

Amniocentesis genética en población de alto riesgo. Experiencia en 3,081 casos

Mabel Cerrillo Hinojosa,* María Concepción Yerena de Vega,* María Elena González Panzzi,*
Héctor Godoy,* Jorge Galicia,** Alfonso Gutiérrez Nájara*

Nivel de evidencia: II-3

RESUMEN

Antecedentes: el diagnóstico prenatal es una ventaja para las parejas con determinados estilos de vida; garantiza la libre determinación de procrear un hijo afectado o uno sano y ante esto, en México sólo se realiza en hospitales privados, en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE y en el Instituto Nacional de Perinatología.

Objetivo: evaluar la frecuencia de alteraciones cromosómicas en 3,081 amniocentesis efectuadas a pacientes con alto riesgo de tener un hijo afectado.

Material y método: se analizaron los resultados de las amniocentesis realizadas entre septiembre de 1987 y agosto del 2006. El análisis de los datos se hizo mediante las tablas de frecuencia y Ji al cuadrado, con corrección de Yates y Mantel-Haenzel.

Resultados: la mayor parte de los estudios se solicitaron por edad materna, angustia materna y marcador bioquímico positivo. El 9% (≤ 14 semanas) fueron amniocentesis tempranas y 91% regulares (≥ 15 semanas). Las muestras se procesaron por triplicado en un sistema de cultivo abierto. El cariotipo fetal se obtuvo en 99.9% de los estudios, en 10.5 ± 1.4 días. Se detectaron cromosomopatías en 128 casos (4.2%); 103 fueron no balanceadas y 25 balanceadas. Las anomalías más frecuentes fueron: síndrome de Down 39%, translocaciones balanceadas 13.2%, síndrome de Edwards 12.5%, alteraciones de cromosomas sexuales 11.5% y aberraciones estructurales no balanceadas 7%.

Conclusiones: nuestros datos podrían utilizarse para ofrecer asesoramiento genético basado en la experiencia aquí reportada.

Palabras clave: amniocentesis, diagnóstico prenatal, cariotipo, alteración cromosómica.

ABSTRACT

Background: Prenatal diagnosis is an advantage for couples with certain lifestyles, ensures self-determination of an affected child or procreate a healthy. However, Mexico has been performed only in private hospitals and the National Medical Center November 20 ISSSTE and the National Institute of Perinatology.

Objective: To evaluate the frequency of chromosomal abnormalities in 3081 amniocentesis performed in patients at high risk of having an affected child.

Materials and methods: we analyzed the results of amniocentesis performed between September 1987 and August 2006. Data analysis was done using frequency tables and chi-square, Yates corrected and Mantel-Haenzel.

Results: Most studies were requested by maternal age, maternal distress and positive biochemical marker. 9% (≤ 14 weeks) were early amniocentesis and 91% regular (≥ 15 weeks). The samples were processed in triplicate in an open cultivation system. The fetal karyotype was obtained in 99.9% of the studies, 10.5 ± 1.4 days. Chromosomal abnormalities were detected in 128 cases (4.2%), 103 were unbalanced and 25 balanced. The most frequent abnormalities were: Down syndrome 39%, balanced translocations 13.2%, 12.5% of Edwards syndrome, alterations in sex chromosomes and 11.5% unbalanced structural aberrations 7%.

Conclusions: Our data could be used to provide genetic counseling based on the experience reported here.

Keywords: amniocentesis, prenatal diagnosis, karyotype, chromosomal alteration.

RÉSUMÉ

Antécédents: le diagnostic prénatal est un avantage pour les couples menant des styles de vie particuliers : il fournit la libre détermination de procréer un enfant ayant une affection ou en bonne santé. Toutefois, au Mexique il est réalisé seulement aux hôpitaux privés et, tant au Centre Médical National 20 Novembre de l'ISSSTE comme à l'Institut National de Périnatalogie.

Objectif: faire l'évaluation de la fréquence des altérations chromosomiques dans 3,081 amniocentèses effectuées auprès des patientes ayant haut risque d'avoir un enfant affecté.

Matériel et méthode: on a fait l'analyse des résultats des amniocentèses réalisées entre septembre 1987 et août 2006. L'analyse des données a été faite au moyen des tables de fréquence et chi carré, avec correction de Yates et Mantel-Haenzel.

Résultats: la plupart des études a été demandée pour âge maternel, angoisse maternelle et marqueur biochimique positif. 9% (≤ 14 semaines) a été amniocentèses précoces et 91% régulières (≥ 15 semaines). Les échantillons ont été traités en triple exemplaire dans un système de culture ouverte. Le caryotype foetal a été obtenu dans 99.9% des études, en 10.5 ± 1.4 jours. On a détecté chromopathies dans 128 cas (4.2%) ; 103 ont été non balancées et 25 balancées. Les anomalies les plus fréquentes ont été : syndrome de Down 39%, translocations balancées

13.2%, síndrome d'Edwards 12.5%, alterações des chromosomes sexuels 11.5% et aberrations structurelles non balancées 7%.

Conclusions: nos données pourraient être employées pour offrir une assistance génétique basée sur l'expérience rapportée ici.

Mots-clés: amniocentèse, diagnostic prénatal, caryotype, altération chromosomique.

RESUMO

Antecedentes: O diagnóstico pré-natal é uma vantagem para os casais com determinados estilos de vida; pois garante a livre determinação de gerar um filho afetado ou um saudável. Entretanto, em México esses exames são somente realizados em hospitais privados, no Centro Médico Nacional 20 de novembro do ISSSTE e no Instituto Nacional de Perinatologia.

Objetivo: Avaliar a frequência de alterações cromossômicas em 3.081 amniocenteses efetuadas em pacientes com alto risco de ter um filho afetado.

