



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“Relevancia del análisis citogenético en
abortos espontáneos del primer
trimestre”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A

YADIRA REYES ROSALES



DIRECTORA DE TESIS: DRA. PATRICIA GREYER GONZÁLEZ.
ASESOR INTERNO: DRA. ELIA ROLDÁN REYES.

MÉXICO, D.F.

MAYO 2012



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.

Tesis presentada por:

YADIRA REYES ROSALES

Ante la

Universidad Nacional Autónoma de México

Como requisito para optar

por el título de

BIÓLOGA

**Esta tesis fue realizada en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro
Espinosa de los Reyes (INPer)**

Dedicatorias

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón. Sin importar en donde estén o si alguna vez llegan a leer estas dedicatorias quiero darles las gracias por formar parte de mi vida, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Mami hermosa, Judith Patricia Rosales Rodríguez, no me equivoco si digo que eres la mejor mamá del universo, gracias por todo tu esfuerzo, tu apoyo, tu amor y por la confianza que depositas incondicionalmente en todas mis decisiones. ¡Y si no lo sabías mamá eres la persona más importante de mi vida a quien dedico esta tesis. ¡Te Amo!

A mis hermanos Jahir, Arnol, Cesar y Alan, por ser los mejores grandes hermanos que una gran hermana pueda tener, porque mi vida no sería la misma sin su presencia, pues son mi estímulo a seguir adelante.

A todos mis familiares y en especial los de la Malinche, por impulsarme a crecer como mujer y profesional.

Al más especial de todos, a ti Señor porque hiciste realidad este sueño, por todo el amor con el que me rodeas y porque me tienes en tus manos.

Ama et god vis fac.

San Agustín

Agradecimientos

A mi directora de tesis la Dra. Patricia Grether González, por su apoyo incondicional para ver terminado este proyecto de vida tan importante. Por lo que estoy agradecida y no solo por el ejemplo que es para mí como una mujer exitosa, sino también por el gran ser humano que es.

A mi asesora interna la Dra. Elia Roldán Reyes, por sus sugerencias.

A la Dra. María Esther Cruz Beltrán a quien aprecio sinceramente y agradezco por todo el apoyo que me brindó durante los últimos años de la carrera, siendo un honor para mí el que haya sido parte importante de este jurado.

A la Dra. Patricia Rosas Saucedo y a la Biol. María Cristina Alvarado por su valiosa contribución para la elaboración de esta tesis.

Al M. en C. Armando Ferrantes por su colaboración en la estadística.

A todos los integrantes del departamento de Genética del INI Per, Dra. Dora Gilda Mayen Molina. Dra. Mónica Aguinaga, Dra. Rocío Báez qepd, Dr. Alejandro Martínez, Biol. Javier Castro Llamas, a la linda secretaria Anita Fernández quien siempre alegra el día con su sonrisa, Biol. Guadalupe Razo, a mi amiga Biol. Guadalupe Martínez y sobre todo a Juan Carlos Ibáñez, quien con su paciencia me enseñó a trabajar en el laboratorio, y me apoyó hasta el final.

ÍNDICE	Pág.
I.RESUMEN	1
II.INTRUDUCCIÓN	3
III.MARCO TEORICO	5
1. DESARROLLO EMBRIONARIO HUMANO	5
2. VELLOSIDADES CORIALES	8
3. TIPOS DE CÉLULAS	11
4. CULTIVO DE VELLOSIDADES CORIALES	12
5. DIAGNOSTICO PRENATAL	13
6. CITOGENETICA DEL CORIÓN	14
7. CARIOTIPO HUMANO	14
8. BANDEO CROMOSOMICO	15
8.1. Bandas G	16
9. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS	17
9.1. Alteraciones numéricas	19
9.3. Trisomía 14	22
9.4. Trisomía 15	23
9.5. Trisomía 16	23
9.6. Trisomía 18	23
9.7. Trisomía 22	25
9.8. Monosomía	25
10. ABORTO	27
10.1. Aborto espontáneo	28
10.2. Aborto recurrente	32
11. EDAD MATERNA	33
IV. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	37
V. HIPOTESIS	38
VI. OBJETIVO GENERAL	39
VII. OBJETIVOS PARTICULARES	39
VIII. MÉTODO	40
1. VARIABLE A ESTUDIAR	40
2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	40
3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	40
4. OBTENCIÓN Y SELECCIÓN DE MUESTRA	40
4.1. SIEMBRA	42
4.2. SUBCULTIVO	42

4.3. COSECHA	44
4.4. TÉCNICA DE BANDAS GTG.....	44
4.5. ANÁLISIS EN EL MICROSCOPIO	45
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
IX. RESULTADOS	47
X. DISCUSIÓN	55
XI. CONCLUSIONES	60
XII. BIBLIOGRAFÍA	61

I. RESUMEN

A pesar de la alta frecuencia de aneuploidías en los abortos espontáneos, se sabe muy poco acerca de los mecanismos involucrados en su origen. Hasta la fecha, el único factor de riesgo claramente reconocido es la edad materna, por lo que el estudio citogenético de los abortos espontáneos sigue siendo un campo de investigación abierto en donde diversas líneas de investigación convergen.

En México, hasta donde sabemos, no existen publicaciones de estudios citogenéticos en abortos espontáneos por lo que consideramos importante abrir esta línea de investigación tanto para conocer la prevalencia de las diversas cromosopatías en abortos en nuestra población, como para buscar factores asociados que pudiesen ser de utilidad en el manejo clínico de las pacientes.

Con base en estos hechos, en esta tesis se decidió analizar la relación que existe entre las anomalías cromosómicas y los abortos espontáneos del primer trimestre y evaluar si los resultados están vinculados con factores como edad materna, edad gestacional y número de abortos previos. Por lo cual se utilizaron vellosidades coriónicas de los abortos, procesadas bajo condiciones controladas de asepsia. Por cada caso se analizaron 20 metafases teñidas con bandas GTG.

De los abortos espontáneos del primer trimestre de nuestra población del Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinoza de los Reyes (INPer) de la ciudad de México. Las anomalías cromosómicas encontradas fueron numéricas, ninguna de tipo estructural. La edad gestacional promedio fue de 8.96 semanas y la edad promedio de las madres fue de 30.8 años. El promedio de abortos por paciente fue de dos siendo la patología de huevo muerto retenido (HMR) la de mayor incidencia.

Las alteraciones cromosómicas representaron el 35.3% porcentaje que es bajo en relación a otros estudios, consideramos que estos resultados podrían deberse a las características de nuestra muestra: a) Nuestra población cursaba con un embarazo de alto riesgo con diversas patologías maternas b) posibilidad de contaminación materna y c) población pequeña.

Sin embargo a pesar de no encontrar diferencias significativas entre nuestros datos, si muestran en porcentajes distintos, alteraciones cromosómicas que son constantes con otros reportes (Strom *et al.*, 1992; Annerén *et al.*, 1982).

Las aberraciones cromosómicas de mayor incidencia fueron las trisomías autosómicas (38.9%), de los cromosomas 18 y 22, seguidas de las monosomías del X y poliploidías (27.8%). Denotando que el riesgo de una trisomía aumenta cuando se asocia en mujeres mayores de 35 años (Hassold y Chui, 1985; Hassold y Hunt, 2001; Goddijn *et al.*, 2004; Nagaihi *et al.*, 2004) mientras que el riesgo de una monosomía del X y las poliploidías disminuyen (Annerén *et al.*, 1982).

Nuestros datos manifestaban mayor incidencia de cromosomopatías en abortos mayores a nueve semanas de gestación (SDG). Sin embargo las anomalías estuvieron presentes también en abortos que mostraban menos de nueve SDG.

Las pérdidas del embarazo siguen siendo un problema en parejas que buscan la concepción de un hijo normal, por lo tanto, el cariotipo es una prueba que contribuye con información muy valiosa para estas parejas, sin embargo, depende de las variables a estudiar y del éxito en el cultivo celular, por lo que es recomendable complementar el estudio con técnicas moleculares.

II. INTRODUCCIÓN

El desarrollo embrionario es un proceso complejo que involucra una interacción equilibrada de los factores ambientales y genéticos (Zhang *et al.*, 2009). Uno de los problemas mayores durante el embarazo es el aborto espontáneo, que ocurre debido a causas naturales sin la intervención de factores lesivos externos. El aborto espontáneo ocurre en el 15% de los embarazos reconocidos clínicamente, (Strom *et al.*, 1992). y de ellos, en más del 60% se pueden observar cromosomopatías (Ogasawara *et al.*, 2000), Los abortos pueden deberse a problemas endocrinos, inmunológicos, enfermedades infecciosas (Allen *et al.*, 2003). Sin embargo, los factores genéticos juegan el papel más importante en las patologías del embarazo, especialmente durante las primeras semanas del desarrollo.

Las investigaciones para estudiar la relación entre las anomalías cromosómicas y los abortos espontáneos del primer trimestre se ha llevado a cabo de forma exitosa en el cultivo de vellosidades coriales.

No obstante la mayoría de la información que se conoce acerca de los efectos genéticos en los abortos espontáneos del primer trimestre se ha realizado en otros países y ha sido documentada desde los años 60's; no existen publicaciones que denoten las condiciones genéticas de los abortos de la población nacional. Por lo tanto en este estudio se analizaron muestras de vellosidades coriales de material de aborto ya que entre el 50% y el 70% de los abortos espontáneos cursan con alguna anomalía cromosómica y es posible encontrar un patrón de cromosomas mayormente involucrados.

Así mismo, se decidió establecer la relación de factores asociados como la edad materna, edad gestacional y número de abortos previos. Por ello se estudiaron citogenéticamente una pequeña muestra de vellosidades coriales de las pérdidas gestacionales del primer trimestre de los casos presentados en 2008-2009.

III. MARCO TEÓRICO

1. DESARROLLO EMBRIONARIO HUMANO

Una vez que el óvulo ha sido fecundado por el espermatozoide, las células se dividen por mitosis sucesivas, originando células blastodérmicas. Hacia el cuarto día hay un conglomerado de blastómeros dentro de la zona pelúcida, denominada mórula, entre el cuarto y quinto día se produce una compactación donde los blastómeros periféricos se ponen en íntimo contacto mediante uniones adherentes formándose el blastocito. Los blastómeros de la periferia forman una capa continua constituyendo el trofoblasto (Moore *et al.*, 2008).

A continuación una licuefacción forma una cavidad denominada blastocele y las células del centro se agrupan formando el botón embrionario (Figura 1).

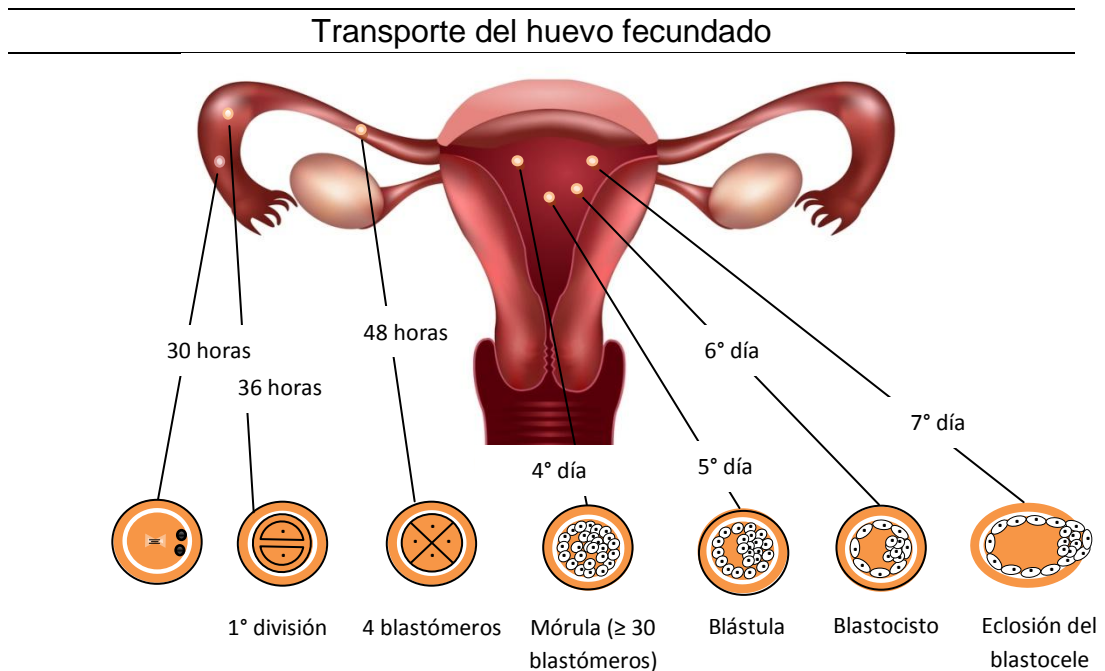


Figura 1: Segmentación del ovocito fecundado, migración e implantación del blastocito el útero materno.

El huevo fecundado es transportado a lo largo de la trompa hasta la cavidad uterina hacia al cuarto día en fase de mórula, hasta su implantación, donde se establece una interacción bioquímica entre el embrión y el endometrio (Figura 2), la implantación se estima que va desde el 6° día hasta el 10° día después de la de la ovulación (Usandizaga y De la Fuente, 2010).

Implantación del blastocisto en el útero materno.

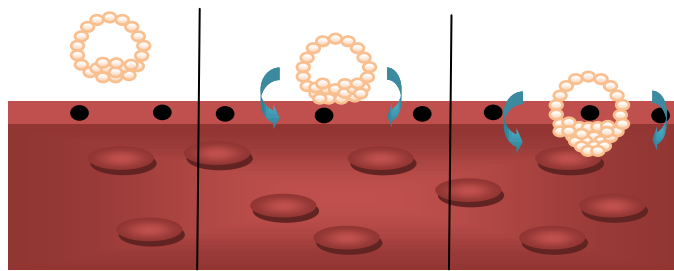


Figura 2: Interacción endometrio-embrión.

Posteriormente el blastocisto se sitúa en el fondo y zona superior de la cara posterior del útero al tiempo que se orienta de tal forma que la zona que se pone en contacto con el epitelio de superficie del endometrio es el trofoblasto que está en contacto con el botón embrionario. Hacia el 7° día después de la fecundación las células del trofoblasto se multiplican formándose el citotrofoblasto (Usandizaga y De la Fuente, 2010).

Al principio de la tercera semana se presenta la gastrulación, que es la formación de la tercera hoja blastodérmica, el cordomesoblasto. Se produce una proliferación de las células del ectoblasto que, a partir de la línea primitiva, van emigrando entre ecto y endoblasto y constituyen el mesoblasto, a lo largo de la línea media del canal cordal (Usandizaga y De la Fuente, 2010).

Una vez construidas las tres hojas blastodérmicas, de ellas se derivan todas las estructuras que dan origen al nuevo ser (Usandizaga y De la Fuente, 2010) (Figura 3).

Diferenciación del canal cordal

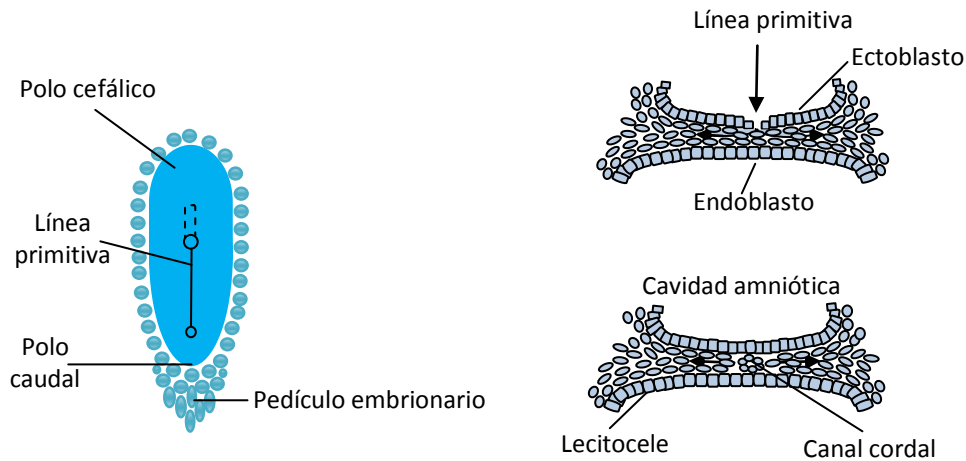


Figura 3: Diferenciación al mesodermo, endodermo y ectodermo

De la hoja ectodérmica se derivan todos los órganos y estructuras que mantienen el contacto con el individuo con el mundo exterior, es decir, el sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico, el epitelio sensorial del oído, nariz y ojo; la piel, incluidos el pelo y las uñas; también la hipófisis, la glándula mamaria y las glándulas sudoríparas, así como el esmalte de los dientes (Moore y *et al.*, 2008).

Del mesodermo se derivan los somitas, que dan origen a todo el sistema de sostén del organismo es decir, el tejido muscular, el cartílago y el hueso, así como el tejido subcutáneo de la piel. El mesodermo da origen también a todo el sistema vascular, urogenital. Por último también se origina de él el bazo y las glándulas suprarrenales (Moore y *et al.*, 2008).

Del endodermo se deriva el revestimiento epitelial de todo el tubo gastrointestinal, el aparato respiratorio y la vejiga. Forma además el

parénquima de las amígdalas, tiroides, paratiroides, páncreas, timo e hígado. Da origen también al revestimiento epitelial de la cavidad del tímpano y de la trompa de Eustaquio (Moore *et al.*, 2008).

2. VELLOSIDADES CORIALES

Posterior a la implantación del óvulo fecundado, se diferencian dos capas la interna, llamada citotroblasto y la externa multinucleada, llamada sincitiotroblasto.

El sincitiotroblasto; capa externa hormonalmente activa que erosiona los tejidos maternos provocando el hundimiento progresivo del embrión en la mucosa uterina. El citotroblasto; tipo celular de proliferación activa. Se adhiere a la pared uterina al endometrio a través de series de adhesión de moléculas, contiene enzimas proteolíticas que permiten adentrarse en el endometrio reorganizando los vasos sanguíneos uterinos para que la sangre materna bañe los vasos sanguíneos fetales. Esta actividad proteolítica se suspende a la doceava semana de gestación (Moore *et al.*, 2008).

