

## Análisis cromosómico en parejas con abortos recurrentes: Un estudio piloto

### Chromosomal analysis in couples with recurrent miscarriages: A pilot study

Picos-Cárdenas Verónica Judith<sup>1</sup>, Bernal-Ortiz María Fernanda<sup>2</sup>, Espinoza-Galván Salvador<sup>2</sup>, López-Castro Fabiola Karely<sup>2</sup>, López -Quintero Alba Esthela<sup>2</sup>, Mijangos-González Damaris Rocío<sup>2</sup>, Morgan-Ortiz Fred<sup>3</sup>, Trapero-Corona Irak Mijail<sup>4</sup>, Meza-Espinoza Juan Pablo<sup>5\*</sup>

1. Doctora en Genética Humana, Laboratorio de Genética, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sin., México. Servicio de Medicina Genética, Hospital General de Culiacán, Culiacán, Sin., México. Núcleo Académico Básico del Programa de Posgrado de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sin., México.
2. Residente de especialidad de ginecología y obstetricia, Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud-Hospital Civil de Culiacán.
3. Coordinación de Investigación, Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud.
4. Médico especialista en ginecología y obstetricia. Hospital civil de Culiacán. Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa.
5. Doctor en Genética Humana, Facultad de Medicina e Ingeniería en Sistemas Computacionales de Matamoros, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Matamoros, Tamps., México.

\* **Correspondencia:** Dr. Juan Pablo Meza-Espinoza.

Facultad de Medicina e Ingeniería en Sistemas Computacionales de Matamoros,

Universidad Autónoma de Tamaulipas, Matamoros, Tamps., México. Tel. 8682044000. E-mail: sirol1073@yahoo.com.mx

DOI <http://dx.doi.org/10.28960/revmeduas.2007-8013.v12.n2.003>

Recibido 15 de enero 2022, aceptado 15 de febrero 2022

#### RESUMEN

**Antecedentes.** El aborto recurrente impacta aproximadamente al 5% de las parejas que buscan tener hijos; una de sus principales causas es la existencia de anomalías cromosómicas en algún miembro de la pareja, las cuales producen gametos con desbalance genómico que llevan a embarazos incompatibles con la vida y se abortan a las pocas semanas de gestación. **Objetivo.** Realizar cariotipo a todas las parejas con abortos recurrentes del servicio de ginecología del Hospital General de Culiacán en el periodo de un año. **Material y Métodos.** Se realizó cariotipo a 34 parejas cuyos estudios anatómicos y hormonales resultaron normales y el perfil TORCH negativo. El cariotipo se realizó mediante cultivo de linfocitos estimulados con fitohemaglutinina, incubados a 37°C durante 72 h y teñidos con bandas GTG. Se analizaron 20 células por cada individuo; en pacientes en quienes se encontraron anomalías cromosómicas se analizaron 50 células y en mosaicos 100. **Resultados.** En siete parejas (20.6%) se detectó una anomalía cromosómica; en cinco la anomalía se presentó en mujeres y en dos en varones. Se identificaron tres translocaciones recíprocas [t(1;14)(p36;q32), t(5;13)(p13;q34) y t(6;17)(p23;p13)], una translocación Robertsoniana [rob(15;22)(q10;q10)], una inversión [inv(20)(p12q11.2)] y dos mujeres con aneuploidías del cromosoma X en mosaico. **Conclusiones.** La prevalencia de anomalías cromosómicas en este estudio es relativamente alta comparada con trabajos similares realizados en población mexicana, por lo que estos resultados resaltan la importancia de realizar análisis cromosómico a todas aquellas parejas que cursan con aborto recurrente y que aún no ha sido diagnosticada una causa específica.