Material e Método: Foram analisados os resultados das amniocenteses realizadas entre setembro de 1987 e agosto de 2006. As análises dos dados foram feitas mediante as tabelas de frequência e qui-quadrado com correção de Yates e Mantel-Haenzel.

Resultados: A maior parte dos estudos foi feita por idade materna, angustia materna e marcador bioquímico positivo. Em 9% (≤ 14 semanas) foram amniocenteses precoces e 91% regulares (≥ 15 semanas). As amostras foram processadas por triplicado em um sistema de cultivo aberto. O cariótipo fetal foi obtido em 99,9% dos estudos, em 10,5% 1,4 dias. Foram detectadas cromossomopatias em 128 casos (4,2%); 103 foram não balanceadas e 25 balanceadas. As anormalidades mais frequentes foram: síndrome de Down 39%, translocações balanceadas 13,2%, síndrome Edwards 12,5%, alterações de cromossomos sexuais 11,5% e aberrações estruturais não balanceadas 7%.

Conclusões: Nossos dados podem ser utilizados para oferecer assessoramento genético baseado em experiências aqui comunicadas.

Palavras-chave: Amniocenteses, diagnóstico pré-natal, cariótipo, alterações cromossômicas.

El diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas agrupa métodos que permiten identificar malformaciones en el feto ocasionadas por alteraciones cromosómicas, mutaciones génicas y enfermedades multifactoriales. La mayor parte de las alteraciones cromosómicas sucede en parejas con cromosomas sanos y se originan como eventos *de novo*, casi siempre durante la gametogénesis. Se estima que del 18 al 19% de los ovocitos y del 3 al 4% de los espermatozoides son aneuploides, por lo que no es sorprendente 1 de cada 13 concepciones tenga alteraciones cromosómicas con implicaciones médicas, económicas y sociales, no sólo para la familia, sino para

la sociedad en general.¹ Canadá, Estados Unidos, Israel, Australia y los países que integran la Comunidad Europea, entre otros, han establecido programas preventivos en poblaciones de alto riesgo. Como métodos para obtener células fetales utilizan la amniocentesis o la biopsia de vellosidades coriónicas.^{2,3} La demanda de estos estudios se incrementó debido al mayor conocimiento de la población general sobre los mismos; así como a los cambios sociales originaron que originaron que por razones económicas, culturales y forma de vida, las parejas decidieran tener menos hijos en etapas más tardías.¹

A pesar de los adelantos existentes y de las ventajas que ofrece el diagnóstico prenatal, éste sólo se realiza en pocos centros de México. En el sector salud, sólo el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE y el Instituto Nacional de Perinatología lo efectúan, el resto de los centros son privados. Los trabajos de Cerrillo y su grupo, en 1986⁴ y de Grether y sus colaboradores, en 1991,⁵ reportan una cantidad muy reducida de parejas a quienes se les realizó el diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas, por lo que el cálculo de riesgo de una pareja de procrear un hijo afectado se basó en datos obtenidos en otras poblaciones de otros países.

El propósito de este trabajo es mostrar los datos de 3,081 amniocentesis y determinar la frecuencia de alte-

* Clínica de Reproducción y Genética. Hospital Ángeles del Pedregal.

** División de Enseñanza e Investigación, Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE.

Correspondencia: Dra. Mabel Cerrillo Hinojosa, Camino Santa Teresa 1055-701, colonia Héroes de Padierna CP 10700 DF, México. Email: mabelgenetica@hotmail.com
Recibido: octubre, 2008. Aceptado: diciembre, 2008.

Este artículo debe citarse como: Cerrillo HM, Yerena VMC, González PME, Godoy H, Galicia J, Gutiérrez NA. Amniocentesis genética en población de alto riesgo. Experiencia en 3,081 casos. Ginecol Obstet Mex 2009;77(4):175-84.

La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

raciones cromosómicas en un grupo de población de alto riesgo, para establecer, con base en datos de la población mexicana, el riesgo que tiene una pareja de procrear un hijo afectado.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron a las pacientes que por su edad o antecedentes estaban en riesgo de tener un hijo con una cromosomopatía. A las pacientes de la Clínica de Reproducción y Genética y a las referidas para amniocentesis en la clínica, se les asesoró sobre genética antes de obtener la muestra. Se les informó sobre las ventajas, limitaciones, riesgos del procedimiento y del estudio citogenético. Leyeron y firmaron una hoja de consentimiento donde aceptaron las observaciones.

La amniocentesis se programó entre las semanas 15 y 17 de acuerdo a la última fecha de la menstruación o de un ultrasonido. El procedimiento lo realizaron médicos ginecoobstetras con un equipo ATL Ultramark 4, Aloka 500 y Phillips Envisor, con guía ultrasonográfica abdominal y en tiempo real. Previo a la amniocentesis, se les efectuó un estudio ultrasonográfico para determinar la semana de gestación, cantidad de líquido amniótico, localización de la placenta y búsqueda de alguna alteración fetal.

Las muestras se procesaron por triplicado; las primeras 63 se hicieron con técnica de subcultivo y medio de cultivo Ham F10 y las 3,018 restantes, con técnica directa y medio Chang C. Con las técnicas de bandas G o Q se analizaron, mínimo, 30 células (10 por cultivo), se microfotografiaron de seis a ocho metafases y de dos se hizo el cariotipo de acuerdo con el Sistema Internacional para Nomenclatura en Citogenética Humana (1995 y 2005).⁶ De las muestras hemáticas con cariotipo 46 XX se compararon los polimorfismos (variantes normales de algunos cromosomas) de las células amnióticas con la madre y las del padre. Se hicieron estudios moleculares a los casos que requirieron determinación exacta de la naturaleza de la alteración identificada en el cariotipo fetal. Para evaluar los resultados se realizaron pruebas de frecuencia de datos y *análisis de varianza* de dos factores (ANOVA, $p < 0.05$). La confirmación del diagnóstico se hizo directamente con el médico o vía telefónica con la paciente; en los casos en que se detectó algún problema se solicitó una muestra de sangre fetal, piel del feto o sangre del recién nacido.

