

Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara
Centro Provincial de Genética Médica de Villa Clara

TESIS EN OPCIÓN DEL GRADO CIENTÍFICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS

Título: Identificación de aberraciones cromosómicas en
fallas reproductivas. Villa Clara, 1995 - 2020

Autor: Dra. María Elena de la Torre Santos

Santa Clara

2022

Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara
Centro Provincial de Genética Médica de Villa Clara

TESIS EN OPCIÓN DEL GRADO CIENTÍFICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS

Título: Identificación de aberraciones cromosómicas en
fallas reproductivas. Villa Clara, 1995 - 2020

Autor: Dra. María Elena de la Torre Santos

Tutor: Dr. C. Manuela Herrera Martínez

Santa Clara

2022

Agradecimientos

A todos mis pacientes, los que participaron en esta investigación y los que no, sin su cooperación y confianza no se hubieran logrado estos resultados.

A mis compañeros de trabajo, por ser las personas adecuadas que incondicionalmente apoyaron y facilitaron el correcto desenvolvimiento del estudio.

A los miembros del Comité Doctoral que durante el periodo de preparación ofrecieron sus conocimientos.

A la Dr. C. Manuela Herrera Martínez, tutora excepcional.

Dedicatoria

A los que intentan transmitir sus genes a las nuevas generaciones

SÍNTESIS

Con el objetivo de describir cromosomopatías en pacientes con fallas reproductivas en Villa Clara, se realizó un estudio observacional, descriptivo transversal, que incluyó 10 495 cariotipos postnatales y prenatales entre febrero 1995 y enero 2020. Se analizaron variables citogenéticas y clínicas para diferentes grupos independientemente. El 1,18 % de las mujeres y el 0,69 % de los hombres con pérdidas gestacionales presentaron aberraciones cromosómicas estructurales balanceadas. Entre los individuos infértiles predominaron las variantes citogenéticas del síndrome Turner y el síndrome Klinefelter con cariotipo 47,XXY. El heteromorfismo cromosómico Yqh+ predominó entre hombres infértiles cromosómicamente normales y el inv(9qh) en hombres con antecedentes de pérdidas gestacionales recurrentes. El 83,93 % de las cromosomopatías diagnosticadas prenatalmente fueron trisomías, con una positividad de 1,76 %, y el 1,12 % se correspondió con síndrome Down. En tejidos fetales la positividad fue de 62,22 %. La repercusión de las cromosomopatías sobre el fenotipo mostró predominio de las cardiopatías. Se concluye que la frecuencia de las aberraciones cromosómicas en pacientes con fallas reproductivas varía según los grupos de estudio, las translocaciones recíprocas y por fusión centromérica son la causa principal de pérdidas gestacionales recurrentes, mientras que el síndrome Turner y el síndrome Klinefelter son las de infertilidad.

SUMARIO

INTRODUCCIÓN-----	1
Situación problémica-----	3
Problema Científico-----	3
Hipótesis científica-----	3
Objeto de estudio-----	4
Sujeto de investigación-----	4
Campo de acción-----	4
Objetivos-----	4
Fundamento metodológico de la tesis-----	4
Novedad científica-----	6
Aporte metodológico-----	7
Aporte teórico-----	7
Aporte práctico-----	7
Aportes sociales-----	8
Volumen y estructura de la tesis-----	8
CAPÍTULO 1. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO ACERCA DE FALLAS REPRODUCTIVAS DE CAUSA CROMOSÓMICA-----	9
1.1. Fallas reproductivas. Definiciones conceptuales-----	9
1.1.1. Falla reproductiva-----	9
1.1.2. Aborto-----	10
1.1.3. Pérdida gestacional recurrente-----	10
1.2. Epidemiología del aborto recurrente-----	11

1.2.1. Etiología de las pérdidas gestacionales-----	11
1.3. Pérdida gestacional recurrente de causa cromosómica-----	13
1.3.1. Aberraciones cromosómicas estructurales balanceadas-----	13
1.3.1.1. Translocación recíproca-----	13
1.3.1.2. Translocación por fusión centromérica o robertsoniana-----	14
1.3.1.3. Inversión cromosómica-----	16
1.3.1.4. Inserción-----	17
1.3.2. Aneuploidías-----	18
1.3.3. Heteromorfismo cromosómico-----	19
1.3.4. Genes relacionados con pérdidas gestacionales recurrentes-----	19
1.3.5. Tratamiento del aborto recurrente de causa cromosómica-----	20
1.4. Infertilidad-----	20
1.4.1. Infertilidad masculina-----	20
1.4.2. Infertilidad femenina-----	21
1.4.3. Aberraciones cromosómicas e infertilidad-----	22
1.4.4 .Tratamiento de la infertilidad de causa cromosómica-----	23
1.5. Edad materna y fallas reproductivas-----	23
1.5.1. Edad materna avanzada y aneuploidías-----	23
1.5.2. Aneuploidías en mujeres menores de 35 años-----	27
1.5.3. Genes relacionados con los errores de segregación meiótica-----	27
1.6. Factores ambientales, epigenética y trastornos reproductivos-----	28
1.7. Aneugenos-----	28
1.8. Conclusiones del capítulo-----	29

CAPITULO 2. DISEÑO METODOLÓGICO-----	30
2.1. Contexto de la investigación-----	30
2.2. Clasificación de la investigación-----	30
2.3. Lugar y periodo de estudio-----	30
2.4. Universo y población de estudio-----	31
2.5. Criterios de inclusión y exclusión-----	32
2.6. Variables del estudio y operacionalización-----	34
2.7. Métodos-----	35
2.7.1. Documentación científica-----	35
2.7.2. Entrevista médica-----	36
2.7.3. Observación científica-----	36
2.7.3.1 Examen físico de pacientes-----	36
2.7.4. Métodos citogenéticos-----	37
2.7.4.1. Metodología para la caracterización citogenética-----	37
2.7.4.2. Metodología para estudiar la relación cariotipo-fenotipo-----	37
2.7.4.3. Metodología para realizar los análisis de segregación cromosómica---	38
2.7.4.4. Metodología para la evaluación del padre portador en las aberraciones cromosómicas heredadas-----	38
2.8. Obtención de muestras biológicas-----	38
2.9. Técnicas y procedimientos para estudios citogenéticos-----	40
2.10. Análisis cromosómico-----	40
2.11. Metodología para confirmación diagnóstica en casos requeridos-----	40
2.12. Limitaciones del estudio-----	40
2.13. Metodología para el procesamiento de la información-----	41

2.14. Manejo de los aspectos bioéticos-----	41
2.15. Conclusiones del capítulo-----	42
CAPÍTULO 3. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN INDIVIDUOS CON PÉRDIDAS RECURRENTES DE LA GESTACIÓN, HIJO CON DEFECTOS CONGÉNITOS FALLECIDO EN LA VIDA PRENATAL O EL PRIMER AÑO DE VIDA, O AMBAS -----	
3.1. Objetivo del capítulo-----	43
3.2. Resultados-----	43
3.2.1. Positividad de los estudios citogenéticos en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas-----	44
3.2.2. Positividad de los estudios citogenéticos en los análisis intragrupo-----	45
3.2.3. Caracterización de aberraciones cromosómicas diagnosticadas en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas-----	47
3.2.4. Análisis de segregación cromosómica en las cromosomopatías heredadas diagnosticadas en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas-----	51
3.2.5. Relación cariotipo-fenotipo en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas-----	53
3.2.6. Caracterización fenotípica del descendiente con aberración cromosómica no balanceada-----	53
3.2.7. Relación cariotipo-fenotipo de los productos de la concepción con aberración cromosómica no balanceada-----	55

3.2.8. Heteromorfismos cromosómicos diagnosticados en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas-----	57
3.3. Discusión-----	60
3.3.1. Análisis de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas-----	61
3.3.2. Análisis de otras variables relacionadas con las cromosomopatías en fallas reproductivas -----	64
3.3.3. Análisis de los heteromorfismos cromosómicos en individuos con pérdidas gestacionales-----	65
3.4. Conclusiones del capítulo-----	66
CAPÍTULO 4. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN INDIVIDUOS CON INFERTILIDAD-----	67
4.1. Objetivo del capítulo-----	67
4.2. Resultados -----	67
4.2.1. Positividad de los estudios citogenéticos en mujeres y hombres infértiles y parejas con infertilidad de etiología no precisada-----	68
4.2.2. Positividad de los estudios citogenéticos en los análisis intragrupo	68
4.2.3. Caracterización de las aberraciones cromosómicas en mujeres infértiles y hombres infértiles, y parejas con infertilidad de etiología no precisada-----	69
4.2.4. Relación cariotipo-fenotipo-----	72
4.2.5. Heteromorfismos cromosómicos diagnosticados en mujeres infértiles y hombres infértiles, y parejas con infertilidad de etiología no precisada-----	74
4.2.6. Algoritmo de estudio genético a la pareja infértil-----	75
4.3. Discusión-----	75

4.3.1. Análisis del síndrome Turner-----	75
4.3.2. Análisis de síndrome de insensibilidad a andrógenos-----	78
4.3.3. Análisis del síndrome Klinefelter-----	79
4.3.4. Análisis de Disgenesia gonadal mixta con fenotipo masculino-----	82
4.3.5. Análisis de los resultados de parejas infértiles-----	82
4.3.6. Análisis de los heteromorfismos cromosómicos en individuos infértiles-----	83
4.4. Conclusiones del capítulo-----	84
CAPÍTULO 5. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN ESTUDIOS PRENATALES Y	
TEJIDOS SÓLIDOS FETALES COMO CAUSAS POTENCIALES DE FALLAS	
REPRODUCTIVAS-----	85
5.1. Objetivos del capítulo-----	85
5.2. Resultados-----	86
5.2.1. Caracterización de las cromosomopatías del diagnóstico prenatal citogenético-	87
5.2.2. Caracterización de las cromosomopatías diagnosticadas en tejidos sólidos	
fetales-----	91
5.4 Discusión-----	94
5.4.1. Análisis de las características generales de las aberraciones cromosómicas --	94
5.4.2. Análisis de los reordenamientos estructurales diagnosticados-----	96
5.5. Conclusiones del capítulo-----	98
CONCLUSIONES-----	99
RECOMENDACIONES-----	100

ABREVIATURAS

ADN	ácido desoxirribonucleico
AMEL-X y AMEL Y	gen ubicado en los cromosomas X y Y, codifica la amelogenina, se utiliza en la determinación molecular del sexo
APC/C	Complejo promotor de la anafase / ciclosoma. Del inglés: <u>anaphase-promoting complex / cyclosoma</u>
ARNm	ácido ribonucleico mensajero
DPC	diagnóstico prenatal citogenético
EMA	edad materna avanzada
FISH	hibridación in situ fluorescente. Del inglés: <u>fluorescence in situ hybridization</u>
FSH	hormona folículo estimulante. Del inglés: <u>follicle-stimulating hormone</u>
GTG	bando cromosómico con bandas G
ml	mililitro
MTHFR	gen que codifica la enzima metilen tetrahidrofolato reductasa. Del inglés: <u>methylenetetrahydrofolate reductase</u>
MTR	gen que codifica la enzima metionina sintasa. Del inglés: <u>methionine synthase</u>
PLK4	quinasa similar a polo 4. Del inglés: <u>polo-like kinase</u>
PNO	procedimientos normativos operacionales
SAC	punto de control del ensamblaje del huso. Del inglés: <u>spindle assembly checkpoint</u>

SOX	familia de genes que codifican importantes factores de transcripción involucrados con las primeras etapas del desarrollo.
SRY	región determinante del sexo del cromosoma Y. Del inglés: <u>sex-determining region on the Y chromosome</u>
SYCP3	complejo de proteínas sinaptonémicas 3. Del inglés: <u>synaptonemal complex protein 3</u>
Wnt	familia de genes wnt, vía de señalización. Del inglés: <u>Wingless</u>
XCI	centro de inactivación preferencial del cromosoma X. Del inglés: <u>X chromosome inactivation</u>

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Para la mayoría de las parejas el embarazo y su culminación exitosa es el mayor evento en la vida. En muchos países la atención a la fertilidad es un elemento básico de los servicios integrales de salud reproductiva y un componente clave del derecho de la pareja a lograr descendencia. El aborto rompe las expectativas y desestabiliza emocionalmente la vida familiar y social, y en algunas regiones del mundo constituye un delicado asunto cultural, social y político. (1)

El estrés se incrementa en las parejas con abortos espontáneos repetidos y a la vez, para el médico que las atiende puede ser frustrante no llegar al diagnóstico certero de la causa en la mitad de los casos. La afectación psicológica es manifiesta en las parejas con dificultades reproductivas, la probabilidad de trastorno por estrés postraumático es 2.55 veces más probable cuanto mayor es el número de pérdidas gestacionales sufridas. (1)

El índice de fallas reproductivas humano es alto y constituye un problema evolutivo visto desde la perspectiva de la selección natural. (2) Una parte importante de la población se expone a agentes ambientales o estilos de vida con efectos adversos sobre la reproducción. Algunos solo son conscientes después de la pérdida gestacional o el nacimiento de un descendiente afectado. El efecto epigenético transgeneracional es otro fenómeno en estudio, pero aún permanecen sin dilucidar las consecuencias ambientales a largo plazo para la célula y el genoma. (3)

La principal causa de abortos son las aberraciones cromosómicas, específicamente las aneuploidías; sin embargo, es difícil conocer la constitución cromosómica de un producto abortado. Múltiples factores limitan su estudio como el desconocimiento de la gestación por considerar la amenorrea una irregularidad del ciclo menstrual, la expulsión imprevista en condiciones inesperadas que impiden su conservación y traslado a centros hospitalarios, el deterioro y la

contaminación con hongos o bacterias de los tejidos, y la no disponibilidad de centros con tecnología para estudios de citogenética clásica y molecular. (2, 3)

La pérdida gestacional recurrente es un gran reto para la medicina reproductiva en el mundo, afecta entre el 1 % al 2 % de las mujeres y en la mayoría no es posible identificar la causa. No existe un consenso internacional para su diagnóstico y tratamiento. Las causas genéticas representan entre el 2 % y el 5 %, una de las principales son las aberraciones cromosómicas balanceadas. (4-7) En Cuba, el dato no se registra en las estadísticas oficiales; no obstante estudios en la provincia de Granma arrojan que el 30,28% de las gestantes con abortos espontáneos han sufrido pérdidas previas. (8, 9)

Estudios cromosómicos realizados en India a individuos con pérdidas recurrentes de la gestación en diferentes regiones del país evidencian que en la zona sur la frecuencia es de 1,41 % para las aberraciones cromosómicas y 1,89 % para las variantes polimórficas en parejas con tres y más abortos recurrentes; en la región oeste la frecuencia de alteraciones cromosómicas es de 3,31 % y la de variantes polimórficas de 9,06 % en individuos con dos y más pérdidas gestacionales; mientras que en la región norte, la frecuencia de alteraciones cromosómicas es de 7 % en parejas con abortos recurrentes. (10-12)

El estudio de 3 235 parejas con abortos recurrentes en China refleja una frecuencia de alteraciones cromosómicas del 3,74 %, en el cual se incluye la variante de heteromorfismo cromosómico de inversión de la heterocromatina pericentromérica del cromosoma 9. En Tunes, la frecuencia reportada es de 8,50 % para tres y más abortos y en Iraq de 28%; pero ambos estudios incluyen varios heteromorfismos cromosómicos. (13-15) Investigaciones en México y Perú acerca de las causas cromosómicas de la infertilidad describen frecuencias de 12,50 % y 6,43 % respectivamente, ambas incluyen los heteromorfismos cromosómicos. (16,17)

En Cuba se han publicado varios estudios que describen las frecuencias de cromosomopatías en pacientes con fallas reproductivas en diferentes provincias. En 367 pacientes de Pinar del Río con

tres o mas abortos espontáneos consecutivos o cinco alternos se encontró una frecuencia de 3,3 % de aberraciones cromosómicas y 9 % de heteromorfismos cromosómicos, en Camaguey refieren 31,71 % de aberraciones cromosómica en pacientes con trastornos de la fertilidad sin distinción de edades y la inclusión de un amplio espectro de criterios de indicación para cariotipo, y en el laboratorio del Centro Nacional de Genetica Médica los cariotipos de 472 pacientes con fallas reproductivas de las antiguas provincias de Ciudad de La Habana, La Habana y Pinar del Rio arrojan una frecuencia de 2,90 % de aberraciones cromosómicas y 1,77 % de variantes heteromórficas relacionadas solamente con la inversión de la heterocromatina pericentromérica del cromosoma 9. (18-20)

El impacto del envejecimiento poblacional, la disminución de la natalidad y la crisis migratoria obliga a enfocarse en los problemas de la fecundidad humana. El objetivo de todos los programas de reproducción es la preparación de las parejas con el fin de concebir un embrión saludable, a la vez de identificar y comprender las causas que provocan fallas reproductivas. La caracterización de las aberraciones cromosómica balanceadas, el origen, la segregación cromosómica en las familias y el comportamiento en la descendencia permiten estimar el riesgo de forma más certera. El futuro de la medicina reproductiva pasa por dos hitos vitales: mejorar la eficiencia de los tratamientos de reproducción asistida y lograr el nacimiento de niños sanos. (21)

Situación problémica: No existen datos acerca de la contribución de las aberraciones cromosómicas a la etiología de la infertilidad y las pérdidas gestacionales en la provincia de Villa Clara y una importante proporción de parejas no llega a conocer las causas.

Problema científico: ¿Cuál es la contribución del componente cromosómico en las fallas reproductivas de pacientes de la provincia de Villa Clara atendidos en el Laboratorio de citogenética del Centro provincial de genética médica entre 1995 y 2020?

Hipótesis científica: Las aberraciones cromosómicas contribuyen a las fallas reproductivas con frecuencias diferentes según el tipo.

Objeto de estudio: Las fallas reproductivas de causa genética.

Sujeto de investigación: Hombres, mujeres y parejas con fallas reproductivas de potencial causa cromosómica.

Campo de acción: Las fallas reproductivas originadas por aberraciones cromosómicas.

Objetivo general

. Describir aberraciones cromosómicas y heteromorfismos cromosómicos en pacientes con fallas reproductivas de la provincia Villa Clara entre 1995 y 2020.

Objetivos específicos

1. Definir las aberraciones y los heteromorfismos cromosómicos en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambos.
2. Identificar las aberraciones y los heteromorfismos cromosómicos en individuos de ambos sexos con infertilidad.
3. Determinar las aberraciones cromosómicas en estudios prenatales y tejidos sólidos fetales como causas potenciales de fallas reproductivas.
4. Caracterizar citogenética y clínicamente las aberraciones cromosómicas diagnosticadas en los individuos de los grupos estudiados.

Fundamento metodológico de la tesis

La investigación se insertó en el contexto de la medicina reproductiva.

El fundamento metodológico se sustenta en el análisis de las aberraciones cromosómicas como causa de fallas reproductivas, desde una perspectiva holística y considerando las influencias del desbalance cromosómico sobre el desarrollo en diferentes etapas de la vida y la repercusión sobre el fenotipo, la fertilidad y la reproducción humana.

Para ello se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo transversal, durante 25 años en la provincia de Villa Clara. A partir de la población de individuos remitidos a los servicios de Genética Clínica con algún criterio de fallas reproductivas, en los que se consideró realizar estudio cromosómico. Se conformaron ocho grupos de análisis atendiendo al motivo de indicación y al tipo de muestra biológica analizada.

En esta investigación se empleó un criterio propio de falla reproductiva con una perspectiva amplia que abarcó las pérdidas gestacionales recurrentes, los hijos fallecidos prenatalmente y durante el primer año de vida con defectos congénitos, las interrupciones electivas de la gestación por defectos congénitos y la infertilidad. Estos criterios fueron considerados para la realización de los cariotipos en sangre periférica.

También se incluyeron los fetos con diagnóstico prenatal citogenético de aberración cromosómica no balanceada con potencial para originar pérdidas gestacionales, a los que se realizó cariotipo en líquido amniótico o vellosidades coriónicas y placentarias; así como los productos de interrupción electiva de la gestación con defectos congénitos diagnosticados por ecografía fetal, que al examen anatomopatológico presentaron fenotipo sugerente de cromosomopatía, y se les realizó cariotipo en tejidos sólidos fetales.

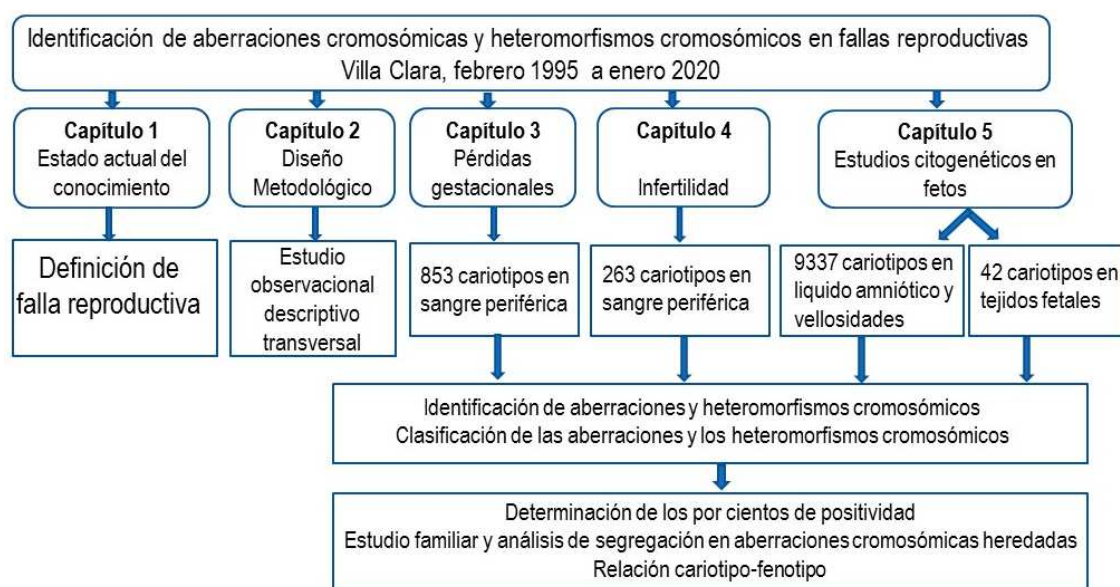
Se identificaron las causas cromosómicas de fallas reproductivas según el tipo de aberración, los cromosomas, brazos, puntos de ruptura involucrados y el origen heredado o de novo y parental. En cada grupo se analizaron las frecuencias de los cambios cromosómicos de manera individual y se caracterizaron según la naturaleza de las causas y los mecanismos subyacentes.

En los casos de aberraciones cromosómicas estructurales sugestivas de origen hereditario se realizó estudio familiar y se diagnosticaron portadores balanceados que desconocían su condición de riesgo en los que se identificó el tipo de segregación meiótica.

En los individuos con cromosopatías se realizó el análisis de la relación cariotipo-fenotipo para evaluar la influencia del desbalance cromosómico en los tipos de fallas reproductivas considerados.

Los heteromorfismos cromosómicos diagnosticados en los pacientes con fallas reproductivas se analizaron según el cromosoma involucrado, el tipo y el número de variantes por cariotipo.

En la figura 1 se presenta el organigrama general de la investigación.



Fuente: Original de la autora

Figura 1: Organigrama metodológico de la investigación. Fuente: Original de la autora

Novedad científica

Por primera vez se demuestra la importancia de los cambios cromosómicos y su repercusión en individuos con fallas reproductivas y se obtienen datos fidedignos de la frecuencia de aberraciones y heteromorfismos cromosómicos en pacientes con pérdidas gestacionales e infertilidad de la provincia de Villa Clara.

Se utiliza un concepto novedoso e integrador de falla reproductiva desde una perspectiva cognoscitiva amplia, lo que constituye un valor añadido de la investigación.

Se caracterizan las causas cromosómicas de las fallas reproductivas durante un largo periodo de tiempo con datos de alto rigor científico y una revisión integral de todos sus aspectos, la cual no

existía total ni parcialmente hasta este momento, pues en la literatura nacional e internacional aparecen hallazgos aislados de algunos de los grupos que se estudian en esta investigación, pero no de todos en conjunto

Aporte metodológico

La identificación de las causas cromosómicas, divididas en grupos como fundamento principal de tipos específicos de fallas reproductivas, permite detallar analogías y diferencias en cuanto al tipo de alteración cromosómica y los por cientos de positividad entre grupos.

Aportes teóricos

Se elabora un concepto integral y abarcador de falla reproductiva, que permitió profundizar en la etiología cromosómica de los diversos tipos.

Se establecen las frecuencias de aberraciones cromosómicas, los tipos, cromosomas, brazos y puntos de ruptura involucrados, útiles para el asesoramiento genético en la estimación del riesgo y la comprensión de la variabilidad fenotípica de los sujetos.

Los análisis de segregación cromosómica meiótica constituyen herramientas vitales para la evaluación del riesgo en las familias y sirven de apoyo en la docencia de pregrado y postgrado al contar con ejemplos reales de aberraciones y segregaciones cromosómicas infrecuentes.

Se establece un algoritmo de estudio genético para la atención a las parejas infértiles que contribuye a organizar su seguimiento a través de los diferentes niveles de atención de salud.

El algoritmo elaborado permite trazar estrategias de prevención primaria que contribuirán a minimizar la problemática de salud reproductiva en la provincia.

Aportes prácticos

En la práctica médica, el conjunto de los resultados alcanzados en este trabajo contribuye a establecer criterios de indicación de estudios cromosómicos en individuos con fallas reproductivas.

Se proporciona asesoramiento genético a los individuos y parejas con fallas reproductivas, garantizando la información sobre el conocimiento de la causa cromosómica y sus riesgos.

Aportes sociales

Beneficio a la salud psicológica y la estabilidad emocional de los individuos y parejas que hasta el momento del estudio desconocían la causa del fallo en la reproducción, lo cual se extiende al entorno familiar, laboral y comunitario.

Volumen y estructura de la tesis

La tesis se presenta en un volumen único que consta de introducción y cinco capítulos, en el Capítulo 1 se expone el marco teórico conceptual necesario para el desarrollo de la investigación, se plasman teorías, causas, mecanismos biológicos y tratamientos relacionados. En el Capítulo 2 se señalan los materiales y métodos utilizados, se describen las técnicas de laboratorio utilizadas, la forma de obtener y procesar la información. En el Capítulo 3 se describen las aberraciones cromosómicas en individuos con pérdidas gestacionales, se determina el por ciento de positividad de los estudios citogenéticos, se realiza el análisis de segregación de las cromosomopatías heredadas y la relación cariotipo-fenotipo. En el Capítulo 4 se abordan las aberraciones cromosómicas en pacientes de ambos sexos con infertilidad, se determina el por ciento de positividad de los estudios cromosómicos, se exponen las variantes citogenéticas y se describe el fenotipo de los pacientes. En el Capítulo 5 se realiza el estudio de cromosomopatías que potencialmente conllevan a fallas reproductivas en fetos mediante muestras obtenidas prenatalmente o de tejidos sólidos fetales. Se presentan las conclusiones y recomendaciones, se relaciona la bibliografía y la autobibliografía de la autora. Un grupo de figuras se colocaron al final del capítulo correspondiente, y los anexos al final del documento.

CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO ACERCA DE FALLAS REPRODUCTIVAS DE CAUSA CROMOSÓMICA

La reproducción de las especies es un evento central en la biología. Las desviaciones de la reproducción humana acarrearán implicaciones sustanciales en diferentes esferas de la vida y son objeto de intensos estudios que la sitúan como un área emergente del conocimiento. En este capítulo se planteó como objetivo profundizar en el estado actual del conocimiento sobre las fallas reproductivas de causa cromosómica.

1.1. Fallas reproductivas. Definiciones conceptuales

La concepción y gestación humana son procesos vulnerables y a la vez robustos: vulnerables porque gran proporción de concepciones son cromosómicamente anormales y culminan en abortos; robusto porque en más del 99% de las gestaciones que llegan a término, el feto es cromosómicamente normal. La vulnerabilidad e ineficiencia recaen sobre la ovogénesis, y en menor medida sobre la espermatogénesis. La frecuencia de las patologías cromosómicas depende de la ventana observacional, en recién nacidos son la punta del iceberg. (22, 23)

1.1.1. Falla reproductiva

Es el desenvolvimiento reproductivo anormal, el cual incluye historia de infertilidad, abortos espontáneos recurrentes, muertes fetales e hijos con defectos congénitos o enfermedades incompatibles con la vida. (24)

1.1.2. Aborto

La Organización Mundial de la Salud define al aborto como la interrupción de la gestación antes de las 22 semanas (154 días) a partir de la fecha de última menstruación, mediante la extracción o expulsión de un embrión o un feto menor de 500 gramos. (25-27)

El aborto espontáneo o involuntario es la complicación más frecuente del embarazo, afecta entre el 15 % y 20 % de las gestaciones clínicas. Aunque se considera que las dos terceras partes de las concepciones terminan antes del sexto mes, la mayoría lo hace de forma subclínica antes de la implantación, cuando solo se identifican por métodos bioquímicos. (26, 28) El aborto espontáneo precoz o temprano ocurre antes de las 12 semanas de gestación y el tardío entre las 13 y las 22. Cerca del 80 % de las pérdidas espontáneas ocurren en el primer trimestre y el riesgo disminuye cada semana que avanza la gestación. El aborto completo es la expulsión total de los tejidos del embarazo, y el aborto diferido es la muerte del producto sin su expulsión. (25)

1.1.3. Pérdida gestacional recurrente

Definida por la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva como una enfermedad establecida por la pérdida de dos o más gestaciones clínicas reconocidas por ultrasonido o histopatología, no necesariamente consecutivas. (29) Se excluyen las gestaciones bioquímicas, los embarazos ectópicos y molares. (28) Si ocurre antes de las 22 semanas se denomina aborto recurrente o habitual, pero no existe un consenso universal y muchos médicos toman como punto de corte la semana 20, mientras que otros la 24. (25-27, 30-34, 35)

La Sociedad Europea de Embriología y Reproducción Humana establece como pérdida gestacional recurrente aquellas que repiten con independencia de la ubicación anatómica y sin indicar número de recurrencia. (35) El Colegio Real de Obstetras y Ginecólogos considera la pérdida de tres o más gestaciones antes de la semana 24, según la última menstruación. (28, 34)

Se clasifica como primaria cuando la mujer no ha logrado un embarazo viable a término, y secundaria cuando al menos existe un nacimiento vivo anterior. (26, 28, 35)

1.2. Epidemiología del aborto recurrente

La existencia de varios conceptos de aborto recurrente influye en la incidencia y prevalencia. (36) Es más frecuente en el primer trimestre, el 31,9 % ocurre antes de las siete semanas de amenorrea, el 52,3 % entre las semanas ocho y once, y el 11,1 % entre las semanas 12 y 15. Al pasar el primer trimestre, la frecuencia es del 4,7 %. (26) Alrededor del 5 % de las parejas tienen dos abortos y el 1 % tres o más. (28, 37)

La incidencia observada de aborto recurrente es mayor que la esperada por probabilidad (0,34 %), lo que sugiere la existencia de factores potencialmente determinantes e identificables. El riesgo aumenta con la edad materna y el número de pérdidas. Las mujeres mayores de 35 años tienen mayor riesgo de pérdidas recurrentes. El riesgo en mujeres que nunca han abortado es del 9 %, si hay antecedentes de un aborto es del 12 %, con dos abortos del 20 %, y con tres o más abortos del 40 %. La existencia de hijos previos no reduce el riesgo. (38-43)

1.2.1. Etiología de las pérdidas gestacionales

Las causas de abortos espontáneos se dividen en maternas y ovulares: las maternas afectan la nutrición y desarrollo del huevo provocando su expulsión y las ovulares causan degeneración y muerte embrionaria y trofoblástica. Las causas maternas locales se circunscriben al útero, mientras las generales son enfermedades maternas sistémicas. Las causas ovulares más frecuentes son genéticas, las cuales causan abortos precoces y el 70 % son cromosomopatías. Entre estas, predominan las aneuploidías con un 60% de trisomías, seguidas de triploidías, monosomías, tetraploidías y trisomías dobles. Se ha observado fuerte relación entre edad materna avanzada, aneuploidías y aborto espontáneo. Los trastornos monogénicos y multifactoriales también son responsables de abortos. (22, 26, 27, 29, 31, 44)

El aborto recurrente comparte etiologías con el aislado, como las anomalías uterinas en el 12 % y los trastornos endocrino metabólicos maternos en el 19 %. El síndrome antifosfolípido es responsable del 16 %. Otras causas son los trastornos de la hemostasia materna, inmunológicos, endometriales, infecciones crónicas, obesidad y ambientales. (30, 33, 45-49)

Las aberraciones cromosómicas estructurales balanceadas se diagnostican entre el 2 % y el 6 % de las parejas con pérdidas gestacionales recurrentes, de 10 a 20 veces superior a lo observado en la población general, variando la frecuencia según criterios de selección de la muestra y clasificación del cariotipo. Se ha observado recurrencia de aneuploidías en abortos de mujeres con pérdidas recurrentes y edad materna avanzada. (23, 26, 28, 33, 37, 50, 51)

La evidencia del efecto de factores ambientales es escasa y la validez de los estudios controversial; sin embargo, la exposición crónica a agentes tóxicos como cigarro, café, alcohol, metales pesados, pesticidas y carencias nutricionales se asocia con pérdidas gestacionales recurrentes, aunque los mecanismos no están bien aclarados. (52-54)

El 50 % de las pérdidas gestacionales son de etiología inexplicable; sin embargo, Sugiura-Ogasawara y colaboradores, (55) al estudiar la constitución cromosómica de los productos abortados reducen este grupo al 24,5 %, y Popescu y colaboradores (56) hasta el 10 %, porque realizan análisis de microarreglos de los 24 cromosomas. El avance tecnológico permite esclarecer alteraciones cromosómicas no diagnosticables en los cariotipos de rutina. (26, 57-62)

Las pérdidas gestacionales recurrentes se asocian a infertilidad y muchas mujeres desconocen la ocurrencia de abortos tempranos. La edad gestacional al momento de la pérdida está relacionada con la etiología. El 70% de los embriones con cromosomopatías se abortan antes de la octava semana, mientras que las causas maternas predominan en el segundo trimestre. (33, 63)

El índice de fecundidad mensual femenino es del 20 %. Se considera superfertilidad si es mayor del 60 % y la causa radica en una disregulación endometrial que facilita la implantación; pero, los trastornos de la placentación provocan abortos a repetición. (33)

1.3. Pérdida gestacional recurrente de causa cromosómica

Las aberraciones cromosómicas numéricas son más frecuentes en productos abortados. Las que reinciden en los descendientes de la misma pareja suelen ser estructurales no balanceadas, habitualmente cromosomas derivativos heredados de un progenitor portador balanceado de translocación recíproca o por fusión centromérica y de inversión pericéntrica o paracéntrica y es el motivo de indicación del cariotipo en sangre periférica con más de dos abortos. (26, 64-66)

1.3.1. Aberraciones cromosómicas estructurales balanceadas

Los portadores de aberraciones cromosómicas balanceadas son fenotípicamente normales porque no existe pérdida ni ganancia de material genético, poseen riesgo incrementado de descendencia no balanceada, con fenotipo y supervivencia que dependen del cromosoma involucrado, los puntos de ruptura y el tamaño del segmento. (67-70)

1.3.1.1. Translocación recíproca

La translocación recíproca es uno de los reordenamientos cromosómicos más frecuente en humanos. Se origina cuando dos cromosomas no homólogos intercambian segmentos tras la ruptura en un brazo de cada cromosoma. Las porciones distales intercambiadas son los segmentos translocados y el resto del cromosoma, que incluye el centrómero, es el segmento céntrico. Los nuevos cromosomas se denominan derivativos (der). Cuando uno de los fragmentos translocados es muy pequeño y no contiene genes, solo región telomérica, se conoce como intercambio de único segmento, pero, si los dos fragmentos son de tamaño considerable y contienen genes es un intercambio de doble segmento. Pueden ser de novo o heredadas, en el último caso se transmite a través de varias generaciones y hay reportes de segregaciones durante siglos. (22, 67, 71)

De las 16 combinaciones posibles en los gametos del portador balanceado, las dos alternantes son viables. El 50 % de los espermatozoides y el 70 % de los óvulos de un portador balanceado

son desbalanceados. El análisis de la segregación cromosómica en la descendencia no balanceada arroja que en el 71 % ocurre segregación adyacente 1, en el 4 % la adyacente 2, en el 22 % la trisomía o monosomía terciaria y en el 2,5 % la trisomía por intercambio. De existir recombinación en el segmento intersticial, entre el centrómero y el punto de ruptura, se generan combinaciones no balanceadas adicionales que limitan más la viabilidad del producto. (22, 72)

1.3.1.2. Translocación por fusión centromérica o robertsoniana

Descrita en 1916 por el citogenetista WRB Robertson, tiene una frecuencia de 1 en 1 000 recién nacidos vivos. Es el reordenamiento cromosómico más frecuente en humanos. Ocurre al fusionarse dos brazos largos de cualquiera de los cinco autosomas acrocéntricos y formar un único cromosoma metacéntrico o submetacéntrico. (22, 67, 73, 74)

Por probabilidad, existen 15 variantes de translocación por fusión centromérica con diferentes frecuencias y mecanismos de producción. El 95 % son translocaciones heterólogas, para las que se han descrito tres mecanismos de formación:

- fusión de los centrómeros
- una ruptura en el brazo corto y otra en el brazo largo de dos cromosomas no homólogos, seguida de unión
- ruptura de dos brazos cortos seguida de unión

Los dos primeros mecanismos son infrecuentes y el cromosoma derivativo es monocéntrico. El tercero es el más frecuente, origina un derivativo dicéntrico en el que uno de los centrómeros se suprime, o ambos permanecen activos, pero por cercanía funcionan como uno solo. Las más comunes son la translocación 13;14 y la 14;21, con frecuencias del 75 % y 10 % respectivamente. Este predominio se debe a segmentos homólogos específicos invertidos que se entrecruzan preferentemente en la ovogénesis, en estos dos tipos se observa una sola pareja de regiones con puntos de ruptura, pero en las translocaciones más raras existen múltiples puntos de ruptura y el

origen es postcigótico. En los tipos recíprocos la contraparte suele ser un cromosoma acéntrico inestable que raramente se mantiene como un pequeño cromosoma marcador bisatelital. (22, 67)

Las translocaciones homólogas son raras. El derivativo se forma de ambos cromosomas homólogos, tiene un centrómero y se origina en la primera división mitótica del cigoto. El 90% de las translocaciones por fusión centromérica clasificadas como homólogas son isocromosomas de origen meiótico. (67)

El portador balanceado tiene 45 cromosomas, la pérdida de dos copias de las regiones de organizadores nucleolares ubicadas en p12 no tiene significado clínico. Durante la vida reproductiva ocurrirán abortos por la fecundación de gametos desbalanceados no viables. Durante la meiosis de un heterocigoto, el cromosoma derivativo y los dos normales hacen sinapsis en una configuración de trivalente. Las únicas trisomías con posibilidades de sobrevivir a la etapa prenatal son la 21, la 13, la 18, y eventualmente la 22. La segregación alternante es la más frecuente, observada en el 81% al 92% de los espermatozoides. En ovocitos, el estudio de los cuerpos polares demostró un 42 % de formas desbalanceadas. (22, 67, 74)

La corrección postcigótica de un producto trisómico por translocación puede revertir el error y originar un descendiente fenotípicamente normal. El efecto negativo es la disomía uniparental con la consiguiente presencia de una enfermedad autosómica recesiva, o un síndrome por disomía uniparental. Si la corrección mitótica no incluye todas las células se obtendrá un cariotipo en mosaico. (22)

Se denomina efecto inter cromosómico a la interferencia de las aberraciones cromosómicas estructurales balanceadas sobre la meiosis que conllevan a aneuploidías. Se han observado mayores frecuencias de aneuploidías de los cromosomas X, Y, y 18 en heterocigotos de translocaciones por fusión centromérica y ha sido más estudiado en espermatozoides. (74-77)

1.3.1.3. Inversión cromosómica

Es el reordenamiento intracromosómico con dos puntos de ruptura en cualquier cromosoma, y rotación de 180° del segmento intercalar y reinserción. El nuevo cromosoma tiene una región central invertida flanqueada por dos fragmentos distales no invertidos. Se clasifican en: (22, 67)

- Pericéntricas: Puntos de ruptura a ambos lados del centrómero, generalmente cambia el tamaño de los brazos y la posición del centrómero.
- Paracéntricas: Puntos de ruptura hacia un mismo lado del centrómero, no cambia el tamaño de los brazos ni la posición del centrómero.

La frecuencia de las inversiones pericéntricas en la población oscila entre 0,12 % y 0,7 %, y de las paracéntricas entre 0,1 % y 0,5 %. Las inversiones simples son más comunes, las complejas son infrecuentes y se asocian a otro reordenamiento cromosómico. Las inversiones crípticas interesan a pequeños fragmentos detectados solo por citogenética molecular. (22, 30)

Inversión pericéntrica

Durante la meiosis, la pareja de cromosomas implicada en el reordenamiento forma un bucle reverso o de inversión en la zona invertida, y las regiones no invertidas aparean linealmente. Si la inversión es pericéntrica, al ocurrir entrecruzamiento y recombinación en la región del bucle se producirán gametos con cromosomas recombinantes desbalanceados con duplicación y deficiencia, normales y balanceados. (67)

Otros modelos de apareamiento obvian la formación del bucle. En un fragmento invertido muy pequeño no hay sinapsis, el entrecruzamiento y la recombinación ocurren en regiones no invertidas y no se formarán cromosomas recombinantes anormales. En la situación contraria, cuando el fragmento invertido es muy grande, la sinapsis solo ocurre en la región invertida y el entrecruzamiento da lugar a cromosomas recombinantes de forma similar al bucle. (67)

El riesgo de un individuo heterocigoto depende del cromosoma invertido y el tamaño del fragmento. Si la región invertida es grande existe mayor riesgo de nacimiento de un hijo no balanceado porque los segmentos distales son pequeños y su delección o duplicación puede ser compatible con la vida. Las inversiones pequeñas producen cromosomas recombinantes con grandes fragmentos duplicados o delecionados, no compatibles con la vida y son más propensas a pérdidas gestacionales recurrentes. El riesgo estimado en familias con antecedentes de descendientes no balanceados es del 5 % al 10 % y en familias donde no los hay, del 1 %. (22, 67)

Inversión paracéntrica

Durante la meiosis del individuo heterocigoto de inversión paracéntrica se forma un bucle de inversión con los centrómeros ubicados distalmente. De ocurrir entrecruzamiento dentro del bucle, los cromosomas recombinantes serán acéntricos o dicéntricos, ambos inestables y letales para la célula, por lo que toda la descendencia será fenotípicamente normal. Sin embargo, se han encontrado recombinantes monocéntricos por ruptura del dicéntrico, entrecruzamiento desigual e intercambio anormal en forma de U. En raras ocasiones uno de los centrómeros del cromosoma dicéntrico se inactiva o en el acéntrico surge un neocentrómero. El riesgo estimado es de 0,1 % a 0,5 %. (67, 78-82)

1.3.1.4. Inserción

Es un reordenamiento complejo con tres puntos de ruptura y la escisión del fragmento cromosómico donde ocurrieron las dos rupturas y su inserción en el sitio donde ocurrió una sola. La inserción recíproca es un reordenamiento más complejo con cuatro puntos de ruptura y el intercambio de los fragmentos. Habitualmente se diagnostican mediante citogenética molecular. El riesgo teórico de descendencia desbalanceada es del 50%. (22, 67, 83)

1.3.2. Aneuploidías

Son aberraciones cromosómicas donde todo un cromosoma o parte de él está duplicado o delecionado, que puede involucrar uno o varios cromosomas, autosomas o cromosomas sexuales, presentarse en forma de mosaico o no y ser numérica o estructural. La incidencia en recién nacidos es del 0,2 % y la mayoría, incompatible con la vida. Las aneuploidías autosómicas numéricas presentan mayor interés médico por su frecuencia, gravedad y repercusión en la esfera reproductiva porque son la principal causa de abortos espontáneos antes de la décima semana de gestación y guardan relación con la edad materna. (67, 84, 85)

Errores en la segregación cromosómica durante las mitosis iniciales del embrión originan aneuploidías no relacionadas con la edad materna. McCoy y colaboradores (86) observaron que el error mitótico es el mecanismo más relacionado con las pérdidas gestacionales antes de la formación del blastocito.

