

UNIVERSIDAD NACIONAL



AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
PROGRAMA ÚNICO DE ESPECIALIDADES MÉDICAS
ESPECIALIDAD EN GENÉTICA MÉDICA

INSTITUTO DE SEGURIDAD SOCIAL Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES
DEL ESTADO
CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"

**ALTERACIONES NUMÉRICAS, ESTRUCTURALES Y POLIMORFISMOS
CROMOSÓMICOS EN EL ESTUDIO CITOGENÉTICO DE CÉLULAS FETALES PARA
EL DIAGNÓSTICO PRENATAL: EXPERIENCIA EN EL LABORATORIO DE
GENÉTICA DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE Y SUS
IMPLICACIONES PARA EL ASESORAMIENTO GENÉTICO.**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

PRESENTA:

AUREA VERA LOAIZA

ASESORES DE TESIS:
MARÍA CONCEPCIÓN ADRIANA YERENA DE VEGA
LABORATORIO DE GENÉTICA, CMN "20 DE NOV"

BIOL. CECILIA SÁNCHEZ GUERRERO
LABORATORIO DE GENÉTICA, CMN "20 DE NOV"

YURITZI SANTILLÁN HERNÁNDEZ
SERVICIO DE GENÉTICA MÉDICA, CMN "20 DE NOV"

ÓSCAR CHACÓN CAMACHO
SERVICIO DE GENÉTICA. INSTITUTO "CONDE DE VALENCIANA"

RAUL EDUARDO PIÑA AGUILAR
DIVISIÓN DE MEDICINA GENÓMICA, CMN "20 DE NOV"



CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE

MÉXICO, D.F., NOVIEMBRE DE 2014



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.

Registro de Protocolo de Investigación: 186.2014

Autorización de tesis

Dr. Aura A. Erazo Valle Solís

*Subdirectora de Enseñanza e Investigación
Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE*

Presentó Examen de Tesis, con el siguiente sínodo:

Como presidente:

Dra. Yuritzi Santillán Hernández

*Servicio de Genética Médica
Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE*

Como secretario:

Biol. María Concepción Adriana Yerena De Vega

*Laboratorio de Genética
Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE*

Como vocal:

Dr. Raul Eduardo Piña-Aguilar

*División de Medicina Genómica
Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE*

Sustentante:

Dra. Aurea Vera Loaiza

ÍNDICE

Antecedentes.....	5
Marco teórico	
Diagnóstico prenatal: indicaciones.....	6
Técnicas de obtención de material para análisis citogenético prenatal.....	7
Cariotipo en células fetales.....	8
Tipo de alteraciones cromosómicas encontradas en estudios citogenéticos Prenatales.....	12
Alteraciones numéricas.....	12
Alteraciones estructurales.....	12
Diagnóstico prenatal en México.....	15
Planteamiento del problema.....	17
Justificación.....	18
Hipótesis.....	19
Objetivos del estudio	
Objetivo General.....	20
Objetivos Específicos.....	20
Material y métodos	
Diseño del estudio.....	20
Criterios de inclusión.....	21
Criterios de eliminación.....	21

Consideraciones éticas.....	22
Resultados.....	23
Discusión.....	33
Conclusión.....	34
Referencias bibliográficas.....	35

ANTECEDENTES

DIAGNÓSTICO PRENATAL: GENERALIDADES Y DESARROLLO.

El sustento del diagnóstico genético prenatal es hacer posible que las parejas con riesgo puedan tener hijos selectivamente no afectados por un padecimiento hereditario específico. (Carnevale et al, 2012).

La historia del diagnóstico prenatal inicia en 1966 cuando Steele y Breg publicaron el primer cariotipo de células fetales obtenidas por amniocentesis. Sin embargo, existe un antecedente previo importante ya que en 1896, justo un año después de que Wilhem Rontgen descubriera los rayos X, un médico del Jefferson Medical College, el Dr. Edward Davis Parker, tomó con éxito una radiografía del cráneo de un feto dentro del útero del cadáver de una mujer embarazada. La visualización del feto progresó muy poco con los rayos X, y fue hasta que surgió el ultrasonido que el feto pudo verse con mayor claridad. Este sirvió además como herramienta útil en la realización de los procesos invasivos como guía en la toma de líquido amniótico (decenio 1970-79), la biopsia de vellosidades coriales y la cordocentesis (decenio 1980-89). (Carnevale et al, 2012).

A casi 50 años del primer diagnóstico citogenético prenatal, el progreso ha sido notable. En base a que las técnicas de citogenética, genética molecular y genómica pueden alcanzar la resolución de un solo gen, una base o una variante y el conocimiento de la función del genoma ha hecho que las aplicaciones prácticas se expandan constantemente. El impacto clínico también es significativo, esto se debe a la gama cada vez más amplia de padecimientos diagnosticables en la etapa prenatal. (Carnevale et al, 2012).

Los herramientas para diagnosticar por medio de cariotipo fetal han proveído a la citogenética médica con una de sus mayores áreas de aplicación. El descubrimiento de alguna anomalía cromosómica permite la opción de la terminación del embarazo o, en etapas posteriores de la gestación, un mejor manejo obstétrico. Las principales indicaciones actuales para un estudio invasivo son las siguientes: (1) edad materna, (2) rearreglo cromosómico en alguno de los padres, (3) antecedente de hijo con anomalía cromosómica, (4) anomalías en el tamiz bioquímico en la madre y (5) anomalía fetal detectada por ultrasonido. (Gardner et al, 2012).

MARCO TEÓRICO

DIAGNÓSTICO PRENATAL: INDICACIONES.

Todas las parejas tienen riesgo de tener un hijo con una alteración. Se calcula que alrededor de 3 de cada 100 recién nacidos vivos presentarán alguna anomalía congénita, genética o ambas detectables al nacimiento. En los óbitos, esta cifra alcanza 17%, y en abortos espontáneos del primer trimestre, 50-60% presentan una cromosomopatía. (Carnevale et al, 2012).

A pesar de conocerse estas cifras, la mayoría de los individuos que nacen con alguna alteración genética no tienen antecedentes o datos clínicos que permitan sospechar desde el punto de vista prenatal la presencia de la enfermedad, es por ello que el asesoramiento genético oportuno tiene una particular importancia. (Carnevale et al, 2012).

Las indicaciones de asesoramiento genético y diagnóstico prenatal son:

- a) Edad materna mayor de 35 años (mayor de 37 para algunos grupos).
- b) Tamizaje prenatal positivo por riesgo incrementado para síndrome de Down (aneuploidías), defectos del tubo neural u otras enfermedades investigadas en el tamizaje.
- c) Historia familiar de padecimientos genéticos o congénitos con o sin retraso psicomotor o mental.
- d) Historia familiar de retardo psicomotor o mental sin otras manifestaciones.
- e) Padre o madre portador de translocación cromosómica o padecimientos genéticos detectables prenatalmente.
- f) Retardo en el crecimiento.
- g) Malformaciones congénitas mayores detectadas por ultrasonido.
- h) Exposición a teratógenos.
- i) Pérdida gestacional recurrente.
- j) Datos ultrasonográficos de anomalías tales como alteraciones en la cantidad de líquido amniótico, retardo en el crecimiento intrauterino o marcadores de cromosomopatías. (Carnevale et al, 2012).

En general se acepta que si una mujer embarazada tiene un riesgo mayor que la población general de tener un hijo afectado, está indicado el diagnóstico prenatal. Sin embargo, dado que el ultrasonido obstétrico tiene una aplicación cada vez más amplia en la población general de embarazadas de alto y bajo riesgo y no es invasivo, el diagnóstico prenatal por este método es cada vez más común. (Gardner et al, 2012).

Por otro lado, algunas mujeres solicitan el diagnóstico prenatal por biopsia de vellosidades coriales o amniocentesis por razones no médicas o personales tales como angustia materna o pruebas de paternidad. En estos casos (al igual que el resto de la población de mujeres embarazadas) deberán tener acceso a un asesoramiento genético donde se señalen los riesgos,

ventajas y desventajas de los procedimientos, que permitan a la mujer tomar una decisión informada. (Carnevale et al 2012).

Sin duda la indicación más frecuente es la edad materna mayor de 35 años, ya que se sabe que el riesgo de cromosopatías aumenta con la edad materna; sin embargo, en las poblaciones donde se tiene disponible el recurso de tamiz en suero materno para la detección de riesgo de síndrome de Down y defectos del tubo neural, así como el ultrasonido de alta definición, la indicación única de edad materna de riesgo se ha modificado y las indicaciones incluyen mujeres de cualquier edad con tamiz positivo, ultrasonido anormal o ambos. (Grether et al, 2010).

TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE MATERIAL PARA ANÁLISIS CITOGENÉTICO PRENATAL.

Existe una serie de técnicas y procedimientos utilizados para la obtención de tejido fetal para el estudio prenatal citogenético:

Biopsia de vellosidades coriales.

La biopsia de vellosidades coriales (BVC) es el método de elección para obtener tejido fetal para diagnóstico prenatal antes de las 15 semanas de gestación. La BVC puede obtenerse por vía transabdominal o transcervical y requiere siempre la guía ultrasonográfica. La BVC transabdominal se realiza entre las semanas 11 y 13 de la gestación, por medio de una aguja delgada que se introduce en el útero a través de la pared abdominal. La obesidad, los miomas y las placentas de implantación posterior, bajas o ambas, pueden generar dificultades técnicas al intentar la biopsia. En la ruta transcervical el instrumento (cánula o pinza) se introducen a través del canal cervical, esta vía puede ser muy útil en los casos poco accesibles por vía transabdominal; sin embargo, implica un riesgo un poco mayor de infección por la vía de acceso. En general, se acepta que la vía transabdominal es la de elección en este procedimiento. Cuando se utilizan agujas o cánulas, el tejido placentario (vellosidades coriales) se obtiene por aspiración utilizando la presión negativa de una jeringa. Cuando se utiliza una pinza, esta se coloca a través de una aguja en el espesor de la placenta y con la pinza se cortan pequeños pedazos del tejido que son extraídos. (Carnevale et al, 2012).

