

Cariotipos conyugales en infertilidad y pérdidas gestacionales en Costa Rica

Couples karyotypes in infertility and pregnancy loss cases in Costa Rica

Castro Volio, I. y Ortiz Morales, F.

Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica.

RESUMEN

Menos del 10% de las parejas con historia de tres o más pérdidas gestacionales consecutivas muestran anomalías cromosómicas paternas o maternas. El objetivo de este trabajo fue investigar por primera vez en Costa Rica la causalidad de los defectos cromosómicos en los problemas de infertilidad y aborto habitual. Se estudiaron 71 parejas mediante análisis citogenético según técnicas usuales. Las parejas en las cuales se detectó cromosomopatía recibieron asesoramiento genético. De las 142 personas estudiadas, todas menos siete tuvieron el cariotipo normal. Esto representa una frecuencia de 4,9% de cromosomopatía en esta población. Los defectos cromosómicos encontrados fueron mos 45,X / 46,XX en dos mujeres y un caso cada uno de 45,XY, der (13;14) (q10;q10), 46,XX, t (8;21), 46,XY, t (?;18), mos 47,XX,+22 / 46,XX y mos 47,XY,+mar /46,XY. El asesoramiento genético y el diagnóstico prenatal son acciones de salud necesarias y adecuadas para prevenir el nacimiento de productos con defectos cromosómicos en estas parejas.

PALABRAS CLAVE

Aborto habitual. Citogenética. Translocaciones cromosómicas. Trisomía 22 en mosaico. Defectos cromosómicos. Costa Rica.

SUMMARY

Less than 10% of couples with three or more consecutive pregnancy losses show chromosomal defects on routine cytogenetic testing. The objective of this work was to study the role of these defects on infertility and recurrent abortion, for the first time in Costa Rica. Karyotype analysis of 71 couples showed normal results except for seven people. This renders a 4,9% frequency of chromosomal defects in this population. The abnormalities found were mos 45,X / 46,XX in two women and one case each of 45,XY, der (13;14)(q10;q10), 46,XX, t (8;21), 46,XY, t (?;18), mos

47,XX,+22 / 46,XX and mos 47,XY,+mar /46,XY. These couples received genetic counselling and were offered prenatal diagnosis in any subsequent pregnancy.

KEY WORDS

Recurrent abortion. Cytogenetics. Mosaic trisomy 22. Chromosomes. Translocations. Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

La pareja infértil es la que no logra la concepción después de un año de exposición al coito sin anticoncepción, sobre todo a una frecuencia óptima de cuatro veces por semana¹. En una proporción de estas parejas, existe la posibilidad de embarazos inadvertidos por pérdidas muy tempranas, incluyendo los embarazos que no alteran el ciclo menstrual, la tasa de aborto alcanza el 40%-50% de todas las concepciones². De los productos abortados en el primer trimestre, alrededor del 50% tienen cromosomopatía. Aproximadamente el 50% de estos defectos cromosómicos obedece a trisomías autosómicas (la más frecuente es la 47,+16), cerca de un 23% corresponde a monosomías X (45, X) y alrededor de 13% son triploidías (69 cromosomas). El resto comprende los defectos por tetraploidia (92 cromosomas), mosaicos y reacomodos o anomalías estructurales³.

Menos del 10% de las parejas con historia de aborto habitual (tres o más pérdidas gestacionales consecutivas) muestran anomalías cromosómicas paternas o maternas³. Portnoi et al investigaron 1.142 parejas con aborto habitual y encontraron 6,6% con defectos cromosómicos⁴. Las translocaciones cromosómicas son los reacomodos más comunes asociados con el aborto habitual. Se informa de translocación balanceada en 4,8% de las mujeres y en 2,4% de los hombres³. Es difícil identificar los riesgos reproductores de estas parejas, pues las personas portadoras de translocaciones son fenotípicamente normales y el reacomodo se sospecha hasta que se presenta la historia de infertilidad o de abortos recurrentes. En