El desbalance de dosis de los productos génicos en las células aneuploides altera su fisiología y tiene efecto indirecto en la expresión de genes de otros cromosomas no aneuploides. En las células aneuploides humanas, los niveles de expresión proteica de los genes están aumentados en correspondencia con el número de copias del cromosoma, pero no sucede igual con la expresión del ARN, sugiriendo que algunos genes no se traducen eficientemente o que los productos génicos son inestables. Se demostró que estas células presentan stress proteotóxico, metabólico, replicativo y mitótico. Las trisomías sexuales se benefician por el efecto de la compensación de dosis y la inactivación del cromosoma X. Estudios en levaduras confirman que las aneuploidías eliminan la represión de la heterocromatina, modifican las histonas y causan inestabilidad epigenética. (87-90)

La senescencia inducida por aneuploidías podría evitarse por el efecto protector de la telomerasa. Las células madres expresan altos niveles de telomerasa que garantizan su proliferación prolongada, pero son más vulnerables a transformarse ante las mutaciones inducidas por

aneuploidías y, además, los cambios epigenéticos incrementan la incidencia de cáncer en pacientes síndrome Down. (90-92)

Los fetos aneuploides que sobreviven a la etapa prenatal tienen menor carga individual de variantes deletéreas ligeras que los recién nacidos cromosómicamente normales. Estas variantes interactúan directa o indirectamente con la trisomía según su localización genómica. El “modelo de incorrecciones genéticas” explica por qué algunas aneuploidías no se abortan. Se han identificado cerca de 49 variantes genómicas en 48 genes codificantes para 113 transcritos, encontrando entre 1 y 3 variantes por embrión. (93, 94)

1.3.3. Heteromorfismo cromosómico

Agrupar un número de variantes cromosómicas normales observadas por técnicas de bandeo como las variaciones en el tamaño de las regiones de heterocromatina, satélites, regiones de secuencias repetidas e inversiones de heterocromatina. (22, 95) La asociación con pérdidas gestacionales recurrentes es controversial. El papel de las regiones no codificantes del genoma, incluyendo las variantes comunes, no está dilucidado. Comprender qué variantes no tienen repercusión fenotípica y saber interpretarlas es un gran reto científico. (10, 24 96-98)

1.3.4. Genes relacionados con pérdidas gestacionales recurrentes

Existe una base genética que predispone a las pérdidas gestacionales recurrentes. Varias investigaciones estudian su asociación a polimorfismos genéticos, algunos con resultados contradictorios e inconsistentes que incluyen genes relacionados con la respuesta inmune, las trombofilias, la función placentaria, el sistema hormonal y de detoxificación. Entre 1991 y 2016 se identificaron 124 polimorfismos de 73 genes relacionados con pérdidas recurrentes, el 60 % estudiados en poblaciones caucásicas, el 30 % en asiáticos y solo el 10 % en otras poblaciones. Se encontró asociación significativa para 53 polimorfismos de 37 genes. (99, 100)

Los genes más estudiados son los de la respuesta inmune, como los de las citoquinas anti-inflamatorias, esenciales en la gestación normal, con asociación significativa para los polimorfismos de interleucina IL-4, IL-6, IL-10. Otros polimorfismos asociados son los de TP53, Factor V Leiden, Factor II, Factor VIII, Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y Citocromo P-450 17 hidroxilasa (CYP17). El polimorfismo de inactivación preferencial del cromosoma X (XCI) también muestra asociación y letalidad en varones si la mujer es heterocigota para mutaciones ligadas al cromosoma X. Los polimorfismos del complejo de proteínas sinaptonémicas 3 (SYCP3) y de la Quinasa similar a polo 4 (PLK4) se relacionan con aneuploidías fetales y pérdidas gestacionales recurrentes. Sin embargo, un estudio en 101 japoneses con historia de tres o más pérdidas no demostró asociación con las mutaciones de SYCP3. (100-103)

1.3.5. Tratamiento del aborto recurrente de causa cromosómica

Se basa en técnicas de reproducción asistida con diagnóstico preimplantación. De obviarse, los intentos de gestación por métodos naturales culminan con la concepción de un producto normal, con igual pronóstico de vida que el de una pareja sin cromosomopatía. La inyección espermática intracitoplasmática está disponible para hombres con bajo conteo espermático. (33, 45, 104, 105)

1.4. Infertilidad

Para la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva la infertilidad es la enfermedad con imposibilidad de lograr una gestación exitosa después de 12 meses o más de relaciones sexuales sin anticoncepción o de inseminación terapéutica con donante. Para las mujeres mayores de 35 años, el tiempo se acorta a 6 meses. (29)

1.4.1. Infertilidad masculina

Es compleja y multifactorial, su génesis abarca grandes áreas de la investigación genética: genoma, proteoma, metaboloma y epigenoma, afecta al 7 % de la población masculina general y

al 15 % en edad reproductiva. El 15 % se relaciona con causas genética como las aberraciones cromosómicas y los defectos monogénicos. Otras causas son infecciosas, inmunológicas, endocrinas, exposición ocupacional o por estilos de vida a compuestos químicos, alcohol, cigarro, cocaína, medicamentos y radiaciones ionizante. El impacto de los factores ambientales en la vida moderna ha elevado los índices de infertilidad. Técnicas actuales como la secuenciación de próxima generación son útiles en el diagnóstico de la infertilidad masculina. (106- 119)

La recombinación meiótica es un blanco mutacional y de variantes recombinantes en genes que contribuyen a la infertilidad. Se han documentado 314 polimorfismos de nucleótido único en 123 genes y el 70 % está relacionado con procesos de apoptosis, reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN), detoxificación de moléculas ambientales y respuesta a especies reactivas del oxígeno. Más de 2 000 genes ubicados en los dos cromosomas sexuales y los 22 autosomas están involucrados con la espermatogénesis, ya sea porque sus mutaciones tengan efecto directo o a través de la interacción de factores ambientales. (72, 106, 108, 111, 120-123)

1.4.2. Infertilidad femenina

Las causas comunes incluyen alteraciones tubarias, peritoneales, uterinas, ováricas y enfermedades sistémicas. Los folículos son los compartimentos endocrinos y reproductivos más importantes del ovario, pues su salud y cantidad determinan el potencial reproductivo y la duración de la etapa reproductiva. La activación de los ovocitos es un proceso temporal y espacialmente coordinado; a partir de los 30 años la fertilidad femenina comienza a declinar. (107, 116, 124-128)

La insuficiencia ovárica primaria o fallo ovárico prematuro es un trastorno complejo multifactorial donde el ovario deja de funcionar antes de los 40 años con disminución de los estrógenos (hipogonadismo) y elevación de la hormona folículo estimulante (FSH) (hipergonadotrópico), se observa en pacientes con aberraciones cromosómicas estructurales y aneuploidías del cromosoma X. Las deleciones terminales de Xp se relacionan con amenorrea primaria y las de Xq

con amenorrea primaria o insuficiencia ovárica primaria. Varios genes autosómicos -como el de la inhibina A, de la ADN polimerasa gamma mitocondrial y el receptor de la FSH- intervienen en el desarrollo del folículo y sus mutaciones causan fallo ovárico. (107, 127)

La determinación del sexo en mamíferos está controlada por vías antagónicas que en la gónada bipotencial se coexpresan y posteriormente se tornan específicas de cada sexo. En las gónadas XY, el desarrollo del testículo se inicia con una sobreexpresión de SOX9 por SRY en las células pre-sertoli. El desarrollo del ovario depende de la vía de señalización canónica Wnt a través de Wnt4, RSPO1 y B-catenina. (122, 129, 130)

1.4.3. Aberraciones cromosómicas e infertilidad

Entre las parejas infértiles existen de 7 a 9 veces más portadores de translocaciones por fusión centromérica que en la población general debido a la segregación de los cromosomas involucrados en el reordenamiento y al efecto intercromosómico. Entre los hombres con oligospermia la posibilidad asciende 13 veces por la sinapsis incompleta del trivalente durante el paquiteno, las regiones de heterocromatina de los brazos cortos no se aparean e interfieren con el del bivalente X-Y bloqueando la progresión de la espermatogénesis. También se ha descrito activación de los puntos de control de la meiosis favoreciendo la apoptosis y alteraciones de la posición de los cromosomas en el núcleo espermático. (22, 74, 131, 132)

Es inusual encontrar portadores de inversiones cromosómicas infértiles, aunque existen reportes de inversiones de los cromosomas grandes que causan arresto de la espermatogénesis. En las mujeres heterocigotas para inversiones del cromosoma X es crucial el efecto de posición, y si la ruptura se ubica entre las regiones Xq13-q22 o Xq22-q26 habrá disfunción gonadal, amenorrea primaria, menopausia precoz e infertilidad. (22, 133)

Los hombres infértiles muestran diferentes susceptibilidades a alteraciones meióticas en los espermátocitos secundarios sin preferencia hacia cromosomas específicos. Sarrate y

colaboradores (134) identificaron cromosomas normales en el 93 % de los espermatoцитos, el 4,1 % mostró separación prematura de las cromátidas hermanas, el 2,7 % aneuploidías con predominio de nulisomías y el 0,2 % pérdida de cromátidas.

1.4.4. Tratamiento de la infertilidad de causa cromosómica

La fertilización in vitro con diagnóstico preimplantación evita los abortos recurrentes de etiología cromosómica heredada. La inducción de células madres pluripotenciales es una solución a la carencia de gametos. (135-137)

1.5. Edad materna y fallas reproductivas

Desde los últimos años de la década del 70 surgió la tendencia denominada por los demógrafos “transición del aplazamiento”, de posponer la maternidad para después de los 35 años. Pero a esta edad la fertilidad femenina declina y se incrementan los índices de aneuploidías fetales y abortos espontáneos, por ejemplo, el riesgo de aborto a los 20 años es del 10 %, a los 35 años del 25 %, a los 40 del 40 % y a los 45 del 75 %. (138)

1.5.1. Edad materna avanzada y aneuploidías

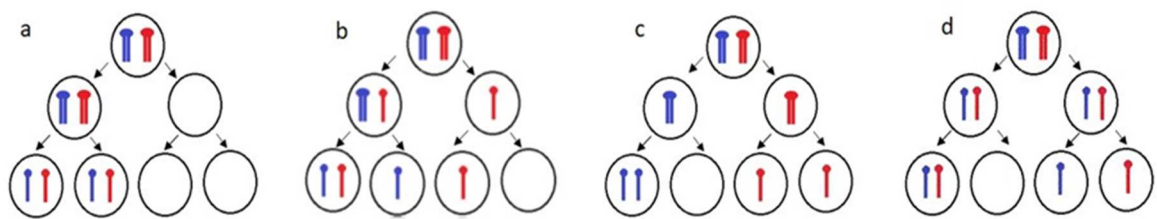
Las aneuploidías causadas por errores en la segregación cromosómica meiótica se relacionan con la edad materna. En 1933, Penrose describió la asociación entre no disyunción meiótica y trisomía 21. Durante años se ha reconocido al mecanismo de no disyunción meiótica materna responsable de la mayoría de las aneuploidías; sin embargo, estudios recientes confirman que la separación prematura de las cromátidas hermanas es más frecuente. La segregación reversa se esclareció mediante el estudio del primer y segundo cuerpo polar. (67, 139-141)

El ovocito entra en meiosis I en la vida fetal y se reinicia antes de la ovulación, tras una breve intercinesis progresa hacia la meiosis II. El éxito de completar las divisiones meióticas depende del control de la segregación cromosómica regulada por la separasa, proteasa necesaria para separar

los anillos de cohesina que unen los cromosomas. La activación de la separasa está mediada por el complejo promotor de la anafase/ciclosoma (APC/C) y la destrucción de la securina. La cohesina se elimina de los brazos cromosómicos en meiosis I, mientras que la shugosina (Sgo2) protege la cohesión centromérica. De perderse la protección por actividad desenfrenada de la separasa, ocurre separación prematura de las cromátidas hermanas por pérdida prematura de la cohesina centromérica. Al terminar la meiosis I, la securina es degradada al 30% por APC/C, nivel esencial para el mantenimiento de la inhibición de la separasa y la cohesión de las cromátidas hermanas hasta que la fertilización desencadena la terminación de la meiosis II. (142)

Los errores de segregación cromosómica ocurren con igual frecuencia en meiosis I y II. Durante la meiosis I, los cromosomas homólogos se aparean y forman los bivalentes, cuando ocurre no disyunción, los bivalentes no se separan y ambos homólogos migran hacia el mismo polo. Si hay separación prematura de las cromátidas hermanas, segregan independientemente con distribución inadecuada de una de las cromátidas separada con el otro homólogo del par cromosómico (figura 2a y 2b). Ambos errores en meiosis I originan un gameto heterodisómico. La separación prematura de las cromátidas hermanas, especialmente de los cromosomas pequeños, es el mecanismo más frecuente en el origen de las aneuploidías. Durante la meiosis II se dividen las cromátidas hermanas; en este punto, el error en la segregación provoca que ambas migren hacia el mismo polo, originando un gameto isodisómico. (67, 139,143) (figura 2c)

La segregación reversa ocurre cuando las cromátidas hermanas segregan en meiosis I, en lugar de los cromosomas homólogos. (144) Este tipo de error conlleva a un número correcto de cromosomas en el ovocito y el primer cuerpo polar, pero como las parejas de cromátidas son heterocigotas para los centrómeros porque tienen diferente origen parental, presentan dificultades en la alineación del huso durante la metafase II. (139) Está relacionada con la pérdida de la protección a la cohesión centromérica por shugosina (Figura 2d)



Fuente: Original de la autora

Figura 2: Representación esquemática de errores en la segregación en meiosis. 2a: No disyunción en meiosis I. 2b: Separación prematura de las cromátidas hermanas 2c: No disyunción en meiosis II 2d: Segregación reversa.

Varias hipótesis explican los errores de la segregación cromosómica meiótica, unas se relacionan con la EMA y otras con la ocurrencia en mujeres jóvenes. Según la hipótesis de la producción en línea, durante la vida adulta los ovocitos maduran en el mismo orden en que la ovogonia correspondiente entró en meiosis en la vida fetal, las que lo hacen más tarde forman quiasmas defectuosos que llevan a no disyunción. La teoría de la reserva limitada de ovocitos presupone que solo el folículo más óptimo completa la meiosis I y eventualmente la ovulación. Como el número de folículos antrales disminuye con la edad materna, existe mayor probabilidad que uno no óptimo intervenga en la ovulación y es más propenso a errores en la disyunción meiótica. (67)

La hipótesis de Gauden del compromiso de la microcirculación presupone que la no disyunción ocurre por eventos en cascada. Los desbalances hormonales reducen la cantidad de vasos de la microcirculación alrededor del folículo, disminuye el riego sanguíneo, hay acumulación de ácido láctico en la célula folicular, reducción del tamaño del huso y se incrementan los errores meióticos. Un modelo relaciona el alelo E4 de la apolipoproteína E con errores en meiosis II a través del compromiso vascular por el incremento del colesterol plasmático o por afectación en la estabilidad de los microtúbulos. (144)

Los telómeros dan estabilidad cromosómica a las células germinales, su acortamiento predispone a la segregación anormal de los cromosomas durante la meiosis y a aneuploidías en ovocitos

humanos y en las primeras mitosis embrionarias. La apolipoproteína E regula los telómeros. Las mujeres con el alelo E4 tienen seis veces más riesgo de acortamiento telomérico. (144, 145)

La recombinación aberrante predispone a la no disyunción, como la reducción del número de recombinaciones y entrecruzamientos y la formación de quiasmas cercanos a los telómeros o al centrómero. El modelo de dos golpes plantea que algunas configuraciones de recombinación son procesadas incorrectamente en mujeres con EMA debido a fallos del huso: el primer golpe crea configuraciones de entrecruzamiento susceptibles a no disyunción y el segundo, la reducción de la cohesión cromosómica. (146)

El deterioro de la cohesión entre los cromosomas es clave en el origen de las aneuploidías en madres afeadas. Las conexiones físicas entre los cromosomas homólogos y los centrómeros hermanos durante la meiosis son esenciales en la segregación y dependen de la cohesina, que se une a los cromosomas durante la fase S y se degrada en la anafase. En las células germinales femeninas la fase S ocurre durante el desarrollo fetal y la división celular termina decenas de años después, por lo cual los complejos de cohesina deben permanecer mientras dura el dictioteno para que ocurra la correcta segregación durante la meiosis. La cohesión centromérica es deficiente en mujeres con edades avanzadas, presentándose una distancia entre los cinetocoros hermanos entre 25-50 % mayor. Es más frecuente que los bivalentes se separen y parejas de univalentes segregan de forma no coordinada. La EMA compromete en el ovocito el eje SAC-APC/C (SAC: punto de control del ensamblaje del huso), disminuyendo la securina y perdiéndose la cohesión de las cromátidas hermanas. La sobreexpresión de la securina y de la quinasa Mps1 inhibidora de SAC protege contra la separación de los cinetocoros hermanos en las mujeres con EMA. Una vez perdida la cohesina, no hay manera de restituirla. (139, 142, 147-150)

El efecto de la EMA no se limita a la meiosis. Las divisiones mitóticas siguientes a la fertilización dependen de proteínas y ácido ribonucleico mensajero (ARNm) transcritos por el ovocito, sus deficiencias incrementan las aneuploidías, fundamentalmente monosomías, explicadas por

anafase retardada y fallo en la captura de los cromosomas por los microtúbulos del huso. Las mitocondrias y el ADN mitocondrial también juegan un papel importante durante el desarrollo embrionario temprano. El aumento del ADN mitocondrial en los embriones de mujeres mayores de 38 años y en embriones aneuploides, independientemente de la edad de la madre, se relaciona con incremento del metabolismo y reducción de la viabilidad embrionaria, confirmando el papel de las mitocondrias en la génesis de las aneuploidías en mujeres con EMA. (151)

1.5.2. Aneuploidías en mujeres menores de 35 años

Las aneuploidías también ocurren en ovocitos de mujeres jóvenes, donde el control del ensamblaje del huso meiótico es menos riguroso y permite que las células con cromosomas mal alineados continúen la división celular. La ausencia de centros de organización de microtúbulos en ovocitos propicia la inestabilidad y formación de husos multipolares. Por otra parte, los defectos de la recombinación homóloga influyen en la cohesión entre bivalentes y cromátidas hermanas. Recientemente se reportó la asociación del alelo T de la Presenilina 1 con no disyunción en meiosis II en mujeres menores de 35 años. (139, 144)

1.5.3. Genes relacionados con los errores de segregación meiótica

La síntesis de purinas y pirimidinas y, por ende, la estructura del ADN está estrechamente ligada al metabolismo del folato. Los trastornos de esta vía metabólica afectan la segregación cromosómica e incrementan el riesgo de trisomías. Las alteraciones en la metilación causan regulación inadecuada de la expresión génica y reestructuración de la cromatina con afectación del huso meiótico y no disyunción cromosómica. Se han identificado variantes génicas específicas de los genes MTHFR Y MTR que codifican respectivamente la enzima metilentetrahidrofolato reductasa y la metionina sintasa, relacionadas directamente con los errores de segregación cromosómica. (152, 153)

Las investigaciones in vivo de los errores de segregación cromosómica en meiosis son limitados y se enfocan a extrapolar los resultados obtenidos en mitosis. En modelos animales se demostró la relación entre los genes Mad2, Bub1, Bub3, Mps1 y AurkB/C con las aneuploidías, más evidentes en ovocitos. (154, 155)

1.6. Factores ambientales, epigenética y trastornos reproductivos

El sistema reproductor es sensible a la disrupción por moléculas que mimetizan o alteran la acción de las hormonas esteroideas, llamados disruptores endocrinos. La hipótesis del “origen del desarrollo de la salud y la enfermedad” propone que la experiencia ambiental individual durante el desarrollo temprano afecta la sensibilidad o el riesgo de desarrollar enfermedades en la vida adulta, existiendo ventanas temporales críticas del desarrollo fuera de la vida intrauterina tales como: preconcepcional, perinatal, neonatal, postnatal y puberal. (3, 156)

El bisfenol A se utiliza en la manufactura de plásticos y resinas epoxi, tiene afinidad por los receptores estrogénicos y se relaciona con abortos recurrentes e infertilidad, reduce la reserva ovárica, incrementa el índice de aneuploidías en ovocitos, altera la calidad de los espermatozoides y la función sexual masculina. La exposición in útero a dibenzofuranos disminuye las concentraciones de estradiol de las niñas a los 8 años de edad provocando hipoplasia uterina. Los químicos perfluorinados utilizados en envases de alimentos, papel de envoltura, espumas contra incendios, textiles y teflón afectan la función tiroidea y la reproducción. La exposición prenatal a dietas ricas en grasas disminuye la reserva ovárica y tiene efecto multigeneracional. (157-159)

1.7. Aneugenos

Son inductores de aneuploidías que actúan sobre dianas celulares relacionadas con la división celular, como los microtúbulos, centrosomas y proteínas asociadas a los centrosomas. Con efecto comprobado se encuentran el bisfenol A, el dicromato de potasio, antineoplásicos como doxirobucín, paclitaxal y sulfato de vincristina, nanopartículas de oro, griseofulvina, colchicina, y

entre los metales pesados el cadmio, cromo y níquel. Algunos permanecen en el medio ambiente y su exposición mantenida afecta a los seres humanos. (157, 158, 160-163)

1.8. Conclusiones del capítulo:

El análisis de la literatura revisada sobre fallas reproductivas de causa cromosómica revela que se trata de un problema científico perentorio. La fertilidad humana es un aspecto de la biología del hombre cuyo estudio se remonta a los inicios del desarrollo de las ciencias médicas; pero aún no es totalmente comprendido por su complejidad y la gran cantidad de procesos definitorios para la vida que se producen en un intervalo muy corto de tiempo.

Los progresos científicos muestran un avance de magnitud exponencial, gran parte se debe a las posibilidades que abrió la reproducción asistida al permitir acercarse al fenómeno biológico de la concepción y las células germinales como nunca antes se había logrado, así como a los espectaculares avances de la biología molecular y específicamente, la citogenética molecular.

Resultan áreas de marcado interés las referentes a la meiosis materna y los mecanismos que conllevan a errores de segregación cromosómica, el control genético de los ciclos celulares, la influencia ambiental y la complejidad de la fertilidad masculina. Aún existen importantes problemas científicos sin resolver en el campo de la fertilidad y la reproducción humana, que de solucionarse pudieran satisfacer los anhelos de procreación de todos.

CAPÍTULO 2

CAPITULO 2. DISEÑO METODOLÓGICO

Para alcanzar los objetivos del presente estudio se trazó un grupo de tareas científicas que requirieron establecer un diseño metodológico. Este capítulo tiene como objetivo documentar la metodología utilizada para el desenvolvimiento de la investigación.

2.1. Contexto de la investigación.

La provincia de Villa Clara está situada en el centro del país, con una población estimada de 776 296 habitantes. La población media de mujeres en edad reproductiva (entre 15 y 49 años) es de 166 671 y de hombres entre 15 y 60 años de 241 578, según datos de la Oficina Nacional de Estadística e Información de la República de Cuba para el año 2018. (164)

2.2. Clasificación de la investigación

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal, durante 25 años. Contempla la identificación y descripción de las causas cromosómicas de las fallas reproductivas.

2.3. Lugar y periodo de estudio

La investigación se llevó a cabo en la provincia de Villa Clara. Todos los cariotipos se realizaron en el Laboratorio de citogenética del Centro provincial de genética médica entre febrero de 1995 y enero de 2020. Los cariotipos en piel, tendón y riñón fetal se realizaron a partir de enero de 1999, fecha en que se implementó la técnica en el laboratorio.

2.4. Universo y población de estudio

Universo: población de Villa Clara en edad reproductiva, con antecedentes o sospecha clínica de fallas en la reproducción durante el periodo comprendido desde febrero de 1995, hasta enero de 2020.

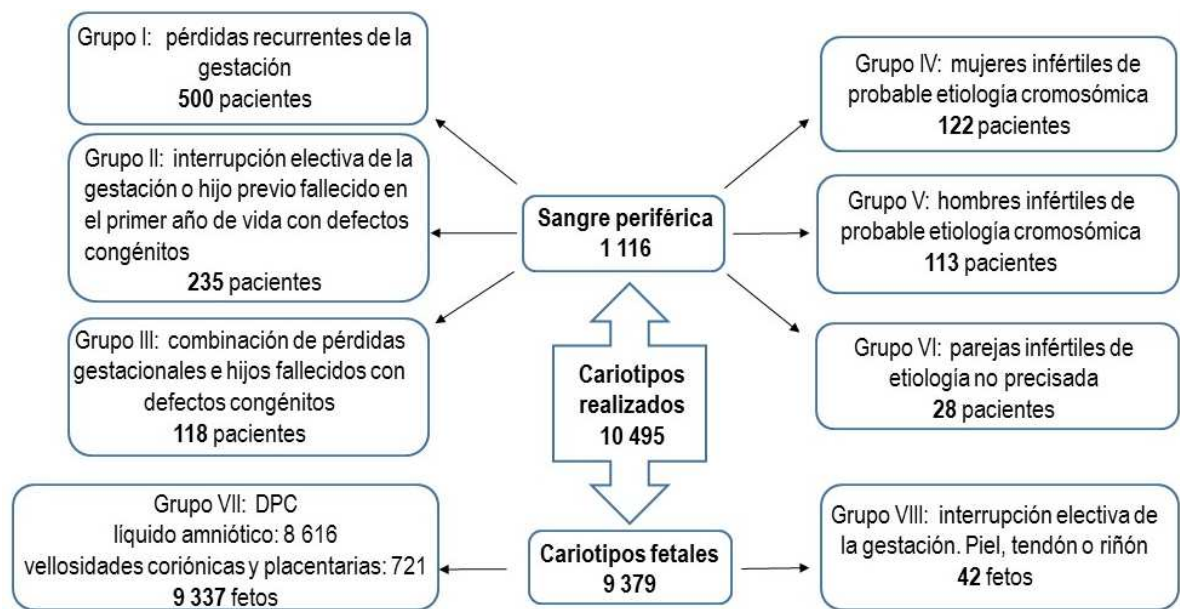
Población de estudio: individuos del universo que se realizaron cariotipo tras ser evaluados por el genetista clínico del Centro provincial de Genética médica de Villa Clara, que sumaron 10 495.

La totalidad de la población fue incluida en la investigación. Se formaron ocho grupos de estudio atendiendo al criterio de indicación del cariotipo y el tipo de muestra biológica utilizada. Los casos postnatales, realizados en sangre periférica, se distribuyeron en seis grupos y los cariotipos de fetos en dos, según la condición vital al momento de la toma de la muestra:

- Grupo I: Pérdida gestacional recurrente. Se consideró dos o más pérdidas involuntarias como aborto espontáneo, aborto diferido, muerte fetal, o combinaciones.
- Grupo II: Antecedentes hijo fallecido con defectos congénitos. Se consideró la interrupción electiva de la gestación por diagnóstico de defectos congénitos mayores mediante ecografía fetal y el hijo fallecido prenatalmente o antes de cumplir el primer año de vida con defectos congénitos confirmados en la necropsia.
- Grupo III: Antecedentes de combinaciones de pérdidas gestacionales recurrentes e hijo fallecido con defectos congénitos. Se consideró a aquellos individuos o parejas con combinación de los criterios de los Grupos I y II.
- Grupo IV: Infertilidad femenina. Se consideró a mujeres de 15 años en adelante.
- Grupo V: Infertilidad masculina. Se consideró a hombres de 15 años en adelante.
- Grupo VI: Parejas con infertilidad de etiología no precisada.
- Grupo VII: Diagnóstico prenatal citogenético (DPC) de aberración cromosómica no balanceada de novo o heredada.

- Grupo VIII: Estudios citogenéticos en tejidos sólidos fetales de productos de interrupción electiva de la gestación por defectos congénitos, que no se realizaron DPC.

En la figura 3 se muestra la distribución de los 10 495 cariotipos realizados a la población de estudio.



Fuente: Original de la autora

Figura 3: Diagrama de la población de estudio para los diferentes análisis citogenéticos.

2.5. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- i. Criterios generales para todos los grupos:
 - a) Residir en la provincia Villa Clara.
 - b) Cariotipo con resultado y análisis de 15 o más metafases con bandas G (GTG).
 - c) Dar el consentimiento informado.
- ii. Criterios para los estudios en sangre periférica:
 - a) Individuos o parejas con antecedentes de dos o más pérdidas espontáneas de la gestación, independientemente de tener o no descendientes vivos y sanos.

- b) Individuos o parejas con antecedentes de interrupción electiva de la gestación por feto con defectos congénitos y fenotipo sugerente de cromosomopatía sin DPC.
 - c) Individuos o parejas con antecedentes de hijo previo fallecido con sospecha clínica de cromosomopatía sin confirmación citogenética o hijo fallecido con aberración cromosómica no balanceada confirmada de probable origen hereditario.
 - d) Mujeres de 15 años en adelante con amenorrea primaria, defectos congénitos del aparato reproductor asociados a infertilidad, o fenotipo sugerente de alteración de los cromosomas sexuales.
 - e) Hombres de 15 años en adelante con azoospermia u oligospermia severa, atrofia testicular o fenotipo sugerente de alteración de los cromosomas sexuales.
 - f) Parejas con historia de infertilidad de etiología no precisada.
- iii. Criterios para considerar estudios cromosómicos en fetos como causa de falla reproductiva.
- a) DPC de aberración cromosómica no balanceada, heredada o de novo, en la que está descrita la asociación a defectos congénitos mayores y retraso mental moderado o severo con decisión voluntaria de la pareja de interrumpir la gestación.
 - b) Producto de interrupción electiva de la gestación con sospecha clínica de cromosomopatía tras la evaluación del especialista en Genética clínica y necropsia en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Ginecobstétrico Mariana Grajales.

Criterio de exclusión:

- a. Estudios cromosómicos en tejidos sólidos fetales para confirmación de DPC.

2.6. Variables del estudio y operacionalización

En este estudio, la variable falla reproductiva se estructuró como latente desde la perspectiva biológica aplicable a las situaciones en que cabría esperar una reproducción subóptima. (24)

Tabla 1: Operacionalización de las variables

Variable	Tipo	Operacionalización	
		Escala	Descripción
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	Escala nominal: • Mujer • Hombre	Según sexo fenotípico
Edad	Cuantitativa discreta	Escala de razón • Intervalos de cinco años en la infertilidad femenina y de diez en la masculina • Intervalos de cinco años para edad materna	Según grupo de estudio. En cariotipos postnatales se refiere a la edad del sujeto de investigación. En cariotipos prenatales a la edad de la madre
Pérdida gestacional	Cualitativa nominal	Escala nominal • Abortos espontáneos • Abortos diferidos • Muertes fetales	Según edad gestacional y manifestaciones clínicas
Pérdida gestacional recurrente	Cuantitativa discreta	Escala de razón • Dos pérdidas • Tres pérdidas • Cuatro y más pérdidas	Según cantidad de eventos
Infertilidad	Cualitativa nominal	Escala nominal: • Masculina • Femenina • Mixta	Según tiempo sin lograr la gestación y sexo del individuo.
Falla reproductiva	Cualitativa nominal politómica	Escala nominal • pérdida gestacional recurrente • pérdidas únicas con producto con defectos congénitos confirmado por Anatomía patológica • interrupción electiva de la gestación por defectos congénitos o aberración cromosómica no balanceada • hijo con defectos congénitos fallecido antes del año de edad • infertilidad	Según desenvolvimiento reproductivo anormal

Variable	Tipo	Operacionalización	
		Escala	Descripción
Cariotipo	Cualitativa nominal politómica	Escala nominal: • normal: sin heteromorfismo y con heteromorfismo cromosómico • positivo: - numérica: aneuploidía (trisomía, monosomía) o poliploidía (triploidía, tetraploidía) - estructural: balanceada (translocación por fusión centromérica, translocación recíproca, inversión paracéntrica, pericéntrica) o no balanceada (deleción, duplicación, isocromosoma, anillo)	Según resultado del cariotipo convencional
Defecto congénito	Cualitativa nominal politómica	Escala nominal • Cardiovascular • Sistema nervioso central • Digestivo • Renal • Labio leporino • Hidrops fetal	Según sistema involucrado confirmado por Anatomía patológica
Condición clínica relacionada con la infertilidad	Cualitativa nominal politómica	Escala nominal • En mujeres: amenorrea primaria, amenorrea secundaria y oligomenorrea • En hombres: azoospermia, oligoastenozoospermia, atrofia testicular	Según datos clínicos y de complementarios

2.7. Métodos

2.7.1. Documentación científica

Se realizó una búsqueda en Google académico y se consultaron las bases de datos PubMed, Medline, Bireme (LILACS, SciELO y Cochrane) en los idiomas inglés y español. Los términos

utilizados fueron: falla reproductiva, aborto recurrente, infertilidad, cariotipo, aberraciones cromosómicas, heteromorfismo cromosómico, y se enfatizó en los últimos cinco años.

Se revisaron los datos recogidos en la historia clínica utilizada en esta investigación (anexo 1) para la totalidad de individuos estudiados; así como en los libros de registros de estudios cromosómicos postnatales en sangre periférica, estudios prenatales (cultivos de líquido amniótico y vellosidades coriónicas y placentarias) y de tejidos sólidos fetales del Laboratorio de citogenética del Centro provincial de genética médica de Villa Clara desde 1995 hasta enero 2020.

2.7.2. Entrevista médica

Se realizó en locales con privacidad, de forma individual y con grupos familiares, según la pertinencia y la aprobación del paciente. El número de consultas varió en cada caso hasta obtener la información necesaria y la comprensión por parte de los entrevistados. Se indagó sobre el motivo de consulta, la historia de la condición médica que la motivó, antecedentes personales y familiares. Se solicitaron fotografías, resultados de estudios previos e historias clínicas. Se confeccionó el árbol genealógico con no menos de tres generaciones.

2.7.3. Observación científica

2.7.3.1. Examen físico de pacientes

El examen físico de los fetos se llevó a cabo en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Ginecobstétrico Mariana Grajales, se evaluó el peso para la edad gestacional, la presencia de defectos congénitos menores y mayores visibles en las diferentes regiones del cuerpo y de defectos congénitos de órganos internos que fueron confirmados e identificados tras la necropsia. En niños y adultos se realizó en locales de consulta con las condiciones de privacidad requerida para realizar el examen físico general, por regiones del cuerpo, aparatos y sistemas según el motivo de consulta. Los datos se incluyeron en la historia clínica.

2.7.4. Métodos citogenéticos

2.7.4.1. Metodología para la caracterización citogenética

a) Caracterización de las aberraciones cromosómicas

Se analizó el tipo de aberración y los cromosomas involucrados. En las aberraciones cromosómicas estructurales se precisaron los cromosomas, brazos y puntos de ruptura; el origen heredado o de novo; y en las heredadas el progenitor portador del reordenamiento.

b) Caracterización de los heteromorfismos cromosómicos

- Tipo de heteromorfismo cromosómico: incremento de la heterocromatina pericentromérica de los cromosomas 1, 9, 16; inversión de la heterocromatina pericentromérica del cromosoma 9; incremento del tamaño de los tallos y de los satélites de los cromosomas acrocéntricos 13, 14, 15, 21 y 22; incremento o disminución de la heterocromatina del brazo largo del cromosoma Y, y otras variantes de menor frecuencia.

- Único o múltiple: Cantidad de heteromorfismos cromosómicos en el mismo individuo

- Asociación en un mismo cariotipo de heteromorfismo y aberración cromosómica.

Ante heteromorfismos cromosómicos infrecuentes se realizó estudio cromosómico familiar.

2.7.4.2. Metodología para estudiar la relación cariotipo-fenotipo

Se realizó teniendo en cuenta aspectos particulares del fenotipo en cada etapa de la vida. En los casos postnatales, el examen físico y los resultados de exámenes complementarios facilitaron la integración y delineación de patrones dismórficos característicos. En fetos, los hallazgos de la ecografía y la confirmación en la necropsia, perfilaron el diagnóstico de aberración cromosómica.

2.7.4.3. Metodología para realizar los análisis de segregación cromosómica

Cuando se diagnosticó una aberración cromosómica estructural se ofreció estudio citogenético a los miembros de la familia con riesgo de ser portadores balanceados. Se realizó el árbol genealógico y el análisis de segregación del reordenamiento cromosómico de la forma habitual en citogenética.

En las translocaciones recíprocas se analizaron: cromosomas y fragmentos involucrados en el cuadrivalente en segregación 2:2 alternante, ya fuera adyacente 1 o 2; segregación 3:1 con trisomía o monosomía terciaria y con trisomía o monosomía por intercambio; segregación 4:0. En las translocaciones por fusión centromérica -según los cromosomas acrocéntricos relacionados en el trivalente- se definió en segregación 2:1 alternante y adyacente, y en 3:0. En las inversiones se analizó: tipo y tamaño del segmento invertido, la configuración en bucle y la segregación del cromosoma parental o de un recombinante.

2.7.4.4. Metodología para la evaluación del padre portador en las aberraciones cromosómicas heredadas

Ante el diagnóstico de un paciente con aberración cromosómica estructural de posible origen heredado, se ofreció realizar cariotipo a sus dos progenitores, para conocer el origen heredado o de novo y el progenitor portador en los casos heredados.

2.8. Obtención de muestras biológicas

- Para estudios postnatales: Se extrajo 5ml de sangre periférica mediante venopuntura en consulta de citogenética postnatal del Laboratorio de citogenética. Las extracciones se realizaron con jeringuillas desechables heparinizadas en cámara de flujo laminar. Se utilizó Heparina sódica 5 000 Ud administrada a las paredes internas de la jeringuilla. Los pacientes aceptaron la realización del estudio previo consentimiento informado. (anexo 2)

- Para estudios prenatales: Se extrajo por un obstetra entrenado, con guía de ultrasonido, en el salón de amniocentesis del Centro provincial de genética médica. Las gestantes habían sido evaluadas por un Máster en asesoramiento genético en su área de salud y clasificadas como riesgo incrementado para cromosomopatías. Las que aceptaron el proceder lo plasmaron en el consentimiento informado (anexo 3). Se realizó ultrasonido para evaluar vitalidad y biometría fetal, posición de la placenta, índice de líquido amniótico, condiciones obstétricas o fetales presentes y edad gestacional. En caso de contraindicaciones se declinó la toma de muestra de forma transitoria o permanente según criterio médico y voluntariedad de la gestante.

- a) Muestra de vellosidades: Se obtuvo entre la novena semana y la 19 de edad gestacional, en casos excepcionales hasta la 27. Se utilizó la vía transabdominal con trocar Spinocan 20G guiado por ultrasonido y aspiración con jeringuilla de 20 ml desechable que contenía 5ml de solución salina y antibiótico. Como requisito indispensable la placenta debía estar en la cara anterior del útero. Las vellosidades se seleccionaron al microscopio estereoscópico y se depositaron en frascos estériles cerrados con medio de transporte. Estos estudios se realizaron hasta 2009 por rotura del equipamiento indispensable para el proceso.
- b) Muestra de líquido amniótico: Se extrajo 20 ml de líquido amniótico en jeringuillas desechables de 20ml mediante amniocentesis transabdominal con trocar Spinocan 20G, guiado por ultrasonido. La edad gestacional osciló entre 16 y 19 semanas, con casos excepcionales a las 15 y 30 en fetos con hallazgos de interés en el ultrasonido.

- Tejidos sólidos fetales: Se tomaron dos muestras a cada feto provenientes de piel axilar, tendón de Aquiles o tejido renal en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Ginecobstétrico Mariana Grajales y se depositaron en frascos estériles con medio de cultivo. Los padres fueron informados previamente y plasmaron su aceptación en el consentimiento informado (anexo 4).

2.9. Técnicas y procedimientos para estudios citogenéticos

Se realizaron según los Procedimientos Normativos Operacionales (PNO) del Laboratorio de citogenética de Villa Clara. Se realizó cultivo de linfocitos en sangre periférica (anexo 5), de vellosidades coriónicas y placentarias (anexo 6), de líquido amniótico (anexo 7) y de tejidos sólidos fetales (anexo 8). Se extendieron dos láminas por cada frasco procesado y a las 72 horas se realizó bandeo GTG. (165)

2.10. Análisis cromosómico

Todos los cariotipos se diagnosticaron al microscopio óptico con objetivo 100X de inmersión con el análisis de 15 metafases. Se utilizó el sistema de cámara digital y analizador computarizado CytoVision. En el diagnóstico prenatal se observaron metafases de dos frascos de cultivo. Ante la sospecha de mosaico cromosómico se incrementó el conteo de metafases entre 30 y 100 según el caso. En los tejidos sólidos fetales se analizaron ambas muestras cuando fue posible. Se utilizó la nomenclatura internacional del ISCN 2020. (71) (anexo 9)

2.11. Metodología para confirmación diagnóstica en los casos requeridos

Las mujeres con cariotipo 45,X/46,XY y 46,XY se confirmaron mediante estudio molecular de los genes SRY, AmelX y AmelY en el Laboratorio de biología molecular del Centro Nacional de Genética Médica. Los fetos con DPC positivos se confirmaron mediante citogenética de tejidos sólidos fetales, y cuando ello no fue posible, a través de la relación cariotipo-fenotipo evaluada en conjunto por un patólogo entrenado en dismorfología y el genetista clínico.

2.12. Limitaciones del estudio

Se asume que solo se estudiaron los individuos remitidos al genetista clínico, por lo tanto, no se estudió la totalidad de las fallas reproductivas de causa cromosómica de la población durante el periodo analizado, lo que no permitió establecer prevalencias para la población de Villa Clara.

El estudio familiar de los reordenamientos cromosómicos balanceados no pudo realizarse en todas las familias y en algunas faltaron miembros claves por estudiar, por lo que quedó inconcluso el conocimiento del origen heredado o no y el parental.

Las conclusiones del trabajo se derivan de los resultados encontrados mediante técnicas de citogenética convencional, en las células y tejidos estudiados.

2.13. Metodología para el procesamiento de la información

La información se introdujo en una base de datos en Microsoft Excel empleada en el análisis de las variables. Las variables cualitativas se estudiaron mediante estadígrafos descriptivos de números absolutos y frecuencias relativas, y las cuantitativas se analizaron por grupos y se consideraron los por cientos en cada uno de ellos. Se obtuvo el por ciento de positividad de los estudios citogenéticos mediante el cociente de casos con aberración cromosómica / total de casos estudiados x 100 que se realizó independientemente para los ocho grupos considerados en el diseño.

Para los análisis de segregación cromosómica se emplearon cálculos de probabilidades a priori basados en el resultado del cariotipo del portador balanceado. Los cálculos de la probabilidad a posteriori se basaron en el árbol genealógico.

