

## Cariotipos en pérdidas gestacionales: primeros 31 casos estudiados en Costa Rica

(Karyotypes in pregnancy losses, first 31 cases studied in Costa Rica)

Isabel Castro-Volio, Fernando Ortiz-Morales, Luisa Valle-Bourrouet

### Resumen

El Laboratorio ha recibido 31 muestras de restos de abortos desde 2005. Para 24 casos se tiene información acerca de la semana de edad gestacional en que se tomó la muestra. Todos los casos fueron pérdidas gestacionales tempranas, excepto uno con 26 semanas de embarazo. El promedio de edad gestacional para los casos de abortos tempranos fue de 8 semanas y 6 días. Todas las muestras tenían algún grado de contaminación bacteriana. Sin embargo, de 31, solamente no se lograron cultivos celulares en 7 muestras muy contaminadas. La tasa de fracaso de los cultivos fue, por lo tanto, del 22%. De los 24 cariotipos obtenidos, 15 fueron 46, XX, 3 fueron 46, XY y 6 resultaron anormales, para un 25% de cromosomopatía en estas muestras. Es posible que el porcentaje de cromosomopatía encontrado esté subestimado, debido a la contaminación de las muestras con células maternas. El tiempo promedio de respuesta del Laboratorio, para el 90 % de los casos, fue de 24 días.

**Descriptores:** pérdida gestacional, cariotipos, citogenética

### Abstract

The laboratory has received 31 samples of abortion material since 2005. For 24 cases, we have information about the gestational age at which the sample was taken. All cases were an early pregnancy loss except for one with 26 weeks of pregnancy. The average gestational age for cases of early abortion was 8 weeks and 6 days. All samples had some degree of bacterial contamination. However, out of 31 samples, we failed to obtain cell cultures only in 7 due to high contamination. Therefore, the failure rate of the cultures was 22%. Out of the 24 karyotypes obtained, 15 were 46, XX, 3 were 46, XY and 6 were abnormal, for a 25% of chromosome aberrations in these samples. It is possible that the percentage of abnormal chromosomes found is underestimated due to sample contamination with maternal cells. For 90% of cases, the average turn around time of the laboratory was 24 days.

**Keywords:** pregnancy loss, karyotypes, cytogenetics.

**Recibido:** 8 de febrero de 2013

**Aceptado:** 8 de agosto de 2013

Trabajo realizado en el laboratorio de Genética Humana Citomolecular, Instituto de Investigaciones en Salud INISA, Universidad de Costa Rica.  
✉ ISABEL.CASTRO@ucr.ac.cr

La pérdida gestacional precoz (PGP) es una experiencia frustrante y desgarradora, tanto para la paciente como para el médico. La PGP se define como la interrupción del embarazo antes de las 20 semanas de gestación, o con un peso fetal de < 500 g.<sup>1</sup> Es por desgracia la complicación más frecuente de la gestación humana, pues ocurre hasta en el 75% de todas las mujeres que intentan concebir.

La mayoría de estas pérdidas no son reconocidas y se producen antes o con la siguiente menstruación. Las que se reconocen dan como resultado de un 15% a un 20% de los abortos espontáneos (AE). Aproximadamente el 5% de las parejas que tratan de concebir tiene dos abortos involuntarios consecutivos, y cerca del 1% de las parejas tiene tres o más pérdidas consecutivas.<sup>1</sup>

En cuanto a la incidencia de la pérdida gestacional, la mayoría de los estudios demuestran una tasa de aborto involuntario espontáneo del 10% al 15%. Sin embargo, la verdadera tasa de pérdida temprana del embarazo es cercana al 50%, debido al alto número de embarazos químicos que no se reconocen entre las 2 y 4 semanas posteriores a la concepción. La mayoría de los fracasos en el embarazo obedecen a la falla de los gametos (por ejemplo, disfunción del espermatozoides o del ovocito). En un clásico estudio de Wilcox *et al* en 1988, 221 mujeres fueron seguidas durante 707 ciclos menstruales totales. Un total de 198 embarazos se lograron; de estos, 43 (22%) se perdieron antes de la aparición de la menstruación, y otros 20 (10%) fueron pérdidas clínicamente reconocidas.<sup>1</sup>

La probabilidad de un AE aumenta con cada aborto sucesivo involuntario. Los datos de varios estudios indican que después del primero, el riesgo basal de una pareja de tener otro AE es de aproximadamente el 15%. Sin embargo, si se producen dos AE, el consiguiente riesgo aumenta casi al 30%. La tasa es mayor para las mujeres que no han tenido por lo menos un niño nacido vivo. Varios grupos han estimado que el riesgo de pérdida del embarazo después de 3 abortos sucesivos, es del 30% al 45%, lo que es comparable con el riesgo de tener dos AE. Esta información provocó una controversia en cuanto al momento de la evaluación de diagnóstico y desde el 2008, se recomienda hacerlo después de dos abortos en lugar de tres.<sup>1,2</sup>