**Palabras clave:** Aborto recurrente, cariotipo, anomalías cromosómicas.

#### Abstract

**Background.** Recurrent miscarriage impacts approximately 5% of couples trying to have children; one of its main causes is the presence of chromosomal abnormalities in one of the partners, which produce gametes with genomic imbalance that lead to pregnancies incompatible with life and are aborted within a few weeks of gestation. **Objective.** To perform karyotyping of all couples with recurrent miscarriages in the gynecology service of the General Hospital of Culiacán for one year. **Material and Methods.** Karyotyping was performed in 34 couples whose anatomical and hormonal studies were normal and TORCH profile was negative. Karyotyping was performed by culturing lymphocytes stimulated with phytohemagglutinin, incubated at 37°C for 72 h, and stained with GTG bands. Twenty cells were analyzed for every individual; in patients in whom chromosomal abnormalities were found, 50 cells were analyzed, and in mosaics 100. **Results.** In seven couples (20.6%) a chromosomal abnormality was detected; in five this was present in females and in two in males. Three reciprocal translocations [t(1;14)(p36;q32), t(5;13)(p13;q34), and t(6;17)(p23;p13)], one Robertsonian translocation [rob(15;22)(q10;q10)], one inversion [inv(20)(p12q11.2)] and two females with mosaic X chromosome aneuploidies were identified. **Conclusions.** The prevalence of chromosomal abnormalities in this study is relatively high, compared with similar studies carried out in the Mexican population, therefore these results highlight the importance of performing chromosomal analysis in all those couples with recurrent miscarriage and for whom a specific cause has not yet been diagnosed.

**Key words:** Recurrent miscarriage, karyotyping, chromosomal abnormalities.

#### Introducción

Los trastornos reproductivos tienen un gran impacto en la salud física y psicológica de una gran parte de la población, ya que afecta alre-

dedor del 10% de las parejas en edad reproductiva.<sup>1</sup> El aborto espontáneo, definido como la pérdida del embrión (o feto) antes de las 20 semanas de gestación,<sup>2</sup> es la principal causa de falla reproductiva, ya que afecta del 10% al 15%

de todos los embarazos clínicamente reconocidos, la mayoría de los cuales se producen durante el primer trimestre.<sup>3</sup> Por su parte, el aborto recurrente se define como la presencia de dos o más abortos consecutivos y afecta aproximadamente al 5% de las parejas que tratan de tener hijos.<sup>4</sup> Su etiología es multifactorial e incluye diversas causas, principalmente alteraciones hormonales y enfermedades autoinmunes de la madre, anormalidades del útero (endometriosis, miomas, útero septado, útero bicorne o unicorne), parásitos e infecciones (toxoplasmosis, citomegalovirus, herpes simple y rubéola)<sup>5</sup> así como alteraciones genéticas, particularmente anormalidades cromosómicas de los padres.<sup>6-15</sup> Es bien conocido que aunque los individuos portadores de anormalidades cromosómicas equilibradas (translocaciones recíprocas, translocaciones Robertsonianas, inversiones o inserciones) son, por lo general, fenotípicamente normales, tienen alto riesgo de producir gametos con desbalance genómico, los cuales, llevan a la formación de embarazos incompatibles con la vida, por lo que se abortan a las pocas semanas de gestación; sin embargo, existe una probabilidad de que algunos de ellos alcancen el nacimiento, pero con anormalidades en el fenotipo<sup>16</sup>. Por otra parte, debemos recordar que los portadores de anormalidades cromosómicas equilibradas pueden procrear hijos también portadores para tales anormalidades e hijos cromosómicamente normales, lo que dependerá del tipo de segregación del que se hayan originado

los gametos<sup>16</sup>. El análisis del cariotipo en personas con abortos recurrentes es muy importante para determinar si el problema está dado por alguna alteración cromosómica, lo cual es de suma importancia para un adecuado asesoramiento genético a la pareja. Por tal razón, nuestro objetivo fue realizar análisis cromosómico a todas las parejas que cursaron con abortos recurrentes, diagnosticadas en el servicio de ginecología del Hospital General de Culiacán en el periodo de un año.