Los resultados se discutieron y se compararon con datos nacionales e internacionales. Se redactó un documento con toda la información obtenida durante la investigación, en el cual se incluyeron diagramas y tablas, que facilitan su comprensión; así como fotografías de pacientes que aprobaron su publicación en el documento y de cariotipos procesadas mediante el Sistema CytoVision.

2.14. Manejo de los aspectos bioéticos

La investigación se rigió por los principios éticos que guían las investigaciones médicas con seres humanos plasmados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial 2013, (166) primando la voluntariedad de participar en los estudios, la evaluación de riesgo-beneficio en los

diagnósticos prenatales a través de métodos invasivos, la confidencialidad de los resultados y la protección de las personas.

Se cumplieron las normas éticas establecidas en la Resolución 219/2007 del Ministerio de Salud Pública, (167) publicada en la Gaceta Oficial, para la protección de la información genética de ciudadanos cubanos que participan en investigaciones o se les realizan diagnósticos asistenciales, donde se accede a datos del individuo y sus familiares y a material biológico, los cuales sólo se manipularon por los investigadores tras la aprobación del paciente. El excedente de muestra biológica fue desechado y los datos genéticos conservados en el Centro provincial de genética médica de Villa Clara.

Los estudios realizados en fetos y menores de edad contaron con la aprobación de sus padres. El aborto por causa genética se ampara en la Resolución Ministerial 24/2013, (168) tras un diagnóstico de certeza y el deseo expreso por escrito y evidencia del consentimiento informado de realizarse por razones terapéuticas de causa genética. Se analizó y aprobó por el Comité de Ética del Hospital Ginecobstétrico de Santa Clara.

2.15. Conclusiones del capítulo

- La investigación ofrece un abordaje novedoso del objeto de estudio a partir de una definición no tradicional de fallas reproductivas, con un diseño de investigación observacional que analiza los resultados del cariotipo de un numeroso grupo de individuos y parejas con fallas reproductivas de probable causa cromosómica de Villa Clara durante 25 años.
- La creación de ocho grupos de estudio afines según motivo de realización del cariotipo facilita el análisis de las variables epidemiológicas, citogenéticas y clínicas de forma más precisa.

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN INDIVIDUOS CON PÉRDIDAS RECURRENTES DE LA GESTACIÓN, HIJO CON DEFECTOS CONGÉNITOS FALLECIDO EN LA VIDA PRENATAL O EL PRIMER AÑO DE VIDA, O AMBAS

El 60 % de las concepciones no llegan al término y las aberraciones cromosómicas son la principal causa de este fenómeno. Aunque generalmente esta no es hereditaria, algunas parejas tienen reordenamientos cromosómicos que incrementan la ineficiencia de base. (31, 67)

3.1. Objetivo del capítulo

- Caracterizar epidemiológica, citogenética y clínicamente las aberraciones y los heteromorfismos cromosómicos en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o durante el primer año de vida, o ambos.

3.2. Resultados

El grupo de pérdidas recurrentes de la gestación (grupo I) incluyó 500 pacientes, de los que 460 eran miembros de parejas; de los 40 no emparejados, 30 eran mujeres y 10 hombres. En el grupo con hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación (grupo II) se estudiaron 235 pacientes, de ellos 216 eran miembros de parejas; mientras que 14 eran mujeres y 5 hombres no emparejados. Entre los que tenían la combinación de pérdidas gestacionales recurrentes y el hijo fallecido con defectos congénitos (grupo III) se hicieron 118 estudios a 106 miembros de parejas y 9 mujeres y 3 hombres separados.

La tabla 2 muestra la frecuencia de cariotipos normales, con heteromorfismos y aberraciones cromosómicas de los pacientes con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos

congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambos. En las mujeres se diagnosticaron diez cariotipos con cromosomopatías para el 1,18 % del total de estudios, y seis en hombres para el 0,69 % del total. En la figura 4 se representan estos resultados.

Tabla 2: Frecuencia de cariotipos normales y con aberraciones cromosómicas en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido, o ambas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

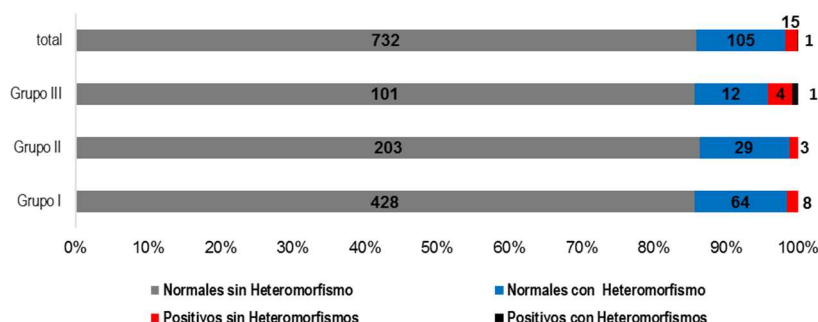
Grupos	N	Cariotipos Normales sin Heteromorfismo				Cariotipos Normales con Heteromorfismo				Cariotipos con Aberraciones Cromosómicas			
		Femenino	%	Masculino	%	Femenino	%	Masculino	%	Femenino	%	Masculino	%
I	500	228	26,72	200	23,44	26	3,05	38	4,45	6	0,70	2	0,23
II	235	109	12,78	94	11,02	12	1,41	17	1,99	1	0,12	2	0,23
III	118	54	6,33	47	5,51	5	0,58	7	0,82	3	0,36	2	0,23
Total	853	391	45,83	341	39,97	43	5,04	62	7,26	10	1,18	6	0,69

Leyenda: Grupo I: Pérdidas gestacionales recurrentes

Grupo II: hijo fallecido en periodo prenatal o antes del año de edad

Grupo III: antecedentes de pérdidas recurrentes e hijo fallecido

Fuente: Registro del laboratorio de citogenética de Villa Clara



Fuente: Registro del laboratorio de citogenética de Villa Clara

Figura 4: Resultados citogenéticos en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido, o ambas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

3.2.1. Positividad de los estudios citogenéticos en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas.

En individuos con pérdidas gestacionales recurrentes, la positividad de cromosomopatías fue de 1,60 %, el mayor por ciento de positividad fue del grupo III con 4,23 % (tabla 3).

Tabla 3: Positividad de los estudios en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido, o ambas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Grupo	N	Cariotipos positivos	Frecuencia (%) N = 853	Positividad (%)
I	500	8	0,93	1,60
II	235	3	0,35	1,27
III	118	5	0,59	4,23
Total	853	16	1,87	1,87

Fuente: Registro del laboratorio de citogenética de Villa Clara

Leyenda: Grupo I: Pérdidas gestacionales recurrentes

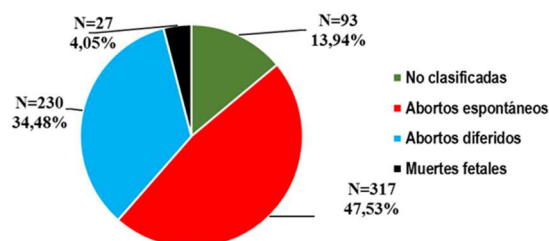
Grupo II: hijo fallecido en periodo prenatal o antes del año de edad

Grupo III: antecedentes de pérdidas recurrentes e hijo fallecido

3.2.2. Positividad de los estudios citogenéticos en los análisis intragrupo

Grupo I: pérdidas recurrentes de la gestación

Se documentaron 667 pérdidas gestacionales en 380 individuos (174 parejas y 32 miembros aislados). No se conoció el tipo de pérdida en el 13,94 % (figura 5).



Fuente: Registro del laboratorio de citogenética de Villa Clara

Figura 5: Clasificación de las pérdidas gestacionales documentadas en el grupo I. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

➤ Positividad según el número de pérdidas gestacionales.

Se precisó el número de pérdidas gestacionales en 435 pacientes, en 65 pacientes no se conoció la cantidad de pérdidas. El por ciento de positividad según el número de pérdidas fue:

- dos pérdidas: 2,11 % (cinco cromosomopatías en 237 pacientes)
- tres pérdidas: 1,57 % (dos cromosomopatías en 127 pacientes)
- cuatro y más pérdidas: 1,41 % (una cromosomopatía en 71 pacientes)

➤ Positividad según tipo de pérdidas gestacionales:

- abortos espontáneos: 2,91 % (cuatro cromosomopatías en 137 pacientes)
- abortos espontáneos y diferidos: 2,27 % (dos cromosomopatías en 88 pacientes)
- abortos espontáneos y muertes fetales: 4,54 % (una cromosomopatía en 22 pacientes)
- abortos diferidos y muertes fetales: 6,25 % (una cromosomopatía en 16 pacientes)

Grupo II: hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación

➤ Positividad en los pacientes con antecedentes de interrupción electiva de la gestación según el sistema involucrado en los defectos congénitos del descendiente no balanceado.

- defecto cardiovascular: 1,89 % (una cromosomopatía en 53 individuos)
- defecto cardiovascular y renal: 8,33 % (una cromosomopatía en 12 individuos)

➤ Positividad en los pacientes con antecedentes de hijo malformado fallecido antes de cumplir el primer año de edad según el sistema involucrado en los defectos congénitos del descendiente no balanceado.

- defecto cardiovascular: 6,25 % (una cromosomopatía en 16 individuos)

Grupo III: pérdidas recurrentes de la gestación e hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación

➤ Positividad según número de pérdidas gestacionales:

- dos pérdidas: 4,16 % (dos cromosomopatías en 48 pacientes)
- tres pérdidas: 3,63 % (dos cromosomopatías en 55 pacientes)
- cuatro y más pérdidas: 6,66 % (una cromosomopatía en 15 pacientes)

- Positividad según tipo de pérdidas gestacionales:

En 28 pacientes no se precisó el tipo de pérdida gestacional. El por ciento de positividad fue:

- abortos espontáneos e hijo fallecido: 4,54 % (dos cromosomopatías en 44 pacientes)
- abortos diferidos e hijo fallecido: 5,00 % (una cromosomopatía en 20 pacientes)
- muertes fetales e hijo fallecido: 9,09 % (una cromosomopatía en 11 pacientes)
- pérdidas no precisadas e hijo fallecido: 3,57 % (una cromosomopatía en 28 pacientes)

3.2.3. Caracterización de aberraciones cromosómicas diagnosticadas en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas.

Grupo I: pérdidas recurrentes de la gestación

- Clasificación de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas.

Se observa que predominaron las cromosomopatías estructurales balanceadas (tabla 4).

- Cromosomas involucrados

Los reordenamientos involucraron los cromosomas 1, 5, 9, 10, 13, 14, 15 y 22. Los cromosomas 1, 10 y 13 participaron en dos reordenamientos diferentes (tabla 4). El origen del cromosoma marcador supernumerario no se identificó por las técnicas convencionales de citogenética

- Puntos de ruptura

Se encontraron cuatro puntos de ruptura en brazos cortos y cuatro en brazos largos. El cromosoma 1 presentó tres puntos de ruptura en relación con dos reordenamientos, el cromosoma 10 dos puntos de ruptura, y en el cromosoma 13 se identificó una ruptura a nivel de p11.2 y otra originando una fusión centromérica. En el cromosoma 5 la ruptura ocurrió en p12, la del cromosoma 9 en p24 y la del cromosoma 10 en q23.33 (tabla 4).

Tabla 4: Aberraciones cromosómicas diagnosticadas en pacientes con pérdidas gestacionales recurrentes (grupo I). Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Tipo de aberración cromosómica	Fórmula cromosómica	N	%	
Inversión pericéntrica	46,XX,inv(1)(p35q22)mat	1	12,5	87,50
Translocación recíproca	46,XX,t(1;10)(q23.1;q26) 46,XY,t(5;13)(p12;p11.2) 46,XX,t(9;10)(p24;q23.33)pat	3	37,50	
	45,XX,der(13;14)(q10;q10)pat 45,XX,der(15;22)(q10;q10)pat 45,XX,der(15;22)(q10;q10)pat	3	37,50	
Cromosoma marcador supernumerario pequeño de origen desconocido en mosaico	47,XY,+mar[20]/46,XY[4]	1	12,5	12,50

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

- Origen heredado o de novo en el individuo estudiado por fallas reproductivas.

Se confirmó el origen heredado de cinco reordenamientos cromosómicos balanceados entre los siete diagnosticados (tabla 4). No se identificó el origen de dos translocaciones recíprocas, ni del pequeño cromosoma marcador supernumerario por no disponibilidad del estudio familiar.

- Procedencia parental del reordenamiento cromosómico estructural.

De los cinco reordenamientos cromosómicos heredados, solo la inversión pericéntrica del cromosoma 1 se heredó por vía materna y las cuatro translocaciones por vía paterna.

Grupo II: hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación.

- Clasificación de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas.

Todas las cromosomopatías diagnosticadas fueron estructurales. En la tabla 5 se relacionan las fórmulas cromosómicas.

Tabla 5: Aberraciones cromosómicas diagnosticadas en pacientes con antecedentes de hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación (grupo II). Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Tipo de aberración cromosómica	Fórmula cromosómica	N	%
Translocación recíproca	46,XX,t(2;9)(q33.1;p24)	2	66,66
	46,XY,t(13;18)(q34;q21)		
Translocación por fusión centromérica	45,XY,der(13;14)(q10;q10)	1	33,33

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

➤ Cromosomas involucrados.

Los cromosomas involucrados fueron: 2, 9, 13, 14 y 18. El cromosoma 13 se relacionó con una translocación recíproca y una por fusión centromérica.

➤ Puntos de ruptura.

Se encontraron dos puntos de ruptura en el cromosoma 13: uno en q34 y otro a nivel centromérico. De los cuatro puntos de rupturas involucrados con translocaciones recíprocas, uno ocurrió en brazos cortos a nivel de 9p24, y tres en brazos largos, en 2q33.1, 13q34 y 18q21.

➤ Origen heredado o de novo en el individuo con fallas reproductivas.

Se realizó estudio familiar en la translocación recíproca t(13;18) y se demostró origen de novo.

➤ Detalles clínicos de interés en pacientes con aberraciones cromosómicas

- En pacientes con antecedentes de interrupción electiva de la gestación:

1- Cariotipo 45,XY,der(13;14)(q10;q10): progenitor masculino de feto con cardiopatía congénita y defecto renal diagnosticados por ecografía y confirmados en la necropsia.

2- Cariotipo 46,XY,t(13,18)(q34,q21): progenitor masculino de feto con cardiopatía congénita diagnosticada por ecocardiografía fetal y confirmada en anatomía patológica, asociada a dismorfias craneofaciales.

- En pacientes con antecedentes de hijo fallecido antes de cumplir el primer año de edad.

1-Cariotipo 46,XX,t(2,9)(q33,p24): progenitor femenino de recién nacido con cardiopatía congénita fallecido en las primeras horas de vida.

Grupo III: pérdidas recurrentes de la gestación e hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación.

➤ Clasificación de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas.

Se diagnosticaron cinco cromosomopatías estructurales del tipo de translocación recíproca, cuatro de ellas entre autosomas, y una entre un autosoma y el cromosoma sexual X. (tabla 6)

Tabla 6: Aberraciones cromosómicas diagnosticadas en pacientes con combinación de pérdidas gestacionales recurrentes e hijo fallecido con defectos congénitos (grupo III). Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Tipo de aberración cromosómica	Fórmula cromosómica	N	%
Translocación recíproca	46,XY,t(3;9)(p?;p?) 46,XY,t(4;8)(p10;q10)mat 46,XX,t(4;20)(p16;p11.2)pat,16qh+ 46,XX,t(9;10)(p24;q23.33)pat 46,X,t(X;14)(q28;q12)	5	100

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

➤ Cromosomas involucrados.

Los ocho cromosomas relacionados con los reordenamientos fueron X, 3, 4, 8, 9, 10, 14 y 20. Los cromosomas 4 y 9 se encontraron en dos reordenamientos.

➤ Puntos de ruptura.

De cinco rupturas en brazos cortos, se identificaron tres en 4p16, 9p24 y 20p11.2. Los puntos de ruptura de la t(3;9) no se precisaron. En brazos largos, los puntos de ruptura fueron en 10q23.33, 14q12 y Xq28. Los puntos de ruptura de la t(4;8) de brazos completos fueron centroméricos.

- Origen heredado o de novo en el individuo con fallas reproductivas.

Se realizó estudio familiar en cuatro reordenamientos cromosómicos, el origen heredado se confirmó en tres: $t(4;8)$, $t(4;20)$ y $t(9;10)$ y en uno el origen de novo: $t(X;14)$.

- Procedencia parental del reordenamiento cromosómico estructural.

Dos reordenamientos heredados provinieron del padre: $t(4;20)$ y $t(9;10)$ y uno de la madre: $t(4;8)$.

3.2.4. Análisis de segregación cromosómica en las cromosomopatías heredadas diagnosticadas en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas.

Grupo I: pérdidas recurrentes de la gestación

En la figura 6 se representa el árbol genealógico de la familia con inversión pericéntrica del cromosoma 1. Los padres y la hija del caso índice se realizan estudio familiar. El cromosoma 1 invertido parental se transmitió del individuo I-2 a II-4, y de ésta a III-7. Se asume que los productos abortados recibieron un cromosoma recombinante, pero en ninguno se realizó cariotipo.

La figura 7 es el árbol genealógico de una familia con translocación por fusión centromérica entre los cromosomas 13 y 14. Se constató segregación 2:1 alternante en el individuo I-2, quien transmitió el cromosoma derivativo a II-1 y resultó ser portador balanceado de translocación por fusión centromérica no homóloga. No se conoció la constitución cromosómica de III-1 y III-2.

La figura 8 representa el árbol genealógico de una de las familias con translocación por fusión centromérica entre los cromosomas 15 y 22. Se diagnosticaron seis portadores balanceados que heredaron el cromosoma derivativo como resultado de segregación 2:1 alternante. No se conoció la constitución cromosómica de los productos abortados.

La figura 9 muestra el árbol genealógico de otra familia con translocación por fusión centromérica entre los cromosomas 15 y 22, sin parentesco demostrado con la anterior, la presencia de dos

hermanas con el reordenamiento confirma el origen heredado. Aunque no se conoció el cariotipo de los individuos I-1 y I-2, se asume la segregación 2:1 alternante con transmisión del cromosoma derivativo a las dos hijas. Entre la descendencia de II-1 no se conoció el cariotipo de III-1, III-2 y III-3, mientras que III-4 y III-5 fueron portadores balanceados producto de segregación 2:1 alternante. En III-4 se diagnosticó monosomía X con 44 cromosomas e hidrops fetal.

Grupo II: hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación.

La figura 10 es el árbol genealógico de la familia con $t(13;18)$. El estudio familiar confirmó el origen de novo en II-2. La segregación 2:2 adyacente 1 dio lugar a los cariotipos no balanceados de III-1 con trisomía parcial 18q y monosomía parcial 13q, y de III-2 con monosomía parcial 18q y trisomía parcial 13q. La segregación 2:2 alternante originó el de III-3 como portador balanceado.

Grupo III: pérdidas recurrentes de la gestación e hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación.

Las figuras 11 y 12 representan los árboles genealógicos de las familias con $t(4;8)$ y $t(4;20)$. En ambas, el portador balanceado de la generación II es resultado de segregación 2:2 alternante y no se realizó estudio cromosómico a la generación III.

La figura 13 pertenece al árbol genealógico de una familia con $t(9;10)$ en la que dos de sus miembros, que residían en diferentes municipios, acudieron independientemente a consulta: el individuo II-2 por abortos recurrentes y II-4 por interrupción electiva de la gestación. La familia se unificó posterior al diagnóstico del mismo reordenamiento cromosómico balanceado. La segregación 2:2 alternante originó los cariotipos balanceados de los cuatro descendientes de I-2; aunque II-1 no aceptó el estudio familiar y II-3 falleció en la infancia por sarcoma de partes blandas, ambos tenían un fenotipo normal. En la descendencia de II-4 se evidenció segregación 2:2 alternante en III-4 y III-6. No se conoció el cariotipo de III-5 ni de los demás productos abortados.

En la figura 14 se representa el árbol genealógico de la familia con t(X;14). El estudio familiar demostró el origen de novo en II-2, su descendencia presentó tres tipos de segregación meiótica:

III-1: Segregación 2:2 alternante. Recibe ambos cromosomas normales.

III-3: Segregación 2:2 adyacente 2. Tiene 46 cromosomas con el derivativo X. (figura 13A)

III-7: Segregación 3:1 aneuploidía terciaria. Presenta 47 cromosomas, el cromosoma extra es el derivativo 14. (figura 13B)

3.2.5. Relación cariotipo-fenotipo en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas.

Ninguno de los 16 pacientes diagnosticados con aberraciones cromosómicas en los tres grupos presentó hallazgos clínicos de interés al examen físico. En todos, el fenotipo se relacionó con fallas reproductivas. Se evidenció el predominio de los abortos espontáneos, manifestándose en diez pacientes, entre los que seis tuvieron otro tipo de falla reproductiva. Del total de casos positivos, siete tuvieron un solo tipo de falla reproductiva y nueve dos o más tipos (tabla 7).

3.2.6. Caracterización fenotípica del descendiente con aberración cromosómica no balanceada.

De los ocho individuos con reordenamientos cromosómicos balanceados de los grupos II y III, el 50 % de sus productos de la concepción no balanceados presentaron cardiopatías congénitas, el 37.5 % defectos congénitos renales y el 12.5 % defectos de pared anterior y paladar hendido. En la tabla 8 se relacionan las principales características fenotípicas, agrupados según el momento de la vida en que se realizó el cariotipo al descendiente, en el 75 % (seis casos) fue prenatal. No aparecen pacientes del grupo I porque en las pérdidas del primer trimestre no es posible analizar el fenotipo del producto abortado.

Tabla 7: Relación cariotipo-fenotipo en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Tipo de aberración cromosómica	Grupo	Fórmula cromosómica	Aborto espontáneo	Aborto diferido	Muerte fetal	Interrupción electiva de la gestación	Hijo fallecido primer año de vida
Inversión pericéntrica	I	46,XX,inv(1)(p35q22)	+	+	-	-	-
Translocación recíproca	I	46,XX,t(1;10)(q23.1;q26)	+	+	-	-	-
	II	46,XX,t(2;9)(q33.1;p24)	-	-	-	-	+
	III	46,XY,t(3;9)(p?;p?)	-	-	+	+	-
	III	46,XY,t(4;8)(p10;q10)	+	-	-	+	-
	III	46,XX,t(4;20)(p16;p11.2),16qh+	+	-	-	+	-
	I	46,XY,t(5;13)(p12;p11.2)	+	-	-	-	-
	I	46,XX,t(9;10)(p24;q23.33)	+	-	-	-	-
	III	46,XX,t(9;10)(p24;q23.33)	+	-	-	+	-
	II	46,XY,t(13;18)(q34;q21)	-	-	-	+	-
	III	46,X,t(X;14)(q28;q12)	-	+	-	+	+
Translocación por fusión centromérica	I	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	+	-	+	-	-
	II	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	-	-	-	+	-
	I	45,XX,der(15;22)(q10;q10)	+	-	-	-	-
	I	45,XX,der(15;22)(q10;q10)	+	-	-	-	-
Cromosoma marcador supernumerario pequeño de origen desconocido en mosaico	I	47,XY,+mar[20]/46,XY[4]	-	+	+	-	-

Leyenda: signos (+) presencia de la condición (-) ausencia de la condición

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

Grupo I: Pérdidas gestacionales recurrentes

Grupo II: hijo fallecido en periodo prenatal o antes del año de edad

Grupo III: antecedentes de pérdidas recurrentes e hijo fallecido

Tabla 8: Principales características fenotípicas de los descendientes con aberraciones cromosómicas no balanceadas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Cariotipo del progenitor	Momento de estudio del producto	Fenotipo del producto no balanceado				
		Cardiopatía	Defecto renal	Defecto de pared anterior	Paladar hendido	Alteración del neurodesarrollo y dismorfias
46,XY,t(3;9)(p?;p?)	Prenatal (segundo trimestre)	-	-	+	-	-
46,XY,t(4;8)(p10;q10)		-	+	-	-	-
46,XX,t(4;20)(p16;p11.2),16qh+		-	+	-	-	-
46,XX,t(9;10)(p24;q23.33)		+	-	-	+	-
45,XX,der(13;14)(q10;q10)		+	+	-	-	-
46,XY,t(13;18)(q34;q21)		+	-	-	-	-
46,XX,t(2;9)(q33.1;p24)	Postnatal	+	-	-	-	-
46,X,t(X;14)(q28;q12)		-	-	-	-	+
Total y %	--	4 (50%)	3 (37,5%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)	1 (12,5%)

Leyenda: signos (+) presencia de la condición (-) ausencia de la condición

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

3.2.7. Relación cariotipo-fenotipo de los productos de la concepción con aberración cromosómica no balanceada

Se conoció el cariotipo de dos productos de la concepción pertenecientes a las familias con t(13;18) y t(X;14). En los demás no se supo porque la pareja solicitó la interrupción electiva de la gestación tras el diagnóstico ecográfico de defectos congénitos o porque la muerte del recién nacido ocurrió en las primeras horas de vida. Las evidencias clínicas y citogenéticas aseguran que se trató de productos cromosómicamente no balanceados.

Caso 1:

Lactante con dismorfias craneofaciales y alteración del neurodesarrollo (figura 15A) con cariotipo no balanceado en sangre periférica que conlleva al estudio familiar. En la madre se diagnosticó translocación recíproca balanceada entre cromosoma X y autosoma (figura 16)., en gestación posterior (figura 15B) también se diagnostica cariotipo no balanceado.

Cariotipo materno: 46,X,t(X;14)(q28;q12) Cariotipo del hijo: 46,Y,der(X)t(X;14)(q28;q12),-14

Cariotipo de DPC motivo de interrupción electiva de la gestación: 47,XX,+der(14)t(X;14)(q28;q12)

En el lactante se confirmó monosomía 14q12, trisomía de cromosomas sexuales en relación con síndrome Klinefelter y nulisomía funcional de Xq28. Al fallecer presentaba deterioro neurológico severo e infecciones recurrentes. Las características fenotípicas de ambos descendientes en relación con el cariotipo se relacionan en los cuadros 1 y 2.

Caso 2:

Feto de 24 semanas con cardiopatía congénita diagnosticada por ecocardiografía. La pareja solicita la interrupción de la gestación. En la necropsia se toma muestra de tejidos sólidos fetales para análisis cromosómico con diagnóstico de desbalance cromosómico, se realiza estudio familiar que detecta al padre portador balanceado de translocación recíproca (figura 17). Las

características fenotípicas del feto pueden observarse en la figura 18 y la relación con el cariotipo en el cuadro 3.

Cariotipo paterno: 46,XY,t(13;18)(q34;q21) Cariotipo fetal: 46,XX,der(18),t(13;18)(q34;q21)

46,Y,der(X)t(X;14)(q28;q12),-14			
Síndrome por microdelección 14q12		Nulismía funcional de Xq28	
Retardo del crecimiento postnatal	+	Retraso del neurodesarrollo	+
Microcefalia	+	Autismo	-
Hipotonía	+	Cuello corto y ancho	+
Epilepsia	+	Epilepsia	+
Movimientos estereotipados	-	Sordera	-
Dificultad para la alimentación	+	Linfedema	-
Sutura metópica prominente	-		
Pliegue epicántico bilateral	+		
Nariz bulbosa	+		
Labio superior en forma de carpa	+		
Labio inferior evertido	+		
Orejas grandes	+		

Leyenda: signos (+) presencia de la condición (-) ausencia de la condición Fuente: Historia clínica genética

Cuadro 1: Relación cariotipo-fenotipo de lactante con cariotipo 46,Y,der(X)t(X;14)(q28;q12),-14

47,XX,+der(14)t(X;14)(q28;q12)			
Trisomía 14q11-q13		Trisomía Xq28 (Disomía funcional)	
Microcefalia	-	Cara ancha	+
Hipotelorismo	-	Mejillas llenas	+
Blefarofimosis	-	Anomalías estructurales de las orejas	+
Micrognatia	+	Boca pequeña, abierta	+
Comisuras labiales desviadas hacia abajo	+	Nariz puntiaguda	+
Orejas de baja implantación	+	Defectos del paladar	-
Cuello corto	-	Orejas grandes	-
Hoyuelo sacro	-		
Comunicación interventricular	-		
Pie varo	-		

Leyenda: signos (+) presencia de la condición (-) ausencia de la condición Fuente: Historia clínica genética

Cuadro 2: Relación cariotipo-fenotipo de feto 47,XX,+der(14)t(X;14)(q28;q12)

46,XX,der(18),t(13;18)(q34;q21)

Monosomía 18q21-qter		Trisomía 13q34	
Retardo del crecimiento prenatal	+	Frente estrecha y abombada	-
Braquicefalia	+	Hipertelorismo	+
Hipoplasia mediofacial	+	Filtrum largo y liso	+
Mordida invertida	-	Defectos del paladar	-
Labio inferior evertido	-	Orejas grandes	-
Labio superior fino	+		
Comisuras labiales desviadas hacia abajo	+		
Filtrum liso	+		
Ojos hundidos	-		
Hendiduras palpebrales antimongoloides	-		
Puente nasal ancho y deprimido	+		
Nariz estrecha	-		
Antihelix y antitrigo prominentes	+		
Pulgar proximal	+		
Cardiopatía congénita	+		

Leyenda: signos (+) presencia de la condición (-) ausencia de la condición Fuente: Historia clínica genética

Cuadro 3: Relación cariotipo-fenotipo de feto 46,XX,der(18),t(13;18)(q34;q21)

3.2.8. Heteromorfismos cromosómicos diagnosticados en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas.

Se diagnosticaron 16 variantes diferentes de heteromorfismos, de ellas 14 de autosomas y dos de cromosomas sexuales. Los nueve cromosomas involucrados fueron: 1, 9, 13, 14, 15, 16, 21, 22 y Y. Predominaron las variantes de los cromosomas 9 y Y, las variantes menos frecuentes fueron del cromosoma 1 y el 13. Los heteromorfismos de los cromosomas sexuales pertenecen solo al cromosoma Y, la variante más frecuente fue Yqh+. En cinco cariotipos se encontraron dos variantes diferentes de heteromorfismos autosómicos (tabla 9).

Grupo I: pérdidas recurrentes de la gestación

En 64 pacientes se diagnosticaron 16 variantes de heteromorfismos cromosómicos, que representó el 12,80 % del grupo. La variante más frecuente fue el 9qh+ (tabla 9).

Tabla 9: Variantes de heteromorfismos cromosómicos diagnosticados en individuos con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Cromosoma	Variante	Grupo I (N=500)			Grupo II (N=235)			Grupo III (N=118)			Total (N=853)		
		N	%		N	%		N	%		N	%	
1	qh+	3	4,41	4,41	0	0	0	1	7,69	7,69	4	3,60	3,60
9	qh+	17	25,00	32,35	6	20,00	26,67	1	7,69	54,84	24	21,62	33,33
	inv(qh)	5	7,35		2	6,67		6	46,15		13	11,71	
13	ps+	1	1,47		0	0,00		0	0,00		1	0,90	
	pstk+	1	1,47	5,88	0	0,00	0,00	0	0,00	0,00	1	0,90	3,60
	cenh+	2	2,94		0	0,00		0	0,00		2	1,80	
14	ps+	3	4,41	7,35	3	10,00	13,33	0	0,00	0,00	6	5,40	8,10
	pstk+	2	2,94		1	3,33		0	0,00		3	2,70	
15	ps+	5	7,35	7,35	2	6,67	6,67	0	0,00	0,00	7	6,31	6,31
16	qh+	4	5,88	5,88	4	13,33	13,33	2	15,38	15,38	10	9,00	9,00
21	ps+	1	1,47	2,94	3	10	16,65	1	7,69	7,69	5	4,50	7,20
	pstk+	1	1,47		2	6,67		0	0,00		3	2,70	
22	ps+	6	8,82	10,29	1	3,33	3,33	1	7,69	15,38	8	7,21	9,01
	pstk+	1	1,47		0	0		1	7,69		2	1,80	
Y	qh+	13	19,10	23,51	5	16,67	20,00	0	0,00	0,00	18	16,22	19,82
	qh-	3	4,41		1	3,33		0	0,00		4	3,60	
Total		68	100,00	100,00	30	100,00	100,00	13	100,00	100,00	111	100,00	100,00
Cariotipos con heteromorfismos		64	12,80%		29	12,34%		13	11,02%		106	12,42%	
Cariotipos con 2 heteromorfismos		4	0,80%		1	0,43%		0	0,00%		5	0,59%	

Leyenda: Grupo I: Pérdidas gestacionales recurrentes Fuente: Registro del laboratorio de citogenética de Villa Clara
 Grupo II: hijo fallecido en periodo prenatal o antes del año de edad
 Grupo III: antecedentes de pérdidas recurrentes e hijo fallecido

Grupo II: hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación

Se encontraron 11 variantes en 29 individuos para el 12,34 % del grupo, uno con dos variantes diferentes. Los cromosomas 9 y Y mostraron el mayor número de variantes, destacándose 9qh+ y Yqh+ (tabla 9).

Grupo III: pérdidas recurrentes de la gestación e hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación

Incluyó siete variantes heteromórficas en 13 pacientes para un 11,02 %. La inversión pericéntrica de la heterocromatina del cromosoma 9 fue la más frecuente con el 46,15 % (tabla 9).

➤ Descripción de los heteromorfismos cromosómicos según el sexo del individuo estudiado

La tabla 10 muestra la distribución de los heteromorfismos cromosómicos según el sexo, en los tres grupos de pacientes con fallas reproductivas, el sexo masculino presentó la mayor frecuencia. Entre las mujeres de los grupos I y II predominó la variante 9qh+ y en el grupo III fue más frecuente la inv(9qh), mientras que en los hombres de los grupos I y II predominó la variante Yqh+ y en los del grupo III la inv(9qh).

Grupo I: pérdidas recurrentes de la gestación

La variante más frecuente en hombres fue Yqh+ con el 5 %, y en mujeres el 9qh+ con 3,85 %. En un mismo cariotipo femenino coincidieron las variantes 9qh+,22ps+ y 9qh+,14pst+ y en el masculino 9qh+,14ps+ y Yqh+,14ps+. (tabla 10)

Grupo II: hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación.

En el sexo masculino donde se encontró mayor número de cromosomas involucrados en los heteromorfismos, la variante más frecuente fue el Yqh+. En un hombre se diagnosticaron dos variantes diferentes: Yqh- y 15ps+. (tabla 10).

Grupo III: pérdidas recurrentes de la gestación e hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal, durante el primer año de vida, o interrupción electiva de la gestación

No se diagnosticaron variantes del cromosoma Y, en ambos sexos la variante inv(9qh) fue la más frecuente (tabla 10). En una mujer con aberración cromosómica se diagnosticó un heteromorfismo en cromosomas no homólogos.

Tabla 10: Frecuencia de heteromorfismos cromosómicos según el sexo del individuo con pérdidas recurrentes de la gestación, hijo con defectos congénitos fallecido en la vida prenatal o el primer año de vida, o ambas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2019.

Heteromorfismos cromosómicos en pacientes	Grupo I				Grupo II				Grupo III			
	Mujeres N=260		Hombres N=240		Mujeres N=122		Hombres N=113		Mujeres N=62		Hombres N=56	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
1qh+	1	0,38	2	0,83	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	1,79
9qh+	10	3,85	4	1,66	4	3,28	2	1,77	1	1,61	0	0,00
inv(9qh)	0	0,00	5	2,08	1	0,82	1	0,88	2	3,23	4	7,13
13ps+	1	0,38	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
13pstk+	1	0,38	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
13cenh+	2	0,77	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
14ps+	0	0,00	1	0,42	2	1,64	1	0,88	0	0,00	0	0,00
14pstk+	1	0,38	0	0,00	0	0,00	1	0,88	0	0,00	0	0,00
15ps+	3	1,15	2	0,83	0	0,00	1	0,88	0	0,00	0	0,00
16qh+	1	0,38	3	1,25	2	1,64	2	1,77	1	1,61	1	1,79
21ps+	0	0,00	1	0,42	2	1,64	1	0,88	0	0,00	1	1,79
21pstk+	1	0,38	0	0,00	1	0,82	1	0,88	0	0,00	0	0,00
22ps+	3	1,15	2	0,83	0	0,00	1	0,88	1	1,61	0	0,00
22pstk+	0	0,00	1	0,42	0	0,00	0	0,00	1	1,61	0	0,00
Yqh+	-	0,00	12	5,00	-	0,00	5	4,42	-	0,00	0	0,00
Yqh-	-	0,00	3	1,25	-	0,00	0	0,00	-	0,00	0	0,00
9qh+,14ps+	0	0,00	1	0,42	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
9qh+,14pstk+	1	0,38	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
9qh+,22ps+	1	0,38	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Yqh+,14ps+	-	0,00	1	0,42	-	0,00	0	0,00	-	0,00	0	0,00
Yqh-,15ps+	-	0,00	0	0,00	-	0,00	1	0,88	-	0,00	0	0,00
Total	26	10,00	38	15,83	12	9,84	17	15,00	6	9,67	7	12,5

Leyenda: Grupo I: Pérdidas gestacionales recurrentes Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

Grupo II: hijo fallecido en periodo prenatal o antes del año de edad

Grupo III: antecedentes de pérdidas recurrentes e hijo fallecido

3.3. Discusión

La literatura científica utiliza predominantemente el término de falla reproductiva asociado a infertilidad y pérdidas gestacionales. (10-12,18, 19, 23-24) En esta investigación, la autora amplía el término de falla reproductiva al incluir los hijos con defectos congénitos fallecidos durante el

periodo neonatal y de lactancia, y construye un enfoque integral del concepto que permite identificar con mayor fidelidad la etiología cromosómica del fenómeno.

3.3.1. Análisis de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas

La frecuencia y distribución de las aberraciones cromosómicas y el impacto del cariotipo parental en el desenvolvimiento de las gestaciones de parejas con pérdidas recurrentes de la gestación es controversial. Las cromosomopatías estructurales balanceadas predominan en estos individuos. Dutta y colaboradores (12) realiza un estudio caso control en 150 parejas con tres o más pérdidas consecutivas y diagnostican aberraciones cromosómicas en el 7 % de los individuos con predominio de translocaciones recíprocas balanceadas en mujeres, mientras que Li y colaboradores (13), describen una frecuencia de 3,74 % de entre 3 235 parejas con dos o más abortos antes de las 20 semanas de edad gestacional y también predominan las translocaciones recíprocas balanceadas.

Chakraborty y colaboradores (11) informan una frecuencia de aberraciones cromosómicas del 3,31 % en 1 148 individuos con pérdidas recurrentes y específicamente para las translocaciones del 1,306 %, y Serapinas y colaboradores (169) refieren un 3 % en parejas con abortos recurrentes o infertilidad.

En este estudio, la frecuencia de aberraciones cromosómicas parentales fue inferior a las referidas por los autores debido a las disparidades de las muestras; sin embargo, coincidió en que la mayor frecuencia fue de aberraciones balanceadas. Incluso para las translocaciones fue superior a la descrita por Chakraborty quien diagnostica 15 translocaciones en 1 148 individuos, y este trabajo 14 en 853.

Las translocaciones recíprocas entre el cromosoma X y un autosoma son raras, su frecuencia es de 1:30 000 recién nacidos, la inactivación del cromosoma X normal ocurre cuando la translocación es balanceada, mientras que en las no balanceadas tiene lugar en el cromosoma X derivativo,

extendiéndose hacia el autosoma y silenciando algunas de sus secuencias. (170, 171) En linfocitos de un paciente con manifestaciones neurológicas y cariotipo 45,X,psu dic(14;X)(p11;p22), Mohamed y colaboradores (172) demuestran inactivación del cromosoma X derivativo con extensión irregular o en parches al cromosoma 14 en el 70 % de los linfocitos, el fenotipo del paciente se ve agravado y complicado por la monosomía funcional de algunos genes del cromosoma 14.

Lo descrito puede suceder en el caso índice de la familia con translocación X,14(q28;q12), con un fenotipo complejo relacionado además con nulisomía funcional de Xq28 y síndrome por microdeleción 14q12 (monosomía 14q12) como resultado de la segregación adyacente 2. Este tipo de segregación es infrecuente, ocurre en el 4 % y al gameto segregan los cromosomas con el mismo centrómero, en este caso el X normal y el derivativo X.

La aneuploidía terciaria originada por segregación 3:1 diagnosticada en el feto no balanceado es infrecuente, el 22 % de las segregaciones no balanceadas son monosomías o trisomías terciarias. (22, 67) El 6 % de los cromosomas supernumerarios se originan por trisomía terciaria, contienen parte de los dos cromosomas involucrados en la translocación y son pequeños, lo que explica la supervivencia del individuo afectado. Braddock y colaboradores (173) presentan una familia con dos miembros con trisomías terciarias cuya madre era portadora de t(5;21)(p15.1;q22.1). El caso presentado en esta investigación fue el primero identificado en el Laboratorio de Citogenética de Santa Clara y no existen reportes de otros publicados en Cuba.

Lowther y colaboradores (174) identifican el impacto de los reordenamientos cromosómicos balanceados que interesan al cromosoma 14 y regiones teloméricas Xp22 y Xq28 con los trastornos del desarrollo mediado por mecanismos no codificantes como la disrupción de los dominios de la cromatina en tercera dimensión, esto complejiza la comprensión del fenotipo en estos pacientes. Los reordenamientos no balanceados entre el cromosoma X y un autosoma proporcionan un método de estudio acerca de la inactivación del cromosoma X y permiten descifrar

sus particularidades, el fenotipo es variable y depende de la extensión de las secuencias autosómicas silenciadas

Mediante el cariotipo se detectan deleciones o duplicaciones cromosómicas mayores de 8 a 10 MB; segmentos menores escapan al ojo humano. Por esa razón, la relación cariotipo-fenotipo cobra importancia cuando no se dispone de tecnologías de citogenética molecular útiles, como las variaciones en el número de copias o la secuenciación de genoma completo. (175)

El origen de las translocaciones por fusión centromérica frecuentemente es de novo durante la meiosis materna, la más común involucra los cromosomas 13 y 14, en la que se forma un cromosoma dicéntrico que en algunos aparenta ser monocéntrico por la supresión de uno de los centrómeros. Los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos presentan un 98,7 % de similitud con muchas posibilidades de intercambio entre ellos, por lo que se sugiere que son fuentes dinámicas de duplicación segmentaria. (67, 104)

Cuando las translocaciones por fusión centromérica se transmiten por vía materna aumenta el riesgo de que el feto herede un cariotipo desbalanceado. (176, 177) Díaz Veliz y colaboradores (178) observaron mayor frecuencia de origen materno; sin embargo, en la presente investigación predominó el paterno, probablemente explicado por las características y tamaño de la muestra. Se necesitan estudios posteriores para esclarecer el origen de este fenómeno en la provincia de Villa Clara.

Las inversiones pericéntricas se relacionan con infertilidad masculina. En el cromosoma 1 existen sitios específicos de genes involucrados con la espermatogénesis. La familia expuesta en esta investigación demostró tener tres generaciones con transmisión de la inversión a través de mujeres, lo que coincide con otros investigadores, que fomentan un aspecto evolutivo como resultado de la recombinación genética durante la meiosis I y proponen profundizar en las causas de la mayor frecuencia en mujeres. (133, 179, 180)

Los pequeños cromosomas marcadores supernumerarios de origen desconocido generalmente contienen heterocromatina y repercuten sobre el fenotipo; sin embargo, constituyen un gran dilema para la citogenética convencional por la imposibilidad de determinar su procedencia, para lo cual requieren de técnicas de citogenética molecular.

