebas, 357 saldrían positivas y se confirmaría el diagnóstico de Síndrome de Down, mediante amniocentesis, solo en 3 a 8 casos dependiendo de la prueba. La población de este estudio es todavía

muy pequeña, para valorar la probabilidad real que estos marcadores tienen en nuestra población.

Al comparar las frecuencias de alteraciones observadas en el presente trabajo con las reportadas en literatura, encontramos que había bastante información para edad materna, portadores de translocaciones, nada para antecedentes familiares de Síndrome de Down ó para progenitores portadores de un mosaico cromosómico y relativamente poca para el resto de indicaciones. Esto se explica porque la mayoría de los autores discutieron sus resultados en forma general como se hizo en la primera parte de esta discusión.

En relación con la edad, la frecuencia de alteraciones reportada en la literatura va de 1.5% (Crandell y col. 1986) hasta un 4.89% (Hsu y col. 1978), en este grupo se encontró un 3.2%. La variación en las frecuencias reportadas podría deberse a que algunos autores incluyeron más mujeres de 35 años y otros mas de 38 ó 40 años, etc. Como ya se mencionó anteriormente la frecuencia de alteraciones es paralela a la edad materna, en la población estudiada también se observó esa tendencia aunque los porcentajes observados son mayores que lo reportado en otros estudios, lo cual podría deberse a que la frecuencia sea más elevada, o a que el número de muestras estudiadas todavía sean escasas para obtener probabilidades reales. Al analizar las alteraciones identificadas en este grupo encontramos que 45 fueron aneuploidías (70.3%), 40 de las cuales tuvieron un origen materno y 5 un origen paterno y que 19 fetos presentaron una aberración estructural (29.7%), siendo de origen materno 7, paterno 5 y de "novo" 7. Diez de estas alteraciones fueron no balanceadas y 9 balanceadas.

Cuando se solicita una amniocentesis por edad de la mujer generalmente se espera encontrar aneuploidías asociadas a no disyunción materna (que son todas las trisomías excepto 47,XYY), en el presente trabajo sólo el 62.5% (40 trisomías) fueron alteraciones asociadas a edad materna, el restante 37.5% (24) fueron hallazgos no esperadas como los Síndromes de Turner y 47, XYY y las aberraciones estructurales. Datos similares fueron reportados por Brian y col. (1993), Westrom y col. (1995), Evans y col., 1999, quienes mostraron que en el 46,7%, 35% y 30% respectivamente las aberraciones identificadas no se debían a no disyunción materna.

En el grupo de 24 pacientes que solicitaron el estudio por ser uno de ellos portador de una translocación, en el 8.3% se identificó un feto con una translocación no balanceada (2 casos), esta frecuencia está en el rango de 6 a 14% reportado en la mayoría de los estudios publicados (Crandall y col., 1980, Barisic y col., 1996). En

relación a si hubo mas fetos con cariotipo normal o con una translocación balanceada algunos autores encontraron más fetos con cariotipo normal, con un rango de 29% a 59% (Hsu y col., 1978b, Crandall y col., 1980, Shigeky y col., 1992, Barisak y col., 1996 y Caron y col., 1999) y otros reportaron una incidencia del 30% a 58% con una translocación no balanceada Hsu y col., 1978, a Golbus y col., 1979, Boue y col., 1984, Benn y col., 1985 y Hsu, 1992). En el presente estudio se encontró un mayor número de fetos con una translocación balanceada (58.3%). Las diferencias en la frecuencia de alteraciones balanceadas vs no balanceadas y cariotipos normales reportadas en los diferentes estudios incluyendo el presente trabajo podría deberse: a) si hubo más progenitores hombres o mujeres portadores, b) cuál cromosoma estuvo involucrado y c) cuales fueron los puntos de rompimiento.

En parejas que se realizaron una amniocentesis por tener un hijo con Síndrome de Down, el 4.1% tuvieron nuevamente un hijo afectado, este riesgo fue más alto que lo reportado en la literatura, 0.9% a 2.4%. Una explicación a esta diferencia podría ser el número de casos estudiados, pues en los reportes con más de 2,000 muestras el promedio observado fue de 1.3% (Milunsky, 1973, Hsu y col. 1978, Stene and Stene, 1984), o también podría deberse a una carga genética diferente.

Por angustia materna se reporta en la literatura un riesgo que va del 0.88% al 2.8%, en el presente trabajo se encontró en 1.1% de parejas con un producto afectado. Este riesgo es similar a lo reportado por Benn y col. (1985), Crandall y col. (1986) y Tabor y col. (1987).

El riesgo para parejas que tuvieron un hijo con una cromosomopatía, excepto Síndrome de Down, fue de 2%. En las revisiones realizadas por Stene and Stene, (1984) y Hsu, (1992c) encontraron un riesgo de 1.5% y 1.7% respectivamente en cambio Hsu y col. (1978^a) y Golbus y col. (1979) no encontraron fetos afectados, lo cual se debió al reducido número que estudiaron. El riesgo para esta indicación es similar a lo reportado en la literatura.

En fetos que presentan malformaciones por ultrasonido se encontró que el 36.6% presentaron una cromosomopatía, este riesgo fue similar al 33% reportado por Wladimiroff y col. (1985), al 35% de Platt y col. (1986) 35 y al 30% de Halliday y col. (1994).

Cuando el embarazo mostró datos anormales en el desarrollo de la gestación, el riesgo de una cromosomopatía fue de 18.7%, lo cual está dentro del rango reportado

por otros autores como Halliday y col. (1994) quien reportó un 16%, Ríos y col. (1994) que fue de 25% y Castro Volio y col. (2001) con un 17%.

Como puede inferirse de los datos obtenidos en el siguiente trabajo, existen las condiciones metodológicas y los criterios adecuados para solicitar y realizar estos estudios de acuerdo a lineamientos internacionales.

En nuestro país, a pesar de que el riesgo de tener un hijo afectado es similar al de otras poblaciones, solo un número reducido de parejas se realizan estos estudios. Esto se debe principalmente a limitaciones legales, sociales, religiosas y de acceso a los estudios que existían en nuestro país.

Es deseable que en un futuro inmediato un mayor número de parejas tengan la opción de acceder a estos estudios, primero porque se realizan con la calidad que les permite tomar una decisión sobre su embarazo y segundo porque ya existe el apoyo legal del estado si tuvieran esa necesidad (artículo 148 fracción III para el Distrito Federal, 27 enero, 04).

TABLA XXI FRECUENCIA DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN RELACION LA INDICACION DEL ESTUDIO EN 2930 AMNIOCENTESIS

Indicación	n	Cariotipo Alterado		Total	(%)
		Balanceado	No Balanceado		
Edad	1967	9	55	64	(3.2)
Angustia	428	2	3	5	(1.1)
Hijo previo Síndrome de Down	144	1	5	6	(4.1)
Hijo con Cromosomopatía	48	1	0	1	(2.0)
Portador translocación o inversión	26	16	2	18	(69.2)
Progenitor mosaico de cromosomas sexuales	17	0	0	0	(0.0)
Antecedentes familiares de Síndrome de Down	65	0	0	0	(0.0)
Triple/Cuadruple marcador positivo	77	0	1	1	(1.3)
AFP ↘ M.O.M	17	0	2	2	(11.7)
AFP ↗ M.O.M	10	0	0	0	(0.0)
Feto con Malformaciones por Ultrasonido	30	0	11	11	(36.6)
Ultrasonido Alterado	16	0	3	3	(18.7)
Otros	180	0	2	2	(1.1)

