

## DIAGNOSTICO PRENATAL CITOGENETICO. EXPERIENCIAS Y RESULTADOS EN EL PERIODO DE MAYO DE 1984 A ENERO DE 1985

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MEDICAS DE LA HABANA  
DEPARTAMENTO DE GENETICA

Dr. Héctor Casaña Mata\*, Dra. Florana Menéndez Camporredondo\*\*, Dr. Jorge Quintana Aguilar\*  
Lic. Olga Quiñones Masa\*\*\* y Lic. Martha Lavista González\*\*\*

Casaña Mata, H. y otros: *Diagnóstico prenatal citogenético. Experiencias y resultados en el periodo de mayo de 1984 a enero de 1985.*

Se realiza el diagnóstico prenatal citogenético a 113 embarazadas en el período de mayo de 1984 a enero de 1985, por presentar edad materna avanzada, hijos previos con síndrome de Down y otra aneuploidia, antecedentes familiares de enfermedad ligada al cromosoma X para determinación del sexo, alfafetoproteína elevada en suero materno y otras causas. Se efectúa el cultivo del líquido amniótico entre las 16 y las 19 semanas de gestación en su gran mayoría. Se obtienen 79 resultados cromosómicamente normales y 5 con alteraciones: trisomía 21, mosaico de síndrome de Turner, fracturas cromosómicas, DTN por células de adherencia rápida y un feto varón con antecedentes de agammaglobulinemia ligada al cromosoma X. De éstos, 4 optaron por la interrupción del embarazo y el caso que presentaba fracturas cromosómicas decidió continuarlo. Se indica que en el 29 casos no se obtuvieron resultados y por diferentes causas no se pudo repetir la amniocentesis.

### INTRODUCCION

Se estima que el 0,6 % de los nacidos vivos y alrededor del 5 % de los nacidos muertos presentan una anomalía cromosómica que en la mayoría de los casos se manifiesta en defectos congénitos. Se informa que las anomalías cromosómicas se encuentran del 6 al 7 % de los embarazos reconocidos a partir de las 6 semanas de gestación y se reducen al 1,5 % aproximadamente en el segundo trimestre, debido a las pérdidas producidas por abortos espontáneos.<sup>1-2</sup>

La posibilidad alcanzada en los últimos años de obtener la información acerca del feto, debido al desarrollo de la amniocentesis en el segundo trimestre, junto a la introducción acelerada de técnicas citogenéticas, bioquímicas y ultrasonográficas, han despertado gran interés en el diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas.

En 1965, Klinger determinó el primer cariotipo fetal,<sup>3</sup> y en 1966, Steel y Breg describieron técnicas para el cultivo de células de líquido amniótico que permiten realizar estudios cromosómicos, lo que trae consigo el advenimiento del diagnóstico prenatal citogenético (DPC). En 1968, Valenti informó el primer DPC de un caso de trisomía 21.<sup>4</sup>

\* Especialista de I Grado en Genética Clínica.

\*\* Candidato a Doctor en Ciencias. Especialista de I Grado en Genética Clínica.

\*\*\* Licenciada en Ciencias Biológicas.

El objetivo del DPC es, por tanto, determinar si un feto en riesgo para alguna enfermedad de origen cromosómico está afectado o no, y tienen los padres la posibilidad de optar, si el resultado del análisis es positivo, por la interrupción del embarazo. Los embarazos de alto riesgo deben ser seleccionados para ofrecer el DPC a través de la amniocentesis y del análisis cromosómico de las células del líquido amniótico (LA).

Esta forma de pesquisaje selectivo es necesaria debido al riesgo de pérdida fetal asociado con la amniocentesis y las complejidades de estas pruebas.

Las diferentes categorías de embarazos con alto riesgo de tener un feto con una aberración cromosómica han sido ampliamente analizadas<sup>5-10</sup> y se aceptan como principales indicaciones las siguientes:

- Edad materna avanzada.
- Hijos previos con enfermedades cromosómicas.
- Padres portadores de reordenamientos cromosómicos potencialmente transmisibles.
- Familiares con síndrome de Down u otra trisomía.
- Determinación del sexo con cromosoma X marcados (frágil X).

Aproximadamente el 90 % de los estudios prenatales citogenéticos se realizan basados en las indicaciones anteriormente descritas, no obstante se relacionarán otras que actualmente se discute su validez:

- Cifras alteradas de alfafetoproteína (AFP).
- Anomalías físicas detectadas por ultrasonido (US).
- Abortos espontáneos a repetición.
- Síndromes de inestabilidad cromosómica.
- Asociación de satélites y cromosomas marcadores.
- Ansiedad materna.