El estudio de citogenética molecular no se ofreció al paciente diagnosticado en esta investigación por no estar disponible en el país al momento del diagnóstico. El paciente no presentó dismorfias, y la gran cantidad de abortos del primer trimestre referida; así como la ausencia de descendientes hacen sospechar una etiología multifactorial. Perrin y colaboradores (181) utilizan la técnica de FISH en un paciente con oligoastenozoospermia y describen un cromosoma dicéntrico derivado del 22. Cuando estos pequeños cromosomas marcadores derivan de translocaciones recíprocas y contienen eucromatina se asocian a dismorfias y defectos congénitos. (182)

3.3.2. Análisis de otras variables relacionadas con las cromosomopatías en fallas reproductivas

Con respecto a la relación entre el número de pérdidas gestacionales, los resultados de las investigaciones publicadas son muy disímiles y una razón es la disparidad de las muestras. En el presente estudio existió mayor frecuencia de cromosomopatías en individuos con dos abortos, lo que coincide con los resultados de Chakraborty y colaboradores. (11)

Yang y colaboradores (175) encuentran mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en los productos abortados por mujeres con un solo aborto espontáneo que en los de dos o más. En ambos grupos predominan las trisomías, seguidas por la monosomía X, las triploidías y las tetraploidías. Otros estudios también plantean que las aneuploidías son más frecuentes en los espontáneos y describen que el riesgo de cromosomopatía en el producto de la concepción disminuye a medida que aumenta el número de pérdidas. (183, 184)

Varias investigaciones relacionan la edad materna con las pérdidas gestacionales ya que la mayoría de los productos con cromosomopatías son hijos de mujeres con EMA. Zhang y

colaboradores (184) asocian el incremento de la edad materna con abortos tempranos por aberraciones de los cromosomas 12, 15, 20 y 22 y en menor proporción de 6, 7, 13 y los sexuales. Sin embargo, otros estudios no encuentran diferencias al comparar la edad de las madres de los productos abortados con cariotipo normal y con aberraciones cromosómicas. (175)

El conocimiento de los cambios en la incidencia de la pérdida gestacional recurrente informa sobre posibles modificaciones de los factores de riesgo ambientales o genéticos.

3.3.3. Análisis de los heteromorfismos cromosómicos en individuos con pérdidas gestacionales

Existen importantes controversias entre grupos de investigadores acerca de la repercusión de los heteromorfismos cromosómicos en la reproducción humana, varios de ellos refieren mayor número de heteromorfismos del cromosoma 9 en poblaciones con pérdidas recurrentes.

Chakraborty y colaboradores (11) muestran una frecuencia de heteromorfismos cromosómicos del 9,06 % en población india con pérdidas gestacionales recurrentes y de 2,747 % en el grupo control, observan asociación significativa para el riesgo de pérdida gestacional tanto en casos como controles, así como que las mujeres presentan mayor cantidad de heteromorfismos que los hombres y que los cromosomas más involucrados en los casos son 9, 14, 15 y 21.

Esta investigación coincidió con respecto a la mayor frecuencia de heteromorfismos del cromosoma 9; sin embargo, no coincidió con la mayor frecuencia en hombres, el cromosoma Y como segundo en frecuencia y con la frecuencia total de heteromorfismos que es inferior. Debe tenerse en cuenta que la comparación establecida fue entre una población india y una cubana, por lo cual las diferencias se asocian al origen étnico de los grupos, sobre todo por las pocas variantes del cromosoma Y en la población india. Blanco Pérez y colaboradores (18) encontraron mayor frecuencia de variantes del cromosoma 9 en mujeres con fallas reproductivas en Pinar del Río.

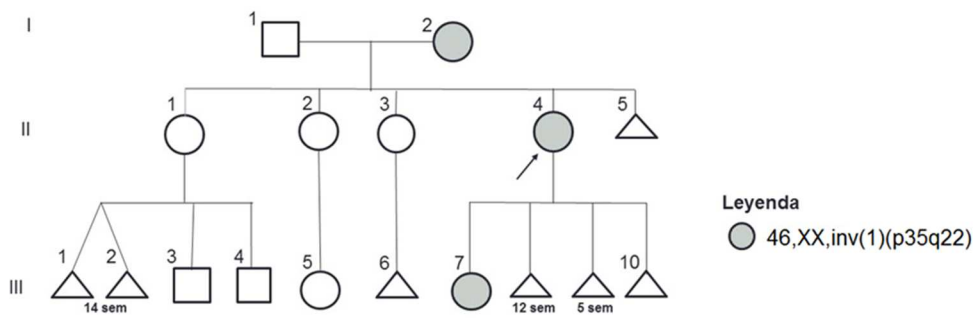
Luego de cinco años de evaluar la función reproductiva de individuos con heteromorfismos cromosómicos, un grupo de investigación encontró más fallas reproductivas entre los que

presentan mayores satélites y tallos más largos que en aquellos con satélites y tallos menores.

(11)

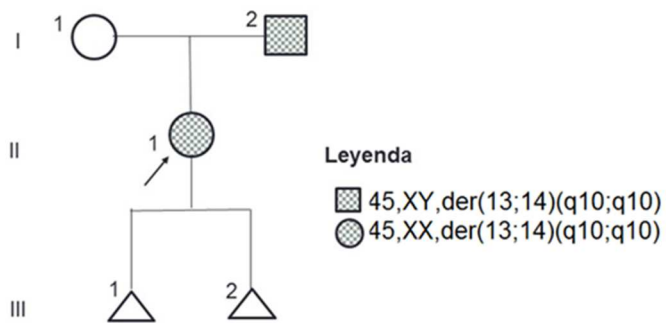
3.4. Conclusiones del capítulo:

- Los individuos con fallas reproductivas donde se combinan pérdidas gestacionales recurrentes e hijos con defectos congénitos fallecidos durante la vida prenatal o el primer año de vida presentan mayor positividad de aberraciones cromosómicas.
- El cariotipo tiene gran valor diagnóstico en el estudio de las pérdidas gestacionales recurrentes y los eventos únicos de hijos fallecidos prenatalmente o durante el primer año de vida o de interrupción de la gestación por defectos congénitos al constatarse en estos pacientes mayor frecuencia de reordenamientos cromosómicos balanceados y heteromorfismos de los cromosomas 9 y Y, además resulta imprescindible para el estudio familiar mediante el que se identificó el predominio del origen paterno de los casos heredados.
- La relación cariotipo-fenotipo muestra que las manifestaciones fenotípicas de los portadores balanceados se expresan a nivel de la reproducción, mientras que en la descendencia no balanceada los defectos más frecuentes son del aparato cardiovascular.



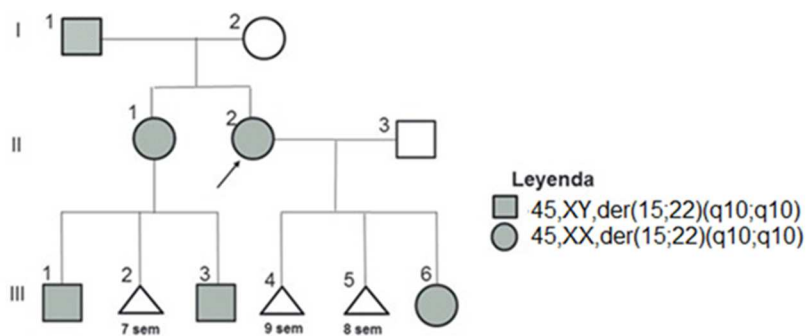
Fuente: Historia clínica

Figura 6: Árbol genealógico de familia con $\text{inv}(1)(p35q22)$



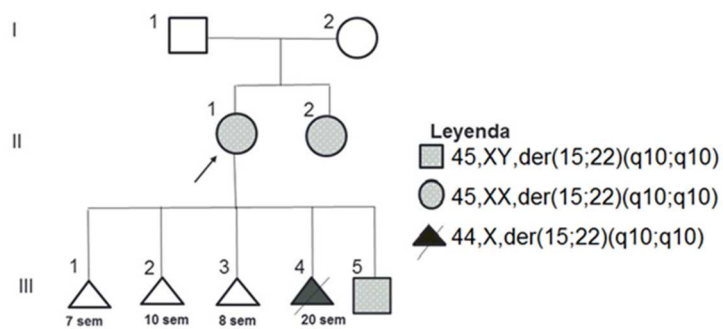
Fuente: Historia clínica

Figura 7: Árbol genealógico de familia con $\text{der}(13;14)(q10;q10)$



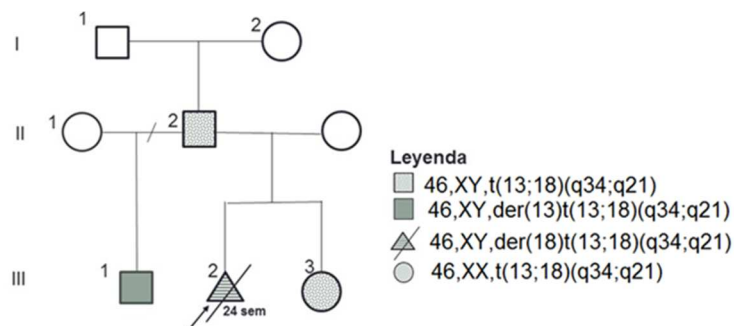
Fuente: Historia clínica

Figura 8: Árbol genealógico de familia con $\text{der}(15;22)(q10;q10)$



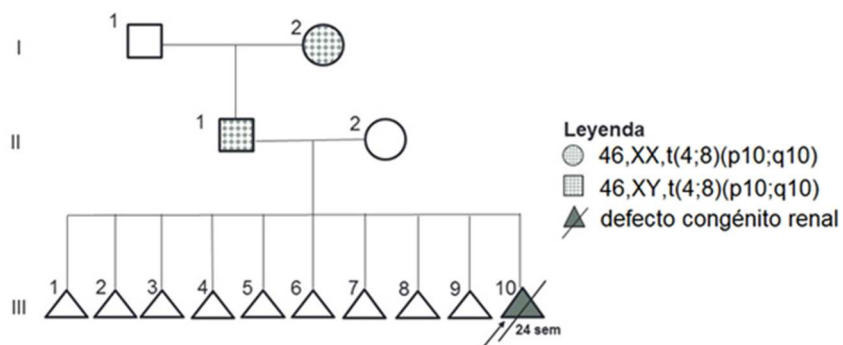
Fuente: Historia clínica

Figura 9: Árbol genealógico de familia con der(15;22)(q10;q10)



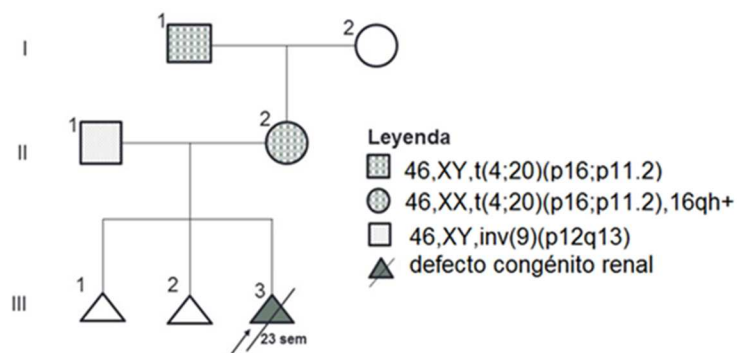
Fuente: Historia clínica

Figura 10: Árbol genealógico de familia con t(13;18)(q34;q21)



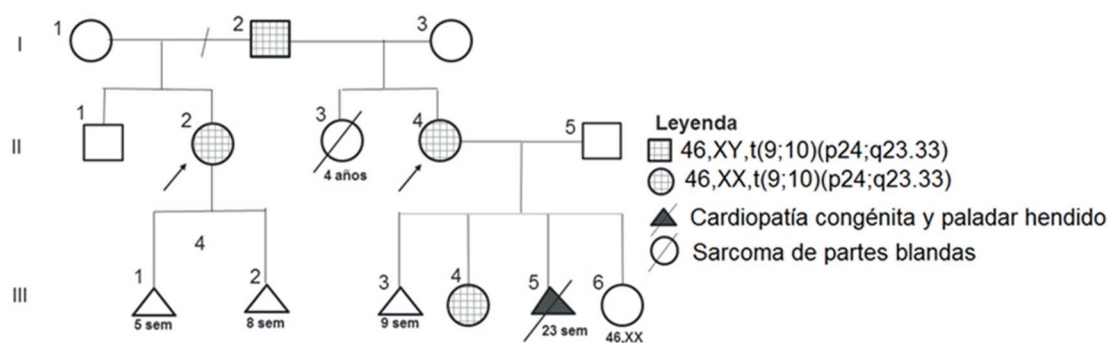
Fuente: Historia clínica

Figura 11: Árbol genealógico de familia con t(4;8)(p10;q10)



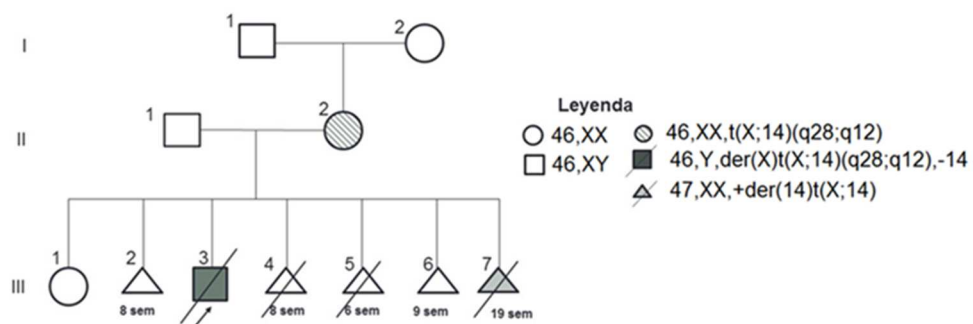
Fuente: Historia clínica

Figura 12: Árbol genealógico de familia con t(4;20)(p16;p11.2)



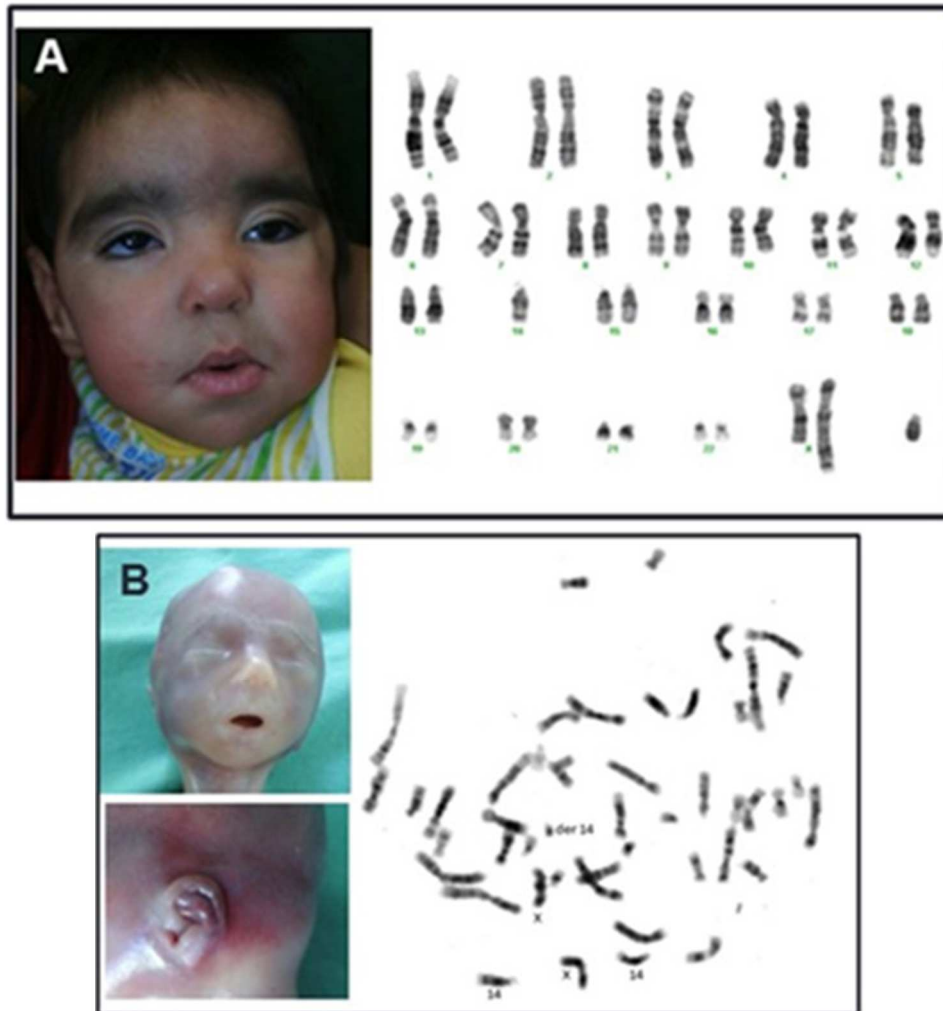
Fuente: Historia clínica

Figura 13: Árbol genealógico de familia con t(9;10)(p24;q23.33)



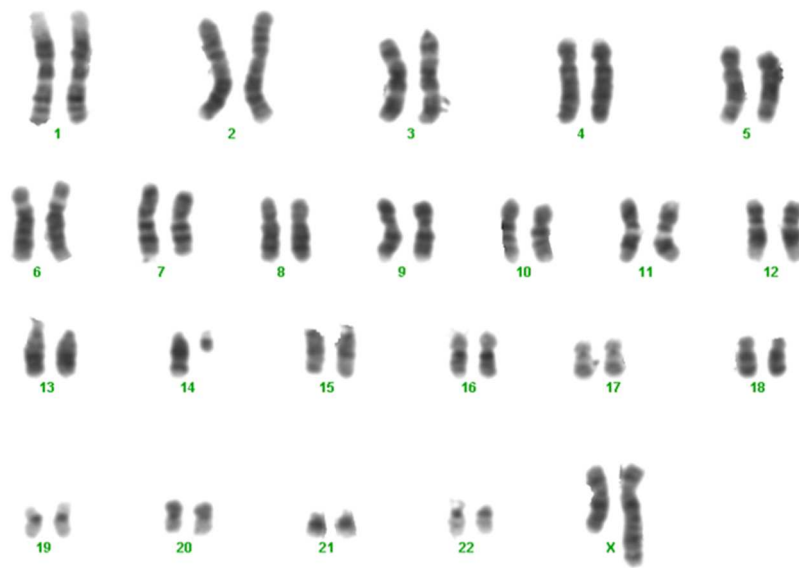
Fuente: Historia clínica

Figura 14: Árbol genealógico de familia con t(X;14)(q28;q12)



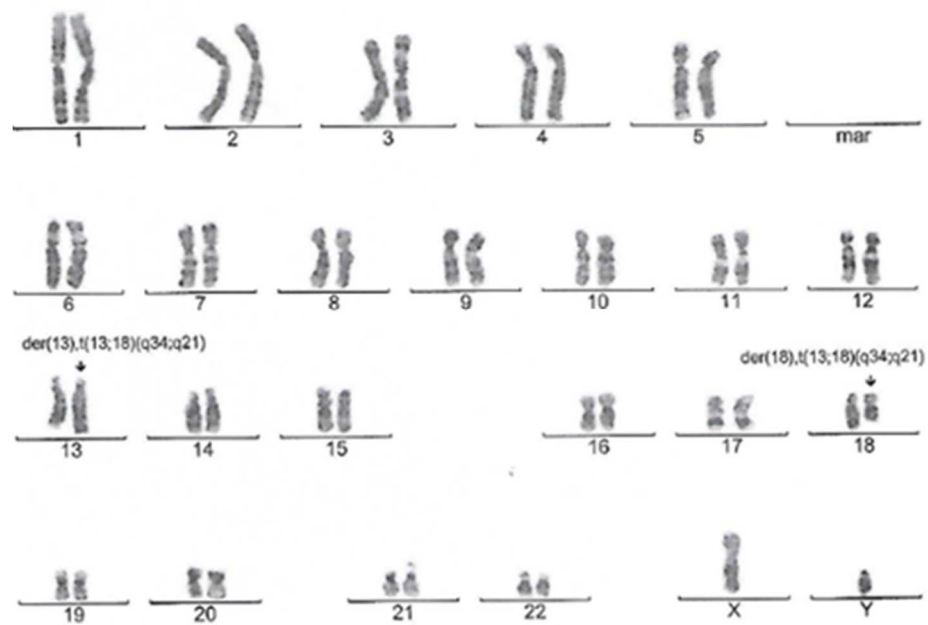
Fuente: Archivos del Laboratorio de Citogenética de Villa Clara

Figura 15: Hábito externo y estudio cromosómico de la descendencia no balanceada de $t(X;14)(q28;q12)$. 15A: Hábito externo y cariotipo $46,Y,der(X)t(X;14)(q28;q12),-14$ 15B: Hábito externo de feto y metafase $47,XX,+der(14)t(X;14)(q28;q12)$.



Fuente: Archivos del Laboratorio de Citogenética de Villa Clara

Figura 16: Cariotipo materno: 46,X,t(X;14)(q28;q12)



Fuente: Archivos del Laboratorio de Citogenética de Villa Clara

Figura 17: Cariotipo paterno 46,XY,t(13;18)(q34;q21)



Fuente: Archivos del Laboratorio de Citogenética de Villa Clara

Figura 18: Hábito externo de feto producto de interrupción electiva de la gestación por cardiopatía congénita con cariotipo 46,XX,der(18),t(13;18)(q34;q21) en tejidos sólidos fetales.

CAPÍTULO 4

CAPÍTULO 4. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN INDIVIDUOS CON INFERTILIDAD

La infertilidad es un problema de salud mundial con impacto médico y social sobre la pareja. Los cambios demográficos en Cuba y las características de la provincia de Villa Clara requieren ampliar los conocimientos de sus causas con respuestas y acciones certeras. (107,164)

4.1. Objetivo del capítulo

- Caracterizar epidemiológica, citogenética y clínicamente las aberraciones y los heteromorfismos cromosómicos en individuos de ambos sexos con infertilidad.

4.2. Resultados

Se estudiaron 263 individuos con historia de infertilidad, la tabla 11 y la figura 19 muestran su distribución en los tres grupos declarados: mujeres infértiles (grupo IV), hombres infértiles (grupo V) y parejas con infertilidad de etiología no precisada (grupo VI). El 10,26 % de las mujeres y de los hombres con infertilidad asociada a algún hallazgo médico presentaron cromosomopatías.

Tabla 11: Frecuencia de cariotipos normales y con aberraciones cromosómicas en mujeres y hombres infértiles y parejas con infertilidad de etiología no precisada. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

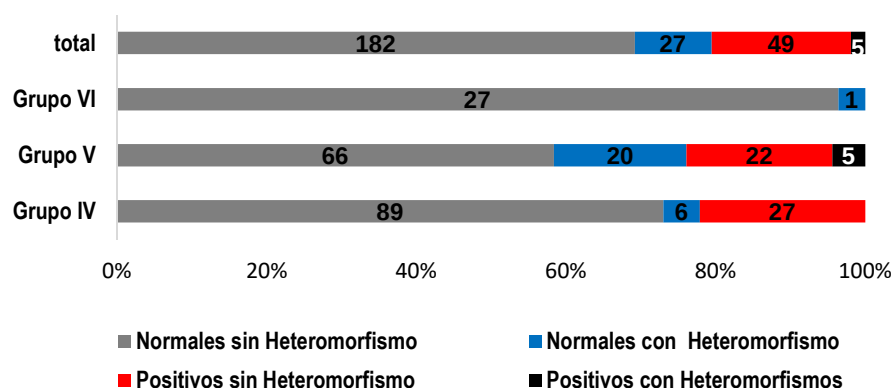
Grupos	N	Cariotipos Normales sin Heteromorfismo		Cariotipos Normales con Heteromorfismo		Cariotipos con Aberraciones Cromosómicas	
		N	%	N	%	N	%
IV	122	89	33,84	6	2,28	27	10,26
V	113	66	25,10	20	7,60	27	10,26
VI	28	27	10,26	1	0,38	0	0,00
Total	263	182	69,20	27	10,26	54	20,53

Leyenda: Grupo IV: mujeres infértiles

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

Grupo V: hombres infértiles

Grupo VI: parejas infértiles de etiología no precisada



Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

Figura 19: Resultado citogenético en mujeres y hombres infértiles y parejas con infertilidad de etiología no precisada. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

4.2.1. Positividad de los estudios citogenéticos en mujeres y hombres infértiles y parejas con infertilidad de etiología no precisada.

Grupo IV: 22,13 % (27 cromosomopatías en 122 mujeres infértiles)

Grupo V: 23,89 % (27 cromosomopatías en 113 hombres infértiles)

Grupo VI: no se diagnosticaron cromosomopatías

4.2.2. Positividad de los estudios citogenéticos en los análisis intragrupo.

Grupo IV: infertilidad femenina

- Positividad según la edad al momento del diagnóstico.

La edad de las mujeres infértiles osciló entre los 15 y 39 años. El 67,2 % tenía entre 15 y 24 años y aportaron las tres cuartas partes de los cariotipos con aberraciones cromosómicas.

- mujeres entre 15 y 19 años de edad: 28,30 % (15 cromosomopatías en 53 pacientes)
- mujeres entre 20 y 24 años: 20,69 % (6 cromosomopatías en 29 pacientes)
- mujeres entre 25 y 29 años: no se diagnosticaron cromosomopatías en 17 pacientes
- mujeres entre 30 y 34 años: 25,00 % (4 cromosomopatías en 16 pacientes)
- mujeres entre 35 y 39 años: 28,57 % (2 cromosomopatías en 7 pacientes)

- Positividad en mujeres infértiles con amenorrea primaria, amenorrea secundaria u oligomenorrea.

- mujeres con amenorrea primaria: 28,98 % (20 cromosomopatías en 69 pacientes)
- mujeres con amenorrea secundaria: 16,66 % (4 cromosomopatías en 24 pacientes)
- mujeres con oligomenorrea: 10,34 % (3 cromosomopatías en 29 pacientes)

Grupo V: infertilidad masculina

- Positividad según la edad al momento del diagnóstico.

- hombres entre 15 y 19 años: 40,00 % (4 cromosomopatías en 10 pacientes)
- hombres entre 20 y 29 años: 40,62 % (13 cromosomopatías en 32 pacientes)
- hombres entre 30 y 39 años: 15,21 % (7 cromosomopatías en 46 pacientes)
- hombres entre 40 y 49 años: 9,09 % (2 cromosomopatías en 22 pacientes)
- hombres con 50 y más años: 33,33 % (1 cromosomopatía en 3 pacientes)

En los 113 hombres infértiles estudiados, la edad al momento de realizarse el cariotipo osciló desde los 15 años cumplidos hasta más de 50 años. El 62,83 % de ellos se realizó el cariotipo después de los 30 años de edad. La mayor positividad se encontró entre los 15 y 29 años.

- Positividad en hombres con azoospermia y oligoastenozoospermia.

El 15,93 % de los hombres infértiles (18 pacientes) no tenía espermograma, entre ellos se diagnosticó una cromosomopatía para una positividad del 5,55 %. El 34,66 % de los hombres con azoospermia presentó aberraciones cromosómicas (26 de 75 pacientes) y entre los hombres con oligoastenozoospermia (20 pacientes) no se diagnosticaron cromosomopatías.

4.2.3. Caracterización de las aberraciones cromosómicas en mujeres y hombres infértiles, y parejas con infertilidad de etiología no precisada

Grupo IV: infertilidad femenina

➤ Clasificación de las aberraciones cromosómicas.

Todas las aberraciones cromosómicas diagnosticadas pertenecieron a los cromosomas sexuales, predominaron los mosaicos numéricos. En ocho pacientes con fenotipo femenino y presencia del cromosoma Y se confirmó el gen SRY por técnicas moleculares; dos eran mosaicos relacionados con Disgenesia gonadal mixta y seis síndromes de insensibilidad completa a los andrógenos. Se diagnosticaron 17 pacientes síndrome Turner, todas con variantes citogenéticas y predominio de deleciones y mosaicos de monosomía X (tabla 12).

Tabla 12: Cariotipos positivos diagnosticados en mujeres infértiles (grupo IV). Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Clasificación según la alteración cromosómica		N	Fórmula cromosómica	Síndrome Turner N=17
estructural	delección	1	46,X,del(X)(p11.2)	29,41 %
		2	46,X,del(X)(q21.2)	
		1	46,X,del (X)(q21)	
		1	46,X,del(X)(q24)	
	isocromosoma	3	46,X,i(X)(q10)	17,65 %
	translocación recíproca	1	46,X,t(X;14)(q24;q22)mat	---
mosaico	estructural	1	mos 46,X,dup(X)[77]/45,X[23]	---
		1	mos 45,X[78]/46,X,r(X)[24]	17,65 %
		1	mos 45,X[87]/46,X,i(Xq)[8]	
		1	mos 46,X,i(Xq)[35]/45,X[8]/46,XX[8]	
	numérico	1	mos 45,X[25]/46,XX[5]	23,53 %
		1	mos 45,X[2]/46,XX[58]	
		1	mos 45,X[2]/46,XX[98]	
		1	mos 45,X[2]/46,XX[48]	
		1	mos 45,X[10]/46,XY[40]	11,76 %
		1	mos 45,X[20]/46,XY[21]	
		1	mos 47,XXX[3]/46,XX[59]	---
		1	mos 47,XXX[2]/46,XX[98]	---
Síndrome de insensibilidad completa a los andrógenos		6	46,XY	---

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

➤ Puntos de ruptura

En las deleciones se encontró un solo punto de ruptura en el brazo corto del cromosoma X, ubicado en p11.2; y tres en el brazo largo, localizados en q21.2, q21 y q24. En la translocación recíproca la ruptura del cromosoma X se ubicó en q24 y la del autosoma en 14q22. Mediante la citogenética convencional no se definieron los sitios de ruptura del cromosoma en anillo.

➤ Origen heredado o de novo.

A través del estudio familiar se confirmó el origen heredado de la translocación recíproca, el resto de las aberraciones cromosómicas fueron de novo.

➤ Procedencia parental del reordenamiento cromosómico heredado

La t(X;14) se heredó por línea materna

➤ Análisis de segregación de las aberraciones cromosómicas heredadas.

La figura 20 representa el árbol genealógico de la familia con t(X;14). Se asume que uno de los progenitores de II-1 y II-2 sea portador del reordenamiento, aunque no se realizó el estudio familiar. La segregación 2:2 alternante originó los gametos de los cuatro portadores balanceados. II-1 solo refirió dismenorrea, II-2 no tuvo descendencia y nunca solicitó asistencia médica y en III-1 no se encontraron alteraciones fenotípicas.

Grupo V: infertilidad masculina

Todas las cromosomopatías diagnosticadas fueron numéricas de los cromosomas sexuales, el 85,19 % trisomías completas y el 14,81 % mosaicos numéricos. Se diagnosticó Disgenesia gonadal mixta en un paciente con fenotipo masculino (tabla 13).

Tabla 13: Aberraciones cromosómicas diagnosticadas en los hombres infértiles (grupo V). Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Clasificación de la aberración		N	Fórmula cromosómica	%
numérica	trisomía	18	47,XXY	85,19
		1	47,XXY,9qh+	
		1	47,XXY,21ps+	
		1	47,XXY,22ps+	
		2	47,XXYqh+	
mosaico	numérico	1	mos 47,XXY[84]/46,XY[16]	14,81
		1	mos 47,XXY[96]/46,XY[4]	
		1	mos 47,XXY[83]/48,XXXY[6]/46,XY[11]	
		1	mos 45,X[74]/46,XY[26]	

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

4.2.4. Relación cariotipo-fenotipo

Grupo IV: infertilidad femenina

La amenorrea primaria se presentó en el 74 % (20 de 27) de las mujeres con cariotipos positivos, once de ellas con cromosomopatías y seis con cariotipo XY, con igual comportamiento para la disgenesia gonadal. En la tabla 14 aparecen las principales características fenotípicas, los signos más relevantes fueron baja talla, amenorrea primaria, disgenesia gonadal y dismorfias. En la figura 21 se puede apreciar el hábito externo de dos pacientes infértiles con cromosomopatía.

Grupo V: infertilidad masculina

Las principales características fenotípicas de los pacientes masculinos con aberraciones cromosómicas se muestran en la tabla 15. En el síndrome Klinefelter y variantes predominaron la adipomastia en el 69,23 % y la atrofia testicular en el 61,53 %, seguidos por la alta talla en el 38.46 % y la ginecomastia en el 34,61 % de los pacientes.

Tabla 14: Principales características fenotípicas de las mujeres infértiles con aberraciones cromosómicas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Cariotipo	Amenorrea primaria	Amenorrea secundaria	Oligomenorrea	Baja talla	Disgenesia gonadal	Dismorfias	Infertilidad
46,X,del(X)(p11.2)	+	-	-	+	+	-	+
46,XX,del (X)(q21)	+	-	-	+	+	-	+
46,XX,del (X)(q21.2)	+	-	-	+	+	-	+
46,XX,del (X)(q21.2)	+	-	-	-	+	+	+
46,X,del(X)(q24)	-	+	-	-	+	-	+
46,XX,t(X;14)(q24;q22)	-	-	+	-	-	-	+
46,X,i(Xq)	+	-	-	+	+	+	+
46,X,i(Xq)	+	-	-	+	+	+	+
46,X,i(Xq)	+	-	-	+	+	+	+
mos 46,X,dup(X)[77]/45,X[23]	+	-	-	-	¿	-	+
mos 45,X[78]/46,X,r(X)[24]	+	-	-	+	+	+	+
mos 45,X[87]/46,X,i(Xq)[8]	+	-	-	+	+	+	+
mos 46,X,i(Xq)[35]/45,X[8]/46,XX[8]	+	-	-	+	+	+	+
mos 45,X[25]/46,XX[5]	+	-	-	+	+	+	+
mos 45,X[2]/46,XX[58]	-	+	-	-	-	-	+
mos 45,X[2]/46,XX[98]	-	-	+	-	-	-	+
mos 45,X[2]/46,XX[48]	-	+	-	-	-	-	+
mos 47,XXX[3]/46,XX[59]	-	+	-	-	-	-	+
mos 47,XXX[2]/46,XX[98]	-	-	+	-	-	-	+
mos 45,X[10]/46,XY[40]	+	-	-	+	+	+	+
mos 45,X[20]/46,XY[21]	+	-	-	+	+	+	+

Leyenda: signos (+) presencia de la condición (-) ausencia de la condición

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

Tabla 15: Principales características fenotípicas en hombres infértiles con aberraciones cromosómicas. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Cariotipo		Alta talla	Baja talla	Criptorquidia	Atrofia testicular	Ginecomastia	Adipomastia	Dismorfias	Infertilidad
Síndrome Klinefelter y variantes N=26	47,XXY (23 pacientes)	9	-	5	14	8	17	2	23
	mos47,XXY[84]/46,XY[16]	-	-	-	-	-	+	-	+
	mos47,XXY[96]/46,XY[4]	+	-	-	+	+	-	-	+
	mos47,XXY[83]/48,XXX[6]/46,XY[11]	-	-	-	+	-	-	-	+
%		38,46	0	19,23	61,53	34,61	69,23	7,69	100
Disgenesia gonadal mixta N=1	mos45,X[74]/46,XY[26]	-	+	+	-	-	-	+	+

Leyenda: signos (+) presencia de la condición (-) ausencia de la condición

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

4.2.5. Heteromorfismos cromosómicos diagnosticados en mujeres y hombres infértiles, y parejas con infertilidad de etiología no precisada.

Se diagnosticaron 16 variantes diferentes de heteromorfismos cromosómicos, 14 de autosomas y dos de cromosomas sexuales. Se encontraron en los cromosomas 1, 9, 13, 14, 15, 16, 21, 22 y Y, predominaron las variantes del cromosoma Y, 9 y 16 (tabla 16). La figura 22 muestra la imagen de algunos heteromorfismos diagnosticados.

Tabla 16: Heteromorfismos cromosómicos diagnosticados en mujeres y hombres infértiles y parejas con infertilidad de etiología no precisada. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Heteromorfismos cromosómicos en pacientes	Grupo IV N=122		Grupo V N=113		Grupo VI N=28	
	N	%	N	%	N	%
1qh+	0	0,00	1	0,88	0	0,00
9qh+	0	0,00	2	1,77	1	3,57
inv(9qh)	1	0,82	0	0,00	0	0,00
14ps+	1	0,82	0	0,00	0	0,00
14pst+	1	0,82	1	0,88	0	0,00
15pst+	1	0,82	0	0,00	0	0,00
16qh+	0	0,00	3	2,65	0	0,00
21ps+	0	0,00	1	0,88	0	0,00
22ps+	1	0,82	1	0,88	0	0,00
22pst+	0	0,00	1	0,88	0	0,00
9qh+,14ps+	1	0,82	1	0,88	0	0,00
9qh+,inv(9qh)	0	0,00	1	0,88	0	0,00
13pst+,21pst+	0	0,00	1	0,88	0	0,00
14pst+,22pst+	0	0,00	1	0,88	0	0,00
15ps+,21ps+	0	0,00	1	0,88	0	0,00
21pst+,22pst+	0	0,00	1	0,88	0	0,00
Yqh+	---	---	6	5,30	0	0,00
Yqh-	---	---	3	2,65	0	0,00
Total	6	4,92	25	22,12	1	3,57

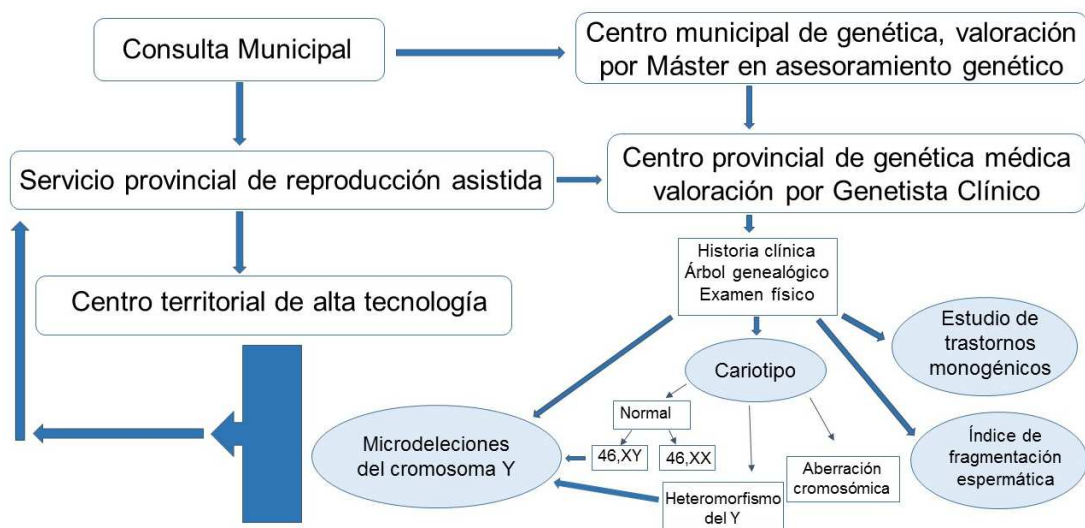
Leyenda: Grupo IV: mujeres infértiles Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

Grupo V: hombres infértiles

Grupo VI: parejas infértiles de etiología no precisada

4.2.6. Algoritmo de estudio genético a la pareja infértil

Se propone un algoritmo de estudio (figura 23) para la pareja infértil que incluye la valoración por el master en asesoramiento genético en los centros municipales y la remisión directa hacia el centro provincial de los pacientes con sospecha de alguna condición genética para su evaluación por el genetista clínico e indicación de complementarios como cariotipo, microdeleciones del cromosoma Y, índice de fragmentación espermática y estudios moleculares, si están disponibles, en los pacientes que se sospeche una enfermedad monogénica.



Fuente: Original de la autora

Figura 23: Algoritmo de estudio genético para las parejas infértiles

4.3. Discusión

4.3.1. Análisis del síndrome Turner

El síndrome Turner es la alteración de los cromosomas sexuales más frecuente en mujeres. Entre el 40 % y el 60 % presentan cariotipo 45,X, los mosaicos 45,X/46,XX y los isocromosomas representan entre el 10 % y el 20 % cada uno, y los restantes son cromosomas X en anillo, variantes con presencia de cromosoma Y, y otras. (185) Los resultados de esta investigación no coincidieron con los datos anteriores porque la muestra es de mujeres infértiles mayores de 15 años, y el cariotipo 45,X se diagnostica a edades más tempranas y se asocia al fenotipo clásico.

El predominio del mosaico con una línea aneuploide monosómica, coincidió con otros estudios como el de Vorsovana y colaboradores, (186) aunque refieren una frecuencia mayor, de 68,5 %.

El mosaico en el síndrome Turner es un acápite que necesita ser esclarecido, varios investigadores afirman que todos los recién nacidos con cariotipo 45,X son mosaicos para tejidos específicos y que el mosaico es la regla más que la excepción, por lo que conocer la verdadera proporción de cada línea celular es una meta difícil.

Graff y colaboradores (187) comparan el resultado del cariotipo en sangre periférica y del FISH de células de la mucosa oral y encuentran diferencias para el por ciento de la línea 45,X entre ambos tejidos en el 67,64 %. Thunström y colaboradores (188) observan diferencias del 38%, mediante FISH, para el mosaicismo entre células de ambos lados de la mucosa oral de 20 pacientes síndrome Turner, y recomiendan realizar esta técnica ante la sospecha de mosaico no concluido por el cariotipo.

Los mosaicos de aberraciones estructurales suelen relacionarse con isocromosomas, anillos y deleciones. El anillo presenta deleciones de tamaño variable en ambos brazos cromosómicos, en algunos, la deleción del locus XIST determina el fenotipo más extremo. (189)

El fenotipo de las variantes de síndrome Turner en mosaico con cromosoma Y tiene un espectro amplio que va desde masculino aparentemente normal, diferentes grados de ambigüedad genital, hasta femenino turneriano; pero en todos existe infertilidad. (22, 190)

Graff y colaboradores (187) en una muestra de 142 síndrome Turner adultas refieren una frecuencia de 8,5 %, ligeramente inferior a la encontrada en el presente estudio. En estas pacientes se describe disgenesia gonadal e infertilidad, lo que coincidió con el estudio en curso, sin embargo, la virilización y el gonadoblastoma no se observaron. El riesgo de desarrollar gonadoblastoma es del 26,9 % y de malignizarse del 14 %, y está indicada la extracción quirúrgica de las gónadas. (189, 191)

En esta investigación el síndrome Turner por delección fue más frecuente que el mosaico numérico. Predominaron las delecciones de Xq, solo se diagnosticó una en Xp, en región p11.2. Zinn y colaboradores (192) presentan una paciente con igual punto de ruptura y fallo ovárico en una serie de 28 síndrome Turner por delección Xp y observan que el fenotipo típico aparece en pacientes con delecciones de mayor tamaño. La región Xp22.33-Xp22.12 contiene el gen SHOX que escapa a la inactivación y su función es dosis dependiente, por lo que la haploinsuficiencia causa retardo pondoestatural, se expresa en los arcos faríngeos, extremidades, médula ósea, células osteogénicas y fibroblastos.