M.O.M= Múltiplos de la mediana

**TABLA XXII ALTERACIONES CROMOSOMICAS OBSERVADAS EN 1967
AMNIOCENTESIS REALIZADAS POR EDAD MATERNA**

Edad	n	Alteraciones balanceadas	#	Alteraciones no balanceadas	#	Total	(%)
< 19	10	-		-	-	0	(0)
35-36	422	45,XX,der(13;14)novo	1	47,XY,+21 47,XX,+21 47,XX,+18 47,XXY 46,X,del(Y)	5	6	(1.4)
37-38	574	45,XY,der(13,14)novo 46,XY,inv(20)mat [2]	3	47,XY,+21[2] 45,X 47,XXY 47,XXY	5	8	(1.4)
39-40	533	46,XY,inv(2)mat 45,XY,der(13;14)pat	2	47,XY,+21[8] 47,XX,+21[6] 47,XY,+18 46,XX/47,XX+20 47,XXX 47,XXY 45,X/47,XXY 46,X, del(Y)	20	22	(4.1)
41-42	313	46,XX,t(2;14)novo 46,XY,t(5;17)mat 46,XX,t(1;3)mat	3	47,XY,+21 [6] 47,XX,+21 [2] 46,XX,/47,XX,+21 47,XY,+18 46,XX,der(13;13)+13novo 46,XX,der(13;13),+13/ 47,XX,der(13;13),+13,+mar (de novo) 46,XX,/47,XX,i(12p)novo 47,XXY 46,XY,del Y [2] 47,XX,+mar(mat)	17	20	(6.4)
43-44	88		-	47,XY,+21 [2] 47,XY,+18 [2] 46,XX,13q+(mat) 46,XX,/47,XX,+r(15)novo	6	6	(8.3)
45-49	34		-	47,XX,+21 47,XX,+18	2	2	(5.9)
Total	1967		9		55	64	(3.2)

[] indica la incidencia

**TABLA XXIII FRECUENCIA DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS DE ACUERDO A LA
EDAD DE LA PACIENTE**

	η	35-36	37-38	39-40	41-42	43-44	>45
Ferguson 84 y col.	52,965	$\eta=11,507$ (1.35)	$\eta=14,882$ (1.57)	$\eta=14,856$ (2.23)	$\eta=7919$ (3.44)	$\eta=2927$ (4.75)	$\eta= 969$ (8.2)
Benn y col.,1985	7,000	$\eta=2377$ (1.6)	$\eta=1835$ (2.0)	$\eta=1048$ (2.67)	$\eta=684$ (4.58)	-	-
Hsu,1992	20,000	(0.85)	(1.37)	(2.25)	(3.61)	(5.96)	(8.33)
Presente estudio	1967	$\eta=422$ (1.4)	$\eta=574$ (1.4)	$\eta=533$ (4.1)	$\eta=313$ (6.4)	$\eta= 88$ (8.3)	$\eta= 34$ (5.9)

() porcentaje, Δ 42 años en adelante

TABLA XXIV ALTERACIONES CROMOSOMICAS VS INDICACIONES

Autor	n	Edad	Angustia	Hijo Down	Hijo cromosomopatía	Feto c/malf.	US Alterado	Otros
Milunsky y col. 1973				n=4920 (1.24)				
Hsu 1978 ^a	918 (3.9%)	27/645 (4.8%)		4/163 (2.4%)	0/5 (0%)			0/21 (0%)
Hsu 1978b Rev(1973-1978)		151/4,915 (3%)		31/2,200 (1.4%)				
Golbus y col. 1979	2,730 (2.9%)	36/2404 (3.1%)		3/240 (1.2%)	0/17 (0%)			5/55 (9%)
Crandall y col. 1980	2,303 (1.6%)	19/1887 (1.8%)	4/140 (2.8%)	1/111 (0.9%)				
Revisión Ferguson-Smith 1984	52,965	/52,965 (2.26%)						
Revisión Stene J. and Stene E, 1984	2,890			35/2353 (1.5%)	418 (1.5%)			
Dacus y col. 1985	2,013 (1.4%)	17/1279 (1.3%)						
Benn y col. 1985	7,000 (2.18%)	130/5944 (2.2%)	19/1056 (1.8%)					
Tercian, y col. 1985	4357	42/2152 (1.9%)						1/295 0.3%
Wladimiroff y col. 1985	12					4/12 (33%)		
Knott y col. 1986	168	6/168 (3.6%)						
Platt y col. 1986	20					7/20 (35%)		
Crandall y col. 1986	8453	106/6999 (1.5%)	18/1454 (1.2%)					
Tabor y col. 1987	2264		23/2264 (1%)					
Naber y col. 1987	10,481 (2.18%)	187/7536 (2.48%)	14/1595 (0.88%)					
Revisión Y,F Hsu,1992c					493 (1.17%)			
Brian y col. 1993	7240	181/7240 (2.5%)						1.4% rel. a edad 1.1% no rel. a edad
Halliday y col. 1994	547					16/53 (30%)	14/89 (16%)	
Ríos y col. 1994	1561	2.3%					/306 (25%)	
Westrom y col. 1995	1423	31/1423 (2.2%)						
Yaegashi y col. 1998	5484	117/5484 (2.1%)						
Caron y col. 1999		446/24,901 (1.7%)			19/1042 (1.9%)			Ant. Fam. 4/1695 (0.24%)
Castro Volio y col. 2001	625	(2.5%)				(17%)		
Presente estudio	2930	64/1967 (3.2%)	5/428 (1.1%)	6/144 (4.1%)	1/48 (2%)	11/30 (36.6%)	3/16 (18.7%)	Ant. Fam. Otros 0/65 2/180 (0%) (1.1%)
		2% relacionados a edad 1.2 no relacionados						

**TABLA XXV ALTERACIONES CROMOSOMICAS OBSERVADAS
EN PACIENTES PORTADORES DE TRANSLOCACIONES**

Autor	n	Balanceado	No balanceada	Normal
Hsu y col, 1978 ^a	12	7/12 (58%)	0 (0%)	5/12 (42%)
Hsu y col, 1978 ^b	329	98/329 (30%)	35/329 (11%)	196/229 (59%)
Golbus, 1979	14	8/14 (57%)	-	6/14 (43%)
Crandall y col, 1980	17	7/17 (41%)	1/17 (6%)	9/17 (53%)
Boue y col, 1984	609	273/609 (45%)	71/609 (12%)	265/609 (43%)
Boue y col, 1984	517	280/517 (54%)	28/517 (5%)	209/517 (40%)
Benn y col, 1985	7	4/7 (57%)	1/7 (14%)	2/7 (29%)
Dacus y col, 1985	12		2/12 (17%)	
Takabayashi y col, 1992	50		(13%)	
Shigeki, col, 1992	47	19/47 (40%)	6/47 (13%)	22/47 (47%)
Hsu y col, 1992 ^c	1157	630/1157 (54%)	123/1157 (11%)	404/1157 (35%)
Barisic y col, 1996	57	21/57 (37%)	8/57 (14%)	28/57 (49%)
Caron y col. 1999	183	(37.3%)	(10.2%)	(52.5%)
Presente estudio	24	14/24 (58.3%)	2/24 (8.3%)	8/24 (33.3%)

VII.- CONCLUSIONES

- Se establecieron dos programas, de diagnóstico prenatal de alteraciones cromosómicas, uno en un hospital del Sector Salud (Grupo A) y otro en un hospital privado (GrupoB), con los criterios técnicos y diagnósticos que internacionalmente se recomiendan para este tipo de estudios.
- La indicación mas frecuente para realizar una amniocentesis fue la edad materna (66.1%)
- Mejores recursos técnicos permitieron obtener resultados en el 98.5% de los casos en un tiempo de 10 a 12 días.
- Se identificó un cariotipo alterado en el 3.9% de los fetos estudiados, 2.6% presentaron un cariotipo no balanceado y en el 1.3% fue balanceado. El 62% fueron aberraciones numéricas y el 38% estructurales, el 73% involucraron autosomas y el 27% cromosomas sexuales.

- El 0.25% de las alteraciones identificadas fueron *de novo* y el fenotipo de los recién nacidos, de los que se tuvo información fue normal.
- El Síndrome de Down por trisomía libre fue la alteración mas frecuente, 28.5% de todas las cromosomopatias.
- Se identificó un mosaico cromosómico en 0.3% de los fetos y se confirmó en el 80% de los casos.
- Contaminación con téjido materno se presentó en 0.2% de las muestras y en todos los casos la asignación del sexo fetal fue la correcta.
- La certeza de diagnóstico fue de 99.94%.
- Al comparar los 2 grupos estudiados se observaron algunas diferencias en los resultados debidas a la selección de los pacientes y a los diferentes recursos materales y de equipo con que contaron los dos laboratorios.
- En población de alto riesgo para tener un hijo con una cromosomopatía, el riesgo de cada pareja dependerá de la indicación para hacerse el estudio.
- Las parejas con el riesgo mas elevado fueron aquellas en donde el feto presentó malformaciones por ultrasonido (36.6%), hubo patología en el embarazo (18.7%) ó uno de los progenitores fue portador de una translocación (69%, de los cuales solo el 8.3% fue un cariotipo no balanceado).
- En el grupo de edad materna se confirmó su efecto sobre la no disyunción, pues la frecuencia de alteraciones cromosómicas fue paralela a la edad de la paciente, así a los 35 y 36 años 1.4% de las parejas tuvo un hijo con una cromosomopatía, a los 39-40 años la frecuencia fue de 4.1% y a los 43-44 años 8.3% presentaron un hijo afectado. Estas frecuencias son ligeramente superiores a lo reportado en la literatura.
- Solo el 62.5% de las alteraciones identificadas en el grupo de edad se podrían atribuir a no disyunción materna, el restante 37.5% fueron alteraciones *de novo*, heredadas o de origen materno.
- No se identificaron fetos afectados en parejas donde uno de ellos fue portador de un mosaico de cromosomas sexuales o tuvieron antecedentes familiares de Síndrome de Down.