### **Material y Métodos**

En total, 34 parejas con pérdidas gestacionales recurrentes fueron diagnosticadas por el servicio de ginecología y remitidas al laboratorio de citogenética del Hospital General de Culiacán. A todas ellas, se realizaron estudios anatómicos y hormonales, mismos que resultaron normales; además, el perfil TORCH (toxoplasmosis, rubéola, citomegalovirus y herpes simple) fue negativo para cada pareja, por lo que se les indicó análisis de cariotipo, para lo cual cada pareja firmó una carta de consentimiento informado.

El cariotipo se realizó mediante un cultivo de linfocitos de sangre periférica, estimulados con fitohemaglutinina e incubados a 37°C durante 72 h.<sup>17</sup> Para la descripción del cariotipo se utilizó la Nomenclatura Internacional de Citogenética Humana (ISCN) con el patrón de bandeo GTG.<sup>18</sup> Para determinar el cariotipo, se analizaron al menos 20 células por cada individuo; sin

embargo, en los pacientes en quienes se encontraron anomalías cromosómicas, se analizaron 50 células; en los mosaicos se analizaron hasta 100 células.

## Resultados

De las 34 parejas incluidas en el estudio, en siete de ellas (20.6%) se detectó una anomalía cromosómica; en cinco parejas la anomalía se presentó en la mujer y en dos se encontró en varones. Se identificaron cinco anomalías estructurales (tres translocaciones recíprocas, una translocación Robertsoniana y una inversión; Figura 1) y dos numéricas (mosaicos con aneuploidías del cromosoma X en mujeres). El cariotipo de los portadores se muestra en el cuadro 1.

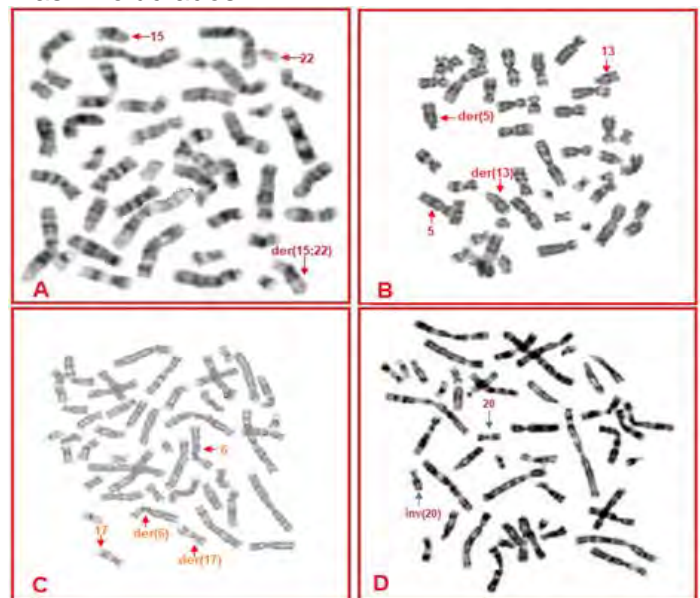
**Cuadro 1.** Cariotipo de los individuos que presentaron anomalía cromosómica

| Mujeres                        | Varones                                |
|--------------------------------|--|
| 46,XX,inv(20)(p12q11.2)[50]    | 46,XY,t(5;13)(p13;q34)[50]             |
| 45,XX,rob(15;22)(q10;q10)[50]  | mos46,XY,t(1;14)(p36;q32)[8]/46,XY[92] |
| 46,XX,t(6;17)(p23;p13)[50]     |  |
| mos45,X[6]/47,XXX[4]/46,XX[90] |  |
| mos47,XXX[4]/46,XX[96]         |  |