El citotroblasto forma columnas celulares que penetran en el sincitiotroblasto y son rodeadas por éste. Dichas columnas constituyen el tronco de las vellosidades primarias (Figura 4). El tejido mesodérmico, formado a partir del epíblasto, se extiende hacia el exterior desde el embrión en la fase de gastrulación. Este tejido de mesodérmico migra a través de la línea primitiva formando el mesodermo extraembrionario que llena el espacio entre el trofoblasto, el amnios y la membrana exocelómica por dentro (Lockett, 1978).

 Vellosidad coriónica primaria.

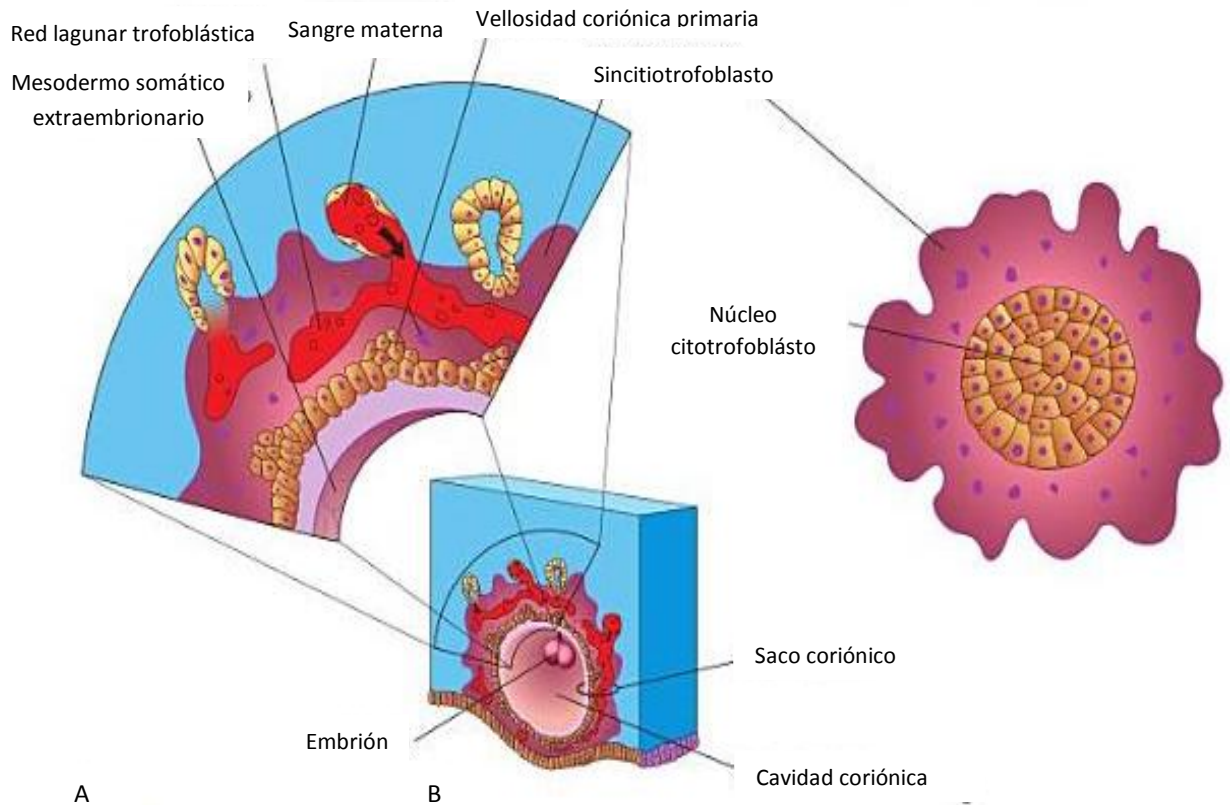


Figura 4: A) Detalle de la sección. B) Pared del saco coriónico. C) Dibujo de un corte transversal a través de una vellosidad coriónica primaria (Tomado de Moore *et al.*, 2008).

Posteriormente se desarrollan vacuolas en ese tejido y se forma el celoma extraembrionario o cavidad coriónica. Para la tercera semana las vellosidades primarias se diferencian a secundarias (Figura 5), que se forman entre los días 9 y 18 conforme las células del mesodermo extraembrionario y las bandas embrionarias primitivas migran hacia el núcleo de las vellosidades (Moore *et al.*, 2008).

Las vellosidades terciarias se caracterizan por el aspecto de sus capilares primitivos en su centro cerca del día 18 y se derivan de los 3 tipos de células. Es decir, que las capas externas y medias constituyen el sincitiotrofoblasto y citotrofoblasto, derivados del trofoblasto, en tanto que la mesodérmica contiene las células del mesodermo extraembrionario y la banda embrionaria. Los últimos 2 tipos celulares se originan de la masa

celular interna, ya que sólo de 3 a 8 células de la masa celular interna se transforman en progenitoras del mesodermo (Crane y Cheung, 1988).

Vellosidades coriónicas secundarias

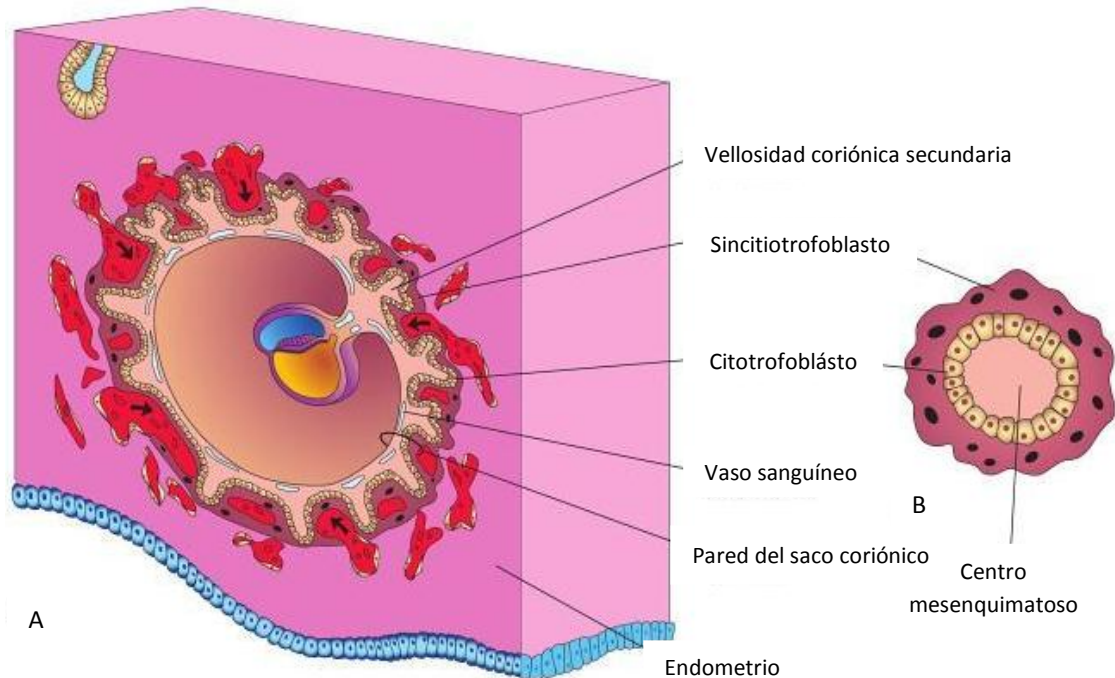


Figura 5: A. Corte sagital de un embrión de 16 días aproximadamente. B. Corte de una vellosidad coriónica secundaria (Tomado de Moore *et al.*, 2008).

Entonces cuando las células del mesodermo se diferencian en capilares sanguíneos, se forman las vellosidades terciarias (Figura 6). Una vez que los capilares contactan con los de la lámina coriónica y el pedículo de fijación, el sistema veloso está preparado para suministrar al embrión los elementos nutritivos y el oxígeno que necesita y para eliminar productos de desecho (principalmente dióxido de carbono y urea) a la circulación materna.

Funcionalmente adhiere e inserta el embrión a la pared uterina, actuando como tejido de intercambio de gases y nutrientes entre la madre y el feto. Pero además de la diferenciación de las vellosidades que es importante para el embrión, lo es también para el citogenétista

 Vellosidades coriónicas terciarias

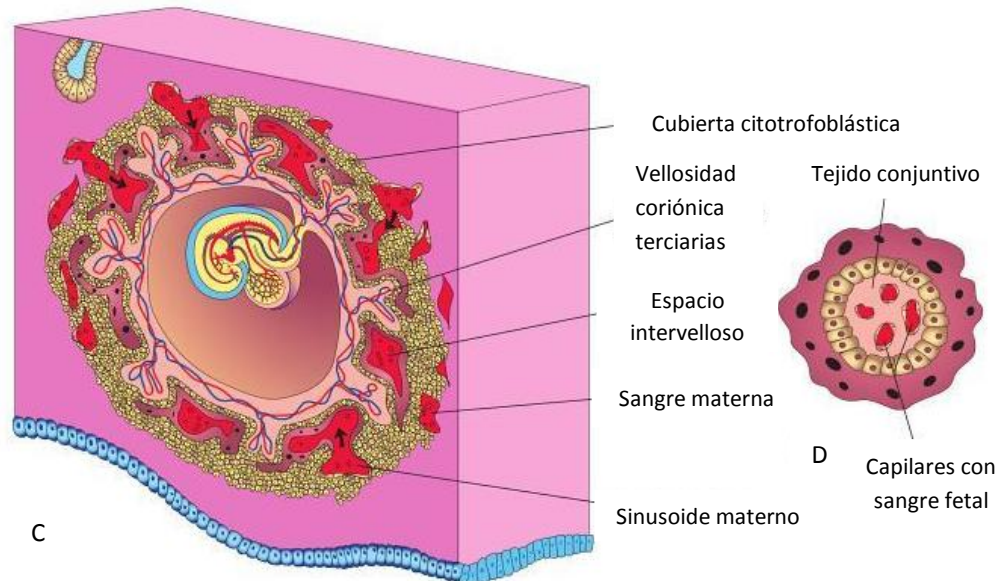


Figura 6: C. Corte de un embrión implantado de 21 días aproximadamente. D. Corte de una vellosidad coriónica terciaria. La sangre fetal de las capilares está separada de la sangre materna que rodea la vellosidad del endotelio del capilar, tejido conjuntivo embrionario. Citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto (Tomado de Moore *et al.*, 2008).

3. TIPOS DE CÉLULAS

Desde el punto de vista histológico, las vellosidades coriales en el primer trimestre de gestación muestran un núcleo mesenquimatoso, rodeado por una capa interna de citotrofoblasto, una capa externa de sincitiotrofoblasto y una densa columna terminal de células citotrofoblásticas (Boyd y Hamilton, 1970). En el núcleo mesenquimatoso y el citotrofoblasto se observan divisiones celulares; por el contrario, el sincitiotrofoblasto no muestra mitosis (Moore *et al.*, 2008).

Se ha observado que la distribución de las células en división no es homogénea (Koulischer *et al.*, 1985) en el árbol corial. Existen tres niveles de estudio: la región basal, la región media y las células de la columna citotrofoblástica (Figura 7).

Vellosidad Corial

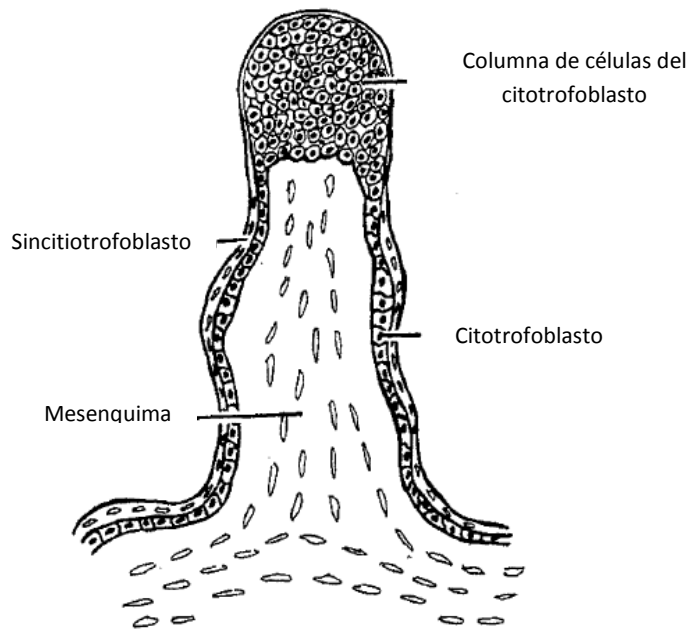


Figura 7: Niveles de división en el árbol corial (Tomado de Koulischer *et al.*, 1985).

4. CULTIVO DE VELLOSIDADES CORIALES

El corión frondoso contiene las vellosidades mitóticamente activas y por ello constituye el sitio preferido para la obtención de tejido. Dentro del centro interno mesenquimatoso se advierten capilares fetales. Las vellosidades en proliferación activa incluyen pequeñas "yemas" que están formadas de recubrimiento sincitial externo y un centro de células citotrofoblásticas con mitosis activas (Díaz *et al.*, 1996). En estas "yemas" citotrofoblásticas se obtiene el tejido para la preparación directa de los cariotipos, también del centro mesenquimatoso que sirve como fuente de cromosomas para cultivo tisular (Wapner y Jackson, 1988).

La técnica de vellosidades coriales (TVC) consiste en la obtención de material coriónico (Valente y Sever, 1993), las vellosidades coriónicas de origen fetal suelen tener la misma constitución bioquímica, cromosómica y ADN del feto (Kimberly y Allyn 1990). La TVC se utiliza en

el diagnóstico prenatal para obtener información genética relacionada con el feto a fin de diagnosticar el sexo, trastornos metabólicos, presencia de infecciones intrauterinas, virus o algunas anomalías cromosómicas (Valente y Sever, 1993; Hogge *et al.*, 1993). La citogenética campo de la genética que comprende el estudio de la estructura, función y comportamiento de los cromosomas, ha evolucionado y actualmente es una disciplina bien desarrollada y establecida (Aguinaga *et al.*, 2005). Para el análisis citogenético de las muestras obtenidas por la TVC se utiliza el método de cultivo, con una duración aproximada de alrededor de 2 semanas, hasta la obtención de colonias, para ello se utilizan las células cultivadas *in vitro*.

5. DIAGNÓSTICO PRENATAL

El concepto de diagnóstico prenatal es muy amplio y podría entenderse como cualquier acción diagnóstica que se realiza durante el embarazo, antes del nacimiento. Sin embargo, este término se utiliza preferentemente encaminado a la detección prenatal de las anomalías o defectos congénitos. La OMS define el defecto congénito como toda anomalía del desarrollo morfológico, estructural, funcional o molecular presente al nacer (aunque puede manifestarse más tarde), externa o interna, familiar o esporádica, hereditaria o no, única o múltiple (Carrera y Kurjak, 2008)

Una faceta importante del diagnóstico prenatal es proporcionar seguridad, información y reducción de la ansiedad, principalmente en grupos de riesgo (Strom *et al.*, 1992).

El estudio citogenético prenatal se ofrece a las pacientes con alguno de los siguientes antecedentes: edad materna avanzada, hijo previo con cromosomopatía, antecedentes de pérdida gestacional

recurrente, parejas con rearrreglo cromosómico estructural, tener un resultado anormal de tamiz prenatal y la presencia de defectos estructurales por ultrasonido (Simpson y Elías, 2003).

El diagnóstico prenatal es una actividad multidisciplinaria que abarca desde el análisis citogenético, bioquímico y molecular hasta la asistencia médica.

6. CITOGENÉTICA DEL CORION

El objetivo final de todo laboratorio citogenético orientado a diagnóstico prenatal es la obtención de prometafases o metafases susceptibles de análisis; es decir, cromosomas en el grado de condensación necesario para aplicar diferentes técnicas de tinción y obtener el cariotipo fetal.

Uno de los trabajos pioneros realizados sobre muestras de vellosidades coriales y cultivo de células trofoblásticas fueron publicadas en los años setenta paralelamente por Kullander y Sandhal (1973) y por Hahnemann (1974).

7. CARIOTIPO HUMANO

Se ha establecido un “Sistema Internacional de Nomenclatura para Citogenética Humana” (ISCN, por sus siglas en inglés), que ha estandarizado la descripción del cariotipo normal y patológico.

Esta clasificación se basa en el tamaño de los cromosomas y en la posición del centrómero; si el centrómero es central, el cromosoma es metacéntrico; cuando el centrómero está muy cerca de un extremo el cromosoma es acrocéntrico y en los casos intermedios los cromosomas son submetacéntricos (ISCN, 1995; Jorde *et al.* 2000; Mueller y Young,

2001). La clasificación básica de los cromosomas humanos comprende siete grupos (Tabla 1)

Cariotipo humano		
Grupo	Cromosoma	Características
A	(1-3)	Grandes y metacéntricos (1 y 3) o submetacéntricos (2)
B	(4-5)	Submetacéntricos menores que el 2 y parecidos entre sí en tamaño
C	(6-12,X)	Submetacéntricos medianos. Excepto X que es más grande
D	(13-15)	Acrocéntricos con satélites medianos
E	(16-18)	Son cortos; el 16 es metacéntrico y el 17 y 18 son submetacéntricos
F	(19-20)	Pequeños y metacéntricos
G	(21-22, Y)	Acrocéntricos con satélite, salvo el Y

Tabla 1. Clasificación de los cromosomas por grupos de A-G. Tomado de ISCN

En todos los cromosomas el brazo corto se llama p (del francés *petit*) y el brazo largo q (Thompson *et al.*, 2007).

El cariotipo se obtiene de cualquier tejido vivo, cuyas células sean susceptibles de división, como las vellosidades coriónicas (Thompson *et al.*, 2007).

8. BANDEO CROMOSÓMICO

Las bandas son específicas y constantes para cada par cromosómico lo que permite su exacta identificación. El nivel de resolución (número de bandas) dependerá del momento en que se detenga la división celular (metafase, prometafase) oscilando entre 350 y 1200 bandas y sub-bandas por metafase.