- La frecuencia de alteraciones cromosómicas observadas de acuerdo a cada indicación es similar a lo reportado en la literatura con excepción del grupo de parejas con un hijo previo con Síndrome de Down en donde el riesgo fue mayor (4.1% vs 0.9% - 2.4%).
- De acuerdo a los datos obtenidos en el presente trabajo, la carga genética no influyó en la frecuencia de alteraciones cromosómicas de la población estudiada con la posible excepción del grupo hijo previo con Síndrome de Down.

VIII BIBLIOGRAFIA

- 1.- American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Practice Bulletins-Obstetrics: ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for Obstetrician-Gynecologists. Prenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormalities. *Obstetrics & Gynecology* 97(5 pt 1): Suppl 1-12 (2001 May)
- 2.- Barisic IZ, Zergollen L, and Hitrecv. Risk estimates for balanced reciprocal translocation carriers-prenatal diagnosis experience. *Clin Genet* 49(3):145-51 (1996 Mar)
- 3.- Benacerraf BR, Green ME, Saltzman DH, Barss VA, Penso Ch A, Nadel AS, Heffner LJ, Stryker JM, Sandstrom MM and Frigoletto FD. Early amniocentesis for prenatal Cytogenetic Evaluation *Radiology* 169:709-710 (1988)
- 4.- Benn PA, Hsu LYF, Carlson A, Tonnenboom H. L: The centralized prenatal genetics screening program of New York City III: The first 7,000 cases *AM J Med Genet* 20(2): 369-384 (1985).
- 5.- Boué J, Girard S, Thépot F, Choiset A, and Boué A. Unexpected structural chromosome rearrangements in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 2:163-168 (1982)
- 6.- Boué J. Boue A. Lazar, P. Retrospectiva and prospective epidemiological studies of 1500 Karyotyped spontaneous human abortions, *Teratology*: 12: 11-26 (1975).
- 7.- Boué A and Gallano PA. Collaborative study of the segregation of inherited chromosome structural rearrangements in 1356 Prenatal Diagnoses. *Prenat Diagn* 4(1):45-68 (1984)
- 8.- Bui TH, Iselius L. and Lidsten J. European Collaborative Study on Prenatal Diagnosis: Mosaicism, pseudomosaicism and single abnormal cells in amniotic fluid cell cultures. *Prenat Diagn* 4(1): 145-162 (1984)
- 9.- Cans C, Amblard F, Devillard F, Pison H, Jalbert P, and Jook S. Population screening for aneuploidy using maternal ege and ultrasaund. *Prenat Diagn* 18: 683-692 (1998)
- 10.- Cantu JM, Hernández A, Alvarez R, Margain JC, y Armendares S. Actitud del médico ante el aborto. *Ginec Obstet Mex* 37(223):275-285, (1975)
- 11.- Carnevalle A. Prevención de los defectos del nacimiento. Introducción. Ed. Ceutes. México, pp5-6, (1981)

- 12.- Caron L, Tihy F And Dallaire L. Frequencies of chromosomal abnormalities at amniocentesis: over 20 years of cytogenetic analyses in one laboratory. *Am J Med Genet* 82(2):149-154 (1999 Jan)
- 13.- Cerrillo M, Violante M, Yerena C, García P, Escobedo F, Lowenberg Ey Ramirez S. Diagnóstico Citogenético Prenatal. Inicio de una nueva etapa dentro de la Citogenética en México. *Ginec. Obstet Mex* 54:107-111 (1986)
- 14.- Cerrillo M, Yerena M, Verez JR, Stern J, Macedo E y Gutierrez A. Estudio Citogenético en Productos de aborto utilizando vellosidades coriales. XX Congreso Anual de la Asociación Mexicana de Genética Humana. San Luis Potos, S.L.P. (1995).
- 15.-Clark BA, Kennedy K, and Olson S. The need to reevaluate trisomy screening for advanced maternal age in prenatal diagnosis. *Am J Obstet & Gynecol* 168 (3):812-6 (1993 Mar.)
- 16.- Clerici G, Donti E, Zacutti A, and Di Renzo GC. Prenatal diagnosis in Italy. *European J Hum Genet* 5(1): 42-47 (1997)
- 17.- Nuevo Código Penal para el Distrito Federal. Capítulo V, Artículo 148, fracción III. Ed. Sista. México, pp 56-57 (27-Ene-04)
- 18.- Cornel MC. Variation in prenatal cytogenetic diagnosis: Policies in 13 European Countries, 1989-1991. EUROCAT Working Group. European Registration of Congenital Anomalies. *Prenatal Diagn* 14(5):337-44 (1994 May)
- 19.- Crandall BF, Lebherz TB, Rubinstein L, Robertson RD, Sample WF, Sari D, and Howard J. Chromosome findings in 2,500 second trimester amniocentesis. *Am J Med Genet* 5: 345-356 (1980)
- 20.- Crandall BF, Lobherz T.B., and Tabsh K. Maternal age and Amniocentesis: should this be lowered to 30 years? *Prenat Diagn* 6 (4) : 237-42 (1986)
- 21.- Crane JP, Beaver HA and Chueng SW. First trimester chorionic villus sampling versus, mid-trimester genetic amniocentesis-preliminary results of a controlled prospective trial. *Prenat Diagn* 8: 355-366 (1988)
- 22.- Crawford M. Ethical and legal aspects of early prenatal diagnosis. *British Med Bull* 39(4): 310-314 (1983)

- 23.- Dacus JV, Wilroy RS, Summit RL, Garbaciack JA, Abdella TN, Spinnato JA, Luthardt FW, Flinn GS, and Lewis BA. Genetic Amniocentesis: A twelve years' experience. *Am J Med Genet* 20:443-452 (1985)
- 24.- Dallaire L. and Potier M.: Amniotic Fluid In: Genetic Disorders and the Fetus. Diagnosis, Prevention and Treatment. Third Edition. The John Hopkins University Press. Baltimore pp 33-58 (1992)
- 25.- Daniel A, NG A, Kuah KB, Reihha S, and Malafiej P. A study of early amniocentesis for prenatal cytogenetic diagnosis. *Prenat Diagn* 18: (1) 21-28 (1998)
- 26.- Daniel A, Hook EB, Wulf G. Risks of un balanced progeny at amniocentesis to carrier of chromosome rearran gements: Data from United States and Canadian laboratories. *Am J Med Genet* 33:14 (1989)
- 27.- Davison EV, McIntosh AS, and Roberts DF. Effects of amniocentesis for genetic proposes on the pregnancy and its outcome. *J Biosoc Sci* 19:295-304 (1987)
- 28.- Dexeus S, Carrera JM, Alegre M, Salvador C. y Sole MT. El riesgo de Nacer. El desafio del Diagnóstico Prenatal. Ed. Labor, S.A. España pp 11-18 (1989)
- 29.- Dick PT. Periodic health examination, 1996 update: Prenatal screening for and diagnosis of Down Syndrome Canadian Task Force on the Periodic Health Examination. *CMAJ* 154(4): 465-479 (1996 Feb)
- 30.- Evans MI, Henry GP, Miller WA, Bui TH, Snidjers RJ, Wapner RJ, Miny P, Johnson MP, Peakman D, Johnson A, Nicolaidis K, Holzgreve W, Ebrahim SA, Babu R. and Jackson L. Internal Collavorative a assessment of 146,000 prenatal Karyotype: expected limitations if only chromosome specific probes and fluorescent *in situ* hibridization are used. *Human Reproduction* 14(5): 1213-1216 (1999).
- 31.- Eiben B, Hammans W, Hansen S, Trawicki W, Osthelder B, Stelzer A, Jaspers K D, and Goebel R. On the complication risk of early amniocentesis versus standard amniocentesis. *Fetal Diagn & ther* 12: 140-144 (1997)
- 32.- Elias S. And Simpson J.L. Amniocentesis In: Genetic Disorders and the Fetus. 3ª Ed. Jhon Hopkins University Press pp 33-57, 1992
- 33.- Ferguson Smith, NA: Prenatal chromosome analysis and its impact in the birth incidence of chromosome disoders. *British Medical Bulletin* 39(4) 355-364 (1983).