RESULTADOS

De septiembre de 1987 a agosto de 2006 se estudiaron 3,081 muestras de líquido amniótico: 784 fueron de pacientes de la clínica (25.4%), 669 de pacientes referidas para punción por parte de médicos del grupo (21.6%) y de 1,629 se nos envió la muestra (52.9%).

Las solicitudes de amniocentesis más frecuentes fueron: edad materna (≤ 20 - ≥ 35 años), angustia materna, triplecuádruple marcador positivo, feto con malformaciones observadas por ultrasonido, hijo previo con síndrome de Down u otra cromosomopatía y familiar con síndrome de Down. Con menor frecuencia se solicitó el estudio por valores elevados o disminuidos de alfafetoproteínas en suero materno, o progenitores con una traslocación o inversión balanceada, enfermedad del embarazo (oligohidramnios, polihidramnios, etc.), progenitor con mosaicismo de cromosomas sexuales y determinación de sexo en pacientes con enfermedades ligadas al cromosoma X. Por diversas indicaciones se realizaron estudios de pacientes expuestas a teratógenos, hijos con malformaciones de causa desconocida y aborto de repetición. El número de estudios de acuerdo con la indicación se muestra en el cuadro 1.

La amniocentesis se realizó a la semana 14 o antes en 278 pacientes (9.05%); entre la semana 15 y 17, en 2,027 (65.9 %); de la 18 a la 20, en 606 (19.7%) y; después de 21 semanas, en 167 (5.4 %) (figura 1).

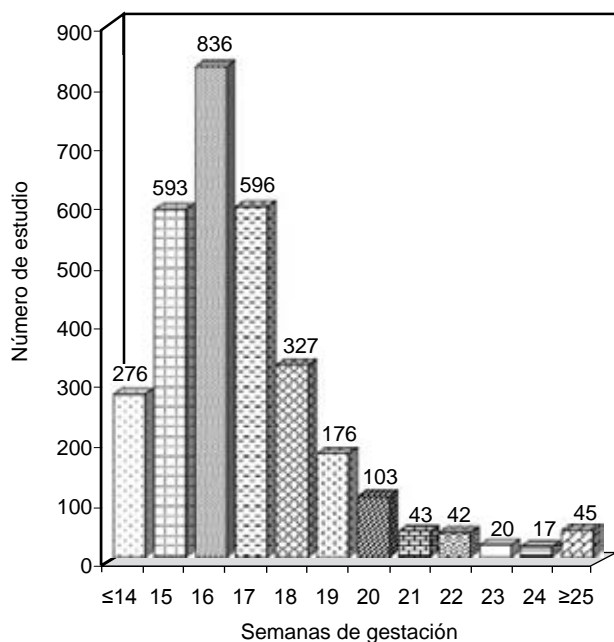
En 13 muestras, la cantidad o calidad no fueron adecuadas para obtener un resultado: en dos casos enviaron menos de 2 mL de líquido amniótico; de seis muestras nos proporcionaron 2-5 mL de líquido hemático con coágulos; dos muestras referidas de los estados de la República estaban contaminadas con bacterias y en tres casos la muestra fue de orina.

En nueve pacientes se repitió la amniocentesis; en tres casos el crecimiento celular no fue suficiente para terminar el estudio, en tres más para descartar un mosaico celular (que se confirmó sólo en un caso), en los casos 7 y 8 la muestra fue hemática (el cariotipo fetal 46,XX y el estudio de polimorfismos no fue informativo; en ambos casos se confirmó el cariotipo 46,XX en el segundo estudio), y en el noveno caso la mala calidad de las metafases no permitió descartar aberraciones estructurales en la primera muestra. En 3,064, de los 3,068 fetos con una muestra adecuada se obtuvo el cariotipo (99.9%). En cuatro casos no hubo resultados; en dos debido a falla del crecimiento

Cuadro 1. Indicación para amniocentesis en 3,076* casos

	n = 3,076	Total (%)
Edad materna ($\leq 19 - \geq 35$)	1968	(63.97)
Angustia materna (≤ 35 años)	375	(12.18)
Hijo previo con síndrome de Down	54	(1.75)
Hijo con cromosomopatía (excepto síndrome de Down)	33	(1.07)
Portador de translocación o inversión	17	(0.55)
Progenitor con mosaico celular	7	(0.22)
Antecedentes familiares de síndrome de Down	52	(1.68)
Triple/cuádruple marcador positivo	330	(10.76)
Alfa fetoproteínas elevadas o disminuidas	29	(0.94)
Determinación del sexo	4	(0.12)
Malformación fetal (ultrasonido)	65	(2.11)
Enfermedad del embarazo	16	(0.51)
Otros	126	(4.09)

*En cinco casos no se proporcionó la información.



*No se proporcionó información en cuatro casos

Figura 1. Semanas de gestación de 3,077 amniocentesis

celular (en uno de éstos se obtuvo una segunda muestra que tampoco tuvo desarrollo celular, por lo que se realizó hibridación *in situ* con fluorescencia para los cromosomas

13, 18, 21, 'X' y 'Y' sin resultado) y en los dos restantes, por problemas técnicos con la incubadora. El cariotipo fue normal en 2,936 fetos (95.8%); 1,471 (50.1%) fueron del sexo femenino y 1,465 (49.9%) del masculino. En 128 (4.1%) se identificó una cromosomopatía, de las cuales 103 (80.4%) fueron fetos con alguna alteración no balanceada (hubo pérdida o ganancia completa o parcial de uno o varios cromosomas) y 25 (19.54%) con una alteración balanceada (cuadro 2).