El riesgo de pérdida fetal por BVC realizada por personal calificado se estima en alrededor de 1%. Tiene la ventaja de permitir obtener el diagnóstico en etapas más tempranas de la gestación lo que constituye un factor deseable en la toma de decisiones respecto al manejo o resolución del embarazo. Se ha observado que 2% de los estudios citogenéticos en BVC muestran la presencia de un mosaicismo (presencia de dos o más líneas celulares diferentes provenientes del mismo cigoto) lo que obliga a realizar una amniocentesis para descartar o confirmar los hallazgos en vellosidades. (Carnevale et al, 2012).

El estudio de estas muestras pueden analizarse directamente (mismo día de la toma de la muestra), después de un periodo corto de cultivo (al día siguiente o dos días después de la toma de la muestra) o después de un periodo más largo (una semana). El trofoblasto es la fuente de la población celular que se estudiar en los cultivos más cortos, mientras que el

núcleo mesenquimal de las vellosidades es lo que se estudiará en los cultivos de mayor tiempo. (Gardner et al, 2012).

Amniocentesis

El estudio del líquido amniótico (LA) es el método invasivo más común utilizado a nivel mundial y en México para el diagnóstico fetal. Tiene un alto grado de seguridad, tanto para la madre como para el feto: las complicaciones maternas, o fetales ocasionadas por trauma directo, son prácticamente nulas. El riesgo para isoimmunización materna puede prevenirse con la aplicación de la vacuna con anticuerpos. Los resultados citogenéticos son altamente confiables. El riesgo de pérdida fetal por el procedimiento es de 0.5% o menor. (Gardner et al, 2012).

Para el procedimiento se requiere la extracción de líquido amniótico por medio de una punción guiada por ultrasonido que se realiza por lo general entre las semanas 15 y 19 de la gestación. Se sabe que la toma de líquido amniótico a la semana 13 o anterior (amniocentesis temprana) se relaciona con un incremento en el riesgo de aborto, talipes equinovaro e hipoplasia pulmonar. (Shulman et al, 2013).

Se realiza un estudio ultrasonográfico previo donde se determina la vitalidad fetal y el sitio adecuado para la punción, además se corrobora que el amnios ya se haya fusionado con el corion y que haya suficiente cantidad de LA. Con guía ultrasonográfica continua se realiza la punción con una aguja para raquia del número 22G y se extraen de 15 a 20 ml de LA que son utilizados para el estudio de las células. (Shulman et al. 2013).

Las células pueden ser utilizadas para estudio citogenético, y además par estudios metabólicos enzimáticos o estudios moleculares. El estudio citogenético que se realiza en LA con mayor frecuencia es cariotipo con bandas G, que implica el cultivo celular. Este estudio toma de 10 a 15 días para obtener el resultado y nos muestra un panorama de todos los cromosomas y permite detectar mosaicismo cromosómico. (Carnevale et al, 2012).

Cordocentesis

Esta técnica invasiva consiste en la extracción directa de sangre fetal a través del cordón umbilical. Esto conlleva un riesgo mucho mayor de pérdida del embarazo que la biopsia de vellosidades coriales o la amniocentesis, el cual se ha estimado en un 3% en población de bajo riesgo y 7.2% en población general. Actualmente se utiliza para procedimientos terapéuticos como la transfusión en anemia severa fetal, lo cual puede salvar la vida del feto. También se ha utilizado para valorar el conteo plaquetario en casos severos de trombocitopenia aloimmune, aunque es controversial. (Collins et al 2012).

CARIOTIPO EN CÉLULAS FETALES.

Es sin duda el estudio realizado con mayor frecuencia en los servicios de diagnóstico prenatal. Permite identificar las anomalías cromosómicas en etapa fetal que son compatibles con un nacimiento a término como las trisomías 21, 18 y 13, así como la monosomía del X (que constituyen cerca del 95% del total de los casos anormales), así como anomalías estructurales diversas, por lo común translocaciones desbalanceadas o balanceadas y otras anomalías estructurales. El estudio habitual de 15 a 20 células, de por lo menos dos cultivos

primarios o ambos, permite identificar la presencia de mosaicismo en una proporción variables de los casos. En biopsia de vellosidades coriales (BVC) hasta 2% de los casos corresponden a un mosaicismo mientras que en amniocentesis esta cifra es mucho menor. El cariotipo requiere por lo general cultivar las células fetales (vellosidades coriales, amniocitos o fluidos fetales) por 6 a 12 días antes de obtener el material cromosómico para su estudio. (Carnevale et al, 2012).

Metodología para el estudio citogenético de células fetales obtenidas por amniocentesis.

(Minehart P, 1994)

Técnica in situ con portaobjetos:

Preparación del líquido amniótico para cultivo:

1. Se obtiene líquido amniótico en jeringas de 20 ml o tubos que estén aprobados para cultivo celular. Mantener la temperatura ambiente mientras se procesan. Las muestras no deben ser refrigeradas o expuestas a calor, ya que las temperaturas extremas pueden ser dañinas para el crecimiento celular.
- El volumen debe ser aproximado de 20 ml para muestras que se obtengan después de la semana 14 de gestación, o 10 ml para muestras en semanas menores a 14. Una regla general es obtener 1 ml por semana gestacional.
- Las muestras deben ser procesadas el mismo día que se reciben, pero para aquellas que la llegada es tarde en el día deben permanecer a temperatura ambiente para procesamiento al día siguiente
2. Gentilmente se agita el medio de transporte del líquido amniótico para resuspensión de las células.
3. Para muestras mayores a 15 ml, se transfiere igual cantidad de líquido a dos tubos, si es menor a 15 ml sólo en un tubo.
4. Se centrifuga por 10 min at 800 rpm.
5. Mientras los tubos se centrifugan etiquetar placas de cultivo de 33 mm (5 para amniocentesis rutinaria y 4 para amniocentesis temprana o tardía).
6. Se seca en flama cubreobjetos de 22 mm² y colocarlos en las placas de cultivo (excepto en una).
7. Posterior a la centrifugación, remover el supernadante de cada tubo, dejando aproximadamente 1 ml de líquido por arriba del botón. Transferir el sobrenadante a otro tubo (puede servir para test bioquímicos).
8. Gentilmente resuspender el botón en uno de los dos tubos con .7 ml de medio al 20% Chang. Golpear suavemente en el tubo para resuspender botón. Distribuir equitativamente al centro de los cubreobjetos en las placas de cultivo 1 y 2.
9. Se resuspende el botón en un Segundo tubo con 1.2 ml de medio al 20% de Chang a temperatura ambiente. Distribuir la suspensión celular equitativamente en las tres placas restantes.
10. Se añaden 2.0 ml de medio Chang al 20% a temperatura ambiente a la placa 5. of room temperature 20% Chang medium to plate 5. Incubar cultivos de 24 a 72 horas.
11. Gentilmente agregar 2 2 ml de medio Chang 20% precalentado a las placas de cultivo que contienen los cubreobjetos.
12. Incubar por 2 días.
13. Se aspira el medio con pipeta Pasteur hacia un frasco de vacío.

14. Se añaden 2 ml of 20% Chang. Incubar cultivos.
15. En el quinto día de cultivo, checar los cultivos primarios para revisar la formación de colonias y crecimiento celular utilizando microscopio invertido.
16. Se añaden 50 µl de 10 mg/ml de Colcemid a cada uno de los cultivos en los cubreobjetos. Se gira la placa para mezclar gentilmente. Incubar por 20 min.
17. Se remueven las placas de la incubadora y añadir 1/2 pipeta de solución hipotónica cerca del borde interno de la placa. Dejar por 10-12 min.
18. Aspirar cuidadosamente la solución hipotónica y medio usando pipeta Pasteur.
19. Se añaden 2 ml de solución hipotónica como en el paso 17 y dejarla por 12 min.
20. Gentilmente añadir ~1/2 pipeta de fijador fresco 6:1 cerca del borde interno de la placa y dejar por 10 min.
21. Cuidadosamente se aspira el fijador/mix de solución hipotónica por el borde externo de la placa.
22. Se añaden 2 ml de fijador fresco 3:1. Dejar por 12 min, luego aspirar. Repetir este procedimiento con fijador fresco 3:1 dos o tres veces por 10 minutos cada vez, No remover el fijador final.
23. Se levanta el cubreobjetos de la placa cuidadosamente. Colocarlo en papel toalla para quitar exceso de fijador.
24. Se coloca el cubreobjetos en incubadora a 60°C por 10 min. Cuando se encuentren completamente secas, rotularlos.
25. Dejar los cubreobjetos con la cara celular hacia arriba durante al menos 4 horas, pero no más de 24 horas, en la incubadora a 60%.
Usualmente los cubreobjetos se dejan una noche en la incubadora antes del bandeado GTG, posteriormente del secado los cubreobjetos deben ser inmediatamente bandeados o almacenados por un tiempo no mayor a dos semanas antes del bandedo.

Tinción de la muestra:

26. Se tiñen los cubreobjetos de acuerdo a las metodologías convencionales:
- 1.5 a 2 min en 0.025% (w/v) tripsina y 5 min 4n 4% (w/v) de solución Giemsa.
27. Después de la tinción, los cubreobjetos se montan y se rotulan para su posterior análisis al microscopio.

Técnica en frasco de cultivo

Preparar líquido amniótico para cultivo

1. Se obtiene la muestra de líquido amniótico, se transfiere a tubos de 15 ml y se centrifuga como en el paso 1 al 4 del protocolo anteriormente referido (técnica in situ en portaobjetos).
2. Mientras los tubos se centrifugan, etiquetar frascos de 25 cm². Se preparan tres frascos para muestras de amniocentesis entre las 14 y 22 semanas, dos frascos para muestras obtenidas tempranamente o tardías.
3. Tener cuidado de no alterar el botón celular cuando se retiren los tubos de la centrífuga. Se quita el sobrenadante de cada tubo, dejando 1 ml de líquido por encima del botón. Se transfiere el sobrenadante a otro tubo y se guarda para pruebas bioquímicas.
4. Si el líquido se dividió en dos tubos para centrifugar, resuspender uno de los botones con 3 ml de medio Chang al 0% precalentado, golpear suavemente para resuspender el botón, después transferir esta primera suspensión celular a un segundo tubo y

resuspender el segundo botón. Si el tubo solo se transfirió a un solo tubo para centrifugar, gentilmente resuspender el botón en 3 ml de medio Chang al 20% precalentado.

5. Se distribuye equitativamente la suspensión celular en los frascos de cultivo. Se añade medio Chang precalentado para completar un volumen de 5 ml en cada frasco.
6. Se incuban los frascos por 4 a 6 días.