- 34.- Ferguson Smith and JRW Yales. Maternal age specific rates for chromosome aberrations and factors influencing them. Report of a collaborative european study on 52, 965 amniocentesis. *Prenat Diagn* 4 (1): 5-44 (1984).
- 35.- Fletcher J, and Wertz DC. Ethics and Prenatal Diagnosis. Problems, positions, and proposed guidelines In: *Genetic Disorders and the Fetus. Diagnosis, Prevention and Treatment. Third Edition.* The John Hopkins University Press. Baltimore pp 823-854 (1992)
- 36.- Fuchs F. and Riis P. Antenatal sex Determination. *Nature* 177: 330, 1956 In: *Prenatal Diagnosis* 1: 3-4 (1980).
- 37.- García R KR, Cardenas GG, Vega HME, Cruz PR, Nava FJ, Rosas AJ, Esteban VMC, Velazco OM. Diagnóstico Genético Prenatal. Informe de 72 casos en el C.M.N. "La Raza" del IMSS. Congreso Latinoamericano de Genética (1994), pp 216 pág. 216
- 38.- Golbus MS, Loughman WD, Epstein CJ, Halbasch G, Stephen JD, and Hall BD. Prenatal genetic diagnosis in 3,000 amniocentesis. *New Engl J Med* 300 (4):157-163 (1979)
- 39.- Grether P., Zavaleta M J, De la Luna E, Sanchez V, Hernández C, y Karchmer S. Diagnóstico Prenatal en 350 Amniocentesis. *Ginecol Obstet Mex* 59:317-322 (1991)
- 40.- Guizar-Vazquez JJ. Asesoramiento Genético. En: *Genética Clínica 2ª Ed. Manual Moderno, México.* pp 649-662 (1988)
- 41.- Guzmán Toledano R. Defectos congénitos en el recién nacido. Ed. Trillas. Pp 15-19 (1989).
- 42.- Halliday J, Lumley J. and Bankier A. Karyotype abnormalities in fetuses diagnosed as abnormal on ultrasound before 20 weeks' gestational age. *Prenat Diagn* 14 (8):689-97 (1994 Aug)
- 43.- Hamerton, JL: Collaborative studies in prenatal diagnosis of chromosome aberrations. *Prenat Diag.* 4(1): 3-4 (1980).
- 44.- Hanson, FW, Zorn EM, Tennant FR, Marianos S, and Samuels S. Amniocentesis before 15 weeks' gestation: Outcome, risks, and technical problems. *Am J Obstet Gynecol* 156 (6): 1524-1531 (1987)

- 45.- Hogge WA, Schongerg SA, and Golbus MS. Prenatal diagnosis by chorionic villus sampling: Lessons of first 600 cases. *Prenat Diagn* 8: 355-366, (1988).
- 46.- Hook E, and Cross P. Extra Structurally abnormal chromosomes (ESAC) detected at amniocentesis: Frequency in approximately 75,000 prenatal cytogenetic diagnosis and associations with maternal and paternal age. *Am J Human Genet* 40:83-101 (1987)
- 47.- Horger EO, Finch H, and Vincent V A Single Phisician's experience with four thousand six hundred genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 185 (2): 279-288 (2001)
- 48.- Hsu LYF, Kaffe S, Yahr F, Serotkin A, Giordiano F, Godmilow L, Kim HJ, David K, Kereny T, and Hirsenhorn K. Prenatal cytogenetic diagnosis: First 1,000 successful cases. *Am J Med Genet* 2:365-383 (1978)
- 49.- Hsu LYF Prenatal Cytogenetic Diagnosis: A mini-review. In: *Perinatal Medicine Today*. Alan R. Liss, Inc. New York, N.Y. pp 3-25 (1980)
- 50.- Hsu LYF, and Perlis TE. United States Survey on chromosome mosaicism and pseudomosaicism in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 4(1): 97-130 (1984)
- 51.- Hsu LYF, Kaffe S, and Perlis TE. Trisomy 20 mosaicism in prenatal diagnosis- a review and update. *Prenat Diagn* 7: 581-598 (1987)
- 52.- Hsu LYF, Prenatal Diagnosis of chromosomal Abnormalitis through Amniocentesis. In: *Genetic Disorders and the Fetus. Diagnosis Prevention and Treatment*. Third Edition. The John Hopkins University Press Baltimore, pp 155-210, (1992)
- 53.- Hsu LYF, Yu MT, Van DyKe DL, Benn PA, Bradshaw CL, Shaffer LG, Higgins RR, Khodr GS, Morton CC, Wang H, Brothman AR, Chadwick D, Disteche CM, Jenkins LS, Kalousek DK, Pantzar TJ, and Wyatt P. Rare trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes involving an autosome other than chromosomes 13, 18, 20 and 21: Karyotype/phenotype correlations. *Prenat Diagn* 17 (3): 201-42 (1997 Mar)
- 54.- Instituto Dexeus, Manual de diagnóstico prenatal. Ed Centro de Diagnóstico Prenatal. Departamento de Obstetricia y Ginecología del Instituto Dexeus, Barcelona, pp 5-6 (1983)
- 55.- Johnson A, and Wapner R. Mosaicism: Implications for postnatal outcome. *Current opinion in obstetrics and Gynaecology* 10:126-131 (1997)

- 56.- Katayama KP, and Roesler MR. Five hundred cases of amniocentesis without bloody tap. *Obstet & Gynecol* 68(1): 70-73 (1986)
- 57.- Kerber S And Held KR. Early genetic amniocentesis 4 years' experience. *Prenat Diagn* 13:21-27 (1993)
- 58.- Knott PD, Penketh RJA, and Lucas M.K. Uptake amniocentesis in women aged 38 years or more by the time of the expected date of delivery: a two-year retrospective study. *British J Obstet Gynaecol* 93:1246-1250 (1986)
- 59.- Ledbetter DH, Martin, AO et al: Cytogenetic results of chorionic villus sampling: High success rate and diagnostic accuracy in the United States Collaborative study. *Am J Obstet Gynecol*, 162 (2): 495-501 (1990).
- 60.- Melendez HR. Zavaleta A MJ, Rendon H EP, Manzanero M J, Grether G P, y Carcía CR. Experiencia en el INPER del Estudio Citogenético en el Diagnóstico Prenatal por Amniocentesis. *Congreso Latinoamericano de Genética* (1994), pp 216
- 61.- Milunsky A: Diagnóstico prenatal de las enfermedades hereditarias. Ed. JIMS, Barcelona, pp 15-19 (1975).
- 62.- Milunsky A Prenatal Diagnosis of chromosomal mosaicism. *J Ped.* 88: 365 -366 (1976)
- 63.- Mordechai S, Akstein E, Davidorv B, Barki G. Amniocentesis rate and the detection of Down Syndrome and other chromosomal anomalies in Israel. *Prenat Diagn* 15:967-970 (1995)
- 64.- Mutchinick O, Lisker R y Babinsky V. Riesgo para Síndrome de Down por bienios y quinquenios de edad materna en la población Mexicana. *Bol Med Hosp Infant Mex* 48(8):534-537 (1991)
- 65.- Naber JM, Huether CA, and Goodwin BA. Temporal changes in Ohio amniocentesis utilization during the first twelve years (1972-1983), and frequency of chromosome abnormalities observed. *Prenat Diagn* 7:51-65 (1987)
- 66.- Nadler, HL. Prenatal detection of genetic disorders. *The Journal of Pediatrics* 74 (1): 132-140, (1969)
- 67.- Nadler, HL. Prenatal detection of genetic disorders. In: *Advances in Human Genetics*. Ed. Harris H. Hirschhorn K, pp 1-37, (1972).