Cuadro 2. Resultados de 3,081 amniocentesis

	n 3081	Total (%)
Con resultado	3064	(99.86)
Cariotipo normal	2936	(95.82)
46,XX	1471	(50.1)
46,XY	1465	(49.9)
Cariotipo alterado	128	(4.18)
No balanceado	103	(80.46)
Balanceado	25	(19.54)
Muestra no adecuada	13	
Sin resultado	4	(0.14)

El 52% de las alteraciones se observaron en fetos del sexo femenino y 48% en fetos del sexo masculino. El 89% de los fetos afectados se identificó en los grupos de edad materna avanzada, fetos con malformaciones detectadas por ultrasonido, triple-cuádruple marcador positivo y en progenitores con una translocación-inversión.

De los 103 fetos con algún cariotipo no balanceado, 91 tuvieron pérdida o ganancia de uno o más cromosomas y 12 ganancia o pérdida parcial de un cromosoma. Las aberraciones numéricas observadas fueron: 49 casos de síndrome de Down (uno por mosaico), 16 de síndrome de Edward, 7 con síndrome de Turner, 5 con síndrome de Patau, 3 con síndrome de Klinefelter, 2 varones XYY, 2 mosaicos de cromosomas sexuales, 4 trisomías por mosaico (cromosomas 7, 16 y 20) y 2 triploidías, las cuales se identificaron en embarazos de 16 y 21 semanas. La indicación para realizar el estudio fue por malformaciones en un feto y en el otro, por triple marcador positivo para trisomía 18 (cuadro 3).

Las 12 aberraciones estructurales no balanceadas fueron: siete traslocaciones (tres heredadas, dos de novo y dos sin información, pues no se realizó cariotipo a la pareja), dos cromosomas en anillo por mosaico, dos cromosomas marcadores extra, uno isatelado y heredado

Cuadro 3. Alteraciones numéricas observadas en 91 cariotipos fetales

Alteraciones numéricas	91
A. Cromosomas autosómicos	74
Síndrome de Down (feto: masculino 26, femenino 23, uno por mosaico)	49
Síndrome de Edward o trisomía 18 (feto: masculino 11, femenino 5)	16
Síndrome de Patau o trisomía 13 (feto: masculino 2, femenino 3, mosaico 1)	5
Trisomía 7 por mosaico (feto masculino)	1
Trisomía 16 por mosaico (feto femenino)	1
Trisomía 20 por mosaico (feto masculino 1, femenino 1)	2
B. Cromosomas sexuales	15
Síndrome de Turner (45,X)	7
Síndrome XXX (47,XXX)	1
Síndrome de Klinefelter (47,XXY)	3
Síndrome XYY (47,XYY)	2
Mosaicos: 45,X/46,XX 45,X/46,XY	2
C. Triploidias	2
69,XXX, feto sexo femenino 9,XXY feto sexo masculino	

de la madre y el otro no bisatelitado y de novo, y un isocromosoma de brazos cortos de un cromosoma 12 de novo. La indicación, semanas de gestación, afectación y el desenlace del embarazo se muestran en el cuadro 4.

En los 25 fetos con aberración estructural balanceada hubo siete translocaciones recíprocas, todas heredadas, 10 translocaciones robertsonianas (cuatro heredadas, dos de novo y cuatro sin información) y ocho inversiones pericéntricas (cinco heredadas y tres de novo) (cuadros 5 y 6).

En 13 casos se observó un mosaico celular (células normales y alteradas en el mismo individuo, en al menos 2 de 3 cultivos). En 3 de los 13 casos se proporcionó piel fetal o sangre del recién nacido, confirmándose el cariotipo fetal en dos, un mosaico de trisomía 20 y otro de trisomía 21 y no se confirmó uno de cromosomas sexuales. Con estudio molecular se confirmó el cromosoma 15 en anillo. De 12 estudios se tuvo información de cómo finalizó el embarazo, cuatro tuvieron fenotipo normal al nacimiento. De los mosaicos de trisomía 20, trisomía 7 y uno de cromosomas sexuales, seis tenían malformaciones. Los mosaicos de trisomía 21, 13 y 16, el isocromosoma 12p y el mosaico 45,X/46,X,r(Y), todos se interrumpieron, excepto la trisomía 16 y en

los fetos con cromosoma 15 en anillo y 13 por translocación 13;13 más un cromosoma marcador, el embarazo se interrumpió, pero no se proporcionó información.

En cuatro casos se contaminó la muestra con tejido materno y se observaron células 46,XX y 46,XY. En tres casos predominaron las células masculinas; el líquido amniótico fue color ámbar en dos y hemático en otro. Se diagnosticó un feto del sexo masculino, lo que se confirmó al nacimiento. El cuarto caso, con líquido amniótico color ámbar, tuvo la misma proporción de células femeninas y masculinas, informándole a su médico la posibilidad de intersexo o de un feto masculino sano. El recién nacido fue de sexo masculino sin afectación.

En los fetos en los que se identificaron inversiones pericéntricas del cromosoma 9 (con puntos de rompimiento en las bandas p11 y q13) y cromosomas acrocéntricos con satélites grandes o dobles satélites, los cariotipos se reportaron como variantes normales. En 16 de 1,465 fetos del sexo masculino (1%) se observó un cromosoma Y con pérdida de heterocromatina del brazo largo (banda q12). Los primeros cariotipos se reportaron como variantes normales, a partir del estudio del cromosoma Y con técnicas moleculares, que muestran que las microeliminaciones en la banda q11 (ahí se encuentran los genes responsables de la espermatogénesis) se relacionan con infertilidad. Se informó que un número reducido podría tener problemas con su fertilidad, porque la pérdida de material podría abarcar parte de la banda q11.