Las delecciones de Xq son más frecuentes, la región entre Xq13 y Xq28 es importante en la función ovárica normal, la región crítica 1 se ubica en Xq13-q21 y sus delecciones son compatibles con menstruaciones normales y fertilidad; mientras que las de la región crítica 2 ubicada en Xq23-q28 se relacionan con fallo ovárico. El gen FMR1, con locus en Xq27.3, es importante en la función ovárica. (189)

La frecuencia del isocromosoma de brazos largos en el síndrome Turner coincidió con la plasmada en otros estudios, entre 15 % y 18 %, estas mujeres presentan baja talla por la haploinsuficiencia del gen SHOX. (189)

La infertilidad es un hallazgo constante en el síndrome Turner y constituye la mayor preocupación para las pacientes. Se debe a la apoptosis acelerada de las células germinales y génesis deficiente de folículos durante la vida fetal, causando depleción folicular prematura y disgenesia gonadal. Sin embargo, el grado de ovocitos perdidos es variable y las demás funciones ováricas dependen de la cantidad de células 46,XX presentes en el ovario. (193)

Un estudio realizado en diez pacientes síndrome Turner por aneuploidía analiza la presencia del cromosoma X en ovocitos, células de la granulosa y del estroma ovárico mediante FISH, y demuestra que en las variantes mosaico la mayoría de los ovocitos de folículos pequeños son normales, pero casi todas las células de la granulosa de los folículos individuales son aneuploides

y los folículos que provienen del mismo ovario difieren según el grado de mosaico de las células de la granulosa, además de encontrar alto nivel de mosaico en el estroma ovárico. El grado de mosaico en linfocitos, células de la mucosa oral y células obtenidas de la micción no se correlaciona con el del tejido ovárico. A pesar de la presencia de ovarios y folículos morfológicamente normales en los mosaicos síndrome Turner, las alteraciones de las células de la granulosa y del estroma ovárico limitan la capacidad fértil. (193)

Las menstruaciones espontáneas se presentan en el 2 % de las pacientes 45,X y el 20 % de los mosaicos, (189) Graff y colaboradores (187) encuentran 15 pacientes con menstruaciones espontáneas, de un total de 142 con síndrome Turner.

Durante años se ha tratado de explicar el fenotipo turneriano a través de la citogenética y los genes, en la actualidad todo indica que existen otras causas más allá de la secuencia de nucleótidos. La presencia de un solo cromosoma X, o de alteraciones estructurales provoca inestabilidad epigenética con hipometilación. (194)

La edad al diagnóstico del síndrome Turner varía según la muestra de cada estudio, la edad media al diagnóstico varía entre 10,6 y 15,1 años. Un estudio que analiza grupos de edades encuentra mayor frecuencia entre 25 y 29 años. (185, 187, 194, 195) En el presente estudio la mayoría de los diagnósticos se realizaron en los grupos de edades extremas, ninguno entre los 25 y 29 años y los individuos más jóvenes presentaron más manifestaciones clínicas que los de mayor edad.

El tratamiento de reemplazo hormonal en el síndrome Turner se inicia con el propósito de inducir la pubertad, mantener los caracteres sexuales secundarios, facilitar el crecimiento del útero, garantizar la máxima cantidad de hueso y mejorar el perfil metabólico. (185) Ninguna de las pacientes de este estudio había sido tratada previamente.

4.3.2. Análisis de síndrome de insensibilidad a andrógenos.

El síndrome de insensibilidad a andrógenos es la causa más frecuente de trastornos de la diferenciación sexual en individuos con cariotipo 46,XY. El gen del receptor androgénico tiene el

locus en Xq11-12 y se han identificado cerca de 600 mutaciones. El 66 % de las mutaciones se heredan de las madres portadoras (herencia recesiva ligada al X), el resto son mutaciones de novo y somáticas. En un grupo de pacientes sin mutaciones en el gen del receptor de andrógenos se identificaron patrones de metilación aberrantes. No existe una relación perfecta entre las mutaciones y el fenotipo. (196-200)

En esta investigación se diagnosticó el síndrome en su forma completa en pacientes adultas con amenorrea e infertilidad, la mayoría de los estudios declaran el diagnóstico en etapas más tempranas, consideramos que por las características socio culturales de la población esto no fue posible, algunas incluso negaron la amenorrea.

4.3.3. Análisis del síndrome Klinefelter

El síndrome Klinefelter es la cromosomopatía más frecuente en hombres con infertilidad, se diagnostica entre el 3 % y el 4 % de los infértiles y el 8 % al 13 % de los azoospermicos. El cariotipo 47,XXY se encuentra en el 80 % o el 90 % de los casos, y el fenotipo se caracteriza por azoospermia en más del 95 % de los pacientes e infertilidad en el 99 %. (201-206)

Un estudio de casos y controles en población masculina infértil de India refiere aberraciones cromosómicas en el 16 % con mayor variedad de tipos que incluyen cromosomas autosómicos, como translocaciones por fusión centromérica y recíprocas balanceadas, inserción y marcador supernumerario. (207)

La ausencia de aberraciones autosómicas en esta investigación se debió a características de la muestra como procedencia y selección de los casos para cariotipo con hallazgos clínicos sugerentes de aberraciones de los cromosomas sexuales. Romero Tovar y colaboradores (16) diagnostican cromosomopatías en el 12,5 % de una población mexicana de individuos infértiles de ambos sexos, con predominio del cariotipo 47,XXY, sin embargo, atribuyen la alta frecuencia a la inclusión de los heteromorfismos cromosómicos como positivos.

El síndrome Klinefelter tiene expresividad variable, entre el 64 % y el 75 % de los pacientes no se diagnostican. El “fenotipo clásico” es la manifestación más extrema del síndrome. El origen del cromosoma X adicional se relaciona con la variabilidad fenotípica y cuando proviene del padre se describe mayor retardo puberal. La expresión del gen XIST es similar a las mujeres y ocurre la inactivación de uno de los cromosomas X; sin embargo, los genes pseudoautosomales se expresan desde tres loci por lo que repercuten negativamente sobre el fenotipo. Por ejemplo, el gen SLC25A6 está sobre expresado en el síndrome Klinefelter, se relaciona con las vías de señales y el metabolismo del calcio y explica molecularmente los intervalos QT cortos. Igual sucede con el gen AKAP17A que se relaciona con el aumento de la susceptibilidad a desarrollar los tics descritos en estos pacientes. (185, 208)

Existe relación entre el gen del receptor de andrógenos y el fenotipo del síndrome Klinefelter, el cual posee un fragmento de 9 a 37 repeticiones del trinucleótido CAG y existe inactivación preferencial del alelo más corto. La ginecomastia y los testículos más pequeños se asocian a repeticiones más largas; mientras las cortas se relacionan con mayor nivel educacional y relaciones sociales más estables. Al conocer la gran cantidad de genes ubicados en el cromosoma X que están relacionados con la espermatogénesis, es obvio suponer que la doble dosis impacte desfavorablemente sobre la fertilidad. (194, 203, 204, 208)

La frecuencia de cromosomopatías es mayor entre los hombres con azoospermia que entre los que presentan oligozoospermia u otra alteración del espermograma. Los resultados de esta investigación coincidieron con la anterior observación. Varios estudios refieren espermatogénesis en pacientes con síndrome Klinefelter. Foresta y colaboradores, (209) demuestran la existencia de espermatogénesis mediante biopsia aspirativa por aguja fina de testículo en algunos pacientes en los que todas las espermatogonias y los espermatocitos primarios eran 47,XXY; mientras que los espermatocitos secundarios, las espermatidas y los espermatozoides tenían cinco constituciones:

23,X; 23,Y; 22,0; 24,XX y 24,XY. En este estudio a ningún paciente se le había realizado biopsia testicular.

La atrofia testicular se describe en el 80 % y el 90 % del síndrome Klinefelter. (201) En el presente estudio se encontró menor frecuencia, por lo que se requiere profundizar en la evaluación de la histología testicular de estos pacientes. La prevalencia de criptorquidia al nacimiento en el síndrome no está definida, se estima sea mayor que entre los recién nacidos con constitución cromosómica normal. (210) La evaluación hormonal arroja niveles altos de FSH y bajos de testosterona; aunque hay reportes de pacientes con valores normales de testosterona, y estudios recientes sugieren que los bajos niveles no se deben a déficit en la producción, sino a la liberación deficiente por alteraciones de los vasos testiculares (208, 211).

La alta talla se constató en el 38,46 % de los pacientes de esta investigación, la cual no es una característica constante y se debe al incremento de dosis del gen SHOX con locus en la región pseudoautosomal de los cromosomas X e Y que no se inactiva. (194, 211)

Aunque el síndrome Klinefelter puede diagnosticarse a cualquier edad, es más frecuente hacerlo en adultos jóvenes en consultas de infertilidad. La edad media estimada al diagnóstico es de 27,5 años. (185, 204) Singhal y colaboradores (205) encontraron la edad promedio de 32 años en su grupo de estudio.

Vorsanova y colaboradores, (212) en 4 535 niños con trastornos del neurodesarrollo, diagnostican el síndrome Klinefelter en mosaico en el 0,6 %, con por cientos de mosaico entre 1 - 95 %, confirmados por citogenética convencional y molecular; pero, no encuentran relación entre los por cientos de las líneas celulares del cariotipo y el fenotipo, por lo que afirman que el mosaico en las células somáticas es de naturaleza dinámica, relacionado con procesos ontogénicos y patogénicos aún desconocidos. Se considera mosaico somático dinámico a la formación de nuevos reordenamientos cromosómicos a partir de una alteración ya existente. (213)

La expresividad variable de las aneuploidías sexuales no solo se explica por la constitución cromosómica, sino por la interacción de múltiples factores ambientales y genéticos. Al tener en cuenta la frecuencia del síndrome Klinefelter de 1 cada 600 recién nacidos varones, la ausencia de manifestaciones clínicas al nacimiento, la gran proporción no diagnosticada durante la vida y la mejor evolución de los casos identificados en la vida prenatal, es necesario valorar métodos de pesquisa neonatal, y enfocarse en el seguimiento y tratamiento médico con suplemento hormonal para evitar manifestaciones clínicas que afectan la salud física y psicológica de los adolescentes. En pacientes con evidencias de espermatogénesis, debe considerarse la extracción de semen testicular para crio conservación y garantizar técnicas de reproducción asistida cuando se desee la paternidad.

4.3.4. Análisis de Disgenesia gonadal mixta con fenotipo masculino

El riesgo de malignización de las gónadas no descendidas en pacientes con cariotipo 45,X/46,XY es alto, por lo que tienen criterio para su extirpación quirúrgica. (22) El fenotipo de los mosaicos es complejo, depende de la proporción de líneas celulares y su distribución en órganos y sistemas de órganos. En varias investigaciones no se encuentra asociación entre el por ciento de la línea monosómica y la severidad del fenotipo y refieren elevada frecuencia de microdeleciones de la región AZF con herencia paterna vertical en pacientes con este cariotipo, así como otras aberraciones estructurales del cromosoma Y, e infieren que las microdeleciones incrementan el riesgo de descendencia con aneuploidías de los cromosomas sexuales. (190) Riquenes y colaboradores (214) encuentran una frecuencia de 2,8 % de microdeleciones en la región AZF del cromosoma Y en pacientes cubanos con azoospermia no obstructiva y oligozoospermia severa. El mosaico por la pérdida adquirida del cromosoma Y se asocia a infertilidad en hombres jóvenes y otros problemas de salud. (215)

4.3.5. Análisis de los resultados de parejas infértiles

La cantidad de parejas infértiles de etiología no precisada en el presente estudio fue pequeña porque la muestra proviene de casos remitidos al laboratorio de citogenética. Aparte de la infertilidad, no tenían otra evidencia clínica ni de laboratorio de cromosomopatía, se realizó el cariotipo para descartar reordenamientos balanceados u otras aberraciones de los cromosomas sexuales como 47,XYX sin repercusión evidente en el fenotipo. Todos los cariotipos fueron normales.

Se estima que aproximadamente el 15 % de las parejas tienen infertilidad inexplicada. (126) El estudio de 118 parejas infértiles en el municipio de Pinar del Río encuentra más frecuentes las causas femeninas relacionadas con infección vaginal, y en los hombres la oligoastenozoospermia, clasifican de etiología inexplicada al 6,8 % y no hacen referencia al estudio citogenético. (195) El grupo de parejas identificado por Romero Tovar y colaboradores (16) con infertilidad idiopática es mayor y se diagnostica un portador de translocación por fusión centromérica entre los cromosomas 14 y 21.

La solicitud de asistencia médica para la reproducción en los últimos años ha ido en aumento por el interés de lograr una descendencia saludable ante el incremento de factores de riesgo relacionados con la exposición materna y paterna a agentes ambientales, la EMA y los cambios de la conducta sexual que merman la cantidad y calidad de ovocitos y espermatozoides.

Las investigaciones sobre infertilidad son disímiles, los autores asumen conceptos y criterios de diferentes sociedades científicas. Las diferencias se basan en la falta de un consenso conceptual internacional, a lo que se suman factores étnicos de la población, criterios de selección de la muestra, tipo de estudio citogenético realizado y tipos de aberraciones cromosómicas descritas.

4.3.6. Análisis de los heteromorfismos cromosómicos en individuos infértiles

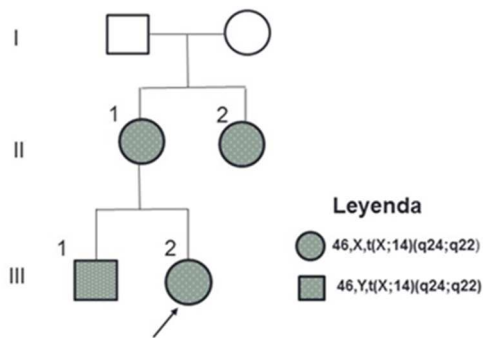
Los resultados de este trabajo en relación a los heteromorfismos cromosómicos coincidieron con los de Singhal y colaboradores (207) que refieren la frecuencia de 7 % en hombres infértiles indios,

pero no coincidieron con los de Romero Tovar y colaboradores (16) que refieren la frecuencia de 5,3 % en población infértil mexicana de ambos sexos. Con respecto al tipo de variante, los resultados no coincidieron con los de estos investigadores, el primero encuentra la inv(9qh) como la más frecuente en hombres, y el segundo, un predominio de 9qh+ en mujeres y de inv(9qh) en hombres.

En la actual investigación existió mayor frecuencia de la variante Yqh+ entre los hombres infértiles y en las mujeres no se encontró predominio de una variante específica. En pacientes peruanos se describen las variantes 16qh+ y 9qh+ como más frecuentes. (17) Las variantes del cromosoma Y que provocan disrupción o delección en la región AZF guardan mayor relación con la infertilidad masculina. (216, 217)

4.4. Conclusiones del capítulo

- La identificación de las variantes citogenéticas del síndrome Turner es clave para la comprensión de su origen y las bases genéticas, es el síndrome cromosómico más frecuente en mujeres infértiles, presenta expresividad variable y mayor número de variantes citogenéticas, así como alta letalidad en la vida prenatal, lo cual explica la ausencia de cariotipos 45,X en esta muestra.
- Las manifestaciones fenotípicas del síndrome Klinefelter no son suficientemente evidentes en la mayoría de los pacientes para realizar el diagnóstico y la terapéutica tempranas, a pesar de ser la principal causa cromosómica de infertilidad masculina. La mayor cantidad de cariotipos 47,XXY y la poca frecuencia de mosaicos hacen pensar que el mismo no se asocia a una condición letal y los pacientes con mosaico son subdiagnosticados por presentar manifestaciones clínicas menos evidentes.
- Los heteromorfismos cromosómicos son más frecuentes entre hombres infértiles con cariotipo normal que entre mujeres infértiles, las variantes del cromosoma Y requieren otros estudios que concluyan su relación directa con la infertilidad masculina.



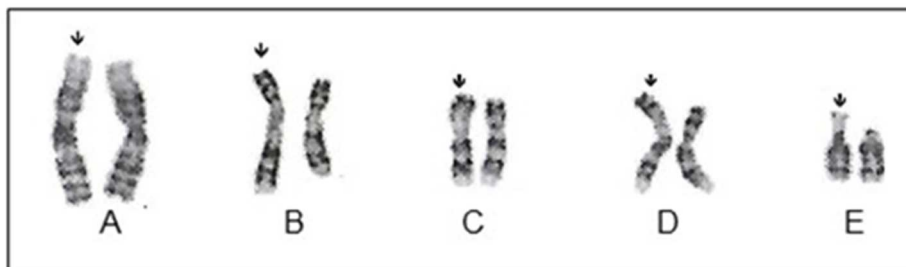
Fuente: Historia clínica

Figura 20: Árbol genealógico de familia con t(X;14)(q24;q22)



Fuente: Archivos del Laboratorio de citogenética de Villa Clara.

Figura 21: Hábito externo de pacientes femeninas infertilidad. 21A: paciente con cariotipo mos45,X[78]/46,X,r(X)[24]. 21B: Paciente con cariotipo 46,XX,del(X)(q21.2)



Fuente: Archivos del Laboratorio de citogenética de Villa Clara.

Figura 22: Fotografía de algunos heteromorfismos cromosómicos diagnosticados en individuos infértiles. El cromosoma señalado con la flecha presenta variaciones heteromórficas. 22A: 1qh+. 22B: 9qh+ y 22C y 20D: inv(9qh), 22E: 14pstk+.

CAPÍTULO 5

CAPÍTULO 5. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN ESTUDIOS PRENATALES Y TEJIDOS SÓLIDOS FETALES COMO CAUSAS POTENCIALES DE FALLAS REPRODUCTIVAS

Las aneuploidías son la principal causa de pérdidas gestacionales, (218) aunque la mayoría de los abortos ocurren en el primer trimestre, un grupo rebasa las primeras etapas del periodo embrionario. Por esta razón es importante conocer la constitución cromosómica de los fetos con defectos congénitos que por desbalance genómico causan fallas reproductivas y realizar estudios cromosómicos familiares.

5.1. Objetivos del capítulo

- Determinar la frecuencia de aberraciones cromosómicas en diagnóstico prenatal citogenético que son causa potencial de falla reproductiva y motivo de interrupción electiva de la gestación.
- Determinar la frecuencia de aberraciones cromosómicas en productos de interrupción electiva de la gestación diagnosticados por ecografía con defectos congénitos que son causa potencial de falla reproductiva.
- Caracterizar citogenética y clínicamente los productos de interrupción electiva de la gestación con cariotipo no balanceado que son causa potencial de falla reproductiva.
- Determinar la frecuencia de la EMA en los productos de interrupción electiva de la gestación por DPC o hallazgos sonográficos de defectos congénitos con aberraciones cromosómicas que son causa potencial de falla reproductiva

5.2. Resultados

Como resultado del diagnóstico prenatal citogenético (grupo VII) se identificaron 165 cromosomopatías con potencial de originar falla reproductiva de un total de 9 337 estudios cromosómicos. Los 9 172 cariotipos restantes fueron normales o presentaron aberraciones cromosómicas balanceadas o desbalanceadas sin compromiso para la vida. Entre los 45 estudios cromosómicos en tejidos sólidos procedentes de fetos con defectos congénitos diagnosticados por ecografía (grupo VIII) que fueron motivo de interrupción electiva de la gestación se diagnosticaron 28 cromosomopatías. En la tabla 17 se observa la clasificación de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas en ambos grupos y el por ciento de cada una, existe un predominio de las trisomías, con más del 80 % para los dos grupos. En muestras de vellosidades coriónicas y placentarias se realizaron 21 diagnósticos de cromosomopatías, todas trisomías autosómicas, los restantes diagnósticos prenatales fueron en cultivo de amniocitos.

Tabla 17: Clasificación y frecuencia de las aberraciones cromosómicas en diagnóstico prenatal citogenético y tejidos sólidos fetales. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Clasificación de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas en fetos			Grupo VII		Grupo VIII		Total	
			N	%	N	%	N	%
Numérica	Aneuploidía	Monosomía	4	2,42	0	0,00	4	2,07
		Trisomía	139	84,25	23	82,15	162	83,93
		Tetrasomía	1	0,61	0	0,00	1	0,52
		Doble trisomía	1	0,61	0	0,00	1	0,52
	Poliploidía	Triploidía	5	3,03	1	3,57	6	3,10
Estructural	No balanceada	Deleción	0	0,00	2	7,14	2	1,04
		Duplicación	2	1,21	0	0,00	2	1,04
		Isocromosoma	2	1,21	0	0,00	2	1,04
		Translocación por fusión centromérica de novo	2	1,21	0	0,00	2	1,04
		Derivativo de rearrreglo parental	4	2,42	1	3,57	5	2,59
Mosaico	Numérico	Trisomía en mosaico	2	1,21	1	3,57	3	1,55
Numérica y Estructural		Monosomía y translocación por fusión centromérica balanceada	1	0,61	0	0,00	1	0,52
Marcador supernumerario de origen desconocido de novo			2	1,21	0	0,00	2	1,04
Total			165	100,00	28	100,00	193	100,00

Leyenda: Grupo VII: diagnóstico prenatal citogenético

Fuente: Registro del laboratorio de citogenética de Villa Clara

Grupo VIII: cariotipos en tejidos sólidos fetales

5.2.1. Caracterización de las cromosomopatías identificadas en diagnóstico prenatal citogenético.

En la tabla 18 aparece la entidad citogenética con la fórmula cromosómica y la frecuencia de cada una entre los casos positivos, así como el por ciento de positividad con respecto al total de casos. El síndrome Down fue la cromosomopatía más frecuente y se identificaron cinco variantes citogenéticas. El por ciento de positividad para las aberraciones cromosómicas con alto potencial de provocar fallas reproductivas fue de 1,76 % durante los 25 años de estudio, dentro de ellas, el síndrome Down con sus variantes citogenéticas tuvo la mayor frecuencia.

Tabla 18: Fórmula cromosómica y positividad de los estudios en diagnóstico prenatal citogenético. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Entidad citogenética	Fórmula cromosómica	N	Total N=165	%	Positividad % N = 9337
Monosomía X (Síndrome Turner)	45,X	3	5	3,03	0,05
	45,X,16qh+	1			
	44,X,der(15;22)(q10;q10)mat	1			
Trisomía 13 (Síndrome Patau)	47,XX,+13	7	12	7,27	0,13
	47,XY,+13	4			
	47,XY,+13,15psk+	1			
Trisomía 18 (Síndrome Edwards)	47,XX,+18	18	25	15,15	0,26
	47,XY,+18	7			
Trisomía 21 (Síndrome Down)	47,XX,+21	46	105	63,63	1,12
	47,XY,+21	52			
	47,XX,+21,16qh+	1			
	47,XY,+21,1qh+	1			
	46,XX,dup(21q)	1			
	46,XX,i(21q)(q10),22s+	1			
	46,XX,der(14;21)(q10;q10),-14	1			
	46,XY,der(14;21)(q10;q10),-14	1			
	mos 47,XX,+21[24]/46,XX[14]	1			
Trisomía 22	47,XX,+22	2	2	1,21	0,02
Síndrome Edwards y Klinefelter	48,XXY,+18	1	1	0,61	0,01
Tetrasomía de cromosomas sexuales	48,XXXY	1	1	0,61	0,01
Triploidía	69,XXX	4	5	3,03	0,05
	69,XXY	1			
Marcador supernumerario de origen desconocido de novo	47,XX,+mar	1	2	1,21	0,02
	47,XY,+mar	1			
Trisomía parcial 16q	46,XX,dup(16)(q12q22)	1	1	0,61	0,01
Monosomía 18p y Trisomía 18q	46,XX,i(18q)	1	1	0,61	0,01
Monosomía parcial 9p y Trisomía parcial 2q	46,XX,der(9)t(2;9)(q33.1;p24)	1	1	0,61	0,01
Monosomía parcial 5p y Trisomía parcial 18q	46,XY,der(5),t(5;18)(p15;q12)	2	2	1,21	0,02
Trisomía parcial 14q y Trisomía parcial Xq	47,XX,+der(14)t(X;14)(q28;q12)	1	1	0,61	0,01
Mosaico Trisomía 20	mos 47,XY,+20[13]/46,XY[17]	1	1	0,61	0,01

Fuente: Registro del laboratorio de citogenética de Villa Clara

- Motivos de indicación en el diagnóstico prenatal citogenético.

La EMA constituyó el motivo de indicación del 70,91 % de las cromosomopatías (tabla 19). Los hallazgos del ultrasonido del segundo y primer trimestre ocuparon el segundo y tercer lugar respectivamente, pero con frecuencias muy distantes de la primera posición.

Tabla 19: Distribución de los casos del Grupo VII según el motivo de indicación. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Motivo de indicación del diagnóstico prenatal citogenético	N	%
Edad materna avanzada	117	70,91
Hallazgos en el ultrasonido del segundo trimestre	22	13,33
Hallazgos en el ultrasonido del primer trimestre	17	10,30
Progenitor portador de reordenamiento estructural balanceado	4	2,43
Exposición a agentes aneugénicos	3	1,82
Otras causas	2	1,21
Total	165	100,00

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

-Distribución según edad materna al momento de la concepción.

El 84,24 % de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas fueron trisomías, de las que el 69,69 % fueron en mujeres de 35 años en adelante y el 14,54 en menores de 35 años. Otros tipos de aberraciones cromosómicas como triploidía, monosomía, tetrasomía y aberraciones estructurales se observaron en mujeres menores de 35 años (tabla 20).

La frecuencia de las trisomías y sus variantes de trisomía libre, en mosaico y dobles trisomías entre todas las aberraciones cromosómicas diagnosticadas con potencial de provocar falla reproductiva fue de 86,06 % (142 de 165). La frecuencia de todas las variantes citogenéticas de trisomías en madres con EMA fue de 95,93 % (118 de 123), y en las madres menores de 35 años fue de 57,14 % (24 de 42).

Tabla 20: Distribución de la edad materna al momento de la concepción según tipo de aberración cromosómica en el diagnóstico prenatal citogenético. Villa Clara, febrero 1995 – enero 2020.

Tipo de aberración cromosómica	Edad materna menor de 35 años						Edad materna mayor de 35 años						Total	
	15-19	20-29	25-29	30-34	N	%	35-39	40-44	45-49	N	%	N	%	
Monosomía	0	2	1	0	3	1,82	1	0	0	1	0,61	4	2,42	
Trisomía	1	9	7	7	24	14,54	62	50	3	115	69,69	139	84,25	
Doble trisomía	0	0	0	0	0	0,00	0	1	0	1	0,61	1	0,61	
Trisomía en mosaico	0	0	0	0	0	0,00	0	2	0	2	1,21	2	1,21	
Tetrasomía sexual	0	0	1	0	1	0,61	0	0	0	0	0,00	1	0,61	
Triploidía	2	2	1	0	5	3,03	0	0	0	0	0,00	5	3,03	
Marcador supernumerario de origen desconocido de novo	0	0	0	0	0	0,00	2	0	0	2	1,21	2	1,21	
Duplicación	0	1	0	0	1	0,61	0	1	0	1	0,61	2	1,21	
Isocromosoma	0	0	0	1	1	0,61	0	1	0	1	0,61	2	1,21	
Monosomía y rearreglo balanceado heredado	0	0	1	0	1	0,61	0	0	0	0	0,00	1	0,61	
Translocación por fusión centromérica no balanceada de novo	0	1	0	1	2	1,21	0	0	0	0	0,00	2	1,21	
Derivativo de reordenamiento balanceado parental	0	1	1	2	4	2,42	0	0	0	0	0,00	4	2,42	
Total	3	16	12	11	42	25,45	65	55	3	123	74,55	165	100,00	
%	1,82	9,70	7,27	6,67	25,45		39,40	33,33	1,82	74,55		100,00		

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

- Caracterización clínica de los casos positivos de diagnóstico prenatal citogenético.

Se recogieron datos clínicos de 157 productos de interrupción electiva de la gestación (95,15 % del total). El 96,17 % presentó dismorfias y el 52,86 % cardiopatías congénitas. El 100 % de las trisomías 18 tenía cardiopatías, el 100 % de las trisomías 13 tuvo defectos del sistema nervioso central y el 100% de las monosomías X, hidrops fetal. Los defectos del tubo neural predominaron en las trisomías 18, el labio leporino en las trisomías 13 y la restricción del crecimiento en las triploidías (tabla 21). Las figuras 24 y 25 muestran el hábito externo y algunos defectos congénitos observados en fetos con isocromosoma 18q y trisomías 13, 18 y 21.

Tabla 21: Frecuencia de defectos congénitos según sistema de órganos en fetos con diagnóstico prenatal citogenético positivo. Villa Clara, febrero

1995 – enero 2019.

Entidad citogenética	N	Fetos documentados		Hidrops fetal		Dismorfias		Labio Leporino		Cardiopatía		Defecto abierto del tubo neural		Otros defectos del SNC		Defecto renal		Defectos del aparato digestivo		Defecto abierto de pared anterior		Defectos de segmentación pulmonar		Restricción del crecimiento	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Monosomía X	5	5	100,00	5	100,00	5	100,00	0	0,00	1	20,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Trisomía 13	12	12	100,00	0	0,00	12	100,00	5	41,66	8	66,66	2	16,66	12	100,00	5	41,66	3	23,07	1	8,33	1	8,33	1	8,33
Trisomía 18	26	25	96,15	0	0,00	25	100,00	0	0,00	25	100,00	9	36,00	6	24,00	6	24,00	4	16,00	8	32,00	0	0,00	17	68,00
Trisomía 21	105	99	94,28	0	0,00	93	93,93	1	1,01	47	47,47	0	0,00	7	7,07	12	12,12	9	9,09	0	0,00	0	0,00	5	5,05
Trisomía 22	2	2	100,00	0	0,00	2	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	50,00	2	100,00	0	0,00	1	50,00	0	0,00
Triploidia	5	5	100,00	0	0,00	5	100,00	0	0,00	1	20,00	0	0,00	3	60,00	2	40,00	4	80,00	2	40,00	4	80,00	4	80,00
Trisomía parcial 16q	1	1	100,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Trisomía 20 en mosaico	1	1	100,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Tetrasomía de cromosomas sexuales	1	1	100,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Marcador supernumerario de origen desconocido de novo	2	2	100,00	0	0,00	2	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Isocromosoma 18q	1	1	100,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00
Trisomía parcial 14q y Xq	1	1	100,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Monosomía parcial 5p y Trisomía parcial 18q	2	2	100,00	0	0,00	2	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	100,00
Monosomía parcial 9p y Trisomía parcial 2q	1	0	0,00	nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd	
Total	165	157	95,15	5	3,18	151	96,17	6	3,82	83	52,86	11	7,00	29	18,47	27	17,19	22	14,01	12	7,64	6	3,82	29	18,47

Leyenda: nd - no disponible

Fuente: Registro de necropsias del departamento de Anatomía Patológica y RECUPREMAC

- Árbol genealógico y análisis de segregación cromosómica en familias con reordenamientos cromosómicos heredados.

1- Cariotipo 47,XX,+der(14)t(X;14)(q28;q12) caso que se detalla en el Capítulo 3, figura 14 y 15B.

2- Cariotipo 46,XX,der(9)t(2;9)(q33.1;p24) hijo de paciente del Grupo II (Capítulo 3) sin estudio familiar, antecedentes de dos hijos fallecidos, una con encefalopatía y otro con cardiopatía congénita fallecido inmediatamente después del nacimiento. El árbol genealógico aparece en la figura 26. Los individuos I-1 y II-3 se realizaron cariotipo. El cariotipo del propósito se debió a segregación 2:2 adyacente 1 con trisomía parcial 2q, resultó un aborto inmediato tras la amniocentesis. En un tercer embarazo la madre no aceptó DPC ni estudios postnatales al recién nacido que no presentó dismorfias ni defectos congénitos.

3- Cariotipo 46,XY,der(5),t(5;18)(p15;q12) familia con dos medios hermanos portadores de translocación recíproca heredada paterna por segregación alternante. El individuo II-1 tuvo una hija con trisomía 18q parcial, nacida antes del inicio de esta investigación con retraso mental severo. En todos los miembros de esta familia la transmisión fue por vía paterna con segregación alternante o adyacente 1 para el reordenamiento. Los cariotipos de los individuos II-1, II-2, III-3 y III-5 se originaron por segregación alternante y la de los miembros de la familia II-1, III-2 y III-4 por segregación adyacente 1. El árbol genealógico aparece en la figura 27.

5.2.2. Caracterización de las cromosomopatías diagnosticadas en tejidos sólidos fetales.

Se realizó cariotipo en tejidos fetales a 45 fetos con dismorfias y defectos congénitos sugerentes de cromosomopatía, para una positividad de 62,22 % con 28 aberraciones cromosómicas. De manera individual el mayor por ciento de positividad fue para la trisomía 18. Entre el total de aberraciones cromosómicas, las más diagnosticadas fueron las trisomías en el 82,14 %, (23 de 28) con predominio de la trisomía 18, seguida por la trisomía 21. En la tabla 22 aparecen los cariotipos diagnosticados y su frecuencia.

Tabla 22: Fórmula cromosómica y frecuencia de las aberraciones cromosómicas diagnosticadas en tejidos sólidos fetales. Villa Clara, 1999 – 2020.

Clasificación de las aberraciones cromosómicas			Fórmula cromosómica	N	%	Por ciento % N=45	
Numérica	Aneuploidía	Trisomía	47,XX,+13	2	7,14	8,90	62,22
			47,XY,+13	2	7,14		
			47,XX,+18	5	17,86	22,22	
			47,XY,+18	5	17,86		
			47,XX,+21	6	21,43	20,00	
			47,XY,+21	3	10,72		
	Poliploidía	Triploidía	69,XXX	1	3,57	2,22	
Estructural	No balanceada	Deleción	46,XX,del(5)(p13)	1	3,57	2,22	
			46,XY,del(8)(p11.1)	1	3,57	2,22	
		Derivativo de rearreglo parental	46,XX,der(18),t(13;18)(q34;q21)	1	3,57	2,22	
Mosaico	Numérico	Mosaico con doble trisomía	mos48,XXY,+18[10]/47,XY,+18[4]	1	3,57	2,22	
Total				28	100,00	---	

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

- Motivo de indicación del estudio citogenético.

A todos los productos de interrupción electiva de la gestación con diagnóstico de defectos congénitos por ultrasonido que en la morgue del departamento de Anatomía Patológica presentaban dismorfias y defectos congénitos mayores sugestivos de cromosomopatías, se les tomó muestra de tejidos sólidos para cariotipo.

-Distribución de la edad materna al momento de la concepción.

La distribución de los fetos con aberraciones cromosómicas resultó equitativa para mujeres con edades inferiores a 35 años y EMA con el 50 % para cada grupo. El 82,15 % de los fetos presentaron trisomías y el 46,43 % fueron producto de la concepción de mujeres mayores de 35 años que no se realizaron DPC (tabla 23).

La frecuencia de las trisomías libres y su variante en mosaico entre todas las aberraciones cromosómicas diagnosticadas con potencial de provocar falla reproductiva fue de 85,71 % (24 de 28). Cuando analizamos esta frecuencia en madres con EMA, la frecuencia fue de 92,85 % (13 de 14), mientras que en menores de 35 años fue de 78,57 % (11 de 14).

Tabla 23: Distribución de la edad materna al momento de la concepción según tipo de aberración cromosómica de fetos diagnosticados en tejidos sólidos. Villa Clara, 1999 – 2019.

Tipo de aberración cromosómica	Edad materna menor de 35 años						Edad materna avanzada				Total	
	15-19	20-29	25-29	30-34	N	%	35-39	40-44	N	%	N	%
Trisomía	0	2	5	3	10	35,72	8	5	13	46,43	23	82,15
Trisomía en mosaico	1	0	0	0	1	3,57	0	0	0	0	1	3,57
Triploidia	1	0	0	0	1	3,57	0	0	0	0	1	3,57
Deleción	0	0	1	1	2	7,14	0	0	0	0	2	7,14
Derivativo de reordenamiento balanceado parental	0	0	0	0	0	0,00	1	0	1	3,57	1	3,57
Total	2	2	6	4	14	50,00	9	5	14	50,00	28	100,00
%	7,14	7,14	21,43	14,29	50,00		32,14	17,86	50,00		100,00	

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

- Caracterización clínica del Grupo VIII.

Todos los fetos tenían defectos congénitos múltiples con asociación de defectos menores y uno o más mayores. El 100 % presentó dismorfias y el 88,89 % cardiopatías (tabla 24). En las trisomías 18 y 13 se observó mayor número de defectos asociados, en la trisomía 21 predominaron las dismorfias y cardiopatías.

Tabla 24: Frecuencia de defectos congénitos en fetos con aberraciones cromosómicas diagnosticadas en tejidos sólidos. Villa Clara, 1999 – 2019.

Tipo de defecto congénito	Trisomía 13 (N=4)		Trisomía 18 (N=10)		Trisomía 21 (N=9)		Triploidia (N=1)		Mosaico Trisomía 18 (N=1)		Monosomía 5p (N=1)		Monosomía 18p (N=1)		Total (N=27)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Defecto del sistema nervioso	3	75,00	5	50,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	100,00	9	33,33
Cardiopatía	4	100,00	8	80,00	9	100,00	0	0,00	1	100,00	1	100,00	1	100,00	24	88,89
Defecto renal	0	0,00	2	20,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	3	11,11
Labio leporino	3	75,00	2	20,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	5	18,51
Defecto de pared anterior	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	3,7
Dismorfias	4	100,00	10	100,00	9	100,00	1	100,00	1	100,00	1	100,00	1	100,00	27	100,00

Fuente: Registro del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

- Árbol genealógico y análisis de segregación cromosómica de las familias con reordenamientos cromosómicos heredados.

1- Cariotipo 46,XX,der(18),t(13;18)(q34;q21) Caso que se detalla en el Capítulo 3, figuras 10 y 18.

5.4. Discusión

5.4.1. Análisis de las características generales de las aberraciones cromosómicas.

Según la clasificación de las aberraciones cromosómicas, se encontró que las aneuploidías, y dentro de ellas las trisomías, fueron las más diagnosticadas en los fetos de ambos grupos, con un 83,93 %. Estos datos coinciden con los reportes científicos, (219-223) Davis y colaboradores (224) recopilan información de diez grandes investigaciones con 1 500 999 embarazadas entre las que se diagnostican 3 689 aneuploidías, el 58 % son trisomías 21, y el 76 % trisomías 21, 18 y 13. Las diferencias radican en que ellos incluyen las trisomías de los cromosomas sexuales que en la presente investigación se descartan por no estar asociadas a pérdidas gestacionales.

Similar a otros estudios, esta investigación encontró al síndrome Down la cromosomopatía más frecuentemente diagnosticada en fetos, seguida por el síndrome Edwards y el síndrome Patau. El síndrome Down por trisomía libre es la variante citogenética más frecuente. El mosaico aparece con baja frecuencia y todas las variantes estructurales son de novo. (224-229)

El origen de los reordenamientos estructurales no balanceados más frecuente fue de novo, y entre los heredados predominó el origen paterno. En el estudio de Quiñones Maza y colaboradores (230) se analizan las aberraciones cromosómicas estructurales encontradas en diagnóstico prenatal en La Habana y hallan mayor frecuencia para el origen heredado, seguido por el desconocido y en menor frecuencia el origen de novo, así como el predominio del origen heredado materno. Las diferencias pueden explicarse porque en el estudio de Quiñones Maza se incluyen aberraciones estructurales balanceadas y no balanceadas, el tamaño de la muestra es mayor, para la inclusión al estudio no tienen en consideración la procedencia del paciente y tienen un 20,8 % de casos con origen desconocido, mientras que en este estudio solo se incluyeron las cromosomopatías no balanceadas por ser las que motivan fallas reproductivas, la muestra procedió de la provincia de Villa Clara y en todos los casos se identificó el origen mediante estudio familiar.

Es obvio el efecto de la edad materna sobre las trisomías de la mayoría de los cromosomas pequeños, sean acrocéntricos o no, por eso constituye el principal motivo de indicación de DPC. En este estudio la EMA motivó el 70,91 % del DPC, lo que coincidió con Quintana Aguilar y colaboradores (231) que informan el 70,36 % en Ciudad de La Habana entre los años 1996 y 1999, a diferencia de Santelices Cuervo y colaboradores (232) que refieren el 90 % entre los años 2005 y 2006, aunque se considera que la diferencia se debe al corto periodo de tiempo evaluado. Otro análisis realizado en La Habana entre 2007 y 2016 lo notifica en el 82 %. (233)

En los estudios internacionales la EMA es el principal motivo de indicación, aunque con frecuencias inferiores debido a la inclusión de marcadores séricos bioquímicos para pesquisa de cromosomopatías, ejemplos son el estudio realizado en Taiwán de Tseng y colaboradores (222), donde refieren el 57,29 %, y de Younesy y colaboradores (220) en Irán con el 44,9 %. Es lógico esperar que la frecuencia de la EMA aislada como motivo de indicación de DPC disminuya gradualmente con la inclusión de pesquisas masivas por marcadores bioquímicos y de ultrasonido. En el grupo de cariotipos en tejidos fetales se encontró mayor cantidad de madres menores de 35 años que en el de DPC por no estar incluidas en el subprograma de pesquisa prenatal de cromosomopatías, entre ellas se diagnosticaron otros tipos de aberraciones y menor cantidad de trisomías. En las mayores de 35 años predominaron las trisomías e incluye gestantes que no aceptaron el DPC, tenían contraindicaciones o fueron captaciones tardías de la gestación y con las edades no incluidas en el programa de pesquisa de cromosomopatías. Las cromosomopatías según edad materna se distribuyeron con un 50 % para menores de 35 años y 50 % para igual y mayores de 35 años. Las diferencias observadas en cuanto al tipo de aberración cromosómica y la edad materna son de interés científico y no están esclarecidas. Los errores en meiosis I se relacionan con intercambios teloméricos y son más frecuentes en mujeres jóvenes. En las mayores de 35 años, los errores en meiosis II por intercambio pericentromérico son más frecuentes. La

ocurrencia de homólogos aquíasmáticos se relaciona con el 50 % de los errores en meiosis I materna, tanto en mujeres jóvenes como de edades avanzadas. (225)

Los defectos congénitos de varios sistemas de órganos se asocian a las cromosomopatías, y son responsables de la muerte del producto. Todos los fetos de este estudio a los que se les realizó necropsia presentaban dismorfias, y en cinco no se encontraron defectos congénitos mayores. El 52,86 % de los fetos diagnosticados prenatalmente, y el 88,89 % diagnosticados mediante tejidos fetales sólidos tuvo cardiopatías congénitas, la diferencia se explica porque los segundos se seleccionan tras el análisis fenotípico de un genetista clínico. La frecuencia de las cardiopatías varía según el tipo de aberración, aparecieron en el 47,47 % de las trisomías 21, el 100 % de las trisomías 18 y el 66,66 % de las trisomías 13 en DPC; y en el 100 % de las trisomías 21 y 13, y el 80 % de las trisomías 18 en tejidos sólidos postmortem.

Los defectos del SNC les siguen en orden de frecuencia. La asociación de defectos congénitos se correspondió con lo planteado por otros autores para las aberraciones autosómicas; las cardiopatías están presentes en el 50 % del síndrome Down, los defectos del SNC y el labio leporino predominan en la trisomía 13, el 90 % de las trisomías 18 tienen cardiopatías y presentan mayor variedad de defectos congénitos, mientras que en la monosomía X es típico el higroma quístico del cuello y la hidropesía fetal. (67, 70, 225, 234-242)

5.4.2. Análisis de los reordenamientos estructurales diagnosticados.

Las manifestaciones clínicas de las cromosomopatías estructurales dependen del cromosoma y segmento involucrado en el reordenamiento, la descendencia desbalanceada no tiene un patrón fenotípico clásico, expresa la combinación de trisomías y monosomías parciales.