TABLA 1
CARIOTIPOS ANORMALES EN PAREJAS CON INFERTILIDAD O ABORTO HABITUAL

Indicacion	Sexo	Cariotipo	Comentario
Tres perdidas gestacionales de 6, 8 y 2 meses	M	mos 47,XY,+mar/46,XY	Un cromosoma marcador extra en el 6% de las células.
Dos abortos consecutivos	M	45,XY,der (13;14)(q10;q10)	Translocación robertsoniana entre los cromosomas 13 y 14.
Cinco abortos consecutivos	F	mos 45, X / 46, XX	Síndrome de Turner en mosaico.
Tres abortos consecutivos	F	mos 47,XXm+22 / 46,XX	Trisomía 22 en mosaico.
Cuatro abortos	F	46,XX, t (8;21)	Translocación recíproca entre los cromosomas 8 y 21.
Abortos	M	46, XY, t (7;18)	Translocación entre un cromosoma 18 y otro no identificado.
Infertilidad	F	mos 45,X / 46,XX	Síndrome de Turner en mosaico.

los casos de aborto habitual con el antecedente de uno o más fetos malformados se encuentra el 25% de las parejas donde algún miembro tiene translocación balanceada. Para la historia de aborto recurrente y mortinato o recién nacido vivo con malformaciones, la cifra es de casi 10%². Además de las translocaciones balanceadas, se considera que el mosaicismo para el cromosoma X en mujeres juega un papel importante en el aborto habitual¹.

El objetivo de este trabajo fue investigar por primera vez en Costa Rica la responsabilidad de los defectos cromosómicos en los problemas de infertilidad y aborto habitual.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 71 parejas referidas de la consulta privada por historia de infertilidad o aborto recurrente desde el año 1989 hasta un corte hecho en diciembre de 2001. El cariotipo conyugal se solicitó una vez que se descartaron las causas más frecuentes del motivo de referencia. La mayoría de las parejas pertenecía a los estratos medios y altos de la población.

Se realizaron cultivos de linfocitos para obtener preparaciones cromosómicas de la siguiente manera: el medio de cultivo fue RPMI 1.640 (Gibco 12376-018) complementado con suero fetal bovino (Gibco 16000-044) al 10%, penicilina/estreptomina (Gibco 15140-122) 10.000 UI/ml / 10.000 µg/ml al 1%, α-glutamina (Gibco 21051-024) 200mM al 1% y fitohemaglutinina (10576-015) al 2%. Este medio se conserva como máximo 4 semanas a 4 °C. Se alicuota en tu-

bos plásticos estériles de centrifugar, 5 ml por tubo. El pH debe estar entre 6,8-7,4. Se inoculan 0,4 ml de sangre venosa total recolectada en tubos heparinizados (heparina de sodio o litio sin preservantes) por triplicado. Se incuban a 37 °C por 72 horas. Una hora antes de la cosecha se les agrega 50 µl de Colcemid (Gibco 15210-040) a cada tubo y se mantienen en incubación. Transcurrida la hora se centrifugan 10 minutos a 3.500 rpm y se descarta el sobrenadante. Se resuspende el botón celular con KCl 0,075M calentado previamente a 37 °C y se incuba a esa temperatura por 15 minutos. Transcurridos los 15 minutos en este choque hipotónico se centrifugan los tubos por 10 minutos a 3.500 rpm y se descarta el sobrenadante. Se resuspende el botón celular con fijador (metanol/acético glacial en una proporción 3:1) enfriado previamente a -20 °C. Entre la primera y la segunda fijación se deja transcurrir al menos una hora a 4 °C. Antes de gotear las láminas se debe hacer al menos tres fijaciones. Las preparaciones cromosómicas se dejan secar a temperatura ambiente. Antes del bandeado (GTG) las láminas se hornean durante toda la noche a 65 °C. Al día siguiente las preparaciones cromosómicas se bandean y se analizan según la nomenclatura y las normas internacionales⁵.