En los laboratorios de citogenética se utilizan varias técnicas de bandeo cromosómico. En este sentido, destaca el método de tinción de las bandas de quinacrina, bandas Q tiñen con material fluorescente (mostaza de quinacrina). Las bandas R (reversas) requieren tratamiento

por calor y en ellas se invierte el patrón normal blanco y negro que se observa en las bandas Q y G. Son lo contrario de las G, lo que en unas son claras en otras son oscuras (Thompson *et al.*, 2007). Bandas C que tiñen zonas específicas del cromosoma el centrómero y heterocromatina constitutiva próxima a él. La tinción NOR, que tiñe zonas del organizador nuclear, los satélites.

8.1. Bandas G

Técnica habitual y utilizada en este trabajo son las bandas G (Gustashaw, 1991) (Figura 8), estas revelan alrededor de 350 a 400 bandas por metafase y es posible analizar alteraciones numéricas y un elevado número de alteraciones estructurales.

Morfología de los cromosomas humanos

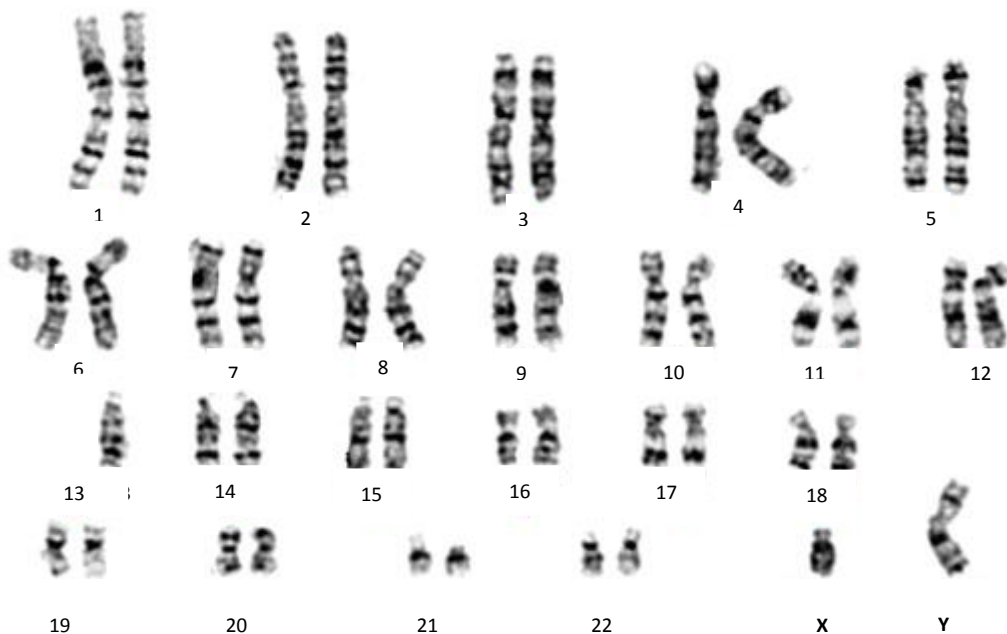


Figura 8: Los cromosomas 1, 3, 16, 19 y 20 se consideran metacéntricos, los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22, son acrocéntricos y los restantes se consideran submetacéntricos (Tomado de Thomsom *et al.*, 2008)

La nomenclatura de las bandas es aceptada internacionalmente por ISCN, y se determina escogiendo puntos o regiones del cromosoma

características como centrómero, telómero, constricciones secundarias, bandas muy marcadas que actúan como puntos divisorios estableciendo regiones en cada brazo del cromosoma y en ellas las bandas claras y oscuras, que a su vez se subdividen en sub-bandas (Figura 9).

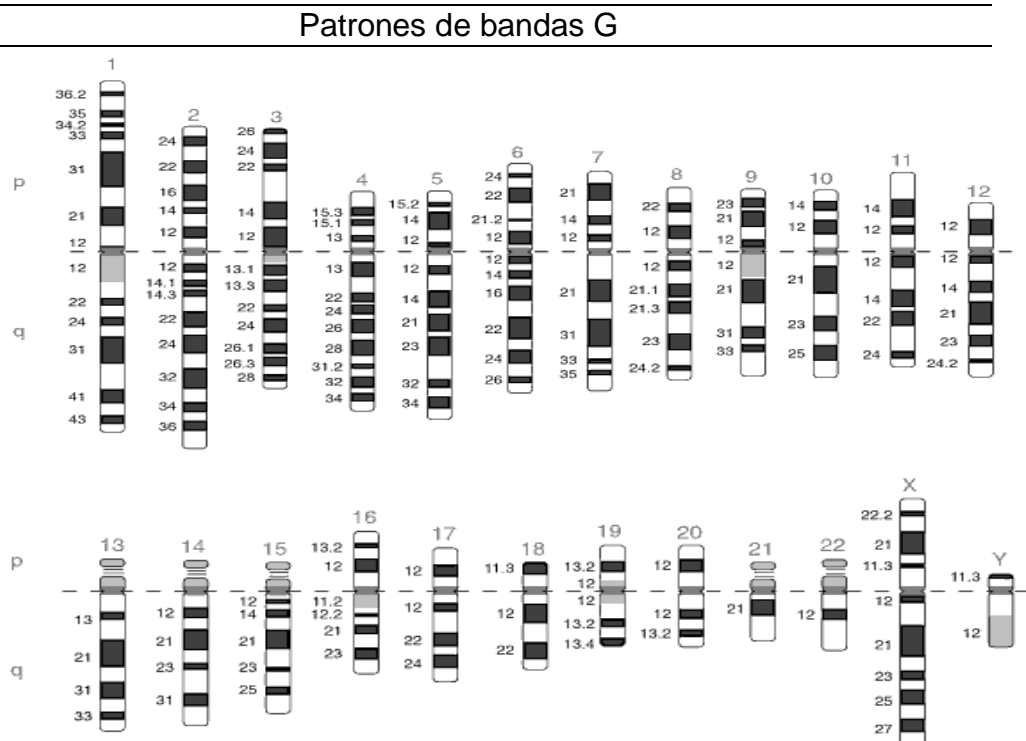


Figura 9: Cromosomas humanos en metafase, con aproximadamente 400 bandas por cariotipo haploide. (Tomado de Thomsom *et al.*, 2008).

9. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS

Gracias al estudio de los cromosomas sabemos que en el ser humano, su complemento genético es de 22 autosomas y dos cromosomas sexuales, dos cromosomas XX para la mujer y dos cromosomas XY para el hombre, esto se conoce como el estado diploide ($2n$); 46 cromosomas en total (Curtis *et al.*, 2008), como lo determinaron Tjio y Levan en 1956 (Harper, 2006).

En las anomalías cromosómicas este patrón no se cumple, pues se altera el número o la estructura interna de uno o más cromosomas, produciéndose una cromosomopatía (Salamanca, 1993; Cortés, 2008).

Estas anomalías están presentes en al menos el 10% de todos los espermatozoides y en el 20% de los oocitos maduros (Martin *et al.*, 1991; Mueller y Young, 2001; Masaji *et al.*, 2004; Aguinaga *et al.*, 2005). Se ha estimado que hasta un 30% de los cigotos humanos son aneuploides, siendo esta cifra más del doble en las mujeres con una edad media de 38 años (Kuliev *et al.*, 2005).

Estas cromosomopatías contribuyen en forma importante a la morbilidad y mortalidad en el periodo perinatal. Muchas de ellas, si bien permiten la supervivencia del producto, causan un retraso en el desarrollo psicomotor y retraso mental del mismo.

Las alteraciones estructurales se pueden clasificar en translocaciones como intercambio de segmentos entre cromosomas que puede ser recíproca o no, inversiones, producida cuando un segmento cromosómico rota 180° sobre sí mismo y se coloca nuevamente en el cromosoma en forma invertida puede ser paracéntricas si el segmento no incluye el centrómero y pericéntricas si el centrómero queda incluido, deleción pérdida de un segmento de su estructura de material genético, que puede ser terminal o intercalar cuando la deleción ocurre en los dos extremos del cromosoma, la porción que porta el centrómero une sus extremos rotos y forma una estructura circular o cromosoma en anillo e inserciones (Aguinaga *et al.*, 2005).

Aproximadamente una de cada 625 personas es portadora de una translocación recíproca (Jacobs, 1997), el rearrreglo puede ocurrir como un evento de *novo* o puede ser transmitido por alguno de los padres

(Aguinaga *et al.*, 2005) o bien como producto de una nueva mutación producida en las células germinales (Cortés *et al.* 2008).

9.1. Alteraciones numéricas

Las alteraciones numéricas son de dos tipos: a) aneuploidías que corresponden a la pérdida o ganancia de uno o más cromosomas de un par homólogo y b) poliploidías que corresponden a la ganancia de un set cromosómico haploide completo, triploidías, tetraploidías etc. (Cortés, 2008).

Si los cambios en los cromosomas conducen a la presencia de un número que es múltiplo exacto del número haploide (Cortés, 2008) se habla de euploidía, pero, cuando sólo uno o algunos cromosomas están involucrados, a la alteración numérica se le denomina aneuploidía (Salamanca, 1993) (Tabla 2).

Tabla 2: Cambios en el número de cromosomas (Euploidías y Aneuploidías).

<i>Clase</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Conjuntos cromosómicos</i>
<i>Euploidías</i>		
Haploide	n	(ABCDEF)
Diploide	2n	(ABCDEF) (ABCDEF)
Triploide	3n	(ABCDEF) (ABCDEF) (ABCDEF)
Tetraploide	4n	(ABCDEF) (ABCDEF) (ABCDEF) (ABCDEF)
<i>Aneuploidías</i>		
Monosomía	2n - 1	(ABCDEF) (ABCDE)
Trisomía	2n + 1	(ABCDEF) (ABCDEF) (F)
Tetrasomía	2n + 2	(ABCDEF) (ABCDEF) (D) (D)
Doble trisomía	2n + 1 + 1	(ABCDEF) (ABCDEF) (BE)
Nulisómico	2n - 2	(ABCDE) (ABCDE)

Tomado de Salamanca 1993.

La reduplicación de uno o más cromosomas, se llama polisomía. Este tipo de aneuploidía se presenta porque uno de los cromosomas, junto con su homólogo, pasa al mismo polo de la célula o se incorpora al mismo gameto, una no separación cromosómica. Si el gameto que lleva

un cromosoma adicional se une a uno normal, originará un individuo trisómico ($2n + 1$). Cuando la fecundación implica la fusión de un gameto normal con uno al que le falta un cromosoma, se formara un sujeto monosómico ($2n - 1$) (Salamanca, 1993) (Figura 10). Las poliploidías no son tan importantes como causa de malformaciones en los recién nacidos, pero si repercuten en forma significativa en la reproducción humana.

Las aneuploidías son las más conocidas por sus repercusiones como origen de malformaciones congénitas al nacimiento. Se presentan como resultado no disyunción o por regazo de un cromosoma durante la anafase de la división celular.

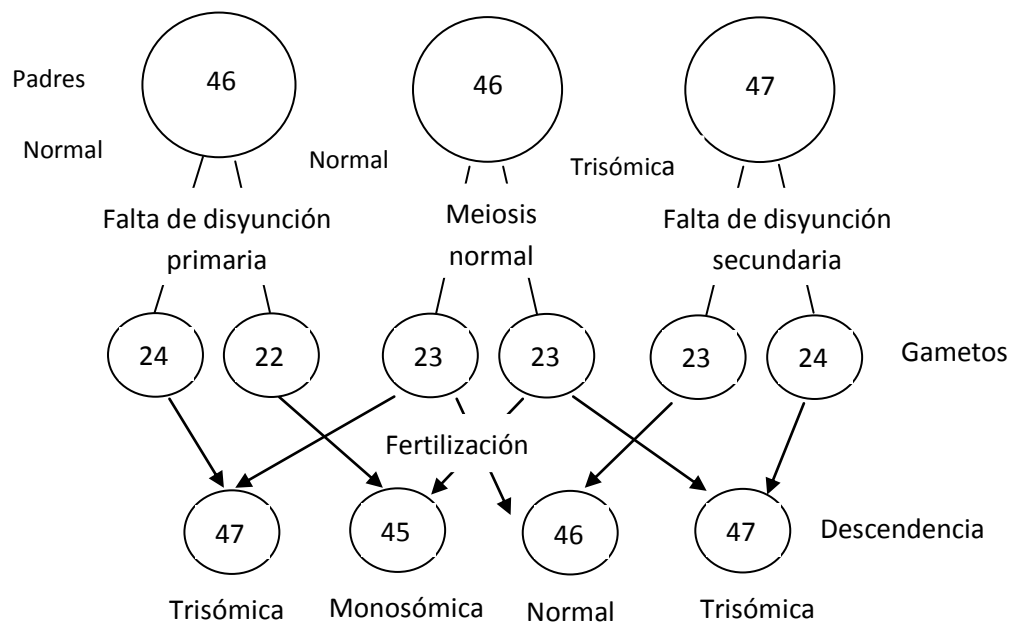


Figura 10. Aneuploidía por no separación o no disyunción cromosómica. Formación de sujetos trisómicos o monosómicos (Tomado de Salamanca 1993).

Fallas que pueden presentarse tanto en la meiosis como en la mitosis. Si afecta la meiosis, pueden ocurrir en la meiosis I o en la meiosis

II (Figura 11) y, por supuesto, en la espermatogénesis o en la ovogénesis (Salamanca, 1993).

Entre los seres humanos los sujetos aneuploides autosómico nacidos vivos son menos frecuentes que los aneuploides de los cromosomas sexuales, tal vez porque no existe un mecanismo de compensación de la dosis en los cromosomas autosómicos.

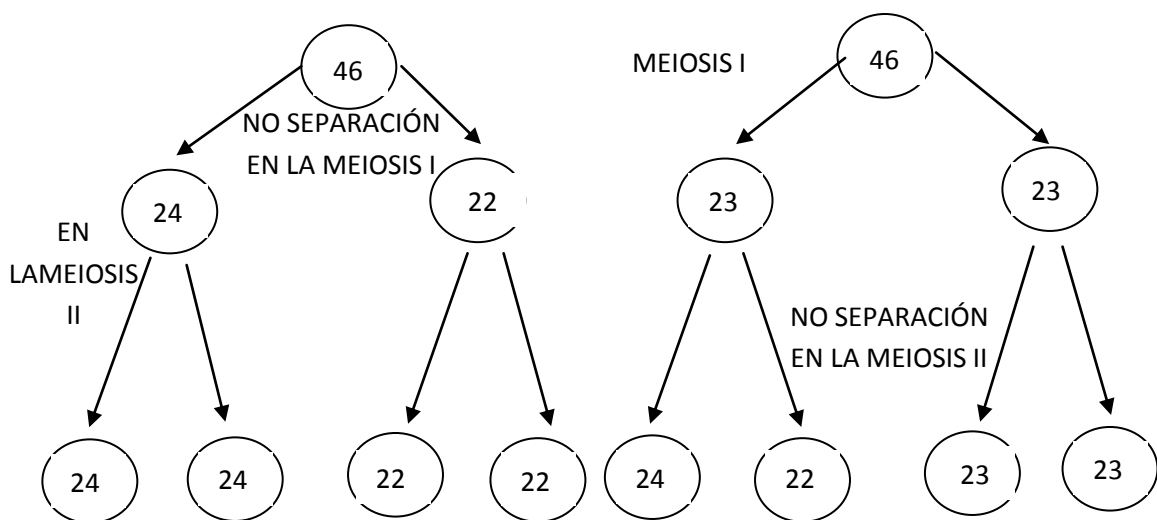


Figura 11: No separación cromosómica durante la primera o la segunda división de meiosis. En el primer caso, los cuatro gametos son anormales, mientras que, en el segundo, dos son normales y dos aneuploides (Tomado de Salamanca 1993).

Cuando la no separación cromosómica se produce en la mitosis temprana, después de la formación del cigoto (falla postcigótica), durante la formación de las primeras blastómeras, se originan los mosaicos (Figura 12). Sin embargo no todas las líneas celulares que se forman como resultado de la no separación cromosómica son viables.

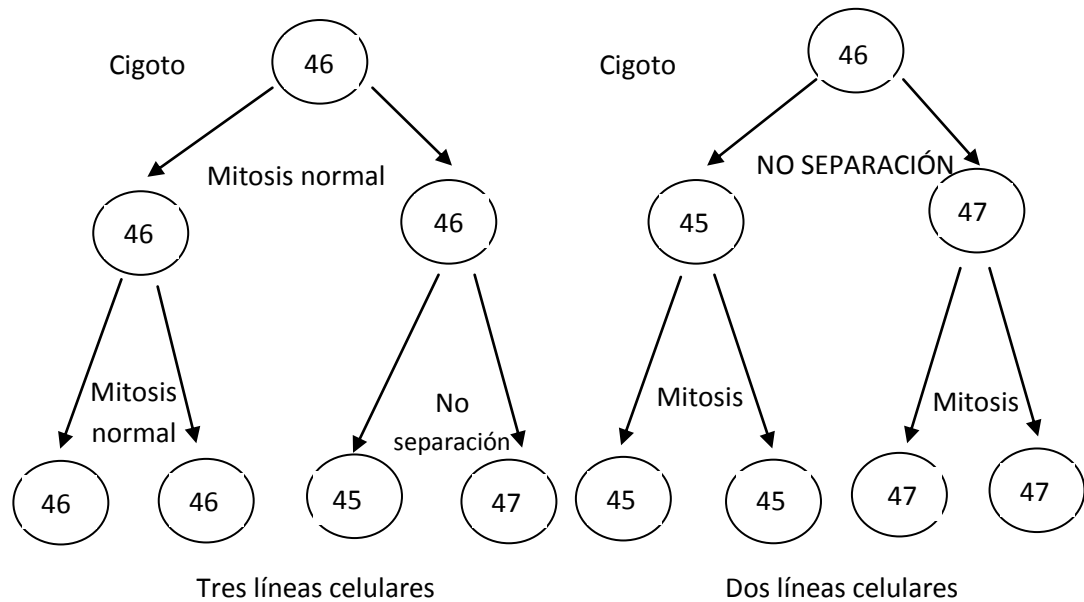


Figura 12: Origen de los mosaicos por no disyunción después de la formación del cigoto. En el primer caso se forman tres líneas celulares, siendo una de ellas normal, mientras que en el segundo ejemplo solo hay dos líneas, ambas anormales. El tipo y número de células aneuploides que se formen depende del momento en el que ocurra la no separación postcigótica (Tomado de Salamanca 1993).