Dentro de los principales problemas que se presentan en el momento del análisis cromosómico e interpretación del cariotipo fetal se encuentran el mosaicismo (contaminación con células maternas) y las poliploidias.

## MATERIAL Y METODO

De las pacientes remitidas a la consulta de asesoramiento genético en el Hospital Ginecoobstétrico Docente "Ramón González Coro" del subprograma de DPC, se estudiaron 150 embarazadas en el período comprendido de mayo de 1984 a enero de 1985, cuyas principales indicaciones como criterio de selección fueron: avanzada edad materna, hijos previos con síndrome de Down y otra cromosomopatía, hijo previo malformado múltiple y determinación del sexo en enfermedades ligadas al cromosoma X.

Se realizaron estudios cromosómicos en células de LA obtenidas a través de amniocentesis transabdominal previo control ultrasonográfico entre las 16 y las 20 semanas de embarazo.

Cuando el DPC arrojó un resultado positivo, una vez realizada la interrupción del embarazo, se procedió al estudio del material abortivo para corroborar los resultados obtenidos.

## CULTIVO DEL LIQUIDO AMNIOTICO

Se extrajeron en cada caso de 15 a 20 ml de LA, por medio de amniocentesis bajo control ultrasonográfico y varió el tiempo previo al cultivo entre 2 y 3 horas a temperatura ambiente.

Se utilizó la técnica de cultivo primario con el método de tripsinización en todos los casos. Se cultivaron, por cada muestra, de 4 a 5 frascos de cristal (Müller RDA) a los cuales se les añadió 2 ml de LA y 2 ml de medio de cultivo HAM F-10 o M MEM (Gibco) suplementado con el 20 % de suero fetal de ternera (Gibco) y penicilina streptomocina (Gibco).

Se mantuvieron en incubadora a 37 °C y cuando se advirtió un crecimiento celular adecuado se realizó el proceso de obtención de cromosomas por medio de la tripsinización para procesarlas directamente o realizar subcultivos.

El análisis de los resultados se efectuó con el examen de al menos 20 metafases por caso, por el método de tinción convencional con Giemsa y con la técnica de bandas G, descrita por *Seabright* en 1971;<sup>11</sup> se fotografiaron las metafases que presentaban mejor morfología y se confeccionaron los cariotipos correspondientes.

## RESULTADOS

De las 113 pacientes estudiadas, se expondrán, según indicaciones y estudios realizados, los resultados en tablas.

La distribución de las pacientes según las indicaciones del diagnóstico prenatal, se muestra en la tabla 1, donde resalta que el mayor grupo correspondió a las de 40 años o más.

Tabla 1. *Indicaciones del diagnóstico prenatal*

Indicaciones	No. de casos
Edad materna	
- 35-39 años	15
- 40 años	66
Aneuploidias previas	
- Trisomía 21	15
- Trisomía 18	3
- Trisomía 13	1
Determinación del sexo en enfermedades ligadas al X	3
Hijo previo malformado múltiple	5
Retraso mental familiar	3
Alfafetoproteína elevada en suero materno	2
Total	113

Por constituir la avanzada edad materna (AEM) la principal indicación (al ser los grupos etarios mayores de 40 los de más alto riesgo) se muestra cómo se comportó la distribución por edades en la tabla 2.

Tabla 2. *Edad materna avanzada*

Edad	No. de pacientes
38	4
39	12
40	31
41	11
42	12
43	6
44	5
45	2
Total	83

Debido a la importancia que reviste la toma de la muestra de líquido amniótico en relación con la edad gestacional para el éxito del cultivo y la obtención de resultados, se presenta cómo se comportó esta correspondencia en la tabla 3.

Al ser los cultivos fallidos un problema que exige análisis, tanto por el control de calidad como por la conducta a seguir, se presenta la tabla 4.

Tabla 3. *Edad gestacional (en semanas)*

Edad	Primera amniocentesis	Segunda amniocentesis
16	24	-
17	27	2
18	38	5
19	8	2
20	10	4
21	6	2
22	-	3
Total	113	18

Tabla 4. *Causas de falla*

Causas	Primer cultivo	Segundo cultivo
Contaminación con sangre	12	-
Contaminación con bacterias y hongos	4	-
Pobre crecimiento celular	14	1
Errores en el proceso de las muestras	6	2
Diagnóstico no concluyente	8	-
Total	44	3

Los resultados del estudio cromosómico se resumen en la tabla 5, donde sobresale que en el 74,4 % de los casos se arribó a resultados satisfactorios.