En la familia con la $t(2;9)(q33.1;p24)$ no se pudo examinar a los descendientes desbalanceados. El cromosoma 2 es el submetacéntrico mayor en el humano, los evolucionistas alegan que proviene de la fusión telomérica de los cromosomas 2A y 2B de antiguos homínidos, aunque estudios genómicos actuales refutan esta teoría. (243) Hay evidencias de genes relacionados con

labio y paladar hendido en la región 2q32-35, en 2q33 está el locus de los genes CTLA4 y CD28, reguladores homeostáticos de la activación de las células T y la producción de IgE, afines con la atopía y el asma. El clúster de genes de canales de sodio (SCN1A, SCN2A, SCN3A, SCN7A y SCN9A), ubicado en 2q24.3, se vincula con síndromes epilépticos. El cromosoma 9 es ampliamente estudiado no solo por sus genes, sino también por las variantes heteromórficas, en la región 9p24.3-p23 se encuentra el gen de un tipo de epilepsia sensorial. (244-247)

La familia con t(5;18)(p15;q12) presentó transmisión a través de los hombres y estar constituida por portadores balanceados y descendientes no balanceados. Méndez Rosado y colaboradores (248) publican una familia de tres generaciones con t(5;18)(q22;q11.2) que se transmite a través de dos mujeres portadoras balanceadas sin historia de fallas reproductivas y constituye un hallazgo fortuito de DPC por EMA en un feto femenino.

Existe mayor frecuencia de translocaciones recíprocas entre el cromosoma 18 y los acrocéntricos por la cercanía espacial que ocupan, (249) por lo que resulta interesante la coincidencia de cromosomas en ambas familias con puntos de ruptura en 18q muy cercanos, pero ubicados en diferentes brazos del cromosoma 5. En las translocaciones cromosómicas, la estructura tridimensional del genoma influye en la expresión génica a través del control espacial de interacciones de genes promotores con potenciadores extragénicos y otros elementos reguladores. (250)

El diagnóstico prenatal de isocromosoma 18q resultó interesante y novedoso, pues se trata del primer caso del laboratorio y no existen referencias de otro caso en el país. Son raros e infrecuentes y se identifican por la similitud del patrón de bandas de ambos brazos con la típica imagen en espejo. Los isocromosomas monocéntricos son más frecuentes que los dicéntricos, el origen suele ser materno y se ha demostrado relación con EMA. (251)

Otro diagnóstico inusual fue el cariotipo 44,X,der(15;22)(q10;q10)mat. Cruz Mariño (252) y colaboradores describen el mismo cariotipo, pero en un caso postnatal. El de esta investigación

constituye el primer diagnóstico prenatal de portador balanceado de translocación por fusión centromérica 15;22 y monosomía X con hidrops fetal. Este hallazgo coincide con los reportes de que el efecto inter cromosómico es una fuente adicional de riesgo genético, generando aneuploidías de otros cromosomas. (73)

Los puntos de ruptura cromosómica identificados mediante cariotipo están sujetos al margen de error de la resolución obtenida durante la cosecha cromosómica, por lo que son puntos aproximados, la precisión en el diagnóstico se basa en el incremento de la resolución. En la actualidad se confirman mediante estudios de citogenética molecular.

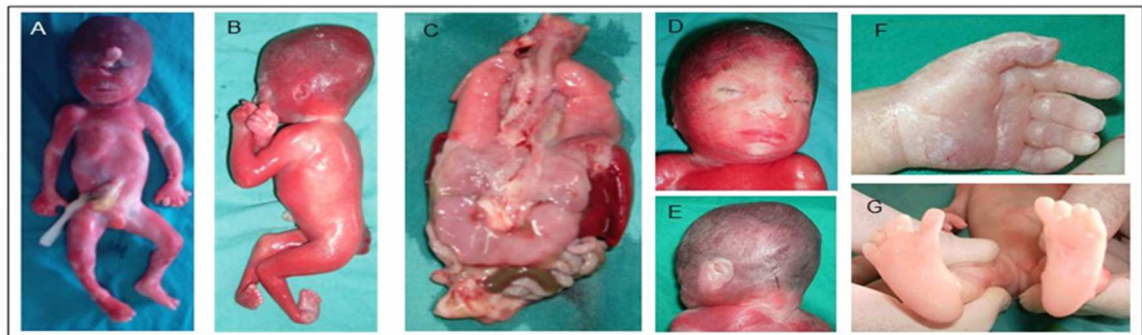
5.5. Conclusiones del capítulo

- Las aneuploidías, específicamente las trisomías autosómicas, son las aberraciones cromosómicas con potencial de originar falla reproductiva que presentan la frecuencia más elevada en los estudios prenatales, destacándose la trisomía 21. En los cariotipos realizados en tejidos sólidos fetales, la trisomía 18 presenta la frecuencia más alta.
- La positividad de las aberraciones cromosómicas es notablemente mayor en fetos estudiados en tejidos sólidos tras la interrupción electiva de la gestación por presencia de defectos congénitos mayores diagnosticados por ecografía que en fetos con diagnóstico prenatal citogenético.
- La relación cariotipo-fenotipo muestra la influencia del desbalance cromosómico sobre la organogénesis, evidenciando mayor frecuencia de cardiopatías y defectos congénitos del sistema nervioso.
- Las trisomías tienen relación causal directa con la EMA, que resulta el motivo de indicación del 70,91 % de los estudios prenatales y el 50 % de los cariotipos en tejidos sólidos fetales. Si además de la EMA se asocian hallazgos en el ultrasonido del primer o segundo trimestre de la gestación, el riesgo de base se incrementa y exige la realización de diagnóstico prenatal citogenético.



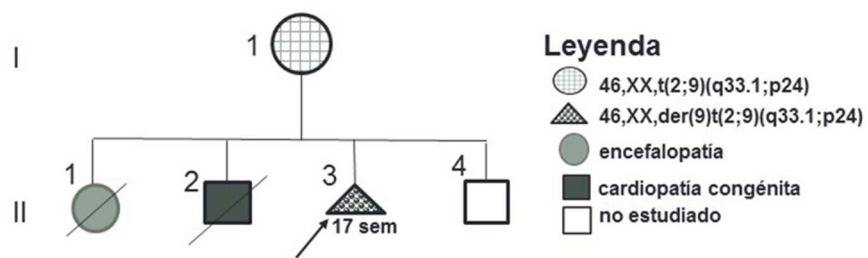
Fuente: Archivos del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

Figura 24: Feto con isocromosoma 18q. 24A y B: Microcefalia, diámetro bifrontal estrecho, nariz pequeña con ausencia de orificios nasales, orejas displásicas de baja implantación y en rotación posterior, microrretrognatia y cuello corto y ancho. 24C: Onfalocele. 24D: Pie varo bilateral. 24E: Pareja de cromosomas 18, señalado con una flecha el isocromosoma 18q.



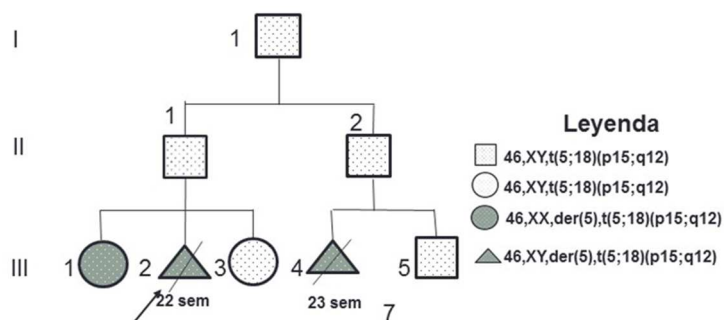
Fuente: Archivos del Laboratorio de citogenética de Villa Clara

Figura 25: Hábito externo y defectos congénitos encontrados en fetos con trisomías. 25A: Trisomía 13 con probóscide, onfalocele, polidactilia. 25B: Trisomía 18 con mielomeningocele lumbosacro, dolicocefalia, puño cerrado con superposición de los dedos, pie varo. 25C: Pieza de Anatomía Patológica mostrando riñones en herradura en feto con trisomía 18. 25D y E: Trisomía 21 con cara redonda, hendiduras palpebrales desviadas hacia arriba y afuera y occipucio plano con exceso de piel en la nuca. 25F: Surco palmar transversal en feto con Trisomía 21. 25G: aumento de la separación entre primer y segundo dedos de los pies con surco plantar en Trisomía 21.



Fuente: Historia clínica

Figura 26: Árbol genealógico de familia con t(2;9)(q33.1;p24)



Fuente: Historia clínica

Figura 27: Árbol genealógico de familia con t(5;18)(p15;q12)

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Las translocaciones recíprocas y por fusión centromérica son las aberraciones cromosómicas estructurales balanceadas que causan fallas reproductivas recurrentes en la provincia Villa Clara. Por esta razón, el estudio familiar cobra importancia para la estimación del riesgo y la evaluación de la segregación meiótica
2. Las variantes de síndrome Turner y el síndrome Klinefelter se confirman como las entidades citogenéticas de incidencia más elevada entre mujeres y hombres infértiles. La edad de los pacientes diagnosticados en este estudio es una muestra de la gran variabilidad de la expresión de las alteraciones de los cromosomas sexuales, que influye en el diagnóstico tardío y retarda las posibilidades terapéuticas.
3. La confirmación prenatal de defectos congénitos mayores, fundamentalmente cardiopatías, y de defectos de los sistemas nervioso central, renal, digestivo y de pared anterior, hidrops fetal, labio leporino y restricción del crecimiento asociados a dismorfias, son fuertes señales de aneuploidías autosómicas e indican la repercusión del desbalance cromosómico sobre el desarrollo embriofetal.
4. La presencia de heteromorfismos cromosómicos, con frecuencia más elevada entre los individuos con pérdidas gestacionales recurrentes y hombres infértiles, deja abierta la interrogante de su papel en la fertilidad y la reproducción humana.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

1. Evaluar de manera diferenciada a los hombres infértiles con cariotipos 46,XY y heteromorfismos del cromosoma Y, mediante estudios moleculares en busca de otras alteraciones estructurales como microdeleciones y estudios citogenéticos parentales.
2. Realizar estudios cromosómicos a poblaciones de recién nacidos para el diagnóstico temprano de las aberraciones de cromosomas sexuales.
3. Sugerir la realización del diagnóstico prenatal citogenético a gestantes cuyos fetos presenten cardiopatías congénitas.
4. Aplicar el algoritmo de atención a la pareja infértil propuesta en esta investigación y evaluar sus resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Navés FA, Abelaira PM, Aguas N, editors. Evaluación psicológica en el ámbito de la medicina reproductiva: el caso de la gestación por sustitución. XI Congreso Internacional de Investigación y Práctica Profesional en Psicología XXVI Jornadas de Investigación XV Encuentro de Investigadores en Psicología del MERCOSUR I Encuentro de Investigación de Terapia Ocupacional I Encuentro de Musicoterapia; 2019; Argentina: Facultad de Psicología-Universidad de Buenos Aires; 2019. Disponible en: <http://www.aacademica.org/000-111/114.pdf?view>
2. Wasser SK, Isenberg DY. Reproductive failure among women: pathology or adaptation? J Psychosom Obstet Gynaecol [Internet]. 1986 [citado 15 Nov 2021];5(3):[aprox. 23 p.]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/01674828609016754>
3. Ho SM, Cheong A, Adgent MA, Veevers J, Suen AA, Tam NN, et al. Environmental factors, epigenetics, and developmental origin of reproductive disorders. Reprod Toxicol [Internet]. 2017 [citado 17 Nov 2021];68:[aprox. 44 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0890623816302>
4. Rivera-Chávez Z, Morales-Hernández FV, Godines-Enríquez MS, Domínguez JAL, Chávez ZR. Prevalencia de las causas de pérdida gestacional recurrente en un centro médico de tercer nivel de atención. Ginecol Obstet Mex [Internet]. 2022 [citado 17 Nov 2021];90(07):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2022/gom227c.pdf>
5. Quenby S, Gallos ID, Dhillon-Smith RK, Podosek M, Stephenson G, Fisher J y cols. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss.

The Lancet [Internet]. 2021[citado 17 Nov 2021];397(10285):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <https://www.thelancet.com/series/miscarriage>

6. Khalife D, Ghazeeri G, Kutteh W. Review of current guidelines for recurrent pregnancy loss: new strategies for optimal evaluation of women who may be superfertile. Semin Perinatol [Internet]. 2019 [citado 17 Nov 2021];43(2):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30642578/>

7. Lopez-Hernandez D. Factores epidemiológicos de riesgo asociados al aborto espontáneo. Rev Int Salud Matern Fetal [Internet]. 2020 [citado 17 Nov 2021];5(4):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://ojs.revistamaternofetal.com/index.php/RISMF/article/view/193/223>

8. Soriano Torres M, Castelví López A, Barrios Martínez A, García Gómez D, Méndez Rosado LA. El estudio citogenético en el manejo de las parejas con aborto habitual en Cuba. Rev Cubana Obstet Ginecol [Internet]. 2020 [citado 17 Nov 2021];46(3):[aprox. 20 p.]. Disponible en: <http://www.revginecobstetricia.sld.cu/index.php/gin/article/view/648>

9. Rodríguez Blanco CL, de los Ríos Palomino M, González Rodríguez AM, Quintana Blanco DS, Sánchez Reyes I. Estudio sobre aspectos epidemiológicos que influyen en el aborto espontáneo. Multimed [Internet]. 2020 [citado 17 Nov 2021];24(6):[aprox. 17 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mmed/v24n6/1028-4818-mmed-24-06-1349.pdf>

10. Dutta UR, Rajitha P, Pidugu VK, Dalal AB. Cytogenetic abnormalities in 1162 couples with recurrent miscarriages in southern region of India: report and review. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2011 [citado 15 Nov 2021];28(2):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3059523/pdf/10815_2010_Article_9492.pdf

11. Chakraborty A, Kar S, Mohapatra PC, Banerjee B. A case-control study identifying the frequency and spectrum of chromosomal anomalies and variants in a cohort of 1000 couples with

a known history of recurrent pregnancy loss in the Eastern region of India. J Hum Reprod Sci [Internet]. 2021 [citado 10 Nov 2021];14(4):[aprox. 10 p.]. Disponible en: [http://www.jhrsonline.org/article.asp?issn=0974-](http://www.jhrsonline.org/article.asp?issn=0974-1208;year=2021;volume=14;issue=4;spage=422;epage=430;aulast=Chakraborty)

1208;year=2021;volume=14;issue=4;spage=422;epage=430;aulast=Chakraborty

12. Dutta M, Mahanta Sr P, Basumatary Sr B, Konwar R. A Case-Control Study on Chromosomal Anomalies in Parents Experiencing Repeated Spontaneous Abortions From Northern India. Cureus [Internet]. 2021 [citado 10 Nov 2021];13(11):[aprox. 8 p.]. Disponible en: http://assets.cureus.com/uploads/original_article/pdf/76825/20211123-12606-1qsmgva.pdf

13. Li S, Chen M, Zheng P-S. Analysis of parental abnormal chromosomal karyotype and subsequent live births in Chinese couples with recurrent pregnancy loss. Sci Rep [Internet]. 2021 [citado 10 Nov 2021];11(1):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41598-021-98606-4.pdf>

14. Ayed W, Messaoudi I, Belghith Z, Hammami W, Chemkhi I, Abidli N, et al. Chromosomal abnormalities in 163 Tunisian couples with recurrent miscarriages. Pan African Medical Journal [Internet]. 2017 [citado 10 Nov 2021];18:[aprox. 5 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5724954/pdf/PAMJ-28-99.pdf>

15. Khamees DA, Al-Ouqaili MT. Cross-sectional study of chromosomal aberrations and immunologic factors in Iraqi couples with recurrent pregnancy loss. PeerJ [Internet] 2022 [citado 5 Jul 2022]; .10:e12801;[aprox. 20 p.]. Disponible en: <https://doi.org-10.7717/peerj.12801>

16. Romero Tovar S, Juárez Espinosa B, Galindo García CG, Mendoza Romo M, Sánchez Usabiaga RA. Prevalencia de alteraciones cromosómicas en pacientes infértiles estudiadas en una clínica de reproducción asistida. Ginecol Obstet Mex [Internet]. 2009 [citado 22 Oct

2021];77(3):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=26903>

17. Moya-Salazar J, Vega-Vera R, Rojas-Zumaran V, Contreras-Pulache H. Alteraciones citogenéticas en pacientes con diagnóstico de infertilidad en Lima, Perú. Rev Chil Obstet Ginecol [Internet]. 2022 [citado 22 Oct 2021];87(2):[aprox. 7 p.]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75262022000200104&script=sci_arttext

18. Blanco Pérez I, Miñoso Pérez S, Mitjans Torres MC. Estudios citogenéticos en pacientes con fallas reproductivas. Pinar del Río, 2015-2020. Rev Cienc Méd Pinar del Río [Internet]. 2021 [citado 7 Nov 2021];25(5):[aprox. 9 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942021000500009

19. Vega Conejo V, Viñas Portilla CI, Lantigua Cruz A, del Monte Sotolongo E. Defectos cromosómicos y fallas reproductivas: Un estudio en 452 pacientes. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología. [Internet]. 1999 [citado 7 Nov 2021];25(1):[aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/gin/v25n1/gin04199.pdf>

20. Pimentel Benítez HI, Martín Cuesta N, García Borrego A, Gómez Benítez Z, Angulo Cebada E, Iglesias Carnot HE. Trastornos de la fertilidad y aberraciones cromosómicas asociadas. Revista Archivo Médico de Camagüey. [Internet]. 2011[citado 7 Nov 2021];15(5):[aprox.9 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552011000500003

21. Ochoa Marieta C. La medicina reproductiva del siglo XXI. Rev Derecho, Empresa Soc [Internet]. 2019 [citado 17 Nov 2021] (14):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7219561.pdf>

22. Gardner RM, Sutherland GR, Shaffer LG. Chromosome abnormalities and genetic counseling [Internet]. New York: Oxford University Press; 2012 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en:

http://books.google.com.cu/books?hl=es&lr=&id=eCcz_asp9osC&oi=fnd&pg=PP2&ots=viVCVQQwAY&sig=Umhlzx0vm9TtUw-t0w-7QFrBWas&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

23. Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. BMC Medicine [Internet]. 2013 [citado 15 Nov 2021];11(1):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3699442/pdf/1741-7015-11-154.pdf>

24. Dong Y, Jiang Y-T, Du R-C, Zhang H-G, Li L-L, Liu R-Z. Impact of chromosomal heteromorphisms on reproductive failure and analysis of 38 heteromorphic pedigrees in Northeast China. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2013 [citado 15 Nov 2021];30(2):[aprox. 8 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3585671/pdf/10815_2012_Article_9910.pdf

25. Águila Setién S, Breto García A, Cabezas Cruz E, Delgado Calzado J, Santiesteban Alba S, Agramante Llanes O. Obstetricia y perinatología. Diagnóstico y tratamiento. La Habana: EECIMED; 2012.

26. Merviel P, Lanta S, Allier G, Gagneur O, Najas S, Nasreddine A, et al. Aborto recurrente espontáneo. EMC-Ginecología-Obstetricia [Internet]. 2005 [citado 15 Nov 2021];41(4):[aprox. 15 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1283081X05450109>

27. Álvarez Báez P, Águila Setién S, Acosta Maltas R. Sangramiento en obstetricia. En: Rigol Ricardo O, Santisteban Alba S, editor. Obstetricia y Ginecología. ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2014. p. 137-63.

28. Shahine L, Lathi R. Recurrent pregnancy loss: evaluation and treatment. Obstet Gynecol Clin N Am [Internet]. 2015 [citado 15 Nov 2021];42(1):[aprox. 18 p.]. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25681844/>

29. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril* [Internet]. 2013 [citado 17 Nov 2021];99(1):[aprox. 1 p.]. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23095139/>
30. Creasy RK, Resnik R, Iams JD, Lockwood CJ, Moore TR, Greene M. *Creasy and Resnik's maternal-fetal medicine: principles and practice*. 7 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014.
31. Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Rev Obstet Gynecol* [Internet]. 2009 [citado 17 Nov 2021];2(2):[aprox. 8 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2709325/pdf/RIOG002002_0076.pdf
32. Branch DW, Heuser C. Recurrent miscarriage. En: Carrell DT, Matthew Peterson C, editor. *Reproductive endocrinology and infertility: integrating modern clinical and laboratory practice* [Internet]. New York: Springer; 2010. p. 281-96. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4419-1436-1.pdf>
33. Bashiri A, Harlev A, Agarwal A. Recurrent pregnancy loss: evidence-based evaluation, diagnosis and treatment [Internet]. Switzerland: Springer International Publishing; 2016 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-319-27452-2.pdf>
34. Ávila Darcia S, Gutiérrez Gómez J. Aborto recurrente. *Med Legal Costa Rica* [Internet]. 2017 [citado 16 Nov 2021];34(1):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v34n1/1409-0015-mlcr-34-01-00226.pdf>
35. Mateo-Sánchez HA, Mateo-Sánchez E, Hernández-Arroyo L, Rivera-Ramírez P, Mateo-Madrigal M, Mateo-Madrigal V, et al. Recurrent pregnancy loss: a literature review. *Ginecol Obstet Mex* [Internet]. 2017 [citado 16 Nov 2021];84(08):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsMex/gom-2016/gom168h.pdf>

36. Christiansen OB. Recurrent miscarriage is a useful and valid clinical concept. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 2014 [citado 15 Nov 2021];93(9):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/aogs.12456?download=true>
37. Kabessa M, Harlev A, Friger M, Sergienko R, Litwak B, Koifman A, et al. Pregnancy outcomes among patients with recurrent pregnancy loss and chromosomal aberration (CA) without PGD. *J Perinat Med* [Internet]. 2018 [citado 15 Nov 2021];46(7):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jpm-2016-0408/html>
38. Xu Q, Chan Y, Feng Y, Zhu B, Yang B, Zhu S, et al. Factors associated with fetal karyotype in spontaneous abortion: a case-case study. *BMC Pregnancy Childbirth* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];22(1):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://bmcpregnancychildbirth.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12884-022-04491-8.pdf>
39. Ozawa N, Ogawa K, Sasaki A, Mitsui M, Wada S, Sago H. Maternal age, history of miscarriage, and embryonic/fetal size are associated with cytogenetic results of spontaneous early miscarriages. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 2019 [citado 15 Nov 2021];36(4):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6505004/pdf/10815_2019_Article_1415.pdf
40. Jiménez Mendoza DC, Mendoza Jorge E, Alvarez Oliva M, Valdés Álvarez JI, editors. Aspectos clínico-epidemiológicos del aborto espontáneo. *cibamanz2021*; 2021; Manzanillo: Universidad de Ciencias Médicas de Granma; 2021. Disponible en: <http://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/viewFile/853/541>
41. Zárate Suárez CA. Caracterización sociodemográfica y clínica de adolescentes con aborto espontáneo [Tesis]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2019. Disponible en: <http://biblioteca.medicina.usac.edu.gt/tesis/pre/2019/126.pdf>

42. Olivo Román LA, Galarza Mendoza JI, Olivo Román JM, Tapia Granizo VM. Aborto recurrente: etiología, diagnóstico y tratamiento. *Rev Cient Investig Actual Mundo Cienc* [Internet]. 2019 [citado 15 Nov 2021];3(1):[aprox. 21 p.]. Disponible en: <http://reciamuc.com/index.php/RECIAMUC/article/view/244/260>
43. Najafi K, Gholami S, Moshtagh A, Bazrgar M, Sadatian N, Abbasi G, et al. Chromosomal aberrations in pregnancy and fetal loss: Insight on the effect of consanguinity, review of 1625 cases. *Mol Genet Genomic Med* [Internet]. 2019 [citado 16 Nov 2021];7(8):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/mgg3.820>
44. Chronopoulou E, Koika V, Tsiveriotis K, Stefanidis K, Kalogeropoulos S, Georgopoulos N, et al. Wnt4, Wnt6 and β -catenin expression in human placental tissue—is there a link with first trimester miscarriage? Results from a pilot study. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];20:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://rbej.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12958-022-00923-4.pdf>
45. Chetty M, Duncan WC. Investigation and management of recurrent miscarriage. *Obstet Gynaecol Reprod Med* [Internet]. 2015 [citado 16 Nov 2021];25(2):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1751721414002310>
46. Landres I, Milki A, Lathi R. Karyotype of miscarriages in relation to maternal weight. *Hum Reprod* [Internet]. 2010 [citado 15 Nov 2021];25(5):[aprox. 4 p.]. Disponible en: http://www.researchgate.net/profile/Ruth-Lathi/publication/41622844_Karyotype_of_miscarriages_in_relation_to_maternal_weight/links/57b7503d08aedfe0ec93867a/Karyotype-of-miscarriages-in-relation-to-maternal-weight.pdf

47. Murillo C, Murillo O. Una actualización en aborto recurrente. Rev Med Costa Rica [Internet]. 2011 [citado 15 Nov 2021];68(599):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/599/art8.pdf>
48. Cuadros Castillo JC. Perfiles de vulnerabilidad y cromosomopatías en abortos espontáneos en el Instituto Nacional Materno Perinatal Lima–Perú 2017–2019 [Tesis]. Perú Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/18110/Cuadros_cj.pdf?sequence=3&isAllowed=y
49. Qin X-Y, Shen H-H, Zhou W-J, Mei J, Lu H, Tan X-F, et al. Insight of autophagy in spontaneous miscarriage. Int J Biol Sci [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];18(3):[aprox. 21 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8771834/pdf/ijbsv18p1150.pdf>
50. Hyde KJ, Schust DJ. Genetic considerations in recurrent pregnancy loss. Cold Spring Harb Perspect Med [Internet]. 2015 [citado 15 Nov 2021];5(3):[aprox. 19 p.]. Disponible en: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/5/3/a023119.full.pdf+html>
51. Gug C, Rațiu A, Navolan D, Drăgan I, Groza I-M, Păpurică M, et al. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in miscarriage samples: a retrospective study of 330 cases. Cytogenet Genome Res [Internet]. 2019 [citado];158(4):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31434098/>
52. Bernacki DT, Bryce SM, Bemis JC, Dertinger SD. Aneugen molecular mechanism assay: proof-of-concept with 27 reference chemicals. Toxicol Sci [Internet]. 2019 [citado 16 Nov 2021];170(2):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6657583/pdf/kfz123.pdf>

53. Salih DJ, Qader MK, Ahmed MR. Genotoxic effects of benzene in petrol station workers in Duhok-Kurdistan region of Iraq. *Haya Saudi J Life Sci* [Internet]. 2019 [citado 15 Nov 2021];28(7):[aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://www.saudijournals.com/media/articles/SJLS-4-4-143-147-c.pdf>
54. Demirtaş G, Çavuşoğlu K, Yalçın E. Aneugenic, clastogenic, and multi-toxic effects of diethyl phthalate exposure. *Environ Sci Pollut Res Int* [Internet]. 2020 [citado 15 Nov 2021];27(5):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31853848/>
55. Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Katano K, Suzumori N, Kitaori T, Mizutani E. Abnormal embryonic karyotype is the most frequent cause of recurrent miscarriage. *Hum Reprod* [Internet]. 2012 [citado 16 Nov 2021];27(8):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://academic.oup.com/humrep/article/27/8/2297/710186?login=true>
56. Popescu F, Jaslow C, Kutteh W. Recurrent pregnancy loss evaluation combined with 24-chromosome microarray of miscarriage tissue provides a probable or definite cause of pregnancy loss in over 90% of patients. *Hum Reprod* [Internet]. 2018 [citado 16 Nov 2021];33(4):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://isrm.ir/ArticlesFile/694810.1093@humrep@dey021.pdf>
57. Kowalczyk K, Smyk M, Bartnik-Głaska M, Plaskota I, Wiśniowiecka-Kowalnik B, Bernaciak J, et al. Application of array comparative genomic hybridization (aCGH) for identification of chromosomal aberrations in the recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];39:[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10815-022-02400-8.pdf>
58. Gu C, Gao H, Li K, Dai X, Yang Z, Li R, et al. Copy number variation analysis of euploid pregnancy loss. *Front Genet* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];13:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC8984164&blobtype=pdf>

59. Chen L, Wang L, Yin D, Tang F, Zeng Y, Zhu H, et al. Analysis of autosomal dominant genes impacted by copy number loss in 24,844 fetuses without structural abnormalities. BMC Genomics [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];23 [aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://bmcgenomics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12864-022-08340-y.pdf>
60. Chen D, Xu Y, Ding C, Wang Y, Fu Y, Cai B, et al. The inconsistency between two major aneuploidy-screening platforms—single-nucleotide polymorphism array and next-generation sequencing—in the detection of embryo mosaicism. BMC Genomics [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];23:[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://bmcgenomics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12864-022-08294-1.pdf>
61. Cao M, Zhang Q, Zhou W, Zhu Y, Li H, Yan J. Analysis of aneuploidy rate and pregnancy outcomes in unexplained recurrent pregnancy loss couples with chromosome polymorphism after PGT-A. Front Med [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];9:[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9008326/pdf/fmed-09-803988.pdf>
62. Zhou J, Yang Z, Sun J, Liu L, Zhou X, Liu F, et al. Whole genome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a parallel test with chromosomal microarray plus whole exome sequencing. Genes [Internet]. 2021 [citado 16 Nov 2021];12(3):[aprox. 14 p.]. Disponible en: http://mdpi-res.com/d_attachment/genes/genes-12-00376/article_deploy/genes-12-00376.pdf?version=1615037879
63. Wang H-Y, Qiao J, Sun X-X, Wang S-Y, Liang X-Y, Sun Y, et al. Epidemiological survey and risk factor analysis of recurrent spontaneous miscarriages in infertile women at large infertility centers. Chin Med J [Internet]. 2017 [citado 16 Nov 2021];130(17):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://mednexus.org/doi/epdf/10.4103/0366-6999.213415>

64. Nikitina T, Sazhenova E, Zhigalina D, Tolmacheva E, Sukhanova N, Lebedev I. Karyotype evaluation of repeated abortions in primary and secondary recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 2020 [citado 15 Nov 2021];37(3):[aprox. 9 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7125272/pdf/10815_2020_Article_1703.pdf
65. Murugappan G, Leonard SA, Newman H, Shahine L, Lathi RB. Karyotype of first clinical miscarriage and prognosis of subsequent pregnancy outcome. *Reprod Biomed Online* [Internet]. 2021 [citado 15 Nov 2021];42(6):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC8178201&blobtype=pdf>
66. Kaddouri S, Blanes R, Concepción M, Hess S, González J, Vaca R, et al. Los varones portadores de una translocación cromosómica presentan espermiogramas más patológicos que los varones normales XY. *Rev Iberoam Fertil Reprod Hum* [Internet]. 2018 [citado 15 Nov 2021];35(4):[aprox. 7 p.]. Disponible en: http://www.revistafertilidad.org/rif/vplus/arts/275_los_varones_portadores.pdf
67. Gersen SL, Keagle MB. The principles of clinical cytogenetics [Internet]. New York: Springer; 2013 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1385/1592598331.pdf>
68. Arumugam B, Samuel CR, Thyagarajan SS. Balanced autosomal translocations in two women reporting recurrent miscarriage. *J Clin Diagn Res* [Internet]. 2016 [citado 15 Nov 2021];10(12):[aprox. 3 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5296453/pdf/jcdr-10-GD01.pdf>
69. Dhont M. Recurrent miscarriage. *Curr Womens Health Rep* [Internet]. 2003 [citado 15 Nov 2021];3(5):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.researchgate.net/profile/Marc->

Dhont/publication/10578712_Recurrent_Miscarriage/links/00b7d5270fd4314917000000/Recurrent-Miscarriage.pdf

70. Walker A, Wang X, Kim YM, Lu X, Taylor A, Demarzo D, et al. Molecular cytogenetic characterization of partial trisomy of the long arm of chromosome 11 in a patient with multiple congenital anomalies. *Mol Cytogenet* [Internet]. 2022 [citado 16 Nov 2021];15(1):[aprox. 10 p.].

Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9019979/pdf/13039_2022_Article_595.pdf

71. McGowan-Jordan J, Hastings RJ, Moore S. ISCN 2020: an international system for human cytogenetic nomenclature (2020) [Internet]. Switzerland: Karger; 2013 [citado 16 Nov 2021].

Disponible en: http://www.reddepadressolidarios.com/img/1rps_1634119407_a.pdf

72. Hunter N. Meiotic recombination: the essence of heredity. *Cold Spring Harbor Perspect Biol* [Internet]. 2015 [citado 15 nov 2021];7(12):[aprox. 36 p.]. Disponible en:

<http://cshperspectives.cshlp.org/content/7/12/a016618.full.pdf>

73. Song J, Sun L, Xu S, Liu N, Yao Y, Liu Z, et al. A family with Robertsonian translocation: a potential mechanism of speciation in humans. *Mol Cytogenet* [Internet]. 2016 [citado 16 Nov 2021];9(1):[aprox. 7 p.]. Disponible en:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4912789/pdf/13039_2016_Article_255.pdf

74. Wang B, Nie B, Tang D, Li R, Liu X, Song J, et al. Analysis of meiotic segregation patterns and interchromosomal effects in sperm from 13 robertsonian translocations. *Balk J Med Gen* [Internet].

2017 [citado 15 Nov 2021];20(1):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5596821/pdf/bjmg-20-043.pdf>

75. Castro I, Rodrigo L, Rubio C. Efecto inter cromosómico en portadores de alteraciones cromosómicas es-structurales: Revisión bibliográfica Interchromosomal effect in carriers of

structural chromosomal abnormalities: A review. Rev Iberoam Fertil Reprod Hum [Internet]. 2012 [citado 16 Nov 2021];29(1):[aprox. 7 p.]. Disponible en: http://www.revistafertilidad.org/rif/vplus/arts/efecto_intercromosomico.pdf

76. Yıldırım MS, Arslan AB, Zamani AG. Interchromosomal effect: Report of a father and son, bearing different translocations of the same chromosome, and a review of the current literature. Andrologia [Internet]. 2021 [citado 16 Nov 2021];53(1):[aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32862490/>

77. Monzó Miralles A, Mirete Martínez P, Quiroga R, Martínez Sánchez JV, Monfort Membrado S, de la Orden Rodríguez M, et al. Estudio del efecto intercromosómico en portadores de anomalías cromosómicas estructurales equilibradas mediante PGT-SR. Rev Iberoam Fertil Reprod Hum [Internet]. 2022 [citado 16 Nov 2021];40(2)Disponible en: <http://medes.com/publication/171988>

78. Svensson JP, Ekwall K. Epigenetic activation and inactivation of centromeres. Epigenomics [Internet]. 2014 [citado 15 Nov 2021];6(5):[aprox. 4 p.]. Disponible en: http://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/epi.14.33?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed

79. Kumar MJ, Kumar RA, Subhashree V, Jayasudha T, Hemagowri V, Koshy T, et al. Class II analphoid chromosome in a child with aberrant chromosome 7: a rare cytogenetic association. Cytogenet Genome Res [Internet]. 2015 [citado 17 Nov 2021];146(2):[aprox. 4 p.,]. Disponible en: <http://www.karger.com/Article/Pdf/437196>

80. Poot M. Neocentromeres to the rescue of acentric chromosome fragments. Mol Syndromol [Internet]. 2017 [citado 16 Nov 2021];8(6):[aprox. 3 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5701270/pdf/msy-0008-0279.pdf>

81. Tolomeo D, Capozzi O, Stanyon RR, Archidiacono N, D'Addabbo P, Catacchio CR, et al. Epigenetic origin of evolutionary novel centromeres. *Sci Rep* [Internet]. 2017 [citado 15 Nov 2021];7:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://flore.unifi.it/retrieve/handle/2158/1079537/505656/srep41980.pdf>
82. Girirajan S, Eichler EE. Phenotypic variability and genetic susceptibility to genomic disorders. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2010 [citado 16 Nov 2021];19(2):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.uniba.it/docenti/archidiacono-nicoletta/attivita-didattica/genetica/1984-evan-review.pdf>
83. Pauta M, Grande M, Rodriguez-Revenga L, Kolomietz E, Borrell A. Added value of chromosomal microarray analysis over karyotyping in early pregnancy loss: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 2018 [citado 15 Nov 2021];51(4):[aprox. 23 p.]. Disponible en: <http://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/uog.18929>
84. Garrido-Gimenez C, Alijotas-Reig J. Recurrent miscarriage: causes, evaluation and management. *Postgrad Med J* [Internet]. 2015 [citado 16 Nov 2021];91(1073):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://bmcmmedicine.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/1741-7015-11-154.pdf>
85. Valdez León FJ, Sessarego Tabja S, Rubio Peña K. Aneuploidías en mujeres de edad avanzada, ¿cuál es el riesgo real? *Rev Per Ginecol Obstet* [Internet]. 2014 [citado 15 Nov 2021];58(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.spog.org.pe/web/revista/index.php/RPGO/article/download/93/86>
86. McCoy RC, Demko ZP, Ryan A, Banjevic M, Hill M, Sigurjonsson S, et al. Evidence of selection against complex mitotic-origin aneuploidy during preimplantation development. *PLoS Genet* [Internet]. 2015 [citado 15 Nov 2021];11(10):[aprox. 31 p.]. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosgenetics/article/file?id=10.1371/journal.pgen.1005601&type=printable>

87. Zhu J, Tsai H-J, Gordon MR, Li R. Cellular stress associated with aneuploidy. *Dev Cell* [Internet]. 2018 [citado 15 Nov 2021];44(4):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.cell.com/developmental-cell/pdf/S1534-5807%2818%2930095-9.pdf>
88. Wang J, Chen Z, He F, Lee T, Cai W, Chen W, et al. Single-cell transcriptomics of cultured amniotic fluid cells reveals complex gene expression alterations in human fetuses with trisomy 18. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 2022 [citado 16 Nov 2021];10:[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC8980718&blobtype=pdf>
89. Morán-Barroso VF, Cervantes A, Rivera-Vega MdR, del Castillo-Moreno A, Moreno-Chacón A, Mejía-Cauich E, et al. Mosaic proximal trisomy 13q and regular trisomy 13 in a female patient with long survival: Involvement of an incomplete trisomic rescue and a chromothripsis event. *Mol Genet Genomic Med* [Internet]. 2021 [citado 16 Nov 2021];9(9):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/mgg3.1762>
90. Mulla WA, Seidel CW, Zhu J, Tsai H-J, Smith SE, Singh P, et al. Aneuploidy as a cause of impaired chromatin silencing and mating-type specification in budding yeast. *Elife* [Internet]. 2017 [citado 17 Nov 2021];6:[aprox. 23 p.]. Disponible en: http://elifesciences.org/download/aHR0cHM6Ly9jZG4uZWxpZmVzY2l1bmNlcy5vcmcvYXJ0aWNsZXMvMjc5OTEvZWxpZmUtMjc5OTEdjucGRmP2Nhbm9uaWNhbFVyaT1odHRwczovL2VsaWZlc2NpZW5jZXMub3JnL2FydGlibGVzLzI3OTkx/elifesciences-27991-v2.pdf?_hash=F3QILDi66jDmsRfXVLqHOKiRCc68ILJ6%2BUUTyGkmRT4%3D
91. Meena JK, Cerutti A, Beichler C, Morita Y, Bruhn C, Kumar M, et al. Telomerase abrogates aneuploidy-induced telomere replication stress, senescence and cell depletion. *EMBO J* [Internet]. 2015 [citado 15 Nov 2021];34(10):[aprox. 14 p.]. Disponible en: <http://www.embopress.org/doi/epdf/10.15252/emboj.201490070>

92. Passerini V, Ozeri-Galai E, De Pagter MS, Donnelly N, Schmalbrock S, Kloosterman WP, et al. The presence of extra chromosomes leads to genomic instability. *Nat Commun* [Internet]. 2016 [citado 16 Nov 2021];7:[aprox. 12 p.]. Disponible en: http://www.researchgate.net/profile/Zuzana-Storchova-2/publication/294731190_The_presence_of_extra_chromosomes_leads_to_genomic_instability/links/56c5c6c508aeeffa9e7ebf0/The-presence-of-extra-chromosomes-leads-to-genomic-instability.pdf
93. Popadin K, Peischl S, Garieri M, Sailani MR, Letourneau A, Santoni F, et al. Slightly deleterious genomic variants and transcriptome perturbations in Down syndrome embryonic selection. *Genome Res* [Internet]. 2018 [citado 15 Nov 2021];28(1):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://genome.cshlp.org/content/28/1/1.full.pdf>
94. Buonaiuto S, Biase ID, Aleotti V, Ravaii A, Marino AD, Damaggio G, et al. Prioritization of putatively detrimental variants in euploid miscarriages. *Sci Rep* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];12(1):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41598-022-05737-3.pdf>
95. Wyandt HE, Wilson GN, Tonk VS. Human chromosome variation: heteromorphism, polymorphism and pathogenesis [Internet]. Singapore: Springer; 2017 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/bfm:978-981-10-3035-2/1>
96. Düzcan F, Atmaca M, Cetin GO, Bağci H. Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 2003 [citado 15 Nov 2021];82(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1034/j.1600-0412.2003.820109.x>
97. Corominas A, Laiseca J, Serale C, Matilla Mendez L, Castañón A, Cruz C, et al. El polimorfismo 9p o inv (9) tendría un rol significativo en pacientes con problemas reproductivos. *Rev Bioanál*

[Internet]. 2020 [citado 17 Nov 2021];50:[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://revistabioanalisis.com/images/flippingbook/Rev%20102n/Nota%202.pdf>

98. Girirajan S. Missing heritability and where to find it. *Genome Biol* [Internet]. 2017 [citado 15 Nov 2021];18:[aprox. 3 p.]. Disponible en: <http://genomebiology.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13059-017-1227-x.pdf>

99. Li T. Genetic polymorphism and recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online* [Internet]. 2014 [citado 15 Nov 2021];29(6):[aprox. 2 p.]. Disponible en: [http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(14\)00552-5/abstract](http://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(14)00552-5/abstract)

100. Shi X, Xie X, Jia Y, Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet* [Internet]. 2017 [citado 15 Nov 2021];91(2):[aprox. 20 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cge.12910/pdf>

101. Sazegari A, Kalantar SM, Pashaiefar H, Mohtaram S, Honarvar N, Feizollahi Z, et al. The T657C polymorphism on the SYCP3 gene is associated with recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 2014 [citado 15 Nov 2021];31(10):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://ssu.ac.ir/cms/fileadmin/user_upload/Daneshkadaha/international/journals/dr.ghasemi/art_3A10.1007_2Fs10815-014-0272-6.pdf

102. McCoy RC, Demko Z, Ryan A, Banjevic M, Hill M, Sigurjonsson S, et al. Common variants spanning PLK4 are associated with mitotic-origin aneuploidy in human embryos. *Science* [Internet]. 2015 [citado 15 Nov 2021];348(6231):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5519344/pdf/nihms872125.pdf>

103. Mizutani E, Suzumori N, Ozaki Y, Oseto K, Yamada-Namikawa C, Nakanishi M, et al. SYCP3 mutation may not be associated with recurrent miscarriage caused by aneuploidy. *Hum Reprod* [Internet]. 2011 [citado 15 Nov 2021];26(5):[aprox. 8 p.]. Disponible en:

<http://scholar.archive.org/work/n3pr75nowfbhtfe7xfm75htx3q/access/wayback/http://pdfs.semanticscholar.org/9708/ec9a471bee08c3d31f5b5a413a71792cefc4.pdf>

104. Esquivel-Quezada RE, García-Morales C, Castillo-Cadena J. Implicaciones causadas por la presencia y segregación de translocaciones robertsonianas. Su diagnóstico y efectos en la población. Rev Bioméd [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];33(1):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8238034.pdf>

