Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado. Maestría en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles

Maestrando
Lic. Jorge Carlos Antonio Doldan

Estudios citogenéticos prenatales en líquido amniótico en embarazadas de alto riesgo del Hospital Materno Neonatal e Instituto de Genética Humana.

Tesis de Maestría presentada para obtener el título de "Magíster en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles"

"Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto, queda sujeto al complimiento de la Ley N°26.899".

Directora
Dra. Lic. Irene Stetson

Posadas, Misiones 2020

Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

ESTUDIOS CITOGENETICOS PRENATALES EN LIQUIDO AMNIOTICO EN EMBARAZADAS DE ALTO RIESGO DEL HOSPITAL MATERNO NEONATAL E INSTITUTO DE GENETICA HUMANA

MAESTRANDO:

Licenciado en genética Jorge Carlos Antonio Doldan

Instituto de Genética Humana de Misiones (IGeHM)

Fundación Parque de la Salud

Tesis, para optar por el título de Magíster en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles

Directora

Dra. Lic. Irene STETSON, ex Jefe de Genética Hospital Materno Neonatal, Docente de FCEQyN, actual Presidente del Comité de Ética e Investigación de HMN

Universidad Nacional de Misiones

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales

Posadas Misiones

2020

Dedicatoria

A mi familia, mis padres Rosa y Jorge Doldan y mis hermanos Manuel y Laura, que son la fuerza y ganas de seguir adelante.

Agradecimientos

A mi directora de Tesis, Dra. Irene Stetson, por aceptar dirigirme esta maestría y además por ser la persona que me abrió las puertas en el Sector de Genética del Hospital Dr. Ramón Madariaga en el año 2002, lugar donde me encuentro trabajando hasta el día de la fecha.

A mi Jefa del IGeHM, Lic. Mónica Ludojoski, por permitirme realizar el proyecto de investigación de dicha institución.

A todos mis compañeros del laboratorio, especialmente a los licenciados Gastón Sioli, Karina Caceres, Cecilia Martinez y Viviana Engelmann, por sus ganas de aprender e implementar nuevas técnicas citogenéticas y su apoyo a este proyecto.

Resumen

Introducción. El diagnóstico prenatal es el conjunto de pruebas diagnósticas que se lleva a cabo durante el embarazo para intentar identificar la presencia de posibles defectos congénitos en el feto o bien factores de riesgo maternos que pueden requerir controles estrictos a lo largo de la gestación. El cariotipo en líquido amniótico- tema que no ocupa en la tesis- requiere una técnica invasiva, denominada amniocentesis. Se presenta nuestra experiencia en la implementación y puesta a punto de dicha técnica. **Metodología**. Se trata de un estudio cuantitativo, experimental y descriptivo de corte transversal. **Lugar.** Hospital Materno Neonatal (HMN) e Instituto de Genética Humana de Misiones (IGeHM), Parque de la Salud de la Provincia de Misiones. **Intervenciones.** Se analizaron los resultados de 30 muestras de líquido amniótico, durante el periodo comprendido entre 24/05/17 al 06/10/19. **Resultados.** La indicación más frecuente para solicitar diagnóstico prenatal en LA fue por anomalías ecográficas. De las 30 muestras procesadas, obtuvimos crecimiento celular en 24 casos (80%), y en 6 casos (20%) fueron fallos del cultivo. De los 24 casos que obtuvimos metafases, 18 fueron normales (75%) y en 6 casos (25%) se observó que presentaban anomalías cromosómicas, todas de tipo numérica. **Conclusiones** con la puesta a punto de la técnica de diagnóstico prenatal en Líquido Amniótico queda demostrada su eficiencia y calidad diagnóstica como lo avala su basto antecedente. Los marcadores ecográficos representan un criterio de inclusión muy importante en la selección de pacientes para diagnóstico prenatal. Se pudo cumplir con los objeticos planteados.

Summary

Introduction. Prenatal diagnosis is the set of diagnostic tests that are carried out during pregnancy to try to identify the presence of possible congenital defects in the fetus or maternal risk factors that may require strict controls throughout pregnancy the karyotype in Amniotic fluid - a topic that does not occupy the thesis - requires an invasive technique, called amniocentesis. Our experience in the implementation and tuning of this technique is presented. **Methodology**. This is a quantitative, experimental and descriptive cross-sectional study. **Place.** Maternal and Neonatal Hospital (HMN) and Institute of Human Genetics of Missions (IGeHM), Health Park of the Province of Mision. **Interventions** The results of 30 samples of amniotic fluid were analyzed, during the period between 05/24/17 to 10/06/19. **Results** The most frequent indication to request prenatal diagnosis in LA was due to abnormal ultrasound. Of the 30 samples processed, we obtained cell growth in 24 cases (80%), and in 6 cases (20%) were culture failures. Of the 24 cases that obtained metaphases, 18 were normal (75%) and in 6 cases (25%) it was observed that they had chromosomal abnormalities, all numerical anomalies. **Conclusions** with the development of the technique of prenatal diagnosis in Amniotic Fluid, its efficiency and diagnostic quality are demonstrated as its vast antecedent endorses. Ultrasound markers represent a very important inclusion criterion in the selection of patients for prenatal diagnosis. The stated objectives could be fulfilled.

ÍNDICE

Listado de abreviaturas **8**

Introducción **9**

- **Historia de la citogenética** **9**
- **Cariotipo** **13**
- **Nomenclatura** **14**
- **Anomalías Congénitas** **15**
- **Clasificación de Anomalías cromosómicas** **19**
- **Diagnóstico prenatal** **22**
- **Indicaciones para realizar estudio citogenético prenatal en L.A** **23**

Justificación **25**

Objetivos **27**

- **General** **27**
- **Específicos** **27**

Pautas metodológicas **28**

- **Criterio de Inclusión** **28**
- **Criterios de exclusión** **28**

Protocolo a seguir: **29**

- **Aspectos éticos** **29**
- **Consentimiento informado** **29**

Resultados **32**

- **Trisomía 21** **32**
- **Trisomía 18** **35**
- **Síndrome de Turner (45,X)** **37**
- **Mosaico poliploide 92,XXXX/46,XX** **38**

Discusión **43**

Conclusiones **47**

Referencia Bibliográfica **48**

Anexos:

Anexo 1: Consentimiento Informado **52**

Anexo 2: Instructivo para estudio citogenético en L.A **55**

Anexo 3: Planilla de análisis de laboratorio **62**

Anexo 4: Informe citogenético **66**

Lista de figuras y fotografías:

Figura 1: *Cariotipo normal 46,XX* **14**

Figura 2: *Cariotipo 47,XX,+21* **15**

Figura 3: *cariotipo alta resolución (550-850 bandas) 46, XY* **16**

Figura 4: *Diagrama de Flujo de la muestra* **31**

Fotografía 1: *Cariotipo 47, XX,+21* **34**

Fotografía 2: *Cariotipo 47, XY,+21* **35**

Fotografía 3: *Cariotipo 47, XY, inv (9)(p12q13),+18(20)* **36**

Fotografía 4: *Cariotipo 47, XY,+18(20)* **37**

Fotografia 5: *Cariotipo 45,X0(20)* **38**

Fotografía 6: *Cariotipo 92,XXXX(6) / 46,XX(9)* **40**

TABLAS:

TABLA 1: *PACIENTES* **41**

Listado de abreviaturas

AC: Anomálias Cromosómicas

ADN: Ácido Desoxirribonuceico

CO2: Dióxido de Carbono

DNI: Documento Nacional de identidad

DPX: Medio de montaje incoloro

FCEQyN: Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales

HMN: Hospital Materno Neonatal

ID: Número de Identificación personal en el Parque de la Salud

IGeHM: Instituto de Genética Humana de Misiones

ILE: Interrupción Legal del Embarazo

ISCN: Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética

LA: Líquido Amniótico

Mb: Mega bases

RISMI: Sistema Informatizado de Historias Clínicas

RN: Recién Nacido

VC: Vellosidades Coriales

Introducción

Historia de la Citogenética

Los cromosomas fueron observados por primera vez en células de plantas por el botánico suizo Karl Wilhelm von Nägeli en 1842 e, independientemente, por el científico belga Edouard Van Beneden en nemátodos del género Ascaris. El uso de drogas basofílicas (p.ej. las anilinas) en las técnicas citológicas para observar el material nuclear fue fundamental para los descubrimientos posteriores.

Aunque la citogenética como disciplina, ha existido desde el 1800, muchos consideran que tuvo su comienzo oficial en 1956 cuando los investigadores Tjio y Levan (1) sugirieron por primera vez que podría haber 46 cromosomas en la especie humana en lugar de los 48 que se creyeron por 30 años. Pero, no fue sólo este conocimiento, sino la manera en que se pudieron ver y contar los cromosomas que se convirtió en el acontecimiento primordial en la citogenética. Lo fue porque, por primera vez, los investigadores habían podido ver los cromosomas como algo diferente a una masa de líneas vermiformes. Hasta se le dio un nombre al milagro: «el milagro hipotónico». En realidad, según Kimberly Hayes, no comenzó siendo un milagro; comenzó con un error, cuando un auxiliar en el laboratorio del Dr. T. C. Hsu, un citogenetista de renombre mundial, volcó por error una solución salina sobre una muestra provocando que las células, increíblemente y de forma imprevista, se separasen y los cromosomas se hicieran visibles. El descubrimiento realizado por Tjio y Levan (1956) permitió una efectiva separación de los cromosomas y su adhesión al portaobjeto en un único plano óptico.

En esa época el protocolo de Tjio y Levan (colchicina, choque hipotónico, fijación con ácido acético y etanol y coloración con azul de Unna) para poder observar las células en división fue utilizado por los médicos Jérôme Lejeune y Marta Gauthier en París (Francia). Lo notable del caso es que, con este método, lograron obtener metafases increíblemente claras, con cromosomas largos y libres de distorsión mecánica dado que todo el procedimiento se realizaba dentro del tubo de cultivo, lo que evitaba cualquier perturbación celular o producción de artefactos indeseables y, algo sumamente importante, impedir la mezcla de cromosomas provenientes de células

vecinas asegurando un recuento e identificación precisos de los cromosomas de cada metafase. Al alcanzar este punto de perfeccionamiento tecnológico, Lejeune dedicó considerable tiempo a establecer con singular precisión el cariotipo humano de varones y mujeres. Sus inequívocas y admirables imágenes cariológicas lo impulsaron a intentar la identificación de cada par cromosómico. En particular, no existían dudas sobre los pares 1, 2, 3, 9, 16 y el Y, pero la clasificación de los miembros de los pares 4-5, 6-12 inclusive el X, 13-15, 17-18, 19-20 y 21-22, resultaba muchísimo más problemática. No obstante, Lejeune manifestó que "aunque era algo ilusoria la tarea de identificar esos grupos de cromosomas valía la pena esforzarse en diferenciarlos", aconsejando observar detenidamente pequeñas variaciones morfológicas orientadoras.

La minuciosa y exacta clasificación usada por Lejeune fue reiteradamente rebatida por muchos autores de aquella época. Es absolutamente sorprendente, en el contexto actual, la extensa polémica (122 páginas) que originó una de las presentaciones de Lejeune controvertida particularmente por Klaus Patau, el descubridor de la trisomía 13. Durante la mencionada presentación, Lejeune expuso un nuevo método para identificar en particular cada par del grupo 6-12, cuyos pares carecían de marcadores cromosómicos especiales (a excepción del par Nº 9 que porta una constricción secundaria muy clara), empleando la longitud relativa y el índice centromérico. Lejeune empleó una técnica fotográfica de desenfoque de los puntos obtenidos pensando que las áreas de mayor concentración de dichos puntos representaban las localizaciones medias correspondientes a cada par inclusive el X. Aunque algunos de los fundamentos matemáticos que Patau empleó para oponerse a los puntos de vista de Lejeune eran en parte ciertos, debe señalarse que sus errores de apreciación se originaron principalmente por el empleo de cromosomas sumamente acortados debido al uso de dosis elevadas de colcemid (una colchicina sintética sumamente activa), lo cual le impedía detectar pequeñas variaciones morfológicas existentes entre los distintos pares cromosómicos. Era claro que en ese tiempo dos "escuelas citogenéticas" (la francesa y la anglosajona) se oponían generando encendidas polémicas(2)

En el congreso de citogenética de Denver (1960)(3) se propuso ordenar los cromosomas de acuerdo con su longitud numerando los pares del 1 al 23. Patau se opuso a esta simple clasificación demostrando que algunos cromosomas no se podían clasificar inequívocamente sólo por su longitud y posición del centrómero. Por ello

propuso, y posteriormente se aprobó, subdividir los pares de cromosomas en grupos (grupos que nombró de la A a la G) incluyendo en cada grupo aquellos pares más parecidos morfológicamente y cuya clasificación en pares específicos era más problemática.

Fue en 1970 cuando Casperson y cols.(4), aparecen como los pioneros en aplicar a los cromosomas humanos una técnica ya utilizada en células vegetales, que consistía en usar la Mostaza de Quinacrina, que teñía a los cromosomas con un patrón de bandas claras y oscuras (Bandas Q)(5), produciendo un patrón de bandas fluorescente y cuya disposición era idéntica en los dos cromosomas del mismo par. La aparición de esta técnica de bandas Q, supuso un avance en la posibilidad de visualización más fina de las anomalías cromosómicas, ya que permitía detectar si esas bandas claras y oscuras estaban o no en número y posición correctas.

Se continuó con la búsqueda de nuevas técnicas de tinción, y en 1971, Dutrillaux y Lejeune, presentaron las Bandas R (bandas reverse), cuyo patrón de bandas era invertido con respecto al de las bandas Q y se obtenían gracias a un pretratamiento con calor y tinción con Giemsa. Simultáneamente, Arrighi y Hsu, en 1971 presentan las Bandas C, correspondiente a la heterocromatina centromérica. Estas se obtenían en los cromosomas tras ciertos tratamientos que desnaturalizan el ADN, seguidos de tinción con Giemsa, con lo cual se obtenía una intensa coloración en la región centromérica. Esta tinción se debe a la existencia de un ADN satélite en esa región, que está compuesta por secuencias de nucleótidos muy repetitivos y que se renaturalizan rápidamente. También se colorean las constricciones secundarias de los cromosomas 1, 9, y 16 y el segmento distal del cromosoma Y. Con este método se demostró que existen "polimorfismos" en los cromosomas humanos, es decir que el tamaño de las bandas C puede variar de un individuo a otro, lo que está relacionado con una cantidad variable de ADN satélite.(6)

Sin embargo, el desarrollo de nuevas técnicas continúa y en 1973, Mckay, presenta una nueva técnica basada en la digestión de los cromosomas con Tripsina (enzima proteolítica) y posterior tinción con Giemsa, que confiere a los cromosomas un patrón de bandas, las Bandas G, similar al patrón de bandas Q e invertidas con respecto al patrón de bandas R. En la Figura 1, mostramos una foto de cromosomas con bandas

G. Esta técnica permite distinguir unas 550 bandas en los 46 cromosomas de un cariotipo.

También en 1973, Matsui y Sasaki, para visualizar las regiones organizadoras nucleolares de los cromosomas acrocéntricos, desarrollan una técnica que requiere Nitrato de Plata mediante la cual se obtienen las Bandas Ag-NOR (7).

Con la puesta a punto de las técnicas de bandeo son perfectamente identificables todos y cada uno de los pares cromosómicos, y en las conferencias de París de 1971 y 1975 se propuso numerar los cromosomas humanos por pares, del 1 al 22, más dos cromosomas sexuales. Además, se mantienen para los autosomas los grupos postulados por Patau e identificados con letras mayúsculas de la A a la G, se mantiene también la ordenación por longitud decreciente dentro de cada grupo y se propone un grupo aparte para los cromosomas sexuales.(8)

En 1976 se crea el Comité Permanente para la Nomenclatura de la Citogenética Humana (ISCN), fue en el 5º Congreso Internacional de Genética Humana de Ciudad de México y desde entonces funciona publicando periódicamente recomendaciones para la nomenclatura, la última de las cuales es de 2016. Mediante bandeo G, los cromosomas metafásicos presentan en sucesión una serie de bandas e interbandas, algunas de las cuales son muy conspicuas y permiten, junto a la morfología general de cada cromosoma, su rápida identificación. (9)

En los últimos decenios los países desarrollados han mostrado una eficiencia creciente en el control de la desnutrición y las enfermedades infectocontagiosas y, al mismo tiempo, un incremento relativo de las afecciones crónicas y degenerativas, en un proceso que se denomina transición epidemiológica. Aunque el mundo subdesarrollado aún se enfrenta a las llamadas enfermedades de la pobreza, en ciertas naciones las enfermedades crónicas y los trastornos genéticos comienzan a ser un problema de salud pública.