Algunas de las alteraciones numéricas encontradas en el trabajo son las siguientes:

9.2. Trisomía 14

Esta anomalía cromosómica fue descrita por primera vez en 1970 y muchas características se han descrito desde entonces, algunas de ellas son, retardo del crecimiento, retraso psicomotor, nariz ancha, displasias y/o características dismórfico craneofaciales, tales como las orejas, enfermedad congénita cardíaca, micrognatia, tórax estrecho, paladar hendido o altamente arqueado, cuello corto y anomalías genitourinarias como micropene y criptorquidia. A pesar de que la trisomía 14 completa no es compatible con la vida postnatal, la trisomía 14 en mosaico ha sido diagnosticada en recién nacidos y niños con anomalías congénitas múltiples. Uno de los rasgos es la pigmentación anormal de la piel y hepatitis neonatal (Pellestor *et al.*, 2004).

9.4. Trisomía 15

Esta anomalía cuando se presenta en su totalidad suele ser letal, sin embargo cuando es de manera parcial puede ser compatible con la vida. Los embriones con casos totales de trisomía 15 son pequeños y presentan gran dimorfismo. La trisomía parcial del cromosoma 15 aunque es compatible con la vida posnatal y aunque no son muy comunes los casos, estos se asocian con retraso mental profundo, macrocefalia leve, y dimorfismos faciales y problemas cardíacos. Bennett asocia este evento a dos factores que pueden desempeñar un papel importante son: la reproducción asistida y la edad materna avanzada (Bennett *et al.*, 1992).

9.5. Trisomía 16

Esta anomalía es incompatible con la vida, las causas más comunes suelen ser un error en la división celular que afecta a los espermatozoides y huevo, presentan restricción del crecimiento, rasgos dismórficos, múltiples anomalías congénitas, defecto septal ventricular, hipospadias, ano imperforado, hernia inguinal y pie zambo atresia anal, defectos del corazón (Eggermann *et al.*, 2004).

9.6. Trisomía 18

Descrita por primera vez en 1960 por Edwards. La prevalencia al nacimiento de este trastorno es de aproximadamente 1 de cada 3,000 a 1 en 8,000 y la vida de la mayoría de los pacientes con esta enfermedad es menos de 1 año, se estima entre 2 a 3 meses para los varones y 10 meses para las mujeres. La mayoría fallece antes de los seis meses de edad. En cuanto a la proporción de sexos se espera ser igual sin embargo se estima que de 4 mujeres afectadas solo un varón lo presenta (Lin, *et al.*, 2006).

La mayoría de los individuos T18 adquirirá el síndrome como consecuencia de la no disyunción y rara vez se debe a la translocación. El cromosoma 18 extra es de origen materno en el 90% a 97% de los casos notificados y de origen paterno en el 3% a 10% de los casos reportados (Lin, *et al.*, 2006).

Esta anomalía es caracterizada por tener comprometido de manera grave el aparato sicomotor, presentar retraso del crecimiento, microcefalia, microftalmia, orejas malformadas (los pabellones auriculares dan un aspecto de “fauno”), micrognatia, anomalías urogenitales, defecto en el sistema esquelético y cardiaco (Metwalley *et al.*, 2009), más del 95% de los pacientes presentan malformaciones cardíacas congénitas, que son generalmente la causa de muerte, las más frecuentes son: comunicación intraventricular y coartación de la aorta. Otras anomalías reportadas del sistema nervioso central incluyen la anencefalia, tipo II de Arnold –Chiari, ampliada cisterna magna, los quistes del plexo coroideo, holoprosencefalia. El cuello es corto, con piel redundante; de igual manera el esternón es corto y presenta un reducido número de puntos de osificación. Habitualmente, hay diástasis de los rectos abdominales y hernia umbilical e inguinal. La estrechez de la pelvis es un hallazgo constante, lo mismo que la hipertonia generalizada y la sobre posición de los dedos, que facilita el diagnóstico clínico: el índice sobrepone al tercer dedo y el quinto lo hace sobre el cuarto dedo. El pie con mecedora con protrusión del calcáneo también es típico. Puede encontrarse sindáctila del segundo y tercer orjejo. El primer orjejo es corto y frecuentemente aparece la dorsiflexión o “en martillo”. Se puede encontrar ano imperforado, en las niñas, hay hipertrofia del clítoris e hipoplasia de los labios mayores, mientras que en los varones casi invariablemente hay criptorquidia.

Aunque es difícil de evaluar la gravedad del retraso mental por el fallecimiento temprano de los pacientes, está presente en 100% de los casos. Los recién nacidos son postmaduros, pero son de bajo peso. Es

frecuente encontrar riñón en herradura, hidronefrosis, megalouréter o doble uréter. Lo más significativo de los dermatoglifos es la frecuencia de arcos en las configuraciones en las crestas y surcos de los dedos. Así, Taylor en 153 pacientes encontró que el 79% era de sexo femenino y sólo el 21% de sexo masculino (Salamanca, 1993).

9.7. Trisomía 22

Presentan una incidencia de 1 en 30000-50000. Algunas de las características que presentan además del retraso grave del crecimiento y múltiples anomalías congénitas, como microcefalia hipertelorismo, orejas de implantación baja, labio y paladar hendido bilateral, micrognatia, microtia, marque preauricular, manos cerradas, criptorquidia e hipospadias penoescrotal, defectos complejos del corazón, insuficiencia renal (Mokate *et al.*, 2006).

9.8. Monosomía del X

En 1938, Henry Turner, describe un grupo de adolescentes con amenorrea primaria, infantilismo sexual y baja estatura. Los pacientes también presentaron cúbito valgo, cuello alado, pezones muy separados entre sí, línea de implantación baja posterior y linfedema de manos y pies. Cuatro años más tarde, Varney *et al.*, (1942) y Albright *et al.*, (1942), de forma independiente unos de otros, estudiaron a pacientes con signos clínicos similares a los descritos por Turner y demostraron que, después de la pubertad, presentaban un alto nivel de gonadotropinas urinarias, lo que se establece que hubo una anomalía de la función gonadal en lugar de una deficiencia hipotalámica o hipofisaria. realizaron análisis histológicos y observaron que los pacientes con los síntomas descritos anteriormente, probablemente tenían vestigio de gonadal, y que todos los autores estaban estudiando el mismo síndrome. Por ese tiempo se le dio

la denominación de “disgenesia gonadal”, con la que también se le conoce (Salamanca, 1993).

En Inglaterra Ford y *et al* realizaron la descripción del cariotipo 45,X (Salamanca, 1993).

El síndrome de Turner, es uno de los tipos más comunes de aneuploidía en los seres humanos, se presenta aproximadamente en 50 por cada 100 mujeres. El síndrome de Turner tiene una base genética, con características de participación de numerosas especialidades, tales como la embriología, pediatría, endocrinología, cardiología, oftalmología y la epidemiología (Gravholt, 2005).

La base genética para el fenotipo es muy variable. En el 50-60 % de los casos el cariotipo de una mujer con el síndrome de Turner es de 45,X, con ausencia total o parcial de un cromosoma sexual y, además, el mosaicismo con dos o más líneas celulares pueden estar presentes. Estadísticamente, se puede estimar que aproximadamente dos tercios de todos los pacientes Turner, deberían haber tenido el complemento 46,XX, y un tercio, el complemento 46,XY (Gravholt, 2005). Otras anomalías como las estructurales del cromosoma X, pueden ser isocromosomas del brazo largo, los cromosomas dicéntricos, delección del brazo corto o anillo de cromosomas, están presentes en aproximadamente el 30% de los casos. A alrededor del 5% tienen anomalías estructurales del cromosoma Y (isocromosomas del brazo largo y cromosomas dicéntricos) (Salamanca, 1993).

La denominación “Síndrome de Turner” es una caracterización clínica y no hay directrices claras, pero la mayoría coincide en el retraso del crecimiento en la talla, ésta es inferior a 1.50 m. A pesar de sus gónadas indiferenciadas, presentan genitales internos y externos claramente femeninos, sin embargo el útero es pequeño, ya que su desarrollo depende de estímulos hormonales. Otros signos que se

encuentran pueden incluir aurículas dismórficas con el eje longitudinal en posición oblicua, párpados sesgados antimongoloide, epicanto interno, paladar ojival, retrognatismo, pezones muy separados entre sí, esternón corto, malformaciones cardiovasculares (las más comunes son la coartación de la aorta y los defectos del tabique ventricular), malformaciones renales (como el riñón en herradura, la duplicación uretral y agenesia renal unilateral) e hipoplasia del quinto metacarpiano y los huesos metatarsianos (Figura 13).

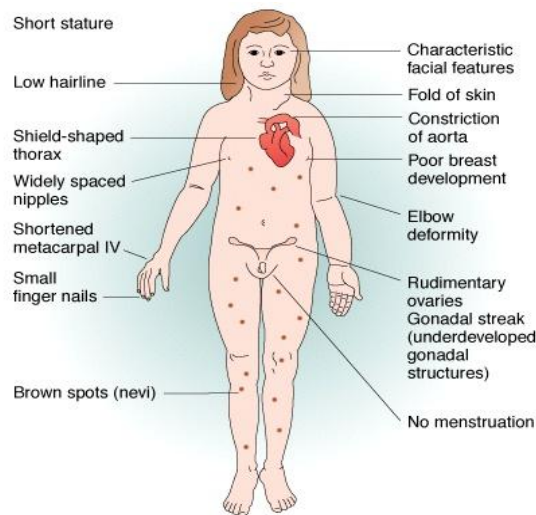


Figura 13: Los hallazgos fenotípicos de Síndrome de Turner, tomado de (Vogel y Motulsky, 1996.)

El crecimiento del pecho es mucho más lento que en los individuos normales. Dado que en las mujeres con disgenesia gonadal, los cambios endocrinos que son típicos de la pubertad no se producen son frecuentes los informes de la amenorrea primaria (Vogel y Motulsky 1996; Gravholt, 2005). La maduración ósea es casi normal hasta los 15 años, pero después hay retraso en el crecimiento de los huesos. (Salamanca, 1993).

10. ABORTO

En México, se considera aborto cuando la pérdida de la gestación ocurre hasta la semana 20 cuando el feto presenta un peso inferior a 500 gramos y es la patología más frecuente del embarazo (Wegner, 1995).

En el segundo y tercer trimestre, el 1.7% de los embarazos se pierde y son óbitos o muertes perinatales (nacidos muertos o muertes tempranas de neonatos) y el 83.3% conseguirán llegar al final de la gestación (nacidos vivos) (Sankaranarayanan, 1979).

Existen diferentes tipos de abortos denominados de acuerdo con los hallazgos clínicos y métodos diagnósticos aplicados. Éstos son: a) Anembriónicos, óvulo que es fertilizado y que luego de implantarse en la cavidad uterina, se desarrolla el saco gestacional, pero el embrión no se desarrolla o se degrada tempranamente por lo que en el ultrasonido no se observa embrión dentro de la cavidad lo que ha llevado al término “anembriónico” b) Huevo muerto y retenido (HMR) o Aborto diferido, se presenta cuando habiendo ocurrido la muerte del producto de la concepción (Díaz *et al.*, 1996), no se expulsa en forma espontánea, es retenido muerto dentro del útero durante varias semanas o meses (Pellicer, 2007).

10.1. Aborto espontáneo

El desarrollo embrionario es un proceso complejo que involucra una interacción equilibrada de los factores ambientales y genéticos (Zhang *et al.*, 2009).

Algunos de estos factores se han asociado a los abortos espontáneos, como la toxicidad química, enfermedades maternas, infecciones microbianas anatómica como un útero hipoplásico, septo, y trastornos endocrinos, que son potencialmente negativos y pueden afectar el desarrollo embrionario (García-Enguidanos *et al.*, 2002; Pandey *et al.*, 2005), sin embargo, los factores genéticos juegan el papel más importante en las patologías del embarazo, especialmente durante las

primeras semanas del desarrollo (Pellestor *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2009).

El desbalance cromosómico se detecta en aproximadamente 0.3% de todos los recién nacidos, en 4% de los óbitos y en el 50 a 60% de los abortos del primer trimestre (Borgaonkar, 1994; Hassold *et al.*, 1996).

La incidencia de abortos espontáneos en el primer trimestre es difícil de determinar debido a que el embarazo se pierde antes que se reconozca clínicamente (Lathi *et al.*, 2007). En años anteriores se hacía mención de que aproximadamente el 10% de estos embarazos, terminan en un aborto involuntario (Regan, 1988), o bien del 10% al 15% (Katz y Kuller, 1994; ACOG, 2001; Schreck y Silverman, 2002; Gardner y Sutherland, 2004; Harper, 2004), o como lo cita Hogge *et al.*, 2003, donde refiere que entre el 15% y 20% de los embarazos reconocidos clínicamente terminan en aborto involuntario, llamado así porque se produce antes de que finalice el primer trimestre (Boué *et al.*, 1975; Warburton *et al.*, 1980; Hassold, 1986; Lee y Silver 2000; Badovinac *et al.*, 2002; Werren y Silver 2008; *et al.*, 2007). La mayoría de abortos espontáneos reconocidos clínicamente se producen entre 7 y 11 semanas de gestación. Sin embargo, se ha planteado que la mayoría de los abortos se pierden incluso antes de que el embarazo sea clínicamente reconocido como ya se ha mencionado. Pérdidas que probablemente se deban a problemas en la división celular o fracaso de la implantación del embrión durante su desarrollo (Menten *et al.*, 2009).

De estos casos reconocidos clínicamente, se estima que del 50 al 80% de estos abortos se debe a la aneuploidía embrionaria (Warburton y Fraser 1964; Hassold *et al.*, 1980; Kaji *et al.*, 1980; Boué *et al.*, 1985; Hassold, 1986; Gueneri *et al.*, 1987; Eiben *et al.*, 1990; Ohno *et al.*, 1991; Kalousek y Lau, 1992; Strom CM *et al.*, 1992; Minelli *et al.*, 1993; Bessho *et al.*, 1995; Schmidt-Sarosi *et al.*, 1998; Ogasawara *et al.*, 2000; Hogge

et al., 2003; Spandorfer *et al.*, 2004; Aguinaga 2005; Lebedev, 2006; Lathi *et al.*, 2007; Stephenson y Kutteh, 2007; Cortés, 2008).

Aunque muchas teorías se han propuesto, las causas exactas de las concepciones aneuploides en los seres humanos siguen siendo poco claras (Hassold *et al.*, 1996; Robinson *et al.*, 2001; Cohen, 2002).

Más del 90% de las anomalías cromosómicas son numéricas (Boué *et al.*, 1985; Eiben *et al.*, 1990; Ohno *et al.*, 1991) que incluyen trisomías, monosomías y poliploidías. Anomalías estructurales, mosaicismo y mutación de un solo gen, representan menos del 10% (Hassold *et al.*, 1980; Goddijn y Leschot 2000; Hogge *et al.*, 2003; Nagaishi *et al.*, 2004; Benkhalifa *et al.*, 2005; Menasha *et al.*, 2005).

Esta correlación entre las anormalidades cromosómicas y los abortos espontáneos se ha observado desde los años 60s. Correlación que se fortaleció en los años 70s cuando Boué *et al.*, (1975), publicaron uno de los primeros grandes estudios citogenéticos. En el estudio casi 1500 muestras de tejido fetal fueron estudiadas citogenéticamente encontrándose una tasa de alteración del más del 60%. A mediados de los años 80s surgió un cambio en las técnicas de citogenética, ya que comenzaron a surgir en la literatura estudios que utilizaban vellosidades coriales de los productos de aborto (Menasha *et al.*, 2005).

La distribución de las anormalidades cromosómicas de estos estudios son las siguientes: las trisomías, triploidías, monosomía del X, aneuploidías múltiples, anormalidades estructurales, tetraploidías y monosomías autosómicas (principalmente la monosomía del cromosoma 21) estas explican aproximadamente 64%, 11%, 10%, 6%, 4%, 4% y 1% de todas las anormalidades respectivamente (Menasha *et al.*, 2005).

Se sabe que la monosomía del X es responsable de aproximadamente el 15% a 20% de los abortos cromosómicamente

anormales. Basados en la revisión de los estudios más recientes, la incidencia de la monosomía del X parece ser comparable con la proporción de triploidías, cada una con alrededor del 10%. Los cromosomas que con mayor frecuencia están involucrados en las aneuploidías múltiples son 7, 14, 15, 16, 21 y 22 (Boué *et al.*, 1975; Hassold *et al.*, 1980; Kaji *et al.*, 1980; Warburton *et al.*, 1964; Hassold y Chiu 1985; Linn *et al.*, 1985; Dejmek *et al.*, 1992).

Las trisomías más comunes son la 16, como lo menciona Ruth (en un estudio realizado en una población de 272 muestras de aborto, encontró que las trisomías autosómicas son las de mayor prevalencia siendo la más común la trisomía 16), la 22 y la 15 según lo describen trabajos recientes como el de Zhang *et al.*, (2009), de un total de 115 casos de abortos espontáneos del primer trimestre.

Los cromosomas de poca frecuencia (1 y 19) son los que provocan los abortos tempranos que no se detectan o que no logran establecer un embarazo viable. La trisomía 1 solo se ha descrito dos veces en la literatura y la trisomía 19 se ha descrito una vez utilizando técnicas de citogenética molecular (Hanna *et al.*, 1997; Dunn *et al.*, 2001). Se sabe que en el cromosoma 19 existe gran cantidad de genes críticos que requieren de una dosificación exacta para el desarrollo normal (Menasha *et al.*, 2005).

Se puede decir entonces que de las anomalías cromosómicas numéricas, las más frecuentes son: las trisomías (26.7%), seguidas de las aneuploidías sexuales (9.4%), las triploidías (8.2%) y las tetraploidías (2.8%). La incidencia de anomalías cromosómicas en abortos disminuye a medida que aumenta el tiempo de gestación (Boué *et al.*, 1985).

10.2. Aborto recurrente

Los pacientes a menudo se preocupan no solo por la causa del aborto espontáneo, sino también por el riesgo de recurrencia y se le da ese nombre cuando una pareja tiene tres o más pérdidas de embarazos consecutivas o no consecutivas (Bick *et al.*, 1998), reconocidas clínicamente, que ocurren antes de la viabilidad fetal, (Laurino *et al.*, 2005; Stephenson y Kutteh 2007).

