



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

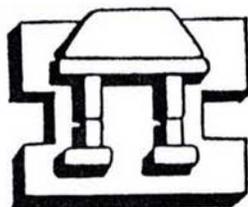
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

ESTUDIO CITOGENETICO EN LINFOCITOS DE PAREJAS CON
ABORTO ESPONTANEO DE REPETICION. EXPERIENCIA EN
EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA.

LICENCIADO EN BIOLOGIA

PRESENTA:

JOSE LUIS SAUCEDO HERNANDEZ



IZTACALA

MEXICO, D. F.

2003.



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.

A la bondad de mi abuelita
Josefina

A mis amados padres
Eulalia y Juan

A mis queridas hermanas
Ana Lilia, Luz María y María de Lourdes

A mi tesoro Karla

A la mujer de mi vida
Natividad

Agradezco a mi asesora Dra. Dora Gilda Mayen Molina por su apoyo y dirección en la realización de este trabajo y por las interminables muestras de amistad y comprensión que hacia mi ha demostrado.

Deseo manifestar un especial agradecimiento a los sinodales Martha Ofelia Salcedo Alvarez, María Eugenia Heres Pulido, Sergio Vaca Pacheco y María del Rocío Vargas Martínez por sus comentarios y sugerencias que fueron una valiosa aportación en la finalización de este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por formarme como profesionista.

En especial al Instituto Nacional de Perinatología y a sus pacientes.

A la chaparrita de Angélica por su apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida.

Por su gran dedicación y experiencia a la Dra. María del Rocío Báez, quien me ha soportado durante mucho tiempo.

Por su entrega como maestro y persona al Dr. Ricardo García Cavazos, que nos ha dejado una escuela en el Instituto Nacional de Perinatología.

A la "Salsa" que le dio un giro a mi vida.

Así mismo a todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la realización del presente trabajo.

GRACIAS

INDICE

	Página
ANTECEDENTES IZT.	4
INTRODUCCIÓN	5
CITOGENÉTICA HUMANA	9
PATRONES DE BANDEO CROMOSÓMICO	13
ANORMALIDADES CROMOSÓMICAS EN PAREJAS CON PÉRDIDA DE LA GESTACIÓN	15
— Translocaciones recíprocas balanceadas	15
— Translocaciones Robertsonianas	16
— Mosaicos cromosómicos	16
— Inversiones	17
— Aneuploidias sexocromosómicas	18
— Cromosomas marcadores	18
— Polimorfismos cromosómicos	19
OBJETIVOS	20
HIPÓTESIS	20
JUSTIFICACIÓN	20
MATERIALES Y METODOS	21
— Criterios de selección	
— Criterios de inclusión	

- Criterios de exclusión
- Criterios de eliminación

PROTOCOLO PARA LA OBTENCIÓN DE CROMOSOMAS EN LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA CON BANDAS GTG	22
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFÍA	44

ANTECEDENTES

Los estudios anatómicos de abortos espontáneos se iniciaron a principios de siglo. En 1917 Mall ⁽²⁰⁾ demostró la importancia de las anomalías en el desarrollo del cigoto. Para 1943 Hreting y Sheldow ⁽¹⁴⁾ reportaron los estudios anatómicos y patológicos de 1000 abortos; en 617 de éstos encontraron malformaciones obvias de las cuales 489 consistían en una ausencia total del embrión o un trastorno importante en la embriogénesis.

En 1954 Speert ⁽⁴³⁾, analizó 173 abortos de 21 días de desarrollo, 99% de los cuales fueron anormales morfológicamente. McConell y Garr ⁽²¹⁾ comunicaron una cifra del 59% de anomalía cromosómica en productos de abortos espontáneos.

Al mismo tiempo que los estudios morfológicos indicaban anomalías embrionarias, los avances en Citogénética empezaron a facilitar el estudio cromosómico de las células humanas. Desde entonces muchos estudios, han demostrado la importancia del papel que juegan las anomalías cromosómicas en la etiología del aborto espontáneo, encontrando que alrededor de la mitad de estos abortos dependen de una anomalía cromosómica fetal ⁽²⁸⁾.

Hanemann y Khurd ^(12,17) estudiaron parejas con hijos con síndrome de Down y abortos, detectando una translocación Robertsoniana en uno de los progenitores, lo que dió inicio a la investigación cromosómica en parejas con este antecedente o con el de abortos de repetición. Posteriormente, se reportó una mayor frecuencia de alteraciones cromosómicas en parejas con pérdidas del primer trimestre, que en etapas posteriores del embarazo. Los polimorfismos cromosómicos, que se consideran variaciones menores del cariotipo normal, se observan con cierta frecuencia en parejas con pérdidas de repetición y se ha sugerido también como posible causa de pérdida gestacional, aunque es motivo de debate ⁽²³⁾.

En 1967, Mackay et al ⁽²²⁾ y Shaw ⁽³⁹⁾ demostraron la participación de alteraciones cromosómicas como causa de aborto espontáneo de repetición.

INTRODUCCIÓN

La fertilidad humana está relacionada con la capacidad de concebir por el hombre y la mujer. Ésta puede estar afectada por diversos factores como edad, estado nutricional, enfermedades agudas y crónicas, exposición de alguno de los miembros de la pareja a agentes, físicos y químicos o biológicos o estar relacionados con trastornos genéticos. Ciertos padecimientos monogénicos, multifactoriales o cromosómicos están relacionados con esterilidad o pérdida repetida de la gestación ^(18,27,33).

La infertilidad es una situación en la cual, a pesar de haber antecedente de embarazos, la pareja no tienen descendencia. En este sentido la infertilidad es sinónimo de pérdida habitual del feto o del recién nacido. Este concepto así definido, es el de infertilidad primaria. La infertilidad secundaria es cuando previamente a los abortos o fetos muertos la pareja ha tenido hijos vivos. Esterilidad es el fracaso de la fertilidad o incapacidad para concebir tanto del hombre como de la mujer ⁽⁵¹⁾.

El aborto es la finalización del embarazo por cualquier medio antes de que el feto tenga el desarrollo suficiente para sobrevivir. El término aborto denota terminación del embarazo antes que se completen 20 semanas de gestación o 139 días contando a partir del primer día de la última menstruación normal. Otro criterio de uso común es la expulsión del producto con un peso menor de 500g ⁽¹³⁾.

Las fallas de la reproducción humana se ponen en evidencia si se considera que el 50 a 60% de los óvulos fertilizados no progresan a un embarazo identificable químicamente (subunidad B hcg, gonodotrofina coriónica). Además, de los huevos que se implantan, el 20% termina en aborto. No es fácil establecer la incidencia del cuadro del embarazo ignorado, en el que la fertilización ha tenido lugar pero el blastocisto muere antes o apenas implantado y cuya única manifestación clínica es un retraso menstrual de pocos días ⁽⁵⁰⁾.

Más del 80% de los abortos ocurren en las primeras 12 semanas y la frecuencia disminuye conforme avanza el embarazo. El riesgo de aborto espontáneo aumenta con la cantidad de embarazos, así como la edad de la madre y del padre⁽⁴⁾.

La frecuencia de abortos espontáneos reconocidos clínicamente en la población general se ha estimado entre un 15 y un 20 %. Sin embargo el número de abortos que suceden espontáneamente, en mujeres con ciclos ovulatorios y que buscan un embarazo, es mucho mayor al reportado clínicamente, ya que existe un alto porcentaje de pérdidas tempranas no detectadas. Esto sugiere que las pérdidas espontáneas tempranas no son del 20% sino que se encuentran más cerca del 30 al 50% de los huevos fecundados⁽⁴⁴⁾.

El aborto espontáneo recurrente ha sido definido por diversos criterios de número y secuencia, pero es probable que la definición más aceptada en la actualidad requiere dos o más abortos espontáneos consecutivos. Los obstetras han discutido durante muchos años sobre si la causa de estos abortos repetidos podría ser azarosa o no. En contra de los resultados de ciertas investigaciones previas, actualmente se piensa que una mujer que ha presentado previamente un aborto precoz tiene aproximadamente dos veces más posibilidades de volver a abortar que una mujer que no ha tenido abortos previos⁽⁵⁾.

El aborto de repetición es una condición angustiante que afecta a las parejas en la edad reproductiva. El aborto de repetición es materia de numerosos estudios debido a la poca información que se ha sumado a la etiología, prevención y tratamiento de esta falla reproductiva en las últimas dos décadas (29). A pesar de conocerse algunos factores en la pérdida del embarazo, al menos 50% de los casos permanecen clasificados como de etiología desconocida⁽⁵²⁾.

La evaluación diagnóstica del aborto de repetición es extensa, con muchas etiologías diferentes, cada una causante de una pequeña porción del total de casos. Factores etiológicos como los genéticos, anatómicos, infecciosos, hormonales e inmunológicos son propuestos como causa de aborto recurrente⁽³⁶⁾.