Las parejas en las cuales se detectó cromosomopatía recibieron asesoramiento genético por parte de uno de nosotros (ICV).

RESULTADOS

Se estudiaron 142 personas o 71 parejas, de las cuales todas, menos siete personas, tuvieron el carioti-

po normal (tabla 1). Esto representa una frecuencia de 4,9% de cromosomopatía en esta población.

DISCUSIÓN

En el SOREP de la Universidad de Quebec en Canadá se instaló una base de datos computarizada generada a partir de la literatura referente a estudios citogenéticos en parejas con pérdida gestacional recurrente. Hasta 1990 contenía información de 22.199 parejas, de las cuales el 4,7% incluía un miembro portador de una anomalía cromosómica⁶. Esta cifra es muy similar a la encontrada por nosotros en este estudio (4,9%).

En dos de nuestros casos encontramos el síndrome de Turner en mosaico (tabla 1). El síndrome de Turner (cariotipo 45, X) y sus variantes, ocurre en una de cada 2.500 recién nacidas. Se le llama así porque fue el Dr. Henry Turner el que describió por primera vez las características de las mujeres afectadas en el año 1938. También se le conoce con el nombre de monosomía X desde 1959, disgenesia gonadal y síndrome de Bonnevie-Ullrich. Es una monosomía altamente letal en el feto; sin embargo, las que consiguen sobrevivir a la gestación y parto tienen relativamente pocas anomalías asociadas. Se especula que la causa podría ser mosaicismo para una línea celular normal que ha pasado desapercibida, incluso mosaicismo confinado a la placenta. Probablemente hay uno o más genes en el cromosoma X que cuando están presentes en estado haploide en la embriogénesis temprana, producen el fenotipo Turner. Un gen candidato es *ZFX*. En aproximadamente el 75% de los casos el cromosoma X es de origen materno. El fenotipo en recién nacidas es variable, desde normal hasta bajo peso al nacer, orejas con rotación posterior, cuello alado y edema en manos y pies. En niñas mayores o adultas, se presenta estatura baja proporcionada y variedad de rasgos dismórficos, que incluyen ojos inclinados hacia abajo, orejas con rotación posterior, línea de nacimiento posterior del cabello baja, cuello alado, cuartos metacarpales cortos, cúbito valgo y pecho ancho. Las cardiopatías congénitas y anomalías renales son comunes, especialmente la coartación de la aorta. Los ovarios son sustituidos por una tira de tejido fibroso (disgenesia gonadal). Sin terapia hormonal, hay amenorrea primaria y ausencia de características sexuales secundarias. La inteligencia es normal o superior, aunque puede haber problemas en percepción espacial. Se tratan por el endocrinólogo con estrógenos y si se quiere elevar la talla final, también con hormona del crecimiento. Monosomía pura explica un poco más de la mitad de los casos, el resto obedece a variantes (mosaicismo y alteraciones estructurales del cromosoma

X). Los mosaicos en los que una línea celular 45,X coexiste con otra línea celular con cariotipo diferente, ocurren en el 15 a 20% de las mujeres con monosomía X. La línea celular normal 46,XX puede modificar el fenotipo y se abre la posibilidad de menarquía y hasta de embarazo en algunos casos, aunque con las consecuencias que ya hemos visto. Una revisión relacionada informa de la posibilidad de 2% de embarazos en casos de Turner en mosaico o con anomalías estructurales; de 173 embarazos en 80 mujeres con Turner, 30% terminaron en aborto, 7% obitaron, 20% de los recién nacidos vivos tenían cromosomopatía y solamente el 38% de las pacientes tuvo hijos sanos⁷.