La pareja en la que la mujer fue portadora de la rob (15;22), además de cinco abortos reconocidos, tuvo dos hijos aparentemente sanos. Por su parte, la pareja en la que se detectó la t (6;17) tuvo dos abortos durante el primer trimestre del embarazo, sin lograr haber concebido hijos sanos hasta el último contacto. Mientras que la pareja en la que se detectó la t (5;13), ade-

más de varios abortos, tuvo dos hijos aparentemente sanos y dos niños que fallecieron en la vida perinatal, cuyo fenotipo fue compatible con la monosomía 5p. La inversión del cromosoma 20 fue un caso familiar, ya que se detectó en el papá y un hermano de la paciente. Así mismo, se recomendó a estas parejas realizar cariotipo a sus hijos sanos para descartar que sean portadores equilibrados de la alteración cromosómica.

**Figura 1.** Imágenes de células de los portadores de anomalías cromosómicas estructurales. **A.** Metafase que muestra la translocación rob (15;22). **B.** Metafase en la que se observa la t (5;13). **C.** Metafase que muestra la t (6;17). **D.** Metafase en la que observa la inv(20). Las flechas indican los cromosomas involucrados.



## Discusión

La prevalencia de anomalías cromosómicas en nuestro estudio fue del 20.6%, la cual es relativamente alta, comparada con otros estudios similares realizados en población mexi-

cana. Por ejemplo, Meza-Espinoza y cols.<sup>9</sup> detectaron alteraciones cromosómicas en 5.5% de 939 parejas con trastornos de reproducción, mientras que De la Fuente y cols.<sup>10</sup> reportaron un 7.6% en 158 parejas con abortos recurrentes. Como en otros estudios,<sup>6-15</sup> las alteraciones estructurales, especialmente las translocaciones recíprocas, fueron más comunes en nuestra población. En cuanto al sexo del portador de la anomalía cromosómica, nuestro estudio también difiere de los trabajos señalados, ya que mientras nosotros observamos una razón de 2.5 mujeres afectadas por cada varón, Meza y cols.<sup>9</sup> detectaron una relación de 1.17 mujeres por varón; por su parte, De la Fuente y cols.<sup>10</sup> reportaron 1.4 mujeres/varón. Las diferencias observadas entre estos estudios pudieran ser debidas principalmente al tamaño de la muestra, pero también a los criterios de selección de cada estudio.

Respecto al sexo del portador específicamente de las anomalías cromosómicas estructurales, a pesar del escaso número de parejas analizadas, nuestro estudio muestra una tendencia similar a lo descrito en otros trabajos; nosotros detectamos una razón de 1.5 mujeres por cada hombre, mientras que Meza y cols.<sup>9</sup> encontraron 1.7 mujeres por cada varón y De la Fuente y cols.<sup>10</sup> reportaron una relación de 2.0 mujer/hombre. La mayor incidencia de anomalías cromosómicas presentes en mujeres con pérdidas reproductivas, comparadas con el va-

rón, se ha tratado de explicar, que se debe, principalmente, a una desventaja selectiva de los espermatozoides cromosómicamente desequilibrados,<sup>19</sup> lo que significa que los gametos de un varón portador de una anomalía cromosómica son disfuncionales para lograr la fecundación, además de que la espermatogénesis en estos individuos está dañada, lo cual se relaciona, generalmente, con alteraciones en el proceso de sinapsis cromosómica durante la meiosis, por lo que muchos de ellos son estériles.<sup>20</sup> En relación a las anomalías numéricas, aunque los mosaicos de aneuploidías del cromosoma X presentes en dos mujeres son de baja proporción, éstos pueden explicar claramente la causa del aborto recurrente, particularmente el mosaico para la monosomía del X.<sup>21</sup> En nuestro estudio se detectó una mujer con monosomía del cromosoma X en mosaico, pero no podemos descartar que haya mujeres con líneas 45,X ocultas en aquellas que resultaron con cariotipo normal, de acuerdo con Ishikawa y cols.<sup>21</sup> De la misma manera, tampoco podemos ignorar que otras causas genéticas, no investigadas en este estudio, puedan estar presentes, entre las que se incluyen anomalías cromosómicas crípticas (sutiles),<sup>22</sup> polimorfismos de variaciones en el número de copias de diversos genes,<sup>23</sup> mutaciones puntuales<sup>24</sup>, polimorfismos de un solo nucleótido,<sup>25,26</sup> inactivación sesgada del cromosoma X,<sup>27</sup> inestabilidad cromosómica,<sup>28</sup> sitios cromosómicos frágiles<sup>29</sup> y