Los servicios de Genética Médica, como el nuestro, son instituciones de salud dedicadas al diagnóstico, asesoramiento, tratamiento y prevención de los defectos congénitos y de todas aquellas enfermedades en las cuales los factores genéticos tienen una participación causal o predisponente. Nuestro servicio cuenta con médicos con formación en genética clínica, preparados para brindar asesoramiento genético a los afectados y sus familias, así como otros profesionales de salud que no son médicos (Lic.

en genética, trabajadoras sociales, psicólogos, etc.) que se encargan de realizar diferentes tareas. En los servicios de genética el énfasis recae en los dimorfismos, los trastornos del desarrollo y las fallas reproductivas, que suelen implicar estudios citogenéticos y el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas. Solemos incorporar también laboratorios (derivaciones) dedicados al diagnóstico bioquímico de errores congénitos del metabolismo, así como al diagnóstico molecular de enfermedades genéticas mediante el análisis directo del ADN. Un componente crucial de los servicios de genética es el asesoramiento genético, un proceso de comunicación con el paciente, su familia o ambos durante el cual se transmiten el diagnóstico, la evolución probable del trastorno, su posible tratamiento y la manera en que los mecanismos hereditarios contribuyen al riesgo de recurrencia en futuros hijos. Asimismo, durante este proceso se plantean las diferentes opciones para hacer frente al riesgo de reaparición, a fin de que la familia pueda adoptar el curso de acción que esté más en armonía con sus metas familiares y con sus normas éticas y religiosas. Al mismo tiempo, los servicios de genética también atienden a las necesidades médicas y psicosociales de los pacientes y sus familias. Por otra parte, entre los objetivos de los servicios de genética se destacan el desarrollo de acciones de prevención primaria, secundaria y terciaria en la población de referencia, y las actividades de docencia e investigación.

Cariotipo:

Del griego karyon, núcleo y tipos, huella

Levitsky (1924) fue el primero en dar una definición a cariotipo como el aspecto fenotípico de los cromosomas somáticos, en contraste con su contenido de genes.

Este concepto siguió siendo estudiado con los trabajos de Darlington (1939) y White (1973a y b).

El término se utiliza actualmente para el conjunto completo de cromosomas en una especie, un organismo o una célula.

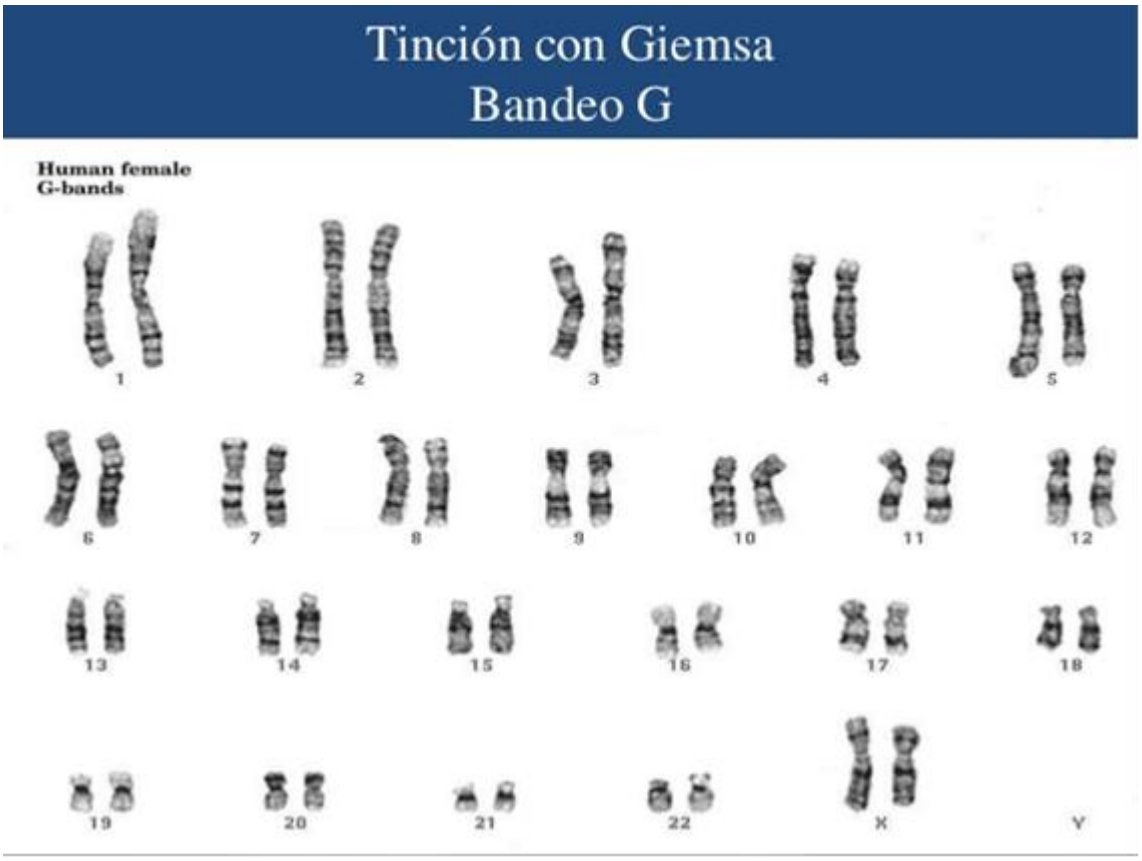


Figura 1. Cariotipo normal 46, XX (100X)

Nomenclatura. ¿Cómo se escribe el cariotipo? El cariotipo de una célula, de un individuo o de una especie se escribe indicando el número total de cromosomas (incluidos los sexuales) seguido de una coma y a continuación los cromosomas sexuales. El cariotipo de una mujer es: 46, XX El cariotipo de un varón es: 46, XY.

Si existen anomalías cromosómicas, éstas se escriben a continuación del par sexual precedidas de una coma. El cariotipo de una mujer con un cromosoma 21 extra es: 47 XX, +21. (10)

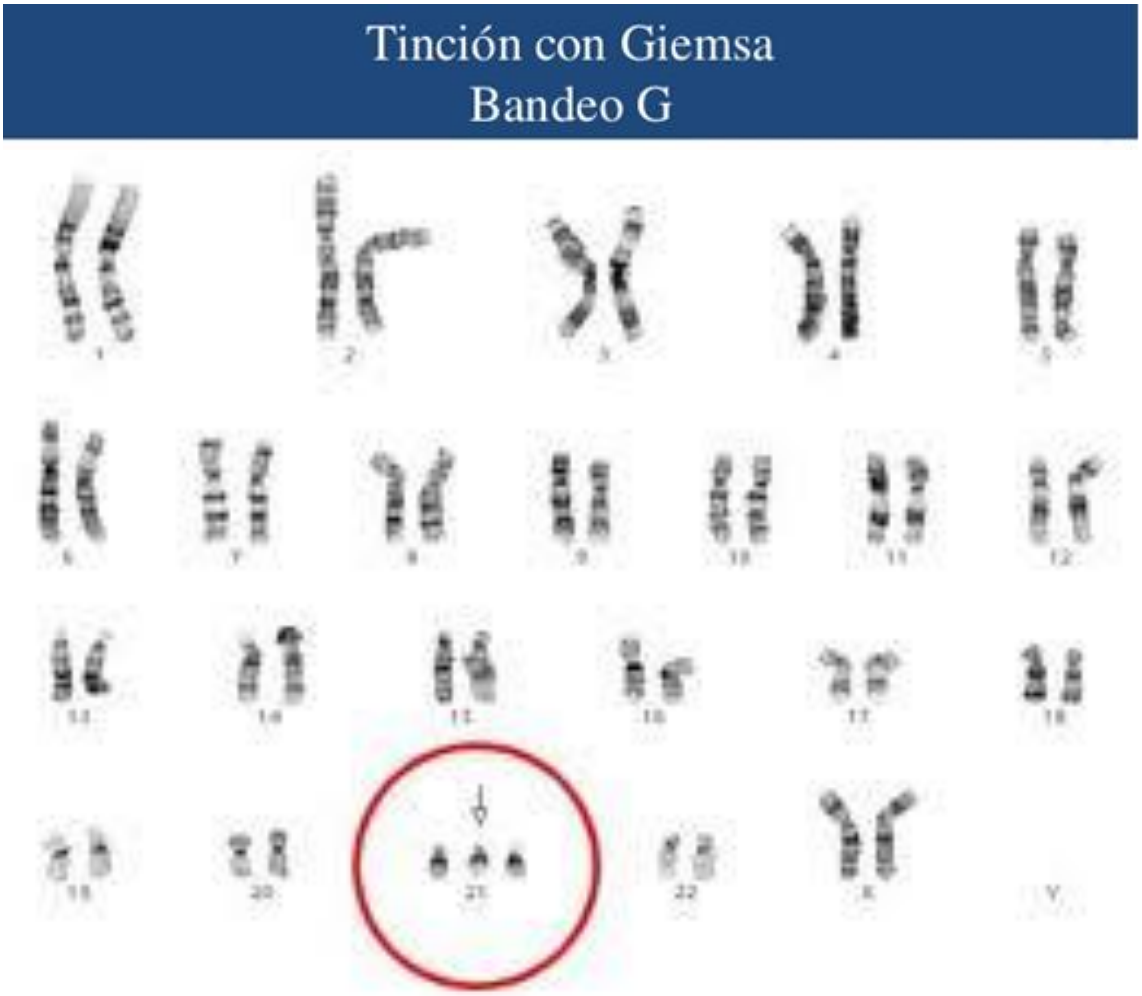


Figura 2. Cariotipo 47 XX, +21 (100X)

Anomalías Congénitas:

Los términos "defectos y anomalías congénitas" se refieren a cualquier tipo de alteración que se produce durante el desarrollo prenatal. Sin embargo, cuando hablamos de "malformaciones" nos referimos a un tipo particular: las alteraciones del desarrollo morfológico que, por tanto, son alteraciones físicas. Estos matices, no son sólo semánticos, sino que permiten diferenciar los diversos procesos del desarrollo por los que se produce cada defecto o anomalía congénita.

Los defectos congénitos de cualquier tipo se presentan alrededor del 2-3% de los niños recién nacidos. Sin embargo, si el periodo de detección de los defectos congénitos se amplía hasta los primeros años de vida, la proporción de niños afectados llega al 6-

7%, dependiendo de los años de seguimiento que se incluyan para el cálculo. Estas frecuencias representan el riesgo poblacional (o basal) de los seres humanos; es decir, el riesgo que tienen todas las parejas de la población en cada embarazo, de que su hijo presente alteraciones del desarrollo prenatal.

Una de las causas conocidas de los defectos congénitos son las alteraciones cromosómicas que pueden ser de dos tipos: alteraciones numéricas (que afectan al número de cromosomas) y alteraciones estructurales (que afectan a la estructura)(10). Las numéricas son más frecuentes que las estructurales, por ser más fácil su identificación, por tanto, son más conocidas. Las alteraciones estructurales son más difíciles de detectar porque va a depender del tamaño de la alteración y la capacidad de detección de las técnicas disponibles. El cariotipo de alta resolución (550-850 bandas) puede detectar alteraciones estructurales que implican alrededor de 4 megabases (Mb) de ADN.

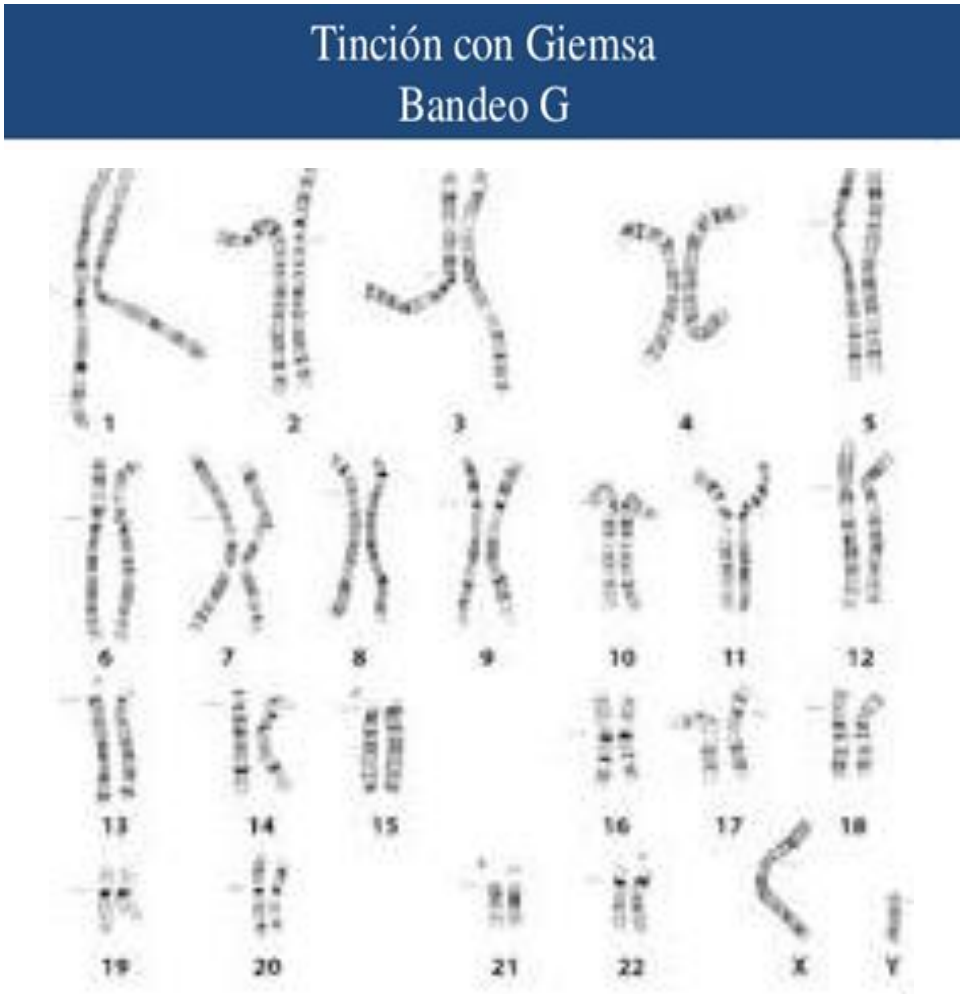


Figura 3: cariotipo alta resolución (550-850 bandas) 46, XY (100X)

Los defectos congénitos se clasifican frecuentemente en función del tipo de patrón clínico en el que se presentan (7) y ello permite distinguir tres tipos de niños:

Con defectos Aislados: son niños que presentan un solo defecto congénito.

Polimalformados: son niños que presentan varios defectos congénitos afectando a sistemas u órganos distintos, que no se corresponden con algún síndrome conocido o algún tipo de causa identificada.

Síndromes: son niños con diferentes defectos congénitos cuya causa común se conoce, o se sospecha, que es debida a una alteración genética, de cualquier tipo. En algunos niños el diagnóstico es solo clínico y se basa en la semejanza clínica entre los pacientes afectados. En otros casos, el diagnóstico es de certeza, por haber pruebas biológicas objetivas que lo documentan. Aunque no son exactamente síndromes, en este agrupamiento global, se incluyen también los casos con las llamadas embriofetopatías, cuya causa es ambiental.

Secundarios: se refiere a aquellos defectos que, en realidad, no son alteraciones primarias (o intrínsecas) del desarrollo de la estructura de que se trate, sino que se producen como consecuencia de la presencia de otro defecto, que sería la auténtica alteración primaria del desarrollo. Por ejemplo, la ausencia de partes de las extremidades como consecuencia de una alteración vascular que impidió un flujo sanguíneo adecuado, dando lugar a la atrofia y amputación de la parte distal.

Las frecuencias de los distintos tipos de defectos, y conjuntos de defectos, son muy, muy pequeñas, lo que dificulta disponer de grupos homogéneos de pacientes con la misma alteración, o las mismas manifestaciones clínicas, para identificar sus causas.

En cuanto a la etiología de los defectos congénitos en recién nacidos, se distinguen los siguientes grupos (11).

a) Causa genética (cromosómica y génica)

b) Causa ambiental (teratógenos)

c) Causa multifactorial

d) Causa desconocida

Cromosómica: Incluye todos los síndromes producidos por cualquier tipo de alteración de los cromosomas, sea en el número de ellos o en su estructura.