Alimentar y mantener los cultivos

7. Usando una pipeta Pasteur, se aspira el medio en un frasco de vacío.
8. Se añaden 5 ml de medio Chang al 20% al frasco y se incuban.
9. Manejar los frascos lo menos posible, pero se cambia el medio por lo menos una vez a la semana.

Cultivar las células para análisis de cromosomas metafásicos

10. En microscopio invertido, chequear los frascos periódicamente después de 5 o 6 días de cultivo. Cosechar las células cuando exista un número mitótico considerable. Usualmente se encuentra óptimo a los 6 o 12 días de cultivo.
11. Alimentar el cultivo de 12 a 22 horas antes de cosechar.
12. Cuando las células estén listas para cosecha, se agregan 100 µl de 10 mg/ml de Colcemid a cada frasco y se incuban por 20 minutos.
13. Se aspira el medio a un frasco, se enjuaga con 2 ml de tripsina/EDTA precalentado y se transfiere a un tubo de 15 ml.
14. Se añaden nuevamente 2 ml de solución tripsina/EDTA al frasco y se incuban por 5 minutos.
15. Se revisa la liberación de células en microscopio invertido.
16. Se añaden 2 ml de medio Chang al 20% para ayudar a remover las células de la superficie del frasco.
17. Se transfiere la suspensión a un tubo para centrifugar que contenga 2 ml de solución tripsina/EDTA. Centrifugar a 800 rpm.
18. Posterior al centrifugado, decantar el sobrenadante (o aspirar cuidadosamente), dejando una pequeña cantidad de líquido en la cual resuspender el botón celular.
Tratamiento de las células con solución hipotónica y fijador
19. Se añade 1 ml de solución hipotónica precalentada gota por gota, dejando que el líquido se deslice lentamente a un lado del tubo. Mezclar suavemente. Se añaden 6 ml adicionales de solución hipotónica precalentada, tapar el tubo e incuban por 10 minutos.
20. Se añaden 5 gotas de fijador 3:1 y se mezcla gentilmente.
21. Se centrifuga 10 minutos a 600 rpm.
22. Se remueve el sobrenadante y se añade 1 ml de fijador 3:1 gota por gota. Gentilmente se resuspende el botón.
23. Se añaden 6 ml de fijador 3:1, tapar tubo y enfriar por aproximadamente 30 minutos a -20°C.
24. Centrifugar 10 minutos. Se remueve el sobrenadante y se añaden 7 ml de fijador 3:1
25. Repetir paso 24 hasta que el fijador se haya cambiado 3 a 4 veces.
26. Después del último cambio de fijador, resuspender el botón en un pequeño volumen de fijador 3:1
27. Preparar laminillas para bandeado GTG. Típicamente tres a 5 laminillas.

TIPO DE ALTERACIONES CROMOSÓMICAS ENCONTRADAS EN ESTUDIOS CITOGENÉTICOS PRENATALES

Al realizar el estudio citogenético el resultado normal debe mostrar 46 cromosomas: 2 pares de autosomas más el complemento sexual XY en hombres y XX en mujeres. El resultado se reporta de la siguiente manera: 46,XY o 46,XX. Sin embargo existen una serie de anormalidades cromosómicas que se pueden encontrar en el cariotipo, y que se describirán a continuación: (Korf, 2001).

ALTERACIONES NUMÉRICAS:

Poliploidía. La tetraploidía ocurre raramente como una alteración constitucional, probablemente debido a la letalidad temprana en embriones de esta alteración. Es común en abortos espontáneos tempranos, pero también se puede observar al nacimiento. Los fetos triploides tienen cariotipos 69,XXX o 69,XYY. Un cariotipo 69,YYY en el cual no se encuentre cromosoma X no es viable. Algunos productos triploides que completan la gestación son mosaicos con línea triploide más línea diploide (ej. 46,XX/69,XXX). (Korf, 2001).

Trisomía. Todas las posibles trisomías cromosómicas se han observado en abortos espontáneos, pero solo unas pocas (8, 13, 18, 21, X, y Y) se observan en nacidos vivos. La trisomía ocurre debido a una no disyunción durante la meiosis o la mitosis. Un cariotipo trisómico se indica con la nomenclatura 47,XY, +21 (masculino con trisomía 21) por ejemplo. Las trisomías de cromosomas sexuales incluyen por ejemplo 47,XXX (síndrome triple X) o 47,XXY (Síndrome de Klinefelter). (Korf, 2001).

Monosomía. La mayoría de las monosomías no son viables. La única excepción notable es el síndrome de Turner, en el cual sólo se encuentra un cromosoma X. Esto se indica como 45,X. (Korf, 2001).

ANOMALÍAS ESTRUCTURALES

Las anormalidades cromosómicas estructurales incluyen una amplia variedad de formas que se muestran en la figura 1.

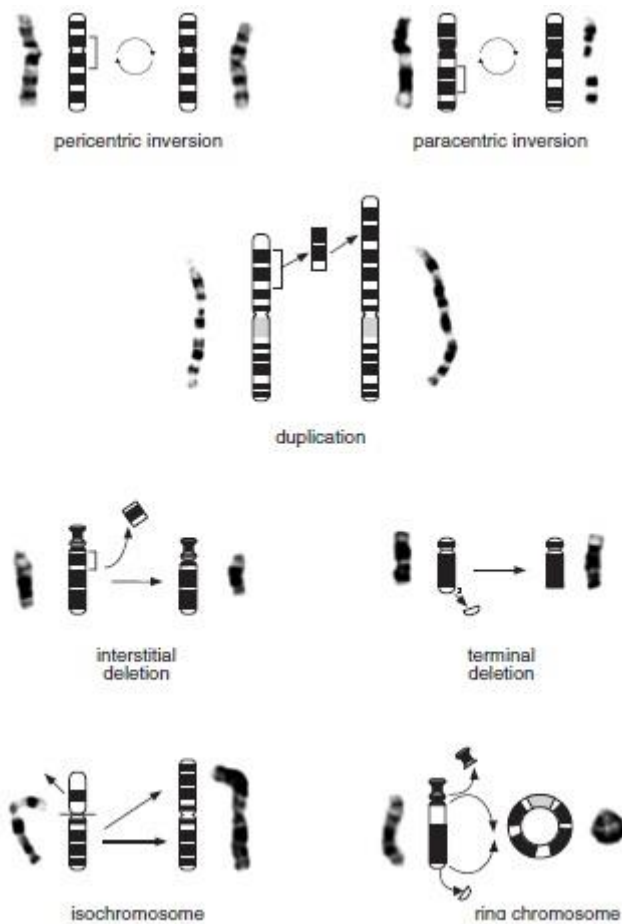


Figura 1. Esquema representando algunas anomalías estructurales cromosómicas. Tomada de Gardner, et al; 2012.

Delección. Las deleciones pueden ser terminales o intersticiales. Las deleciones intersticiales involucran dos rompimientos en el cromosoma, pérdida de material, y reunión de los extremos rotos. La mayoría de las deleciones son probablemente intersticiales ya que todos los extremos de los cromosomas deben tener telómeros. La relevancia clínica de una deleción es por la monosomía que genera la parte deletada. Recientemente, se han descrito síndromes en los cuales una región cromosómica pequeña se pierde donde los síntomas se deben a una monosomía para un grupo de genes contiguos. La detección de dichas deleciones frecuentemente necesita técnicas de citogenética molecular o cariotipos de alta resolución. (Korf, 2001).

Duplicación. En este tipo de anomalía un segmento del material cromosómico se duplica, usualmente en tándem con la secuencia original. La región duplicada puede tener la misma orientación que la secuencia original (duplicación directa) o puede tener un giro de 180° (duplicación invertida). El fenotipo se debe a trisomía de la región duplicada. (Korf, 2001).

Inversión. En esta anomalía se tiene un segmento de material cromosómico el cual se invierte 180° con respecto de su orientación normal. Esto involucra dos sitios de rompimiento

y su reunión subsecuente. Si la inversión incluye al centrómero se conoce como “pericéntrica”, y si no lo incluye como “paracéntrica”. Las inversiones pueden asociarse a algún fenotipo clínico si el sitio del rompimiento ocurre dentro de un gen, lo cual conlleva a disrupción de la secuencia génica, sin embargo la mayoría no afecta directamente el fenotipo de un individuo. Las inversiones pueden llevar sin embargo a rearrreglos cromosómicos no balanceados (recombinantes). Durante la meiosis, la recombinación del cromosoma con la inversión puede llevar a la formación de una asa, si la recombinación meiótica ocurre en esta asa, el producto contendrá duplicaciones de algunas regiones cromosómicas y deleciones de otras. En la inversión paracéntrica, la recombinación resulta en un fragmento dicéntrico o acéntrico que son inestables durante la mitosis. Las consecuencias de ser portador de una inversión pueden corresponder a la formación de gametos no balanceados lo que puede llevar a abortos recurrentes o en algunas ocasiones el nacimiento de un hijo con malformaciones congénitas. La inversión pericéntrica del cromosoma 9 es una variante heteromórfica común que no tiene significancia clínica hasta el momento reportada. Otra inversión común pericéntrica involucra al cromosoma 2 y no se asocia usualmente con alteraciones en el fenotipo. (Korf, 2001).

Isocromosomas. Los isocromosomas contienen dos copias de los brazos cortos o largos de los cromosomas separados por un centrómero y se piensa que surgen por un error en la división del centrómero. El resultado es trisomía del brazo duplicado y monosomía del brazo faltante, con consecuencias fenotípicas. (Korf B, 2001).

Anillos cromosómicos: Un anillo cromosómico surge por rompimiento en los brazos cortos y largos con la posterior fusión de los extremos rotos. Puede haber un fenotipo clínico por dos mecanismos. El primero debido a la pérdida de material en los dos brazos, llevando a monosomía de estas regiones. Segundo, el anillo tiende a ser inestable durante la división celular: se puede perder en algunas células, llevando a monosomía, mientras que en otras puede haber intercambio en cromátides hermanas resultando en un anillo grande y consecuente trisomía. Los individuos con anillos cromosómicos pueden tener diferentes poblaciones celulares con diferente constitución con respecto al anillo. Fenotipos específicos varían dependiendo del cromosoma involucrado y la cantidad de material que se pierda. (Korf B, 2001).