Se debe comentar que de las 44 fallas (tabla 4) se repitieron 18 punciones de las cuales en 15 los resultados fueron exitosos y 29 no pudieron repetirse por las causas expuestas en la tabla 5.

De los 5 casos detectados, 4 optaron por el aborto electivo, y se analizó el producto abortivo (tabla 6) con la confirmación de los diagnósticos.

Tabla 5. *Conclusiones del diagnóstico prenatal citogenético*

Resultados	No. de casos	%
Normales	79	70,0
Varones (46, XY)	40	
Hembras (46, XX)	39	
Afectados		4,4
Anomalías cromosómicas	5	
- Síndrome de Down (47, XY + 21)	1	
- Mosaico, síndrome de Turner (45, X/46, XX)	1	
- Fracturas cromosómicas [CTq (2), CTq (3), CTq (15)]	1	
Determinación del sexo	1	
Defecto del cierre del tubo neural (alfafetoproteína elevada)	1	
No concluyente	29	25,6

Nota: Causas: amenaza de aborto (2), edad gestacional avanzada (12), no asistió (3), no aceptaron (3), abortaron (3), falla en el proceso (3), sin conclusión (2) y óbito fetal (1).

De los casos afectados, se muestran los cariotipos correspondientes (figuras 1-3) y las células de adherencia rápida observadas en el caso de defecto del cierre del tubo neural (figura 4).

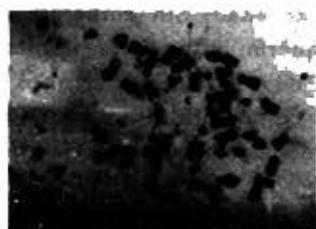


Figura 1. Metafase y cariotipo del síndrome de Down (47 XY + 21).

Tabla 6. Indicación para el aborto electivo

Causas (resultados DPC)	No. de casos	Confirmados
Anomalías cromosómicas	2	2
Enfermedad ligada al sexo 46, XY	1	1
Defecto del cierre del tubo neural (AFP)	1	1



Figura 2. Metafase y cariotipo del caso con fractura cromosómica, la flecha indica el cromosoma fracturado.



Figura 3. Metafase y cariotipo del caso de agammaglobulinemia familiar para la determinación del sexo, la flecha muestra el cromosoma marcado.

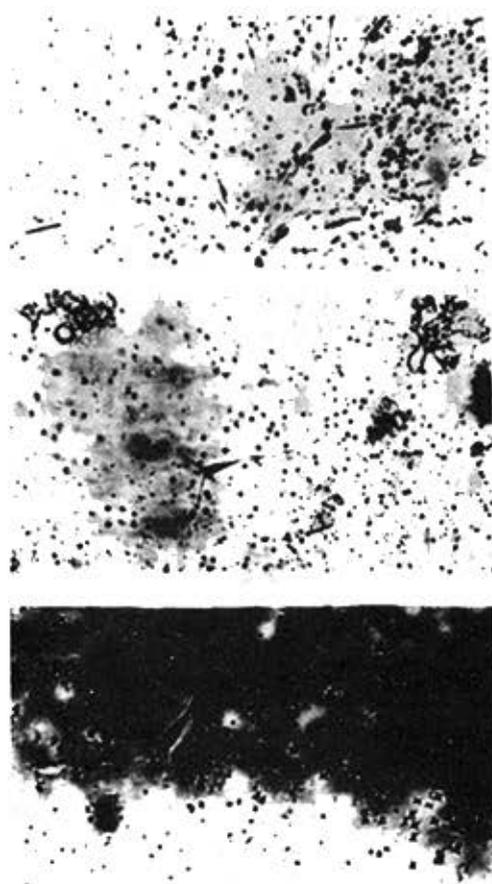


Figura 4. Células de observación rápida en el caso con *DIN*.