Génica: Incluye varios tipos de síndromes y defectos aislados debidos a alteraciones genéticas circunscritas a un gen:

1. Los que se deben a mutaciones de un solo gen (autosómicas dominantes, autosómicos recesivos y ligados al cromosoma X).
2. Los que se consideran genéticos, pero no se ha definido aún el modelo de herencia.
3. Los debidos a alteraciones mayores del genoma que no son visibles en estudios citogenéticos de alta resolución y requieren técnicas moleculares (alteración del imprinting, y disomía uniparental).

Ambiental (Embriofetopatías): Incluye los defectos congénitos producidos por factores ambientales que llegan al embrión y feto a través de la madre, y alteran su desarrollo. Se les ha llamado también "síndromes ambientales", pero en este contexto la palabra "síndrome" no es del todo correcta.

Multifactorial: Generalmente se refiere a defectos de presentación aislada (espina bífida, luxación de cadera, cardiopatía congénita, etc), que se producen por interacción entre una serie de genes y diversos factores ambientales. Cabe destacar acá una breve mención a la epigenética, se trata del estudio emergente de modificaciones en la expresión de genes que no obedecen a una alteración de la secuencia del ADN y que son heredables, son los factores ambientales unas de las fuentes de modificaciones

importantes en la metilación del ADN, inhibiendo o no la expresión, pueden afectar a uno o varios genes con múltiples funciones.(11)

Causa desconocida: En la actualidad, hasta un 60% de los RN con defectos congénitos no se pueden encuadrar en alguno de los apartados anteriores, por lo que se consideran de causa desconocida. Sin embargo, dentro de este grupo de niños se pueden distinguir al menos varios subgrupos:

1. Niños con defectos congénitos que muestran tanta semejanza en sus manifestaciones clínicas, que permiten su reconocimiento dentro del grupo, por lo que se les ha considerado como síndromes clínicos, aunque se desconoce su causa.

2. Niños con defectos congénitos que son diferentes entre sí, y en los que no se ha reconocido la causa o un tipo de manifestación clínica homogénea.

3. Niños con defectos congénitos aislados, cuya causa se desconoce.

Clasificación de anomalías cromosómicas, son de dos tipos:(12)

1) Numéricas: Dentro de las enfermedades cromosómicas numéricas tenemos, las aneuploidías y las poliploidías.

1.a **Aneuploidías:** ganancia o pérdida de uno o más cromosomas, tenemos las trisomías y las monosomías. En nacidos vivos, las más frecuentes son: trisomía 21 o síndrome de Down, la trisomía 18 o síndrome Edwards, la trisomía 13 o síndrome Patau y alteraciones de cromosomas sexuales como síndrome Klinefelter, entre otros. En cuanto a trisomías en productos de aborto se ha descrito que la trisomía más común es la del cromosoma 16, pero también se han reportado para otros cromosomas. Dentro de las monosomías, la única que llega a la vida son las niñas con síndrome Turner cuyo cariotipo es 45,X. (13)

1.b **Poliploidías:** se refiere a la ganancia de uno o más juegos completos de cromosomas, así podemos tener triploidías, tetraploidías, etc; incompatibles con la vida en línea pura.

2) Estructurales:

2. a Anomalías balanceadas: No hay pérdida ni ganancia de material genético. Por lo general no tienen repercusión fenotípica en el portador, pero si en la descendencia. Pueden ser de tres tipos:

2.a.1 Translocaciones recíprocas: son intercambios de fragmentos entre dos cromosomas no homólogos.

2.a.2 Translocaciones Robertsonianas: ocurren entre los cromosomas acrocéntricos (13, 14, 15, 21 ó 22) por unión entre sus centrómeros

2.a.3 Inversiones: se producen la rotura por dos puntos en un cromosoma y se invierte el fragmento dentro del mismo cromosoma. Pueden ser paracéntricas si en el fragmento invertido no está incluido el centrómero, o pericéntricas si la inversión afecta a ambos brazos del cromosoma y el centrómero está incluido.

2.b Anomalías desbalanceadas: Este tipo de alteraciones implica siempre ganancia o pérdida de material genético. Se clasifican en:

2.b.1 Deleciones: pérdida de un fragmento de cromosoma, que puede ser terminal o intersticial, por lo que los individuos portadores son monosómicos para un gran número de genes. Las características clínicas dependen del tamaño de la deleción y de los genes implicados.

2.b.2 Duplicaciones: presencia de material cromosómico extra que se ha duplicado. Su identificación ha sido mucho más difícil que las deleciones.

2.b.3 Inserciones: un fragmento de un cromosoma se inserta en otro cromosoma no homólogo.

2.b.4 Cromosomas en anillo: Pérdida de zonas terminales que se unen formando una figura circular (anillo).

2.b.5 Isocromosomas: cromosomas que pierden un brazo completo y el que queda se duplica, por lo que da lugar a un cromosoma con dos brazos idénticos.

2.b.6 Cromosomas marcadores: cromosomas de pequeño tamaño que no se pueden identificar con las técnicas convencionales de bandeo y requieren de técnicas moleculares.

2.b.7 Otras menos frecuentes.

3) Anomalías en mosaico.

Las anomalías cromosómicas, tanto numéricas como estructurales, pueden ser homogéneas y estar presentes en todas las células del organismo, o bien sólo en una o varias líneas celulares. Hablamos entonces de mosaicismo, que por definición, significa la presencia de 2 ó más líneas celulares, con distintos complementos cromosómicos en un mismo individuo (14).

Siempre es el resultado de un acontecimiento postcigótico, que puede sobrevenir en cualquier momento del desarrollo embrionario, fetal, o de la vida postnatal, y tener lugar en cualquier tipo celular (14). La importancia de un mosaicismo va a depender de:

- La naturaleza de la anomalía cromosómica que se produzca.
- Momento del desarrollo embrionario en que tenga lugar.
- La estirpe celular implicada.

El mosaicismo cromosómico puede estar presente de forma generalizada, estando afectados todos los tejidos como consecuencia de una alteración que se ha producido en la primera o en la segunda división postcigótica (6).

También existen los mosaicos confinados a distintos tejidos, aunque son menos conocidos. Según Dagmar y cols. (1989), cuando los mosaicismos están confinados a la placenta, parecen ser resultado de alteraciones viables que ocurren en el trofoblasto, o en células progenitoras extratrofoblásticas, durante los estadíos de mórula o blastocisto. Estos mosaicos van a originar ó bien la pérdida del embrión por alterarse las funciones placentarias, o bien un retraso en el crecimiento intrauterino(15).

Los mosaicismos confinados al embrión se originan después de la implantación e inicio del desarrollo embrionario en un pequeño número de embrioblastos, pudiéndose

originar discrepancias cariotípicas en distintos tejidos(15). Cuando dos o más líneas celulares distintas están confinadas a las células germinales de un individuo, se trata de un mosaicismo gonadal(16).

A pesar de la existencia de mosaicismos, se ha descrito un proceso de selección celular en casos de trisomías en mosaico(17). Esta selección celular puede ocasionar la eliminación de la línea celular alterada.

Hasta hace relativamente pocos años la vida del feto dentro del útero era casi desconocida, incluso para el mismo personal médico e investigador. La información que se tenía era muy escasa: algunas noticias sobre su situación, posición, crecimiento, latido cardiaco y poco más, y para ello, las únicas armas que tenía el ginecólogo eran sus manos para palpar, el estetoscopio para escuchar el latido fetal, la radiografía en gestaciones próximas al término para confirmar embarazos múltiples o anomalías esqueléticas groseras y la experiencia para resolver las situaciones.

Sin embargo, las posibilidades técnicas se han desarrollado tanto en las últimas décadas, que, en la actualidad es posible determinar en la mayoría de los casos, casi todos los defectos congénitos con los que nacerá el feto. Pues bien, aunque el diagnóstico de las enfermedades congénitas y genéticas ha avanzado muy deprisa en los últimos años, merced a los nuevos métodos de diagnóstico prenatal, las dificultades objetivas para un tratamiento eficaz en la mayoría de los casos, hacen que la prevención sea un objetivo deseable para todos los que de alguna manera se relacionan con este problema(18).

Diagnóstico prenatal

El **diagnóstico prenatal** tiene como finalidad determinar con la mayor precocidad y precisión posible la existencia de un defecto congénito, o bien descartar su posibilidad, teniendo en cuenta que en embarazadas de alto riesgo confirmar la normalidad genética contribuye de manera significativa a reducir la ansiedad materna y en caso de diagnosticarse una patología, posibilita al equipo de salud a:

- Asistir, asesorar y contribuir con la madre en la elaboración psicológica del duelo que supone desestimar la idea del hijo sano.

- Arbitrar con los respectivos especialistas los medios para la mejor resolución médica del caso, evaluando las posibilidades desde el punto de vista técnico científico y bioético.

La prevalencia de anomalías congénitas en recién nacidos es del 3%, aunque este valor depende de los criterios de inclusión: si se ponderan anomalías congénitas totales, o sólo defectos estructurales(19).

Las mujeres embarazadas deben someterse a controles durante su embarazo, el control más común, es el ecográfico, se recomienda hacer una ecografía por cada trimestre, en embarazos normales. Este método de pesquisa, separa a las mamás con un embarazo normal, de las que presentan alguna alteración ecográfica. A estas mamás con un riesgo elevado, se les puede realizar un screening bioquímico, se mide el nivel de distintas hormonas en sangre materna, para detectar riesgo aumentado de cromosomopatía. Si da un riesgo alto, se deriva a la paciente al servicio de Salud Fetal, donde se la evalúa y se solicita interconsulta con Genética.

Los casos son evaluados individualmente, pero existen consensos internacionales para indicar la realización de un estudio citogenético de L.A., ellos son

Indicaciones para realizar estudio citogenético prenatal en L.A.(20)

• Edad materna avanzada (mayor de 38 años).

• Padres portadores de reordenamiento cromosómico balanceado.

• Hijo previo con síndrome de Down u otras anomalías cromosómicas.

• Abortos espontáneos aneuploides o de causas desconocidas, en gestación previa.

• Historia familiar de malformaciones congénitas, y otras alteraciones de etiología cromosómica o génica.

• Diagnóstico del sexo fetal en mujeres portadoras de enfermedades ligadas al sexo.

• Hallazgos ecográficos de malformaciones fetales asociadas con anomalías cromosómicas.

• Marcadores bioquímicos alterados, en suero materno.

Las anomalías cromosómicas (AC), son reconocibles en alrededor del 0,5 a 1% de los recién nacidos y son las responsables del 6% de los fallecimientos en la época perinatal(21).

Las AC fetales pueden presentarse en cualquier embarazo, independiente de la edad materna, grupo socio-económico**,** etnia, causando uno o varios defectos al nacimiento. Actualmente se acepta que alrededor del 8% de los embarazos, incluidos los fetos que mueren antes del nacimiento y más del cincuenta 50% de los abortos espontáneos del primer trimestre, incluyendo a embarazos no reconocidos - pensados como solo un atraso en la menstruación - se asocian a AC.

El cariotipo, o estudio de los cromosomas antes del nacimiento, se puede realizar en el líquido amniótico (LA) a partir de las 15 semanas de gestación en adelante. Esta técnica invasiva tiene una precisión diagnóstica del 99 %(4).

Para el estudio de cariotipos voluntarios en embarazadas de alto riesgo del Hospital Materno Neonatal contamos con la Unidad de Medicina Fetal que recibe derivaciones de diferentes Centros de Salud: ciudad de Posadas, localidades de la provincia de Misiones y Centros limítrofes de la Provincia de Corrientes y Encarnación, Paraguay. Estas derivaciones se tratan de gestantes con indicación de riesgo aumentado para alguna patología fetal. Una vez confirmada ecográficamente la malformación, estas pacientes ingresan al protocolo de Medicina Fetal, y si dicha malformación se asocia con marcadores ecográficos sospechosos de cromosomopatía, se ofrece a la embarazada la determinación del cariotipo, en interconsulta con el Servicio de Genética, del HMN. Previa información de la técnica, sus alcances y riesgos, la paciente decide consciente, libre e informada la toma de la respectiva muestra de LA para el cariotipo, decisión que se documenta con el Consentimiento Informado, instrumento que acredita el respeto del principio de autonomía, beneficencia y no maleficencia, incluso en el supuesto de optar por la realización del estudio, asegurando su derecho eventual a no ser informada del resultado si así lo determinara la embarazada.

Justificación

Hasta el momento de realizarse este proyecto de investigación, la Unidad de Medicina Fetal del HMN con el Servicio de Genética del Instituto de Genética Humana del Parque de la Salud contaban con la posibilidad de realizar únicamente el estudio citogenético prenatal temprano, en vellosidades coriales (VC), método directo, que se realiza entre las semanas 12 a la 16 del embarazo, quedando sin posibilidad de diagnóstico las embarazadas que son derivadas después de esa edad gestacional, al igual que los embarazos gemelares donde se recomienda hacer los cariotipos en LA. Por otra parte, algunas de las cromosomopatías detectadas en VC con cultivo directo, debe confirmarse por estudio prenatal en líquido amniótico, de largo plazo.

El presente trabajo de tesis se encuadra dentro de aplicaciones innovadoras que contribuyen a la resolución de problemas y de mejoras del sistema de Salud. Está planteado y diseñado a fin de cubrir una demanda necesaria, importante e impostergable en el diagnóstico prenatal de la Provincia de Misiones. Se pretende ampliar la cobertura a un número mayor de madres embarazas en riesgo de tener un hijo afectado de cromosomopatía, así como elevar la sensibilidad de detección, con una estrategia diagnóstica aún no implementada (puesta a punto del diagnóstico prenatal en Líquido Amniótico). Este diagnóstico es útil para el embarazo en cuestión, ya que pronostica el riesgo de morbilidad y mortalidad del feto, datos esenciales para tomar conductas terapéuticas obstétricas, neonatales y pediátricas, y fundamental para asesorar a la familia para futuras descendencias. Dicha implementación conlleva una política de salud más amplia: la prevención primaria y concientización de los defectos congénitos atribuidos a cromosomopatías y alteraciones génicas.

Por otro lado, al ampliar la población de estudio, recabaremos datos significativos de una muestra con un N mayor, a fin de determinar la frecuencia de las cromosomopatías más frecuentes, asociados a la edad materna, antecedentes familiares, localidad de la gestación y exposición a teratógenos. Cabe destacar que el Servicio de Ecografía del HMN recibe derivaciones, como expresamos en párrafos anteriores, de una amplia región geográfica, con pacientes del nivel público y privado, por ser el hospital referente de dichas patologías fetales presentes en el embarazo y contar con la Unidad de Medicina Fetal que está conformada por especialistas en el área. Dichos

embarazos con defectos congénitos, culminan con parto vía natural o cesárea según criterio obstétrico en el HMN, donde el recién nacido (RN) será asistido y la patología resuelta dependiendo del nivel de complejidad requerida o derivado a una Unidad de mayor complejidad dentro del ámbito nacional.

Que el niño nazca en el HMN es un dato relevante para nuestro estudio, ya que de éste modo se realiza la confirmación del diagnóstico prenatal, con evaluación del fenotipo del RN, como el cariotipo en sangre periférica si el caso amerita. Además, continuamos en contacto con la familia y hacemos el seguimiento neonatal del bebé afectado. Todas estas acciones profesionales se realizan dentro del contexto de un Hospital Acreditado a nivel nacional como "Maternidad Segura Centrada en la Familia", cuyo paradigma es el respeto de los Derechos de las pacientes, entendiendo como tal a la madre, al niño y sus familiares.

Objetivos

Objetivo general del Proyecto

Implementar la técnica de diagnóstico citogenético prenatal en Líquido Amniótico, en la Unidad de Medicina Fetal del Hospital Materno Neonatal e Instituto de Genética Humana del Parque de la Salud.

Objetivos Específicos

Poner a punto la técnica de diagnóstico prenatal en Líquido Amniótico para realizar cariotipos a las embarazadas que quedan fuera de la cobertura del diagnóstico prenatal actual.

Confirmar el diagnóstico prenatal de vellosidades coriónicas en embarazos con resultados cromosómicos patológicos, cuando lo amerite el caso.

Confirmar el diagnóstico prenatal de vellosidades coriónicas en embarazos con resultados cromosómicos en mosaico.

Realizar el diagnóstico prenatal en embarazos múltiples (gemelares) con riesgo aumentado de cromosomopatías.

Realizar el asesoramiento interdisciplinario familiar para el actual y futuros embarazos.

Determinar la frecuencia de patologías cromosómicas prenatales, en muestras Líquido Amniótico, en pacientes de alto riesgo del Hospital Materno Neonatal de Posadas Misiones.