- 68.- Nocera G, Dalpara L, and Tibiletti G. Five cases of prenatally diagnosed sex chromosome mosaicism. *Prenat Diagn* 5: 169-174 (1985)
- 69.- O'Leary P, Bower C, Murch A, Crowhurst J, and Goldblatt J. The Impact of antenatal screening for Down syndrome in Western Australia: 1980-1994 *Aust NZ Obstet Gynaecol* 36 (4): 385-388 (1996)
- 70.- Penso CA, Sandstrom MM, Garber MF, Ladoulis M, Stryker JM, Benacerraf BB. Early Amniocentesis: Report of 407 cases with neonatal follow-Up. *Obstet & Gynecol* 76(6):1036 (1990)
- 71.- Phillips O, Elias S, Shulman L, Andersen R, Morgan C, and Simpson J. Maternal serum screening for fetal Down Syndrome in woman less than 35 years of age using alfa-fetuprotein, hCG and unconjugated estriol: A prospective 2 year study. *Obstet & Gynecol* 80 (3): 353-358 (1992)
- 72.- Platt LD, Devore GR, López E. Herbert W, Falk R, and Alfi O. Role of amniocentesis in ultrasound detected fetal malformations. *Obstet & Gynecol* 68(2): 153-155 (1986)
- 73.- Reish O, Wolach B, Amiel A, Kedar I, Dolfín T. And Fejgin M. Dilema of Trisomy 20 mosaicism detected prenatally: is it an innocent finding? *Am J Med Genet* 77(1):72-75 (1998 Apr)
- 74.- Rios MM, Abarca L, Madueño F y Colaboradores 1552 Amniocentesis: Indicaciones y Resultados. *Progresos de Obstetricia y Ginecologia* 37(3): 158-162 (abril, 1994)
- 75.- Roland B, Cox DM, and Rudd N. Sex chromosome mosaicism not detected at amniocentesis. *Prenat Diagn* 10:333-336 (1990)
- 76.- Sachs L, Serr D.M. Danon, M: Analysis of amniotic fluid for diagnosis of fetal sex. *British Medical Journal* 11: 795-798 In: *Prenatal Diagnosis* 1:3-4 (1980)
- 77.- Salamanca, F. *Citogenética Humana* 1ª Ed. 1990. Ed. Panamericana. pp 330 (1993)
- 78.- Sebire NJ, Snijeders RJM, Brown R, Southall T, and Nicolaides KH. Detection of sex chromosome abnormalities by nuchal translucency screening at 10-14 weeks. *Prenat Diagn* 18:581-584 (1998)

- 79.- Serra - Pratt M, Gallo P, Jovell A, Aymerich M, Estrada M, Dolors MD. Trade-Offs in prenatal detection of Down Syndrome. *Am J Publ Health*: 88(4):551-557 (1998)
- 80.- Siffroi JP, Heim N, Benzacken B, Franco J.C., and Bourhis C. Unexpected inherited chromosomal translocation during prenatal diagnosis for maternal age: Risk for a nondetectable karyotype imbalance in offspring. *Fetal Diagn Ther* 13: 271-275 (1998)
- 81.- Shohat M, Akstein E, Davidor B, Barkaig, Legum C, David M, Dar H, Romen Y, Amiel A, Cohen H, Bach G, Ben Neriah Z, Sheffer RN, Appelman Z, Chemke J, Zadka P, Zer T. and Goldman B. Amniocentesis rate and the detection of Down syndrome and other chromosomal anomalies in Israel *Prenat Diagn* 15(19):967-70 (1995 oct)
- 82.- Simpson NE. et al. Genetics amniocentesis: *Prenat Diagn* 1: 5-10 (1980)
- 83.- Smith Jensen S, Christensen B, and Lind AM: Chorionic villus culture for prenatal diagnosis of chromosome defects: Reduction of the long term cultivation time. *Prenat Diagn* 9: 309-319 (1989).
- 84.- Steele MW. and Berg, WR., Jr. Chromosome analysis of human Chromosome fluid cells. *Lancet* 1: 383, (1966).
- 85.- Stene J., Stene E., and Mikkelsen M. Risk for chromosome Abnormality at Amniocentesis following a child with a Non-inherited chromosome Aberration *Prenat Diagn* 4(1): 81-96, (1984)
- 86.- Tabor A, and Philip J. Incidence of fetal chromosome abnormalities in 2264 low-risk woman. *Prenat Diagn* 7:355-362 (1987)
- 87.- Terzian E, Boreham J, Cuckle H, Wald N, Borrow M, Linderbaun R, and Turnbull A.C. A survey of Diagnostic Amniocentesis in Oxford from 1974-1981 *Prenat Diagn*: 5:401-414, (1985)
- 88.- Uehara S. Takabayashi T, Okamura K, and Yajima A. The outcome of pregnancy and prenatal chromosomal diagnosis of fetuses in couples including a translocation carrier. *Prenat Diagn* 12(12):1009-18 (1992 Dec)
- 89.- Violante D.M, Cerrillo HM, García NP, Escobedo AF, Lowenberg FE, y Ahued A. JR. Amniocentesis Genética. *Ginecol Obstet Mex* 57:97-102 (1989)

- 90.- Walker S, and Howard. Cytogenetic prenatal diagnosis and its relative effectiveness in the Mersey region and North Wales. *Prenat Diagn* 6:13-23 (1986)
- 91.- Warburton D. Outcome of Cases of De Novo Structural Rearrangements Diagnosed at Amniocentesis. *Prenat Diagn* 4(1):69-80 (1984)
- 92.- Waters JJ and Waters KS. Trends in cytogenetic prenatal diagnosis in UK: results from UKNEQAS external audit 1987-1998. *Prenat Diagn* 19(11):1023-1026 (1999 Nov)
- 93.- Wenstrom KD, Desai R, Owen J, Du Bard MB, and Boot L. Comparison of multiple-marker screening with amniocentesis for the detection of fetal aneuploidy in women ≥ 35 years old. *Am J Obstet Gynecol* 173(4):1287-92 (1995 oct)
- 94.- Winsor E. JT, Tomkins DJ, Kalousek D, Farrell S, Wyatt P, Fan YS, Carter R, Wang H, Dallaire L, Eyobux P, Welch JP, Dawson A, Lin JCC, Singer J, Johnson J. and Wilson RD. Cytogenetic Aspects of the Canadian Early and Mid-trimester Amniotic Fluid Trial (CEMAT). *Prenat Diagn* 19:620-627, (1999)
- 95.- Worton RG and Stern R. A Canadian Collaborative Study of Mosaicism in Amniotic Fluid Cell Cultures. *Prenat Diagn* 4(1):131-144 (1984)
- 96.- Yaegashi N, Senoo M, Uehara S, Suzuki H, Maeda T, Fujimori K, Hirahara F, and Yajima A. Age Specific incidences of chromosome abnormalities at the second trimester amniocentesis for Japanese mothers aged 35 and older: Collaborative study of 5484 cases. *J Hum Genet* 43(2):85-90 (1998)

APENDICE

1.- EQUIPO

2.- MATERIAL

3.- REACTIVOS

4.- TECNICAS DE CULTIVO

4.1.- CULTIVO DE LINFOCITOS

4.2.- Cultivo de células amnióticas con técnica de subcultivo

4.3.-Cultivo de células amnióticas con técnica directa

4.4.- Cultivo de vellosidades coriales

4.5.- Cultivo de fibroblastos y tejidos fetales

5.- TECNICAS DE BANDEO CROMOSÓMICO

5.1.- Bandas G

5.2.- Bandas Q

5.3.- Estudio de polimorfismos

1.-EQUIPO

Equipo	Marca	Modelo
- Campana de flujo laminar horizontal	Veeco	
- Estufa	Lab Lin	120
- Incubadora de CO2	Heraus	F1-16
- Incubadora de CO2 y O2	Heraus	B5061
- Microscopio Diascópico	Wild Heerbrugg	
- Congelador	American	Fiorami
- Refrigerador	Hussmann	RC-604 WA
- Baño María	JM Ortiz	B8037 S.I.C.-D.G.E. 774
- Balanza analítica	Sartorius	R-160 P-WR-6003
- Autoclave-Esterilizador	Amsco Eagle Ten	E-10 sp
- Microscopio con Epifluorecencia y camara adaptada	Zeiss	7 K
- Estufa bacteriológica	Lab-line	203
- Centrifuga de Mesa Maraton 21	Fischer Scientific	Z 368
- Baño María	Vwr Scientific	1110
- Refrigerador lem Hussmann	American	RC220
- Balanza analítica	Santorius	160 P
- Campana Flujo laminar horizontal	Veeco	CFH-13
- Incubadora de CO2	Precision	
- Incubadora de CO2	Napco	1701
- Microscopio Estereoscópico	Carl Zeiss	Carl Zeiss
- Microscopio Invertido	Carl Zeiss	Carl Zeiss
- Microscopio de fluorescencia	Carl zeiss	FOMI-III
- Pipeteador	Drummond Sc Co.	s/n
- Termo Block	Vwr Scientific Division	13259-005
- Agitador magnético	Lab-Line	1266
- Reloj de intervalos	Radio Shack	63898