Aunque no se muestra de manera uniforme en todos los estudios, algunos autores han encontrado que las mujeres que abortan embriones genéticamente normales tienen mayores tasas de recurrencia que aquellas que abortan embriones aneuploides (Ogasawara *et al.*, 2000; Carp *et al.*, 2001; Hogge *et al.*, 2003).

Esta incidencia varía dependiendo de si la pérdida del embarazo se define como dos o tres pérdidas en el primer trimestre y si ha habido un hijo nacido vivo (Roman, 1984). De las mujeres abortivas alrededor de 0.53% tienen una historia de aborto recurrente (Katz y Kuller, 1994; ACOG, 2001; Bricker y Farquharson, 2002). En aproximadamente el 50% de las parejas con aborto recurrente, la etiología sigue siendo desconocida a pesar de una evaluación exhaustiva, y se clasifica como idiopática (ACOG, 2001). Se estima que las parejas con aborto recurrente idiopático puede tener hasta un 75% de probabilidad de tener un embarazo exitoso. Campana *et al.*, (1986), reportaron que el 5% de las parejas con abortos espontáneos recurrentes presentaban translocaciones balanceadas ya sea recíprocas o robertsonianas, 2% con inversiones paracéntricas del cromosoma 9, y el 1% tenían aberraciones cromosómicas de otro tipo. Tharapel *et al.*, (1985) describió mayor prevalencia de anomalías cromosómicas (2.9%), que corresponde a 5 ó 6 veces mayor que la de la población adulta en general. Fryns y

Buggenhout (1998) observaron aberraciones cromosómicas del 6.36% y entre 5-7% en sus dos estudios.

11. EDAD MATERNA

La evidencia epidemiológica muestra un incremento pronunciado en la proporción de abortos esporádicos en las mujeres de 36 años o más (Cowchock *et al.*, 1993; Smith y Buyalos, 1996; Nybo *et al.*, 2000; Bricker y Farquharson, 2002; De la Rochebrochard y Thonneau, 2002; Gardner y Sutherland, 2004; Harper, 2004).

Este riesgo relacionado con la edad se debe a un mayor número de aneuploidías, principalmente trisomías (Hassold y Chiu, 1985; Kratzer *et al.*, 1992; Hassold y Hunt, 2001; Robinson *et al.*, 2001). Las mujeres con abortos repetidos y edad menor o igual a 36 años tienden a tener una reducida frecuencia de abortos euploides (Stephenson *et al.*, 2002; Goddijn *et al.*, 2004).

Sin embargo en estudios recientes como el de Gianaroli *et al.*, (2005), apoyan el hecho de que cada evento de aneuploidia no depende de una variable específica como la edad materna, aunque sea un factor indiscutiblemente ligado a la aneuploidía.

Los estudios con gametos masculinos y femeninos han demostrado que en la ovogénesis la probabilidad de tener errores durante la separación, por las fibras cinetocóricas del huso, después del intercambio entre los homólogos, es mayor en comparación al proceso de espermatogénesis (Gianaroli *et al.*, 2005), como resultado de la detención prolongada en la fase de diploteno, proceso que comienza durante la vida fetal y se completa sólo después de la ovulación. Se ha propuesto que el punto de control del ensamblaje del huso que regula la transición de la metafase I, a la anafase I, es más permisiva en la ovogénesis que en la espermatogénesis, ya que en la espermatogénesis se bloquea

cuando existe un error en la alineación, mientras que en la ovogénesis continúa con la obtención de gametos aneuploides (Hassold y Hunt, 2001).

Datos de embarazos clínicos han documentado que entre la meiosis I y la meiosis II varían los errores en función de los diferentes cromosomas, aunque en la meiosis I materna, predominan altamente los errores, siendo la mayoría de ellas trisomías (Hassold *et al.*, 2007). Esto podría atribuirse a los tiempos de lo ya mencionado y peculiar modalidad de meiosis femenina, en la que la primera división meiótica implica la segregación cromosómica homóloga en lugar de cromátidas hermanas como en la meiosis II (Hassold y Hunt, 2001).

En este contexto, el efecto de la edad materna consistiría en una degeneración o degradación de ciertos factores celulares necesarios para la formación y funcionamiento del huso mitótico. La edad materna afectaría la capacidad del ovocito para formar un huso operativo y ello favorecería la no-disyunción de los cromosomas homólogos que no poseyeran quiasmas o estos quiasmas estuvieran en posición distal (Franck, 2004).

Entre las proteínas implicadas encargadas de los movimientos de los cromosomas en el huso meiótico, se encuentra la cohesina. Su función es mantener a los cromosomas homólogos apareados y por lo tanto el balance en contra de las fuerzas de atracción ejercida por los microtúbulos, a través de los cinetocoros de los cromosomas. Este equilibrio se rompe durante la anafase por lisis, bajo la acción de la cohesina del promotor del complejo de la anafase, originándose así la señal de segregación de los cromosomas. La acción de la cohesina tiene lugar en los centrómeros, pero también en muchos sitios a lo largo de los brazos cromosómicos, causando una degradación parcial o prematura

siendo responsable de la separación de las cromátides hermanas (Burke y Stukenberg, 2008).

Esta relación de proteínas está vinculada con el hecho de que los ovocitos tienen la misma edad que la de la mujer. Las mujeres al nacer tienen todos los ovocitos de los que van a disponer a lo largo de su vida reproductiva, por lo que conforme vaya aumentando la edad de esa mujer, también aumentará la edad de sus ovocitos. Los ovocitos primarios pueden permanecer suspendidos en diploteno durante muchos años antes de que ocurra la ovulación y comience nuevamente la meiosis. Los componentes del huso y otras estructuras requeridas en la segregación cromosómica pueden alterarse en el tiempo de detención prolongada de la meiosis, lo que conduce a una aneuploidía en niños nacidos de madres mayores. En el caso de los varones no se presenta este problema, debido a que los espermatozoides se generan de forma continua desde la pubertad, sin suspensiones prolongadas de las divisiones meióticas. Sin embargo sí influye la mala calidad espermática de los varones, independientemente de la edad de éstos (Levron *et al.*, 2001).

Las no-disyunciones cromosómicas que dependen de la edad materna afectan al conjunto de cromosomas, siendo las más representativas las trisomías de los cromosomas 13, 15, 16, 18 y 21, para las cuales predomina el origen materno del cromosoma extra, 93% en la trisomía 18 y trisomía 21 y 100% en la trisomía 16 (Hassold y Hunt 2001).

Kuliev y Verlinsky (2004) realizaron un estudio en más de 8000 ovocitos estudiados al analizar los cuerpos polares I y II, con sondas de los cromosomas 13, 16, 18, 21 y 22, demostrando que el 50% de los ovocitos provenientes de mujeres mayor a 35 años tenían aneuploidías cromosómicas; de ellas el 42% correspondían a errores en la meiosis I, 37% a errores en la meiosis II y 29% a errores en ambas meiosis. Un hecho sorprendente al estudiar a los embriones derivados de los ovocitos,

mediante el análisis de uno o varios blastómeros, fue que uno de cada tres errores secuenciales que condujeron al rescate de la pseudo euploidía, originando embriones anormalmente caóticos.

La probabilidad de tener un hijo afectado con aneuploidía, según la edad de la madre, se muestra en la siguiente tabla 3.

Edad materna	Probabilidad de aneuploidía
30	0.26%
35	0.57%
40	1.59%
45	5.26%

Tabla 3: Muestra el porcentaje de riesgo en abortos espontáneos del primer trimestre en relación a la edad materna.

Aunque el mecanismo por el cual el factor edad puede llevar a cambios, aún no se conoce, las causas subyacentes del proceso de envejecimiento, que implica aumento de los errores en la maquinaria mitótica de las células en división que originan anomalías cromosómicas (Ly *et al.*, 2000).

IV. JUSTIFICACIÓN

El 15% de las gestaciones terminan en un aborto espontáneo durante el primer trimestre, de éstos, cerca del 50% cursan con alguna anomalía cromosómica que explica la pérdida.

A pesar de la alta frecuencia de aneuploidías en los abortos espontáneos, se sabe muy poco acerca de los mecanismos involucrados en su origen. Hasta la fecha, el único factor de riesgo claramente reconocido es la edad materna, por lo que el estudio citogenético de los abortos espontáneos sigue siendo un campo de investigación abierto, en el cual diversas líneas de investigación convergen.

En México no existen publicaciones de estudios citogenéticos en abortos espontáneos del primer trimestre, por lo que consideramos importante abrir esta línea de investigación tanto para conocer la prevalencia de las diversas cromosopatías en abortos en nuestra población del INPer, buscando factores asociados que pudiesen ser de utilidad en el manejo clínico de las pacientes.

V. HIPÓTESIS

Entre el 50% y 70% de los abortos espontáneos cursan con alguna anomalía cromosómica. Es posible que en los casos de cromosomopatías se observe un patrón de cromosomas mayormente involucrados con la edad materna, la edad gestacional y número de abortos previos, en las vellosidades coriales.

VI. OBJETIVO GENERAL

Estudiar citogenéticamente una muestra de vellosidades coriales, obtenidas de los abortos espontáneos, de pacientes atendidas en el INPer y relacionar los resultados con factores como edad materna, edad gestacional y número de abortos previos.

VII. OBJETIVOS PARTICULARES

Analizar la frecuencia y tipo de alteraciones cromosómicas en pérdidas espontáneas del primer trimestre.

Correlacionar las características de las pérdidas del primer trimestre, como edad gestacional, antecedente de aborto, y edad materna.

VIII. METODOS

1. VARIABLES A ESTUDIAR:

Edad materna, edad gestacional por fecha de la última menstruación (FUM) y por ultra sonido (US), edad materna, diagnóstico clínico del aborto (HMR, espontáneo, anembrionario) y número de abortos previos.

El estudio se realizó durante un año, se incluyeron todas las pérdidas de la gestación de primer trimestre (menores o igual a 14 semanas de gestación (SDG), que contaron con tejido viable (células vivas).

2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Muestras de aborto que presentaron más de 24 horas de haber sido obtenidas, así como las muestras congeladas y los tejidos fijados en formol.

3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Se eliminaron las muestras cuyo diagnóstico fue el de un aborto provocado.

4. OBTENCIÓN Y SELECCIÓN DE MUESTRA

Durante un año se procesaron todas las muestras de aborto del primer trimestre, que cumplieran con los criterios de aceptación, cada una fue estrictamente procesada en el laboratorio de citogenética del Instituto nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, ubicado en la ciudad de México. El objetivo principal dentro del laboratorio fue la obtención de vellosidades coriónicas.

Unidad de tococirugía.

1. Las muestras del aspirado o el legrado se colectaron en recipientes de plástico estériles de 100 ml con tapa de rosca, con solución fisiológica suficiente para cubrir todo el tejido.
2. Los recipientes fueron rotulados y conservados en el refrigerador a 4°C evitando la congelación, por un tiempo no mayor a 48 horas, tiempo en el que se trasladaron al laboratorio de citogenética, evitando cualquier cambio extremo de temperatura y pH.

Una vez en el laboratorio de citogenética.

La muestra se procesó dentro del cuarto de cultivo, en condiciones asépticas.

3. Se realizó una selección del tejido con ayuda de un microscopio Carl Zeiss (MODELO) estereoscópico, para obtener las vellosidades coriónicas.
4. El tejido seleccionado se colocó en una caja Petri, con medio de cultivo RPMI (RPMI medium 1640, Gibco), suplementado con suero fetal de bovino (20 ml/100 ml de medio), 2.5 µg/ml de anfotericina B (20 ml Gibco 15290 USA) y 50 µg/ml, penicilina-estreptomicina 100 UI/ml (100 ml Gibco 15070 procedencia USA), suficiente para cubrir las vellosidades coriónicas
5. Durante 24 horas se almaceno en la incubadora de CO₂ (Forma Scientific modelo 3110), con el fin de eliminar bacterias.
6. El resto del tejido no utilizado se fijó en formol al 10% y se llevó al departamento de patología

Posteriormente se inició con el cultivo primario por la técnica de explante. Que consiste en cortar finamente con un bisturí estéril (Hergom), un fragmento del tejido de por lo menos 0.5 mm³.

Al dividir las células, se liberan factores de crecimiento que inducen a las células intactas a dividirse.

4.1. SIEMBRA

1. Con ayuda de una pipeta se transportaron de seis a ocho fragmentos del tejido a cada frasco de cultivo (Corning 3055) de 25 ml, distribuyendo homogéneamente sobre la superficie de crecimiento. Adicionando lentamente, tres mililitros de medio de cultivo RPMI suplementado con suero fetal de bovino (100 ml marca Gibco cat 10082, procedencia USA) y L-glutamina (0.7 ml/100 ml medio) (100 ml marca Gibco cat 25030, procedencia USA) y se incubaron a temperatura de 37° C, 5% CO₂, y 97% de humedad (Nagaishi *et al.*, 2004).
2. El cultivo no se movió hasta tres o cuatro días después.
3. El medio se cambio dos veces por semana durante el tiempo que se mantuvo el cultivo, hasta que 2/3 partes del fondo del frasco quedaran cubiertas por colonias. Con cada cambio del medio, el cultivo se analizó con el microscopio invertido examinado la vitalidad de las células o una posible contaminación.
4. Al detectar crecimiento celular (proceso que duró de tres a 14 días), se agregaron tres mililitros de medio fresco.

Tras obtener el cultivo primario se procedió a subcultivar.

4.2. SUBCULTIVO

1. El medio viejo se decanto o retiró con pipeta Pasteur, las células se lavaron con solución amortiguadora PBS o solución salina balanceada de Hanks' HBSS 1X (Irvine Scientific) a 37°C.

Las células que se cultivan por tripsinización se siembran en el número de cajas que se requieran según las necesidades; en nuestro caso se emplearon seis por cada muestra. La solución de tripsina-EDTA

induce el levantamiento de la monocapa. La enzima proteolítica tripsina acaba con las proteínas adhesivas de la célula y el EDTA se une a iones positivos.

2. Concluido el lavado, se agregó un mililitro de solución de tripsina-EDTA 1X (Sigma) precalentada a 37° C, para inducir la separación de las células de la superficie de crecimiento (en ocasiones fue necesario acelerar el efecto de la enzima colocando el frasco en la incubadora por tiempos cortos).
3. El cultivo se observó bajo el microscopio invertido; cuando las células comenzaron a desprenderse, se agitó el frasco de cultivo suavemente. Cuando se observó células flotar libremente, se agregó medio (RPMI Medium 1640, Gibco) suplementado con suero fetal

Las proteínas del suero del medio, tienen la capacidad de inhibir el efecto de la tripsina

4. Las células desprendidas junto con el medio se colocaron en tubos cónicos especiales (Corning 430053) y se centrifugó (Refrigerada Beckman) a 1000 rpm durante 10 minutos, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular en suficiente medio para preparar de 4 a 6 laminillas (cubreobjetos de 22 mm X 22 mm (Corning) estériles), colocadas dentro de cajas Petri de 35 mm (Corning).
5. Disponiendo aproximadamente de 0.5 a 0.7 ml. de suspensión celular en cada caja Petri tratando de confinar la suspensión al cubreobjetos.

Cuando las células se desarrollaron en el cubreobjetos y se observo (con el microscopio invertido), una cantidad suficiente de metafases, se procedió a la cosecha.

4.3. COSECHA

1. Se agregó una gota de Colcemida (5 μ l/ml) (KaryoMAX Colcemid Solution, Gibco BRL) con una jeringa con aguja calibre 25G, se mezcló ligeramente y se incubó la caja durante 15 minutos.
2. Posteriormente se eliminó todo el medio por un borde de la caja con ayuda de una pipeta Pasteur conectada a una bomba de vacío; manteniendo la caja en posición horizontal.
3. Inmediatamente se agregó (lentamente por el borde de la caja), 3 ml de solución hipotónica de citrato de sodio (tri-sodio citrato 2-hidrato, Merck) al 0.8%, precalentada a 37° C. Dejando reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos.
4. Consecutivamente se agregó un volumen igual de fijador metanol (Merck): ácido acético (Merck), proporción 5:2, recién preparado y frío, dejando reposar durante 10 minutos. Estos dos últimos pasos se repitieron a, 20 minutos y nuevamente 10 minutos.
5. Al término de este tiempo se eliminó el fijador por completo secando el cubreobjetos con un flujo de aire de una bomba de acuario, se levanto el cubreobjetos de la caja y se rotulo por la parte trasera con un plumón de tinta permanente, las laminillas se colocaron en la estufa (marca) a 60° C para su secado durante 24 horas.

4.4. TÉCNICAS EN BANDAS GTG

Poco antes de realizar la tinción de bandas GTG, se retiraron las laminillas de la estufa para que se enfriaran.

1. Las laminillas se sumergieron en una solución de tripsina al 4% (Gibco) en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 (Gurr) más 9 g de NaCl (Sigma) (Solución madre 0.312 g en 50 ml de agua destilada), durante dos minutos y medio aproximadamente,
2. Pasado este tiempo, se lavaron las laminillas en una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 (Gurr) más 9 g de NaCl (Sigma)

3. Posteriormente se sumergieron las laminillas durante tres minutos en una solución de Wright al 5% (HyCel de México, S.A. de C.V.) diluida en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 (Gurr).

4. Al término, se sumergieron las laminillas durante tres minutos en una solución de Giemsa al 6% (Gurr Microscopy Materials) diluida en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 (Gurr).

5. Pasado el tiempo se realizó un lavado con agua corriente y se dejó secar

6. Una vez seca la laminilla se observaron al microscopio algunas metafases, con el objetivo de inmersión 100X, determinando la calidad del bandeo. De acuerdo a lo analizado, se estableció el tiempo adecuado de tripsina para el resto de las preparaciones cromosómicas (Holmgren y Lacoursiere, 2008). El patrón de bandas es específico para cada cromosoma (Harper, 2006; Holmgren y Lacoursiere, 2008).

4.5. ANÁLISIS EN EL MICROSCOPIO

Las preparaciones cromosómicas se analizaron al microscopio óptico (Carl Zeiss K7) con el objetivo 100X, por cada caso se analizaron 15 metafases (Figura 12).