Pautas metodológicas

Se trata de un estudio cuantitativo experimental y observacional descriptivo, de corte transversal. Para el registro de datos contamos con el sistema informatizado de Historias Clínicas Única (RISMI). Según el objeto de estudio, es una investigación aplicada.

La población de estudio está constituida por todas las embarazas con protocolo de embarazo de alto riesgo para cromosomopatía de la Unidad de Medicina Fetal que voluntariamente accedan a realizar el estudio prenatal en Líquido amniótico, durante el periodo comprendido entre enero del 2018 a octubre del 2019. La técnica que utilizamos es la estándar internacional con modificaciones de Steele y Breg, 1966(22).

Criterios de inclusión

Serán incluidas todas las mujeres con embarazo en curso con diagnóstico de Malformación embrionaria o fetal asociada a cromosomopatía:

a) Confirmada por ecografía Institucional, Servicio de Ecografía HMN.

b) Que acepte consiente y voluntariamente realizar el estudio previa información del método, y alcance del mismo (con el Consentimiento escrito, documentado y firmado a la fecha del estudio).

c) Embarazos únicos o gemelares de diferente edad gestacional, con los requisitos antes mencionados.

d) Con antecedentes de patología cromosómica previa, ansiedad materna y signos ecográficos asociados a cromosomopatía.

Criterios de exclusión

Embarazos con los criterios anteriores, pero:

a) Con grupo sanguíneo Rh negativo no sensibilizada previamente;
b) Embarazos con amenaza de aborto inminente;
c) Rotura de saco amniótico prematuro (RPM);
d) Indicación Obstétrica desestimatoria para el estudio.

Protocolo a seguir

Las pacientes fueron seleccionadas de la población de embarazadas derivadas al Servicio de Ecografía del Hospital Materno Neonatal por presentar anomalías morfológicas embrionarias o fetales detectadas por ecografía. Una vez confirmada la malformación, ingresan a la unidad de Medicina Fetal, donde son entrevistadas en el Consultorio de Genética del HMN, para determinar la posibilidad del diagnóstico prenatal.

Terminada la consulta médica, la paciente sola o con su pareja, pueden decidir voluntariamente realizarse o no dicho estudio. En el caso de que decidan seguir adelante con el diagnóstico prenatal, deben leer, entender y firmar el consentimiento informado (Anexo 1). Este consentimiento cuenta con todos los requerimientos exigidos por la ley en el Código Civil de la Nación Argentina, y fue aprobado por el Comité de Ética, Docencia e investigación del Hospital Materno Neonatal.

El diagnóstico prenatal de LA consiste en la punción transabdominal hasta llegar al líquido amniótico, bajo monitoreo ecográfico, en tiempo real, prestación realizada por médicos ecografistas, expertos en la técnica, en el HMN. Se extrae entre 15 y 20 ml de LA en forma estéril y se la deja en la jeringa. La muestra es remitida de forma inmediata con el pedido médico impreso, solicitando estudio citogenético de LA, al Laboratorio del Instituto de Genética Humana, (IGeHM), Fundación Parque de la Salud.

Todas las muestras que ingresan, primero pasan por la administración del Servicio, donde se da ingreso al sistema informático (RISMI) y se le asigna un número de muestra, recién allí ingresa al laboratorio propiamente dicho, donde es procesado, siguiendo la técnica estándar internacional de cultivo de líquido amniótico (Anexo 2), se cuenta con un segundo registro interno, sector técnico (cuaderno de entrada), en este, se anota la forma y condiciones de la muestra al momento de entrada, con el mismo número de identificación. También se rotulan los tubos y frascos de cultivos con el mismo número de identificación que figura en sistema.

Las muestras, una vez procesadas, son extendidas sobre un portaobjeto, generalmente se realizan 10 extendidos por caso, para luego pasar al sector de lectura o análisis al microscopio, debidamente rotulado con marcador indeleble, donde se guarda en estufa de calor seco por aproximadamente una semana, para deshidratar la muestra.

Una vez completada la semana o 5 días de deshidratación, se sacan los extendidos de la estufa de envejecimiento (37 grados) y se procede a realizar la técnica de bandas G (Anexo 2). Se realizan una o más pruebas, hasta encontrar el tiempo correcto de bandas y obtener un bandeo aceptable para el análisis al microscopio, generalmente de 450 bandas o más, quedando listo el caso para analizar.

De cada muestra procesada en el laboratorio de citogenética, se analizan al microscopio óptico 20 células en división celular, en estadio de metafase, con bandeo G (de ser necesario se realizan otras técnicas de bandeo alternativos, como bandas C y NOR). Se fotografían 2 o 3 metafases por caso, quedando guardado en el sistema informatizado del laboratorio. Además, cada una de las 20 metafases es registrada en la planilla de análisis (Anexo 3), la cual se archiva, conjuntamente a las fotografías, y los dos portaobjetos montados (sobre el portaobjetos se coloca un cubreobjetos y se sella con aceite especial DPX) de donde se sacaron las mismas. Por otra parte, de cada caso suele quedar un pellet en el tubo de cultivo, el cual es pasado a un tubo ependorf de 3ml, rotulado y guardado en heladera.

Se confecciona un informe o resultado citogenético (Anexo 4), el cual es remitido a la administración del IGeHM, y de allí al Servicio de Genética del HMN, a cargo de una Médica Genetista, donde la embarazada recibe el asesoramiento pertinente. La paciente embaraza que ingresa a dicho protocolo es monitoreada y acompañada por diferentes profesionales de la Unidad de Medicina Fetal de forma permanente, (psicólogo, obstetra, médico formado en Medicina Fetal, genetistas) además de entrevistas particulares con el médico especialista indicado según patología fetal, por ejemplo neurólogo si se trata de defectos del cierre del tubo neural, urólogo si es una patología del tracto urinario, gastroenterólogo si la patología es un defecto de pared anterior como onfalocele, gastrosquisis, atresia duodenal (común en la trisomía 21), cardiopatías asociada a diversos síndromes, cirujanos plásticos en diagnósticos de Flap, fisura labio palatina, etc.

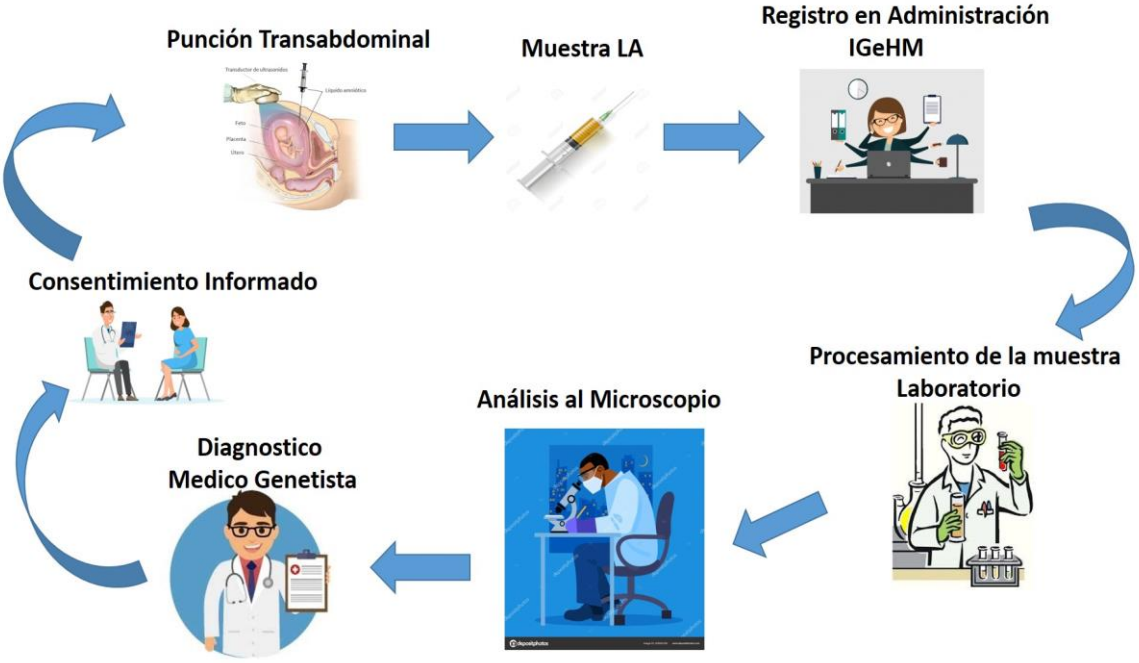


Figura 4: Diagrama de Flujo de la muestra

RESULTADOS

Las alteraciones cromosómicas fetales pueden presentarse en cualquier mujer embarazada, independiente de su edad, raza, grupo socio-económico, etc. Con los avances de la medicina materno-fetal y neonatal, las alteraciones cromosómicas se han constituido en la principal causa de morbi-mortalidad perinatal y de secuelas físicas y neurológicas infantiles**.**

En el presente estudio se tomaron muestras de Líquido Amniótico de 30 pacientes, en el periodo de enero del 2018 a octubre del 2019. De los cuales obtuvimos crecimiento celular apto para análisis en 24 casos (80%) y en 6 casos no observamos células en estadio de metafases (20%).

De los 24 casos que obtuvimos metafases, 18 fueron normales (75%) y en 6 casos (25%) se observó que presentaban anomalías cromosómicas (Tabla 1).

Los casos patológicos observados fueron, dos casos con trisomía del cromosoma 21, dos casos con trisomía del cromosoma 18, un caso con monosomía del cromosoma X y un mosaico tetraploide.

Trisomía 21: En los dos casos de trisomía del cromosoma 21, uno fue un feto masculino y el otro femenino, ambas trisomías fueron libres.

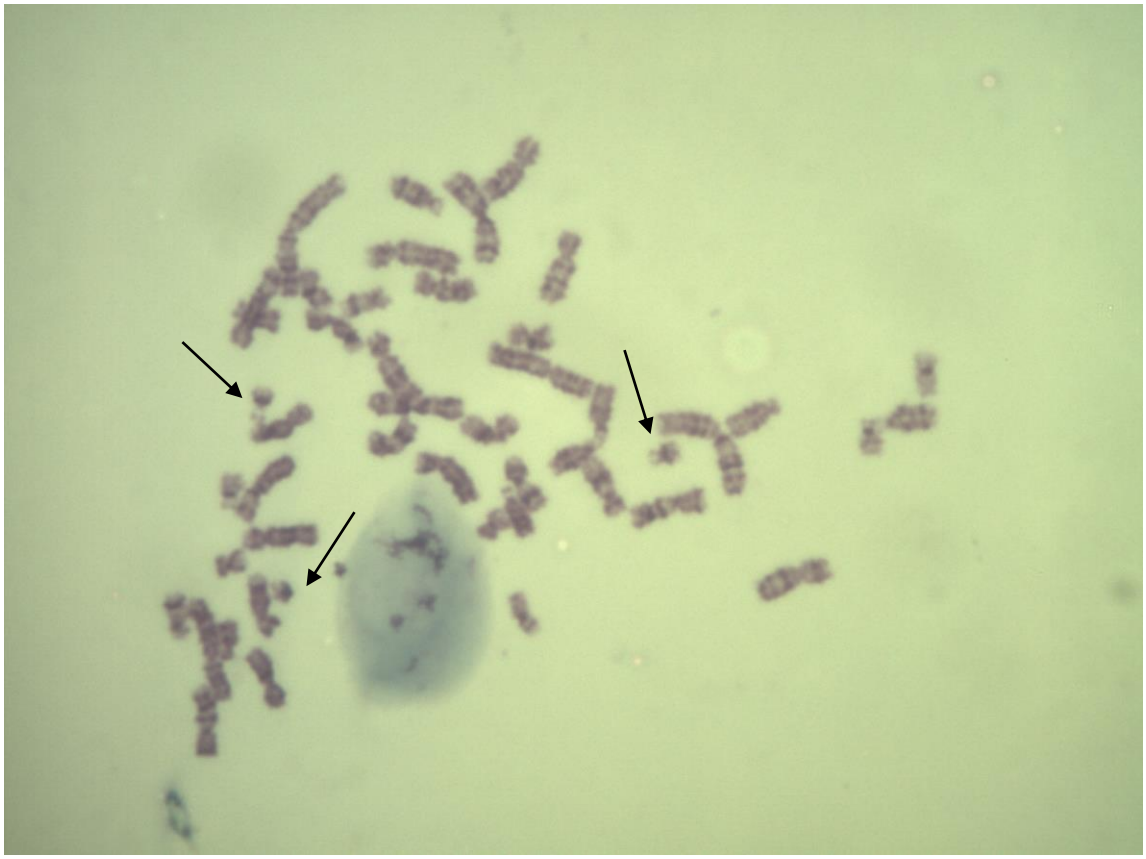
La trisomía 21 es la principal cromosomopatía (1:66 RN vivos), descrita por primera vez en 1866 por John Langdon Down (23), pero su etiología genética se estableció recién en 1959. Los niños con Síndrome de Down se caracterizan por presentar retardo mental de grado variable, talla baja, fenotipo facial: puente nasal bajo, hendiduras palpebrales de aspecto mongoloide, pabellones auriculares bajos y pequeños, cuello corto, la piel de la nuca redundante. Cerca de un 50% presentan un pliegue flexor marcado en sus palmas (pliegue simiano). Además, se asocia a malformaciones cardíacas (40%), atresia duodenal e imperforación anal (3%). La tasa de letalidad del Síndrome de Down es alrededor del 30 a 40%, la expectativa de vida es cerca de 40 años, y tienen un riesgo15-20 veces superior al de la población general de desarrollar leucemia (24).

El 95% de los niños con Síndrome de Down son causados por una ausencia de la disyunción meiótica, pero alrededor del 5% de los casos restantes es secundario a una

translocación o mosaicismo. Una trisomía 21 libre (47,XX(Y) +21), producida durante la meiosis, tiene un riesgo de recurrencia cercano al 1%. Por otra parte, las translocaciones en un 50 % de los casos son mutaciones de novo, siendo las más frecuentes las Translocaciones Robertsonianas, caracterizadas por la pérdida de los brazos cortos de dos cromosomas no homólogos y los brazos largos se unen por el centrómero formando un cromosoma único, las cuales se limitan a los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22.

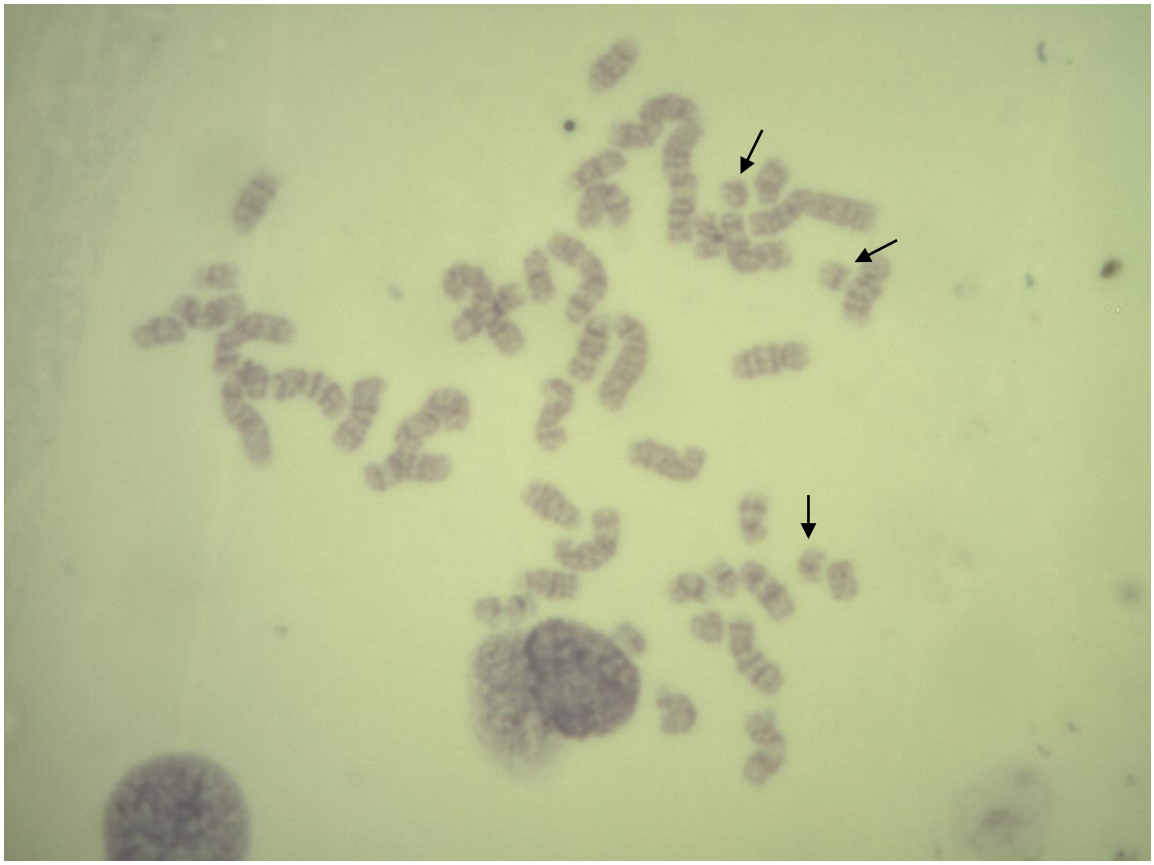
El riesgo de recurrencia de Síndrome de Down es 16% y 5% dependiendo si la madre o el padre, respectivamente, son portadores de las translocaciones Robertsonianas balanceadas. Cabe destacar el caso de un Síndrome de Down por una translocación Robertsoniana 21-21, de cuyo tipo sólo el 4% son heredadas, donde de un progenitor portador de ella, en su descendencia sólo se producirán Monosomía 21 (letal) o Trisomía 21 en el 100% de los casos.(25)

De los dos casos con T21, el primer caso, se trata de una muestra de un feto con complemento sexual femenino XX, en el que se detectaron los siguientes hallazgos ecográficos: huesos largos cortos, ventrículomegalia y ectasia pielica, sin otros antecedentes familiares de importancia. La paciente tenía 37 años de edad (EMA) y al momento de realizar el estudio prenatal, el embarazo presentaba 27 semanas de gestación (Fotografía 1).