105. Kar B, Sivamani S, Kundavi S, Varma TR. The Importance of cytogenetics and associated molecular techniques in the management of patients carrying robertsonian translocation and their pregnancy outcome by intracytoplasmic sperm injection. J Obste Gynecol India [Internet]. 2018 [citado 15 Nov 2021];68(2):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5895556/pdf/13224_2017_Article_999.pdf Mizutani E,

106. Krausz C, Riera Escamilla A, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic. Reproduction [Internet]. 2015 [citado 15 Nov 2021];150(5):[aprox. 16 p.]. Disponible en: <http://flore.unifi.it/bitstream/2158/1042171/1/R159.full.pdf>

107. Strauss JF, Barbieri RL. Yen & Jaffe's reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology, and clinical management [Internet]. Amsterdam: Elsevier; 2017 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://6o8p5apkfd.pdcn1.top/dl2.php?id=158317517&h=c0d8da743c13d7284d14daefab7152de&u=cache&ext=pdf&n=Yen%20jaffes%20reproductive%20endocrinology%20physiology%20pathophysiology%20and%20clinical%20management%208e>

108. Omolaoye TS, Hachim MY, du Plessis SS. Using publicly available transcriptomic data to identify mechanistic and diagnostic biomarkers in azoospermia and overall male infertility. Sci Rep

[Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];12:[aprox. 17 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8850557/pdf/41598_2022_Article_6476.pdf

109. Omolaoye TS, Omolaoye VA, Kandasamy RK, Hachim MY, Du Plessis SS. Omics and male infertility: Highlighting the application of transcriptomic data. *Life* [Internet]. 2022 [citado 16 Nov 2021];12(2):[aprox. 21 p.]. Disponible en: http://mdpi-res.com/d_attachment/life/life-12-00280/article_deploy/life-12-00280.pdf?version=1644833012

110. Xavier M, Salas-Huetos A, Oud M, Aston K, Veltman J. Disease gene discovery in male infertility: past, present and future. *Hum Genet* [Internet]. 2021 [citado 16 Nov 2021];140(1):[aprox. 13 p.]. Disponible en: http://eprints.ncl.ac.uk/file_store/production/267638/AB2E12E0-3C0D-4AB3-9985-C13F8F0B70E7.pdf

111. Zhang X, Wang L, Ma Y, Wang Y, Liu H, Liu M, et al. CEP128 is involved in spermatogenesis in humans and mice. *Nat Commun* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];13(1):[aprox. 17 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8927350/pdf/41467_2022_Article_29109.pdf

112. Veltman J, Oud M, Smits R, Smith H, Mastroianni F, Holt G, et al. A de novo paradigm for male infertility. *Nat Commun* [Internet]. 2021 [citado 15 Nov 2021]:[aprox. 15 p.]. Disponible en: <http://assets.researchsquare.com/files/rs-332732/v1/b3a8c620-14ec-481e-ad78-da1a82c0942b.pdf?c=1646849445>

113. Sharma A, Minhas S, Dhillon WS, Jayasena CN. Male infertility due to testicular disorders. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2021 [citado 15 Nov 2021];106(2):[aprox. 18 p.]. Disponible en: <http://genetic.org/wp-content/uploads/2021/05/Sharma-2021-Male-infertility-due-to-testicular-.pdf>

114. Yin Y, Zhu P, Luo T, Xia X. Association of single-nucleotide polymorphisms in antioxidant genes and their gene-gene interactions with risk of male infertility in a Chinese population. *Biomed*

Rep [Internet]. 2020 [citado 15 Nov 2021];13(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/br.2020.1306/download>

115. Shkelzen E, Paić F, Stipoljev F, Gashi Z, Zeqiraj A, Lila A, et al. The frequency of follicle-stimulating hormone receptor 2039a> G gene polymorphism and the risk of male infertility in Albanian population. Acta Clin Croat [Internet]. 2020 [citado 15 Nov 2021];59(1):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/br.2020.1306/download>

116. Schattman GL, Esteves SC, Agarwal A. Unexplained infertility: pathophysiology, evaluation and treatment [Internet]. New York: Springer; 2015 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4939-2140-9.pdf>

117. du Plessis SAS, Ag Arw Al A, Sabanegh Jr ES. Male Infertility [Internet]. New York: Springer; 2014 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4939-1040-3.pdf>

118. Banos Hernandez I. Exposicion a pesticidas su influencia negativa en la fertilidad masculina en Cuba [Tesis]. Pinar del Rio: Universidad de Ciencias Médicas Doctor “Ernesto Ché Guevara”; 2009. Disponible en: <http://tesis.sld.cu/index.php?P=DownloadFile&Id=427>

119. Cannarella R, Precone V, Guerri G, Busetto GM, Di Renzo GC, Gerli S, et al. Clinical evaluation of a custom gene panel as a tool for precision male infertility diagnosis by next-generation sequencing. Life [Internet]. 2020 [citado 16 Nov 2021];10(10):[aprox. 18 p.]. Disponible en: http://mdpi-res.com/d_attachment/life/life-10-00242/article_deploy/life-10-00242.pdf?version=1602756904

120. Zhang F, Liu M, Gao J. Alterations in synaptonemal complex coding genes and human infertility. Int J Biol Sci [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];18(5):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.ijbs.com/v18p1933.pdf>

121. Yuan H, Chen J, Li N, Miao H, Chen Y, Lyu S, et al. Target-sequencing of female infertility pathogenic gene panel and a novel tubb8 loss-of-function mutation. *Front Genet* [Internet]. 2022 [citado 16 Nov 2021];13:[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC9127544&blobtype=pdf>
122. Qin S, Wang X, Wang J. Identification of an SRY-negative 46, XX infertility male with a heterozygous deletion downstream of SOX3 gene. *Mol Cytogenet* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];15(1):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://molecularcytogenetics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13039-022-00580-7.pdf>
123. Sánchez-Sáez F, Gómez-H L, Dunne OM, Gallego-Páramo C, Felipe-Medina N, Sánchez-Martín M, et al. Meiotic chromosome synapsis depends on multivalent SYCE1-SIX6OS1 interactions that are disrupted in cases of human infertility. *Sci Adv* [Internet]. 2020 [citado 16 Nov 2021];6(36):[aprox. 14 p.]. Disponible en: <http://www.science.org/doi/pdf/10.1126/sciadv.abb1660>
124. Vaigauskaitė B, Baušytė R, Valatkaitė E, Skliutė G, Kazėnaitė E, Ramašauskaitė D, et al. Prognostic Gene Predictors of Gestational Diabetes in Endometrium and Follicular Fluid of Women after Infertility. *Medicina* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];58(4):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC9025034&blobtype=pdf>
125. Hatırnaz Ş, Hatırnaz ES, Kaya AE, Hatırnaz K, Çalışkan CS, Sezer Ö, et al. Oocyte maturation abnormalities-A systematic review of the evidence and mechanisms in a rare but difficult to manage fertility pheneomina. *Turk J Obstet Gynecol* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];19:[aprox. 21 p.]. Disponible en: http://scholar.archive.org/work/2v2j4hca4reopoc3kwdvld3jum/access/wayback/https://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article_51310/TJOG-19-60-En.pdf

126. Brugo-Olmedo S, Chillik C, Kopelman S. Definición y causas de la infertilidad. *Rev Colomb Obstet Ginecol* [Internet]. 2003 [citado 15 Nov 2021];54(4):[aprox. 22 p.]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcog/v54n4/v54n4a03.pdf>
127. Marongiu M, Crisponi L, Uda M, Pelosi E. Female infertility: Genetics of reproductive ageing, menopause and primary ovarian insufficiency. *Front Genet* [Internet]. 2022 [citado 16 Nov 2021];13:[aprox. 3 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC8965465&blobtype=pdf>
128. Kashir J, Ganesh D, Jones C, Coward K. Oocyte activation deficiency and assisted oocyte activation: mechanisms, obstacles and prospects for clinical application. *Hum Reprod Open* [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];2022(2):[aprox. 29 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8894871/pdf/hoac003.pdf>
129. Matzuk MM, Lamb DJ. The biology of infertility: research advances and clinical challenges. *Nat Med* [Internet]. 2008 [citado 15 Nov 2021];14(11):[aprox. 17 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3786590/pdf/nihms508207.pdf>
130. Matzuk MM, Lamb DJ. Genetic dissection of mammalian fertility pathways. *Nat Med* [Internet]. 2002 [citado 15 Nov 2021];8(10):[aprox. 31 p.]. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nm-fertilityS41.pdf>
131. Solé M, Blanco J, Valero O, Vergés L, Vidal F, Sarrate Z. Altered bivalent positioning in metaphase I human spermatocytes from Robertsonian translocation carriers. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 2017 [citado 15 Nov 2021];34(1):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10815-016-0809-y>
132. Lukaszuk K, Pukszta S, Ochman K, Cybulska C, Liss J, Pastuszek E, et al. Healthy baby born to a Robertsonian translocation carrier following next-generation sequencing-based

preimplantation genetic diagnosis: a case report. Am J Perinatol Rep [Internet]. 2015 [citado 15 Nov 2021];5(2):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4603858/pdf/10-1055-s-0035-1558402.pdf>

133. Li R, Fan H, Zhang Q, Yang X, Zhan P, Feng S. Pericentric inversion in chromosome 1 and male infertility. Open Med [Internet]. 2020 [citado 15 Nov 2021];15(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/med-2020-0404/pdf>

134. Sarrate Z, Blanco J, Valero O, Vidal F. A comprehensive analysis of chromosomal anomalies in metaphase II spermatocytes from infertile patients. Asian J Androl [Internet]. 2018 [citado 15 Nov 2021];20(1):[aprox. 2 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5753547/pdf/AJA-20-105.pdf>

135. Rimmer MP, Howie RA, Subramanian V, Anderson RA, Bertolla RP, Beebejaun Y, et al. Outcome reporting across randomized controlled trials evaluating potential treatments for male infertility: a systematic review. Hum Reprod Open [Internet]. 2022 [citado 15 Nov 2021];2022(2):[aprox. 18 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8982407/pdf/hoac010.pdf>

136. Mashiko D, Ikeda Z, Yao T, Tokoro M, Fukunaga N, Asada Y, et al. Chromosome segregation error during early cleavage in mouse pre-implantation embryo does not necessarily cause developmental failure after blastocyst stage. Scientific reports [Internet]. 2020 [citado 16 Nov 2021];10(1):[aprox. 10 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6972754/pdf/41598_2020_Article_57817.pdf

137. Mahabadi JA, Sabzalipoor H, Kehtari M, Enderami E, Soleimani M, Nikzad H. Derivation of male germ cells from induced pluripotent stem cells by inducers: A review. Cytotherapy [Internet].

2018 [citado 15 Nov 2021];20(3):[aprox. 12 p.]. Disponible en:
<http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29397308/>

138. Jean Wright R. Women of advanced maternal age and miscarriage: An examination of the essence of the experience [Tesis]. Michigan: Michigan State University; 2013. Disponible en:
http://d.lib.msu.edu/islandora/object/etd:2192/datastream/OBJ/download/Women_of_advanced_maternal_age_and_miscarriage___an_examination_of_the_essence_of_the_experience.pdf

139. Webster A, Schuh M. Mechanisms of aneuploidy in human eggs. Trends Cell Biol [Internet]. 2017 [citado 24 Nov 2021];27(1):[aprox. 14 p.]. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0962892416301325>

140. Attali E, Yogev Y. The impact of advanced maternal age on pregnancy outcome. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol [Internet]. 2021 [citado 24 Nov 2021];70:[aprox. 19 p.]. Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521693420300961?via%3Dihub>

141. Zhang X, Wang Y, Zhao N, Liu P, Huang J. Variations in chromosomal aneuploidy rates in IVF blastocysts and early spontaneous abortion chorionic villi. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2020 [citado 24 Nov 2021];37(3):[aprox. 11 p.]. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/mgg3.820>

142. Nabti I, Grimes R, Sarna H, Marangos P, Carroll J. Maternal age-dependent APC/C-mediated decrease in securin causes premature sister chromatid separation in meiosis II. Nat Commun [Internet]. 2017 [citado 24 Nov 2021];8:[aprox. 9 p.]. Disponible en:
<http://www.nature.com/articles/ncomms15346.pdf>

143. de la Torre Santos ME, Herrera Martínez M. Mecanismos relacionados con el origen de las aneuploidías humanas en la avanzada edad materna. Medicentro Electrónica. [Internet]. 2018

[citado 24 Nov 2021]; 22(4):[aprox. 5 p.]. Disponible en:
<http://www.medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/2702/2264>

144. Bhaumik P, Ghosh P, Ghosh S, Feingold E, Ozbek U, Sarkar B, et al. Combined association of Presenilin-1 and Apolipoprotein E polymorphisms with maternal meiosis II error in Down syndrome births. *Genet Mol Biol* [Internet]. 2017 [citado 24 Nov 2021];40(3):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/gmb/v40n3/1415-4757-gmb-1678-4685-GMB-2016-0138.pdf>

145 Treff NR, Su J, Taylor D, Scott Jr RT. Telomere DNA deficiency is associated with development of human embryonic aneuploidy. *PLoS Genet* [Internet]. 2011 [citado 24 Nov 2021];7(6):[aprox. 10 p.]. Disponible en:
<http://journals.plos.org/plosgenetics/article/file?id=10.1371/journal.pgen.1002161&type=printable>

146. Lamb NE, Feingold E, Savage A, Avramopoulos D, Freeman S, Gu Y, et al. Characterization of susceptible chiasma configurations that increase the risk for maternal nondisjunction of chromosome 21. *Hum Mol Genet* [Internet]. 1997 [citado 24 Nov 2021];6(9):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://academic.oup.com/hmg/article/6/9/1391/2901205>

147. McCoy RC. Mosaicism in preimplantation human embryos: when chromosomal abnormalities are the norm. *Trends Genet* [Internet]. 2017 [citado 24 Nov 2021];33(7):[aprox. 16 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168952517300549>

148. Lagirand-Cantaloube J, Ciabrini C, Charrasse S, Ferrieres A, Castro A, Anahory T, et al. Loss of centromere cohesion in aneuploid human oocytes correlates with decreased kinetochore localization of the sac proteins Bub1 and Bubr1. *Sci Rep* [Internet]. 2017 [citado 24 Nov 2021];7:[aprox. 14 p.]. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5347135/pdf/srep44001.pdf>

149. Kamenz J, Hauf S. Time to split up: dynamics of chromosome separation. Trends Cell Biol [Internet]. 2017 [citado 24 Nov 2021];27(1):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/article/med/27567180>
150. Wasielek-Politowska M, Kordowitzki P. Chromosome Segregation in the Oocyte: What Goes Wrong during Aging. Int J Mol Sci [Internet]. 2022 [citado 24 Nov 2021];23:[aprox. 15 p.]. Disponible en: http://mdpi-res.com/d_attachment/ijms/ijms-23-02880/article_deploy/ijms-23-02880.pdf?version=1646637884
151. Fragouli E, Spath K, Alfarawati S, Kaper F, Craig A, Michel C-E, et al. Altered levels of mitochondrial DNA are associated with female age, aneuploidy, and provide an independent measure of embryonic implantation potential. PLoS Genet [Internet]. 2015 [citado 24 Nov 2021];11(6):[aprox. 18 p.]. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosgenetics/article/file?id=10.1371/journal.pgen.1005241&type=printable>
152. Ziółkowska K, Toboła-Wróbel K, Pietryga M, Kasprzak G, Jamsheer A, Wysocka E. An assessment of selected molecular and biochemical markers of the folate pathway as potential risk factors for fetal trisomy 21 during the first trimester of pregnancy in the polish population. J Clin Med [Internet]. 2022 [citado 20 Nov 2021];11(5):[aprox. 16 p.]. Disponible en: http://mdpi-res.com/d_attachment/jcm/jcm-11-01190/article_deploy/jcm-11-01190-v3.pdf?version=1646789960
153. Czechowicz P, Małodobra-Mazur M, Lebioda A, Jonkisz A, Dobosz T, Śmigiel R. Polymorphisms of the MTHFR gene in mothers of children with trisomy 21 (Down syndrome) in a Polish population. Adv Clin Exp Med [Internet]. 2020 [citado 20 Nov 2021];29(2):[aprox. 14 p.]. Disponible en: <http://www.researchsquare.com/article/rs-5520/v1.pdf?c=1631841721000>

154. Lane S, Kauppi L. Meiotic spindle assembly checkpoint and aneuploidy in males versus females. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2019 [citado 20 Nov 2021];76:[aprox. 16 p.]. Disponible en: http://researchportal.helsinki.fi/files/123719010/Lane_Kauppi2019_Article_MeioticSpindleAssemblyCheckpoi.pdf
155. Greaney J, Wei Z, Homer H. Regulation of chromosome segregation in oocytes and the cellular basis for female meiotic errors. *Hum Reprod Update* [Internet]. 2018 [citado 20 Nov 2021];24(2):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <https://academic.oup.com/humupd/article/24/2/135/4735169>
156. Ruipérez-Pacheco E, Carmona-Payán P, Blázquez-Barbero E, Herráiz-Martínez MÁ. Influencia del sobrepeso y la obesidad pregestacionales en el embarazo y en los desenlaces perinatales. *Ginecol Obstet Mex* [Internet]. 2022 [citado 20 Nov 2021];90(05):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=105095>
157. Deba S, Núñez P. Efectos del bisfenol A en la reproducción masculina: estudios en modelos animales. *Med Reprod Embriol Clín* [Internet]. 2018 [citado 16 Nov 2021];5(2):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2340932018300100>
158. Crawford NM, Fenton SE, Strynar M, Hines EP, Pritchard DA, Steiner AZ. Effects of perfluorinated chemicals on thyroid function, markers of ovarian reserve, and natural fertility. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2017 [citado 20 Nov 2021];69:[aprox. 27 p.]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.01.006>
159. Tsoulis MW, Chang PE, Moore CJ, Chan KA, Gohir W, Petrik JJ, et al. Maternal high-fat diet-induced loss of fetal oocytes is associated with compromised follicle growth in adult rat offspring. *Biol Reprod* [Internet]. 2016 [citado 20 Nov 2021];94(4):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <https://academic.oup.com/biolreprod/article-abstract/94/4/94,%201-11/2434487>

160. Geijer ME, Moelijker N, Zhang G, Derr R, Osterlund T, Hendriks G, et al. TubulinTracker, a novel in vitro reporter assay to study intracellular microtubule dynamics, cell cycle progression, and aneugenicity. *Toxicol Sci* [Internet]. 2022 [citado 20 Nov 2021];186(2):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://academic.oup.com/toxsci/article/186/2/288/6517514?login=true>
161. Pacchierotti F, Masumura K, Eastmond DA, Elhajouji A, Froetschl R, Kirsch-Volders M, et al. Chemically induced aneuploidy in germ cells. Part II of the report of the 2017 IWGT workgroup on assessing the risk of aneugens for carcinogenesis and hereditary diseases. *Mutat Res Gen Tox En* [Internet]. 2019 [citado 10 Nov 2021];848:[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/article/med/31708072>
162. Chow PW, Abd Hamid Z, Mathialagan RD, Rajab NF, Shuib S, Sulong S. Clastogenicity and Aneugenicity of 1, 4-Benzoquinone in Different Lineages of Mouse Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Toxics* [Internet]. 2021 [citado 10 Nov 2021];9(5):[aprox. 17 p.]. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2305-6304/9/5/107>
163. Reece AS, Hulse GK. Epidemiological overview of multidimensional chromosomal and genome toxicity of cannabis exposure in congenital anomalies and cancer development. *Sci Rep* [Internet]. 2021 [citado 10 Nov 2021];11(1):[aprox. 21 p.]. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41598-021-93411-5.pdf>
164. Ministerio de Salud Pública. Anuario estadístico de salud 2020 [Internet]. La Habana: Dirección de Registros Médicos y Estadísticas de Salud; 2021 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://files.sld.cu/bvscuba/files/2021/08/Anuario-Estadistico-Espa%3b1ol-2020-Definitivo.pdf>
165. Arsham MS, Barch MJ, Lawce HJ. The AGT cytogenetics laboratory manual [Internet]. New Jersey: John Wiley & Sons; 2017 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en:

http://books.google.com.cu/books?id=BtWqDgAAQBAJ&printsec=copyright&hl=es&source=gbs_pub_info_r#v=onepage&q&f=false

166. Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki. Principios éticos para las investigaciones con seres humanos. 64^a Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre de 2013 [en línea].[citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>

167. Ministerio de Justicia. Resolucion ministerial No. 219: normas éticas para la protección de la información genética de ciudadanos cubanos que participan en investigaciones o se les realizan diagnósticos asistenciales en las que se accede a datos relativos al individuo ya sus familiares, así como a material biológico a partir del cual puede obtenerse ADN [Internet]. La Habana: Sistema Nacional de Salud; 2008 [citado 15 Nov 2021]. Disponible en: <http://legislacion.sld.cu/index.php?P=DownloadFile&Id=421>

168. Ministerio de Salud Pública. Resolucion ministerial No. 24. Aprueba las normas de salud para la terminación voluntaria del embarazo [Internet]. La Habana: Sistema Nacional de Salud; 2013 [citado 16 Nov 2021]. Disponible en: <http://legislacion.sld.cu/index.php?P=DownloadFile&Id=608>

169. Serapinas D, Valantinavičienė E, Machtejevienė E, Bartkevičiūtė A, Bartkevičienė D. Evaluation of chromosomal structural anomalies in fertility disorders. Medicina [Internet]. 2021 [citado 10 Nov 2021];57(1):[aprox. 9 p.]. Disponible en: http://mdpi-res.com/d_attachment/medicina/medicina-57-00037/article_deploy/medicina-57-00037.pdf?version=1616053378

170. Favilla BP, Meloni VA, Perez AB, Moretti-Ferreira D, de Souza DH, Bellucco FT, et al. Spread of X-chromosome inactivation into autosomal regions in patients with unbalanced X-autosome

translocations and its phenotypic effects. Am J Med Genet [Internet]. 2021 [citado 10 Nov 2021];185(8):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/article/med/33913603>

171. Ciaccio C, Redaelli S, Bentivegna A, Marelli S, Crosti F, Sala EM, et al. Unbalanced X; autosome translocations may lead to mild phenotypes and Are associated with autoimmune diseases. Cytogenet Genome Res [Internet]. 2020 [citado 10 Nov 2021];160(2):[aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/article/med/32018271>

172. Mohamed AM, Zaki MS, Kamel AK, Issa MY, Mekkawy M, Safwat P, et al. Unbalanced 14; X translocation and pattern of X inactivation in a female patient with multiple congenital anomalies. Cytogenet Genome Res [Internet]. 2018 [citado 10 Nov 2021];156(2):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/article/med/30273929>

173. Braddock SR, Henley KM, Potter KL, Nguyen HG, Huang THM. Tertiary trisomy due to a reciprocal translocation of chromosomes 5 and 21 in a four-generation family. Am J Med Genet [Internet]. 2000 [citado 10 Nov 2021];92(5):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10861659/>

174. Lowther C, Mehrjouy MM, Collins RL, Bak MC, Dudchenko O, Brand H, et al. Balanced chromosomal rearrangements offer insights into coding and noncoding genomic features associated with developmental disorders. MedRxiv [Internet]. 2022 [citado 10 Nov 2021]:[aprox. 15 p.]. Disponible en: <http://www.medrxiv.org/content/medrxiv/early/2022/02/16/2022.02.15.22270795.full.pdf>

175. Yang L, Tao T, Zhao X, Tao H, Su J, Shen Y, et al. Association between fetal chromosomal abnormalities and the frequency of spontaneous abortions. Exp Ther Med [Internet]. 2020 [citado 10 Nov 2021];19(4):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://pdfs.semanticscholar.org/5c8a/62767629c3acdaf0b7afd42c078ef32a10ea.pdf>

176. Nurk S, Koren S, Rhie A, Rautiainen M, Bizakadze AV, Mikheenko A, et al. The complete sequence of a human genome. *Science* [Internet]. 2022 [citado 10 Nov 2021];376(6588):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.science.org/doi/full/10.1126/science.abj6987>
177. Singh K, Bharti G, Prasad D, Ranjan R. Successful pregnancy outcome in a patient with Robertsonian translocation (13; 14)(Q10: Q10) with recurrent pregnancy loss. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol* [Internet]. 2017 [citado 10 Nov 2021];5(7):[aprox. 3 p.]. Disponible en: <http://www.ijrcog.org/index.php/ijrcog/article/download/1341/1229>
178. Díaz-Véliz Jiménez P, Vidal Hernández B, Pérez Pérez A, Velázquez Martínez T. Detección de translocaciones cromosómicas mediante diagnóstico citogenético. *Cienfuegos*, 2006-2016. *MediSur* [Internet]. 2018 [citado 7 Nov 2021];16(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2018000100006
179. Fan H, Liu Z, Zhan P, Jia G. Pericentric inversion of chromosome 6 and male fertility problems. *Open Med* [Internet]. 2022 [citado 7 Nov 2021];17(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/med-2022-0411/html>
180. Chien C-W, Chao A-S, Chang Y-L, Chen K-J, Peng H-H, Lin Y-T, et al. Frequency and clinical significance of chromosomal inversions prenatally diagnosed by second trimester amniocentesis. *Sci Rep* [Internet]. 2022 [citado 7 Nov 2021];12(1):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41598-022-06024-x.pdf>
181. Perrin A, Nguyen MH, Delobel B, Guéganic N, Basinko A, Le Bris M-J, et al. Characterization and meiotic segregation of a supernumerary marker chromosome in sperm of infertile males: Case report and literature review. *Eur J Med Genet* [Internet]. 2012 [citado 7 Nov 2021];55(12):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1769721212002558>

182. Manju H, Bevinakoppamath S, Bhat D, Prashant A, Kadandale JS, Sairam P. Supernumerary derivative 22 chromosome resulting from novel constitutional non-Robertsonian translocation: t (20; 22)—Case Report. *Mol Cytogenet* [Internet]. 2022 [citado 7 Nov 2021];15(1):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://molecularcytogenetics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13039-022-00591-4>
183. Yang G, Xu Y, Zeng Y, Guo J, Pan J, Zhou C, et al. Comparison of chromosomal status in reserved multiple displacement amplification products of embryos that resulted in miscarriages or live births: a blinded, nonselection case–control study. *BMC Med Genomics* [Internet]. 2022 [citado 7 Nov 2021];15(1):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://bmcmmedgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12920-022-01187-y>
184. Zhang X, Fan J, Chen Y, Wang J, Song Z, Zhao J, et al. Cytogenetic analysis of the products of conception after spontaneous abortion in the first trimester. *Cytogenet Genome Res* [Internet]. 2021 [citado 7 Nov 2021];161(3-4):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.karger.com/Article/Abstract/514088>
185. Berglund A, Stochholm K, Gravholt CH. The epidemiology of sex chromosome abnormalities. *Am J Med Genet* [Internet]. 2020 [citado 7 Nov 2021];184(2):[aprox. 14 p.]. Disponible en: <http://livingwithxxy.org/wp-content/uploads/2020/11/The-epidemiology-of-sex-chromosome-abnormalities.-2020.pdf>
186. Vorsanova SG, Kolotii AD, Kurinnaia OS, Kravets VS, Demidova IA, Soloviev IV, et al. Turner's syndrome mosaicism in girls with neurodevelopmental disorders: a cohort study and hypothesis. *Mol Cytogenet* [Internet]. 2021 [citado 7 Nov 2021];14(1):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1186/s13039-021-00529-2.pdf>

187. Graff A, Donadille B, Morel H, Villy M, Bourcigaux N, Vazier C, et al. Added value of buccal cell FISH analysis in the diagnosis and management of Turner syndrome. *Hum Reprod* [Internet]. 2020 [citado 29 Oct 2021];35(10):[aprox. 20 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/article/med/32810206>
188. Thunström S, Landin-Wilhelmsen K, Bryman I, Hanson C. Side differences in the degree of mosaicism of the buccal mucosa in Turner syndrome. *Mol Genet Genomic Med* [Internet]. 2019 [citado 29 Oct 2021];7(10):[aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/mgg3.938>
189. Gürsoy S, Erçal D. Turner Syndrome and Its Variants. *J Pediatr Res* [Internet]. 2017 [citado 29 Oct 2021];4(4):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://cms.jpmedres.org/Uploads/Article_16506/JPR-4-4.pdf
190. Li L, Zhang H, Yang Y, Zhang H, Wang R, Jiang Y, et al. High frequency of Y chromosome microdeletions in male infertility patients with 45, X/46, XY mosaicism. *Braz J Med Biol Res* [Internet]. 2020 [citado 29 Oct 2021];53(3):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://pdfs.semanticscholar.org/0118/58c006acb87d1fb25a8af93efbf2d7f431ab.pdf>
191. Frelich J, Irzyniec T, Lepska K, Jeż W. New insights into clinical features, karyotypes, and age at diagnosis in women with Turner syndrome. *Endokrynologia Polska* [Internet]. 2019 [citado];70(4):[342-9]. Disponible en: <http://ppm.sum.edu.pl/docstore/download/SUMaa895145c96b42eda6de7df8f892e28f/0000097688.pdf>
192. Zinn AR, Tonk VS, Chen Z, Flejter WL, Gardner HA, Guerra R, et al. Evidence for a Turner syndrome locus or loci at Xp11. 2-p22. 1. *Am J Hum Genet* [Internet]. 1998 [citado 29 Oct 2021];63(6):[aprox. 11 p.]. Disponible en:

<http://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0002929707616218?token=5D99A9C5E94749DAE2563CC44E9BEA07905B20EE9D1E64D48FDC98C6B52B42CB2414918C963AF91A86EAAACFA0E00323C&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220915190343>

193. Peek R, Schleedoorn M, Smeets D, Van De Zande G, Groenman F, Braat D, et al. Ovarian follicles of young patients with Turner's syndrome contain normal oocytes but monosomic 45, X granulosa cells. *Hum Reprod* [Internet]. 2019 [citado 29 Oct 2021];34(9):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://core.ac.uk/download/pdf/237386034.pdf>

194. Skakkebaek A, Nielsen MM, Trolle C, Vang S, Hornshøj H, Hedegaard J, et al. DNA hypermethylation and differential gene expression associated with Klinefelter syndrome. *Sci Rep* [Internet]. 2018 [citado 29 Oct 2021];8(1):[aprox. 15 p.]. Disponible en: <http://genetic.org/wp-content/uploads/2018/11/DNA-hypermethylation-and-differential-gene-expression-associated-with-Klinefelter-syndrome.pdf>

195. Fernández Borbón H, Valle Rivera T, Fernández Ramos I, Ramírez Pérez N. Caracterización de la infertilidad en el municipio Pinar del Río. *Rev Cienc Méd* [Internet]. 2013 [citado 29 Oct 2021];17(5):[aprox. 8 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942013000500007

196. Batista RL, Costa EMF, Rodrigues AdS, Gomes NL, Faria Jr JA, Nishi MY, et al. Androgen insensitivity syndrome: a review. *Arch Endocrinol Metab* [Internet]. 2018 [citado 29 Oct 2021];62(2):[aprox. 2 p.]. Disponible en: <http://www.scielo.br/j/aem/a/98DLW9RbrG7knCMNdRcGdtM/?format=html&lang=en>

197. Ilaslan E, Markosyan R, Sproll P, Stevenson BJ, Sajek M, Sajek MP, et al. The FKBP4 gene, encoding a regulator of the androgen receptor signaling pathway, is a novel candidate gene for

androgen insensitivity syndrome. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 [citado 29 Oct 2021];21(21):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1422-0067/21/21/8403/pdf>

198. Tyutyusheva N, Mancini I, Baroncelli GI, D'Elia S, Peroni D, Meriggiola MC, et al. Complete androgen insensitivity syndrome: from bench to bed. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 [citado 29 Oct 2021];22(3):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1422-0067/22/3/1264/pdf>

199. Hornig NC, Holterhus P-M. Molecular basis of androgen insensitivity syndromes. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2021 [citado 29 Oct 2021];523:[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720720304482>

200. Hornig NC, Rodens P, Dörr H, Hubner NC, Kulle AE, Schweikert H-U, et al. Epigenetic repression of androgen receptor transcription in mutation-negative androgen insensitivity syndrome (AIS type II). *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2018 [citado 29 Oct 2021];103(12):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article/103/12/4617/5075150>

201. Poirot C, Cherruau B. Infertilidad masculina: Aspectos clínicos e investigaciones biológicas. *Acta Bioquím Clín Latinoam* [Internet]. 2005 [citado 29 Oct 2021];39(2):[aprox. 17 p.]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v39n2/v39n2a10.pdf>

202. Samango-Sprouse C, Graham Jr JM, Counts DR, Visootsak J. 47, XXY (KLINEFELTER SYNDROME) AND RELATED X AND Y CHROMOSOMAL CONDITIONS. En: editor. Cassidy and Allanson's Management of Genetic Syndromes [Internet]. Estados Unidos.: John Wiley & Sons, Inc; 2021. p. 539-62. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/chapter-epub/10.1002/9781119432692.ch35>

203. Deebel NA, Bradshaw AW, Sadri-Ardekani H. Infertility considerations in klinefelter syndrome: From origin to management. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2020 [citado 29 Oct 2021];34(6):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/article/med/33358481>

204. Willems M, Gies I, Van Saen D. Germ cell loss in Klinefelter syndrome: When and why? *Am J Med Genet* [Internet]. 2020 [citado 29 Oct 2021];184(2):[aprox. 15 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ajmg.c.31787>
205. Hovnik T, Zitnik E, Avbelj Stefanija M, Bertok S, Sedej K, Bancic Silva V, et al. An Adolescent Boy with Klinefelter Syndrome and 47, XXY/46, XX Mosaicism: Case Report and Review of Literature. *Genes* [Internet]. 2022 [citado 29 Oct 2021];13(5):[aprox. 7 p.]. Disponible en: http://mdpi-res.com/d_attachment/genes/genes-13-00744/article_deploy/genes-13-00744.pdf?version=1650712768
206. Piekarska K, Radwan P, Tarnowska A, Wiśniewski A, Kasiński R, Radwan M, et al. The Association of HLA-G Gene Polymorphism and Its Soluble Form With Male Infertility. *Front Immunol* [Internet]. 2021 [citado 22 Oct 2021];12:[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8801424/pdf/fimmu-12-791399.pdf>
207. Singhal P, Pendkur G, Parihar RS, Singh S, Chakrabarty BK, Raghavendra S. The spectrum of chromosomal abnormalities and endocrine profile of male infertility with nonobstructive semen abnormality: A case-control study. *J Hum Reprod Sci* [Internet]. 2021 [citado 29 Oct 2021];14(2):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8279061/pdf/JHRS-14-175.pdf>
208. Bearely P, Oates R. Recent advances in managing and understanding Klinefelter syndrome. *F1000Research* [Internet]. 2019 [citado 22 Oct 2021];8:[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6352920/pdf/f1000research-8-18306.pdf>
209. Foresta C, Galeazzi C, Bettella A, Marin P, Rossato M, Garolla A, et al. Analysis of meiosis in intratesticular germ cells from subjects affected by classic Klinefelter's syndrome. *J Clin Endocrinol*

Metab [Internet]. 1999 [citado 22 Oct 2021];84(10):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article/84/10/3807/2660736>

210. Zitzmann M, Aksglaede L, Corona G, Isidori AM, Juul A, T'Sjoen G, et al. European academy of andrology guidelines on Klinefelter syndrome endorsing organization: European Society of Endocrinology. Andrology [Internet]. 2021 [citado 22 Oct 2021];9(1):[aprox. 23 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/andr.12909>

211. O'Connor MJ, Snyder EA, Hayes FJ. Klinefelter syndrome and diabetes. Curr Diab Rep [Internet]. 2019 [citado 22 Oct 2021];19(9):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://ern-ithaca.eu/wp-content/uploads/2020/12/Oconnor_Klinefelter_diabetes_CurrDiabRep2019.pdf

212. Vorsanova SG, Demidova IA, Kolotii AD, Kurinnaia OS, Kravets VS, Soloviev IV, et al. Klinefelter syndrome mosaicism in boys with neurodevelopmental disorders: a cohort study and an extension of the hypothesis. Mol Cytogenet [Internet]. 2022 [citado 22 Oct 2021];15(1):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://link.springer.com/content/pdf/10.1186/s13039-022-00588-z.pdf>

213. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB, Kutsev SI. Ontogenetic and pathogenetic views on somatic chromosomal mosaicism. Genes [Internet]. 2019 [citado 22 Oct 2021];10(5):[aprox. 25 p.]. Disponible en: <http://pdfs.semanticscholar.org/6ec8/3f495cde2ce151866abf5b4f850a178086b5.pdf>

214. Riquenes EV, Peña GM, Heredia MG, Teruel BM, Mesa TC. Frecuencia de microdeleciones del cromosoma Y en pacientes cubanos con azoospermia u oligozoospermia idiopática. Rev Cubana Genét Comunit [Internet]. 2020 [citado 22 Oct 2021];13(1):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubgencom/cgc-2020/cgc201d.pdf>

215. Fukami M, Miyado M. Mosaic loss of the Y chromosome and men's health. *Reprod Med Biol* [Internet]. 2022 [citado 22 Oct 2021];21(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/rmb2.12445>
216. Arumugam M, Shetty DP, Kadandale JS, Kumari SN. Y chromosome microdeletion and cytogenetic findings in male infertility: A cross-sectional descriptive study. *Int J Reprod BioMed* [Internet]. 2021 [citado 22 Oct 2021];19(2):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://pdfs.semanticscholar.org/bb05/44147281b6f93a03545bebbb2df2aee5d1bc.pdf>
217. Pan Y, Zhang H-g, Xi Q, Zhang H, Wang R-x, Li L-l, et al. Molecular microdeletion analysis of infertile men with karyotypic Y chromosome abnormalities. *J Int Med Res* [Internet]. 2018 [citado 22 Oct 2021];46(1):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0300060517719394>
218. Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2001 [citado 22 Oct 2021];2(4):[aprox. 12 p.]. Disponible en: http://www.researchgate.net/profile/Terry_Hassold/publication/12049418_To_ERR_meiotically_is_human_The_genesis_of_human_aneuploidy/links/574f303908aebb9880442186.pdf
219. Pimentel Benítez HI, Tru Martínez FA, Arrieta García R, Figueroa Barciela N, Peña García F, Paz Román M. Marcadores ecográficos de cromosomopatías y resultados del diagnóstico prenatal citogenético en Camagüey: 2007-2013. *Rev Cubana Genet Comunit* [Internet]. 2014 [citado 22 Oct 2021];8(1):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=53931>
220. Younesi S, Taheri Amin MM, Hantoushzadeh S, Saadati P, Jamali S, Modarressi M-H, et al. Karyotype analysis of amniotic fluid cells and report of chromosomal abnormalities in 15,401 cases

of Iranian women. Sci Rep [Internet]. 2021 [citado 22 Oct 2021];11(1):[aprox. 10 p.]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8484541/pdf/41598_2021_Article_98928.pdf

221. Huafeng L, Yongli L, Rui Z. Cytogenetic analysis of amniotic fluid cells in 4206 cases of high-risk pregnant women. Iran J Public Health [Internet]. 2019 [citado 22 Oct 2021];48(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6401577/pdf/IJPH-48-126.pdf>

222. Tseng J-J, Chou M-M, Lo F-C, Lai H-Y, Chen M-H, Ho ES-C. Detection of chromosome aberrations in the second trimester using genetic amniocentesis: experience during 1995-2004. Taiwanese J Obstet Gynecol [Internet]. 2006 [citado 22 Oct 2021];45(1):[aprox. 3 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1028455909601881/pdf?md5=b884251620a70bc9539f45b8e40dd685&pid=1-s2.0-S1028455909601881-main.pdf>

223. Sánchez-Pavón E, Mendoza H, García-Ferreira J. Trisomy 21 and Assisted Reproductive Technologies: A review. JBRA Assist Reprod [Internet]. 2022 [citado 22 Oct 2021];26(1):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8769184/pdf/jbra-26-01-0129.pdf>

224. Davis C, Cuckle H, Yaron Y. Screening for Down syndrome—incidental diagnosis of other aneuploidies. Prenat Diagn [Internet]. 2014 [citado 22 Oct 2021];34(11):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pd.4420?casa_token=pHNXWwgDZPkAAAAA:rcyxWgKaDVI8_QLzzMawFZEwekZu7HpIWuDOJ75JcZiqMyGaSZsdkJ7eaWi6misT6kW2X6nd0SOBU-z4kw

225. Pandey P, Verma RK. A Brief Overview on Autosomal Trisomies [Internet]. 2021 [citado]. Disponible en: http://www.researchgate.net/profile/Priyanka-Pandey-10/publication/356493207_A_Brief_Overview_on_Autosomal_Trisomies/links/619e012c07be5f31b7b3bf70/A-Brief-Overview-on-Autosomal-Trisomies.pdf

226. Hui L, Muggli E, Halliday J. Population-based trends in prenatal screening and diagnosis for aneuploidy: a retrospective analysis of 38 years of state-wide data. BJOG [Internet]. 2016 [citado 18 Oct 2021];123(1):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/1471-0528.13488>
227. Hsiao CH, Chen CH, Cheng PJ, Shaw SW, Chu WC, Chen RC. The impact of prenatal screening tests on prenatal diagnosis in Taiwan from 2006 to 2019: a regional cohort study. BMC Pregnancy Childbirth [Internet]. 2022 [citado 18 Oct 2021] (2022):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://bmcpregnancychildbirth.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12884-021-04360-w.pdf>
228. Rodríguez-Ortiz A, Montoya-Villegas JC, García-Vallejo F, Mina-Paz Y. Integrated Quantitative Neuro-Transcriptome Analysis of Several Brain Areas in Human Trisomy 21. Genes [Internet]. 2022 [citado 18 Oct 2021];13(4):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2073-4425/13/4/628/htm>
229. Murphy N, Dunne H, Flood K. Prenatally diagnosed fetal aneuploidy: natural history and subsequent management. Ir Med J [Internet]. 2020 [citado 18 Oct 2021];113(3):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.imj.ie/wp-content/uploads/2020/03/Prenatally-Diagnosed-Fetal-Aneuploidy-Natural-History-and-Subsequent-Management.pdf>
230. Quiñones Maza OL, Méndez Rosado LA, Quintana Aguilar J, Suárez Mayedo U, García Rodríguez M, Barrios Martínez A, et al. Reordenamientos cromosómicos estructurales en el diagnóstico citogenético prenatal y postnatal acorde a su origen. Rev Cubana Obstet Ginecol [Internet]. 2015 [citado 18 Oct 2021];41(1):[aprox. 10 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-600X2015000100002&script=sci_arttext&lng=en
231. Quintana Aguilar J, Quiñones Maza O, Méndez Rosado LA, Lavista González M, González Noa CE, Hernández Pérez G. Resultados del diagnóstico prenatal cromosómico en Ciudad

Habana. Rev Cubana Obstet Ginecol [Internet]. 1999 [citado 18 Oct 2021];25(3):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X1999000300003

232. de Santelices Cuervo AM, López DR, Oruña MTA, Smith LEF. Eficiencia del subprograma de Diagnóstico Prenatal Citogenético en Ciudad de La Habana en el período 2005-2006. Rev Cubana Genet Comunit [Internet]. 2010 [citado 18 Oct 2021];4(3):[aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=52112>

233. Vázquez Martínez YE, Lemus Valdés MT. Amniocentesis para estudio citogenético y sus principales indicaciones en La Habana, Cuba (2007-2016). Rev Cubana Obstet Ginecol [Internet]. 2019 [citado 18 Oct 2021];45(4):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/gin/v45n4/1561-3062-gin-45-04-e543.pdf>