Los reacomodos cromosómicos del tipo translocación son las anomalías estructurales más frecuentemente asociadas al aborto habitual y esta situación se refleja en nuestros datos (tabla 1). En la translocación robertsoniana 13;14 como la que presentó uno de nuestros casos, los brazos largos de los cromosomas acrocéntricos 13 y 14 se fusionan por el centrómero y se pierden los brazos cortos de ambos cromosomas. De esta manera, se forma un solo cromosoma más grande y que contiene la información genética de ambos cromosomas, el 13 y el 14. La pérdida de los brazos cortos no afecta la salud, pues estos pequeñísimos brazos contienen genes que están repetidos en otros cromosomas acrocéntricos. Los portadores, por lo tanto, no tienen 46 cromosomas como es normal, sino 45 cromosomas, puesto que dos de ellos se han fusionado en uno solo. Esta translocación es el tipo de rearreglo más frecuente en la raza humana. Se estima que una de cada 1.300 personas es portadora de translocación robertsoniana 13;14⁸. Los portadores no sufren consecuencias directas para su salud, puesto que la información genética está completa, nada sobra y nada falta, lo que sucede es que está ordenada de manera diferente. Los problemas podrían surgir cuando la persona portadora engendra un hijo, ya que la persona podría producir gametos desbalanceados, a los cuales les sobra o les falta material genético. Al unirse durante la fecundación un gameto desbalanceado con otro normal, resulta un producto con exceso o con falta de material genético y por lo tanto con malformaciones asociadas tan graves, que casi siempre son incompatibles con la vida, de manera que el producto muere temprano en el embarazo, incluso antes de que la mujer se percate de que está embarazada. Sin embargo, algunas veces los fetos logran escaparse de estos mecanismos naturales depuradores, y logran llegar al término del embarazo y nacer con múltiples malformaciones y condenados al retardo mental severo. La mortalidad de estos neonatos es, por lo tanto, muy elevada. El riesgo estimado de tener descendencia anormal por trisomía 13 para

los portadores de t(13;14) es pequeño, se calcula inferior al 0,4%. Cuando ya existe el antecedente de trisomía 13 el riesgo de recurrencia es menor que 2%. Lo sorprendente de este caso es que la translocación la heredó de la madre, puesto que ella mostró el mismo reacomodo; sin embargo, la señora refiere tener ocho hijos nacidos vivos y ningún aborto, a pesar de que está demostrado que cuando la translocación robertsoniana es materna, hay mayor riesgo de que el feto muestre un fenotipo desbalanceado.

En el caso de las translocaciones recíprocas, los cromosomas intercambian material, como en la t(8;21) en la cual un cromosoma número 8 y otro número 21 se fracturaron e intercambiaron segmentos (cuadro). La paciente tenía 26 años, útero didelfo, cuatro abortos y no tenía hijos. Otra pequeña translocación se presentó entre un cromosoma número 18 y otro cromosoma que no fue posible identificar (cuadro). El cromosoma 18 aparecía como un 18p+, es decir, el brazo corto o p se veía más grande que lo normal a expensas de una banda adicional G negativa terminal. En el caso de las translocaciones recíprocas el fenotipo de los progenitores es normal pero los gametos pueden ser desbalanceados y, por lo tanto, se generan productos con trisomías o monosomías parciales para los cromosomas involucrados en el reacomodo.

El caso de la paciente con trisomía 22 en mosaico (cuadro) es muy interesante, pues este es un hallazgo infrecuente, descrito por vez primera en 1977 (8). Esta cromosomopatía la presentó una joven de apariencia normal con historia de tres abortos consecutivos, recién llegada de China; la pareja se hizo acompañar por una intérprete. Lo que llama la atención en este caso es que la trisomía 22, aun en mosaico, se asocia con retardo mental, dismorfia facial y otras anomalías que la paciente no parecía presentar. Lamentablemente la pareja se trasladó a una alejada colonia agrícola y no se pudo dar seguimiento al caso. Otro hecho interesante es la frecuencia de 9,92% de defectos cromosómicos en 514 parejas chinas con dos o más abortos espontáneos de menos de 24 semanas gestacionales, pues esta cifra es bastante más alta que la que se informa para otras poblaciones⁹.