Fotografía 1: Cariotipo 47, XX,+21 (100X)

El segundo caso encontrado, con la misma patología cromosómica, se trata de una muestra de un feto con complemento sexual masculino XY, donde los hallazgos ecográficos encontrados fueron los siguientes: hidrops fetal, sin antecedentes familiares de importancia. La paciente tenía 33 años de edad, al momento de realizar el estudio citogenético prenatal, el embarazo presentaba 21 semanas de gestación (Fotografía 2).



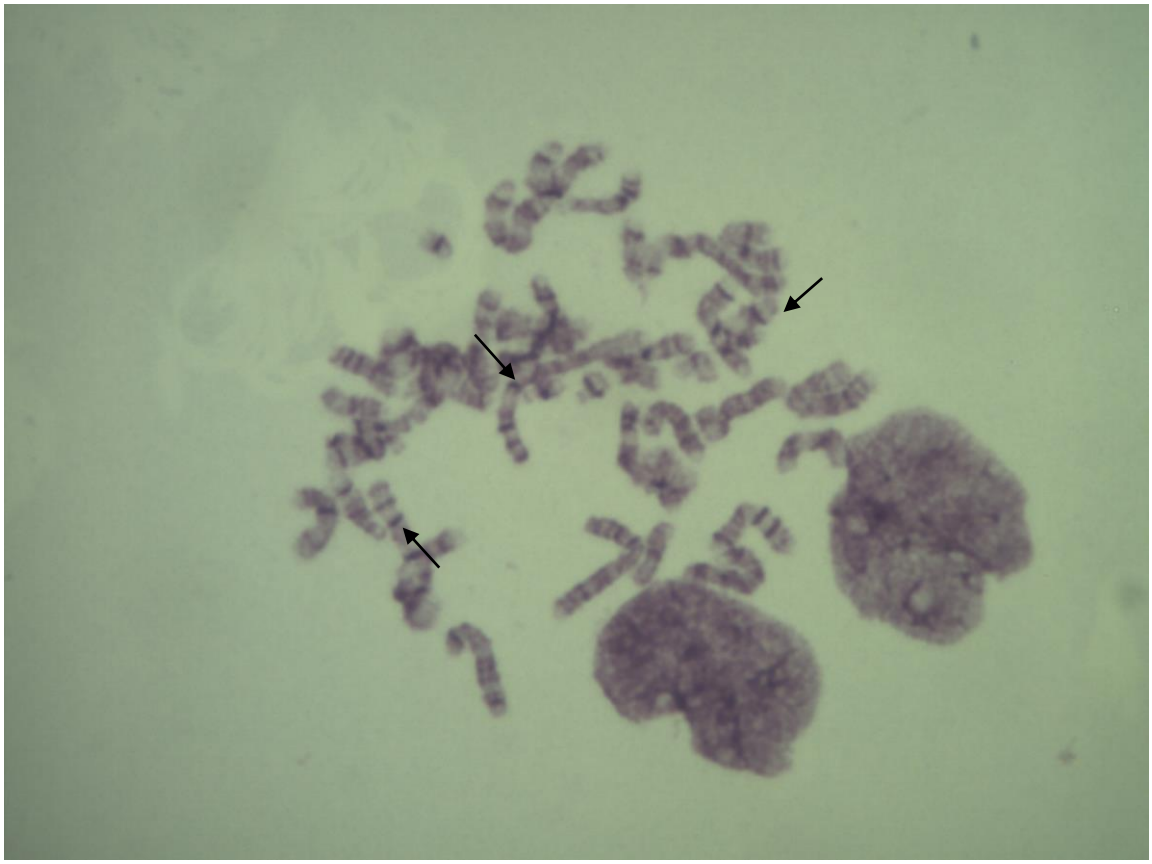
Fotografía 2: Cariotipo 47, XY,+21 (100X)

Trisomía 18: La trisomía 18 es la segunda causa de alteraciones cromosómicas, su incidencia varía entre 1:4000 a 1:8000 recién nacidos vivos y es mayor en la primera mitad del embarazo. Este síndrome descrito por primera vez por JUH Edwards y col en 1960 (4), presenta múltiples malformaciones mayores y está asociado a una alta letalidad intrauterina (80%)(26)

Los recién nacidos con esta enfermedad habitualmente fallecen en las primeras semanas de vida, describiéndose que aproximadamente 6% alcanza el año de vida. Su fenotipo presenta orejas pequeñas con hélix simple, boca pequeña, esternón corto y primer dedo del pie bastante corto. Alrededor de un 70% de los fetos con trisomía 18 presentan alteraciones estructurales múltiples visualizadas a la ecografía (defectos cardiacos, onfalocele, hernia diafragmática). Sin embargo, la principal característica de este síndrome es su asociación con la restricción de crecimiento fetal de inicio precoz (89%), el que habitualmente se asocia a líquido amniótico normal o aumentado (24). Similar a

la trisomía 21, 80-85% de los casos son debido a la ausencia de disyunción meiótica, 10% por mosaicismo y 5% por translocación.

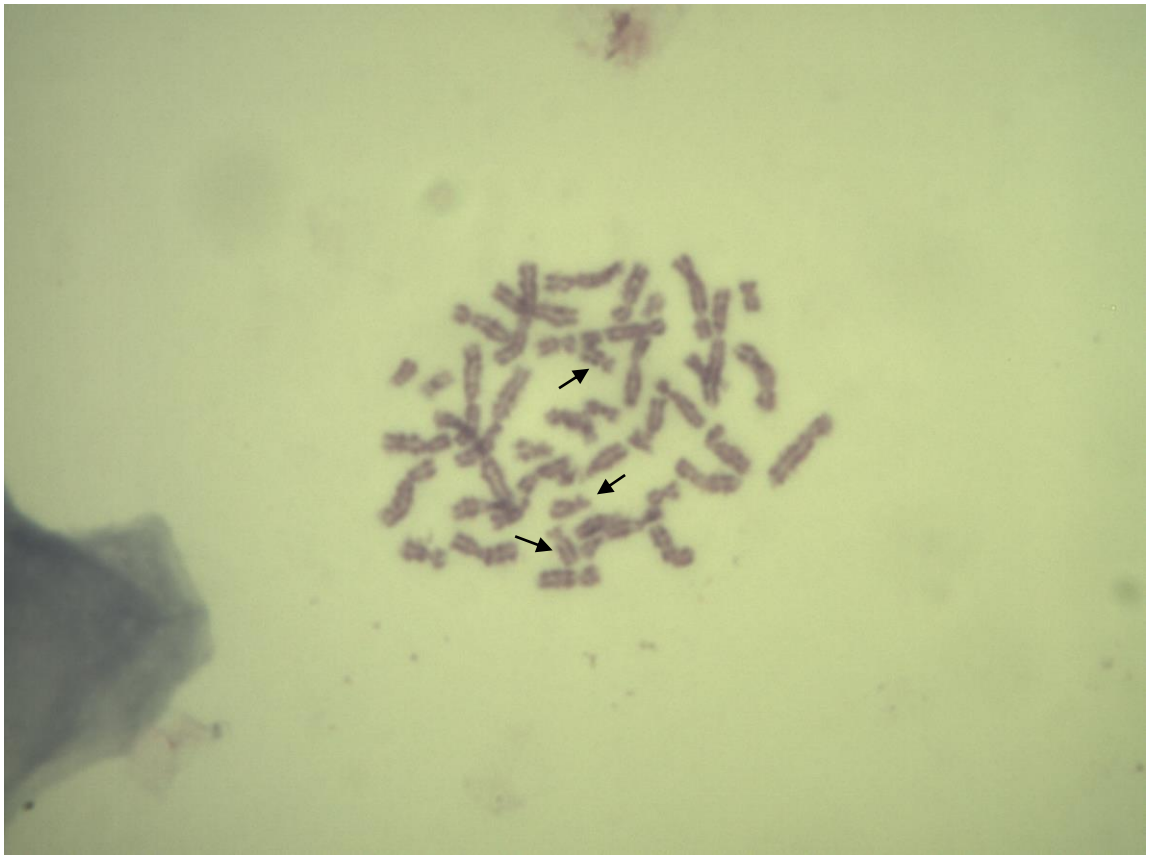
De los dos casos con T18, el primer caso se trata de una muestra con complemento sexual masculino, en el que se detectaron los siguientes hallazgos ecográficos: cardiopatía congénita y agenesia cúbito radial bilateral. La paciente tenía 43 años de edad (EMA), sin otros antecedentes familiares de importancia, y al momento de realizar el estudio el embarazo presentaba 27 semanas de gestación. Un dato importante es que además se identificó una variante estructural (polimorfismo poblacional), inversión de la heterocromatina del cromosoma 9 (Fotografía 3).



Fotografía 3: Cariotipo 47, XY, inv (9)(p12q13),+18(20) (100X)

El segundo caso encontrado con la misma patología cromosómica, se trata de una muestra de un feto con complemento sexual masculino XY, y los hallazgos ecográficos encontrados fueron los siguientes: se observan poli malformaciones, sin antecedentes

familiares de importancia. La paciente tenía 39 años de edad (EMA) y se desconoce la edad gestacional al momento de la punción (Fotografía 4).

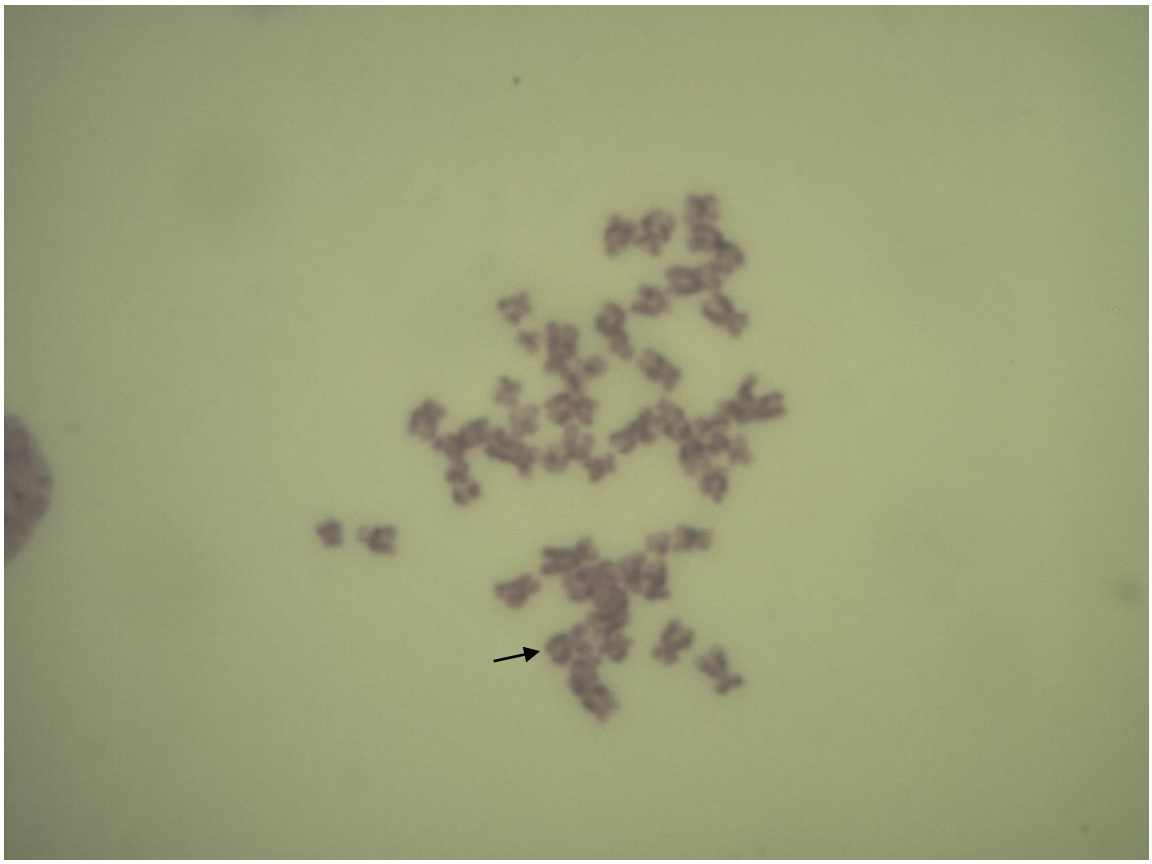


Fotografía 4: Cariotipo 47,XY,+18(20) (100X)

Síndrome de Turner (45,X) La monosomía X fue descrita por Henry Turner en 1938. Es un trastorno poco frecuente en los nacidos vivos (1:5000), reflejo de una alta tasa de abortos espontáneos (superior al 90%). Cerca del 50% tienen un cariotipo 45,X en linfocitos de sangre periférica. El 30-40% son mosaicos (45,X/46,XX o 45,X/46,XY)(27). Los mosaicos que tienen un cromosoma Y tienen riesgo de desarrollar neoplasias (gonadoblastoma) en sus cintas gonadales. El fenotipo asociado se caracteriza por talla baja proporcionada, facies triangular, pabellones auriculares rotados hacia fuera, cuello ancho con pliegues característicos (*pterygium colli*), tórax ancho y en coraza. Se puede observar linfedema de extremidades al nacer. Además, pueden presentar defectos cardíacos (válvula aórtica bicúspide 50%, coartación aórtica

15-20%) y alteraciones renales estructurales 60% (riñón en herradura, doble sistema excretor).

En este caso, se trata de una muestra de un feto con monosomía del cromosoma X, donde los hallazgos ecográficos encontrados fueron: higroma quístico, sin antecedentes familiares de importancia. La paciente tenía 33 años de edad y la edad gestacional al momento de la punción fue de 18 semanas (Fotografía 5).