Translocación. Una translocación involucre el intercambio de segmentos de un cromosoma a otro, usualmente recíproco. En una translocación recíproca balanceada, el rompimiento ocurre en cada cromosoma y los segmentos resultantes de dicho rompimiento se intercambian entre estos cromosomas, por lo que no hay ganancia ni pérdida de material. Un portador de una translocación recíproca balanceada puede ser asintomático, aunque algunos individuos puedan presentar manifestaciones clínicas debido a disrupción en el gen donde ocurrió el rompimiento. Durante la meiosis, los cromosomas involucrados en la translocación se asocian en una configuración cuadrivalente. Dependiendo de cómo los cromosomas segreguen durante la primera división meiótica, los gametos resultantes podrán tener complemento cromosómico normal, translocación balanceada o translocación no balanceada. La última resulta en una trisomía o monosomía parcial, que puede llevar a aborto o anomalías congénitas múltiples. (Korf B, 2001).

Los cromosomas acrocéntricos (13, 14, 15, 21, y 22) pueden involucrarse en translocaciones entre ellos en los que los brazos se fusionen cerca de los centrómeros (translocaciones Robertsonianas). Durante la meiosis, los cromosomas involucrados en la translocación Robertsoniana se asocian en una configuración bivalente. Si un progenitor es portador de alguna translocación que involucre al cromosoma 21 produce un gameto que tenga tanto el cromosoma translocado 21 como el cromosoma 21 normal, esto puede llevar a trisomía 21 en el hijo. (Korf, 2001).

Inserción. Esta es una forma de translocación en la cual el material deletado de un cromosoma se inserta en otro. El material de inserción puede estar en su orientación normal o invertido. Trisomías parciales pueden resultar después de la segregación meiótica de los cromosomas con la inversión. (Korf, 2001).

Rearreglos complejos. Translocaciones o inserciones pueden involucrar más de dos cromosomas. Esto ocurre particularmente con anomalías cromosómicas adquiridas como las observadas en tumores. (Korf, 2001).

Mosaicismo. La presencia de dos líneas celulares en algunas de las células del individuo. Esto es resultado de cambios cromosómicos en las etapas iniciales embrionarias. Las consecuencias clínicas dependen de la naturaleza de la anomalía y de la proporción y distribución de las células afectadas. En algunas ocasiones las líneas celulares anormales pueden estar confinadas a membranas extraembrionarias. (Korf, 2001).

DIAGNÓSTICO PRENATAL EN MÉXICO

A continuación se presenta una tabla que muestra los estudios publicados de diagnóstico prenatal en México.

INSTITUCIÓN	TOTAL DE ESTUDIOS	% ANORMALES	REFERENCIA
Centro Médico Nacional “20 de Nov”, ISSSTE	179	3= 1.67%	Violante Díaz et al. 1989.
Instituto Nacional de Perinatología	350	10= 2.9%	Grether et al. 1991
Clínica Privada	44	1= 2.27%	Garza Fernández et al. 1998.
Clínica de Reproducción y Genética, Hospital Ángeles del Pedregal	3081	128= 4.2%	Cerrillo Hinojosa et al. 2009.
Laboratorio Diagen/Centro Médico ABC	1500	68= 4.5%	Grether González et al. 2010.
Facultad de Medicina y Hospital Universitario UANL	249	61= 25%	Gómez Puente et al. 2012.
Instituto Nacional de Perinatología	215	42= 19.53%	Fernández Hernández et al. 2013.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El diagnóstico prenatal ha sido una de las áreas con mayor desarrollo a nivel internacional persiguiendo el objetivo de detectar durante el principio del embarazo una alteración genética. El desarrollo de metodologías citogenéticas y la toma invasiva de células fetales permitió que desde el inicio de los 70 el diagnóstico prenatal estuviera basado en el estudio del cariotipo fetal. En nuestro país, el desarrollo del diagnóstico prenatal invasivo no ha sido equiparable a la experiencia mundial y en pocos centros se realiza.

En México, el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” del ISSSTE, fue el pionero en realizar estos estudios desde 1983. A nivel de instituciones públicas de salud el estudio citogenético de células fetales para diagnóstico prenatal solamente se ha realizado de manera constante los laboratorios del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” y en el Instituto Nacional de Perinatología.

Conforme los tiempos modernos han prolongado la edad de maternidad, el diagnóstico prenatal se ha incrementado ya que existe una relación conocida entre la edad materna y el riesgo de algunas aneuploidías. Paralelamente en nuestro centro se ha desarrollado un programa de reproducción asistida, donde la mayor parte de las pacientes tienen edad de riesgo para aneuploidías, lo cual implica la necesidad de un asesoramiento genético respecto a las alteraciones cromosómicas.

JUSTIFICACIÓN

Para poder dar un asesoramiento genético adecuado sobre el riesgo para aneuploidías y otras alteraciones así como para el diagnóstico prenatal se requiere conocer riesgos empíricos y la realidad local de la frecuencia y tipo de alteraciones de la población estudiada.

Recientemente se ha reportado la prevalencia de alteraciones en las amniocentesis realizadas durante los últimos 30 años en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” (Solís, 2013). Sin embargo desde la perspectiva genética se requiere conocer exactamente el tipo específico de alteraciones, la presencia de variantes no asociadas a enfermedad conocidas como polimorfismos y las implicaciones clínicas y el pronóstico de cada una de las alteraciones.

Por tanto, con el objetivo de dar el asesoramiento genético más adecuado en la consulta genética preconcepcional y posterior a encontrar una anomalía en un estudio prenatal invasivo, a través del presente trabajo se pretende conocer las implicaciones a nivel de laboratorio del estudio de células fetales, la frecuencia y tipo de alteraciones numéricas, estructurales y polimorfismos cromosómicos en estas células, y finalmente a través de una revisión de la literatura determinar las implicaciones, el pronóstico, y el riesgo de recurrencia de cada una de las alteraciones encontradas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia y tipo específico de alteraciones numéricas, estructurales y polimorfismos cromosómicos en el estudio citogenético de células fetales para el diagnóstico prenatal y sus implicaciones para el asesoramiento genético.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las variantes a la metodología citogenética que han ocurrido en el laboratorio de Genética desde el inicio del estudio de las células fetales.
- Determinar el porcentaje de estudios que llegaron a un resultado en relación al total de muestras recibidas, y las variables de laboratorio o de la muestra asociadas al no obtener resultados.
- Determinar la frecuencia y el tipo específico de alteraciones numéricas, estructurales y polimorfismos encontrados en células fetales.
- Valorar las acciones tomadas en el laboratorio en los casos no conclusivos o de significancia clínica incierta.
- En base a una revisión de la literatura, determinar las implicaciones clínicas, pronósticas y de recurrencia para cada una de las alteraciones encontradas.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio retrospectivo de tipo descriptivo analizando los archivos del Laboratorio de Genética del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE del periodo de 1983 al 2013.

DEFINICIÓN DE LAS UNIDADES DE OBSERVACIÓN

- Indicación de estudio: será la indicación que acompaña la muestra indicada por el médico que realizó la toma.
- Volumen de la muestra: cantidad en mililitros de muestra.
- Características macroscópicas de la muestra: color, presencia de células sanguíneas.
- Edad materna: edad de la madre al momento de toma de la muestra.
- Edad paterna: edad del padre al momento de toma de la muestra.
- Antecedente de alteración cromosómica: parejas con alteración cromosómica detectada, que fueron sometidas a procedimiento diagnóstico invasivo.
- Semanas de gestación: tiempo de gestación de la mujer embarazada.
- Técnica de cultivo: metodología empleada para el procesamiento de la muestra incluyendo tipo de cultivo, medio de cultivo, procedimientos para la cosecha de las células y bandedo.
- Mosaicismo: presencia de dos o más líneas celulares en el estudio.
- Alteración numérica: anomalía en el número de cromosomas:
 - + Monosomía: ausencia de un cromosoma.
 - + Trisomía: presencia de un cromosoma extra.
 - + Poliploidía: presencia de tres o más juegos haploides de cromosomas.
- Alteración estructural: anomalías en la estructura de los cromosomas.
- Polimorfismo cromosómico: variante cromosómica cuya frecuencia en la población es frecuente y no se asocia a patología.
- Riesgo teórico: las posibles segregaciones de la alteración encontrada.
- Riesgo empírico: segregación cromosómica y recurrencia según lo reportado en la literatura
- Pronóstico: complicaciones y viabilidad a término de la alteración citogenética encontrada.
- Prevalencia: frecuencia de la alteración encontrada de acuerdo a la literatura.

CRITERIOS

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todas las muestras procesadas en el laboratorio en el periodo comprendido de 1983 a 2013.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Registro incompleto de la muestra o que no permita obtener la información para el presente estudio.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, con número de registro 186-2014. Que considera que siendo un estudio retrospectivo no se requiere consentimiento informado.

Los investigadores garantizaron que los datos relacionados con la privacidad fueron manejados en forma confidencial, para cumplir lo anterior se utilizó una de base de datos, que contine número de folio para identificarlos y de esta forma conservar el anonimato de los mismos.

RESULTADOS

Se realizaron 1831 estudios citogenéticos de células fetales del año 1983 al 2013, en el Laboratorio de Genética del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE. El 95.14 % de los estudios tuvieron resultado normal, 4.86% presentaron resultado considerado anormal, con un 3.3% de alteraciones numéricas y 1.53% de estructurales (Figura 1).



Figura 1. Distribución de porcentajes de resultados sin alteración y con alteración (numérica y estructural).

En el 2% de los resultados de la población estudiada se encontraron polimorfismos cromosómicos.

En la frecuencia de estudios realizados por año, se observa que en el año 2006 se realizaron 124 estudios (6.77%), siendo esta la mayor cantidad en los años estudiados, mientras que en el año 2013 únicamente se realizaron 6 estudios (0.33%), siendo la menor cantidad en el total de los años estudiados (Figura 2).

Existieron múltiples indicaciones médicas para la realización del estudio citogenético prenatal, siendo la más frecuente la edad materna de riesgo, observada en 55.73% de los casos; en la Figura 3 se observan las siguientes 9 indicaciones más frecuentes.