Dentro del grupo de diagnóstico positivo se detectaron otros 2 casos con aberraciones cromosómicas, un mosaico de síndrome de Turner (45, X/46, XX) y otro con fractura cromosómicas múltiples. Con respecto al mosaico, la embarazada de 36 años de edad fue estudiada por tener cifras elevadas de alfafetoproteína en sangre materna en 2 oportunidades consecutivas y gran ansiedad por tratarse del primer embarazo. Los resultados cromosómicos de 31 metafases analizadas en células de líquido amniótico procedentes de 3 frascos de cultivos arrojaron el 32,2 % (10 metafases monosómicas 45, X). El mosaicismo más común en el humano corresponde a los cromosomas sexuales y es independiente de la edad materna.<sup>1</sup>

Se comunicaron los resultados a la pareja, y se le explicaron las características de la enfermedad, optando por la interrupción del embarazo. El producto abortado resultó un feto femenino sin alteraciones fenotípicas detectables; se realizaron estudios cromosómicos en muestras de piel y sangre que arrojaron resultados del 4,2 y del 5,2 % de células monosómicas respectivamente. Estos resultados concuerdan con los señalados por otros autores.<sup>13-15</sup>

## DISCUSION

El riesgo de tener hijos con síndrome de Down se incrementa con la edad materna.<sup>1</sup> Datos informados por diferentes estudios que relacionan la edad materna con la aparición del síndrome de Down y otras cromosomopatías en la descendencia, sientan las bases para la indicación del diagnóstico prenatal cromosómico en casos de embarazadas mayores de 35 años de edad. Sin embargo, debido a los requerimientos para implementar este tipo de servicio, en algunos países se toma como límite inferior la edad materna de 40 años, cuyo riesgo es del 1,2%.<sup>12</sup>

En el caso que nos ocupa, se realizó el diagnóstico prenatal en una embarazada de 42 años de edad resultando el 100 % de las metafases analizadas con trisomía 21 (47, XY + 21). Se le informó el resultado a la pareja, que optó por la interrupción del embarazo. El producto abortado presentaba surco simiano, implantación baja de las orejas, polidactilia del quinto dedo e hipertelerismo. Se le tomó biopsia de piel y muestra de sangre del cordón umbilical; se realizó un estudio cromosómico y se corroboró el diagnóstico prenatal.

En relación con los hallazgos de roturas cromosómicas, se trataba de una embarazada de 38 años de edad, estudiada porque el esposo recibió radiaciones gamma durante 6 meses, 4 años antes. A la pareja se le informó el resultado en lo referente a las roturas en los cromosomas de los grupos A y D, así como lo poco que se conoce y se informa la literatura médica sobre los efectos y consecuencias de las mismas en el feto, optando por la continuación del embarazo; el resultado fue un parto normal a término con un recién nacido femenino sin alteraciones fenotípicas aparentes.

En el caso de la agammaglobulinemia familiar se trataba de una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X, por lo que se realizó el diagnóstico prenatal del sexo. En estos casos el diagnóstico se basó en que existía el 50 % de probabilidad de tener un varón afectado, al no existir otros métodos que permitieran el diagnóstico preciso de la enfermedad. Al realizar el diagnóstico prenatal cromosómico se encontró un cromosoma G marcador (21p+) que resultó ser un submetacéntrico cuyos brazos largos teñidos con bandas G recuerdan al cromosoma 21, y los brazos cortos se coloreaban más intensamente. Los cromosomas marcadores derivan generalmente de brazos cortos y regiones centroméricas de cromosomas acrocéntricos y los efectos en estos casos se relacionan fundamentalmente con el retraso mental. En este caso se realizó la tinción con bandas C y se detectó que los brazos cortos estaban constituidos por heterocromatina. Se realizaron estudios cromosómicos en sangre periférica a los padres y se observó el marcador en la madre (fenotípicamente normal). Se concluyó, por tanto, que se trataba de una variante normal de brazos cortos del cromosoma 21 (21 p+) de carácter familiar.

## SUMMARY

Casaña Mata, H. et al.: *Cytogenetic prenatal diagnosis. Experiences and results from May 1984 to January 1985.*

Cytogenetic prenatal diagnosis was performed to 113 pregnant women, during May 1984-January 1985, because of presenting advanced maternal age, previous children with Down's syndrome or other aneuploidy, familial history of disease associated with X chromosome for sex determination, high alpha-fetoprotein in maternal serum and other causes. In most of the cases, amniotic fluid was cultured between 16 and 19 gestational weeks. According to chromosomes, results obtained were 79 normal and 5 with alterations: trisomy 21, mosaicism in Turner's syndrome, chromosomal fractures, DTN by rapid adherence cells and a male fetus with history of agammaglobulinemia associated with X chromosome. Of these five cases, four women chose for pregnancy interruption and the one presenting chromosomal fractures determined to go on with pregnancy. Results were not obtained in 29 cases and due to different causes amniocentesis could not be repeated.