Fotografía 5: Cariotipo 45,X(20) (100X)

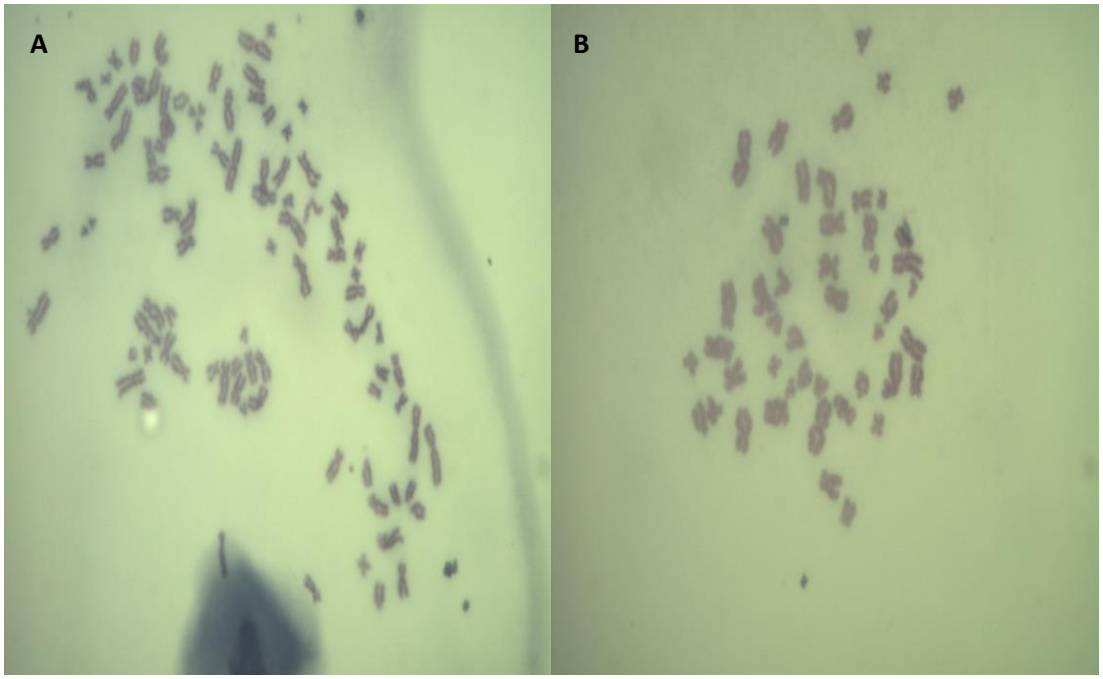
Mosaico poliploide 92,XXXX/46,XX:

Uno de los problemas que merece especial atención en el diagnóstico prenatal es el mosaicismo. Se considera mosaicismo cuando se produce una distribución anómala de los cromosomas durante la división celular postzigotica, originando una o más líneas celulares con diferentes constituciones cromosómicas que coexisten en un mismo individuo (25).

El origen puede ser por no disyunción postzigotica, o por reorganizaciones estructurales. Los efectos fenotípicos de los mosaicos, depende de los cromosomas involucrados, su distribución en los diferentes tejidos y el estadio del desarrollo en el que se origina la línea anómala. Cuando la aparición del mosaicismo ocurre en el estadio de blastocito, esto es, antes de la diferenciación de los compartimientos coriales y del embrión, el mosaicismo es general, está presente en la placenta y todos los tejidos fetales. Cuando la mutación cromosómica ocurre en un estadio gestacional más tardío, el mosaicismo es parcial, las células anormales pueden estar confinadas a la placenta o al feto separadamente.

La aparición de mosaicos en muestras prenatales de vellosidades coriales en más frecuente (1%) que en las muestras de líquido amniótico (0,25%)(28). Por lo tanto, no todos los mosaicos encontrados reflejan la verdadera constitución genética del embrión, generando un problema en el momento de asesoramiento al paciente con dicho resultado (29).

El último caso, se trata de una muestra de un feto en mosaico, el cual presenta dos líneas celulares, con complemento sexual femenino. Los hallazgos ecográficos encontrados fueron: hidrops fetal e higroma quístico y otras malformaciones menores. Sin antecedentes familiares de relevancia, la paciente tenía 35 años de edad (EMA), y la edad gestacional al momento de la punción fue de 24 semanas de embarazo (Fotografía 6).



Fotografía 6: A.Cariotipo 92,XXXX(6). B.46,XX(9). (100X)

No se tuvieron casos de pérdida de embarazo por la punción ni infecciones materno fetales y todos los embarazos fueron controlados antes y después de la punción, por ecografía. Generalmente se aconseja reposos de 48hs y tomar (Propinox), Sertal perlas, para aliviar cualquier molestia. En caso de pérdida de líquido o sangrado, se indica comunicarse con el médico ecografista que realizo la punción y acudir a la guardia del hospital lo antes posible.

Todas las muestras presentaron el líquido amniótico limpio, sin contaminación con sangre materna. Por ello, siempre se observa si hay rastros de sangre, apenas se realiza la punción; si esto pasara, se solicita repetir la toma de muestra, para obtener una muestra amarilla perlada.

TABLA 1 PACIENTES

ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS	FECHA	CARIOTIPO	ANTECENDES FAMILIARES/ DATOS MATERNOS	EDAD MATERNA	EDAD GESTACIONAL (SEMANA)
Encefalocele, polidactilia	24/05/2017	Sin metafase	Polidactilia, óbito fetal y cesárea	35 años	25
Hidrops fetal	09/02/2018	Sin metafase	2 Abortos espontáneos, feto muerto retenido	34 años	20
Agenesia cúbito radio bilateral y cardiopatía congénita	11/04/2018	47,XY,inv(9)(p12q13), +48(20)	Sin antecedentes	43 años	27
Higroma Quístico	13/04/2018	46,XYqh+(20)	Sin antecedentes	23 años	24
Linfangioma	24/04/2018	46, XX(7)	Sin antecedentes	34 años	29
Riñones Poliquísticos, Oligoamnio	25/04/2018	46 XY(5)	Óbito Fetal	18 años	27
Huesos cortos, Polihidramio	29/05/2018	Sin metafase	Sin antecedentes	33 años	31
Huesos cortos, Polihidramnio	14/06/2018	46,XY(5)	Polimalformado	33 años	33
Mielomeningocele	19/06/2018	46,XY(10)	Confidencial	Confidencial	Confidencial
Megavejiga	21/06/2018	46,XY(15)	Sin antecedentes	19 años	22
Polihidramnio	22/06/2018	46,XX(10)	Sin antecedentes	24 años	30
Onfalocele	29/08/2018	46,XY(20)	Sin antecedentes	16 años	25
Higroma Quístico, Hidrotórax	05/12/2018	Sin metafase	Hipotiroidismo materno	25 años	21
Cardiopatía	20/12/2018	Sin metafase	Diabetes gestacional	39 años	30
Agenesia renal unilateral, fisura labial, Comunicación interventricular	17/01/2019	46, XYqh+(5)	Sin antecedentes	27 años	30
Cardiopatía	17/01/2019	46, XY(3)	Confidencial	Confidencial	Confidencial
Hidrops fetal, Higroma Quístico	08/02/2019	92,XXXX(6)/46,XX(9)	Óbito fetal	31 años	24
Agenesia de radio	20/02/2019	46,XY(20)	Hijo previo	31 años	27

bilateral			malformado		
Translucencia Nucal aumentada, huesos cortos	24/04/2019	46,XX(20)	Sin antecedentes	18 años	27
Huesos largos cortos, ventriculomegalia y ectasia pielica	29/04/2019	47,XX,+21(20)	Sin antecedentes	37 años	27
Hueso nasal hipoplásico y mielomeningocele	24/05/2019	46,XY(20)	Sin antecedentes	35 años	20
Defecto pared abdominal	24/05/2019	46,XY(20)	Sin antecedentes	38 años	27
Sospecha de Trisomía 18	30/05/2019	47,XY, +18(20)	Polimalformado	39 años	25
Ventrículomegalia	17/07/2019	46,XY(20)	Sin antecedentes	40 años	32
Hidrops fetal	07/08/2019	47,XY,+21(20)	Sin antecedentes	33 años	21
Polimalformado	28/08/2019	Sin metafase	Sin antecedentes	17 años	29
Higroma Quístico	11/09/2019	45,X0(20)	Polimalformado, óbito fetal	33 años	18
Cordón Corto, defecto miembro inferior	25/09/2019	46,XX(20)	Síndrome Body walk limb	21 años	25
Retraso crecimiento intrauterino, gemelar 1	16/10/2019	46,XY(20)	Hijo previo Sind. Down,2 abortos espontáneos	29 años	16
Gemelar 2, normal	16/10/2019	46,XY(20)	Hijo previo Sind. Down, 2 abortos espontáneos	29 años	16

Aclaraciones: Todas las punciones fueron solicitadas por la médica genetista, María Eugenia Heis, y se realizaron en la Unidad de Medicina Fetal del Hospital Materno Neonatal. La columna “CARIOTIPO” corresponde a la nomenclatura del diagnóstico citogenético.

DISCUSIÓN

"El advenimiento del diagnóstico prenatal ha modificado radicalmente el manejo de los embarazos y de los resultados perinatales. Muchas de las condiciones y afecciones moleculares, genéticas, funcionales y estructurales que afectan a la descendencia pueden ser detectadas ahora *in útero*, y en ocasiones, tratadas antes del nacimiento. Esta posibilidad le imprime al diagnóstico prenatal y a la medicina fetal características únicas" (30).

Se realizaron 30 estudios citogenéticos prenatales en Líquido Amniótico, los primeros en el ámbito hospitalario de la ciudad de Posadas, provincia de Misiones, Argentina, de manera estandarizada. Se logró poner a punto una técnica nueva, necesaria para los pacientes del ámbito de la Salud Pública, de manera totalmente gratuita, permitiendo que dichos pacientes tengan acceso a un estudio que no podrían costearlo de forma privada y que, la gran mayoría de las Obras Sociales, no tienen cobertura.

Se tuvo un porcentaje alto de casos con falta de crecimiento celular (20%), considerados fracasos o fallas en el cultivo, donde un factor importante fue no contar con los medios adecuados, ya que el indicado para este caso, Amniomax + suplemento, se encontraba vencido y se tuvieron que realizar los cultivos probando otros, como el Ham F10, que se utiliza para procesar otras muestras (material de abortos). Por otra parte, la estufa de cultivo presentó varias averías durante los procesos de cultivo, es lo que aumentó nuestro porcentaje de fallos.

El resultado de patología obtenido en este estudio fue del 25%, levemente menor que los estudios hechos en Perú, publicados en la revista peruana de Ginecología y Obstetricia del 2007(31). Y comparados con los estudios citogenéticos en LA, reportados en el Hospital Universitario y Facultad de Medicina de México, publicados en el año 2012, donde registran el mismo porcentaje de resultados patológicos (25%) que el hallado en el presente estudio (32).

En la bibliografía consultada, las anomalías ecográficas son usualmente por retardo del crecimiento fetal, poli u oligohidramnios, feto hidrópico y malformaciones fetales (33). En estas circunstancias cabe esperar frecuencias mayores de cariotipos defectuosos, tales como 11 %, 13 % ((33), 14 %(34) y 23 %(35). Y un porcentaje menor

de resultados patológicos, en los estudios que se basan en la de edad materna avanzada, como principal indicación para realizar dicho estudio. Esto concuerda con el hallazgo de 2.5 % de cromosomopatía encontrada en mujeres estudiadas por edad avanzada, y 17 % o más en las estudiadas por alteraciones ecográficas, reportadas por un estudio en conjunto del Hospital R.A. Calderón, Hospital México e Instituto de Genética de Costa Rica, en el año 2001(36). Los distintos estudios prenatales de Líquido Amniótico, basados en indicaciones de hallazgos ecográficos anormales, proponen un valor predictivo para los marcadores ecográficos patológicos más comunes, a saber, atresia duodenal (53.1%), holoprosencefalia (48.8%), hidropesía fetal (39.5%), hipoplasia cerebelosa (32.0%), higroma quístico (31.5%), ausente / nasal corta hueso (11.0%) y quistes bilaterales del plexo coroideo (8.5%)(37).

Con respecto a estudios citogenéticos prenatales realizados en otros países, se advierte que en su mayoría son indicados solamente por la de Edad Materna Avanzada por lo cual se obtienen resultados patológicos en bajo porcentaje, por ejemplo un estudio hecho en Irán, en el año 2019, sobre 4206 casos, encontraron un porcentaje de patología del 8,54% (38).

España reporta en los distintos estudios colaborativos sobre identificación de anomalías cromosómicas prenatales, porcentajes bajos de patologías cromosómicas, 3%, ya que ellos realizan los estudios citogenéticos prenatales de rutina, siendo la indicación más solicitada Edad Materna Avanzada, donde la mayoría de los embarazos con patología, son interrumpidos (39).

Con respecto a los estudios realizados en países asiáticos, es interesante mencionar un trabajo colaborativo del Noreste de China, del año 2017, en el cual analizaron 2500 casos de muestras de pacientes embarazadas con riesgo aumentado de anomalías cromosómicas, donde la mayor indicación fue por screening bioquímico anormal y edad materna avanzada. Obtuvieron una frecuencia de 8,24% de cariotipos patológicos, cuya finalidad es la ayuda en la toma de decisión de continuar o interrumpir el embarazo(40).

Respecto al difícil momento al dar un resultado del diagnóstico prenatal patológico, se resalta el hecho de que las afecciones genéticas no tienen cura. Lo que se puede ofrecer es, además de un diagnóstico certero, que el equipo médico y de profesionales instauren los protocolos adecuados para el parto con antelación y ofrecer

el acompañamiento psicológico a la pareja. Sin embargo, en esta situación, algunas parejas manifiestan que no quieren continuar con el embarazo. Ante esta decisión, el HMN informa a la pareja respecto de la Ley vigente del Ministerio de Salud de la Nación, que especifica en qué casos existe la interrupción voluntaria del embarazo legal.

El protocolo para la atención integral de las personas con derecho a la interrupción legal del embarazo (ILE), del Ministerio de Salud Pública de la Nación del año 2015, establece que puede realizarse en los siguientes casos (37):

Embarazos que representa un **peligro psicofísico** para la vida de la mujer y este peligro no pueda ser evitado por otros medios.

Embarazos que provienen de una violación.

Embarazos que provienen de una violación sobre una mujer con discapacidad intelectual o mental.

La **causal salud** incluye el peligro para la salud y el peligro para la vida, ya que este último debe ser entendido como la situación extrema de la afectación de la salud. Según la OMS, la salud implica el **"completo estado de bienestar físico, psíquico y social, y no solamente la ausencia de enfermedades o afecciones"**(41). Una atención adecuada y completa de situaciones que habilitan la Interrupción Legal del Embarazo, implica necesariamente una visión integral de la salud (37).

• La salud es un concepto integral que tiene tres dimensiones: física, mental-emocional y social, de acuerdo a lo establecido por la OMS.

• La afectación de la salud mental puede resultar en un trastorno mental grave o una discapacidad absoluta, pero incluye también el dolor psicológico y el sufrimiento mental asociado con la pérdida de la integridad personal y la autoestima.

• El concepto de peligro no exige la configuración de un daño, sino su posible ocurrencia.

• La decisión de la mujer sobre qué tipo de peligro está dispuesta a correr debe ser el factor determinante en la decisión de requerir la realización de una ILE. (37).

En la consulta de Genética Médica, se informa a la paciente de los resultados, se realiza el asesoramiento genético específico- de manera no dirigida. Las decisiones de la

pareja son respetadas éticamente desde la autonomía, libertad, por lo que dicha información ofrecida no tiene que ser orientada hacia ningún tipo de resultado, respetando siempre las decisiones y consentimientos de la gestante y pareja, o adulto a cargo de la gestante madre menor.

CONCLUSIONES

Se pudo cumplir **el objetivo General del Proyecto** de Tesis, ya que se pudieron realizar los estudios citogenéticos prenatales en LA y se logró que éstos se continúen haciendo como rutina en el ámbito de la Salud Pública de Misiones.

En cuanto a los Objetivos específicos:

1- Se Logró poner a punto la Técnica de diagnóstico prenatal en LA.

2-No se confirmaron casos con estudio citogenético prenatal patológico por V.C. porque no se tuvieron casos que ameriten tal protocolo.

3-No se tuvo ningún caso en mosaico en muestras de V.C. que justifiquen la comprobación en LA.

4-En el período de prueba, se registró un embarazo gemelar con riesgo aumentado, que dio cariotipo normal.

5- En todos los casos en que se indicó estudio citogenético prenatal, independiente del resultado obtenido, se realizó la consulta con la médica genetista pre y pos punción, con el correspondiente asesoramiento genético, cálculo de riesgo para el embarazo en curso y futuros embarazos, según normas estipuladas y protocolo.

6- La frecuencia de patologías encontradas en este estudio es de 25% de la población estudiada. Se considera que el número de muestras es bajo, por lo cual el porcentaje obtenido no es un reflejo fidedigno de patología para la población posadeña y, mucho menos, de la población misionera.

Éste es el comienzo de una nueva técnica diagnóstica, dentro de la Salud Pública de la provincia, prestación que sigue disponible a partir de la presente tesis, lo que permitirá, dentro de unos años, tener un N mayor, que represente con exactitud a nuestra población.

La indicación de amniocentesis más frecuente, fue la presencia de múltiples malformaciones detectadas ecográficamente y no edad materna avanzada, lo cual explica nuestro hallazgo de igual frecuencia de trisomía 18 y trisomía 21, además de la presencia de las otras anomalías cromosómicas encontradas en menor número.