Se considera que la frecuencia de anomalías cromosómicas en los abortos espontáneos puede llegar a ser de un 50% y que la mayoría de las anomalías son esporádicas, teniendo lugar durante la maduración de los gametos y en especial en el momento de la reducción meiótica o bien durante la fecundación e incluso durante las primeras divisiones del huevo. A menudo no es posible reconstruir los eventos patogénicos que conducen a una descendencia cromosómicamente anormal, ya que gametos con cromosomas estructuralmente anormales pudieron ser resultado de eventos de "novo" y / o ser limitadas a tejidos gonadales ⁽⁴⁰⁾.

Pero un buen porcentaje de estas alteraciones pueden ser transmitidas por uno de los padres y pueden llegar hasta un 4% en parejas de aborto espontáneo. Este porcentaje incrementa en parejas que cursan con problemas de aborto de repetición, en los que la incidencia llega al 7% de anomalías cromosómicas ⁽³⁷⁾.

El poder llegar a detectar estas anomalías cromosómicas tiene un interés extraordinario, porque representan un importante factor de riesgo en la reaparición de abortos espontáneos, así como el nacimiento de niños con múltiples malformaciones o portadores de la misma anomalía que los padres ⁽³⁷⁾.

Se trata, por lo general de translocaciones autosómicas equilibradas ignoradas, ya que el portador es fenotípicamente normal, por poseer su material cromosómico completo. Entre otras anomalías cromosómicas responsables del aborto se citan las alteraciones de los cromosomas sexuales, las inversiones y las deleciones-inserciones. El diagnóstico se hace muchas veces después del nacimiento de un niño malformado, pero como en muchos casos la anomalía es letal, el estudio citogenético del material de aborto puede dar el diagnóstico. Como este examen no siempre es posible, es absolutamente necesario el estudio de los padres, sobre todo en el caso de abortos habituales, que podrán permitir la posibilidad de detectar a un padre portador ^(40,32).

La introducción de nuevas técnicas citogenéticas, que confieren una mejor resolución en el patrón de bandeado hizo posible no solo llegar a la identificación de todos los cromosomas, sino también.

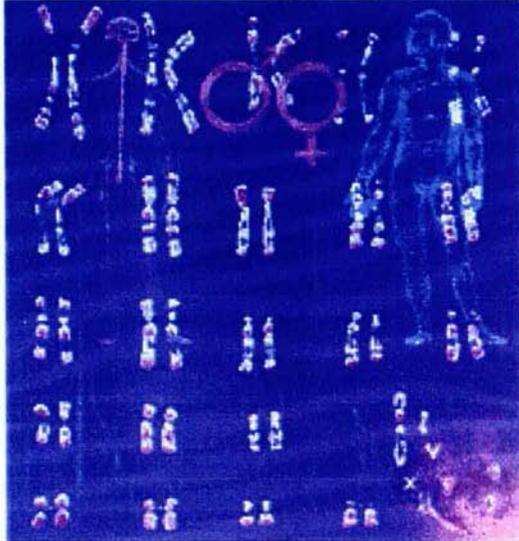
- a) Detectar cambios estructurales pequeños, aparentemente poco importantes, que en realidad tenían una importancia considerable.

- b) Determinar que individuos portadores de un cariotipo aparentemente normal eran portadores de un rearreglo balanceado. Es necesario que toda pareja con historia de infertilidad sea estudiada citogenéticamente incluyendo en el estudio las técnicas de bandas, ya que ello va a redundar en un gran beneficio a la hora de dar un consejo genético ⁽³²⁾.

La incidencia de anomalía cromosómica en uno de los padres puede ser encontrada entre 4-7%. Estas parejas tienen un alto riesgo de procrear descendencia cromosómicamente desbalanceada, las cuales serán candidatos para diagnóstico prenatal en futuros embarazos ⁽¹⁹⁾.

CITOGENÉTICA HUMANA

La citogenética es el estudio de la relación existente entre el aspecto microscópico de los cromosomas y el modo de conducirse durante la división celular, con el genotipo y el fenotipo que presenta el individuo ⁽¹⁰⁾.



En el humano, los núcleos de células normales contienen 46 cromosomas (23 pares). Un cromosoma de cada par es de origen paterno y otro de origen materno. Los primeros 22 pares son los mismos en el hombre y la mujer, los cuales son conocidos como autosomas. Los cromosomas del par 23 son llamados sexocromosomas y consisten de dos cromosomas X en la mujer y un cromosoma X y un cromosoma Y en el hombre ⁽¹⁰⁾.

Mediante el cultivo de linfocitos, fibroblastos de piel, de células de líquido amniótico etc. y la utilización de técnicas estandarizadas, es posible observar los cromosomas bajo el microscopio. Los cromosomas no sólo tienen un número constante en cada especie, sino que, además, presentan estructura y morfología definidas. Cada cromosoma en una metafase normal puede ser vista como dos cromátidas las cuales están unidas por un punto conocido como constricción primaria. Esta constricción primaria es también el sitio del centrómero, lugar donde el cromosoma se une al huso durante la mitosis ⁽³⁴⁾.

De acuerdo con la localización del centrómero, hay tres tipos de cromosomas en el humano.

- a) Si el centrómero está localizado en la parte media, el cromosoma se llama metacéntrico y, por lo tanto, los brazos son sensiblemente iguales.
- b) El centrómero está más cerca de uno de los extremos que del otro, determinándose así claramente un brazo corto un brazo largo, el cromosoma es submetacéntrico,
- c) Si el centrómero está situado muy próximo a uno de los extremos, quedando un brazo corto muy reducido, el cromosoma es acrocéntrico. Los diez cromosomas acrocéntricos del humano tienen, además, en el brazo corto unas formaciones que recuerdan palillos de tambor y que se denominan satélites. Los símbolos p y q son usados para designar, respectivamente los brazos cortos y largos de cada cromosoma ⁽³⁴⁾.

Un cariotipo suele definirse como el complemento cromosómico de un individuo. El término suele usarse para referirse a la fotografía de los cromosomas arreglados según una clasificación estándar ⁽³⁶⁾.

En la formación de un cariotipo, los autosomas son numerados del 1 al 22 en orden decreciente de longitud. Los cromosomas sexuales son referidos como X y Y. Los cromosomas se ordenan en siete grupos que se designan por letras (Figura 1) ⁽²⁶⁾.

Grupo A: Son los cromosomas más grandes del cariotipo e incluyen a los pares 1, 2 y 3. El 1 y el 3 son metacéntricos, mientras que el 2 es submetacéntrico.

Grupo B: Comprende los pares 4 y 5, que son submetacéntricos y de morfología muy similar.

Grupo C: A este grupo pertenecen los pares autosómicos 6 al 12, que son submetacéntricos; por su tamaño, se incluye en este grupo al gonosoma X.

Grupo D: Corresponden a este grupo los pares 13, 14 y 15, los cuales son acrocéntricos y presentan satélites en sus brazos cortos.

Grupo E: Forman este grupo los pares 16, 17 y 18, submetacéntricos, pero el 16 presenta su centrómero un poco más hacia la parte media y tiene constricción secundaria en su brazo largo.

Grupo F: Son los pares 19 y 20, con apariencia de metacéntricos pequeños.

Grupo G: Esta integrado por los pares 21 y 22, que son los más pequeños del cariotipo, acrocéntricos y con satélites. Se incluye por su tamaño en este grupo al gonosoma Y, el que sin embargo, carece de satélites.

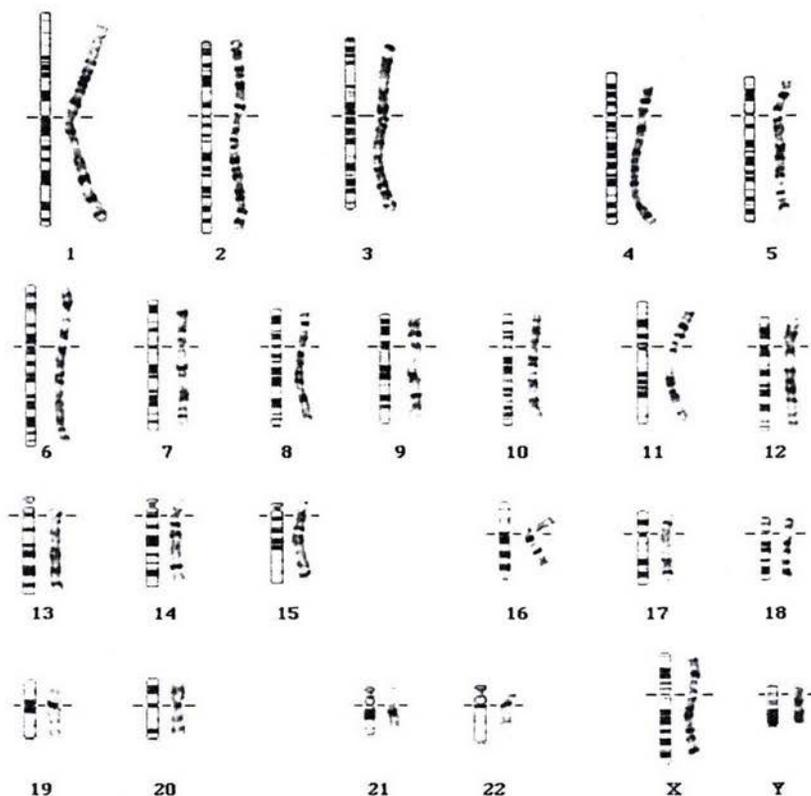


Figura 1. Cariotipo humano normal con técnica de bandas GTG

Una nomenclatura de cromosomas humanos es utilizada a nivel internacional para la designación de los diferentes tipos de bandas, la cual ha sido establecida desde 1960, como resultado en el primer ISCN (International System for Human Cytogenetic Nomenclature). Desde esta fecha, la adaptación e introducción de nuevas técnicas culminan en la publicación ISCN 1995.