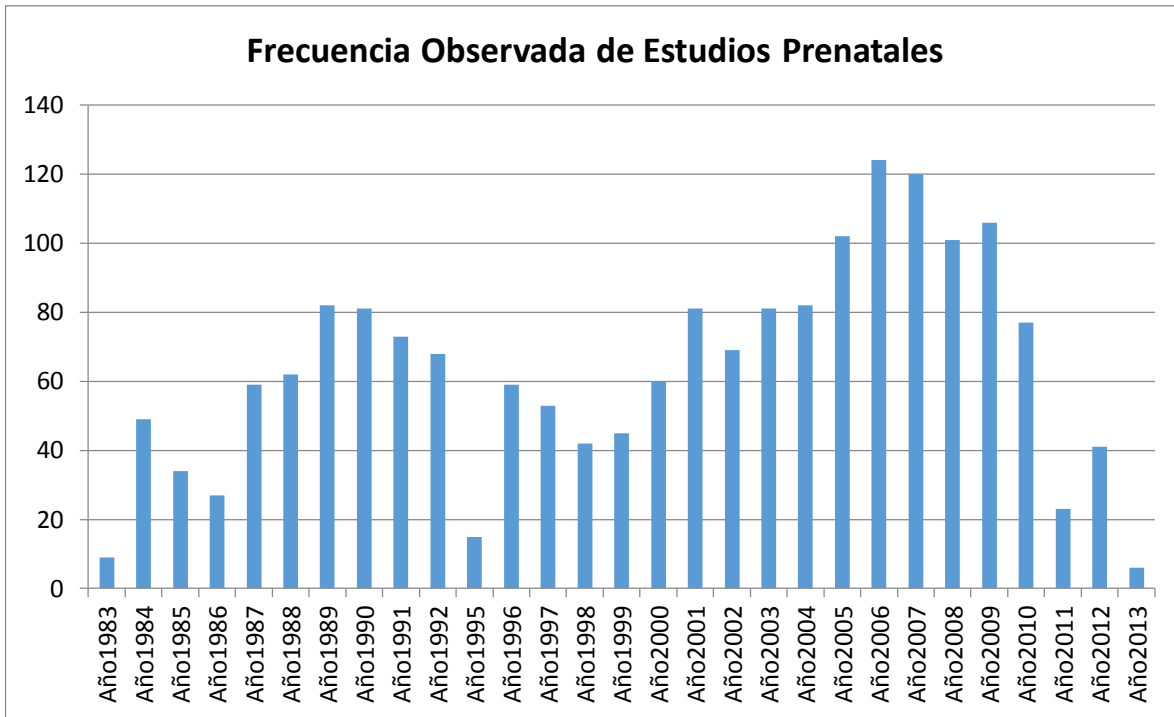


Figura 2. Frecuencia observada de estudios prenatales por año (1983-2013).

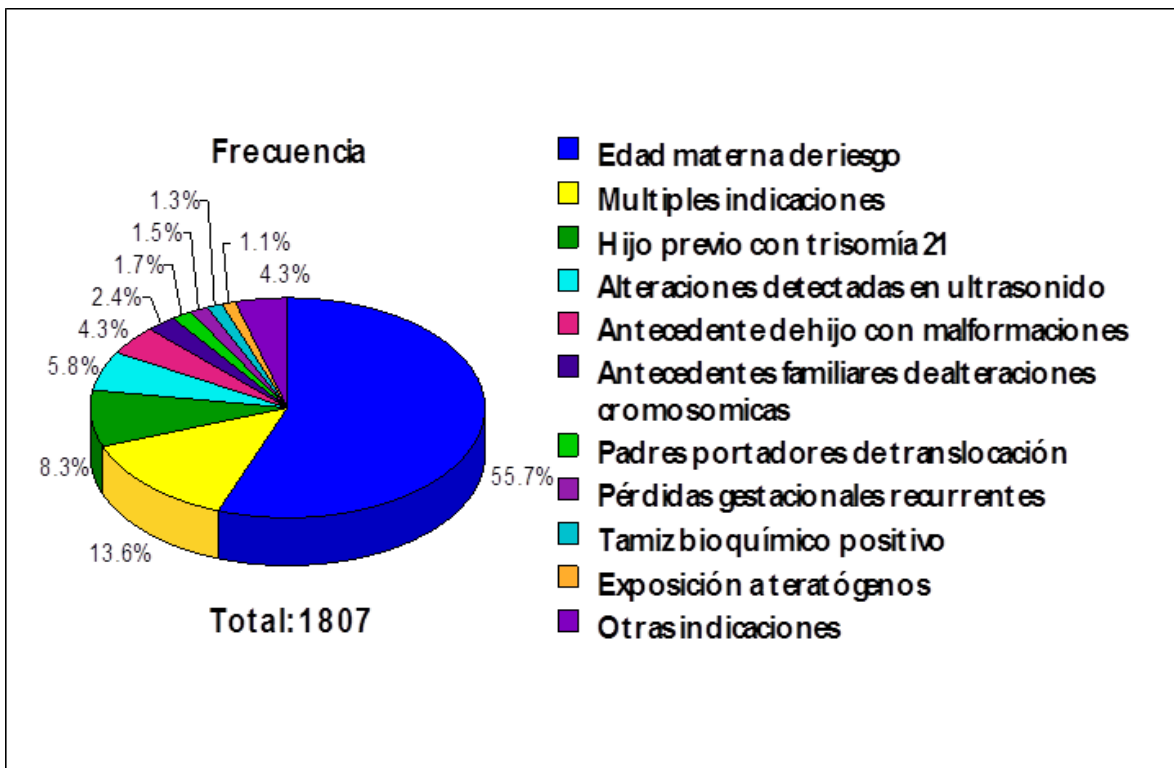


Figura 3. Indicaciones más frecuentes para estudio citogenético prenatal.

Se encontraron resultados anormales en 89 casos, siendo 61 alteraciones numéricas y 28 estructurales.

En el caso de las anomalías cromosómicas numéricas, encontramos frecuencia de 3.3%, con un intervalo de confianza de 2.6 a 4.3; entre las diferentes alteraciones la más frecuente la trisomía 21 (26 casos, 42.62%). Tabla 1.

ALTERACIONES NUMERICAS	Frecuencia	%	Prevalencia (%)	LIM INF IC(95%)	LIM SUP IC(95%)
Poliploidia	0	0.00	0.00	0.00	0.21
Trisomía 16	1	1.64	0.05	0.00	0.32
Trisomía 18	15	24.59	0.82	0.48	1.41
Trisomía 21	26	42.62	1.42	0.97	2.17
Monosomía X	7	11.48	0.38	0.16	0.82
47,XXY	1	1.64	0.05	0.00	0.32
Anormalidad cromosomas sexuales	4	6.56	0.22	0.06	0.59
Mosaico	7	11.48	0.38	0.16	0.82
Total	61	100.00	3.33		

Tabla 1. Alteraciones numéricas y su frecuencia por tipos.

En el caso de las alteraciones estructurales, la frecuencia es de 1.53% (IC 95% 1.01 a 2.20), la más frecuente por grupo las translocaciones robertsonianas en 11 casos (39.28%), seguidas de las translocaciones recíprocas (35.7%), se observó un resultado único de las siguientes alteraciones: 46,X,inv(Y), 46,XX,add(3)(p25-qter), 46,X,del(Y)(q12), 46,XX,del(18)(p11.1), 46,XX,psu dic(15), 46,X,inv(X)(q13q28)mat, 46,XY,inv(1)(p13q32). (Tabla 2).

RESULTADO	NO. CASOS	%
Cromosoma 18	1	3.57
Cromosoma Y	1	3.57
Cromosoma 1	1	3.57
Cromosoma X	1	3.57
Cromosoma Y	1	3.57
Pseudo dicentrico 15	1	3.57
Robertsoniana 13;14	4	14.28
Robertsoniana 14;21	4	14.28
Robertsoniana 14;15	2	7.14
Robertsoniana 15;21	1	3.57
Translocaciones recíprocas	10	35.7
Adición	1	3.57
Total	28	100

Entre las indicaciones para realizar el estudio citogenético prenatal en las que se observó resultado alterado tenemos que se encuentran las siguientes:

Num	INDICACIONES MEDICAS PARA EL ESTUDIO PRENATAL
1	Edad materna de riesgo
2	Múltiples indicaciones
3	Hijo previo con trisomía 21
4	Alteraciones detectadas en ultrasonido
5	Antecedente de hijo con malformaciones
6	Padres portadores de translocación
7	Pérdidas gestacionales recurrentes
8	Tamiz bioquímico positivo
9	Angustia materna
10	Otros

Las indicaciones en las que no se observó resultado alterado son las siguientes:

Num	INDICACIONES MEDICAS PARA EL ESTUDIO PRENATAL
1	Antecedentes familiares de alteraciones cromosómicas
2	Exposición a teratógenos
3	Antecedentes familiares de enfermedad hereditaria/retraso mental
4	Padres portadores de alteraciones cromosómicas (excepto translocaciones)
5	Hijo previo con trisomía 13
6	Determinación de sexo
7	Hijo previo con trisomía 18
8	Enfermedad materna
9	Muertes neonatales
10	Reproducción asistida

En el caso de la edad materna, la mayor frecuencia de estudios realizados se encontró en el grupo de 35 a 40 años de edad, y la menor frecuencia de los 15 a los 20 años, con una media de 36.7 años. Figura 4.