2. -MATERIAL

Material	Marca / catalogo	
- Frasco de cultivo de 50 ml, desechable	Falcon	353014
- Pipeta 10 ml, envuelta individualmente, desechable.	Falcon	356551
- Tubo de centrífuga de 15 ml con punta cónica con tapón de rosca, desechable.	Falcon	352097
- Tubo de 10 ml con punta redonda		
- desechable, envuelto individualmente	Falcon	352057
- Caja Petri 100 x 15 mm, desechable	Falcon	351029
- Caja Petri 60 x 15 mm, desechable	Falcon	353002
- Viales de 2 ml con tapón de rosca	Corning	25702
- Filtros Miller-GV poro 0.22 mm, diámetro 25 mm	Millipore	SLGV 025LS
- Membrana de acetato Celulosa poro 0.2, diámetro 25 mm	Sartorius	11107
- Portaobjetos 75 x 25 mm	Corning	
- Cubreobjetos 50 x 24 mm del #1	Corning	2935
- Vaso de precipitados de 250 ml	Pyrex	
- Probetas graduadas de 50 y 100 ml	Pyrex	
- Pipetas pasteur de vidrio	BD	4642
- Tubo de centrífuga de 15 mm, punta cónica graduado de cristal	Pyrex	8100
- Termómetro de 10 a 100 °C	Vilsa	
- Lápiz diamante	Bel-Art	F44150
- Pinzas de disección punta roma		

3.-REACTIVOS

Reactivos

- Medio de cultivo Chang C liofilizado suplementado con medio de cultivo B líquido
- Medio de cultivo HAM-F10 con L-glutamina, sin bicarbonato de sodio
- Medio de cultivo MEM, con sales de Earle.
- Sin bicarbonato de Sodio.
- Fitohemaglutina Forma M Liofilizada
- Suero fetal de ternera
- Suero de ternera
- Glutamina 200 Milimolar
- Tripsina-Verseno al 0.05%
- Velvan
- Ac. Láctico L+
- Penicilina G, sódica
- Sulfato de Estreptomicina
- Bicarbonato de sodio
- Cloruro de Potasio
- Cloruro de Sodio
- Citrato de Sodio
- Fosfato de Potasio
- Fosfato de Sodio
- Metanol
- Etanol
- Ac. Acético Glacial
- Etellan
- Colorante Wright
- Giemsa en polvo
- Heparina
- Glicerina
- Aceite de inmersión
- Sol. Salina de NaCl al 0.9%

Marca / catalogo

Come/Irving	T-100-19
Sigma	N-6635
Sigma	M-0268
Gibco	10576-015
Alen Dist.	S/N
In Vitro	S/N
In Vitro	S/N
In Vitro	EN-005
Lilly	0002-1452-01
Sigma	L-4388
Sigma	P-3032
Sigma	S-9137
Sigma	S-5761
Merck	4936
J.T Baker	3624-01
J.T Baker	3646-20
Merck	1.04873.0250
Merck	6586
J.T Baker	9070-02
Merck	1.00983 1000
Merck	1.00063.1000
Merck	7961
Merck	1383
Merck	1.09203.0025
PISA	S/N
Merck	1.04094.1000
Merck	1.04699.0100
PISA	

4.- TECNICAS DE CULTIVO

4.1.- Cultivo de linfocitos

A) Siembra:

- a) La muestra se procesó en la campana de luz ultravioleta o en la campana de flujo laminar horizontal.
- b) Cerca de un mechero o lámpara de alcohol se agregaron a 2 frascos de cultivo de 50 ml, 10 ml de medio HAM o MEM con 20 % de suero fetal de ternera y 0.2 ml de fitohemaglutinina. A cada frasco se le agregaron 10 a 12 gotas de sangre.
- c) Los frascos se etiquetaron con el número que le correspondió al paciente y se anotó el número 1 a un frasco y el número 2 al otro frasco.
- d) Se incubaron a 37°C en la estufa bacteriológica a 37°C, por 72 horas.

B) Cosecha:

- a) Los frascos de cultivo se sacaron de la estufa, y en la campana cerca de la flama, se agregaron 2 gotas de colchicina (Concentración 1 ng/ml) y se regresaron a la estufa por otros 30 minutos.
- b) Pasados los 30 minutos, se virió el contenido a un tubo de ensaye de 15 ml de capacidad.
- c) Los tubos se centrifugan 7 minutos a 1,200 rpm
- d) Con pipeta Pasteur se eliminó el sobrenadante.
- e) Se agregaron 6 ml de solución hipotónica (KCL 0.075 molar) por 5 a 15 minutos a temperatura ambiente. El botón se resuspendió con la pipeta Pasteur.
- f) Se centrifugó nuevamente 7 minutos a 1,200 rpm
- g) Con la pipeta se eliminó el sobrenadante dejando 1 ml para resuspender el botón celular y enseguida se agregaron 5 ml de fijador Carnoy (Metanol 3 partes, acético 1 parte)
- h) Se dieron de 3 a 4 cambios de fijador alternando con centrifugación, hasta que el botón celular se aclaró totalmente.

i) Finalmente se quitó el sobrenadante, dejando 1 ml de Carnoy para resuspender el botón celular.

C) Elaboración de laminillas:

a) Los portaobjetos previamente lavados y conservados en alcohol al 70°C y en refrigeración, se sacan y se limpian suavemente.

b) Con una pipeta se tomó una pequeña cantidad del botón celular y se colocó una gota en el centro del portaobjeto dejandola secar al medio ambiente. Se hicieron de 8 a 10 laminillas por paciente.

c) Se marcaron las laminillas con lápiz de punta de diamante anotando el número del paciente y el número de tubo, ej: paciente 01S-040 Lamila.

4.2.- Cultivo de células amnióticas con técnica de subcultivo

A) Siembra

Las muestras se procesaron por triplicado, se llenó una hoja de control de cultivo (la cual se anexa).

a) La campana de flujo laminar se encendió 30 min. antes de iniciar la siembra. Cerca del mechero de gas o de una lámpara de alcohol, se dividió la muestra en tres partes y se depositó en tubos de centrifuga con capacidad para 15 ml con punta cónica y tapón de hule o rosca y se marcó con el número que le correspondió a la paciente. Se Centrifugó 5 minutos a 1,200 rpm.

b) Con pipeta estéril de 5 o 10 ml, se eliminó el líquido, dejando 1 ml aproximadamente, el cual se resuspendió con 4 ml de medio de MEM, o HAM; y se pasó a un frasco de cultivo de 50 ml Esto se hace igual para los otros dos frascos.

c) Se etiqueta cada frasco con el número asignado a la paciente seguido por el número romano I, II y III correspondiente, fecha e iniciales de la paciente.

d) Los frascos se incuban en una estufa bacteriológica a 37°C para 7 días, agregando previamente a cada frasco CO₂ con una pipeta pasteur estéril, o bien en una incubadora de CO₂ a 37°C por 5 días.

B) Alimento de los cultivos

a) Al séptimo día se reemplazó el medio de cada frasco por 5 ml de medio fresco y se registró el crecimiento, anotando el número de colonias celulares presente.

b) Posteriormente se cambió el medio de cultivo cada tercer día.

Nota: Siempre se emplea una pipeta de 5 a 10 ml estéril para cada frasco.

C) Valoración del crecimiento celular

Cada vez que se cambió el medio de cultivo se registró en la hoja de control, el número y tamaño de las colonias. Se consideró una colonia pequeña cuando midió menos de 1 mm de diámetro, Mediana entre 1 y 2 mm y grande de 3 mm en adelante.