Del seguimiento efectuado a las parejas con diagnóstico de feto con alteración cromosómica se proporcionó información en 100 casos (78%). De 79 parejas con una alteración no balanceada, 61 (77%) decidieron no continuar con el embarazo: 32 con síndrome de Down, uno de ellos por translocación 13;14, once con síndrome de Edward, seis con síndrome de Patau, dos de los cuales se derivaban de translocaciones 13;13, un producto triploide y cuatro con síndrome de Turner y seis con una aberración estructural no balanceada. Catorce parejas decidieron continuar el embarazo (18%): tres con síndrome de Down, en uno de ellos el embarazo fue gemelar, los mosaicos con trisomías 7, 16 y 20, el síndrome XXX, dos con síndrome de Klinefelter, los dos con síndrome XYY, un mosaico 45,X / 46,XX y un producto con un marcador extra bisatelitado de origen materno. Se perdieron, espontáneamente, cuatro productos (6%), uno con síndrome de Down, uno con síndrome de Edward, uno con síndrome

Cuadro 4. Aberraciones estructurales no balanceadas en 12 cariotipos fetales

Indicación	Edad	SG	Afectación	Observaciones
Edad	42	16	Síndrome de Patau Feto femenino con trisomía 13 por translocación 13;13.	Interrupción
Edad	41	19	Síndrome de Pallister Feto femenino con mosaico cromosómico de un isocromosoma de brazos cortos del cromosoma 12	<i>De novo.</i> Hijo previo con síndrome de Klinefelter Interrupción
Edad	44	16	Feto femenino con mosaico cromosómico de un cromosoma 15 en anillo (16.6%)	Confirmado con FISH. Interrupción
Edad	43	19	Feto femenino con material extra en brazos largos de un cromosoma 13	Quiste nucal, hidrotórax. Interrupción
Edad	41	16	Síndrome de Patau. Feto femenino con trisomía 13, con translocación 13;13 (64%) y cromosoma marcador; además de la translocación 13;13 (36%).	<i>De novo.</i> Interrupción
Edad	42	16	Feto femenino con cromosoma marcador extra no bisatelitado	Interrupción
Hijo con síndrome de Down	29	16	Feto femenino con síndrome de Down por translocación 14;21	Interrupción
Hijo con síndrome de Down	30	15	Feto femenino con marcador extra bisatelitado	Heredado. Madre con marcador
Madre portadora t(7;11)	33	16 18	Feto femenino con translocación no balanceada 7;11	Heredada. Interrupción
Madre portadora t(13;16)	32	15	Feto femenino con translocación no balanceada 3;16	Heredada. Interrupción
Feto con malformaciones	28	13	Feto con cromosoma Y? en anillo y línea 45,X	Interrupción
Feto con malformaciones	29	23	Feto masculino con material extra en el cromosoma 4.	Heredada. Malformación en el sistema nervioso

SG: Semana de gestación

de Patau por mosaico y un producto triploide. Se obtuvo información del recién nacido en 21 de 25 parejas con algún feto con una translocación o inversión balanceada, 19 fueron normales y dos con una inversión pericéntrica del cromosoma 2, aparentemente balanceada y de novo, mostraron dismorfias y en uno de ellos, además, retraso psicomotor.

El tiempo requerido para obtener el resultado dependió de la metodología utilizada y de la cantidad y características de la muestra. En las primeras 61 muestras el cariotipo se obtuvo en 15.7 ± 2.6 días y en los 3,003 restantes en 10.5 ± 1.4 días si el líquido amniótico fue ámbar (ANOVA, $p < 0.000001$) y en 12.7 ± 2.8 días si el líquido fue hemático (ANOVA, $p < 0.000016$).

En las amniocentesis realizadas en la clínica se perdieron cinco embarazos, dos el día de la punción (uno fue el producto triploide) y tres después de las cinco semanas de realizado el procedimiento.

COMENTARIOS

En México, la frecuencia de alteraciones cromosómicas es de 1 en 151 nacidos vivos.¹ Con base en estos datos puede deducirse que un porcentaje pequeño de la población tiene la probabilidad de concebir un hijo con una alteración cromosómica. Antes de que pudiera estudiarse el cariotipo del feto, las opciones eran arriesgarse a tener un hijo con afectación, interrumpir el embarazo o, simplemente,

Cuadro 5. Translocaciones balanceadas en 17 cariotipos fetales.