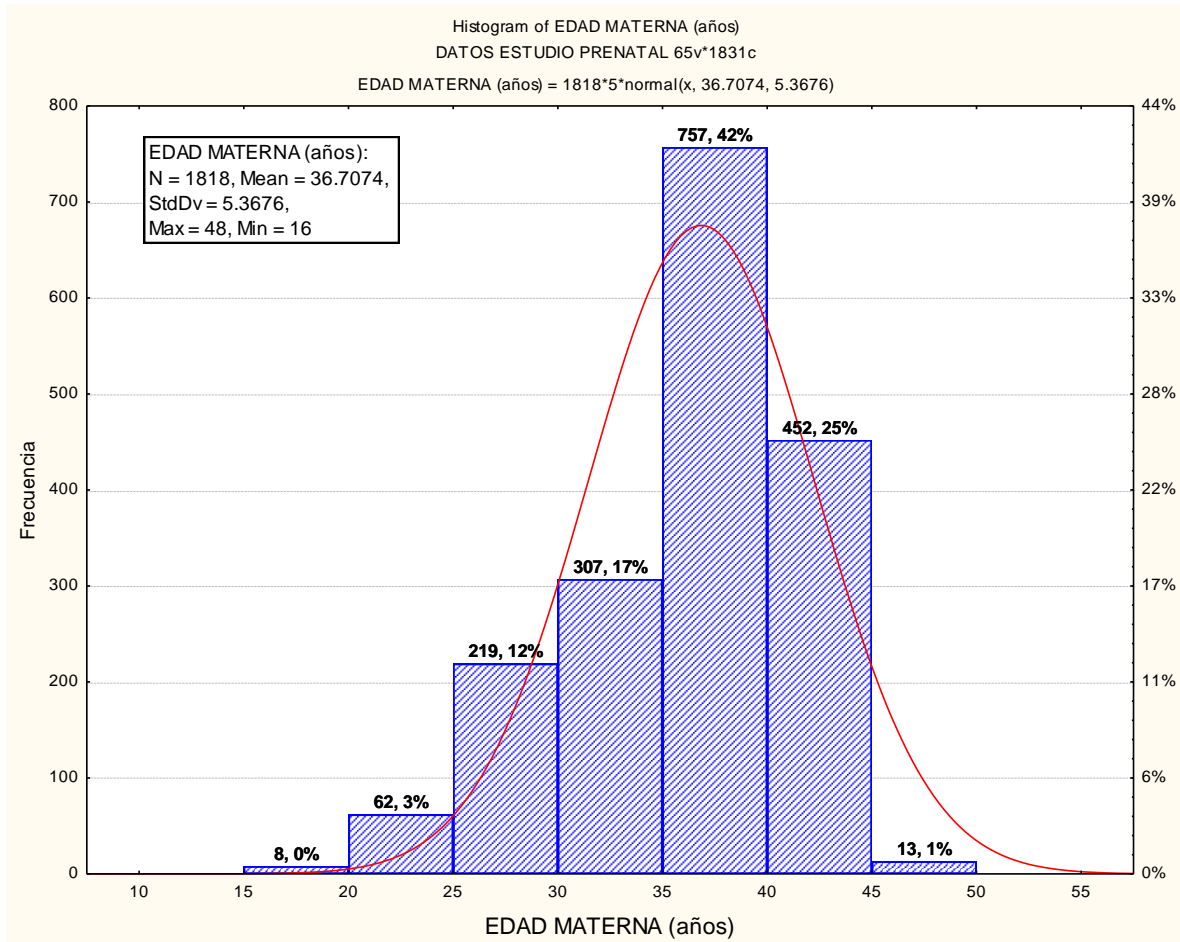


Figura 4. Distribución por edad materna.

Al hacer la división en dos grupos de edad, mayores o igual a 35 años (edad materna de riesgo, indicación más frecuente para estudio citogenético prenatal) y menores de 35 años, la distribución se observa en la figura 5.

En cuanto a la edad paterna, la distribución por grupos de edades se observa en la figura 6, el grupo más frecuente de 35 a 40 años, con una media de 38.5 años.

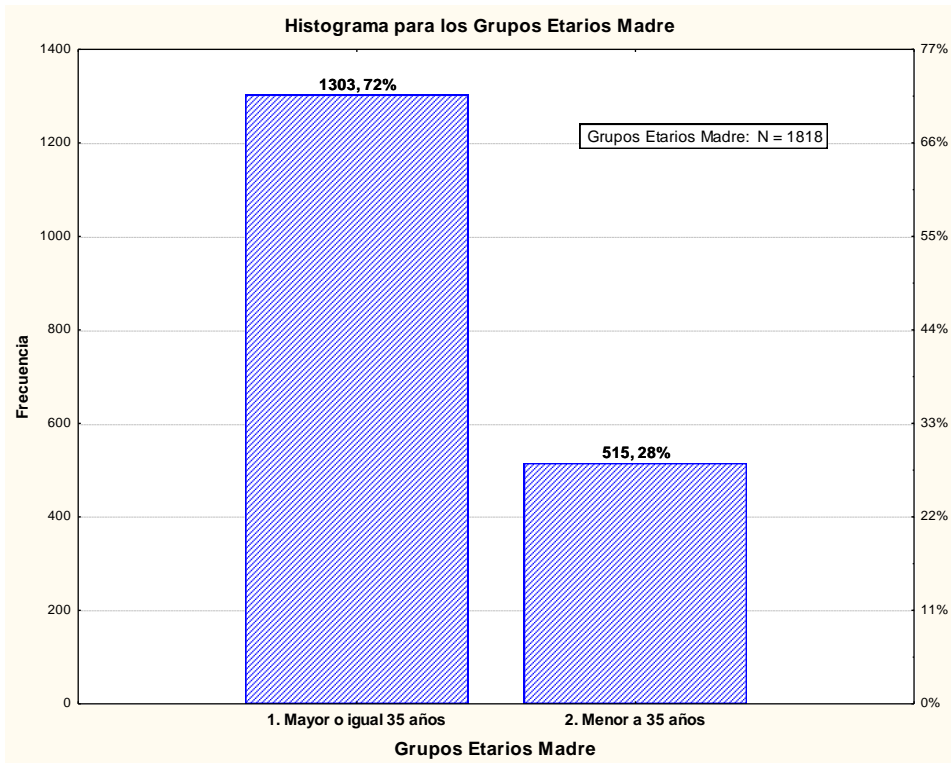


Figura 5. Distribución por edad materna de riesgo y menores de 35 años.

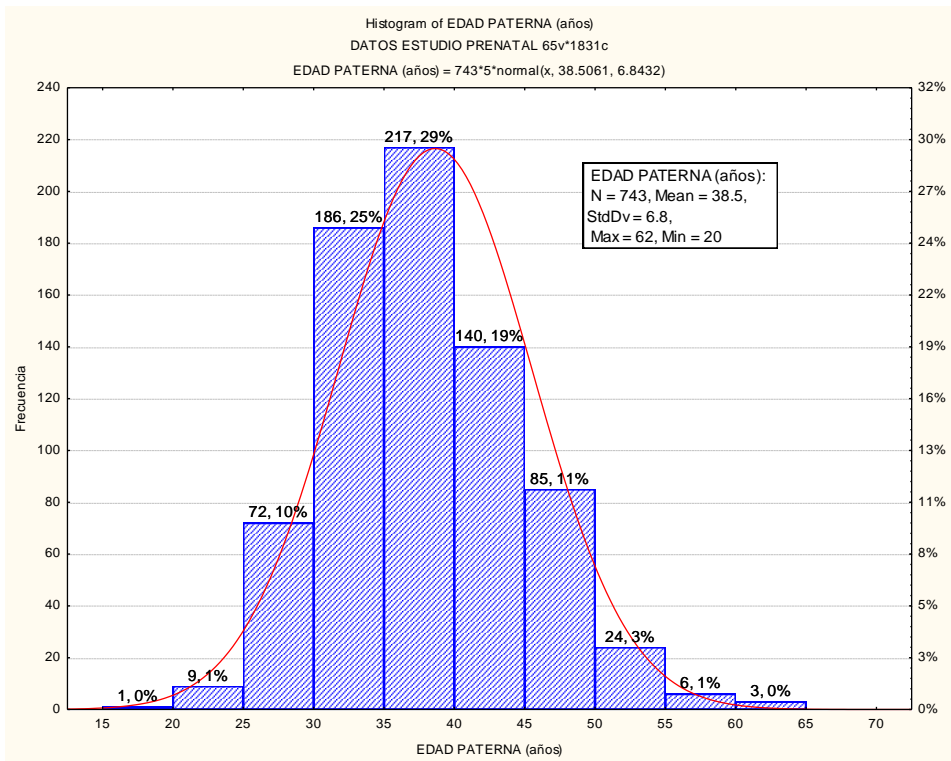


Figura 6. Distribución por edad paterna.

En cuanto a la edad materna versus edad paterna, encontramos que la edad paterna se encuentra más avanzada que la edad materna en la población estudiada, con una diferencia de 1.8 años de edad. Figura 7.

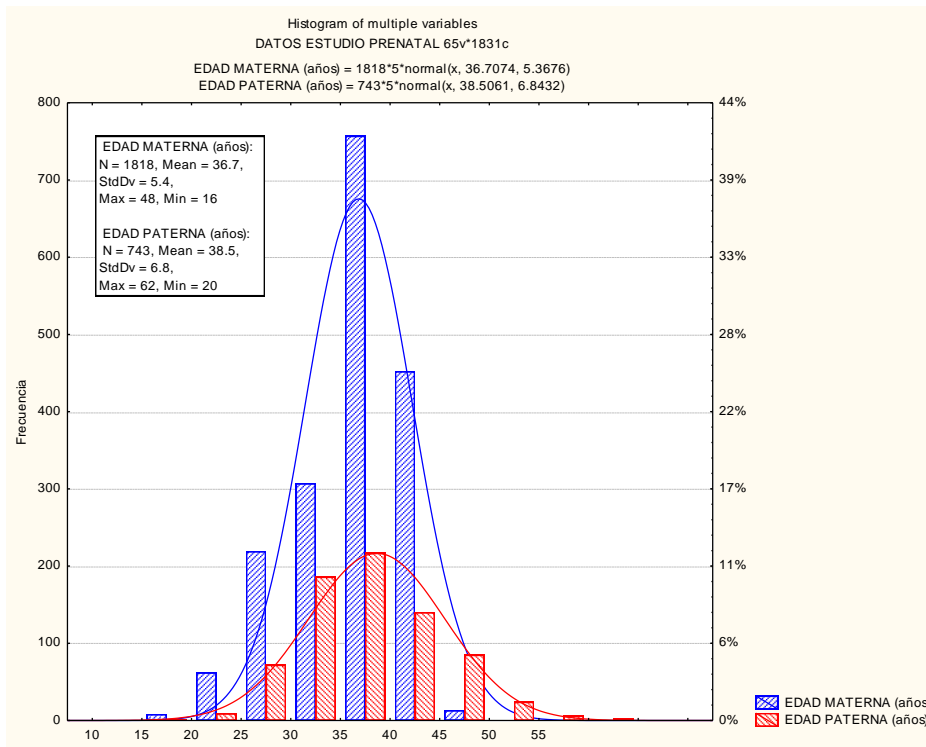


Figura 7. Comparación entre edad materna versus edad paterna.

Respecto de la edad materna y las alteraciones numéricas, de acuerdo a edad materna de riesgo y menores de 35 años, encontramos que en las mujeres con edad mayor o igual a 35 años (edad materna de riesgo) hubo un total de 42 resultados, mientras que en las mujeres de menos de 35 años hubo 18 casos. Figura 8.