Los cromosomas están formados de cromatina, la cual está formada de DNA y proteínas que tiñen con alta especificidad, resultando en un patrón de bandas que dependerá de la técnica aplicada. Técnicas de tinción diferencial son realizadas en aplicaciones generales. Bandas G, R y Q producen patrones característicos a todo lo largo del cromosoma que permiten una inequívoca identificación de cada cromosoma. Además, puede ser analizada su estructura, así como detectar posibles alteraciones, especialmente cuando se comparan ambos homólogos de cada par cromosómico⁽⁴⁹⁾.

Estas metodologías permiten la detección de rearrreglos cromosómicos balanceados, que se han encontrado con alta frecuencia en parejas con pérdidas de la gestación, especialmente en aborto recurrente, en comparación con la población general^(2,30,35).

Algunos estudios han reportado amplias variaciones en las frecuencias de anomalías cromosómicas; lo cual puede ser atribuido a muestras relativamente pequeñas o a la heterogeneidad en los criterios de selección. Algunos reportes fueron realizados con métodos convencionales de tinción^(7,15,48).

PATRONES DE BANDEO CROMOSÓMICO

Numerosos procedimientos técnicos han sido reportados en la producción de patrones de bandeo sobre cromosomas metafásicos. Una banda es definida como parte de un cromosoma el cual es claramente distinguible de su segmento adyacente, apariencia clara u oscura obtenida por diferentes técnicas de bandeo. Las bandas que se tiñen de oscuro con un método pueden teñir en banda clara con otra técnica. Los cromosomas son visualizados como una serie continua de bandas claras y oscuras, Así que, por definición no hay interbandas ⁽²⁶⁾.

Los primeros métodos realizados para la obtención de bandas, fueron realizados por el manejo de mostaza de quinacrina al producir patrones de fluorescencia, método conocido como técnica de bandas QFQ, que resaltan la formación de bandas fluorescentes y no fluorescentes. Este método es usado como un bandeo alternativo de las bandas G. Básicamente se utiliza en la detección de heteromorfismos de regiones pericentroméricas del cromosoma 3, satélites de cromosomas acrocéntricos y la porción distal del cromosoma Y ⁽²⁶⁾.

El tratamiento con enzimas proteolíticas, como tripsina, y subsecuente tinción con colorante Giemsa genera un patrón de bandas claras y oscuras, a lo largo de todo el cromosoma. Esta técnica de bandeo puede ser aplicada en metafases de linfocitos, amniocitos, fibroblastos y de mitosis espontáneas de diferentes orígenes ⁽⁴⁹⁾.

Algunas técnicas de bandeo, dan patrones opuestos a aquellos obtenidos por técnicas de bandas G, lo que en éstas aparece en oscuro en las otras aparece claro, y viceversa, por lo que se les designa como bandas R o reversas. Los patrones obtenidos con bandas G y R se corresponden con los de las bandas QFQ ⁽⁴⁹⁾.

Las regiones de organizadores nucleolares (NORs) son identificados por tinción de plata, que revelan genes con actividad transcripcional localizados en los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos. Estos contienen repeticiones en tandem de DNA que codifican RNA ribosomal ⁽³⁾.

Las técnicas de bandas caen dentro de dos grupo principales: (1) aquellos que producen bandas a lo largo de todo el cromosoma, como bandas G, Q y R, y (2) aquellos que tiñen estructuras específicas del cromosoma y por consiguiente dan origen a un número restringido de bandas. Estos métodos revelan

heterocromatina constitutiva (bandas C), bandas telomericas (bandas T), y regiones organizadores nucleolares (bandas NORs).

ANORMALIDADES CROMOSÓMICAS EN PAREJAS CON PÉRDIDA DE LA GESTACIÓN

Translocaciones recíprocas balanceadas (TRB)

Las anomalías cromosómicas estructurales son generalmente aceptadas como una explicación del aborto de repetición. El rearrreglo estructural más común es la translocación recíproca balanceada ⁽¹¹⁾.

Una TRB implica el intercambio mutuo de segmentos cromosómicos, en general este proceso no contiene pérdida de material genético. La mayoría de los portadores de TRB son fenotípicamente normales, individuos sanos, detectados durante estudios citogenéticos debido a problemas en la procreación, tales como esterilidad, infertilidad o aborto espontáneo de repetición. Cuando un progenitor es portador balanceado de un rearrreglo cromosómico, durante la meiosis, puede segregarse gametos con duplicación o deficiencia, lo que origina la pérdida del producto o la presencia de monosomías o trisomías parciales que implican la presencia de malformaciones congénitas, retraso mental y esperanza de vida corta. Aunque en general el riesgo de procrear un hijo con desbalance secundario a la alteración parental es del 25%, existen factores que son fundamentales para establecer un diagnóstico citogenético preciso y pronóstico reproductivo a la pareja, estos son: sexo del portador, cromosomas participantes, tamaño del desbalance y segregación en meiosis ⁽¹⁾.

Cuando los cromosomas de un portador de TRB se aparean en meiosis, se forma una figura cuadrirradial (cruz de paquiteno). Usualmente en anafase los cromosomas segregan en diferentes formas, segregación alterna, adyacente 1, y adyacente 2. La segregación alterna produce gametos con complemento cromosómico normal o con rearrreglos balanceados. En la segregación adyacente 1, segregan centrómeros homólogos, mientras que en la segregación adyacente 2, centrómeros de los homólogos pasan a la misma célula hija. La segregación adyacente 1 y 2 producen gametos desbalanceados. Hay otra posible complicación meiótica, en particular el riesgo de no disyunción, resultando en una segregación 3:1 o bien 4:0 ⁽⁴⁶⁾.

Los embarazos con grandes desbalances cromosómicos serán abortados. Contrario al riesgo de la población general, para pérdida del embarazo que es del 15%, el riesgo para portadores es más grande, y el rango varía del 20 al 30%.

La detección de TRB detectado en uno de los padres afecta profundamente el manejo del embarazo. Se deben ofrecer estudios citogenéticos prenatales para un mejor manejo del embarazo ⁽⁴¹⁾.

El diagnóstico preimplantación (DPG), de rearrreglos cromosómicos, se realiza en la actualidad en algunos centros a nivel mundial. Protocolos en los cuales vinculan la preparación de sondas específicas (secuencias de DNA) para cada rearrreglo, permiten la discriminación entre embriones normales, portadores o desbalanceados cromosómicamente; una opción para aquellas parejas que cursan con estos padecimientos y que desean tener un hijo sano ⁽³⁸⁾.

Translocaciones Robertsonianas (TR)

Este tipo de rearrreglo involucra dos cromosomas acrocéntricos que se fusionan cerca de su región centromérica con pérdida de sus brazos cortos. La deleción de los brazos cortos de acrocéntricos no tiene efecto dañino, ya que estos están formados de múltiples copias de genes que codifican RNA ribosomal. El resultado es un cariotipo balanceado con 45 cromosomas, incluyendo los cromosomas translocados ⁽⁸⁾.

Históricamente, la TR más importante involucra a los cromosomas 14 y 21, que puede originar descendencia con síndrome de Down. En algunos caso, estos pacientes pueden cursar con oligospermia o motilidad espermática reducida, ocasionando problemas de infertilidad ⁽⁴⁷⁾.

Las TR no afectan el fenotipo de un portador balanceado, pero tiene un alto riesgo de producir gametos desbalanceados y por lo tanto descendencia anormal ⁽⁴⁶⁾.

Mosaicos cromosómicos

Los mosaicos se pueden definir como la presencia de dos o más líneas celulares diferentes en el mismo individuo. La no disyunción mitótica es el mayor mecanismo en la formación de mosaicismos. La no disyunción puede ocurrir inicialmente en un cigoto normal, con la generación de mosaicos para líneas trisómicas y monosómicas, como también líneas celulares normales. En una no disyunción autosómica, el crecimiento de líneas celulares monosómicas presentan

desventajas severas, las cuales pueden morir, conduciendo a la única existencia de líneas trisómicas. Si hay una no disyunción de un cromosoma X durante la vida embrionaria, ambas líneas celulares permanecerán. Mas de un error mitótico puede suceder originando varias líneas celulares ⁽⁸⁾.