Referencias Bibliográficas

1. Tjio JH, Levan A. The Chromosome Number of Man. Hereditas. 1956;42(1-2):1-6.

2. Duarte GMA. CITOGENÉTICA Teoría y Práctica [Internet]. [citado 10 de octubre de 2019]. Disponible en: https://www.academia.edu/34525074/CITOGEN%C3%89TICA_Teor%C3%ADa_y_Pr%C3%A1ctica

3. Hamerton J, Klinger H, Mutton D, Lang E. THE LONDON CONFERENCE ON THE NORMAL HUMAN KARYOTYPE, 28TH-30TH AUGUST, 1963. Cytogenetics. 1963;2:264-8.

4. Rowley JD. Theodore T. Puck (September 24, 1916–November 6, 2005). The American Journal of Human Genetics. 1 de marzo de 2006;78(3):365-6.

5. Caspersson T, Zech L, Johansson C, Modest EJ. Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. Chromosoma. 1 de junio de 1970;30(2):215-27.

6. Drets ME. Una saga citogenética: El descubrimiento de los métodos de bandeo cromosómico. Significado y proyección bio-médica. Revista Médica del Uruguay. septiembre de 2002;18(2):107-21.

7. Rodríguez Martínez LM, Rodríguez Martínez LM. Estudio clínico-epidemiológico de las anomalías cromosómicas que conllevan un exceso de material genético numérico y estructural, excluyendo trisomías 13, 18 y 21 [Internet] [info:eu-repo/semantics/doctoralThesis]. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones; 2004 [citado 17 de octubre de 2019]. Disponible en: https://eprints.ucm.es/4466/

8. Gartler SM. The chromosome number in humans: a brief history. Nat Rev Genet. 2006;7(8):655-60.

9. ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016). Reprint of: Cytogenetic and Genome Research 2016, Vol. 149, No. 1-2. J McGowan-Jordan, A Simons, and M Schmid, editors.

10. Anomalías congénitas [Internet]. [citado 26 de noviembre de 2019]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/congenital-anomalies

11. Moarefi AH, Chédin F. ICF syndrome mutations cause a broad spectrum of biochemical defects in DNMT3B-mediated de novo DNA methylation. J Mol Biol. 24 de junio de 2011;409(5):758-72.

12. Queisser-Luft A, Stolz G, Wiesel A, Schlaefer K, Spranger J. Malformations in newborn: results based on 30,940 infants and fetuses from the Mainz congenital

birth defect monitoring system (1990-1998). Arch Gynecol Obstet. julio de 2002;266(3):163-7.

13. Therman E, Patau K, Smith DW, Demars RI. The D Trisomy Syndrome and XO Gonadal Dysgenesis in Two Sisters. Am J Hum Genet. junio de 1961;13(2):193-204.

14. Kalousek DK, Fitch N, Paradice BA. Pathology of the Human Embryo and Previable Fetus: An Atlas. Springer Science & Business Media; 2013. 245 p.

15. Cuatrecasas E, Masip E, Escabias T, Català V, Serés-Santamaría A, Vidal F, et al. Mosaicos cromosómicos en vellosidad corial. Diagn Prenat. 1 de julio de 2013;24(3):99-107.

16. Grati FR. Chromosomal Mosaicism in Human Feto-Placental Development: Implications for Prenatal Diagnosis. J Clin Med. 24 de julio de 2014;3(3):809-37.

17. Garduño-Zarazúa LM, Giammatteo Alois L, Kofman-Epstein S, Cervantes Peredo AB. Prevalencia de mosaicismo para la trisomía 21 y análisis de las variantes citogenéticas en pacientes con diagnóstico de síndrome de Down: Revisión de 24 años (1986-2010) del Servicio de Genética del Hospital General de México «"Dr. Eduardo Liceaga"». Boletín médico del Hospital Infantil de México. febrero de 2013;70(1):31-6.

18. Valdés Abreu M de la C, Díaz Martínez AG, Dalmau Díaz A, Domínguez I. La amniocentesis como técnica de diagnóstico prenatal. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología. diciembre de 1997;23(2):67-74.

19. Christianson A, Howson CP, Modell B. March of Dimes: global report on birth defects, the hidden toll of dying and disabled children. March of Dimes: global report on birth defects, the hidden toll of dying and disabled children [Internet]. 2005 [citado 10 de octubre de 2019]; Disponible en: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20063029121

20. Amniocentesis y toma de muestra de vellosidades coriónicas para el diagnóstico prenatal [Internet]. [citado 18 de octubre de 2019]. Disponible en: /es/CD003252/amniocentesis-y-toma-de-muestra-de-vellosidades-corionicas-para-el-diagnostico-prenatal

21. Genética Humana: Fundamentos y aplicaciones en Medicina [Internet]. [citado 10 de octubre de 2019]. Disponible en: https://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/4360/Genetica-Humana.html

22. Steele MW, Breg WR. Chromosome analysis of human amniotic-fluid cells. Lancet. 19 de febrero de 1966;1(7434):383-5.

23. Paper - Observations on an Ethnic Classification of Idiots - Embryology [Internet]. [citado 24 de noviembre de 2019]. Disponible en: https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Paper_-_Observations_on_an_Ethnic_Classification_of_Idiots

24. Stewart TL. Screening for aneuploidy: the genetic sonogram. Obstet Gynecol Clin North Am. marzo de 2004;31(1):21-33.

25. Desigualdad en la prevalencia del síndrome de Down en Europa - El Síndrome de Down [Internet]. [citado 28 de noviembre de 2019]. Disponible en: https://www.down21.org/revista-virtual/1709-revista-virtual-2006/revista-virtual-junio-2006/2006-tendencias-temporales-y-desigualdades-geograficas-en-la-prevalencia-del-sindrome-de-down-en-europa-1980-1999.html

26. Souka AP, Nicolaides KH. Diagnosis of fetal abnormalities at the 10-14-week scan. Ultrasound Obstet Gynecol. diciembre de 1997;10(6):429-42.

27. Ranke MB, Saenger P. Turner's syndrome. Lancet. 28 de julio de 2001;358(9278):309-14.

28. DiMaio MS, Fox JE, Mahoney MJ. Prenatal Diagnosis: Cases and Clinical Challenges. John Wiley & Sons; 2011. 175 p.

29. Fraccaro M, Simoni G, Brambati B. First Trimester Fetal Diagnosis. Springer Science & Business Media; 2012. 363 p.

30. Algunos aspectos éticos del diagnóstico prenatal, la medicina y terapia fetales [Internet]. [citado 19 de febrero de 2020]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2005000300010

31. Huamán-Guerrero M, de Michelena MQ, Arias J, Huamán M. DIAGNÓSTICO PRENATAL DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS. :7.

32. Gómez-Puente VM, Esmer-Sánchez M del C, Quezada-Espinoza C, Martínez-de Villarreal LE. Estudio citogenético en líquido amniótico, Experiencia de 7 años en la Facultad de Medicina y Hospital Universitario, UANL. Medicina Universitaria. 1 de enero de 2012;14(54):23-9.

33. Weaver DD, Brandt IK. Catalog of Prenatally Diagnosed Conditions. JHU Press; 1999. 726 p.

34. Milunsky A, Milunsky JM. Genetic Disorders and the Fetus: Diagnosis, Prevention and Treatment. John Wiley & Sons; 2011. 1863 p.

35. Cassidy SB, Allanson JE. Management of Genetic Syndromes. John Wiley & Sons; 2011. 541 p.

36. Castro Volio I, Sander Mangel K, Vargas Prado M, Sánchez Cháves L, Escalante López G. Diagnóstico prenatal citogenético mediante amniocentesis durante los trimestres II y III de gestación en Costa Rica. Revista de Biología Tropical. diciembre de 2001;49(3-4):1227-36.

37. Zhang S, Lei C, Wu J, Sun H, Yang Y, Zhang Y, et al. A Retrospective Study of Cytogenetic Results From Amniotic Fluid in 5328 Fetuses With Abnormal

Obstetric Sonographic Findings. J Ultrasound Med. septiembre de 2017;36(9):1809-17.

38. Li H, Li Y, Zhao R, Zhang Y. Cytogenetic Analysis of Amniotic Fluid Cells in 4206 Cases of High-Risk Pregnant Women. Iran J Public Health. enero de 2019;48(1):126-31.

39. Mademont-Soler I, Morales C, Clusellas N, Soler A, Sánchez A, Group of Cytogenetics from Hospital Clínic de Barcelona. Prenatal cytogenetic diagnosis in Spain: analysis and evaluation of the results obtained from amniotic fluid samples during the last decade. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. agosto de 2011;157(2):156-60.

40. An N, Li LL, Wang RX, Li LL, Yue JM, Liu RZ. Clinical and cytogenetic results of a series of amniocentesis cases from Northeast China: a report of 2500 cases. Genet Mol Res. 2 de diciembre de 2015;14(4):15660-7.

41. OMS | El Informe sobre la salud en el mundo 2006 - Colaboremos por la salud [Internet]. WHO. World Health Organization; [citado 26 de junio de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/whr/2006/es/

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Hospital Materno Neonatal
PARQUE DE LA SALUD

PARA DIAGNÓSTICO PRENATAL POR AMNIOCENTESIS.

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PACIENTE

Paciente. ..... de.....años de edad. Con domicilio en .... D.N.I. ....., y Nº de Historia.....

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL REPRESENTANTE LEGAL O PERSONA QUE AUTORIZA A LA PACIENTE

Sr/ Sra .....de.....años de edad. Con domicilio en .... D.N.I. ....., y en calidad de .....

DECLARO:
Que el profesional que me asiste en el Hospital Materno Neonatal, en la Unidad de Medicina Fetal me ha informado de la posibilidad y conveniencia de practicar una AMNIOCENTESIS para conocer el cariotipo de mi hijo aún no nacido ya que me encuentro en una situación de riesgo por……..... ……..……
y que se me ha explicado y he comprendido y aceptado:

1.- Que se trata de una técnica invasiva que implica la introducción de una aguja a través de las paredes abdominal y uterina de la madre en la cavidad amniótica, para extraer líquido amniótico del que se obtienen las células fetales necesarias para efectuar el análisis cromosómico, metabólico o molecular.

2.- Que si bien la amniocentesis transabdominal es una técnica segura, existe riesgo de aborto en aproximadamente el uno por ciento (1%) de los casos. Asimismo, he sido advertida e informada de otros posibles riesgos, como la posibilidad de punción (introducir una aguja) al feto o en el cordón umbilical, la rotura de la bolsa de líquido amniótico, infección (contaminación por gérmenes), parto pretérmino (antes de la fecha prevista) y hemorragia materna (pérdidas sanguíneas vaginales).

Por mi situación actual, el médico me ha explicado que pueden aumentar o aparecer otros riesgos o complicaciones como ……
……

3.- Que el procedimiento puede fracasar por no conseguirse la extracción de líquido amniótico, o por problemas de laboratorio que impidan llegar a un diagnóstico completo. El fallo de cultivo sucede aproximadamente en el uno por ciento (1 %) de los casos, debido a la ausencia de crecimiento, o por contaminación materna.

4.- Que la exploración sólo proporcionará información acerca de posibles anomalías cromosómicas, y no de defectos congénitos de otra naturaleza, y que, por tanto, el resultado normal de un estudio genético no garantiza que el niño nacerá sin defectos o retraso mental.

La resolución de las actuales técnicas citogenéticas es limitada, lo que supone que pueden existir alteraciones no detectables al microscopio en el momento actual de la técnica.
Ante el hallazgo de una alteración cromosómica no habitual, o en mosaico (dos o más líneas celulares), tampoco se puede asegurar su repercusión en el feto.

En muy raras ocasiones (de una en diez mil -1/10.000- a una en quince mil -1/15.000) el sexo cromosómico (XX mujer o XY hombre) puede no coincidir con el sexo fenotípico (genitales visibles al nacimiento)

5.- Que de no autorizar o no consentir someterme a este estudio que me sugieren, no lograré obtener información de posibles anomalías cromosómicas presentes en mi hijo por nacer.

6. Que igualmente me han sido explicados y he comprendido los cuidados y tratamiento en su caso, que he de seguir tras la exploración y me comprometo a observar. He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y aclarado todas las dudas que le he planteado.

CONSIENTO en que se me realice el procedimiento indicado, en el Hospital Materno Neonatal, Unidad de Medicina Fetal a los.....días del mes de ..... de 20.....

Fdo. PROFESIONAL ADJUNTO

Fdo. LA PACIENTE o PERSONA QUE LA REPRESENTE

REVOCACION

Paciente:(Nombre y dos apellido) ……de .. años de edad.

Con domicilio en .....y D.N.I. .....……
Sr/Sra.....de ....años de edad. Con domicilio en ..... y D.N.I.....en calidad de .....(representante legal, familiar o allegado) de la paciente.

Hago constar, mediante la presente, que revoco el consentimiento prestado en fecha.....y que no deseo proseguir el tratamiento, que en esta fecha doy por finalizado.

En Hospital Materno Neonatal, Unidad de Medicina Fetal a ..... días del mes de ..... de 20….....

Fdo. PROFESINAL ADJUNTO …….
Fdo. LA PACIENTE o PERSONA QUE LA REPRESENTE…….

INFORMACIÓN AL PACIENTE

"*Los datos personales recogidos serán incorporados y tratados en un fichero denominado Genética, y a la HCEU (Historia Clínica Electrónica Única) cuya finalidad es contener información de los pacientes a los que se ha realizado un diagnóstico genético, y sólo podrán darse a conocer a terceros en los casos previstos en la Ley".*
Así mismo autorizo el uso de: resultados diagnósticos e imágenes con fines de investigación y docencia, resguardando en todo momento la identidad personal.

Anexo 2

INSTITUTO DE GENÉTICA HUMANA LEY XVII – Nº 81 PARQUE DE LA SALUD DE LA PROVINCIA DE MISIONES "DR. RAMÓN MADARIAGA"	***INSTRUCTIVO PARA ESTUDIOS CITOGENÉTICOS EN LÍQUIDO AMNIÓTICO***	**Código:** Fecha: Edición:

I- DEFINICIONES

Amniocentesis: la amniocentesis por punción transabdominal es realizada, normalmente, entre las semanas 15 y 16 del embarazo, pero también se puede realizar amniocentesis temprana en las semanas 11 a 14, bajo guía ecográfica. Se aspira una muestra de Líquido Amniótico (**LA**), la cual es remitida al laboratorio para ser cultivada y procesada para obtener metafases con el fin de ser analizadas bajo microscopio óptico. Es realizada para confirmar o descartar embarazos con alto riesgo de presentar defectos congénitos, con sospecha de causa cromosómica.

Líquido Amniótico: medio líquido que rodea al feto durante su desarrollo, formado por tres tipos principales de células (epiteliales, fibroblastos y amniocitos); éstas últimas son las de mayor utilidad para dar un diagnóstico citogenético.

Tripsina-EDTA: la tripsina es un miembro de la familia de serina proteasa que consiste en un polipéptido de cadena única de 223 residuos de aminoácidos, producido por la eliminación del hexapéptido N-terminal del tripsinógeno que se escinde en el enlace peptídico de Lys-lle. La secuencia de aminoácidos está reticulada por 6 puentes disulfuro.

La tripsina escinde péptidos en el extremo C-terminal de residuos de Lisina y Arginina. La velocidad de hidrólisis de esta reacción se ralentiza si un residuo ácido está a cada lado del sitio de escisión y la hidrólisis se detiene si un residuo de Prolina está en el lado carboxilo del sitio de escisión. El pH óptimo para su actividad es 7-8. La tripsina también puede actuar para separar enlaces éster y amida de derivados sintéticos de aminoácidos.

EDTA se añade a las soluciones de tripsina como un agente quelante que neutraliza los iones de Calcio y Magnesio que bloquean los enlaces peptídicos en los que actúa la tripsina. La eliminación de estos iones aumenta la actividad enzimática.

Este producto se almacena generalmente congelado de 0 a -10°C y deben evitarse los ciclos repetidos de congelación/descongelación. Como es una enzima proteolítica, puede sufrir

autodigestión, lo que disminuye su actividad.

Este producto contiene rojo fenol. El CO_2 puede entrar en la solución y bajar ligeramente el pH, dando un color naranja. La solución naranja seguirá siendo adecuada para el uso, o el pH se puede ajustar con hidróxido sódico.

La incubación de células con una concentración de tripsina demasiado alta durante un período prolongado puede dañar las membranas celulares y destruir las células. Solubilizar la tripsina o diluirla con una solución salina tamponada (buffer) que no contenga Ca^{2+} o Mg^{2+}.