En el caso de las alteraciones estructurales con respecto a edad materna de riesgo y mujeres menores de 35 años, se observaron 10 en el grupo de edad materna de riesgo, y 18 en menores de 35 años. Figura 9.

En la figura 10, se encuentran las edades promedio de acuerdo a los tres grupos de resultados citogenéticos prenatales (sin alteración, alteración numérica y alteraciones estructurales), observando una mayor edad en los resultados con alteraciones numéricas, en comparación con las estructurales y los resultados no alterados.

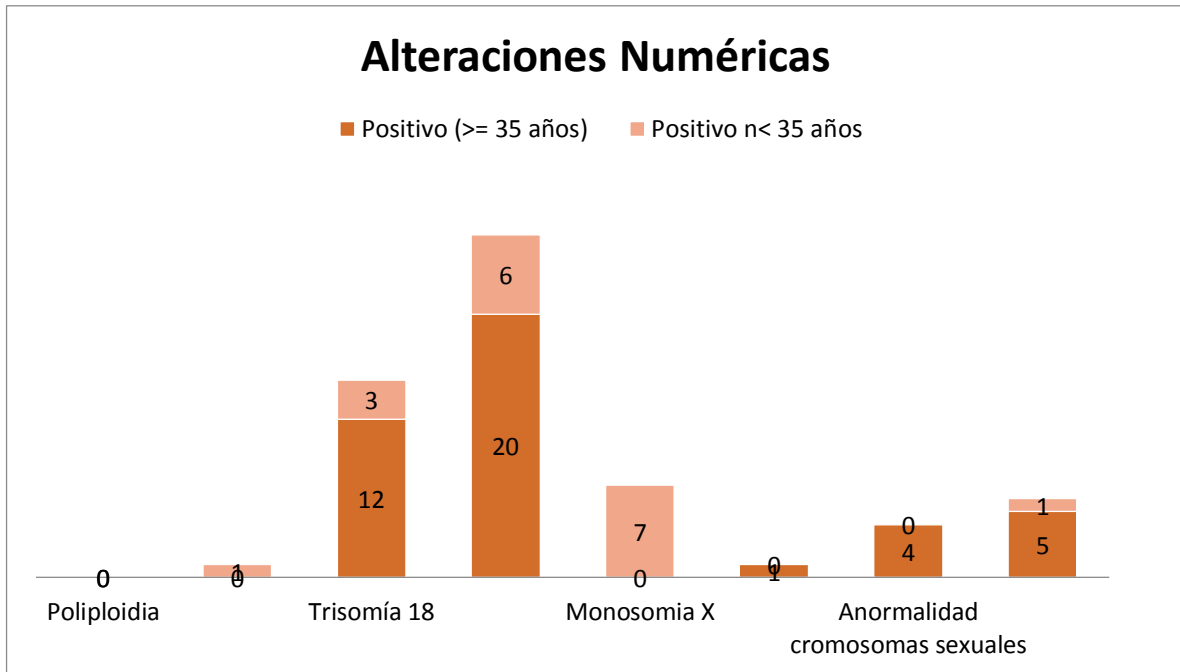


Figura 8. Comparación entre el grupo de mujeres con edad materna de riesgo versus menores de 35 años en alteraciones numéricas.

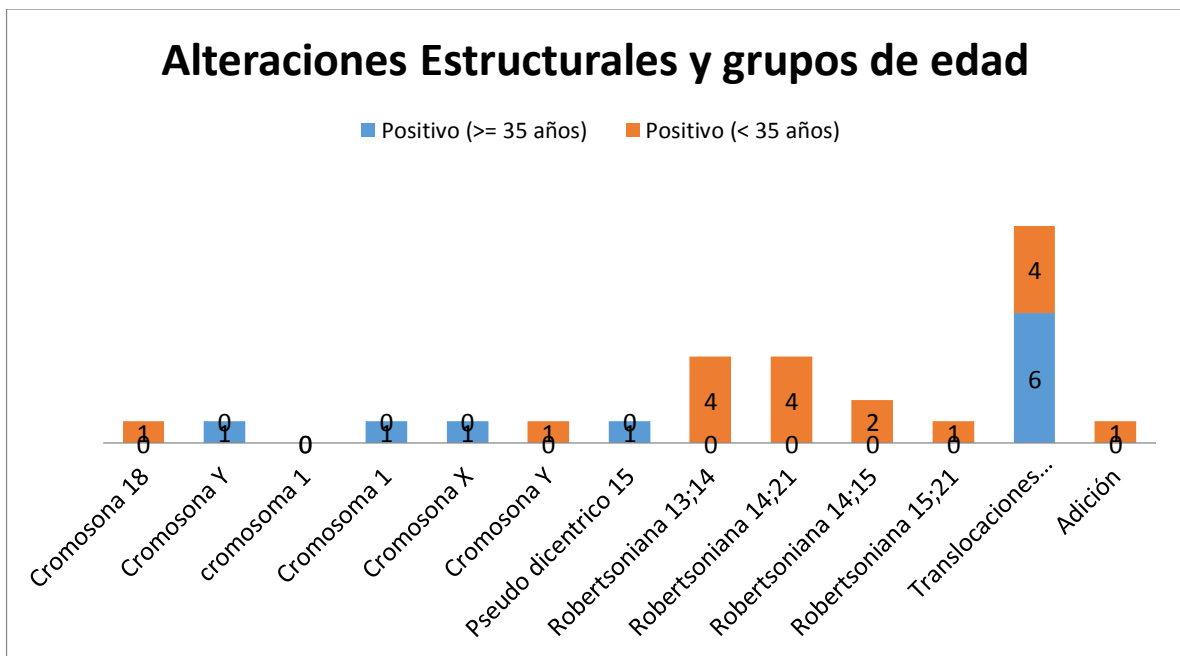


Figura 9. Comparación entre edad materna de riesgo versus menores de 35 años en alteraciones estructurales.

En los resultados alterados, numéricos y estructurales, se observó una diferencia en las edades maternas en la población estudiada, siendo en las alteraciones numéricas mayor en promedio la edad materna que en las alteraciones estructurales. Figura 10.

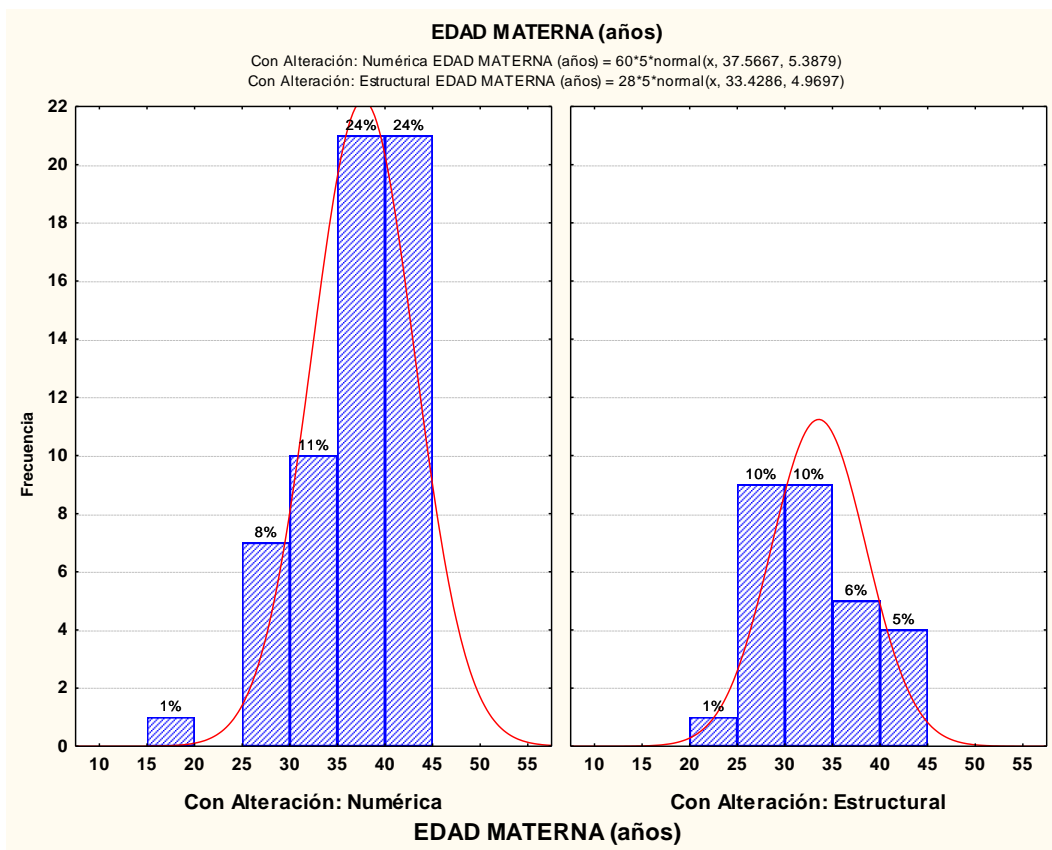


Figura 10. Edad materna comparada en alteraciones numéricas versus alteraciones estructurales.

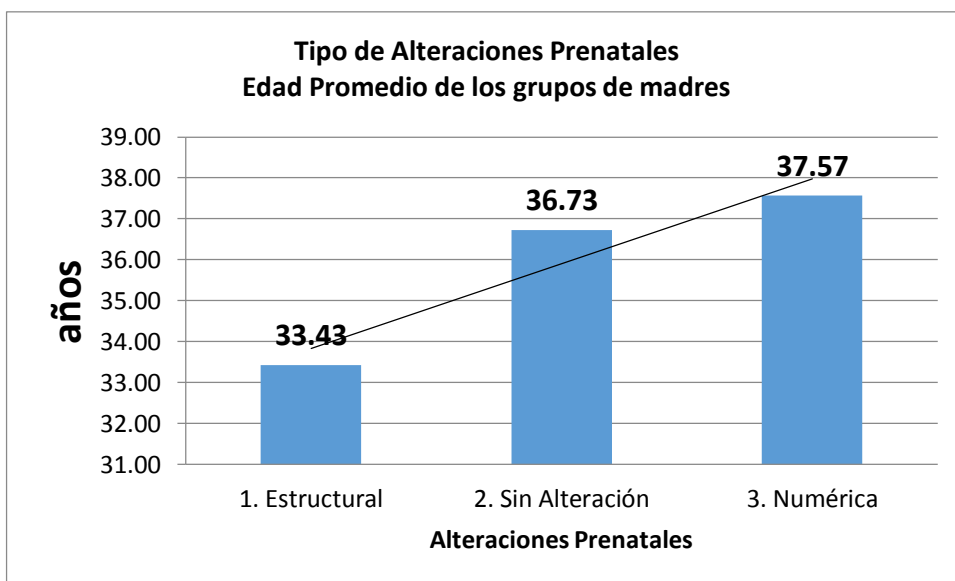


Figura 11. Edad promedio observada en los tres grupos de resultados (sin alteración, alteraciones numéricas y alteraciones estructurales) en las mujeres con estudio citogenético prenatal.