Indicación	Edad	SG	Resultado	Observaciones
Edad materna	37	16	Feto masculino. Translocación robertsoniana 13;14	<i>De novo</i> . Fenotipo normal al nacimiento
Edad materna	39	16	Feto masculino. Translocación robertsoniana 13;14	Padre portador, dos abortos previos en la pareja. Heredada
Edad materna	36	12	Feto femenino. Translocación robertsoniana 13;14	<i>De novo</i> . Fenotipo normal al nacimiento
Edad materna	42	15	Feto femenino. Translocación recíproca 1;13	Heredada. Padre portador
Angustia materna	31	16	Feto femenino. Translocación recíproca 9;12	Heredada? Hijo de otra pareja con deficiencia mental.
Angustia materna	29	15	Feto femenino. Translocación recíproca 6;18	<i>De novo</i> . La alteración se observó en dos de tres cultivos
Hijo previo con malformaciones	33	16	Feto femenino. Translocación robertsoniana 13;14	Heredada? Hijo malformado, clínicamente con trisomía 13
Hijo previo con malformaciones	33	16	Feto femenino. Translocación recíproca 9;12	Heredada. Madre portadora de la translocación
Madre portadora de t(4;12)	32	15	Feto femenino. Translocación recíproca 4;12	Heredada. Fenotipo normal al nacimiento
Madre portadora de t(4;12)	33	15	Feto femenino. Translocación recíproca 4;12	Heredada. Fenotipo normal al nacimiento
Madre portadora der(13;14)	41	16	Feto masculino. Translocación robertsoniana 13;14	Heredada
Madre portadora der(13;14)	32	17	Feto femenino. Translocación robertsoniana 13;14	Heredada
Madre portadora t(1;5)	32	16	Feto masculino. Translocación recíproca 1;15	Heredada Fenotipo normal al nacimiento
Padre portador der(13;14)	33	16	Feto masculino. Translocación robertsoniana 13;14	Heredada Fenotipo normal al nacimiento
Padre portador de t(3;14)	34	16	Feto femenino. Translocación recíproca 3;14	Heredada Fenotipo normal al nacimiento
Madre portadora t(14;18)	32	15	Feto masculino. Translocación recíproca 14;18	Heredada
Cuádruple marcador positivo Síndrome de Down	30	21	Feto masculino. Translocación robertsoniana 14;21	Fenotipo normal al nacimiento

SG: Semana de gestación

no embarazarse. Las parejas en riesgo requieren recibir información de sus posibilidades y opciones de tener hijos sanos, de preferencia antes de la concepción, pues la experiencia internacional demuestra que quienes tienen un riesgo de 10 a 15% o, incluso mayor, con frecuencia desisten de tener un embarazo, a menos que el diagnóstico prenatal sea posible. Ahora las parejas tienen menos hijos y en etapas más tardías de su vida; en consecuencia, se incrementó su riesgo de tener un hijo con alguna cromosomopatía. El estudio del cariotipo fetal mediante amniocentesis o biopsia de vellosidades coriónicas permite a los padres la opción de tener hijos sin alteraciones cromosómicas.¹ En nuestro país, hasta antes de 1987, cuando se iniciaron los estudios en la clínica, las parejas en riesgo que se decidían a tener un hijo debían viajar al

extranjero para realizarlos, pues sólo los derechohabientes del ISSSTE tenían acceso a ellos,⁴ por lo que establecer la metodología y un programa para hacer diagnóstico prenatal que siguiera criterios internacionales, fue una necesidad en México. En los países con una política nacional de diagnóstico citogenético prenatal generalmente son cinco las indicaciones aceptadas para hacer el estudio: 1) edad materna, 2) tener un hijo previo con una alteración cromosómica, 3) que uno de los padres sea portador de una translocación-inversión balanceada, 4) que la mujer padezca una enfermedad ligada al X y no haya diagnóstico molecular del gen afectado y 5) cuando por ultrasonido se observe un feto con malformaciones o enfermedad del embarazo.³ Hace poco se agregó una sexta indicación: marcadores bioquímicos o ultrasonográficos alterados.⁸

Cuadro 6. Inversiones pericéntricas aparentemente balanceadas en ocho cariotipos fetales

Indicación	Edad	SG	Diagnóstico	Observaciones
Edad materna	39	17	Feto masculino, inv (2)	Madre portadora. Siguiendo embarazo: trisomía 18 + inv (2). Historia de abortos en la familia. Heredada
Edad materna	37	18	Feto masculino, inv (20)	Gemelo A. Madre portadora. Fenotipo normal al nacimiento. Heredada
Edad materna	37	18	Feto masculino, inv (20)	Gemelo B. Madre portadora. Fenotipo normal al nacimiento. Heredada
Edad materna	36	16	Feto femenino inv (2)	Feto con pliegue nucal. Recién nacido con dismorfias y retraso psicomotor. <i>De novo</i>
Edad materna	40	17	Feto masculino, inv (1)	Fenotipo normal al nacimiento. <i>De novo</i>
Hijo con síndrome de Down	29	15	Feto masculino, inv (2)	Madre portadora. Heredada
Padre portador inv (2)	31	15	Feto femenino, inv (2)	Padre portador. Un hijo con inversión no balanceada. Heredada
Feto con malformaciones	23	14	Feto femenino. Inv (2)	Feto con higroma quístico. Dismorfias al nacimiento. <i>De novo</i>

SG: semana de gestación; inv: inversión pericéntrica; RN: recién nacido

Las otras indicaciones, como la angustia materna y exposición a teratógenos, sólo las aceptan algunos grupos.⁹ En nuestro estudio, la edad materna, la angustia de la pareja y el triple-cuádruple marcador positivo, fueron las indicaciones más frecuentes para amniocentesis. En los primeros 2,000 estudios tales indicaciones tuvieron una demanda de 69, 14 y 3%, respectivamente y en los últimos mil casos el número se redujo para edad materna (64%) y deseo de la pareja (12%), y se incrementó para triple-cuádruple marcador (11%). El aumento en el número de amniocentesis en pacientes con pruebas de escrutinio positivas también lo reportaron otros autores, como Tseng¹⁰ y Karaoguz.¹¹ En reportes de la bibliografía la indicación más solicitada también fue la edad materna, con una demanda de 61 a 94.5%. Tener un hijo con síndrome de Down o con alguna otra cromosomopatía fue la segunda indicación en países europeos, con una frecuencia del 9 al 16%, mientras que para otros grupos lo fue la angustia materna, haciendo por esa causa del 5 al 20% de los estudios.³