La etiología de la PGP es muy variada y usualmente controvertida. A menudo se presenta más de un factor etiológico. Los motivos más comunes de abortos involuntarios recurrentes son las siguientes: en primer lugar se ubican las causas genéticas, que son de tipo aneuploidía y otras cromosomopatías, pero también, aunque en menor grado, hay causas mendelianas o monogénicas y de herencia multifactorial. Otros factores y trastornos relacionados con esta temática son de tipo inmunológico, endocrinológico, anatómico, infeccioso, hematológico y ambiental.<sup>1,3,4</sup>

La edad gestacional en el momento del AE puede proporcionar pistas sobre la causa. Por ejemplo, casi el 70% de pérdidas en las primeras 12 semanas se deben a anomalías cromosómicas. Pero, las pérdidas debidas al síndrome antifosfolípido y a la incompetencia cervical tienden a ocurrir después del primer trimestre.<sup>1</sup>

El objetivo de esta publicación es informar acerca de los resultados obtenidos al hacer cariotipos en restos de aborto, los problemas encontrados y la manera de solucionarlos.

---

## Métodos

---

El Laboratorio de Genética Humana Citomolecular del Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) de la Universidad de Costa Rica, ha recibido 31 muestras de restos de abortos desde 2005. Para 24 casos, se tiene información acerca de la semana de edad gestacional en que se tomó la muestra. Todos los casos fueron PGP, excepto uno con 26 semanas de embarazo. El promedio de edad gestacional para los casos de PGP fue de 8 semanas y 6 días. Es indispensable que la recolección de la muestra se haga empleando la técnica

estéril en todo momento. Para cerciorarse de que esto es así, se inocula parte de la muestra en medios bacteriológicos. El resto del material de aborto se trabaja en condiciones estériles, tratando de identificar tejidos de origen embrionario, los cuales se pican en trocitos muy pequeños, que se inoculan en frascos T25 y en placas de Petri, junto con medio de cultivo. Tres días después, o incluso antes, se dispone de información sobre si la muestra estaba contaminada; en caso afirmativo, se agrega antibióticos al cultivo para controlar el crecimiento bacteriano. Una vez que se observan suficientes colonias celulares con actividad mitótica, el cultivo se cosecha por suspensión, precedida del uso de tripsina para despegar las células. Las preparaciones cromosómicas se bandean y se analiza un mínimo de 16 células, siguiendo las recomendaciones internacionales.<sup>5</sup>

---

## Resultados

---

Todas las muestras tenían algún grado de contaminación bacteriana. Sin embargo, no se lograron cultivos celulares solamente en 7 de las 31 muestras, que estaban muy contaminadas. La tasa de fracaso de los cultivos celulares fue, por lo tanto, del 22%.

De los 24 cariotipos obtenidos, 15 fueron 46,XX, 3 fueron 46,XY y 6 resultaron anormales, para un 25% de cromosomopatía (Cuadro 1). En el caso de la delección del cromosoma 9, para descartar o confirmar una anomalía estructural derivada del padre o de la madre, se les realizó el análisis cromosómico, el cual resultó normal en ambos. La delección, por lo tanto, se considera *de novo*.

El tiempo promedio de respuesta del Laboratorio, para el 90% de los casos, fue de 24 días.

---

## Discusión

---

En el 50% de los abortos citogenéticamente anormales en el primer trimestre, la causa es la trisomía autosómica. Puede surgir *de novo* debido a no disyunción meiótica durante la gametogénesis, en los padres con un cariotipo normal. Trisomías viables se han observado para los cromosomas 13, 18 y 21, pero no para la trisomía 14 ni para la 19.<sup>1,3,5</sup>

Lo que más sobresale en estos resultados es la distorsión de la tasa de productos femeninos y masculinos, la cual debería ser de aproximadamente 1:1.<sup>2</sup> La contaminación de las muestras con tejidos maternos es la explicación más lógica, pues aunque la cantidad de casos es pequeña, es improbable que se explique por el azar. Esto significa que muchos de los resultados 46,XX fueron erróneos, pues correspondían con el cariotipo materno y no con el del producto.

Debido a la contaminación bacteriana o a la presencia de células no viables, en el Laboratorio de Citogenética de la Clínica

**Cuadro 1. Cromosopatía en la pérdida gestacional precoz**

Cromosopatía	Edad gestacional	Comentarios
47,XY, + 14	No se informa	Trisomía 14
47,XX, + 18	11 semanas	Trisomía 18 (síndrome de Edwards)
47,XY, + 18	10 semanas	Trisomía 18 (síndrome de Edwards)
47,XX, + 21	10 semanas	Trisomía 21 (síndrome de Down)
47,XX, + 19	6 semanas	Trisomía 19
46,XX,del(9)(p?22)	8 semanas, 4 días	Deleción terminal del brazo corto del cromosoma 9