Al realizar la Prueba Z, comparando edad materna de riesgo versus menores de 35 años tenemos que el resultado es 3.58, con una $p < 0.001$.

Edad Materna	Madres con alteraciones	Porcentaje	Prueba Z 3.58 $p < 0.001$
≥ 35 años	60	62.50	
< 35 años	36	37.50	
Total	96	100.00	

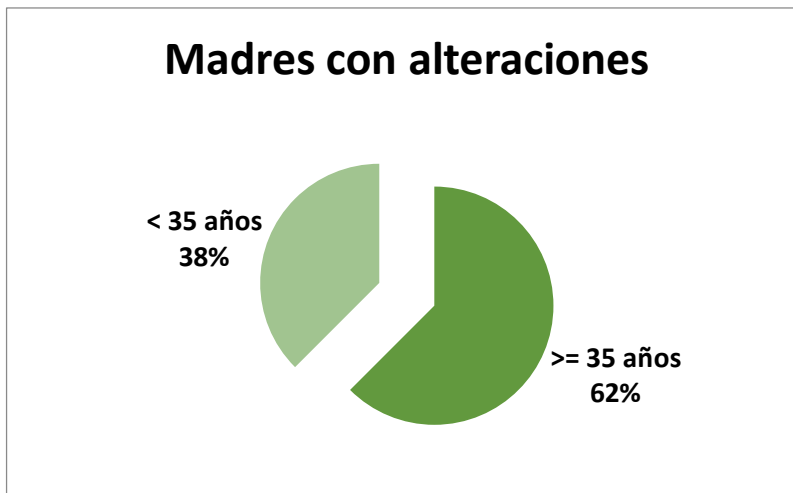


Figura 12. Comparativo entre edad materna de riesgo y menores de 35 años respecto a alteraciones en estudio citogenético.

DISCUSIÓN

El estudio citogenético prenatal es un método de diagnóstico genético cromosómico de gran importancia y utilidad. Su desarrollo y evolución han marcado diversas etapas de acuerdo a las indicaciones para su realización y las diferentes implicaciones para la toma de decisiones en la pareja respecto al embarazo, ya que permite obtener un diagnóstico temprano de alteraciones cromosómicas que signifiquen un mal pronóstico para el producto.

En los resultados obtenidos se observa una frecuencia de alteraciones de 4.86%, similar a lo reportado previamente en la literatura mundial y mexicana. De igual manera la indicación más frecuente es la edad materna de riesgo, y las alteraciones numéricas las más observadas, siendo la trisomía 21 la más frecuente.

De los resultados observados, las alteraciones numéricas son las más frecuentes. Las aneuploidías de autosomas son de importancia para el asesoramiento genético por edad materna de riesgo, ya que existe una clara y comprobada correlación entre estas; existen tablas específicas para cálculo de riesgo para todas las aneuploidías, así como tablas específicas para las más frecuentemente observadas: trisomía 21, trisomía 18 y trisomía 13 (Anexo 1).

De las alteraciones estructurales, las más frecuentes son las translocaciones robertsonianas, constituyen uno de los asesoramientos genéticos importantes para la pareja en edad reproductiva en la que alguno sea portador de dicha alteración, ya que al segregar para formar las diferentes posibilidades de gametos, pueden resultar en trisomías viables o no para los productos de acuerdo a los cromosomas involucrados en dicha translocación. El riesgo teórico para padres portadores de una translocación robertsoniana por embarazo para obtener un producto sano, aborto o enfermo es de 33%; y el riesgo empírico para mujeres de 10-15%, y para hombres 5%.

Otra alteración importante de mencionar, son las translocaciones balanceadas, ya que al segregar para la formación de gametos, el resultado puede ser desde un producto sin alteración en cromosomas, hasta portador de la misma translocación y trisomías o monosomías parciales, que puedan dar lugar a productos no viables, o con algún cuadro compatible con la vida, en la que se presente un fenotipo alterado, de acuerdo también al cromosoma involucrado.

En nuestra institución, se cuenta con amplia experiencia en el diagnóstico citogenético prenatal, ya que es pionera en la realización de dichos estudios. Las técnicas empleadas han evolucionado a través de los años lo que ha permitido que se obtengan resultados en la mayoría de los estudios realizados; así mismo, se han ido incorporando nuevas metodologías, incluyendo la citogenética molecular (FISH: hibridación fluorescente in situ).

Nuestra propuesta de indicaciones para los estudios prenatales basados en nuestra experiencia institucional y la información genética actual de alteraciones cromosómicas son los siguientes:

- a) Toda mujer que este en edad reproductiva debe tener acceso a una consulta genética pre-embarazo y debería ser obligatoria para aquellas parejas con antecedente de infertilidad, un embarazo o hijo con malformaciones, antecedente de pérdidas gestacionales recurrente o por edad de riesgo materna para aneuploidías o paterna para otras alteraciones monogénicas.
- b) El tamizaje de alteraciones cromosómicas asociadas a edad de riesgo para aneuploidias (>35 años) se aborda mejor con estudios no invasivos como serían: el estudio de primer trimestre (traslucencia nucal, PAA, hCG) o el cuádruple marcador en el segundo trimestre. Conforme vayan estando disponibles los estudios de DNA fetal en sangre materna en México y a nivel institucional estos estudios serán la mejor estrategia para tamizaje de embarazos en riesgo de alteraciones cromosómicas.
- c) La edad materna avanzada no es la mejor indicación para el estudio cromosómico invasivo. Toda mujer que desee estar segura que el producto no es portador de una alteración cromosómica se le debe ofrecer un estudio cromosómico invasivo, como indican los lineamientos del American College of Medical Genetics and Genomics ()
- d) Las indicaciones más apropiadas para un estudio invasivo son: fetos malformados o con marcadores ultrasonográficos compatibles con un alteración cromosómica (ejemplo translucencia nucal aumentada, cardiopatías complejas, encefalocele), confirmación de resultados anormales de tamizaje bioquímico/ultrasonográfico o de DNA fetal en sangre materna y la detección de la segregación cromosómica en padres portadores de un alteración cromosómica (ejemplo translocaciones Robertsoniana o balanceadas).
- e) Todo resultado anormal en un estudio prenatal requiere asesoramiento genético por un genetista clínico para que la pareja tenga un adecuado panorama de las implicaciones para el feto y la familia, el riesgo de recurrencia y el futuro de un bebe con una alteración cromosómica.
- f) La incorporación al diagnóstico prenatal de nuevas tecnologías como el FISH, MLPA, y CGH-microarreglos, debe ser valorada cuidadosamente y guiadas por un genetista clínico. Esto porque que el tipo específico de metodología a emplear, su confiabilidad, el tipo de alteraciones que detecta y la interpretación de los resultados son mucho más complejos que los estudios citogenéticos convencionales.

CONCLUSIÓN

El presente estudio permitió determinar la frecuencia de resultados alterados en los estudios de células fetales (citogenético prenatal) realizados en el Laboratorio de Genética del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE, en el periodo comprendido de 1983 a 2013, lo que permite comparar la frecuencia aquí obtenida con la de la literatura mundial, además de valorar las implicaciones de los resultados alterados obtenidos para el asesoramiento genético.

BIBLIOGRAFÍA

- Carnevale Alessandra, Grether-González Patricia. Asesoramiento genético: diagnóstico predictivo y prenatal. *Genética Clínica*. 2012. 365-76.
- Cerrillo M, et al. Diagnóstico citogenético prenatal. Inicio de una nueva etapa dentro de la citogenética en México. *Ginecol Obstet Mex* 1986. Mayo; 54:107-11.
- Cerrillo M, et al. Amniocentesis genética en población de alto riesgo. Experiencia en 3081 casos. *Ginecol Obstet Mex* 2009;77(4):175-84.
- Collins SL, et al. Prenatal diagnosis: Types and techniques. *Early Hum Dev*. 2012 Jan;88(1):3-8.
- Gardner RJ, et al. Chromosome abnormalities and Genetic counseling: prenatal diagnosis procedures. 2012. 417-25.
- Garza Fernández L, et al. Estudio analítico de la amniocentesis en el diagnóstico genético prenatal: estudio transversal de casos. *Ginecol Obstet Mex* 1998. Jun; 66:237-41.
- Gómez-Puente VM, et al. Estudio citogenético en líquido amniótico: Experiencia de 7 años en la Facultad de Medicina y Hospital Universitario, UANL. *Medicina Universitaria* 2012;14(54):23-29.
- Grether P, et al. Diagnóstico prenatal en 350 amniocentesis. *Ginecol Obstet Mex*. 1991. Nov; 59:317-22.
- Grether P, et al. Diagnóstico prenatal por amniocentesis. Experiencia clínica y citogenética en 1500 casos. *Ginecol Obstet Mex* 2010;78(9):493-503.
- Korf B. Overview of clinical cytogenetics. *Current Protocols in Human Genetics*. 2001. 8.1.1-8.1.10
- Minehart P. Preparation, Culture, and Analysis of Amniotic Fluid Samples. *Current Protocols in Human Genetics*. 1994. 8.4.1-8.4.17
- Shulman L, et al. Techniques for prenatal diagnosis. *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics*. 2013. c26.
- Solís G. Amniocentesis genética en el Segundo trimestre del embarazo para determinar la incidencia de alteraciones cromosómicas en pacientes con alto riesgo del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”. Experiencia de 30 años. 2013. UNAM.

- Vega Hernández ME, et al. Amniocentesis genética. Ginecol Obstet Mex. 1991. Julio; 59:211-24.
- Violante Díaz M, et al. Amniocentesis genética. Ginecol Obstet Mex. 1989. Abril; 57:97-102.

ANEXOS