Aunque las aberraciones cromosómicas en parejas con aborto espontáneo recurrente había sido reportado frecuentemente, fue hasta los años 70 que se demostró que el mosaicismo de sexocromosomas juegan un papel importante en la pérdida fetal. Hasta la fecha los cariotipos detectados incluyen varias líneas celulares 45,X / 46,XX; 46,XX / 47,XXX; 45,X / 46,XX / 47,XXX y 46,XX / 47,XXX / 48,XXXX. La frecuencia de estas alteraciones ha sido detectada en el 5% de células de linfocitos de sangre venosa. Aunque la pérdida de embarazos parece ser común en este grupo de pacientes, también pueden conducir a descendencia cromosómicamente normal o alterada. Se sugiere que las mujeres con mosaico de sexocromosomas tienen una predisposición a la no disyunción meiótica, por lo que el riesgo para aneuploidías se eleva ⁽⁴²⁾.

Los mosaicismos de una línea celular normal y otra línea con rearrreglo estructural de cromosomas autosómicos, son extremadamente raros. Si la línea celular anormal es grande, causará dismorfismos y malformaciones. Si ésta involucra sólo una pequeña proporción no originará manifestaciones en el fenotipo y la línea tendería a perderse. Si éste contribuye al tejido gonadal, con poco o ningún involucramiento somático, este podrá solo ser reconocida como tal en la siguiente generación, siguiendo la detección de futuros embarazos, que pueden resultar en productos anormales o abortos de repetición. Cuando ésta se confina a tejido gonadal, puede conducir a la producción de gametos cromosómicamente desbalanceados y consecuentemente con anomalía reproductiva ⁽⁹⁾.

Inversiones

Las inversiones son rearrreglos estructurales intracromosómicos. La inversión involucra dos rompimientos en el mismo cromosoma y reunión de los segmentos rotos en una posición invertida, el segmento intercalado rota 180 grados. El cromosoma rearrreglado consiste de un segmento central invertido que es flanqueado por segmentos distales no invertidos. Si el segmento invertido incluye el centrómero, la inversión es pericéntrica, sino lo incluye, la inversión es paracéntrica ⁽³⁶⁾.

Los heterocigotos para inversiones paracéntricas y pericéntricas son personas fenotípicamente normales. La reorientación de las secuencias de material genético, generalmente no afecta su función y el rompimiento y reunión de la

mayoría de los sitios no perturba la uniformidad de las secuencias del genoma. Sin embargo, su anomalía cromosómica puede interferir con el apareamiento de homólogos durante la meiosis, específicamente si el segmento invertido es relativamente grande. Durante la meiosis el segmento invertido forma una asa de inversión que es capaz de aparearse con la región homóloga de su contraparte. El entrecruzamiento e intercambio de material genético puede ocurrir dentro del asa de inversión produciendo gametos con duplicaciones o deleciones. La fertilización de tales gametos formará cigotos genéticamente desbalanceados. Consecuentemente, los embarazos que involucran estos cigotos pueden finalizar en abortos espontáneos o descendencia con malformaciones ⁽¹⁶⁾.

Las inversiones pericéntricas existen en aproximadamente 0.1% de mujeres y 0.1% de hombres con experiencia de aborto espontáneo de repetición. La inversión paracéntrica es extremadamente rara ⁽⁶⁾.

Aneuploidías sexocromosómicas (ASC)

Hay cuatro grandes aneuploidías sexocromosómicas. La infertilidad es prácticamente inevitable en XXY y muy común en 45,X y sus variantes. Las otras dos XXX y XYY, aparentemente tienen un efecto sobre la fertilidad al estar asociados a un alto riesgo de descendencia cromosómicamente anormal. Tiene una incidencia de 1/1000 mujeres y hombres respectivamente. La mayoría de estos individuos son asintomáticos o sin alguna apariencia adversa del fenotipo, ellos usualmente no son detectados en la población general ⁽⁴⁶⁾.

Generalmente son detectados cuando tienen descendencia cromosómicamente anormal. Algunos reportes refieren mujeres 47,XXX que tienen descendencia con síndrome de Klinefelter, síndrome de Down y aborto espontáneo con cariotipo 45,X. Estos reportes indican que mujeres 47,XXX pueden tener un riesgo incrementado de no disyunción ⁽⁴⁵⁾.

Cromosomas marcadores

Son pequeños cromosomas que se presentan en adición del complemento cromosómico normal. Su origen e identidad son desconocidos en la mayoría de los casos. Morfológicamente ellos se presentan en diversas formas y tamaños e incluyen: (a) pequeños cromosomas metacéntricos, de los cromosomas del grupo F, (b) submetacéntricos y metacéntricos, del tamaño del grupo G, (c) microanillos o pequeñas entidades redondas y (d) Pequeños fragmentos céntricos, positivos para bandas C. Estos pueden ser transmitidos dentro de una familia a través de generaciones u originarse *de novo* con o sin defectos fenotípicos ⁽²⁵⁾.

Un cromosoma marcador en un individuo con un fenotipo normal podría ser considerado como una entidad genéticamente inactiva. Por lo tanto, es difícil establecer una causa directa y el efecto relacionado a la presencia de tales cromosomas en un individuo normal y abortos espontáneos ⁽³¹⁾.

Polimorfismos cromosómicos

Los polimorfismos cromosómicos representan variaciones menores del cariotipo humano normal y su significado clínico ha sido frecuentemente motivo de debate. Variaciones del tamaño e inversiones pericéntricas de las áreas heterocromáticas (constricción secundaria) de los cromosomas 1,9 y 16, grandes satélites de brazos cortos de cromosomas acrocéntricos 13,14,15,21 y 22, también como variaciones del cromosoma 9. Algunos reportes han indicado un incremento en la frecuencia de heteromorfismos en población abierta, los cuales incluyen padres con múltiples pérdidas del embarazo, sugestivo de una causa y efecto relacionado. Sin embargo el estudio de adultos normales y padres con múltiples pérdidas gestacionales no sostienen este punto de vista, ya que no se encuentra una diferencia significativa ^(24,3).

IZT.



OBJETIVOS

Conocer la frecuencia de alteraciones cromosómicas en parejas con aborto recurrente que acuden al Instituto Nacional de Perinatología .

Describir las alteraciones citogenéticas detectadas en la clínica de Genética de la Reproducción del Instituto Nacional de Perinatología.

Correlacionar los hallazgos citogenéticos con la historia reproductiva así como con otros hallazgos clínicos.

HIPÓTESIS

La frecuencia de alteraciones cromosómicas en parejas con aborto recurrente atendidas en el Instituto es mayor a la reportada en otros estudios.

El número de abortos espontáneos conocidos se correlaciona en forma directamente proporcional con la presencia de alteraciones citogenéticas.

JUSTIFICACIÓN

Un gran porcentaje de abortos espontáneos cursa con aberraciones cromosómicas. En nuestro país son pocos los estudios realizados, respecto a la incidencia y tipo de alteración cromosómica en parejas con aborto de repetición, por lo que es importante conocer estos datos en una muestra de nuestra población.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Se revisaron los registros de estudio citogenético realizados en linfocitos de sangre periférica en el Departamento de Genética del Instituto Nacional de Perinatología del 1 de enero de 1990 al 31 de diciembre de 2000 cuya indicación fuera aborto recurrente y de acuerdo a los criterios de selección del estudio.

2. Se revisaron los expedientes clínicos correspondientes a las pacientes que cubrían los criterios de inclusión y con el fin de definir en forma precisa la muestra de estudio, se diseñó una forma especial de captura .

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Parejas que acudieron a la clínica de Genética de la Reproducción durante el período comprendido del 1 de enero de 1990 al 31 de diciembre de 2000.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Pacientes con antecedente de aborto recurrente

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Pérdida reproductiva después del primer trimestre

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

1. Que se encuentren incompletos los datos clínicos o citogenéticos.

2. Que la paciente haya tenido dos o más parejas

PROTOCOLO PARA LA OBTENCIÓN DE CROMOSOMAS, EN LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA, CON BANDAS GTG

La sangre venosa periférica es de fácil obtención para el análisis cromosómico postnatal. Las preparaciones se realizan después de tres días de cultivo celular. Aunque la sangre normalmente no contiene células en división espontánea, los linfocitos pueden fácilmente ser inducidos a proliferar por adición de mitógenos. El mitógeno de mayor uso es la fitohemaglutinina que es aislado de extractos de frijol rojo *Phaseolous vulgaris*. Las células son cultivadas en un medio suplementado con fitohemaglutinina por 48 horas. Son "arrestadas" en metafase por adición de un inhibidor del huso mitótico, por ejemplo colcemida, un alcaloide. Las preparaciones deben tener una adecuada dispersión de los cromosomas, los cuales no deben aparecer amontonados o sobrepuestos y esto se logra con el uso de soluciones hipotónicas, como citrato de sodio al 0.7%. Los cromosomas deben ser fijados y esto se logra con una solución de Carnoy preparada con metanol y ácido acético en una proporción de 3:1. El paso más crítico es el tratamiento con tripsina para la obtención de bandas, que son reveladas con colorantes.