alteraciones epigenéticas.<sup>5</sup> Por tal razón, también sería importante realizar otro tipo de estudios, tales como hibridación *in situ* fluorescente (FISH), hibridación genómica comparativa (aCGH), reacción en cadena de la polimerasa (PCR), secuenciación, análisis de exoma completo, estudios de asociación de genoma completo (GWAS) y análisis de micronúcleos en las parejas en quienes no se detectan anomalías cromosómicas con la finalidad de investigar la existencia de otro tipo de alteraciones genéticas, y de esta manera determinar el verdadero impacto genético en la etiología de los abortos recurrentes.

### Conclusiones

Este estudio proporciona un panorama acerca de la prevalencia de anomalías cromosómicas en parejas con abortos recurrentes en nuestro estado, y aunque la muestra es pequeña, estos resultados resaltan la importancia de realizar análisis cromosómico a todas aquellas parejas que cursan con este problema y que aún no ha sido diagnosticada una causa específica. Cabe señalar que, en caso de detectar portadores de anomalías cromosómicas estructurales, es de particular interés el estudio de los hijos normales y familiares para el diagnóstico oportuno de portadores y de esta manera ofrecer asesoramiento genético para una mejor planeación en la toma de decisiones reproductivas.

### Referencias

1. Brugo OS, Chillik C, Kopelman S. Definición y causas de la infertilidad. *Rev Col Obstet Gin* 2003;54(4):228-48.
2. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: A committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98(5):1103-11.
3. Schaeffer AJ, Chung J, Heretis K, Wong A, Ledbetter DH, Martin CL. Comparative genomic hybridization-array analysis enhances the detection of aneuploidies and submicroscopic imbalances in spontaneous miscarriages. *Am J Hum Genet* 2004;74(6):1168-74.
4. Stephenson M, Kutteh W. Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol* 2007;50(1):132-45.
5. Arias-Sosa LA, Acosta ID, Lucena-Quevedo E, Moreno-Ortiz H, Esteban-Pérez C, Forero-Castro M. Genetic and epigenetic variations associated with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Assist Reprod Genet* 2018;35(3):355-66.
6. Portnoi MF, Joye N, van den Akker J, Morlier G, Taillemite JL. Karyotypes of 1,142 couples with recurrent abortion. *Obstet Gynecol* 1988;72(1):31-4.
7. Makino T, Tabuchi T, Nakada K, Iwasaki K, Tamura S, Iizuka R. Chromosomal analysis in Japanese couples with repeated spontaneous abortions. *Int J Fertil* 1990;35(5):266-70.