El uso típico de este producto es la eliminación de células adherentes de una superficie de cultivo. La concentración de tripsina necesaria para desalojar las células de su sustrato depende principalmente del tipo celular y la edad del cultivo.

Solución Hipotónica: solución homogénea que tiene menor concentración de soluto en relación al medio interior de la célula, por lo tanto, ésta aumenta su volumen por el flujo neto de la solución hacia el citoplasma, produciéndose la expansión y/o explosión de la membrana celular y consecuente liberación de los cromosomas de las células que se encuentren en metafase. La más utilizada para cultivos de líquido amniótico es la solución Citrato de Sodio 1%.

II- DESARROLLO

TÉCNICA DE CULTIVO DE LÍQUIDO AMNIÓTICO PARA ESTUDIOS CITOGENÉTICOS

Dadas las características embrionarias del líquido amniótico, donde se encuentran varios tipos de células de origen fetal, en suspensión, la muestra obtenida se centrifuga y se procede al cultivo en distintos frascos con medios de cultivos especiales. Después de unos 15 días, es posible analizar las metafases obtenidas al microscopio óptico. En algunos casos puede pasar que se arrastre, en la punción, células de origen materna, produciendo una contaminación de la muestra. Los macrófagos maternos no presentan buen crecimiento en cultivo, pero otro tipo de células maternas que se pueden observar son las de adherencia rápida, que indicaría la presencia de defecto del tubo neural fetal.

Los cultivos largos presentan, respecto a los cortos, la ventaja de una mayor concordancia diagnóstica con el cariotipo fetal y una mejor calidad de las metafases a analizar.

La cantidad de la muestra que debe ingresar al laboratorio es de entre 20 a 30ml como máximo. Después de la punción, la muestra debe ser trasladad directamente al laboratorio, lo más rápido posible (no más de 24 hs). Se debe trabajar con agujas y jeringas estériles y de marcas reconocidas, ya que algunas afectan el crecimiento celular o lo impiden. También hay que evitar los extremos de temperaturas, en la cual se toma y transporta la muestra.

1. Recepción de muestras

Se reciben las muestras los días programados con anterioridad con el médico a cargo de realizar la punción, con el pedido médico correspondiente y ficha completa del paciente (nombre completo, DNI, sexo, edad, ID, diagnóstico presuntivo).

Requisitos que debe cumplir la muestra para su aceptación:

- Debe remitirse al Laboratorio de Citogenética inmediatamente después de realizada la toma de muestra (NO se aceptan muestras de más de 24 horas posteriores a su extracción)
- En caso de punción, debe ser colectada en jeringa estéril de 20ml, con aguja y capuchón. El volumen ideal es de 15 a 20ml de líquido amniótico extraído.
- Debe estar correctamente rotulada con los datos del paciente.
- En caso de ser transportada o de no ser remitida al laboratorio inmediatamente, debe conservarse refrigerada (NO congelada).
- NO se reciben muestras en malas condiciones: jeringas que evidencien posible contaminación sanguínea materna o presencia de microorganismos, se excluyen también muestra que pertenezcan a pacientes medicadas con antibióticos.

Los datos del paciente serán ingresados en el cuaderno de entrada del laboratorio y planilla de trazabilidad, asignándose un código numérico único para cada paciente. Este código será utilizado para rotular todo material de laboratorio que entre en contacto con la muestra durante el procesamiento.

2. Procesamiento de muestras

Materiales:

* Placas de Petri de 60mm o Frascos corning de 25cm^3 con tapa a rosca inclinada.

* Tubos cónicos estériles de 15ml con tapa a rosca.

* Instrumental de disección (tijeras, bisturí, pinzas, agujas)

* Medio de cultivo completo (Amniomax 9ml + Suplemento 1,5ml) por placa o frasco.

* Tripsina-EDTA 0,25%

* Solución buffer libre de Ca y Mg (Hanks Balanced Salt Solution HBSS) o Dulbecco´s phosphate buffered saline (PBS) libre de Ca^{2+} y Mg^{2+}, pH ~7

* Colcemid 10ug/ml

* Citrato de Sodio (Solución Hipotónica) [1g Citrato de Na en 100ml H_2O destilada, pH=7,5]

* Fijador Farmer (3 Metanol : 1 Ác. Acético Glacial)

* Solución colorante Giemsa 10%

* Solución Tripsina 5ml + 30ml Sn Fisiológica + 30ml Sn Fosfato

* Portaobjetos limpios

* Pipeta Pasteur estériles

* Jeringas de tuberculina de 1ml

2.1 Siembra

- Colocar el material de punción (LA), en 2 o 3 tubos cónicos estériles de 15ml (dependiendo de la cantidad de muestra extraída), bajo cabina de bioseguridad
- Centrifugar a 1500 rpm por 10 minutos, eliminar el sobrenadante o enviar al laboratorio de bioquímica para análisis de hormonas fetales (alfa feto proteínas)
- Descongelar 2 o 3 tubos con Suplemento (1,5ml c/u), y agregar 9ml de medio de cultivo AmnioMax, homogeneizar.
- Al pellet de cada tubo centrifugado, adicionamos 4ml de medio de cultivo completo (AmnioMax + Suplemento), homogeneizar delicadamente (golpeando con el dedo la base de los tubos)
- Volcar lentamente dentro de los frascos de cultivo o placas de Petri, cerrar hasta el primer tope en el caso de los frascos, e incubar por 7 días a 37°C en estufa de cultivo gaseada (5% de CO_2 y 95% humedad).
- Retirar los frascos de cultivo o placas de Petri y chequear la presencia y/o nº de colonias en crecimiento con microscopio invertido. De ser suficientes, largar la cosecha; de lo contrario repicar nuevos cultivos. Se tendrá atención cuando sea posible:

  ~No repicar ni cosechar todos los frascos/placas del mismo paciente en el mismo día~

- El repique consiste en sacar el medio de cultivo por volcado de los frascos, colocar 0,4ml de Tripsina-EDTA y llevar a estufa por 3-6 minutos. Luego observar si las colonias se desprendieron (sino se despegan por completo, golpear los frascos suavemente). Colocar 4ml de medio de cultivo completo e incubar a 37°C en estufa de cultivo gaseada (5% de CO_2 y 95% humedad). Cosechar en no más de 48hs posteriores al repique.

2.2 Cosecha

PROCESAMIENTO DE LÍQUIDO AMNIÓTICO PARA LA OBTENCIÓN DE METAFASES (protocolo por Mehrnoush Vahdati y Helen Lawce, "*Oregon Health Sciences University*", Portland – Oregon y Dana Spark y Tim Donlon, "*Stanford University Medical Center*", Stanford - California, con modificaciones)

- Agregar a cada frasco, 4 gotas de Colcemid (~0,1ml = 100ul) e incubar en estufa gaseada por 2-4 hs.
- Retirar los frascos de la estufa y sacar el medio de cultivo por volcado, inversión o

aspiración y guardarlo en 1 o 2 tubos de centrifuga.

- Adicione cerca de 0,1ml/cm^2 (~0,4ml) de la solución de Tripsina-EDTA para lavar y disgregar rápidamente la monocapa de células. Esa maniobra es rápida y puede ser utilizada disuelta en medio de cultivo sin suero o solución buffer HBSS o PBS libre de Ca^{2+} y Mg^{2+}, lo que permitirá economizar la solución de Tripsina-EDTA. Incubar en estufa gaseada por 3-6 minutos.
- Retirar de la estufa y observar al microscopio invertido si las colonias se desprendieron de la base del frasco. Cuando las células adquieran un aspecto redondo e individualizado, el proceso puede ser interrumpido con la adición de 0,2ml/cm^2 de medio con suero al 10%. Como el suero posee alfa 1-anti-tripsina, éste neutralizará la acción de la tripsina. Cuando se trabaja con monocapa celular que ocupa todo el frasco, el desprendimiento puede ser observado a simple vista, por lo cual el medio se presentará como si tuviese arena fina. Es importante que la neutralización con suero se haga inmediatamente después del desprendimiento celular, ya que la membrana citoplasmática es lipoproteica y sufre la acción proteolítica de la tripsina (perdiéndose material útil para efectuar el análisis citogenético).
- La neutralización de la acción proteolítica de la tripsina puede lograrse colocando el medio completo (guardado en tubos de centrifuga) en cada frasco, para luego homogeneizar y volcar nuevamente a los tubos de centrífuga todo el contenido de los frascos.
- Centrifugar a 1500 rpm por 10 minutos, retirar el sobrenadante y adicionar 7ml de Citrato de Sodio 1% (Sn Hipotónica) e incubar 20 minutos en estufa a 37°C.
- Centrifugar, retirar el sobrenadante y fijar con 5-7ml de fijador Farmer frío. Dejar por 24hs aproximadamente para continuar al día siguiente o continuar con 1-2 lavados.

2.3 Preparación de extendidos

- Centrifugar a 1500 rpm por 10 minutos, retirar el sobrenadante, agregar 1-3ml de fijador Farmer (dependiendo del tamaño del pellet) y realizar un vidrio prueba por goteo para cada tubo.
- Colorear con Giemsa por 10 minutos como mínimo, dejar secar a temperatura ambiente y observar al microscopio óptico. Si se obtiene una cantidad y calidad adecuada de metafases, se extienden unos 8 a 10 vidrios, los cuales son envejecidos en plancha calefactora a 80°C durante 2hs y en estufa por 5 a 7 días para luego bandear.

2.4 Bandeo GTG

Sumergir el preparado en Tripsina al 0,05% entre 5 y 15 segundos (el tiempo de bandeo es optimizado para cada paciente). A continuación, se enjuaga en solución fisiológica y se colorea con Giemsa. Se procede a observar los resultados de la técnica de bandeo teniendo en cuenta los siguientes criterios de exclusión:

- Largo de los cromosomas - nivel de resolución ≤ 300 bandas
- Bandeo de mala calidad (muy pasado o faltante)
- Bandeo irregular (algunos cromosomas presentan bandas y otros no)

En caso de que se cumpla alguno de estos criterios se descarta la muestra y se da aviso a Clínica. Aquellas muestras que se encuentran en condiciones óptimas, pasan a la etapa de Análisis.

3. Análisis al microscopio

Se realiza el análisis citogenético al microscopio óptico de 15 a 20 metafases, observando el número y estructura cromosómica, con una resolución de bandas de 400-450 aproximadamente. Todas las metafases analizadas son registradas en el Formulario de Reporte Final y de Análisis de Metafases. Finalmente, se controlan 3 metafases por parte de otro observador.

4. Elaboración de informes

Se informa el cariotipo del paciente según normas del ISCN 2013 (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature). Se confecciona el informe en el Formulario de Reporte Final. Finalmente, se redacta el informe en el módulo Sistema de Reporte.

5. Montaje y Documentación

Fotografiar al menos dos metafases y guardar dos extendidos de cada caso, bandeados y montados con DPX.

Para análisis citogenético de rutina, montar los extendidos con cubreobjetos está recomendado por dos razones:

- El cubreobjetos protege de rayones.
- El aceite de inmersión puede desteñir y degradar la apariencia de los cromosomas después de un período de tiempo.

Se depositan 2 gotas de DPX sobre el portaobjetos y se deja caer delicadamente el cubreobjetos, sin generar burbujas de aire. Es aconsejable que el medio de montaje sea utilizado antes del examen al microscopio. Aunque debe secarse previamente a temperatura ambiente o en estufa a 37°C, es importante el secado, ya que el medio de montaje puede adherirse al lente objetivo del

microscopio, pudiendo intervenir con la habilidad de enfocar la imagen.

La mayoría de los medios de montaje son solubles en xileno, tolueno, hidrocarburos aromáticos o hidrocarburos clorados. La limpieza del aceite de inmersión con xileno es necesaria antes de realizar el montaje.

ANEXO 3

Planilla de análisis del Laboratorio

SERVICIO DE GENÉTICA HOSPITAL ESCUELA DE AGUDOS DR. RAMÓN MADARIAGA	HOSPITAL ESCUELA DE AGUDOS "Dr. Ramón Madariaga" SERVICIO DE GENÉTICA	F-CG -01

LABORATORIO DE CITOGENÉTICA
HOJA DE TRABAJO Nª 1

PACIENTE: _____Sexo:_____

ID: _____ ID Pedido:_____ Fecha:_____

Motivo de consulta: _____

N° de muestra: _____Tipo: SP - VC - LA - MO - GL - otra_____

Metodología: Técnica Directa: ____ Cultivo:_____ hs.

Técnica de identificación cromosómica: Bandeo _____Nivel de Bandas:_____

CARIOTIPO (ISCN 2013):

Vidrio Nº _____ Caja archivo Nº _____

Tiempo de Análisis: _____ Fecha: inicio _____Fecha finalización: _____

Revisado por:_____ Fecha:_____

Revisado por:_____ Fecha: _____

Nº de cromosomas	N°° de metafases contadas	Metafases Nº	CARIOTIPO
< 45			
45			
46			
47			

NOTA:

CITOGENETISTA: FIRMA:

HOSPITAL ESCUELA DE AGUDOS "Dr. Ramón Madariaga"
SERVICIO DE GENÉTICA

PACIENTE: _____ ID: _____ ID Pedido:_____

Microsc Nº	Vidrio Nº	Metafase Nº	Nº cromosom	Coordenadas	Cariotipo	Foto
		1				
		2				
		3				
		4				
		5				
		6				
		7				
		8				
		9				
		10				
		11				
		12				
		13				
		14				
		15				
		16				
		17				
		18				
		19				
		20				

NOTA:

HOJA DE TRABAJO Nº 2

CITOGENETISTA: FIRMA:

	coordenadas:				
	M	1	7	13	19
	vidrio	2	8	14	20
		3	9	15	21
	metafase	4	10	16	22
		5	11	17	X
		6	12	18	Y

	coordenadas:				
	M	1	7	13	19
	vidrio	2	8	14	20
		3	9	15	21
	metafase	4	10	16	22
		5	11	17	X
		6	12	18	Y

	coordenadas:				
	M	1	7	13	19
	vidrio	2	8	14	20
		3	9	15	21
	metafase	4	10	16	22
		5	11	17	X
		6	12	18	Y

HOJA DE TRABAJO Nº 3

CITOGENETISTA: FIRMA:

Anexo 4

Informe citogenético

Citogenética - IGeHM

Instituto De Genetica Humana NECESIDAD DE GRUPO DE APOYO

Id Paciente:

Paciente:

Fecha Nac:

Edad:

DNI:

Programa Medico: PROGRAMA FEDERAL DE SALUD (PROFE)

Plan: PLAN UNICO

Numero Afiliado:

Id Pedido:

Episodio: 0

Fecha de Impresion: 04-Mar-2020 13:55:01

Fecha de pedido: 20/01/2020

Sistema de Origen: HCI

Medico Solicitante: ESPINDOLA ROSSANA EVANGELINA

Servicio: Genetica clinica adultos - IGeHM

Lugar:

Id Producto: 3181
Producto: Estudio Citogenetico con Alta Resolucion en Sangre Periferica - Analisis c/bandas G
Médico que informa: JORGE CARLOS DOLDAN **M.P.:** 35
Informe:
Nº MUESTRA: 3439
MÉDICO SOLICITANTE: Espindola Rossana
MOTIVO DE SOLICITUD: RM
TIPO DE MUESTRA: SANGRE PERIFÉRICA
TÉCNICA: CULTIVO DE 72 HS
DIFERENCIACIÓN CROMOSÓMICA: BANDEO GTG - NIVEL DE BANDAS: 450

CARIOTIPO S/ISCN 2013: 46,XX[6]

INTERPRETACIÓN: CARIOTIPO CON 46 CROMOSOMAS, COMPLEMENTO SEXUAL XX . NO SE OBSERVAN ALTERACIONES CROMOSÓMICAS NUMÉRICAS NI ESTRUCTURALES AL MICROSCOPIO ÓPTICO. Resultado no concluyente, se solicita nueva toma de muestra para completar el estudio.

ACLARACIÓN: ESTE ESTUDIO PERMITE EL DIAGNÓSTICO DE ANOMALÍAS NUMÉRICAS Y ESTRUCTURALES APRECIABLES POR LAS TÉCNICAS UTILIZADAS Y EN EL NIVEL DE RESOLUCIÓN DE BANDAS ANALIZADO. EL PRESENTE RESULTADO DEBE SER CONSIDERADO EN EL CONTEXTO DE LA EVALUACIÓN CLÍNICA DEL MÉDICO ESPECIALISTA.

.....
JORGE CARLOS DOLDAN
M.P.: 35