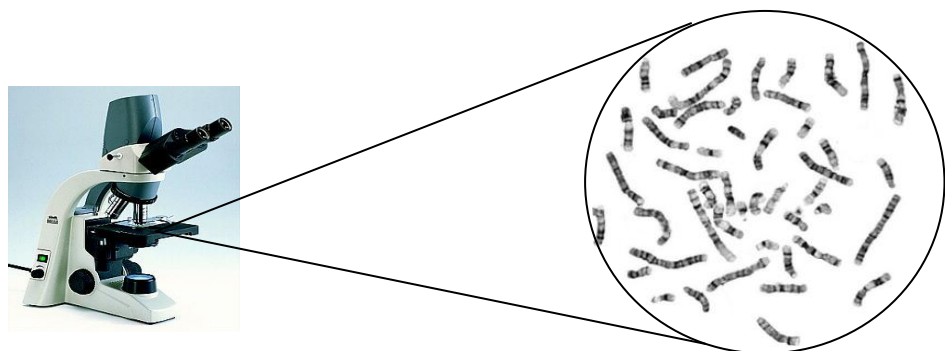


Fig. 12: Microscopio óptico (lado derecho), metafase en una preparación cromosómica (lado izquierdo) (Tomado de Jorde, *et al.*, 2000).

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

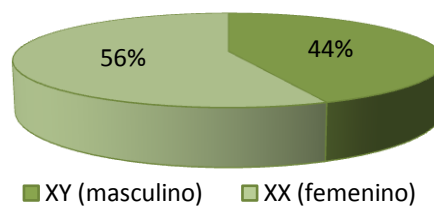
Se dicotomizaron los datos para resumirlos en tablas de contingencia de 2x2, expresando el número de casos y la proporción del total. Las proporciones se compararon con pruebas estadísticas para variables dicotómicas: chi cuadrada, y en caso necesario, prueba exacta de Fisher, siendo significativo al obtener una $P \leq .05$.

IX. RESULTADOS

Durante un año comprendido del 1° de Marzo del 2008 al 28 de Febrero del 2009, se recibieron ochenta y dos muestras de aborto del primer trimestre, las muestras de vellosidades coriales obtenidas de los abortos, fueron procesadas en el laboratorio de Genética, segundo piso de la torre de investigación del INPer, ubicado en la Ciudad de México.

De un total de ochenta y dos muestras, el 37.8% (31/82) no se obtuvo éxito en el cultivo y 62.2% (51/82) tuvieron suficiente desarrollo para permitir el estudio citogenético, por lo que el análisis se basa en los 51 casos con resultado, de los cuales el 65% (33/51) resultó con un cariotipo normal. Respecto al sexo de los abortos en este grupo, el 44% presento cariotipo 46,XY y el 56% con cariotipo 46,XX, (Grafica 1).

Grafica1: Representación respecto al sexo embrionario-fetal de abortos espontáneos del primer trimestre



Respecto a la edad gestacional al momento del aborto, el producto de menor SDG fue de cuatro y 14 el de mayor SDG, la población mostró una media de $9 \pm .32$ (Tabla 4).

Tabla: 4: Semanas de gestación casos y porcentajes con respecto a las anomalías.

SDG	TOTAL		CON ANOMALÍA CROMOSÓMICA	
	CASOS	(%)	CASOS	(%)
4-7	16	(31.4)	8	(50)
8-11	31	(60.8)	8	(25.8)
12-14	4	(7.8)	2	(50)

La relación de edad materna, la madre más joven presentó 18 años, mientras que la madre de mayor edad fue de 42 años, la media fue de 30.8 ± 3.1 (Tabla 5).

Tabla 5: Relación de casos y porcentajes de edad materna con respecto a las anomalías.

EM	TOTAL (%)		CON ANOMALÍA CROMOSÓMICA	
	CASOS	(%)	CASOS	(%)
18-22	5	(9.8)	1	(2)
23-27	9	(17.6)	3	(5.9)
28-32	15	(29.4)	7	(13.7)
33-37	14	(27.5)	5	(9.8)
38-42	8	(15.7)	2	(3.9)

El número de abortos que presentaron las pacientes, fue de uno a seis, la media fue de 2 ± 1.8 abortos (Tabla 6).

Tabla 6: Relación de casos y porcentajes del número de abortos c anomalías.

# ABORTOS	TOTAL (%)		CON ANOMALÍA CROMOSÓMICA	
	CASOS	(%)	CASOS	(%)
I	20	(39.2)	5	(25)
VARIOS	31	(60.8)	13	(41.9)

Los diferentes diagnósticos clínicos fueron: Anembrionico, HMR y espontáneo (Tabla 7).

Tabla 7: Relación de casos y porcentajes de la descripción clínica con las anomalías.

TIPO DE ABORTO	TOTAL		CON ANOMALÍA CROMOSÓMICA	
	CASOS	(%)	CASOS	(%)
ANEMBRIONICO	9	(18)	2	(4)
ESPONTÁNEEO	17	(33)	4	(7.8)
HMR	25	(49)	12	(23.5)

El 35% (18/51) de los casos, el cariotipo presento algún tipo de anomalía numérica, ninguna de tipo estructural. Las anomalías encontradas fueron las siguientes: Trisomías, Monosomías del cromosoma X, Poliploidías (Figura 15) y Doble aneuploidía (Tabla 8).

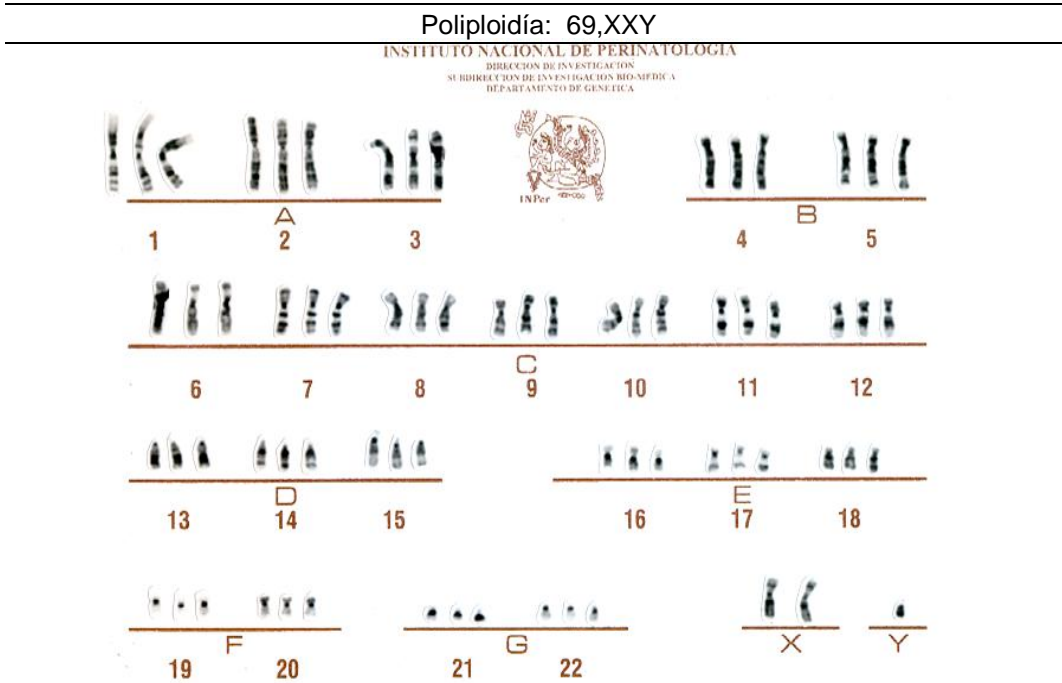


Figura 13 : Cortesia del laboratorio de citogenética INPer.

Tabla 8: Anormalidades cromosómicas numéricas detectadas en los abortos espontáneos del primer trimestre.

Anomalía cromosómica*	N. de casos anormales	%	% Total
Trisomía			
+14	1	5.5	38.9
+15	1	5.5	
+16	1	5.5	
+18	2	11.1	
+22	2	11.1	
Monosomía			
45,X	5	27.8	27.8
Poliploidía			
69,XXY	2	11.1	27.8
92,XXXX	2	11.1	
92,XXYY	1	5.5	
Doble anomalía			
70,XXY,+16	1	5.5	5.5
Total: 18			

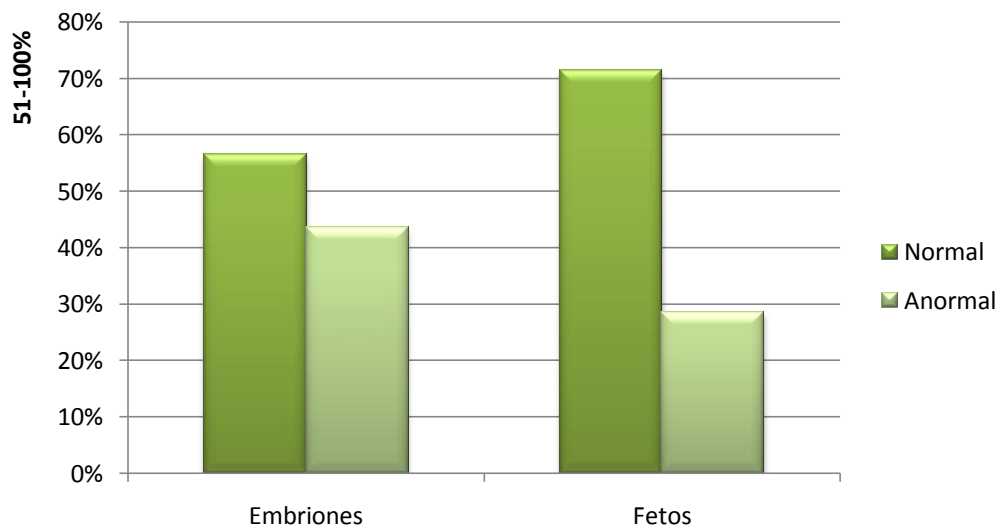
*ISCN, 2005

El Análisis de la comparación de las variables entre sí fue el siguiente:

Para saber que se presentan más si fetos o embriones de los abortos, la población se dividió en dos grupos, embriones (menores a 9 SDG) y fetos (Mayores a 9 SDG).

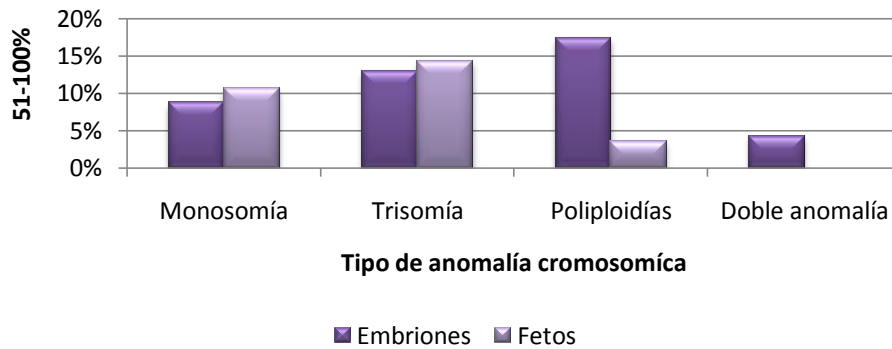
De los 51 casos, el 45% (23/51) correspondieron a embriones y de ellos, 43.5% (10/23) presentaron alguna cromosomopatía mientras que en el grupo de fetos, represento el 55% (28/51) donde el 28.6% (8/28) fueron cromosómicamente anormales (Gráfica 2)

Gráfica 2: Semanas de gestación en relación con el cariotipo cromosómico.



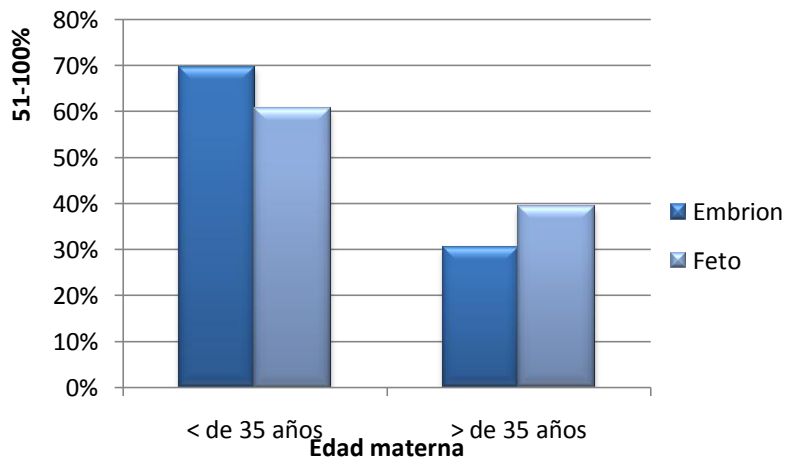
Encontrando mayor porcentaje de fetos abortados (55%), destacando las anomalías en embriones (43.5%), con mayor incidencia en las poliploidías con el 17.4% (4/23) (Gráfica 3).

Grafica 3: Semanas de gestación en relación con el cariotipo cromosómico anormal.



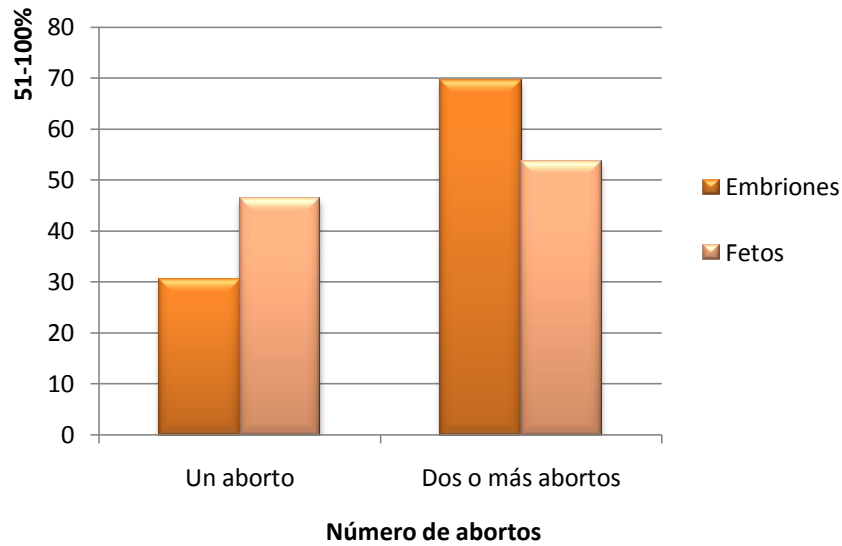
En relación a las SDG y EM, los 51 casos se dividieron en dos grupos; primer grupo, de madres jóvenes menores de 35 años, segundo grupo, madres cuya edad era igual o mayor a 35 años. El mayor número de abortos 64.7% (33/51) se observó en el grupo de mujeres menores de 35 años, siendo aún mayor el porcentaje cuando se trataba de embriones (16/23; 69.6%) (Gráfica 4).

Gráfica 4: Relación de semanas de gestación con la edad materna.



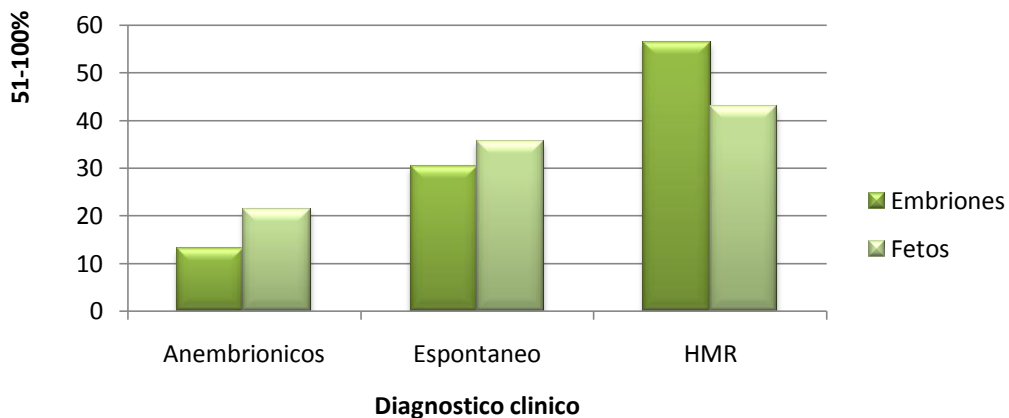
La relación a las SDG y número de abortos, se dividió en dos grupos, aquellas madres que presentaban sólo un aborto 39.2%, (20/51), y madres con dos, tres, cuatro, cinco ó seis abortos (31/51; 60.8%) (Gráfica 5)

Grafica 5: Semanas de gestación e relación con el número de abortos.



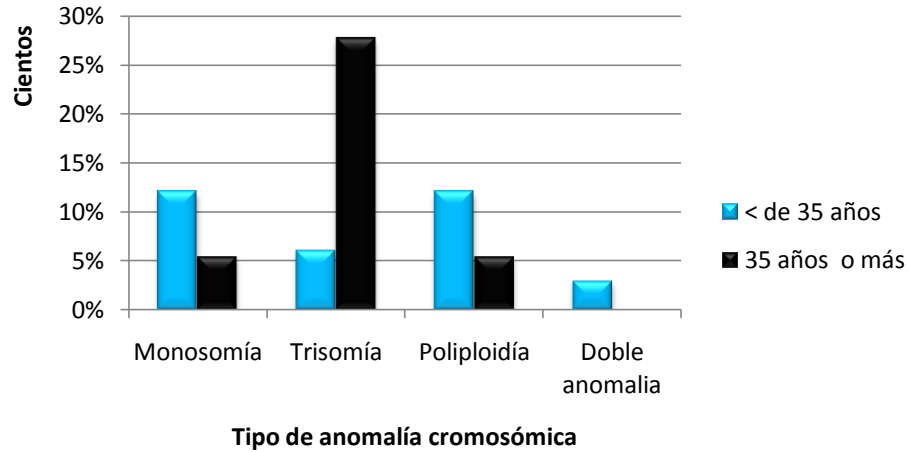
La correlación entre las SDG y el tipo de descripción clínica de los abortos, HMR representan el 49% (25/51), los abortos espontáneos y anembrionicos 33.3% (17/51), y 18% (9/51) respectivamente, siendo los abortos HMR los más representativos en etapas tempranas (Grafica 6).