8. Fryns JP, Van Buggenhout G. Structural chromosome rearrangements in couples with recurrent fetal wastage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;81(2):171-6.
9. Meza-Espinoza JP, Ortiz Anguiano L, Rivera H. Chromosomal abnormalities in couples with reproductive disorders. *Gynecol Obstet Invest* 2008;66:237-40.
10. De la Fuente-Cortés BE, Cerda-Flores RM, Dávila-Rodríguez MI, García-Vielma C, De la Rosa Alvarado RM, Cortés-Gutiérrez EI. Chromosomal abnormalities and polymorphic variants in couples with repeated miscarriage in Mexico. *Reprod Biomed Online* 2009;18(4):543-8.
11. 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* 2011;28(2):145-9.
12. Niroumanesh S, Mehdipour P, Farajpour A, Darvish S. A cytogenetic study of couples with repeated spontaneous abortions. *Ann Saudi Med* 2011;31(1):77-9.
13. Ghazaey S, Keify F, Mirzaei F, Maleki M, Tootian S, Ahadian M, et al. Chromosomal analysis of couples with repeated spontaneous abortions in northeastern Iran. *Int J Fertil Steril* 2015;9(1):47-54.
14. Tunc E, Tanriverdi N, Demirhan O, Sulaymanova D, Cetinel N. Chromosomal analyses of 1510 couples who have experienced recurrent spontaneous abortions. *Reprod Biomed Online* 2016;32(4):414-9.
15. Frikha R, Kassas O, Elloumi M, Kamoun H. Cytogenetic screening in couples with recurrent pregnancy loss: A single-center study and review of literature. *J Hum Reprod Sci* 2021;14(2):191-5.
16. Miller OJ, Therman E. Clinical importance of translocations, inversions, and insertions In: *Human Chromosomes*. Springer, fourth Ed. New York, 2001: pp. 239-254.
17. Clouston HJ. Lymphocyte culture In: *Human Cytogenetics: Constitutional analysis, a practical approach*. Rooney DE (Ed.), Oxford University press, third ed. New York, 2001: pp. 33-54.
18. ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature. McGowan-Jordan J, Hastings Simons RJ, Moore S (eds). *Cytogenet Genome Res* 2020;160:341-503.
19. Kovaleva NV. Sex-specific chromosome instability in early human development. *Am J Med Genet A* 2005;136A(4):401-13.
20. Antonelli A, Gandini L, Petrinelli P, Marcucci L, Elli R, Lombardo F, et al. Chromosomal alterations and male infertility. *J Endocrinol Invest* 2000;23(10):677-83.
21. Ishikawa M, Hidaka E, Wakui K, Fukushima Y, Katsuyama T. Habitual abortion and high frequency of low frequent X chromosome monosomy mosaicism: detection by interphase FISH analysis of buccal mucosa cells and lymphocytes. *Rinsho Byori* 2000;48(10):955-9.
22. Durmaz B, Karaca E, Durmaz A, Atik T, Akin H, Cogulu O, et al. Subtelomeric rearrangements in patients with idiopathic intellectual

- disability/multiple congenital anomalies and recurrent miscarriages: seven years' experience. *Genet Couns* 2013;24(2):167-77.
23. Rajcan-Separovic E, Diego-Alvarez D, Robinson WP, Tyson C, Qiao Y, Harvard C, et al. Identification of copy number variants in miscarriages from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 2010;25(11):2913-22.
24. Tise CG, Byers HM. Genetics of recurrent pregnancy loss: a review. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2021;33(2):106-111.
25. Kim JO, Ahn EH, Sakong JH, An HJ, Park HS, Kim YR, et al. Association of miR-27aA>G, miR-423C>a, miR-449bA>G, and miR-604A>G polymorphisms with risk of recurrent implantation failure. *Reprod Sci* 2020;27(1):29-38.
26. Golestanpour H, Bahrami R, Dastgheib SA, Tabatabaei RS, Javaheri A, Karimi-Zarchi M, et al. A meta-analysis for association of eNOS VNTR 4b/a, -786 T>C and +894G>T polymorphisms with risk of recurrent pregnancy loss. *Arch Gynecol Obstet* 2021;304(5):1135-51.
27. Sui Y, Chen Q, Sun X. Association of skewed X chromosome inactivation and idiopathic recurrent spontaneous abortion: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2015 31(2):140-8.
28. Bobadilla-Morales L, Cervantes-Luna MI, García-Cobián TA, Gómez-Meda BC, de la Torre CO, Corona-Rivera JR, et al. Chromosome instability in a patient with recurrent abortions. *Genet Couns* 2009;20(2):153-9.
29. Toncheva D. Fragile sites and spontaneous abortions. *Genet Couns* 1991;2(4):205-10.