La amniocentesis es una parte importante del estudio prenatal, su realización requiere personal experimentado y equipo adecuado para evitar la pérdida de la gestación. La pérdida se atribuye al procedimiento, si ésta ocurre

en la siguiente semana de la punción.¹² En este estudio, en uno de los dos casos que se perdieron el mismo día del procedimiento, se diagnosticó un producto triploide (semana 16). Estos embarazos suelen terminar en aborto espontáneo del primer trimestre, excepcionalmente del segundo y con dificultad llegan a término. Así, de las cinco pérdidas ocurridas, sólo una (0.14%) de las 1,453 amniocentesis realizadas por médicos del grupo puede considerarse consecuencia del procedimiento. En el ámbito internacional se reporta un riesgo de 0.06 a 0.8%.¹²

En los países donde la interrupción del embarazo es legal, la ley establece que un aborto se considera cuando el feto tiene ≤ 20 de semanas de gestación o 500 g de peso. La amniocentesis que se realiza en las semanas 15 a la 18, permite obtener resultados antes de la vigésima semana. En nuestro estudio 9% fueron amniocentesis tempranas y 91% regulares; la mayor parte de ellas (84%) se efectuaron en la etapa ideal del embarazo (15 a 18 semanas). Las punciones que se realizaron después de las 18 semanas se hicieron porque el feto tenía malformaciones detectadas por ultrasonido o porque las pacientes solicitaron tardíamente el mismo.

En citogenética prenatal ha habido progresos tecnológicos importantes que han permitido evitar la contaminación

de los cultivos, identificar los cromosomas de manera más precisa y obtener resultados en menor tiempo. Seguir estos lineamientos nos permitió tener resultados en 99.9% de los casos, en un tiempo de 10.5 ± 1.4 días. En el ámbito internacional se piden resultados en 95% de los casos en un lapso de 10 a 15 días.¹ El porcentaje de éxito reportado por otros investigadores va de 95.7 a 99.7%.^{5,9,13}

En nuestro estudio, la frecuencia de alteraciones cromosómicas fue de 4.2%, misma que se ubica en el rango de 2.16 a 6.1% reportado por otros autores.^{3,14} Las diferencias observadas pueden explicarse, en parte, por los criterios para seleccionar la población de estudio. Algunos autores consideraron la edad materna desde los 34 años, otros a partir de los 38 años, algunos incluyeron mayor número de parejas por angustia materna, o portadoras de translocaciones, o con embarazos que por ultrasonido mostraron afectación. En forma individual, la trisomía 21 fue la cromosomopatía más frecuente (38%), seguida por la trisomía 18 (12.5%). En la bibliografía, la incidencia de síndrome de Down fue de 19 a 57% y, para trisomía 18, de 5 a 23%. El 12.5% de alteraciones en cromosomas sexuales en este estudio está dentro de 6.4 al 20% reportado en otros trabajos.^{5,13} Las alteraciones estructurales se identificaron en 29% de los fetos, porcentaje similar al observado por Tseng (30%)¹⁰ y Karaoguz (31%).¹¹

El asesoramiento genético es difícil cuando se diagnostica a la pareja un feto con un mosaico cromosómico, una translocación-inversión balanceadas de novo o contaminación con tejido materno, porque no siempre se puede inferir el fenotipo del recién nacido a partir de los hallazgos del cariotipo.¹ En tres revisiones de la bibliografía se reporta que la frecuencia de mosaicismo en estudios prenatales va de 0.1 a 0.3%, se confirma en 30% de los fetos con trisomía de autosomas, en 85% con alteración de cromosomas sexuales y en 65% con aberraciones estructurales y el fenotipo es normal en 80% de los recién nacidos.¹ En nuestro estudio, 0.42% de los fetos tuvieron mosaico cromosómico. En uno de los casos, la trisomía 13, las células alteradas (13 de 150) se observaron sólo en uno de tres frascos; de acuerdo con criterios internacionales éste debería considerarse pseudomosaico (las células alteradas se originan *in vitro* y el feto sólo tiene células normales) y así se informó a su médico. El estudio se efectuó a las 34 semanas porque el feto tenía malformaciones que sugerían trisomía 13; el embarazo se perdió espontáneamente antes de obtener el cariotipo

fetal y no fue posible confirmar el diagnóstico prenatal. El estudio de patología informó que el feto tenía alteraciones compatibles con trisomía 13. En los pocos casos de trisomía 16 reportados, 71% (15 de 21) presentaron malformaciones (cardiopatía, alteraciones esqueléticas, gastrointestinales y renales) y la solicitud para hacer el estudio fue por edad materna o por alfafetoproteínas (AFP) elevadas o gonadotropina coriónica alterada en suero materno. En nuestro caso, la paciente de 44 años de edad rechazó inicialmente la amniocentesis, se le hizo un triple marcador que salió positivo para síndrome de Down 1:11 y para un defecto del tubo neural 1:14, con alfafetoproteínas de seis múltiplos de la mediana (el valor normal es menor de 2.5 M.O.M). En relación con los mosaicos de trisomía 20, el 90% presenta fenotipo normal, como fue en nuestros dos casos. En la revisión sobre mosaicos de cromosomas sexuales, Johnson y Warburton^{15,16} demostraron que sólo 79% se confirman. La dificultad para confirmar los mosaicos cromosómicos se debe a que las células alteradas pueden originarse de las membranas extraembrionarias, estar confinadas sólo a la placenta, presentarse sólo en algunos tejidos fetales o ser muy reducido el número de células alteradas.