Materiales

Equipo:

- Incubadora a 37 °C
- Centrifuga
- Microscopio con contraste de fases
- Tubos de centrifuga (15ml)

Medio de cultivo:

- 15 ml de medio de cultivo MEM (Marca Gibco)
- 1 ml de suero fetal (Marca Gibco)
- 0.1ml de penicilina (10,000 IU/ml) / estreptomicina (10,000 mg/ml)(Irvin scientific)
- 0.15 ml de fitohemaglutinina (Marca Irvin Scientific)

Soluciones:

- Colcemida 10 ng Colcemid / ml de solución de Hanks (Marca Gibco)
- Solución hipotónica. Cloruro de potasio 5.9g/ 1 lt agua(0.07 M)
- Fijador. Mezcla de 3 partes de metanol por 1 parte de ácido acético
- Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 y 7.0
- Heparina 1000 / mlTripsina:

Tripsina 1:250 (Marca Gibco)

Giemsa:

Colorante Giemsa (Marca Gurr)

Preparacion de cubreobjetos

Lavado de portaobjetos en etanol al 80 % para remover trazas de grasa, enjuagar con agua desionizada y refrigerar.

Procedimientos.

El cultivo de linfocitos de sangre periférica, se realizó de acuerdo a la técnica de Moorhead y de Arakaki y Sparkes modificadas, de acuerdo a las condiciones de laboratorio. (32).

Toma de muestra y siembra:

1. Se preparó en forma estéril una jeringa desechable de 3 ml con 0.1 ml de heparina en solución acuosa a una concentración de 1000 unidades por mililitro.
2. Se tomaron 3 ml de sangre venosa periférica por paciente.
3. Se mezcló suavemente la sangre con la heparina para evitar la coagulación, cuidando de no introducir aire en ella.
4. La siembra se realizó por duplicado, en la campana de flujo laminar, 12 gotas de sangre total en cada tubo de cultivo que contenía 5 ml de medio de cultivo MEM y 1 ml de suero fetal de ternera.
5. Se agregaron 0.2 ml de fitohemaglutinina M, utilizando una jeringa de 1 ml con aguja No. 20 (4 gotas).
6. Se agregaron 0.1 ml de solución penicilina-estreptomicina.
7. Se incubaron durante 72 horas a 37°C.

8. Se agregaron 0.2 ml de solución de colcemid.
9. Se incubaron de 1 a 2 horas a 37°C .
10. Se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos.
11. Se descartó el sobrenadante .

Preparación cromosómica:

1. Se desintegró el botón suavemente y resuspendieron las células en solución hipotónica de cloruro de potasio 0.075 M .
2. Se incubaron 37°C durante 20 a 30 minutos .
3. Se centrifugaron a 1500 rpm durante 20 a 30 minutos.
4. Se descartó el sobrenadante .
5. Se agregó solución fijadora de Carnoy (metanol: ácido acético 3: 1) hasta completar 10 ml resuspendiéndose hasta homogeneizar .
6. Permanecieron a temperatura ambiente durante 5 minutos.
7. Se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos .
8. Se eliminó con cuidado el sobrenadante .
9. Se repitió dos veces el proceso de fijación (Pasos 5, 6 y 8).
10. Permanecieron en solución fijadora y en refrigeración por 24 horas .
11. Se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos .
12. Se eliminó el sobrenadante .
13. Se agregó solución fijadora de acuerdo con el botón celular obtenido.

14. Se hicieron las preparaciones sobre portaobjetos (laminillas) previamente sumergidos en etanol al 70% dejando caer dos gotas de la suspensión celular desde una altura suficiente alta para lograr una dispersión adecuada de los cromosomas .

15. Se dejaron secar al aire.

16.-Las laminillas con las preparaciones se deshidrataron en una estufa a 60 °C por 24 horas .

Método de bandeo

1.- Se montó un tren de bandeo, utilizándose 4 jarras con capacidad de 50 ml

Coplin 1.= 0.12g en 100ml de amortiguador pH 7

Coplin 2 = 50 ml de amortiguador pH 7

Coplin 3 = 3 ml de Giemsa en 47ml de buffer pH 6.8

Coplin 4 = Agua bidestilada

2.- Las laminillas se colocaron dentro de los jarras durante 2, 1,3 minutos respectivamente, en la ultima jarra el tiempo de la laminilla fue de entrada por salida.

3.- Las laminillas se secaron al aire.

4. Se observaron al microscopio de luz a un aumento de 1000X y se analizaron 15 metafases por muestra.

5. En caso de detectar una célula anormal, se incrementó la lectura de 25 a 100 metafases por muestra.

RESULTADOS

Durante el período comprendido del 1 de enero de 1990 al 31 de diciembre de 2000, se realizó estudio de cariotipo en sangre periférica a 780 parejas que cumplieron con los criterios de inclusión, lo que corresponde a 1560 estudios. Del total de estudios realizados 57 pacientes presentaron alteraciones cromosómicas, lo que representa el 7.3% de las parejas estudiadas; los rearrreglos cromosómicos se encontraron en general con mayor frecuencia en mujeres. Sin embargo, al analizar cada uno de los rearrreglos cromosómicos, se encontró que para el grupo de translocaciones recíprocas balanceadas existía una mayor frecuencia en hombres la cual fue estadísticamente significativa ($X^2=9.17$, $p=0.00129$) y para el grupo de mosaico de sexocromosomas una mayor frecuencia en las mujeres también con significancia estadística ($X^2=11.40$, $p=0.00017$). Para los otros grupos no se observó diferencia estadística (Tabla 1 y Figura 1)

Tabla 1. Resultados citogenéticos en 780 parejas con pérdida fetal de repetición.

Anormalidad cromosómica	Total	Hombres	Mujeres	%
Translocaciones recíprocas	21	13	8	2.69
Mosaicos sexocromosómicos	19	–	19	2.43
Translocaciones robertsonianas	8	3	5	1.02
Mosaicos autosómicos	6	4	2	0.76
Inversiones	3	1	2	0.38
TOTAL	57	21	36	7.3

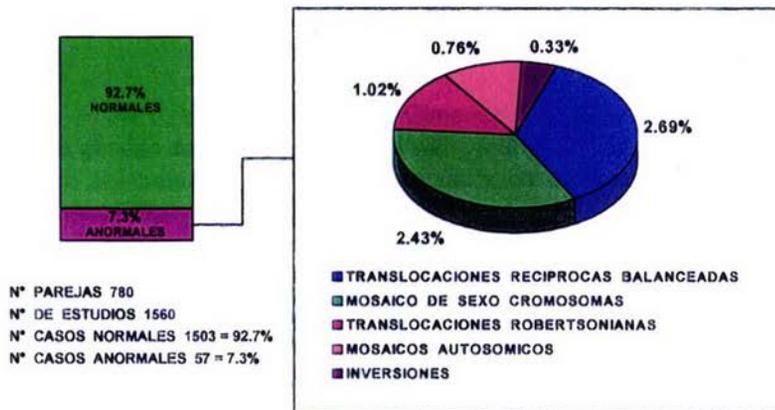


Figura 2. Hallazgos citogenéticos en parejas con problemas de aborto recurrente.

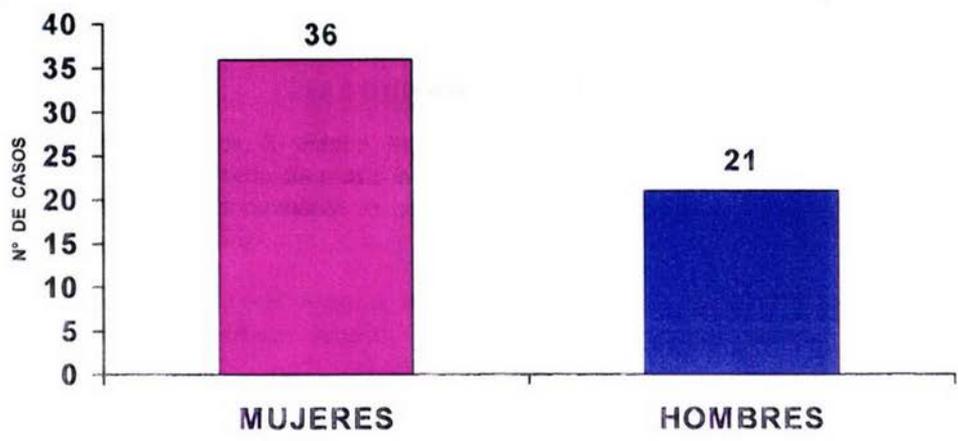


Figura 3. Alteraciones cromosómicas en hombres y mujeres.

TABLA 2. Porcentaje de anomalías cromosómicas en parejas con dos o más abortos de repetición.

	N	No. de abortos			
		2	3	4	≥ 5
NO. DE PAREJAS	780	238	310	121	111
CARIOTIPO					
Normal	723	223	284	111	105
Anormal	57	15	26	10	6
PORCENTAJE DE ANORMALIDAD	7.3 %	6.3 %	8.38 %	8.26 %	5.4 %

Se encontró una mayor frecuencia de anomalías cromosómicas en los grupos de 3 y 4 abortos. Se realizó una prueba de regresión logística con transformación logarítmica de los valores con la prueba de Logli con el fin de correlacionar el número de abortos y anomalía cromosómica, observando que no hay correlación ($p= 1.00$)

Las anomalías cromosómicas encontradas fueron (Tabla 3):

- translocaciones recíprocas balanceadas (n=21),
- translocaciones Robertsonianas (n=8)
- mosaico gonosómico (n=19)
- mosaico autosómicos (n=6)
- inversiones (n=3)

TABLA 3. Cariotipos anormales en relación con el numero de abortos.