Grafica 6: Semanas de gestación en relación con la descripción clínica.



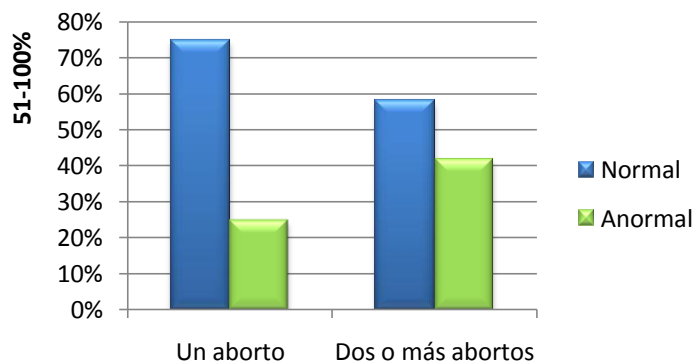
El cariotipo cromosómico y la edad materna, el 64.7% (33/51) fue normal, solo el 35.3% (18/51), mostró alguna anomalía. Siendo las trisomías las más relevante en mujeres jóvenes (Gráfica 7)

Gráfica 7: Cariotipo en relación con la Edad Materna



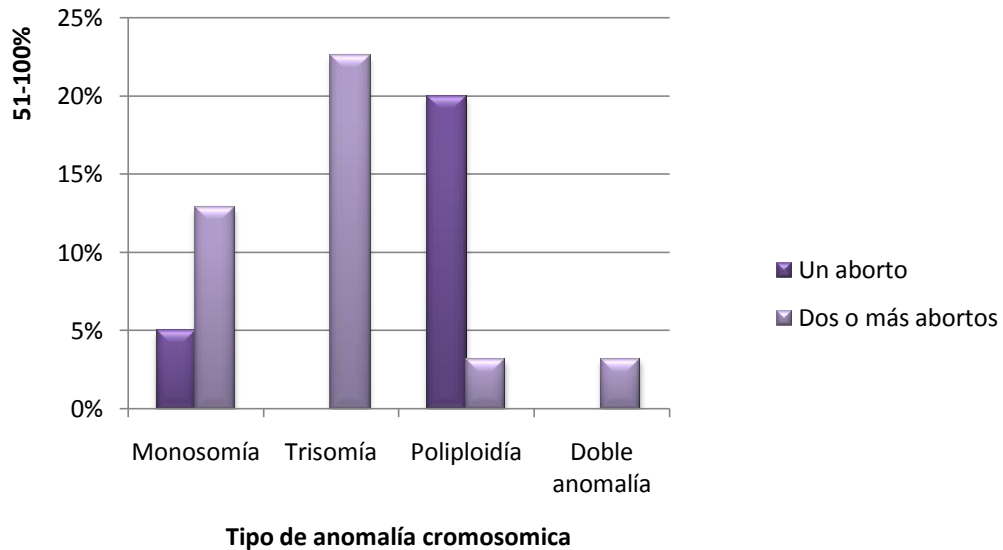
El cariotipo cromosómico en relación al número de abortos, en aquellas madres que presentaban su primer aborto las anomalías cromosómicas fueron del 25% (5/20), mientras que las madres con dos o más abortos representaron el 41.9%(13/31) (Grafica 8)

Grafica 8: Cariotipo en relación con el número de abortos.



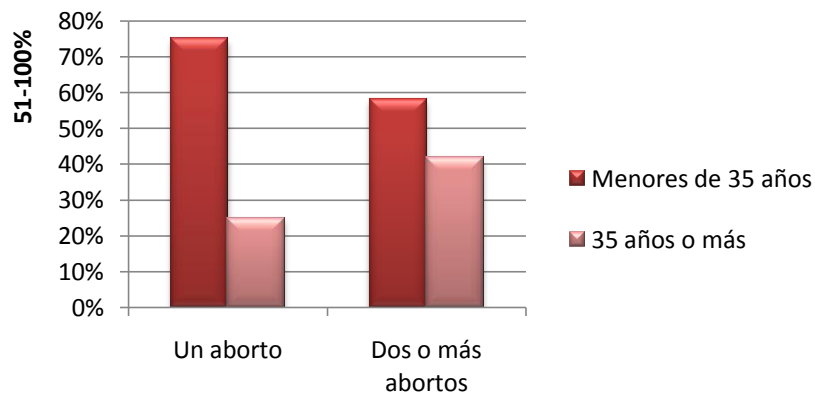
En aquellas madres que mostraron abortos de recurrencia, la alteración más frecuente fue la trisomía (22.6%), mientras que en las madres que presentaban su primer aborto las alteraciones cromosómicas fueron las poliploidías con el 20% ver Grafica 9.

Grafica 9: Cariotipos anormales en relación al número de abortos



La edad materna en relación al número de abortos previos tiene mayor incidencia en los abortos de repetición con 60.8% (31/51) en relación a las mujeres que solo presentaron un aborto 39.2% (20/51), ver Grafica 10.

Gráfica 10: Edad materna en relación con el número de abortos



X. DISCUSIÓN

Datos analizados en estudios previos de abortos espontáneos del primer trimestre, refieren en su mayoría, que las anomalías cromosómicas se identifican en más del 50% del total de los abortos, haciendo mención que diversas pérdidas, ocurren de manera muy temprana y de alguna manera no se refleja un porcentaje más exacto (Nagaishi *et al.*, 2004)

Sin embargo en nuestra población del INPer, las alteraciones cromosómicas presentes, en muestras de vellosidades coriales de abortos espontáneos del primer trimestre, representan el 35.3%. Cifra que es menor en relación a estudios previos (Fraser 1964; Hassold *et al.*, 1980; Kaji *et al.*, 1980; Boué *et al.*, 1985; Hassold, 1986; Gueneri *et al.*, 1987; Eiben *et al.*, 1990; Ohno *et al.*, 1991; Kalousek y Lau, 1992; Strom *et al.*, 1992; Minelli *et al.*, 1993; Bessho *et al.*, 1995; Schmidt-Sarosi *et al.*, 1998; Ogasawara *et al.*, 2000; Hogge *et al.*, 2003; Nagaishi *et al.*, 2004; Spandorfer *et al.*, 2004; Aguinaga 2005; Lebedev, 2006; Lathi *et al.*, 2007; Cortés *et al.*, 2008) que argumentan la pérdida del embarazo. Esta discrepancia podría deberse a 3 condiciones:

1. Que la población de mujeres que asiste al INPer cursa con embarazo de alto riesgo por diversas patologías maternas, que pueden predisponer al aborto de embriones y fetos sanos, de tal manera que muchos de los abortos espontáneos, podrían tener como origen la patología materna subyacente y no la cromosomopatía, como ocurre en la población abierta.
2. Que hubiese contaminación con células maternas cromosómicamente normales en algunos cultivos por lo que

parte de nuestros resultados reflejarían en realidad el cariotipo materno.

3. Que la población estudiada sea pequeña y no refleje las verdaderas proporciones de las anomalías.

Los datos obtenidos de los cariotipos anormales, exponen una serie alteraciones solo de tipo numérico; las Monosomías del X, poliploidías, trisomías y dobles anomalías. Cuando comparamos nuestros resultados con otros informes, muestran un patrón similar de anomalías cromosómicas detectadas en abortos espontáneos, como el que se realizó en Japón por Nagaishi *et al.*, (2004) donde examinaron 347 muestras de abortos espontáneos, siendo las trisomías las de mayor incidencia, otro estudio realizado en Alemania por Eiben *et al.*, (1990), en un análisis de 750 casos predominando las trisomías con el 62.1%.

En nuestros resultados destacan las trisomías autosómicas (sobre otro tipo de anomalías con el 38.8%), de los cromosomas 18 y 22 que son causadas por un error en la meiosis (Zhang *et al.*, 2009) (originando retraso mental, anomalías esqueléticas, cardíacas, urogenitales, del SNC, retraso en el crecimiento, entre otras específicas para cada cromosoma) en comparación a las encontradas por Nagaishi *et al.*, que refiere al cromosoma 16 como la más común, seguidas del cromosoma 21 o la de otros estudios como los de Hassold *et al.*, 1980; Eiben *et al.*, 1990; Strom *et al.*, 1992; Stephenson *et al.*, 2002; Rubio 2003.

Esto puede atribuirse, en parte a que algunas trisomías como la 21 sobreviven a término y aunque presentan algunas limitaciones como retraso mental, anomalías cardíacas entre otras, son compatibles con la vida (Hassold *et al.*, 2007) a diferencia de las trisomías que involucran los cromosomas del grupo D (14 y 15), y grupo G (22), que son letales o tienen un promedio de vida muy corto, como la trisomía que involucra el cromosoma 18 del grupo E.

Es de notar que a pesar de las características de nuestra población, muestra un patrón similar particularmente en las trisomías, donde los efectos son mayores cuando se asocian con la edad avanzada de la madre, como lo refieren Hassold y Chui, 1985; Hassold y Hunt, 2001; Goddijn *et al.*, 2004; Nagaishi *et al.*, 2004 pues en nuestros datos aunque no hubo una diferencia significativa, si mostró una tendencia de riesgo en mujeres de 35 años o más.

Nuestros resultados concuerdan con lo esperado, muestran que mientras menor sea la edad gestacional mayor será la incidencia de cromosomopatía, ya que el 43.5% de los embriones, tuvieron un cariotipo anormal, mientras que el grupo de fetos sólo el 28.6% de los casos fueron anormales, es posible que este proceso sea el mecanismo de selección natural que opere durante etapas específicas en el desarrollo temprano, a través de la interrupción del desarrollo y la degeneración de los embriones anormales. En este sentido mientras mayor sean las semanas de gestación mayor es el éxito a un embarazo a término (Boué *et al.*, 1985; Rubio *et al.*, 2003).

La monosomía del cromosoma X que se origina en el 80% de los casos por falta de uno de los cromosomas sexuales. El error se presenta en la meiosis masculina y probablemente refleja la ausencia del apareamiento entre el bivalente XY, con un error posterior a la disyunción. De los casos con cariotipo 45,X, en el 95% son letales de forma prenatal, como lo menciona Aguinaga *et al.*, (2005).

Ha quedado claramente establecido que el incremento del riesgo de una trisomía autosómica aumenta con la edad materna, mientras que el riesgo de una monosomía del cromosoma X, disminuye de la misma forma que las poliploidías como lo muestran nuestros datos, ya que las frecuencias que presentaron ambos fue de 27.8%. Las Monosomías y las poliploidías se detectaron con mayor frecuencia en mujeres menores de 35 años. Un hallazgo similar fue descrito también en otros tres estudios

(Gueneri *et al.*, 1987; Eiben *et al.*, 1990) En una revisión de 304 muestras abortos espontáneos, el porcentaje encontrado de monosomía del cromosoma X y las poliploidías fue de un total de 14.7%, en relación a las trisomías con el 36.6%, prevaleciendo en mujeres menores de 35 años. Se podría especular que se trata de un efecto de un menor promedio de edad materna en las mujeres embarazadas como lo muestran estudios anteriores, ya que la monosomía del X y las poliploidía parecen ser más comunes en mujeres jóvenes (Annerén *et al.*, 1982).

La proporción hombre-mujer aunque no represento diferencia significativa, si mostro una frecuencia mayor en cariotipos normales 46,XX y probablemente sea un reflejo del grado de contaminación con células maternas. Una manera para determinar el índice de contaminación es complementar el estudio con técnicas moleculares, como FISH, PCR (reacción en cadena de la polimerasa) o HGC (hibridación genómica comparada).

Podríamos señalar que el hecho que no se hayan encontrado anomalías estructurales, no quiere decir que no estuvieron presentes, y valdría la pena complementar con técnicas moleculares, pues un análisis realizado por Lanasa *et al.*, (2001), sobre los mecanismos de inactivación del cromosoma X a los abortos espontáneos determinados como idiopáticos, mostraron la presencia de alteraciones que no fueron detectadas por el cariotipo convencional, pero si con técnicas moleculares.

Si bien es cierto, que estadísticamente no encontramos alguna significancia en nuestros datos que justifiquen la pérdida del embarazo en el primer trimestre en el estudio de cariotipo de las vellosidades coriónicas. Si encontramos que el 35% se debe a una cromosopatía incompatible con la vida. Basados en las revisiones de otros estudios incluyendo el presente, podríamos decir que hay un comportamiento muy similar que otras poblaciones de tal manera que nuestros resultados

muestran una similitud en relación al tipo de alteraciones que aunque difieren en porcentaje, siguen siendo muy constantes.

Sin duda este análisis es un precedente muy importante para el Hospital, al dar una idea del comportamiento genético de los embriones y fetos. De tal forma que, puede ser un reflejo del inmenso trabajo y lo representativo de la delicada interacción de varias variables que permitan un estudio más completo de las futuras generaciones.

Los abortos espontáneos son la falta de hijos en 2% a 5% de parejas reproductivas, el cariotipo es útil y por lo tanto, la información que se pueda proporcionar a las parejas es de vital importancia, como lo menciona Menasha *et al.*, (2005).

XI. CONCLUSIONES

1.- La frecuencia de anomalías cromosómicas en nuestra población (33%) es menor que lo reportado en la literatura (50%) probablemente porque la población del INPer es una población seleccionada de alto riesgo con patología subyacente que puede predisponer al aborto de embriones y fetos sanos.

2.- En mujeres de 35 años o mayores, la trisomía de autosomas es la alteración cromosómica más frecuente, mientras que en menores de 35, la anomalía más frecuente es la monosomía X.

3.- En nuestra población, las mujeres con antecedente de por lo menos un aborto previo, tuvieron más cromosomopatías en el aborto estudiado (40%) que las mujeres sin antecedente de aborto previo (25%). Este hallazgo debe ser considerado con reserva debido al sesgo que representa el estudiar población de alto riesgo y no población abierta.

4.- El diagnóstico de cromosomopatía en aborto, permite ofrecer a la pareja un asesoramiento genético preciso y permite también contribuir al diagnóstico integral basado en la evidencia, de la pareja con pérdidas gestacionales.

XII. BIBLIOGRAFIA

1. ACOG. (2001). Practice bulletin. Management of recurrent pregnancy loss. Number 24, February 2001. (Replaces Technical Bulletin Number 212, September 1995). American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet*, 78 (2), 179–190.
2. Aguinaga M, Llano I, Báez, Hernández C, Castro J, Razo G, Aparicio A, Uría C, Saucedo J, Ibáñez JC, Meléndez R, Zavaleta J. Mayén GD, García R. (2005). Análisis y resultados clinicocitogenéticos de fetos y recién nacidos con alteraciones cromosómicas durante un año en el Instituto Nacional de Perinatología. *Reprod Hum*. 19: 94-105.
3. Albright F, Smith PH, Fraser RA. (1942). Syndrome characterized by primary ovarian insufficiency and decreased stature: report of 11 cases, with a digression on hormonal control of axillary and pubic hair. *Am J Medical Sciences*. 204(5):625-48.
4. Allen H, Bryrnes A, Lanasa M y Surti U. (2003). The clinical use of karyotyping spontaneous abortions *Am J Gynaecol Obstet*. 189:2 25-28.
5. Annerén G, Gustavson KH. (1982). A boy with proximal trisomy 15 and a male fetus with distal trisomy 15 due to a familial 13p:15q translocation. *Clin Genet* 22:16-21.
6. Badovinac AR, Buretic TA, Starcevic N, Kapović M, Vlastelic I, Randic L. (2002). Chromosome studies in patient with defective reproductive success. *Am J Reprod Immunol* 44: 279-283.
7. Bennett CP, Davis T, Mary JS. (1992). Trisomy 15 mosaicism in an IVF fetus. *J Med Genet* 29: 745-746.
8. Benkhalifa M, Kasakyan S, Clement PBM, Tachdjian G, Demiroglu A, Gurgan T, Fiorentino F, Mohammed M, Qumsiyeh MB. (2005). Array comparative genomic hybridization profiling of first-

- trimester spontaneous miscarriage that fail to grow in vitro. *Prenat Diagn* 25: 894-900.
9. Bessho T, Sakamoto H, Shiotami T, Komori S, Komaya K. (1995). Fetal loss in the first trimester after demonstration of cardiac activity: relation of cytogenetic and ultrasound finding. *Human Reprod* 10:2696-9.
 10. Bick RL, Madden J, Heller KB, Toofanian A (1998). Recurrent miscarriage: causes, evaluation, and treatment. *Medscape Womens Health*, 3(3): 2.
 11. Borgaonkar DS. (1994). Chromosomal variation in man. A catalog of chromosomal variants and anomalies, 7a Ed. New York: Wiley- Liss Pág. 238-240.
 12. Boué A, Boué J, Gropp A. (1985). Cytogenetics of pregnancy wastage. *Adv in Human Genetics*, 14:1-54.
 13. Boué J, Bou A, Lazar P. (1975). Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. *Teratology* 12:11-26.
 14. Boyd JD. y Hamilton WJ. (1970). The human vol I. Heffer Cambridge. Pág. 123-125.
 15. Bricker L y Farquharson RG (2002). Types of pregnancy loss in recurrent miscarriage: implications for research and clinical practice. *Hum Reprod* 17, 1345-1350.
 16. Burke DJ, Stukenberg PT. (2008) Linking kinetochore-microtubule binding to the spindle checkpoint. *Dev Cell*.14(4):474-9.
 17. Campana M, Serra A, Neri G. (1986). Role of chromosome aberrations in recurrent abortion: a study of 269 balanced translocations. *Am J Med Genet*, 24(2): 341-56.
 18. Carp H, Toder V, Aviram A Daniel M, Mashiach S. Barkai G. (2001). Karyotipr of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 75:678-82.
 19. Carrera JM. y Kurjak A. (2008). Ecografía en el diagnóstico prenatal. Elservir Masson, España Pág. 123-134.