D) Subcultivo

Cuando hubo en cada frasco un mínimo de 10 colonias grandes se procedió a hacer el subcultivo para lo cual:

a) Se precalentó la tripsina verseno a 37°C por 20 minutos.

b) Con una pipeta estéril, se eliminó el medio de cultivo de cada frasco.

c) Con otra pipeta de 10 ml se tomaron 2 ml de tripsina verseno y se agregó 1 ml al frasco de cultivo se agitó suavemente y luego se eliminó la tripsina en seguida se agregó el otro ml de tripsina-verseno y se dejó actuar 30 segundos. Se hace lo mismo con los otros 2 frascos.

d) Para pasar la acción de la tripsina se agregó 1 ml de suero fetal de ternera estéril y después 5 ml de medio de cultivo HAM F10 o MEM con 20% de suero fetal de ternera a cada frasco.

e) Con una pipeta esteril de 10 ml se tomaron 4 ml de la suspensión celular y se pasaron 2 ml a 2 frascos nuevos de cultivo de 50 ml nuevo y se agregaron 2 ml más de medio de cultivo HAM o MEM.

f) Se etiquetaron con el número correspondiente agregando un número arábigo, (I.1 y I.2), iniciales del nombre de la paciente y fecha.

g) Se incubaron en la estufa de CO₂ al 5% a 37 °C. o se agregaron 5 segundos de CO₂ al 5% a cada frasco. A los 30 minutos se checó el color del medio de cultivo, el cual debía estar de color rosa pálido, si estaba de color fucsia se agregaba 1 a 2 segundos más de CO₂, si estaba de color amarillo se destapaba el frasco de 15 a 20 segundos, posteriormente se incubaban a 37 °C en la estufa.

Se hizo lo mismo con los frascos I y II.

E) Cosecha

Se inició cuando el crecimiento celular tenía una confluencia celular de 80%.

a) A cada frasco se le agregó 0.2 ml de Velbán por 30 minutos y se incubó nuevamente.

b) Cuando se desprendieron la mayoría de las células, se agregaron 4 ml de medio HAM ó MEM con 20% de suero fetal de ternera.

c) Se extrajeron 4.5 ml de la suspensión celular y se pasaron a un tubo de centrifuga de 15 ml con punta cónica, al cual previamente se le agregaron 0.5 ml de suero de ternera, para parar la acción de la tripsina. A los frascos de cultivo se le agregaron 4 ml de medio MEM ó HAM con suero fetal de ternera y se incubaron nuevamente.

d) Se centrifugaron los tubos por 5 minutos a 1,200 rpm

e) Eliminó el sobrenadante y se agregaron 6 ml de solución hipotónica, (KCL 0.4% citrato de sodio 0.4% prop. 1:1) se resuspendió suavemente el botón con la pipeta pasteur y se dejó a temperatura ambiente por 4, 5 y 6 minutos respectivamente (la sol. hipotónica se precalienta 30 minutos antes a 37°C).

f) Se agregó 1 ml de fijador Carnoy y se resuspendió agitando suavemente hasta formar una suspensión homogénea.

g) Se centrifugó 5 minutos a 1,200 rpm

h) Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular con 5 ml de fijador y se centrifugó 5 minutos a 1,200 rpm

i) Se repitió el paso anterior.

F).- Elaboración de laminillas

a) Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular con 0.2 ml de fijador.

b) Con pipeta pasteur se depositó una gota de la suspensión de células en un portaobjetos sumergido previamente en agua para que se forme una película uniforme y se dejó secar al aire (lavar y desengrasar los portaobjetos previamente).

c) Se hicieron de 5 a 6 laminillas por cada frasco de cultivo.

d) Las laminillas se añejaron a 60°C por 24 horas

4.3.- Cultivo de células amnióticas con técnica directa

A) Siembra

- a) Se encendió la campana de flujo laminar 30 minutos antes de iniciar la siembra. Cerca de un mechero de gas o de una lámpara de alcohol, se dividió la muestra en tres partes y se depositó en tubos de centrifuga con punta cónica y tapón de hule o rosca, con capacidad para 15 ml y se centrifugaron 5 minutos a 1,200 rpm. Cada tubo se marcó con el número que le correspondió a la paciente.
- b) Con pipeta estéril de 5 o 10 ml, se eliminó el líquido sobrenadante y dejando 1 ml aproximadamente, el botón celular se resuspendió con 4 ml de medio de cultivo Chang, MEM, o HAM y luego se pasó a un frasco de cultivo de 50 ml. Esto se hizo igual para los otros dos frascos.
- c) Se etiquetaron cada frasco con el número correspondiente a la paciente, seguido por el número romano I, II y III, fecha e iniciales de la paciente.
- d) Se incubaron en la estufa de CO₂ al 5% a 37°C y cuando no se contó con la incubadora de CO₂, con una pipeta pasteur, directamente a cada frasco se les agregó el CO₂ al 5% y el control del Ph se hizo checando el color del medio de cultivo el cual debía estar color rosa pálido.

B) Alimento de los cultivos

- a) Cuando se usó medio Chang o Chang/Ham, al 5o. día de iniciado el cultivo se agregó a cada frasco 2 ml de medio.
- b) Cuando se utilizaron medios MEM o HAM, al séptimo día se reemplazó el medio de cada frasco por 5 ml de medio fresco y se registró el crecimiento.
- c) Se siguió alimentando cada frasco cada 3 días, hasta que hubo suficiente crecimiento celular para iniciar la cosecha.

Nota: Siempre se emplearon pipetas diferentes de 5 a 10 ml estériles para cada frasco.

C) Valoración del crecimiento celular

- a) Se registró en la hoja de control, anotando el número y tamaño de las colonias. Se consideró colonia: a) pequeña, cuando midió menos de 1 mm de diámetro; b) mediana, entre 1 y 2 mm y c) grande de 3 mm en adelante.

D) Cosecha

Se inició cuando los frascos presentan de 10 a 15 colonias grandes. Cuando se utilizó medio Chang esto ocurrió aproximadamente al noveno día y con medio Ham o MEM entre los días 12 y 14.

a) A cada frasco de cultivo se le agregaron 0.2 ml de Velbán estéril por 30 minutos y se incubaron nuevamente.

b) Con pipeta estéril se eliminó el medio de cultivo de cada frasco y se agregó 1 ml de tripsina, se agitó suavemente y se eliminó. Se agregó otro 1 ml de tripsina y se dejó actuar \pm 30 segundos. (La tripsina se precalienta a 37°C 30 minutos antes de iniciar la cosecha).

c) Cuando se desprendieron la mayoría de las células, se agregaron 4 ml de medio HAM ó MEM, con 20% de suero fetal de ternera.

d) Se tomaron 4.5 ml de la suspensión celular y se pasaron a un tubo de centrifuga de 15 ml con punta cónica, que contenía 0.5 ml de suero de ternera, para parar la acción de la tripsina. A los frascos de cultivo se les agregó 4 ml de medio MEM ó HAM con suero fetal de ternera y se incuban nuevamente.

e) Se centrifugaron por 5 minutos a 1,200 rpm

f) Se eliminó el sobrenadante y se agregaron 6 ml de solución hipotónica, resuspendiendo suavemente el botón con pipeta Pasteur; se dejó a temperatura ambiente 4, 5 y 6 minutos respectivamente (la solución hipotónica se precalentó 30 min antes a 37°C).

g) Se agregó 1 ml de fijador Carnoy a cada frasco y se resuspendieron, agitando suavemente hasta formar una suspensión homogénea.

h) Se centrifugaron 5 minutos a 1,200 rpm

i) Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular con 5 ml de fijador, y se centrifugaron 5 minutos a 1,200 rpm

j) Se repitió el paso anterior.

E) Elaboracion de laminillas

a) Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular con 0.2 ml de fijador.

b) Con pipeta Pasteur, se depositó una gota de la suspensión de células en un portaobjetos sumergido previamente en agua para que se formara una película uniforme y se dejó secar al aire (lavar y desengrasar los portaobjetos previamente).

c) Elaboración de laminillas .- Igual que para células amnióticas.

4.4.- Cultivo de biopsia de vellosidades coriales

A) Obtención de la muestra:

En un recipiente estéril de boca ancha y con tapón de rosca hermético, se depositaron 10 ml de medio HAM con 0.3 ml de heparina sódica y de 20 a 25 mg de vellosidades coriales.