Otro mosaico, pero esta vez para un cromosoma marcador (mar), lo presentó el esposo de una mujer con historia de tres pérdidas gestacionales (cuadro). Al cromosoma marcador también se le llama cromosoma extra estructuralmente anormal o ESAC, por sus siglas en inglés, y correspondió en este caso a un pequeñísimo cromosoma supernumerario puntiforme en 6/100 figuras mitóticas estudiadas, el cual parecía ser inocuo, pues no causaba alteración algu-

na en el fenotipo del portador. Al repetir el estudio el cariotipo mostró ser normal, de manera que surge la posibilidad de un artificio *in vitro*.

CONCLUSIONES

El identificar cromosomopatía en uno o, aunque muy poco frecuente, en ambos miembros de la pareja, no solamente contribuye a esclarecer el cuadro clínico y a abandonar la búsqueda de tantos otros factores implicados en la pérdida gestacional, sino que permite el asesoramiento genético adecuado y oportuno y enfocar los esfuerzos hacia la obtención de un producto sano. Recientemente se ha logrado reducir la tasa de abortos espontáneos en mujeres portadoras de translocaciones balanceadas de 95% a 12,5%, gracias al diagnóstico genético preimplantación y la fertilización *in vitro*¹⁰. En Costa Rica tenemos suficiente experiencia con FIV y otras nuevas técnicas de reproducción asistida, pero aún no hemos aplicado la tecnología para hacer diagnóstico genético preimplantación. Por el momento, además del beneficio del asesoramiento genético, podemos ofrecer diagnóstico prenatal citogenético mediante amniocentesis, a las parejas en las que uno de sus miembros es portador de un problema cromosómico.

AGRADECIMIENTO

A Gerardo Escalante López, pionera de las nuevas tecnologías en reproducción asistida en Costa Rica, por su confianza al remitirnos sus pacientes para estudio citogenético. A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, por el apoyo recibido a través del Programa de Investigación «Citogenética Humana y Diagnóstico Prenatal» # 742-90-913.

BIBLIOGRAFÍA

1. Williamson RA, Elias S. Infertility and pregnancy loss. En: King RA, Rofter JI, Motulsky AG, eds. The genetic basis of common diseases. Nueva York: Oxford, 1992. p. 577-95.
2. Simpson JL, Golbus MS. Genetics in obstetrics and gynecology. 2ª ed. Filadelfia: Saunders, 1992. p. 181-200.
3. Pflueger SMV. Cytogenetics of spontaneous abortion. En: Gersen SL, Keagle MB, eds. The principles of clinical cytogenetics. Totowa, Nueva Jersey: Humana, 1999. p. 317-43.
4. Portnoi MF, Joye N, van den Akker J, Morlier G, Taillemite JL. Karyotypes of 1142 couples with recurrent abortion. *Obstet Gynecol* 1988;72:31-4.

5. Anónimo. ISCN An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Mitelman F, ed. Basilea: Karger, 1995:114 p.
6. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod* 1990;5:519-28.
7. Tarani L, Lampariello S, Raguso G, Colloridi F, Pucarelli I, Pasquino AM, Bruni LA. Pregnancy in patients with Turner's syndrome: six new cases and review of literature. *Gynecol Endocrinol* 1998;12:83-7.
8. Mollica F, Sorge G, Pavone L. Trisomy 22 mosaicism. *J Med Genet* 1977;14:224-5.
9. Tsui KM, Yu WL, Lo FM, Lam TS. A cytogenetic study of 514 chinese couples with recurrent spontaneous abortion. *Chin Med J* 1996;109:635-8.
10. Munne S, Morrison L, Fung J, Marquez C, Weier U, Bahce M, Sable D, Grundfeld L, Schoolcraft B, Scott R, Cohen J. Spontaneous abortions are reduced after preconception diagnosis of translocations. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15:290-96.

Correspondencia:
Isabel Castro Volio
INISA
Universidad de Costa Rica
2060 San Pedro
San José, Costa Rica
E-mail: icaastro@cariari.ucr.ac.cr