## RÉSUMÉ

Casaña Mata, H. et al.: *Diagnostic prénatal cytogénétique. Expériences et résultats au cours de la période comprise entre mai 1984 et janvier 1985.*

Pendant la période comprise entre mai 1984 et janvier 1985, il a été réalisé le diagnostic prénatal cytogénétique chez 113 femmes enceintes qui présentaient des facteurs tels qu'un âge avancé, des antécédents d'enfants atteints du syndrome de Down ou d'une autre aneuploïdie, des antécédents familiaux de maladie liée au chromosome X pour la détermination du sexe, un taux élevé d'alpha-fetoprotéines dans le sérum maternel et d'autres causes. Dans la plupart des cas, la culture du liquide amniotique est effectuée entre la 16<sup>e</sup> et la 19<sup>e</sup> semaines. Il est obtenu 79 résultats normaux sur le

plan chromosomique et 5 qui présentaient des altérations: trisomie 21, mosaïque du syndrome de Turner, fractures chromosomiques, DTN par cellules d'adhérence rapide et un foetus mâle avec des antécédents d'agammaglobulinémie liée au chromosome X. Sur ces 5 cas, 4 femmes ont décidé d'interrompre la grossesse et le cas qui présentait des fractures chromosomiques a décidé de la continuer. Dans 29 cas on n'a pas obtenu des résultats et par différentes causes il n'a pas été possible de répéter l'amniocentèse.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Ferguson Smith, M. A.*: Prenatal diagnosis of chromosome anomalies. Who is at risk? Prenatal Diagnosis. Proceeding of the Eleventh Study Group of the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. London, 1984. Pp. 53-64.
2. ————. *Br Med Bull* 39: 365-372, 1983.
3. *Hamerton, J. L.*; *S. E. Nancy*: Prenatal diagnosis: Past, present and future. Report of International Workshop at vol David, Quebec, 4 al 8 de nov., 1979.
4. *Valenti, C.*: Prenatal diagnosis of Down's syndrome. *Lancet* I: 220, 1968.
5. *Rodeck, C. H.*; *K. H. Nicolaidis*: Proceedings of the Eleventh Study Group of Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. London, 1984. Pp. 1-3.
6. *Brock, D. J. H.*: Early diagnosis of fetal defects. Chromosome disorders. Current reviews in Obstetrics Gynecology. New York, 1982. Pp. 36-65.
7. *Turnbull, A. C.*: Second-trimester amniocentesis and termination of pregnancy. *Med Bull* 39 (4): 315-321, 1983.
8. *Kaback, M. M.*: The utility of prenatal diagnosis. Prenatal Diagnosis. Proceeding of the Eleventh Study Group of the Royal Collage of Obstetricians and Gynaecologists. Londres, 1984.
9. *Nabler, L. H.*: Recent advances in prenatal genetic diagnosis. Division of genetics the Children's Memorial Hospital Department of Pediatrics, Chicago, USA, 1977.
10. *Leigh, S. J. et al.*: The prenatal diagnosis of genetic disorders Northwestern University Medical School, Chicago, 25 (4): december, 1982.
11. *Seabright, M. A. A.*: Rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* II: 971, 1971.
12. *Milunsky, A.*: Genetic disorders and fetus diagnosis. Prevention and treatment. Plenum Press, New York and London, 1979. Pp. 96-97.
13. *Hoehn, H. et al.*: Cultivated cells from diagnostic amniocentesis in second trimester pregnancies I. Clonal morphology and growth potential. *Pediatric Research* 8: 746-654, 1974.
14. *Ladda, L. R. et al.*: Chromosomal mosaicism in Down's syndrome. A diagnostic challenge. *Developmental Medicine and Child Neurology* 19 (5): 668-671, 1977.
15. *Junis, J. J.*: New chromosomal mosaicism in Down's syndrome. *In*: *Biology and Medicine*, 1977.

Recibido: 28 de diciembre de 1985. Aprobado: 31 de marzo de 1986.

Dr. *Héctor Casaña*. Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras". Departamento de Genética. San Lázaro y Belascoaín, municipio Centro Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.