B) Técnica de cultivo

Las muestras se procesaron por triplicado.

a) En la campana de flujo laminar horizontal (encendida media hora antes), y junto a un mechero, se pasó la muestra utilizando pinzas estériles a una caja petri estéril de 10 cm de diámetro y se agregaron 5 ml de medio MEM o HAM.

b) En el microscopio estereoscópico o con Diascopia (el cual debe estar dentro de la campana), se separaron las vellosidades de la decidua materna, y se pasaron las vellosidades ya limpias a otra caja petri de 5 cm de diámetro, agregando 2 ml más de medio de cultivo.

c) Las vellosidades se limpiaron nuevamente utilizando una lente objetiva de mayor aumento y se pasaron a una tercera caja petri de 5 cm. con 2 ml de medio de cultivo.

d) Utilizando pinzas y bisturí estériles, se fragmentaron las vellosidades en trocitos menores de 0.3 mm de diámetro.

e) Con una pipeta estéril de 5-10 ml se tomaron 2-3 ml de medio de cultivo y Chang, Chang/Ham ó Ham con 20% de SFT y se resuspendió el tejido.

f) Con la misma pipeta se tomaron 3 ml de esta suspensión celular y se pasaron 1.5 ml a cada frasco de cultivo. Con otra pipeta se completó a un volúmen de 4 ml si se usó medio de Chang o Chang/Ham y 5 ml si se usó Ham con suero fetal.

g) Se identificó cada frasco, anotando número que le correspondió a la paciente seguido de los números romanos I, II y III para cada uno de los frascos de cultivo, fecha e iniciales del paciente.

h) Los frascos se incubaron a 37°C en incubadora de CO₂ al 5%, aflojando ligeramente los tapones para permitir el intercambio de CO₂ con el cultivo. Cuando no se tenía incubadora de CO₂ se agregó CO₂ al 5% con pipeta pasteur estéril por 5 segundos y se cerró el frasco.

i) Al 5° día se alimentó cada frasco de la muestra con 2 ml de medio, HAM o MEM o Chang y posteriormente cada tercer día.

C) Valoración de crecimiento celular

a) Cada vez que se adicionó o cambió el medio a los cultivos, se registró en la hoja de control, la cantidad y calidad de explantes en crecimiento, anotando número y tamaño de los mismos.

b) Se consideró crecimiento pequeño, cuando el explante tuvo una zona de crecimiento de ± 1 mm de diámetro, tamaño mediano cuando el crecimiento fué de aproximadamente 2 mm y grande cuando el crecimiento era superior a los 3 mm.

D) Cosecha

Se inició cuando con 8 a 10 explantes grandes como mínimo y se siguió el mismo procedimiento que para células amnióticas.

E) Elaboración de laminillas

El mismo procedimiento que para células amnióticas.

4.5.- Cultivo de fibroblastos y tejidos fetales

A) Obtención de la muestra:

a) Los fragmentos de piel obtenidos por biopsia se depositaron en un frasco estéril con 10 ml de medio de cultivo HAM-F10 o MEM. El frasco se etiquetó con el nombre de la paciente y la fecha de obtención de la muestra.

B) Técnica de cultivo

a) La muestra se procesó por triplicado y se llenó la hoja de control de cultivos

b) En una caja petri de 5 cm de diámetro se depositaron 2 ml de medio HAM F10 o MEM y con pinzas estériles (se introducen en alcohol y se flamean), se tomaron los fragmentos depositándose en la caja.

c) Con microscopio estereoscópico o diascópico se revisó la muestra y se valoró si tenía la grasa. En caso de que tuviera grasa se eliminó, sujetando el fragmento con las pinzas y raspando con el bisturí.

d) El tejido ya limpio de grasa se fragmentó con el bisturí en trozos lo más pequeño posible (0.2 a 0.5 mm de diámetro).

e) Con una pipeta estéril de 5-10 ml se tomaron 2-3 ml de medio de cultivo Chang o Chang/Ham ó Ham con 20% de SFT y se resuspendió el tejido.

f) Con la misma pipeta se tomaron 3 ml de esta suspensión celular y se pasaron 1.5 ml a cada frasco de cultivo. Con otra pipeta se completó a un volúmen de 4 ml si se usó medio de Chang o Chang/Ham y 5 ml si se usó Ham con suero fetal.

g) Se identificó cada frasco, anotando número que le correspondió a la paciente seguido de los números romanos I, II y III para cada uno de los frascos de cultivo, fecha e iniciales del paciente.

h) Los frascos se incubaron a 37°C en incubadora de CO₂ al 5%, aflojando ligeramente los tapones para permitir el intercambio de CO₂ con el cultivo. Cuando no se tenía incubadora de CO₂ se agregó CO₂ al 5% con pipeta pasteur estéril por 5 segundos y se cerró el frasco.

i) Al 5° día se alimentó cada frasco de la muestra con 2 ml de medio, HAM, MEM o Chang y posteriormente cada tercer día.

j) Elaboración de laminillas.- Igual que para células amnióticas.

C) Valoración de crecimiento celular

Cada vez que adicionó o cambió el medio a los cultivos, se registró en la hoja de control, la cantidad y calidad de explantes en crecimiento, anotando número y tamaño de los mismos.

Se consideró crecimiento pequeño, cuando el explante tuvo una zona de crecimiento de ± 1 mm de diámetro, tamaño mediano cuando el crecimiento fué de aproximadamente 2 mm y grande cuando el crecimiento era superior a los 3 mm.

D) Cosecha

Se inició con 8 a 10 explantes grandes como mínimo y se siguió el mismo procedimiento que para células amnióticas.

E) Elaboración de laminillas

El mismo procedimiento que para células amnióticas.

5.- Técnicas de bandeado cromosómico

5.1) Bandas G

- a) Se añejaron las laminillas a 60°C por 24 horas antes.
- b) Se pasaron las laminillas 1 minuto por solución salina de Cloruro de Sodio al 0.9%.
- c) Enseguida se metieron a la solución de tripsina (0.00025 grs/ml) a ph 8 por 1 ó 2 minutos.
- d) Posteriormente se enjuagaron por 10 segundos en agua destilada.
- e) Se tiñieron en colorante Wright por 2 segundos.
- f) Después se pasaron al colorante Giemsa por 5 a 10 minutos.
- g) Se enjuagaron en agua por 5 a 10 segundos.
- h) Se dejaron secar al aire y se montaron con Entellan.

Soluciones:

Tripsina

- 1) Disolver 0.5 grs de tripsina en 10 ml de H₂O destilada.
- 2) Hacer alicuotas de 0.5 ml y congelar.
- 3) Solución trabajo: disolver una alicuota en 50 ml de solución salina, poner el ph a 8 con Bicarbonato de sodio al 7.5%.

Colorante giemsa

5 ml de Giemsa
2.5 ml de Buffer A
2.5 ml de Buffer B
42.5 ml de Agua destilada

Buffer A: 113.4 grs de K₂HPO₄ y aforar en 2.5 litros de agua destilada

Buffer B: 148.3 grs de Na₂PO₄ y aforar en 2.5 litros de agua destilada

Colorante Wright

12.5 ml de colorante Wright
12.5 ml de Buffer

Buffer para Wright

K_2HPO_4 6.63 gms

Na_2HPO_4 2.5 gms

Aforar a un litro con agua destilada.

5.2) Bandas Q

- 1.- Teñir la laminilla en la solución de Mostaza de Quinacrina por 5 a 10 minutos.
- 2.- Pasar la laminilla 10 segundos a un buffer de Sörensen y agitar.
- 3.- El paso anterior se repite 2 veces más.
- 4.- Cubrir la laminilla con un cubreobjetos del número 1, presionar para quitar el exceso de agua.
- 5.- Leer con fluorescencia utilizando un microscopio de Epifluorescencia con filtros de 400 a 440 de longitud de onda.

Soluciones

a) Mostaza de quinacrina

5 mg de quinacrina

5 ml Buffer A

7 ml Buffer B

108 ml Agua destilada

Estable 2 meses envuelta en papel aluminio

Buffer de sörensen

10 ml Buffer A

13 ml Buffer B

77 ml H_2O destilada

Nota: Los Buffer A y B son los mismos que se utilizan para bandas G.

5.3) Estudio de polimorfismos (variantes de la heterocromatina)

- 1) Una laminilla de la muestra del líquido amniótico, una del padre y otra de la madre, se tiñen simultáneamente con bandas Q.
- 2) Se analizan en un microscopio con epifluorescencia con filtros de 400 – 440 de longitud de onda.
- 3) Se comparan las variantes de la heterocromatina de los brazos largos de los cromosomas 1, 9 y 16 y las variantes de los satélites de los cromosomas acrocéntricos 13, 14, 15, 21 y 22.
- 4) Se considera que el cariotipo diagnosticado corresponde al feto si en las células de líquido amniótico se observan uno o más polimorfismos de los identificados en las células paternas