Mayo, son incapaces de establecer un cultivo viable en el 20% de las ocasiones.<sup>6</sup> En estos casos, la muestra no puede ser utilizada para el análisis de cromosomas, por lo que nuestro laboratorio ha decidido que la prueba de aneuploidía se inicie automáticamente, mediante la extracción de ADN y la aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente (QF-PCR). Mientras que la QF-PCR no es tan informativa como un análisis de los cromosomas, puede proporcionar información con respecto a varias de las anomalías numéricas más comunes, en los casos de aborto involuntario espontáneo y muerte fetal. Otra aplicación importantísima de este ensayo es que permite detectar la contaminación con células maternas.<sup>7</sup> Por lo tanto, resulta provechoso utilizar la QF-PCR y un perfil adaptado para las aneuploidías cromosómicas más comunes, las cuales implican los cromosomas 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22, X e Y.<sup>8</sup> Por razones de costo de los reactivos y por depender del uso del secuenciador de otra instancia universitaria, solo se ha realizado el estudio para las trisomías 13, 18 y 21, si la calidad de la muestra lo permite. Se espera que a corto plazo se consiga además utilizarlo para detectar la contaminación de la muestra con células maternas.

Es oportuno mencionar las precauciones y los factores que interfieren para conseguir resultados fiables. Desde el punto de vista técnico: la falta de células viables, la contaminación bacteriana, una larga demora entre la muerte fetal y la toma de la muestra de los restos del aborto, el exceso de tiempo de transporte de la muestra, la exposición de la muestra a temperaturas extremas y el tamaño excesivo, (lo ideal es que mida no más de 1 cm<sup>3</sup>). Desde el punto de vista biológico: pueden pasar inadvertidas sutiles anormalidades cromosómicas estructurales, el cultivo de células maternas en lugar de células fetales y, además, es posible no detectar el mosaicismo cromosómico debido a un error de muestreo estadístico (raro).<sup>6</sup>

Los tejidos adecuados para estudio citogenético incluyen vellosidades placentarias, corion (50 mg), amnios, piel u órganos internos, tales como el hígado, pulmón, riñón o bazo. Para la gestación temprana, puede ser enviado el embrión completo. Más tarde en la gestación, la sangre en un tubo de heparina de sodio también es adecuada. El envío de varios tipos de muestras aumenta la tasa de éxito del cultivo que, incluso en los laboratorios con el personal más experimentado, por lo general no supera el 85%.<sup>3</sup>

Los resultados obtenidos hasta el momento en el Laboratorio de Genética Humana Citomolecular del INISA, son comparables con los que se consiguen en la Clínica Mayo.<sup>6</sup> El tiempo de respuesta del Laboratorio también es muy bueno, pues es inferior a los 28 días, que es el máximo requerido, según las recomendaciones internacionales.<sup>5</sup> Es posible que el porcentaje de cromosopatía encontrado esté subestimado, debido a la contaminación de las muestras con células maternas.

Para obtener resultados fiables y oportunos del ensayo de cariotipo, es necesario que los ginecobstetras envíen muestras procurando la menor demora entre el momento del AE y la recolección, que la muestra sea pequeña y de origen embrionario o fetal, recolectada utilizando la técnica estéril, colocada en los recipientes de recolección y transporte facilitados por el Laboratorio, y que se haya producido la comunicación anticipada con éste para enviar el frasco y el medio de transporte de la muestra hasta el sitio de su recolección. Los contactos son los autores y los teléfonos: 2511-3049 y 2511-3293.

**Conflicto de interés:** los autores declaran no tener conflictos de interés ni reales ni potenciales.

## Referencias

- Petrozza JC, Berin I. Recurrent Early Pregnancy Loss. En: <http://emedicine.medscape.com/article/260495-overview>. Updated: Jul 9, 2012.
- Hogge WA, Byrnes AL, Lanasa MC, Surti U. The clinical use of karyotyping spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189:397-400; discussion 400-2.
- Bick RL, Madden J, Heller KB, Toofanian A. Recurrent Miscarriage: Causes, Evaluation, and Treatment. *Medscape General Medicine* 1998; 1. En: [http://www.medscape.com/viewarticle/722321\\_1](http://www.medscape.com/viewarticle/722321_1)
- 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* 2012; 27:2297-2302.
- Association for Clinical Cytogenetics and Clinical Molecular Genetics Society. Professional Standards Committee. En: [www.cmgs.org](http://www.cmgs.org)

## Cariotipos en pérdidas gestacionales/Castro-Volio *et al*

6. Dewald GW, Michels VV. Recurrent miscarriages: cytogenetic causes and genetic counseling of affected families. *Clin Obstet Gynecol* 1986;29:865-885
7. Malespín-Bendaña W, Ortiz-Morales F, Castro-Volio I. Diagnóstico molecular de cromosopatías fetales en Costa Rica. *Acta Méd Costarric* 2009; 51:36-40.
8. Diego-Álvarez D, García-Hoyos M, Trujillo MJ, González-González C, Rodríguez de Alba M, Ayuso C, *et al*. Application of quantitative fluorescent PCR with short tandem repeat markers to the study of aneuploidies in spontaneous miscarriages. *Hum Reprod* 2005; 20:1235–1243, doi:10.1093/humrep/deh781.