	N	No. de abortos			
		2	3	4	≥ 5
Translocaciones					
Recíprocas	21	2	11	4	4
Robertsonianas	8	2	5	--	1
Mosaicismos					
Gonosómicos	19	7	6	5	1
Autosómicos	6	3	2	1	--
Inversiones	3	1	2	--	--
TOTAL	57	15	26	10	6

Translocaciones recíprocas balanceadas

Correspondió al grupo más numeroso, éstas se identificaron en 21 casos (2.69%) con predominio de los cromosomas 1,2,5,6,13,14 (Figura 4).

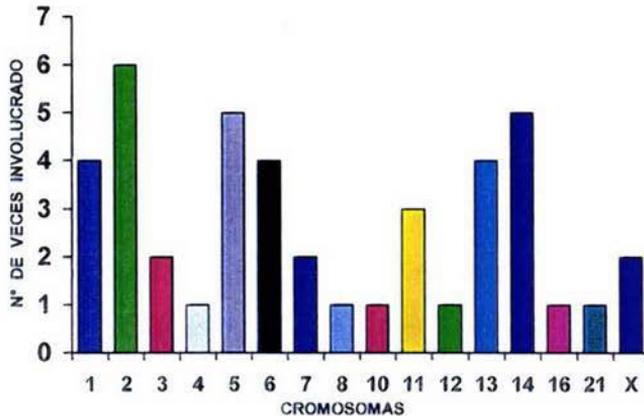


Figura 4. Frecuencia de cromosomas involucrados en translocaciones recíprocas balanceadas

Evolución.

A las parejas en las que se detectó un rearrreglo cromosómico, se les proporcionó asesoramiento genético respecto al riesgo reproductivo específico en cada caso, se ofreció estudio familiar y en caso de embarazo seguimiento en la consulta de Diagnóstico Prenatal y estudio de amniocentesis para cariotipo fetal.

En el grupo de Translocaciones recíprocas balanceadas, se presentaron:

- dos abortos balanceados

- dos casos con alteración cromosómica en el otro miembro de la pareja (un mosaico de sexocromosomas y una inversión del cromosoma 9, ésta última se consideró un polimorfismo).
- Una paciente con doble alteración cromosómica: translocación recíproca balanceada (X;1) y translocación Robertsoniana (13;14)
- Cinco estudios prenatales: uno con cariotipo normal y cuatro balanceados.

TABLA 4. Translocaciones recíprocas balanceadas en pacientes con aborto de repetición.

CARIOTIPO EN PROGENITOR	EVOLUCION
46,XX, t (11;13) (q13;q14)	
46,XY, t (5;14) (q33;q32)	
46,XY, t (2;6) (q34; q23)	
46,X, t (X;1) (q28; q12)	
46,XX, t (1;14) (p36;q24)	Aborto 46,XX,t (1;14). Amniocentesis 46,XY nl
46,XX, t (4;6) (q35;q13)	
45,X, t (X;1) (p22; p32), der (13,14)(q10;q10)	
46,XY, t (13;21) (q22;q22)	Esposo con inv (9)
46,XY, t (2;8) ()	
46,XY, t (10;16) (q26;q12)	
46,XY, t (2;5) (q33;p15)	Esposa con mosaico sexocromosómico
46,XX, t (2;11) (q32;q23)	
46,XY, t (5;6) (p15;q23)	
46,XY, t (2;5) (p11;q35)	Amniocentesis: 46,XY,t(2;5) Amniocentesis: 46,XY,t(2;5) Estudio familiar
46,XY, t (12;13) (q24;q13)	Aborto 46,XY, t(12;13)
46,XX, t (3;7) (q27;q22)	Amniocentesis 46,XY,t(3;7)
46,XY, t (2;3) (q37;p21)	
46,XY, t (6;13) (q22;q21)	BVC 46,XY, t(6;13) balanceado
46,XY, t (11;14) (p11;q32)	
46,XY, t (5;7) (p15;q22)	
46,XY, t (1;14) (q11;p11)	

FIGURA 5. TRANSLOCACIÓN RECÍPROCA BALANCEADA, DE ACUERDO A SEXO.

MATERNO n = 8

46, XX, t(1;14)(p36;q24)
46, XX, t(1;14)(q11;p11)
46, XX, t(2;11)(q32;q23)
46, XX, t(3;7)(q27;q22)
46, XX, t(4;6)(q35;q13)
46, XX, t(11;13)(q13;q14)
46, XX, t(X;1)(q28;q12)
46, XX, t(X;1)(p22.3;p32.2)
der(13;14)q10;q10

PATERNO n = 13

46, XY, t(2;3)(q37;p21.1)
46, XY, t(2;5)(p11.2;q35)
46, XY, t(2;5)(q33;p15)
46, XY, t(2;6)(q35;q23)
46, XY, t(2;8)
46, XY, t(5;6)(p15.3;q23)
46, XY, t(5;7)(p15;q22)
46, XY, t(5;14)(q33.3;q32.1)
46, XY, t(6;13)(q22;q21)
46, XY, t(10;16)(q26;q12)
46, XY, t(11;14)(p11;q32)
46, XY, t(12;13)(q24.1;q13)
46, XY, t(13;21)(q22;q22)

n = 21 (2.69%)

Mosaico de Sexocromosomas

El segundo rearrreglo que se encontró con mayor frecuencia fue el mosaico sexual con 19 casos, lo que representa el 2.45% de las parejas estudiadas, todos los casos involucraron el cromosoma X materno. Se encontraron diferentes líneas celulares, la fórmula cromosómica más frecuente fue 45,X/46,XX/47,XXX.

Evolución:

En dos pacientes se realizó cultivo de fibroblastos de piel y el cariotipo fue normal. La pareja de una paciente presentó translocación recíproca balanceada (Tabla 6).

Tabla 6. Mosaicismo sexocromosómico parental en parejas con aborto de repetición.

		Evolución
mos	46,XX (97) / 47,XXX(3)	
mos	45, X (2) / 46,XX (46) / 47XXX(2)	
mos	45, X (2) / 46,XX (28)	
mos	46,XX (3) / 47, XXX (32)	
mos	45, X (3) / 46, XXX(96) / 47,XXX(1)	Cariotipo en piel 46,XX normal
mos	45, X (2) / 46,XX (76) / 47, XXX(2)	
mos	46,XX (48) / 47, XXX(2)	
mos	45,X (2) / 46,XX(73)	
mos	45,X (4) / 46,XX(45) / 47,XXX(1)	Esposo con t(2;5)
mos	45,X (2) / 46, XX(48)	
mos	46,X (23) / 47, XXX(2)	
mos	45,X (9) / 46,XX(38) / 47,XXX(3)	
mos	45,X (2) / 46,XX(97) / 47,XXX(1)	
mos	45,X (19) / 46,XX(45) / 47,XXX(3) / 48,XXXX(1)	Cariotipo en piel 46,XX normal
mos	45,X (3) / 46,XX(37)	
mos	45,X (1) / 46,XX(47) / 47,XXX(2)	
mos	45,X (2) / 46,XX(22) / 47,XXX(1)	
mos	45,X (3) / 46,XX(22)	
mos	45,X (6) / 46,XX(17) / 47,XXX(2)	

Translocaciones robertsonianas

Las translocaciones Robertsonianas, menos frecuentes que las recíprocas, involucraron en su mayoría a cromosomas del grupo D, con excepción de la translocación 14;21 que ya involucra a un cromosoma del grupo G. Los cromosomas 13 y 14 fueron los cromosomas que se presentaron con mayor frecuencia. Solo un caso involucró cromosomas homólogos.

Evolución.

En células de líquido amniótico se detectó un portador balanceado de translocación Robertsoniana (Tabla 5).

TABLA 5. Translocaciones Robertsonianas en pacientes con aborto de repetición.

Cariotipo del progenitor	Evolución
45,XX, der (14,21) (q10;q10)	
45,XY, der (13,14) (q10;q10)	
45,XX, der (13,14) (q10;q10)	
45,XY, der (13,14) (q10;q10)	
45,XY, der (14,15) (q10;q10)	
45,XX, der (13,14) (q10;q10)	
45,XX, der (13,14) (q10;q10)	amniocentesis 45, XX der (13;14)
45,XX, der (13,13) (q10;q10)	

Mosaicos autosómicos

La presencia de mosaicos en cromosomas autosómicos se presentó con mayor frecuencia en hombres que en mujeres, con 4 y 2 casos respectivamente. Se presentaron:

- Dos casos con Trisomía 21 en mosaico
- Un caso con tres líneas celulares anormales (cromosomas 18,21 y marcador
- Tres casos con alteración estructural balanceada en la línea anormal
- Un caso con 18p+ en mosaico

Evolución.

En dos embarazos se realizó amniocentesis del segundo trimestre y se obtuvo cariotipo normales en ambos fetos(Tabla 7).