234. Reinicke T, Costantino CL, Anderson DJ, Tran J, Griggs C. A Network of Anomalies Prompting VACTERL Workup in a Trisomy 21 Newborn. Cureus [Internet]. 2022 [citado 18 Oct 2021];14(1):[aprox. 7 p.]. Disponible en: <http://www.cureus.com/articles/83237-a-network-of-anomalies-prompting-vacterl-workup-in-a-trisomy-21-newborn>

235. Diaz D, Benjamin RH, Navarro Sanchez ML, Mitchell LE, Langlois PH, Canfield MA, et al. Patterns of congenital anomalies among individuals with trisomy 13 in Texas. Am J Med Genet [Internet]. 2021 [citado 18 Oct 2021];185(6):[aprox. 14 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ajmg.a.62175>

236. Sennaiyan UN, Kiruthika S, Krishna MR. Septal defect with polyvalvular involvement: A cardiac imaging hallmark of Trisomy 18. Ann Pediatr Cardiol [Internet]. 2021 [citado 18 Oct 2021];14(4):[aprox. 2 p.]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9075574/pdf/APC-14-559.pdf>

237. Buczyńska A, Sidorkiewicz I, Hameed A, Krętowski AJ, Zbucka-Krętowska M. Future Perspectives in Oxidative Stress in Trisomy 13 and 18 Evaluation. *J Clin Med* [Internet]. 2022 [citado 18 Oct 2021];11(7):[aprox. 16 p.]. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2077-0383/11/7/1787/htm>
238. Takahashi Y, Kinoshita Y, Kobayashi T, Arai Y, Ohyama T, Yokota N, et al. The usefulness of OK-432 for the treatment of postoperative chylothorax in a low-birth-weight infant with trisomy 18. *Clin Case Rep* [Internet]. 2022 [citado 18 Oct 2021];10(5):[aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ccr3.5844>
239. Howard-Bath A, Poulton A, Halliday J, Hui L. Population-based trends in the prenatal diagnosis of sex chromosome aneuploidy before and after non-invasive prenatal testing. *Prenat Diagn* [Internet]. 2018 [citado 18 Oct 2021];38(13):[aprox. 19 p.]. Disponible en: <http://minerva-access.unimelb.edu.au/bitstream/handle/11343/284515/https%20obgyn.onlinelibrary.wiley.com%20doi%20am-pdf%2010.1002%20pd.5363.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
240. Ward JD, Sharma MS, Pizzuto MF, Moylan VJ, Askin FB, Kaufman DG. Beyond the Syndrome: Extensive Congenital Abnormalities in an Infant With Trisomy 21. *Clin Pathol* [Internet]. 2022 [citado 18 Oct 2021];15:[aprox. 14 p.]. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/2632010X221088966>
241. Taboada Lugo N, Algora Hernández AE, de la Torre Santos ME, Herrera Martínez M, Noche González G, Arcas Ermeso G. Aberraciones cromosómicas y defectos congénitos asociados al onfalocele. *Acta Médica del Centro* [Internet]. 2022 [citado 18 Oct 2021];16(2):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2709-79272022000200207&script=sci_arttext&lng=en

242. Sega AG, Meckmongkol T, Westmoreland T. Delayed Presentation of Duodenal Atresia in a Male With Trisomy 21. *Cureus* [Internet]. 2022 [citado 18 Oct 2021];14(1):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://assets.cureus.com/uploads/case_report/pdf/60582/20220128-31788-1yx4fzw.pdf
243. Tomkins JP, editor Combinatorial genomic data refute the human chromosome 2 evolutionary fusion and build a model of functional design for interstitial telomeric repeats. *Proceedings of the International Conference on Creationism*; 2018; Pennsylvania: Creation Science Fellowship. Disponible en: <http://core.ac.uk/download/pdf/301493771.pdf>
244. Beaty T, Hetmanski J, Fallin M, Park J, Sull J, McIntosh I, et al. Analysis of candidate genes on chromosome 2 in oral cleft case-parent trios from three populations. *Hum Genet* [Internet]. 2006 [citado 18 Oct 2021];120:[aprox. 19 p.]. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s00439-006-0235-9>
245. Howard TD, Postma DS, Hawkins GA, Koppelman GH, Zheng SL, Wysong AK, et al. Fine mapping of an IgE-controlling gene on chromosome 2q: analysis of CTLA4 and CD28. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2002 [citado 10 Oct 2021];110(5):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0091674902014239>
246. Dai W-c, Liu X-x, Li H-j, Song G-n, Li Y-h, Zhang C-l, et al. Seizures as the first manifestation of chromosome 2q24. 2-q24. 3 in a two and a half years old girl: A case report. *Gynecol Obstet Clin Med* [Internet]. 2021 [citado 10 Oct 2021];1(3):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667164621000105>
247. Karan KR, Satishchandra P, Sinha S, Anand A. A genetic locus for sensory epilepsy precipitated by contact with hot water maps to chromosome 9p24. 3-p23. *J Genet* [Internet]. 2018 [citado 10 Oct 2021];97(2):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://www.ias.ac.in/public/Volumes/jgen/097/02/0391-0398.pdf>

248. Méndez Rosado LA, Medina Reyes Y, Quintana Hernández D, González García N, Barrios Martínez A. Tres generaciones “afectadas” por una translocación 5; 18. Rev Cubana Genét Comunit [Internet]. 2014 [citado 10 Oct 2021];8(2):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=64717>
249. Villa N, Redaelli S, Sala E, Conconi D, Romitti L, Manfredini E, et al. Human Chromosome 18 and Acrocentrics: A Dangerous Liaison. Int J Mol Sci [Internet]. 2021 [citado 10 Oct 2021];22(11):[aprox. 17 p.]. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1422-0067/22/11/5637/htm>
250. Wilch ES, Morton CC. Historical and clinical perspectives on chromosomal translocations. Chromosome Translocation [Internet]. 2018 [citado 10 Oct 2021]:[aprox. 14 p.]. Disponible en: <http://europepmc.org/article/med/29956287>
251. Bugge M, Brandt CA, Petersen MB. DNA studies of mono-and pseudodicentric isochromosomes 18q. Am J Med Genet [Internet]. 2004 [citado 10 Oct 2021];127(3):[aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ajmg.a.30026>
252. Cruz Mariño T, Velázquez Martínez PA, Hernández Gil J, Mote Velázquez M, Suárez Peña E. 44, X, der (15; 22)(q10; q10), un cariotipo anormal. Un informe de caso. Revista Cubana de Genética Comunitaria [Internet]. 2010 [citado 10 Oct 2021];4(2):[aprox. 2 p.]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubgencom/cgc-2010/cgc102k.pdf>

AUTOBIBLIOGRAFÍA

AUTOBIBLIOGRAFÍA

- 1) Aberraciones cromosómicas y defectos congénitos asociados al onfalocele. Autores: Noel Taboada Lugo, Ana Esther Algora Hernández, María Elena de la Torre Santos, Manuela Herrera Martínez, Gisela Noche González, Gretsý Arcas Ermeso. Acta médica del Centro. 2022; 16(2).
- 2) Prevalence and associated anomalies in gastroschisis and omphalocele cases in Villa Clara, Cuba: a 30 year series from 1990 to 2019. Autores: Noel Taboada Lugo, Ana E Algora Hernández, Manuela Herrera Martínez, María Elena de la Torre Santos, Oriali Piedra Morales, Eliecer Anoceto Armiñana. Journal of Scientific and Technical Research 2021; 36(3.)
- 3) Caracterización de tres pacientes con marcador cromosómico supernumerario derivados de una inv dup(15). Autores: Luis Alberto Méndez Rosado, Odalis Molina Gamboa, Irenia Blanco Pérez, Sahily Miñoso Pérez, Anduriña Barrios Martínez, María Elena de la Torre Santos, Bárbara Arechavaleta Márquez. Revista Cubana de Genética Comunitaria. 2020; 13(2).
- 4) Studies of genetic epidemiology about phenotype with complex determination in the context of biomedical basic sciences doctoral program. Autores: Manuela Herrera Martínez, Douglas Fernández Caraballo, Danay Heredia Ruiz, María Elena de la Torre Santos, Noel Taboada Lugo, Lay Salazar Torres, Lorna González Herrera. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2019; 38(1).
- 5) Chromosomal studies in individuals with infertility. Autores: María Elena de la Torre Santos, Manuela Herrera Martínez, Ana Esther Algora Hernández, Gisela Noche González, Arlan Machado Rojas, Madeivy Paz García, Diley Rodríguez Conde, Estrella Reyes Hernández, Carolina Machado de la Torre, Daniel González Benítez. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2019; 38(1).

6) Antenatal diagnosis of de novo balanced structural chromosomal aberrations in Latin America.

Autores: Luis A Méndez Rosado, Olga Quiñones Maza, Alicia Vaglio, Roberto Quadrell, Diana Sanchez Peñarate, Michel Soriano Torres, Mabel Cerillo Hinojosa, Fernando Escobelo Aguirre, Alfonso Gutierrez Najar, Patricia Venegas Barbosa, Anduriña Barrios Martínez, Dulce Hechavarria Estenoz, Pedro Carbonell de la Torre, Héctor Pimentel Benítez, Orlando González Sale, José Hernández Gil, María Elena de la Torre Santos, Yamile Alonso García, Niurka Cedeño Aparicio, Patricia Torriani Mendoza, Enny Morales Rodríguez, Diana Martin García, Elizabeth Cuétara Lugo, Niurka Gonzales Domínguez, Peter Hu. MEDICC Review. 2018; 20(4).

7) Mecanismos relacionados con el origen de las aneuploidías humanas en la avanzada edad materna. Autores: María Elena de la Torre Santos, Manuela Herrera Martínez. Medicentro electrónica. 2018; 22(4).

8) Current status of prenatal diagnosis in Cuba: causes of low prevalence of Down syndrome.

Autores: L:A Méndez-Rosado, D Hechevarria-Estenoz, M.E de la Torre, H. Pimentel-Benítez, J. Hernández-Gil, B Pérez, A. Barrios-Martínez. E. Morales-Rodríguez, M. Soriano-Torres, M. García, U. Suarez-Mayedo, N. Cedeño-Aparicio, I. Blanco, P. Díaz-Veliz, B. Vidal-Hernández, M. Mitjans-Torres, S. Miñoso, D. Álvarez-Espinosa, E. Reyes-Hernández, E. Angulo-Cebada, M. Torres-Palacios, L. Lozano-Lezcano, U. Lima-Rodríguez, M. Mayeta, M. Noblet, Y. Benítez, R. Lardoeyt-Ferrer, S. Yosela-Martín, P. Carbonell, M. Pérez-Ramos, N. de León, M. Pérez, J. Carbonell. Prenat Diagnosis. 2014;34 ISSN 0197-3851

ANEXOS

Anexo 1: Datos de interés que se recogieron en la historia clínica

Edad: fecha de nacimiento: sexo:

Municipio de residencia:

Motivo de consulta:

Historia del motivo de consulta:

- Antecedentes personales
- Prenatales

Exposición prenatal a aneugenos: Cuál: Dosis: Periodo:

Exposición prenatal a teratógenos Cuál: Dosis: Periodo:

Estudios prenatales:

Enfermedades maternas

- Perinatales

Peso al nacer_____ Talla al nacer_____ APGAR_____

Edema en el dorso de manos y pies:

Defectos congénitos menores detectados al nacimiento:

Defectos congénitos mayores detectados al nacimiento:

- Postnatales

Desarrollo psicomotor

Desarrollo pondoestatural

Lenguaje

Aprendizaje escolar

Pubertad Menarquia

Historia obstétrica (especificar pareja de cada evento):

Cantidad de gestaciones_____ Partos_____ Abortos provocados_____

Abortos espontáneos_____ Abortos diferidos_____ Muertes fetales_____

Hijos nacidos vivos_____ Hijos nacidos muertos_____ Muerte neonatal_____

Hijo con defectos congénitos _____ Vivo_____ Fallecido_____ Edad al morir_____

Tipo de defecto congénito:

Interrupción electiva de la gestación_____ Fecha_____ Causa_____

Diagnóstico por US_____ Diagnóstico por citogenética_____

Diagnóstico de Anatomía patológica:

Historia de infertilidad:

Amenorrea primaria____ Amenorrea secundaria____ Oligomenorrea____
Azoospermia____ Oligoastenozoospermia____ Sin espermograma____
Atrofia testicular____ Biopsia testicular____

Resultado de complementarios:

- Antecedentes familiares (indagar acerca de familiares con historia de abortos espontáneos, muertes fetales, hijos con defectos congénitos o retraso mental, infertilidad)
- Árbol genealógico: Al menos de tres generaciones.

➤ Examen físico por regiones:

1) Cabeza: forma del cráneo. Cara: perfil facial, tamaño, forma y desviación de las hendiduras palpebrales, distancia entre canos internos de los ojos, puente nasal, narinas en ante versión, forma de la boca, filtro, distancia nasolabial, orejas en rotación posterior, mentón. Presencia de efélides en la cara.

2) Cuello: corto, ancho, presencia de pterigium, implantación del cabello en la nuca. Efélides.

3) Tronco: Forma del tórax, ancho, en escudo, deformidades esternales, mamilas, desarrollo mamario. Palpación del abdomen, presencia de hernia umbilical o inguinal. Perineo: criptorquidia, hipospadias, ambigüedad genital, hipoplasia del clítoris, de labios menores, ano anterior.

4) Extremidades superiores: cubitus valgo, superposición de los dedos de las manos, clinodactilia, puño cerrado, surco palmar transversal, braquidactilia

6) Extremidades inferiores: genu recurvatum, pie varo, calcáneo prominente

- Complementarios indicados: Cariotipo sangre periférica_____
- Resultado del cariotipo_____

Clasificación (grupos de estudio)

- Pérdidas gestacionales:

I_____

II_____

III_____

- Infertilidad:

IV_____

V_____

VI_____

- Interrupción electiva de la gestación:

VII_____

VIII_____

Anexo 2: Consentimiento informado para cariotipos en Sangre periférica:

Yo: _____ doy fe que he recibido información del Dr.(a) _____ sobre las causas cromosómicas que originan fallas reproductivas, y expreso mi conformidad en formar parte de esta investigación, y que de ser necesario se me realice el cariotipo y la encuesta. He sido notificado acerca de los objetivos de la investigación. La información que reciban sobre mi historial reproductivo no será divulgada y se usará solo con fines científicos, así como se mantendrá la privacidad sobre ellos. Autorizo a que se publique en el medio científico el resultado del cariotipo y la descripción de las características clínicas asociadas, respetando aspectos de la identidad. Tengo derecho a ser atendido por los especialistas competentes y de retirarme del estudio y la investigación cuando lo estime pertinente.

Firma del Paciente _____

Nombre y firma del Testigo _____

Nombre y firma del Investigador _____

Fecha _____

Anexo 3: Consentimiento informado para estudios citogenéticos prenatales

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ESTUDIOS PRENATALES

Yo _____ autorizo a los Dres.: _____ y colaboradores del Servicio de Genética a realizar los estudios de diagnóstico prenatal que se me ofrecen con el objetivo de establecer determinadas características genéticas de mi futuro hijo, con lo cual mi familia estará más tranquila respecto a ciertos riesgos que posee, y también podrá tomar otras decisiones reproductivas, si es necesario. Se me ha explicado y entiendo que:

- El proceder obstétrico requerido para la obtención de muestras de tejidos fetales, implica un riesgo bajo de aborto y/o infección para el feto y el embarazo, siendo siempre este riesgo menor que el de la afección genética que se busca (riesgo de 1 % en Amniocentesis y 2 % en Biopsia Coriónica).
- Es posible que sea necesario repetir la toma de muestra.
- Si se obtienen resultados normales para el análisis que se indica, esto no elimina la posibilidad de otros defectos congénitos o causas de retraso mental, que no se detectan con esta prueba.
- En caso que exista un embarazo múltiple los resultados serán de un solo feto o será necesario tomar 2 muestras.
- En la indicación de análisis cromosómicos es posible que el crecimiento de las células fetales no tenga éxito y no se obtengan resultados, que éstos no sean concluyentes o no garanticen un 100 % de seguridad, ya que en raras ocasiones se encuentran células maternas en las muestras.
- El resultado me será entregado en la consulta de citogenética.

SE RECOMIENDA REPOSO ABSOLUTO, FÍSICO Y SEXUAL DURANTE 72 HORAS POSTERIOR AL PROCEDER, ANTE CUALQUIER SITUACIÓN ANORMAL EN ESAS 72 HORAS DEBE AVISAR O ASISTIR A NUESTRO SERVICIO PARA RECIBIR ORIENTACIÓN, O PRESENTARSE URGENTE AL CUERPO DE GUARDIA DE SU HOSPITAL MATERNO.

Reconociendo estos riesgos, ventajas y limitaciones, expreso mi

ACUERDO _____ DESACUERDO _____,

Con la realización de la prueba.

Nombre de la embarazada

Firma

Fecha

Nombre del Genetista

Firma

Fecha

Anexo 4: Consentimiento informado para cariotipos en tejidos fetales

Consentimiento informado para cariotipos en tejidos fetales:

Yo: _____,

quien suscribe este documento en calidad de gestante y paciente, en pleno dominio de mis facultades mentales y de manera voluntaria, doy mi consentimiento con vistas a realizar el estudio citogenético en los tejidos fetales obtenidos por el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Ginecobstétrico Mariana Grajales después de haberseme realizado la interrupción de la gestación por causa genética, conociendo que los resultados aportarán datos para tomar conductas terapéuticas preventivas si fuera esta una condición familiar y podrán ser utilizados con fines investigativos.

He sido informada de que no recibiré beneficio material alguno por participar, y que puedo retirarme del estudio cuando yo lo desee sin que esto implique perjuicios para mi persona.

Confío en que los investigadores que participan en el estudio mantendrán la confidencialidad de toda la información entregada y no será utilizada con fines de lucro personal.

Pudiera ocurrir que no se obtengan resultados citogenéticos por la alta frecuencia de contaminación de las muestras de tejidos fetales, así como por diferentes grados de maceración. Consiento en que los resultados de este estudio puedan ser publicados en revistas científicas y en que las muestras se conserven para futuras investigaciones.

Firma del Paciente _____

Nombre y firma del Testigo _____

Nombre y firma del Investigador _____

Fecha _____

Anexo 5: Procedimientos normativos operacionales de la técnica de obtención de cromosomas para diagnóstico postnatal en linfocitos

Título. Técnica de obtención de cromosomas para diagnóstico postnatal en linfocitos.

A) Objetivo: Obtener cromosomas a partir de sangre periférica.

B) Definiciones: Fitohemaglutinina: Reactivo de análisis para estudios de cromosomas que actúa como estimulante de la mitosis de los linfocitos T.

C) Responsabilidades: Esta técnica se desarrollará en el laboratorio de citogenética del Centro provincial de genética médica de Villa Clara. El responsable de su cumplimiento es todo el personal calificado que labore en el área.

D) Alcance: Área de cultivo y proceso del laboratorio de citogenética.

E) Condiciones de seguridad.

1. Las normas internacionales de riesgo biológico deben aplicarse en las áreas con muestras biológicas.
2. No manipular alimentos en el área de trabajo.
3. Usar guantes durante la manipulación del material biológico.
4. Lavarse las manos luego de manipular las muestras.
5. Las agujas que se desechen deben ser despuntadas y las jeringuillas lavadas y eliminadas en depósitos especiales.
6. Uso de ropa sanitaria dentro del área de riesgo.
8. No pipetear con la boca reactivos ni colorantes.
9. En caso de pincharse con una aguja lavar la zona con abundante agua y desinfectar con alcohol.

F) Equipamientos y locales:

1. Locales de fregado de citogenética: destilador de agua, horno de esterilización, autoclave.
2. Cuarto de siembra: flujo laminar, incubadora.
3. Cuarto de proceso: centrífuga, rotor, pH metro, balanza analítica, baño de María, refrigerador.
4. Cuarto de diagnóstico: microscopio óptico, deshumificador.

G) Materiales y reactivos

1 Materiales: ropa sanitaria, guantes quirúrgicos, jeringuillas de 5 y 10 ml, frascos de cultivo, papel de aluminio, pipetas Pasteur, tubos graduados con tapa de 15 ml para centrifuga, probetas de 10 ml, vaso precipitado de 100 ml y 500 ml, gradillas, láminas portaobjeto, gradillas, cajas porta láminas.

Reactivos: Medio de cultivo RPMI 1640, fitohemaglutinina (PHA), colcemid, ácido acético glacial, metanol, EDTA, tripsina, cloruro de potasio, agua destilada, suero fetal bovino, L-glutamina.

H) Operaciones preliminares: Preparación de la cristalería, mediante el fregado y esterilización de la misma. Desinfección de incubadoras y flujo laminar con agua y detergente y posteriormente con alcohol al 70%.

I) Procedimientos.

1) Recepción: Las muestras se extraen en jeringuillas heparinizadas y se envían al cuarto de cultivo en el menor tiempo posible. A cada muestra se le asigna un número y se le da entrada en los libros de registro. Se cultivan 2 frascos por paciente, la sangre restante se guarda a 4°C por si fuera necesario resembrar. Está comprobado que la vitalidad celular en la sangre se mantiene por 7 días si las muestras son debidamente almacenadas 4°C.

2) Cultivo de linfocitos 48 y 72 horas.

- Se prepara una mezcla con 50 ml de medio RPMI 1640, 1 ml de fitohemaglutinina (PHA) y 0.5 ml de L-glutamina.

- Siembra o cultivo: 6 ml de la mezcla, 1 ml de suero fetal, 1 ml de sangre del paciente.

Se incuba a 37°C.

- En caso del cultivo de 48 horas se añade Colcemid a las 47 horas y del cultivo de 72 horas a las 69 horas.

3) Preparación de soluciones.

- Solución hipotónica: Se prepara la solución madre de KCL disolviendo 0.56g de KCL en 100 ml de agua destilada. Para la solución de trabajo se diluye la solución madre con agua destilada a partes iguales.

- Solución de fijación (Solución de Carnoy): metanol - ácido acético en proporción 3:1.

- Etapas del proceso:

1. Añadir 70 µl de Colcemid durante 7 minutos a 37°C

2. Centrifugar por 10 minutos a 1200 rpm.

3. Hipotonía: añadir 8 ml de solución hipotónica, la primera pipeta de 2,5 ml se adiciona gota a gota y las demás de forma rápida.

4. Incubar a 37°C durante 20 minutos.

5. Prefijación: Se añaden 8 gotas de fijador, resuspender y dejar en reposo por 10 minutos.

6. Centrifugar durante 10 minutos a 1200 rpm.

7. Eliminar sobrenadante.

8. Fijación: añadir 2,5 ml de solución fijadora gota a gota e inmediatamente 2,5 ml de forma rápida.

9. Dejar en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se puede guardar por 24 o 48 horas en refrigerador.

10. Centrifugar 10 minutos a 1200 rpm.

11. Realizar lavados consecutivos hasta obtener un sobrenadante transparente y un pellet blanco.

12. Para extender se resuspende la muestra en 0,5 ml de fijador.

13. Extensión: El agua donde se colocan las láminas portaobjeto limpias debe tener una temperatura aproximada de 37°C, se dejan caer 4 a 5 gotas desde una altura de 10 cm, se rotula la lámina para su identificación y se deja secar.

Anexo 6: Procedimientos normativos operacionales de la técnica de obtención de cromosomas para diagnóstico prenatal en vellosidades coriónicas y placentarias.

Título. Técnica de obtención de cromosomas para diagnóstico prenatal en vellosidades coriónicas y placentarias.

A) Objetivo: Obtener cromosomas fetales a partir de células de vellosidades coriónicas y placentarias.

B) Definiciones: Cultivo directo: técnica de cultivo en la que se adiciona colcemid inmediatamente que la muestra es recibida en el laboratorio.

C) Responsabilidades: Esta técnica se desarrolla en el laboratorio de citogenética del Centro provincial de genética médica de Villa Clara. Como responsables de su cumplimiento está todo el personal calificado que labora en el área.

D) Alcance: áreas de cultivo y proceso del laboratorio de citogenética

E) Condiciones de seguridad.

1. Las normas internacionales de riesgo biológico deben aplicarse en las áreas de muestras biológicas.

2. No manipular alimentos en el área de trabajo.

3. Usar guantes durante la manipulación del material biológico.

4. Lavarse las manos luego de manipular las muestras.

5. Las agujas que se desechen deben ser despuntadas y las jeringuillas lavadas y eliminadas en depósitos especiales.

6. Uso de ropa sanitaria dentro del área de riesgo.

8. No pipetear con la boca reactivos ni colorantes.

9. En caso de pincharse con una aguja de una muestra deberá lavarse las manos con abundante agua y desinfectarse con alcohol.

F) Equipamiento y Locales:

1. Locales de fregado de citogenética: destilador de agua, horno de esterilización, auto clave.

2. Cuarto de siembra: flujo laminar, incubadora, microscopio invertido

3. Cuarto de proceso: plancha con temperatura, pH metro, balanza analítica, refrigerador doméstico.

4. Cuarto de diagnóstico: microscopio óptico, deshumificador.

G) Materiales y reactivos

1. Materiales: ropa sanitaria, guantes quirúrgicos, placas petri de 3,5 cm de diámetro, jeringuillas (5cc, 10cc, 20cc), frascos de cultivo, papel de aluminio, pipetas Pasteur, instrumento para extensión de vellosidades, probetas de 10 ml, vaso precipitado de 50 y 100 ml, gradillas, láminas portaobjeto, cajas porta láminas.

Reactivos: medio de cultivo RPMI 1640, suero fetal de ternera, ácido acético, etanol, colcemid, citrato de sodio, agua destilada, botellón de CO₂ (gas).

H) Operaciones preliminares: desinfección de incubadoras y flujo laminar con agua y detergente y posteriormente con alcohol al 70%. Preparación de la cristalería: fregado y esterilización.

I) Procedimientos:

1) Recepción: Las muestras se reciben en el laboratorio en frascos estériles con medio de transporte desde el lugar de extracción en el menor tiempo posible. A cada muestra se le asigna un número y se inscribe en el libro de registro de diagnóstico prenatal. De acuerdo a la cantidad de mg de cada muestra se determina cuantos frascos sembrar (habitualmente 2 placas Petri de 3,5 cm de diámetro).

2) Cultivo directo de vellosidades coriónicas y placentarias

- Se siembran 2 placas Petri por paciente en flujo laminar bajo condiciones de esterilidad, en cada uno se añade 3 ml de medio de cultivo y entre 5 y 10 mg de vellosidades. Se adiciona 70µl de colcemid.

- Las placas Petri de cultivo se ubican en la incubadora de CO₂ a 37°C y 5% de este gas durante 2 horas.

3) Preparación de soluciones.

Solución hipotónica. Solución de Citrato de sodio al 1%

Solución de fijación: Alcohol etílico - ácido acético en proporción 3:1.

4) Procesamiento de la muestra

1- Se decanta el medio de cultivo con una pipeta Pasteur.

2- Se realiza choque hipotónico con solución de citrato de sodio al 1% durante 20 minutos a 37°C

3- Se decanta la solución hipotónica

4- Se adiciona solución fijadora de alcohol etílico y ácido acético glacial en proporción 3:1 durante 30 minutos.

5- Se decanta solución fijadora

6- Se adiciona fijador y se repiten los pasos 5 y 6 dos veces con intervalo de 10 minutos entre ellos.

7- Se decanta el fijador.

8- Se adiciona 0,3 ml de solución de ácido acético al 60% durante 5 minutos.

9- Se realiza la extensión en láminas portaobjetos sobre plancha con temperatura de 37°C.

Anexo 7: Procedimientos normativos operacionales de la técnica de obtención de cromosomas para diagnóstico prenatal en líquido amniótico.

Título. Técnica de obtención de cromosomas para diagnóstico prenatal en líquido amniótico.

A) Objetivo: Obtener cromosomas fetales a partir de células del líquido amniótico.

B) Definiciones: Tripsinización: acción de la enzima tripsina sobre las células amnióticas adheridas al fondo del frasco, mediante la cual se obtienen células libres.

C) Responsabilidades: esta técnica se desarrolla en el laboratorio de citogenética del Centro provincial de genética médica de Villa Clara. Su cumplimiento es responsabilidad del personal calificado que labora en el área.

D) Alcance: áreas de cultivo y proceso del laboratorio de citogenética

E) Condiciones de seguridad.

1. Las normas internacionales de riesgo biológico deben aplicarse en las áreas donde se manipulan muestras biológicas.
2. No se pueden manipular alimentos en el área de trabajo.
3. Usar guantes durante la manipulación del material biológico.
4. Lavarse las manos luego de manipular las muestras.
5. Las agujas que se desechen deben ser despuntadas y las jeringuillas lavadas y eliminadas en depósitos especiales.
6. Uso de ropa sanitaria dentro del área de riesgo.
8. No pipetear con la boca reactivos ni colorantes.
9. En caso de pincharse con una aguja de una muestra deberá lavarse las manos con abundante agua y desinfectarse con alcohol.

F) Equipamiento y locales:

1. Locales de fregado de citogenética: destilador de agua, horno de esterilización, autoclave.
2. Cuarto de siembra: flujo laminar, incubadora, microscopio invertido
3. Cuarto de proceso: centrífuga, rotor, pH metro, balanza analítica, baño de María, refrigerador.
4. Cuarto de diagnóstico: microscopio óptico, deshumificador.

G) Materiales y reactivos

1. Materiales: ropa sanitaria, guantes quirúrgicos, jeringuillas de 5, 10 y 20 ml, frascos de cultivo, papel de aluminio, pipetas Pasteur, tubos graduados con tapa de 15 ml para centrifuga, probetas de 10 ml, vaso precipitado de 100 ml y 500 ml, gradillas, láminas portaobjeto, gradillas, cajas porta láminas.

Reactivos: Amniomax, ácido acético, metanol, colcemid, EDTA, tripsina 1:250, Bacto-tripsina, Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , Giemsa, NaCl 0.9%, agua destilada, botellón de CO_2 (gas).

H) Operaciones preliminares: desinfección de incubadoras y flujo laminar con agua y detergente y posteriormente con alcohol al 70%. Preparación de la cristalería: fregado y esterilización.

l) Procedimientos:

1) Recepción: Las muestras se reciben en el laboratorio en jeringuillas estériles traídas desde el lugar de extracción en el menor tiempo posible. A cada muestra se le asigna un número y se inscribe en el libro de registro de diagnóstico prenatal para cultivo de líquido amniótico. De acuerdo a la cantidad de mililitros recibidos en cada muestra se determina cuantos frascos de cultivos se sembrarán (preferentemente 3 frascos), la muestra restante se guarda a 4°C para resiembra. Está comprobado que la vitalidad celular en el líquido amniótico se mantiene por 21 días, debidamente almacenados 4°C.

2) Cultivo de líquido amniótico

- Se siembran 3 frascos por pacientes en flujo laminar bajo condiciones de esterilidad, en cada uno se añade 3 ml de líquido amniótico y 3 ml medio de cultivo Amniomax.

- Los frascos de cultivo se colocan en la incubadora de CO₂ a 37°C y 5% de este gas durante 9 días, deben quedar con media rosca floja para permitir el intercambio de gases.

- Al noveno día se elimina el contenido de cada frasco de cultivo y se añaden 3 ml de Amniomax en el flujo laminar.

- A las 24 horas del cambio se evalúa el crecimiento celular del cultivo al microscopio invertido.

- Los cultivos primarios se procesan entre los 9 y 14 días, es indispensable la presencia de 5 colonias con división celular activa. Si el crecimiento no es satisfactorio a los 14 días se evalúa resiembra, o se repite el caso.

- Aquellos casos de crecimiento celular pobre (menos de 5 colonias con activa división celular), o colonias confluidas con pocas células en división deben ser subcultivados, para estimular el crecimiento celular. El subcultivo se realiza eliminando del frasco los restos de medio viejo, se realizan tres lavados con 1 ml de EDTA estéril, se decanta, se añaden 1 ml de EDTA y 1 ml de solución de tripsina estéril, se pone el frasco cerrado en incubadora a 37°C por 4 minutos, pasado ese tiempo se evalúa al microscopio invertido, y si el desprendimiento celular es óptimo se añaden 3 ml de medio Amniomax. Si la mayoría de las células no se desprenden se golpea al frasco con la palma de la mano hasta lograr el desprendimiento mecánico y se le añade el medio de cultivo fresco. Este proceso debe ser realizado en el flujo laminar. El frasco subcultivado se coloca de nuevo en la incubadora, con media rosca floja para permitir el intercambio de gases.

- El frasco subcultivado debe estar listo para procesar a las 48 horas de realizado el subcultivo, ya que se observará una capa celular uniforme con una activa división celular.

3) Preparación de soluciones.

Solución hipotónica. Se prepara la solución madre de KCL disolviendo 0,56g de KCL en 100 ml de agua destilada. La solución de trabajo se prepara diluyendo la solución madre con agua destilada a partes iguales.

Solución de fijación: Solución de Carnoy de metanol - ácido acético en proporción 3:1.

4) Procesamiento de la muestra

1- 24 horas antes de la cosecha cromosómica se realiza cambio de medio de cultivo.

- 2- Añadir 70µl de Colcemid a cada frasco a procesar e incubar durante 3 horas a 37°C.
- 3- Pasado este tiempo el contenido del frasco de cultivo se traslada al tubo de centrifuga.
- 4- Se hacen tres lavados con 1 ml EDTA al frasco de cultivo.
- 5- Se añade 1 ml de EDTA y 1 ml de tripsina con el objetivo de desprender las células de la pared del frasco, se deja actuando entre 3-5 minutos a 37°C.
- 6- Se detiene la acción de la tripsina con la solución del tubo de centrifuga y se corrobora al microscopio invertido que no queden células adheridas a la pared del frasco.
- 7- Si el desprendimiento celular no es óptimo se repite a partir del paso 5.
- 8- El contenido del frasco de cultivo se traslada al tubo de centrifuga y se centrifuga a 1200 rpm durante 10 minutos.
- 9- Se decanta el sobrenadante, el pellet se rompe suavemente.
- 10- Hipotonía: se comienza a añadir la solución hipotónica gota a gota hasta llegar a 7 ml. Esta solución debe tener temperatura de 37°C. Se mantiene la muestra en hipotonía durante 30 minutos a 37°C
- 11- Prefijación: se añaden 8 gotas de fijador fresco gota a gota (metanol – ácido acético en proporción 3:1)
- 12- Se centrifuga 10 minutos a 1200 rpm.
- 13- Se decanta el sobrenadante y se añade fijador fresco gota a gota hasta 6 ml. Se deja a temperatura ambiente por 30 minutos.
- 14- Se centrifuga 10 minutos a 1200 rpm.
- 15- Se decanta y se realiza una segunda fijación hasta 5 ml.
- 16- Se centrifuga 10 minutos a 1200rpm.
- 17- Se decanta el sobrenadante, se dejan 0.5 ml.
- 18- Extensión: El agua donde están colocadas las láminas debe tener una temperatura aproximada de 36°C, se deja caer desde una altura de 10 cm 3-4 gotas de la suspensión celular, se identifica la lámina y se deja secar.
- 19- Las láminas extendidas y debidamente rotuladas con el número del caso y fecha de extensión se guardan a 37°C durante 72 horas.

Anexo 8: Procedimientos normativos operacionales de la técnica de obtención de cromosomas de tejidos fetales sólidos (piel, tendón y riñón).

Título: Técnica de obtención de cromosomas de tejidos fetales sólidos (piel, tendón y riñón).

A) Objetivo: Obtener cromosomas fetales a partir de tejidos fetales sólidos.

B) Definiciones: Tripsinización: acción de la enzima tripsina sobre las células adheridas al fondo del frasco, mediante la cual se obtienen células libres.

C) Responsabilidades: esta técnica se desarrolla en el laboratorio de citogenética del Centro provincial de genética médica de Villa Clara. Su cumplimiento es responsabilidad del personal calificado que labora en el área.

D) Alcance: áreas de cultivo y proceso del laboratorio de citogenética

E) Condiciones de seguridad.

1. Las normas internacionales de riesgo biológico deben aplicarse en las áreas donde se manipulan muestras biológicas.
2. No se pueden manipular alimentos en el área de trabajo.
3. Usar guantes durante la manipulación del material biológico.
4. Lavarse las manos luego de manipular las muestras.
5. Las agujas que se desechen deben ser despuntadas y las jeringuillas lavadas y eliminadas en depósitos especiales.
6. Uso de ropa sanitaria dentro del área de riesgo.
8. No pipetear con la boca reactivos ni colorantes.
9. En caso de pincharse con una aguja de una muestra deberá lavarse las manos con abundante agua y desinfectarse con alcohol.

F) Equipamiento y locales:

1. Locales de fregado de citogenética: destilador de agua, horno de esterilización, autoclave.
2. Cuarto de siembra: flujo laminar, incubadora, microscopio invertido
3. Cuarto de proceso: centrífuga, rotor, pH metro, balanza analítica, baño de María, refrigerador.
4. Cuarto de diagnóstico: microscopio óptico, deshumificador.

G) Materiales y reactivos

1. Materiales: ropa sanitaria, guantes quirúrgicos, tijeras, pinzas, bisturí, jeringuillas de 5, 10 y 20 ml, frascos de cultivo, papel de aluminio, pipetas Pasteur, tubos graduados con tapa de 15 ml para centrifuga, probetas de 10 ml, vaso precipitado de 100 y 500 ml, gradillas, láminas portaobjeto, gradillas, cajas porta láminas.

Reactivos: Amniomax, ácido acético, metanol, colcemid, EDTA, tripsina 1:250, Bacto-tripsina, Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , Giemsa, NaCl 0.9%, agua destilada, botellón de CO_2 (gas).

H) Operaciones preliminares: desinfección de incubadoras y flujo laminar con agua y detergente y posteriormente con alcohol al 70%. Preparación de la cristalería: fregado y esterilización.

I) Procedimientos:

1) Recepción: Las muestras se reciben en el laboratorio en frascos estériles con medio de transporte, traídas en el menor tiempo posible desde el departamento de Anatomía Patológica donde fueron tomadas. A cada muestra se le asigna un número y se inscribe en el libro de registro. De acuerdo a la cantidad de tejido recibido se determina cuantos frascos de cultivos se sembrarán (preferentemente 2 frascos por cada muestra)

2) Cultivo de tejidos fetales sólidos

- En flujo laminar se procede a fragmentar el bloque de tejido en pequeños fragmentos utilizando pinzas, bisturí y tijeras estériles. Se realiza en placa Petri de cristal estéril de 6cm de diámetro con Solución salina amortiguada por fosfatos (PBS).

- Se siembran 2 frascos por muestra, se introducen entre 10 y 15 fragmentos de tejido en el frasco de cultivo y se adicionan 3 ml de medio Amniomax.

- Los frascos de cultivo se colocan en la incubadora de CO₂ a 37°C y 5% de este gas durante 9 días, deben quedar con media rosca floja para permitir el intercambio de gases.

- Al noveno día se elimina el contenido de cada frasco de cultivo y se añaden 3 ml de Amniomax en el flujo laminar.

- A las 24 horas del cambio se evalúa el crecimiento celular del cultivo al microscopio invertido.

- Los cultivos primarios se procesan entre los 9 y 14 días, es indispensable la presencia de 5 colonias con división celular activa.

- Aquellos casos de crecimiento celular pobre (menos de 5 colonias con activa división celular), o colonias confluidas con pocas células en división deben ser subcultivados, para estimular el crecimiento celular. El subcultivo se realiza eliminando del frasco los restos de medio viejo, se realizan tres lavados con 1 ml de EDTA estéril, se decanta, se añaden 1 ml de EDTA y 1 ml de solución de tripsina estéril, se pone el frasco cerrado en incubadora a 37°C por 4 minutos, pasado ese tiempo se evalúa al microscopio invertido, y si el desprendimiento celular es óptimo se añaden 3 ml de medio Amniomax. Si la mayoría de las células no se desprenden se golpea al frasco con la palma de la mano hasta lograr el desprendimiento mecánico y se le añade el medio de cultivo fresco. Este proceso debe ser realizado en el flujo laminar. El frasco subcultivado se coloca de nuevo en la incubadora, con media rosca floja para permitir el intercambio de gases. El frasco subcultivado debe estar listo para procesar a las 48 horas de realizado el subcultivo, ya que se observará una capa celular uniforme con una activa división celular.

3) Preparación de soluciones.

Solución hipotónica. Se prepara la solución madre de KCL disolviendo 0,56 g de KCL en 100 ml de agua destilada. La solución de trabajo se prepara diluyendo la solución madre con agua destilada a partes iguales.

Solución de fijación: Solución de Carnoy de metanol - ácido acético en proporción 3:1.

4) Procesamiento de la muestra

1- 24 horas antes de la cosecha cromosómica se realiza cambio de medio de cultivo.

2- Añadir 70µl de Colcemid a cada frasco a procesar e incubar durante 3 horas a 37°C.

3- Pasado este tiempo el contenido del frasco de cultivo se traslada al tubo de centrifuga.

- 4- Se hacen tres lavados con 1 ml EDTA al frasco de cultivo.
- 5- Se añade 1 ml de EDTA y 1 ml de tripsina con el objetivo de desprender las células de la pared del frasco, se deja actuando entre 3-5 minutos a 370C.
- 6- Se detiene la acción de la tripsina con la solución del tubo de centrifuga y se corrobora al microscopio invertido que no queden células adheridas a la pared del frasco.
- 7- Si el desprendimiento celular no es óptimo se repite a partir del paso 5.
- 8- El contenido del frasco de cultivo se traslada al tubo de centrifuga y se centrifuga a 1200 rpm durante 10 minutos.
- 9- Se decanta el sobrenadante, el pellet se rompe suavemente.
- 10- Hipotonía: se comienza a añadir la solución hipotónica gota a gota hasta llegar a 7 ml. Esta solución debe tener temperatura de 370C. Se mantiene la muestra en hipotonía durante 30 minutos a 370C
- 11- Prefijación: se añaden 8 gotas de fijador fresco gota a gota (metanol – ácido acético en proporción 3:1)
- 12- Se centrifuga 10 minutos a 1200 rpm.
- 13- Se decanta el sobrenadante y se añade fijador fresco gota a gota hasta 6 ml. Se deja a temperatura ambiente por 30 minutos.
- 14- Se centrifuga 10 minutos a 1200 rpm.
- 15- Se decanta y se realiza una segunda fijación hasta 5 ml.
- 16- Se centrifuga 10 minutos a 1200rpm.
- 17- Se decanta el sobrenadante, se dejan 0.5 ml.
- 18- Extensión: El agua donde están colocadas las láminas debe tener una temperatura aproximada de 360C, se deja caer desde una altura de 10 cm 3-4 gotas de la suspensión celular, se identifica la lámina y se deja secar.
- 19- Las láminas extendidas y debidamente rotuladas con el número del caso y fecha de extensión se guardan a 370C durante 72 horas.

Anexo 9: Nomenclatura y abreviaturas en citogenética.

cen	Centrómero
del	Deleción
dn	De novo
dup	Duplicación
i	Isocromosoma
inv	Inversión
der	Cromosoma derivativo
h	Heterocromatina
mat	Materno
mar	Cromosoma marcador
p	Brazo corto
pat	Paterno
q	Brazo largo
r	Cromosoma en anillo
s	Satélite
stk	Tallos de los satélites
t	Translocación recíproca
+	(signo) Ganancia
-	(signo) Pérdida
/	(signo) Separa las líneas celulares presentes en el mosaico
[]	Indica el número de metafases con cada línea celular presente en el mosaico
?	(signo) Desconocido