En la revisión de la bibliografía hecha por Warburton¹⁶ se reportó que la frecuencia de rearrreglos balanceados de novo fue de 0.085% y de estos, 7.5% tuvo malformaciones. En nuestro estudio se detectaron siete aberraciones estructurales de novo (0.22%) y dos de ellas con una inversión pericéntrica de un cromosoma 2, aparentemente balanceada. Nacieron con retraso mental moderado y dismorfias 28.6%. El elevado porcentaje de fetos afectados se explica por el número reducido de nuestros casos. La causa por la que estas alteraciones de novo puede originar afectación en el feto se debe a: una pequeña pérdida o ganancia de material no detectada en el cariotipo, a mutaciones en los puntos de rotura de los cromosomas implicados y a efectos de posición de un gen causados por el rearrreglo del material genético. En nuestros casos, cuando se identificó una de estas alteraciones, se indicó en el reporte que el rearrreglo era, aparentemente, balanceado.

La contaminación del líquido amniótico con células maternas es una fuente potencial de error. De acuerdo con los datos colectados en tres series,¹ hubo contaminación materna en 0.15% de los casos (367 de 149,323) y en todos, menos en uno, nacieron varones sanos. El 0.13% identificado en este estudio está dentro de lo reportado en la bibliografía.

Como puede inferirse de los datos obtenidos en nuestro trabajo, la frecuencia y tipo de alteraciones cromosómicas observadas es similar a la reportada en la bibliografía y el riesgo de tener un hijo afectado depende de la indicación para hacerse el estudio. A pesar de los logros obtenidos por este y otros grupos, el número de estudios que se realizan en nuestro país es aún muy reducido.

CONCLUSIONES

El laboratorio trabajó con los criterios técnicos y diagnósticos establecidos internacionalmente para este tipo de estudios. La indicación más frecuente para realizar la amniocentesis fue la edad materna y en los últimos cinco años se incrementó de manera considerable la indicación triple-cuádruple marcador positivo. El síndrome de Down por trisomía libre fue la alteración más frecuente, 38% de todas las cromosopatías. Se identificó un mosaico cromosómico en 0.42% de los fetos y se confirmó en 75% de los casos. La contaminación con tejido materno sucedió en 0.13% de las muestras y en todos los casos la asignación del sexo fetal fue la correcta. El 0.22% de las alteraciones identificadas fueron *de novo*. La certeza del diagnóstico fue de 99.94%. De las parejas de quien se tuvo información acerca del desenlace de su embarazo, 77% tuvo un feto con una alteración cromosómica no balanceada, y decidieron no continuar con el embarazo. Los datos obtenidos en esta y otras investigaciones muestran que en la República Mexicana existen las condiciones metodológicas y los criterios adecuados para realizar estos estudios; sin embargo, 20 años después de iniciados, hoy día sigue siendo un número reducido de parejas quienes tienen acceso a ellos. Es deseable que en el futuro inmediato un mayor número de parejas pueda realizarse un estudio prenatal, que les permitirá tomar una decisión sobre su embarazo, con el apoyo de la legislación actual (Artículo 148, fracción III, para el Distrito Federal, 27 enero, 2004).

REFERENCIAS

- Hsu LYF. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalitis through amniocentesis. In: Genetic Disorders and the fetus. Diagnosis, Prevention and Treatment. 3th ed. Baltimore: The John Hopkins University Press, 1992;pp:155-210.
- American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Practice Bulletins-Obstetrics: ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for Obstetrician-Gynecologists. Prenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormalities. *Obstet & Gynecol* 2001;97(5 pt 1):Suppl 1-12.
- Cornel MC. Variation in prenatal cytogenetic diagnosis: policies in 13 european countries, 1989-1991. EUROCAT Working Group. *European registration of congenital anomalies. Prenatal Diagn* 1994;14(5):337-44.
- Cerrillo M, Violante M, Yerena C, García P y col. Diagnóstico citogenético prenatal. Inicio de una nueva etapa dentro de la citogenética en México. *Ginec Obstet Mex* 1986;54:107-11.
- Grether P, Zavaleta MJ, De la Luna E, Sánchez V, y col. Diagnóstico prenatal en 350 amniocentesis. *Ginecol Obstet Mex* 1991;59:317-22.
- ISCN 2005. An internacional System for Human Cytogenetic Nomenclatura. Shaffer LG, Tomnerup N Basel: Karger, 2005.
- Salamanca F. Citogenética humana. 1ª ed. México Editorial Médica: Panamericana 1993;p:330.
- Summers AM, Langlois S, Wyatt P, Wilson RD. Society of Obstetrician and Gynaecologist of Canada. Prenatal screening for fetal aneuploidy. *J Obstet Gynaecol Can* 2007;29(2):146-79.
- Benn PA, Hsu LYF, Carlson A, Tonnenboom HL. The centralized prenatal genetics program of New York City III: The first 7,000 cases. *Am J Med Genet* 1985;20(2):369-84.
- Tseng JJ, Chou MM, Lo FC, Lai HY, et al. Detection of chromosome aberrations in the second trimester using genetic amniocentesis: experience during 1995-2004. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2006 Mar; 45(1):39-41
- Karaoguz MY, Bal F, Yakut T, Ercelen NO, et al. Cytogenetic results of amniocentesis materials: incidence of abnormal karyotypes in the Turkish collaborative study. *Genet Couns* 2006;17(2):219-30.
- Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L, Dukes K, et al. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2006;108(5):1067-72.
- Caron L, Tihy F, Dallaire L. Frequencies of chromosomal abnormalities at amniocentesis: over 20 years of cytogenetic analyses in one laboratory. *Am J Med Genet* 1999; 82(2):149-54.
- Kagan KO, Chitty LS, Cicero S, Eleftheriades M, Nikolaidis KL. Ultrasound finding before amniocentesis in selecting the method of analyzing the sample. *Prenat Diagn* 2007; 27(1):34-9.
- Johnson A, Wapner R. Mosaicism: implications for postnatal outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1997;10:126-31.
- Warburton D. Outome of cases of *de novo* structural rearrangements diagnosed at amniocentesis. *Prenat Diagn* 1984;4(1):69-80.