Tabla 7. Mosaicismo autosómico parental en parejas con aborto de repetición

Cariotipo del progenitor	Evolución
mos 46,XY (47) / 47,XY,+21(3)	Cariotipo en piel 46,XY Cariotipo en líquido amniótico 46,XY
mos 46.XY(95) / 46,XY, t (5;12)(q33;p13)(5)	Cariotipo en piel 46,XY
mos 46,XY(97) / 47,XY,+21(3)	
mos 46,XX(94) / 47,XX,+18(2) / 47,XX,+21(2) / 47,XX,+ mar	Cariotipo en piel 46,XX
mos 46.XY (47) / 46,XY, t(5;12) (3)	
mos 46,XX(40) / 46,XX,18p+ (10)	Cariotipo en líquido amniótico 46,XX

Inversiones

Se detectaron 3 casos con inversión pericéntrica (dos mujeres y un hombre), que involucraron a los cromosomas 2, 4 y 8. (Tabla 8).

Tabla 8. Inversiones en pacientes con aborto de repetición

46,XX, inv (2) (p11.2q13)

46,XY, inv (4) (p11q25)

46,XX, inv (8) (p21q24.2)

DISCUSIÓN

Existe gran variabilidad en el diseño de los estudios de parejas con pérdida gestacional recurrente. En México se han realizado pocos estudios de este tipo (10). El presente trabajo está realizado en una institución de tercer nivel en el cual la tercera parte de los ingresos corresponden a parejas con pérdida gestacional repetida. En un periodo de diez años de 780 parejas estudiadas el 7.3 % presentó un cariotipo anormal, el cual es similar al 7.52 % reportado por Schart y Palmer (37) en una revisión de 55 estudios en los cuales se analizó un total de 3500 parejas. Sin embargo ninguna serie en particular incluyó a más de 300 parejas.

La mayoría de los autores (5,15,30,45) señalan la ausencia de correlación entre alteración cromosómica y el número de abortos. Sin embargo Bourrouillou (2) y cols. en una serie de 2136 parejas encontraron una relación positiva, en la cual encuentra una correlación entre la frecuencia de anomalías cromosómicas y el número de abortos.

En el presente estudio no se encontró correlación. Al analizar por separado las 111 parejas con más de cinco pérdidas gestacionales la tendencia apunta hacia la ausencia de alteraciones cromosómicas en las grandes múltiparas, sin embargo el número de parejas con un gran número, sin embargo el número de parejas con un gran número de abortos fue escaso.

Las translocaciones recíprocas balanceadas fueron el hallazgo más frecuente 2.69 % de las alteraciones encontradas, comparado con la población a nivel mundial 0.7%(37). Estas se encontraron con mayor frecuencia en hombres. En el seguimiento de tres de estos varones se observó que en cuatro embarazos subsiguientes los cariotipos fueron balanceados, aún cuando uno de ellos culminó en aborto. Este hallazgo concuerda, con el hecho de que la segregación alterna, es la más frecuentemente encontrada, ya que funciona como un mecanismo de selección natural en los espermatozoides.

Los mosaicos de sexocromosomas se encontraron en 2.43 % de las parejas estudiadas y se presentaron exclusivamente en mujeres, esta frecuencia es menor a lo que reporta McHillivray : 16% en 103 mujeres con dos o más abortos, lo cual puede relacionarse en su caso, con una muestra menor. La presencia de estas alteraciones en mujeres no ocasionan prácticamente repercusiones fenotípicas; diferente a los hombres en el que si las tendrían.

Posterior al estudio en la clínica de genética de la reproducción, se realizó estudio citogenético en diez embarazos ocho casos con estudio citogenético prenatal normal o balanceado y dos abortos con rearrreglo balanceado. Esto último sugiere otro factor involucrado en la pérdida reproductiva.

IZT.



La evaluación citogenética en linfocitos de sangre venosa periférica de parejas referidas por dos o más abortos espontáneos, mostró que el 7.3 % de las parejas presentaban una anomalía cromosómica, los resultados están de acuerdo con los estudios publicados, los cuales encuentran frecuencias que varían del 4.8 - 7.52 % ^(30,37).

No se encontró una relación entre el porcentaje de anomalía cromosómica con el número de abortos espontáneos como se esperaba, ya que el Instituto Nacional de Perinatología es un lugar de referencia para parejas con embarazos de alto riesgo. Pocos estudios muestran este tipo de relaciones ^(15,37).

Una diferencia significativa no fue vista en los diferentes grupos formados (2,3,4, ≥ 5 abortos) (análisis de tendencia $p > 0.84531$), lo que justifica el estudio citogenético de la pareja a partir del segundo aborto.

Las alteraciones de cromosomas autosómicos representan el 66.43% de todas las anomalías. Las translocaciones recíprocas balanceadas son el rearrreglo cromosómico más numeroso y frecuente de pacientes con problemas de aborto recurrente. La mayoría de los portadores de translocación recíproca son fenotípicamente normales, individuos sanos detectados en estudios citogenéticos debido a problemas en la procreación como esterilidad, aborto espontáneo de repetición, óvitos y nacidos vivos con malformaciones ⁽¹⁾. En aquellos pacientes portadores de rearrreglo balanceado que se les realizó diagnóstico prenatal por amniocentesis o biopsia de vellosidad corial, no se encontró algún producto cromosómicamente desbalanceado, que son causados por malas segregaciones cromosómicas, produciendo gametos genéticamente anormales ⁽³⁸⁾.

La frecuencia de translocaciones balanceadas en la población mundial ha sido estimada en el 0.7% ⁽³⁷⁾. En nuestro estudio de 780 parejas, 21 translocaciones fueron observadas, con una frecuencia de 2.69 %, aproximadamente 16 veces más que la población general.

Nuestros hallazgos concuerdan con los conceptos actualmente aceptados, en el que la vasta mayoría de fetos con anomalías cromosómicas son perdidos en etapas tempranas del embarazo. Estudios citogenéticos son menos útiles en parejas con aborto tardío. Otra evidencia substancial de esta noción es que la pérdida espontánea del producto del segundo trimestre es frecuentemente producida por malformaciones uterinas e incompetencia cervical ⁽²⁷⁾.

El presente estudio indica la importancia del estudio citogenético en parejas con aborto de repetición, sin tomar en cuenta su número. Aun en parejas con dos abortos espontáneos se demuestra un incremento de 10 veces más alteraciones cromosómicas que la población general.

Sin embargo parejas que además de tener abortos espontáneos tienen al menos un recién nacido vivo normal, tendrán un incremento significativo de cromosomas anormales.

En la gran mayoría de nuestros pacientes portadores de rearreglo cromosómico no se pudo realizar estudio familiar para poder predecir el comportamiento de dicha alteración a través de las diferentes generaciones, para calcular los riesgos de recurrencia. Por lo que consideramos importante implementar estrategias de manejo en este tipo de pacientes. Además, cuando sea posible, realizar el estudio citogenético en los productos de aborto, que ayudarán a resolver los posibles problemas reproductivos

CONCLUSIONES

El estudio resalta la importancia de realizar estudio citogenético en parejas con aborto de repetición, en particular en instituciones de tercer nivel en donde se concentra la población de alto riesgo reproductivo, ya que se encontró una frecuencia del 7.3% de anomalía cromosómica.

Por tal motivo la búsqueda intencionada del caso clínico en el interrogatorio, la exploración física y la interpretación de estudios auxiliares de laboratorio y gabinete son importantes para la indicación del estudio citogenético en la pareja, así como el considerar la realización de estudios multicéntricos para incrementar la muestra de estudio y poder concluir al respecto.

Las translocaciones recíprocas mostraron una prevalencia importante (2.9%), lo que indica la necesidad de ampliar los estudios familiares a partir del caso índice para detectar individuos portadores, antes de la edad reproductiva.

En el caso de mosaicos sexocromosómicos, la frecuencia fue también mayor a la reportada en la literatura, sin embargo consideramos que dada la amplitud en tiempo del estudio, los criterios para establecer el diagnóstico de "mosaico" fueron cambiando con el tiempo, por lo que en la actualidad se propone actuar bajo criterios citogenéticos específicos para la detección de esta alteración, con el fin de proporcionar un resultado adecuado y un asesoramiento genético real a la pareja.

La incidencia de translocaciones parentales e inversiones fueron similares a lo reportado en la literatura, sin embargo deben ser consideradas como una indicación para el estudio citogenético prenatal en futuros embarazos.

Por último, es fundamental el estudio citogenético en parejas con pérdidas gestacionales espontáneas recurrentes como herramienta diagnóstica que apoye la etiología, manejo y asesoramiento genético que proporcione información adecuada sobre su curso, evolución y pronóstico de la alteración involucrada así como establecer en forma clara, cuáles son los riesgos de aparición o recurrencia, para posteriormente ofrecer las mejores alternativas reproductivas a cada pareja, que incluyan la inseminación artificial de donadores o el diagnóstico genético preimplantación.

El estudio citogenético en linfocitos de sangre periférica es en la actualidad un requisito indispensable en el estudio de aquellas parejas con pérdida gestacional recurrente, sin embargo, existe controversia respecto a la correlación entre

cariotipo anormal y numero de abortos, por lo que se requiere una muestra mayor de parejas con cinco o mas perdidas gestacionales.