20. Cohen J. (2002). Sorting out chromosome errors. *Science*. 296:2164-2166.
21. Cortés M F, Giannina FC, Paula VM, Cecilia BR. (2008) Citogenética prenatal. *Medica* 19(3): 196-201.
22. Cowchock FS, Gibas Z y Jackson LG (1993). Chromosome errors as a cause of spontaneous abortion; the relative importance of maternal age and obstetric history. *Fertil.* 59:1011-4.
23. Crane JP, Cheung SW. (1988). An embryogenic model to explain cytogenetic inconsistencies observed in chronic villus versus fetal tissue. *Prenatal Diag* 8(2):119-29.
24. Curtis H, Sue B, Adriana S (2008). Biología. Séptima edición Editorial Médica Panamericana. Pág.1160
25. De la Rochebrochard E y Thonneau P (2002). Prenatal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results a multicentre European study. *Hum Reprod.* 17, 1649-1656.
26. Dejmek J, Vojtassak J, Malova J. (1992). Cytogenetic analysis of 1508 spontaneous abortions originating from south Slovakia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 46:129-136.
27. Díaz MAG, Valdés AM. y Dalmau DA. (1996). The chorionic villus sampling as a technique for prenatal diagnosis. *Obstet Ginecol* 22;2.
28. Dunn TM, Grunfeld L, Dardon NB. (2001). Trisomy 1 in a clinically recognized IVF pregnancy. *Am J Med Genet* 99:152-153.
29. Eggermann T, Curtis M, Zerres K , Hughes HE . (2004). Maternal uniparental disomy 16 and genetic counseling: new case and survey of published cases. *Genet Couns.* 15(2):183-90.
30. Eiben B, Bartels I, Bahr-Porsch S, Borgmann S, Batz G, Gellert G Richard Goebel, Wilhelm Hammans, Martha Hentemann, Rüdiger Osmers, Rüdiger Rauskolb, and Ingo Hansmann. (1990). Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct- preparation method of chorionic villi and its

- implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet* 47:656-663.
31. Fryns JP. y Buggenhout VG. (1998). Structural chromosome rearrangements in couples with recurrent fetal wastage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 81: 171–76.
 32. Garcia-Enguidanos A, Calle ME, Valero J. Luna S, Domínguez-Rojas V. (2002). Risk factors in miscarriage: a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 102:111-119.
 33. Gardner R. y Sutherland G. (2004). *Chromosome abnormalities and genetic counseling* (3rd Ed.). NewYork: Oxford University Press Inc. Pág. 85-86.
 34. Gianaroli L, MC Magli, Cavallini G, Crippa A, Nadalini M, L Bernardini, Menchini Fabris GF, Voliani S, Ferraretti AP. Frequency of aneuploidy in sperm from patients with extremely severe male factor infertility. (2005). *Hum Reprod.* (8):2140-52.
 35. Goddijn M, Joosten JHK, Knegt AC, Van der Veen F, Franssen MTM, Bonse GJ, Leschot NJ. (2004). Clinical relevance of diagnosis structural chromosome abnormalities in couples with repeated miscarriage. *Hum Reprod* 19:1013-1017.
 36. Goddijn M y Leschot NJ. (2000). Genetic aspects of miscarriage. *Hum Reprod* 14:855-865.
 37. Gravholt Claus Højbjerg (2005) Epidemiological, Endocrine and Metabolic Features in Turner Syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 49:1 145-156.
 38. Gueneri S, Betti D, Simoni G, Brambati B, Lanzani A, Fraccaro M. (1987). Prevalence and distribution of chromosome abnormalities in a sample of first trimestre internal abortions. *Hum Reprod.* 2:735-739.
 39. Gustashaw, KM. (1991). Tinción de cromosomas. En el Laboratorio de Citogenética ACT Manual, segunda edición, editado por MJ Barch. La Asociación de Técnicos de citogenética, Raven Press, Ltd., de Nueva York. Pág. 45-67.

40. Hahnemann N. (1974). Early prenatal diagnosis: a study of biopsy techniques and cell culturing from extraembryonic membranes. *Clin Genet* 6: 294-306.
41. Hanna JS, Shires P, Matile G. (1997). 7trisomy 1 in a clinically recognized pregnancy. *Am J Med Genet.* 68:98.
42. Harper PS. (2006). The discovery of the human chromosome number in Lund, 1955-1956. *Hum Genet.* 119 (1-2):226-32.
43. Harper, P. (2004). *Practical genetic counseling* (5th ed.). New York: Oxford University Press Inc. Pág.83-89.
44. Hassold BT, Chen N, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, Matsuyama A, Wilson C, Yamane JA, Jacobs PA. (1980). A cytogenetic study of 1000 spontaneous miscarriage. *Ann Hum Genet* 80 (44): 151-178.
45. Hassold T y Hunt (2001). To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Gene.* 2,280-291.
46. Hassold T J, Jacobs PA, Kline J, Stein Z, Warburton D. (1980). Effect of maternal age on autosomal trisomies. *Annals of human Genetics.* 44:29-36.
47. Hassold T, Abruzzo M, Adkins K, Griffin D, Merrill M, Millie E, Saker D, Shen J, Zaragoza M. (1996). Human aneuploidy: incidence, origin and etiology. *Environ Mol Mutagen* 28: 167-75.
48. Hassold T. y Chiu D. (1985). Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. *Hum Genet* 70:11-17.
49. Hassold TJ, (1986). Chromosomes abnormalities in human reproductive wastage. *Trends Genet.* 2:105-110.
50. Hassold T , Sala H , P Caza (2007). The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. *Hum Mol Genet.* 16:2 203-208.
51. Henry H. Turner (1938). A syndrome of infantilism, congenital webbed neck, and cubitus valgus. *Endocrinology, Am J Obstet Gynecol.* 15; 113(2):279.

52. Hogge AW, Byrnes AL, Lanasa MC. (2003). The clinical use of karyotyping in spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 189:397-400.
53. Hogge WA, Buttone GJ, Hogge JS. (1993). Prenatal diagnosis of cytomegalovirus (CMV) infection: a preliminary. *Prenatal Diagn* 13(10):131-6.
54. Holmgren C y Lacoursiere DY. (2008). The use of prenatal ultrasound for the detection of fetal aneuploidy. *Clin Obstet Gynecol*. 51:48-61.
55. ISCN, 1995: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. 1995. Mitelman F, editor. Basel: S. Karger, Pág.114
56. Jacobs PA. (1977). Structural rearrangements of the chromosomes in man. En: Hook EB, Porter IH (eds.). Population cytogenetics studies in humans. New York: Academic Press. Pág. 81-97.
57. Jorde L, Carey J, Bumshad M, White R. (2000). Genética Médica segunda edición Ed. Harcourt. S.A. Madrid España Pág. 108-133.
58. Kaji T, Ferrier A, Niikawa N, Takahara H, Ohama K, Avirachan S. (1980). Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. *Hum Genet*. 55:87-98.
59. Kalousek DK, Lau AE. (1992). Pathology of spontaneous abortion. In: Dimmick JE, Kalousek DK (eds). Developmental Pathology of the Embryo and Fetus. Philadelphia: Lippincott, 55-82.
60. Katz, VL. y Kuller, JA. (1994). Recurrent miscarriage. *Am J Perinatol*, 11(6), 386–397.
61. Kimberly IMD y Allyn Mc CR. (1990). Prenatal diagnosis of metabolic diseases. *Rev Clin Perinatol* (4):765-80.
62. Koulischer L, Hustin J, Gillerot Y. (1985). Histologic study of tritiated Thymidine incorporation by trophoblastic villi in the first trimester. First trimester fetal Diagnosis. Ed Fraccaro M, Simoni G y Brambati B. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 345-349.

63. Kratzer PG, Golbus MS, Schnberg SA, Heilbron DC and Taylor RN (1992). Cytogenetic evidence for enhanced selective miscarriage of trisomy 21 pregnancies with advancing maternal age. *Am J Med Genet.* 44(5):657-63.
64. Kuliev A. y Verlinsky . (2005). Meiotic and mitotic nondisjunction: lessons from preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod actualización.* 10 (5):401-7.
65. Kuliev A, Cieslak J, Verlinsky Y. (2005) Frequency and distribution of chromosome abnormalities in oocytes humanos. *Cytogenet Genome Res* 111:193-198.
66. Kullander S. y Sandahl B (1973). Fetal chromosome analysis after transcervical placental biopsies during early pregnancy. *Acta Obstet Gynec Scand* 52: 355-359.
67. Lanasa MC, Hogge WA, Kubik CJ, Ness RB, Harger J, Nagel T, Prosen T, Markovic N, Hoffman EP. (2001) A novel X chromosome-linked genetic cause of recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol.* 185(3):563-8.
68. Lathi R, Mark S, Westphal L, Milki A. (2007). Cytogenetic testing of anembryonic pregnancies compared to embryonic missed abortions. *J Assist Reprod Genet.* 24(11):521-4.
69. Laurino MY , Bennett RL, Saraiya DS, Baumeister L, Doyle DL, Leppig K, Pettersen B, Resta R, Shields L, Uhrich S, Varga EA, Raskind WH. (2005). Genetic evaluation and counseling of couples with recurrent miscarriage: recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns.* 14(3):165-81.
70. Lebedev I. (.2006). Molecular cytogenetics of recurrent missed abortions. *Indian J Med Res* 124(1):9-10.
71. Lee RH y Silver RM. (2000). Recurrent pregnancy loss: summary and clinical recommendations. *Semin Reprod Med* 18: 433-440.
72. Levron J , Aviram-A Goldring , Madgar I , Raviv G , Barkai G , J Dor. (2001). Sperm chromosome abnormalities in men with

- severe male factor infertility who are undergoing in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 76 (3):479-84.
73. Lin HY, SP Lin, Chen YJ, HY Hung, Kao HA, CH Hsu, el Sr. Chen, Chang JH, CS Ho, Huang, Shyur SD, SD Lin, HC Lee. (2006). Clinical characteristics and survival of trisomy 18 in a medical center in Taipei. 1988-2004. *Am J Med Genet A.* 140(9):945-951.
74. Linn CC, De braekeleer M, Jamro H. (1985). Cytogenetic studies in spontaneous abortion: the Calgary experience. *Can J Genet Cytol.* 27:565-570.
75. Luckett WP. (1978). Origin and differentiation of the yolk sac and extraembryonic mesoderm in presomite human and Rhesus monkey embryos. *Am. J. Anat.* 152:59-98.
76. Ly HD, Lockhart D, Lerner RA y la Dirección General de Schultz. (2000). Mitotic misregulation and human aging. *Ciencia* 287, 2486 -2491.
77. Martin RH, Ko E, Rademaker A. (1991). Distribution of aneuploidy in human gametes: comparison between human sperm and oocytes. *Am J Med Genet*, 39 (3): 321-31.
78. Masaji N, Tatsuo Y, Kazuso L, Katsunori S, Sue A, Berend and Judith K. (2004). Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortion collected in Japan. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 30(3):237-241.
79. Menasha J, Levy B, Hirschhorn K, Kardon NB. (2005). Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study. *Genet Med.* 7(4):251-63.
80. Menten B, Swerts K, Barbara DC, Janssens S, Karen B, Philippe Jan, y Speleman F. (2009). Array comparative genomic hybridization and flow cytometric analysis of spontaneous abortions and mors in utero samples. *Med Genet* 10: 89.

81. Metwalley Kotb, Farghalley S Hekma, y Alaa Abd El-Elsayed (2009). Congenital hydrocephalus in the Egyptian baby with trisomy 18: a case report. *J Med* 3: 114.
82. Minelli E, Buchi C. Granata P, Meroni E, Righi R, Portentoso P, Giudici A, Ercoli A, Sartor MG, Rossi A, *et al.* (1993). Cytogenetic finding in echographically defined blighted ovum abortions. *Amm Genet* 36 2:107-10.
83. Mokate T, Leask K, Mehta S, Sharif S, Smith A, Saxena AT Mahmood. (2006) non-mosaic trisomy 22: a report of two cases *Diagn Prenat.* 26 (10):962-5.
84. Moore, Persaud KL. TVN. (2008). Embriología clínica. 8ª Edición. Elsevier España España. Pág. 14-70.
85. Mueller RF. y Young LD. (2001). Genética médica. Emery's 10ª ed. España. Pág.369.
86. Nagaishi M, Yamamoto T, Iinuma K Shimomura K, Berend SA, Knops J. (2004). Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous miscarriage collected in Japan. *J Obstet Gynaecol Res* 30 237-241.
87. Nybo A-M, Wohlfahrt J, Chistens P, Olsen J and Melbye M. (2000). Maternal age and fetal loss: population registers linkage study. *Br Med J.* 320(7251); 1708-1712.
88. Ogasawara M, Aoki K, Okada S, Suzumori K. (2000). Embryonic Karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Ferti Steril* 73:300-4.
89. Ohno M, Maeda T, Matsunobu A (1991) A cytogenetic study of spontaneous abortion with direct analysis of chorionic villi. *Obstet Gynecol* 77(3)394-8.
90. Pandey MK, Rani R, Agrawal S. (2005). An update in recurrent spontaneous miscarriage. *Arch Gynecol Obstet* 272:95-108.
91. Pellestor F. (2004). Maternal age and chromosomal abnormalities in human oocytes. *Médecine / Sciences*, 20(6-7):691-696.

92. Pellestor F, B Andreo, Anahory T, H Déchaud, Hedon B, Hamamah S. (2005) The cytogenetics of human oocytes: 40 years of progress. *Obstet Gynecol Fertil.* 33 (5):283-92.
93. Pellicer Antonio. (2007). Aborto recurrente. Cuadernos de medicina reproductiva. 3° Ed. México. Pág.176.
94. Regan L. (1988) A prospective study of spontaneous abortion. In Beard, RW and Sharp, F. (eds), *Early Pregnancy Loss: Mechanisms and Treatment.* Springer-Verlag, London, Pág.. 23–37.
95. Robinson WP, McFadden DE y Sthenson MD (2001). The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyploidy. *Am J. Hbm Genet.* 69(6); 245-1254.
96. Roman E. (1984). Fetal loss rates and their relation to pregnancy order. *J. Epidemiol Community Health.* 38(1):29-35.
97. Rubio C, Simopn C, Vidal F, Rodrigo L, Pehlivan T, Remohí J y Pellicer A. (2003). Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. *Hum Reprod and Embryology.* 18(1): 182-188.
98. Salamanca GF. (1993). *Citogenética Humana, Fundamentos y Aplicaciones Clínicas.* Editorial médica panamericana. México, D.F. Pág.83-81.
99. Sankaranarayanan K. (1979). The role of non-disjunction in aneuploidy in man: an overview. *Mut Res.* 61(1):1-28.
100. Schmidt-Sarosi C. Schwatz LB, Lublin J, Kaplan-Grazi D, Sarosi P, Perle MA. (1998). Chromosomal analysis of early fatal losses in relation to transvaginal ultrasonographic detection of fetal heart motion after infertility. *Fertile Steril.* 69 2:274-7.
101. Schreck R. y Silverman N. (2002). Fetal loss. In D. L. Rimoin, J. M. Connor, R. E. Pyeritz, B. Korf (Eds.), *Emery and Rimoin's principles and practise of medical genetics* (4th ed., Pág. 982–997). London: Churchill Livingstone.

102. Simpson JL. y Elías S. (2003) Genetics in obstetrics and gynecology. 3a ed. Texas, USA: Saunders Pág. 98-125.
103. Smith KE y Buyalos RP. (1996). The profound impact of parient age on pregnancy outcome after early detection of fetal cardiac activity. *Fertil steril.* 65(1); 35-40.
104. Spandorfer SD, Davis Ok, Barmant Li, Chung PH, Rosenwaks Z. (2004). Relationship between maternal age and aneuploide in *in vitro* fertilization pregnancy loss. *Fertil Steril* 81 5:1265-9.
105. Stephenson M y Kutteh W. (2007) Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clinical obstetrics and gynecology* 50(1):132-145.
106. Stephenson MD, Awartani KA y Robinson WP (2002). Cytogenetic analysis of miscarriage from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod.* 17 (2):446-51.
107. Strom CM, Ginsberg N, Applebaum MBN, Shite MCM, Verlinsky Y. (1992). Analyses of 95 first-trimester spontaneous abortions by chorionic villus sampling and daryotype. *J Assist Reprod Genet* 9:458-461.
108. Tharapel AT, Tharapel SA, Bannerman RM. (1985). Recurrent pregnancy losses and parental chromosome abnormalities: a review. *Br J Obstet Gynaecol*, 92(9): 899–914
109. Thompson, Robert L Margaret W. Nussbaum, James Scott Thompson, Roderick R. McInnes, Huntington F. Williard. (2007). Genética en medicina. Elsevier España Pág.15-17.
110. Usandizaga y De la Fuente (2010) Obstetricia y ginecología. Marbán Libros, S.L. Madrid España. Pág. 210-246.
111. Valente P, y Sever J. (1993). Congenitan infections diagnosed by direct fetal sampling. *Rev Hosp Niños B. Aires* 35(155):340-5.
112. Varney RF, Kenyon AT, Koch FC (1942). An association of short stature, retarded sexual development and high urinary gonadotropin titers in women. *The Journal of Clinical Endocrinology.* 2(3):137-45.

113. Vogel H, y Motulsky A. (1996). La genética humana: problemas y enfoques. 3ª ed. Londres: Springer-Verlag. Pág.53-59.
114. Wapner RJ, y Jackson L. (1988). Chorionic villus. *Clin Obstet Ginecol Norteam* 2:3 17-33.
115. Fraser FC. (1964). Spontaneous Abortion Risks in Man: Data from Reproductive Histories Collected in a Medical Genetics Unit. *Am J Hum Genet.* 16:1–25.
116. Warburton D, Stein Z, Kline J, Susser M. (1980) Chromosome abnormalities in spontaneous abortion: Data from the New York City study. In: Porter IH, Hook EB, editors. *Embryonic and fetal death.* New York Academic Press 261-287.
117. Warren JE, Silver RM. (2008). Genetics of pregnant loss. *Clin Obstet Gynecol* 51: 84-95.
118. Wegner RD. (1995). Cytogenetic reliability of CVS: the German collaborative study in comparison to other multi-center studies. In: Sengel-Rutkowskis. *Early prenatal diagnostics.* 47:656-663.
119. Zhang, Y-X, Zhanf YP, Gu Y, Guan F-J, Li S-I. Xie J-s, Shen Y, Wu B -L, Ju W, Jenkins EC, Brown WT, Zhong N. (2009). Genetic analysis of firsttrimester miscarriages with a combination of cytogenetic karyotyping, microsatellite genotyping and array CGH. *Clin Genet* 75: 133-40.