Es importante tomar en cuenta que en algunos pacientes existe un factor mixto involucrado en la perdida, por lo que el hecho de contar con un cariotipo normal no excluye la posibilidad de efectos hormonales, mecánicos e inmunológicos que se encuentran tambien relacionados.

Se requiere realizar estudios familiares en los casos de rearreglos balanceados, con el fin de detectar en forma temprana, especialmente antes de la edad reproductiva a los portadores y proporcionar asesoramiento genético específico, la posibilidad de estudio de diagnóstico prenatal y en el futuro diagnóstico preimplantación

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Barisic I, Zergollen L, Muzinic D, Hitrc V. Risk estimates for balanced reciprocal translocation carriers –prenatal diagnosis experience. *Clin Genet.* 49: 154-151.
- 2.- Bourroullou P, Colombies P, Dastugue N. Chromosome studies in couples with spontaneous abortion. *Hum Genet.* 74:399. 1986.
- 3.- Blumer BD, Shulkin JD, Rotter JI, Mohandas T, Kabak MM. Minor chromosomal variants and major chromosomal anomalies in couples with recurrent abortion. *Am J Hum Genet.* 34:948-960.1982.
- 4-Cabrera Roura Luis. 2ª . Edt. Masson. P22-31. 1996.
- 5-Clark DA, Daya S, Coulam CB, Gunby J. Implication of Human Trophoblast karyotype for the evidence-based approach to the understanding, investigation y treatment of recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol.* 35:495-498
- 6.- Daniel A. Structural differences in pericentric inversions. Application to a risk of recombinants. *Hum Genet.* 56:321-328.
- 7.-Diedric U, Hansmann I, Jakne D, Optiz O, Probec HD. Chromosome anomalies in 136 couples with a history of recurrent abortion. *Hum Genet.* 65:48-52.1983.
- 8.-Garred RJ. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2ª ed. Edt. Oxford University. 478.
- 9.- Gardner RJ, Dockery HE, Fitzgerald PH, Parfitt RG, Romain RG, Scobie N, Shaw RL, Tumewu P, Watt AJ. Mosaicism With a normal cell line and an autosomal structural rearrangement. *J Med Genet.* 31: 108-114.1994.
- 10.-Guizar J. Genética clínica. Diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias. 2ª ed. Edt. Manual moderno. Pp 804.1994.
- 11.- Hand AL, Vekemans M. Balanced translocation among with two or more spontaneous abortion: Are and female equally likely to be carriers?. *Hum Genet.* 63:252-257.
- 12.- Haneman N. Chromosome studies in induced abortion. *Clin Genet.* 4: 328-332.1973.
- 13.- Hued Hued JR. Obstetricia y Ginecología Aplicada .Ed. JGH. pp478.2000.

- 14.- Herting A ,Sheldon w. Minimal criteria required to prove prima facie case of traumatic abortion or miscarriage: An analysis of 1000 spontaneous abortion. Ann Surg.117:596.1943.
- 15.- Husslein P, Huber J,Wagenbichler P,Schnedl W. Chromosome abnormalities in 150 couples with multiple spontaneous abortion. Fertil Steril. 37:3. 1982.
- 16.- Kaiser P. Pericentric inversions. Hum Genetic. 68:1-47. 1984.
- 17.- Khurd G. Cytogenetics of habitual abortion: A review. Obstet Gynecol Surv.29:299-304.1974.
- 18.- Lanasa MC, Hogge WA , Hoftan EP. The X chromosome and recurrent spontaneous abortion. The significance of transmanifesting carriers. Am J Hum Genet. 64: 934-938.1999.
- 19.- Leigh Joe: Essential of prenatal diagnosis. Churchil Livistone. 2^a ed. Edt. Elsevier. Pp 430. 1993.
- 20.- Mall FP. The frecuency of localized anomalies in the human embrion and infants at birth. Am J Anat. 22:49.1917.
- 21.-McConell H, Garr D. Recent advances in the citogenetics of human spontaneous abortion. Obstet Gynecol. 45: 547.1975.
- 22.- McKay RJ, Hodking WE, Witte EH. Chromosome of couples with repeated spontaneous abortions. Pediatr Res.1:208.1967.
- 23.- Mcgillivray BC, Horsman DE. X cromosome aneuploidy in lymphocytos cultures from women with recurrent spontaneous abortions. Am J Med Genet. 28:981.1987.
- 24.- Meléndez R. Polimorfismos cromosómicos y su posible correlación con aborto habitual. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM. pp127.1992.
- 25.-Menea SR, Gershin IF, Babu A, Wilines JP. Mosaicism for a small supernumerary ring X chromosome in a male: mos 47, XXY/ 48,XXY,+r(X). Clin Genet. 52: 432-435.
- 26.- Mitelman F . An International System for Human Citogenetic Nomeclature. Edt. Karger. pp114. 1995.

- 27.- Mishell DR. Recurrent Abortion. *J Reprod Med.* 38:4.250 –259. 1993.
- 28.- Ogasawara M, Aok A, Okada S, Suzuinori K. Embrionic kariotipe of aboutuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril.* 73:2.2000
- 29.- Pellicer A, Rubio C, Vidal F, Minguez Y, Gimenez C. In vitro fertilization plus preimplantation genetic diagnosis in patientes with recurrent miscarriage: analysys of chromosome abnormalities in human preimplantation embryos. *Fertil Sterel.* 71:6. 1033-1039. 1999.
- 30.- Portnoi MF, Joye N, Akker J, Moliere G, Taillemet JL. Kayotypes couples with recurrent abortion. *Obstet Gynecol.* 73: 31. 1998.
- 31.- Ramos C, Rivala L, Tejedor E. Recurrence of Down syndrome associated with microchomosome. *Hum Genet.* 49: 7-10.1970.
- 32.- Reindollar RH. Contemporary issues for spontaneous abortion. *Obst Ginecol Clin Nort Amer.* 27:3.2000
- 33.- Rock JA , Zacur HA. The clinical management of repeated early pregnancy wastage. *Fertil Steril.* 39:2. 123-140. 1983.
- 34.- Rooney DE. Czepulkowski BH. *Human Citogenetic. A Practical Approach.*Edt. Oxford University. Pp 274. 1992.
- 35.-Sachs ES, Jahoda, Hemel V, Hoogeboom JM, Sandkuly LA. Chromosome studies of 500 couoles with two or more abortion. *Obtet Gynecol.* 65:375. 1985.
- 36.- Salamanca F. *Citogenética Humana.* Panamericana.400-411. 1990.
- 37.- Schwartz S. Chromosomal finding in 164 couples with repeated spontaneous abortion: With special to prior reproductive history. *Hum Genet.* 63: 28-34. 1983.
- 38.- Scriven PN, Mahony FO, Bickerstaff H, Yeong CT, Braude P, Ogilvie CM. Clinical pregnancy following blastomere bopsi and PGD for a reciprocal translocation carrier: Analysis of meiotic outcomes and embryo quality in two IVF cycles. *Prenat Diagn.* 20: 587-592.
- 39.- Shaw MW. Cited by Jacobsen CB, Barber RH: Some cytogenetic aspects of habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol.* 97:666-680.1967.

- 40.-Simpson JL. Genes, Chromosomes, and reproductive failure. *Fertil Steril.* 33:2.1980.
- 41.- Simpson JL .Genetics in obtetrics and gynecology. 2^a ed. Edt. Saunders. Pp 350.1992.
- 42.- Singh DN, Hara S, Foster HW, Grimes EM. Reproductive performance in woman whit sex chromosome mosaicism. *Obstet Ginecol.* 55:5. 1980.
- 43.- Speert H, Pregnancy prognosis following repeated abortion. *Am J Obstet Gynecol.* 68:665.1954.
- 44.- Stern JJ, Dorfmann AD, GutierrezAJ,Cerrllo M. Frequency of abnormal karyotypes among abortuses from women with and without a history of recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril.*65:2. 1996
- 45.- Tharapel AT. Recurrent pregnancy losses and parental chomosome abnormalities: a review. *Brist J Obstet Gynecol .* 92:899-914.
- 46.- Thompson. *Genética Clínica.* 4^a ed. 2000
- 47.-Uccellatore F, Padova G, Squatrito S. Reproductive studies in three subjects with a robertsonian translocation. *J Endocrinal invest .* 6: 479. 1983.
- 48.- Ward BE, Henry GP, Robinson A. Cytogenetic studies in 100 couples with recurrent spontaneous abortion. *Am J Hum Genet.* 32:549-554.1980
- 49.- Werner RD. *Diagnostic Citogenetics.* Edt. Springer. pp 460. 1999.
- 50.- Willcox AJ, Weinber CR, Baird DD, Schlatterre JP. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 319:4.189-194. 1988.
- 51.-Williams .*Obstetricia.* 20ed. Edt. Panamericana.p543-560. 1998.
- 52.- Yamada H, Polgar K, Hill AH. Cell mediated inmunity to trophoblast antigens in woman with recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol.* 170:5. 1339-1344. 1994.