



# INFORME DE PASANTÍA

Licenciatura en Biología Humana

**Análisis epidemiológico de estudios citogenéticos  
realizados en la Facultad de Medicina - UdelaR**

Br. Kateryn Bentancor

**Tutor**

Dr. Víctor Raggio

**Orientador de pasantía**

Dra. Faride Uturbey

Laboratorio de Citogenética, Departamento de Genética, Facultad de Medicina.

## **AGRADECIMIENTOS**

- Agradezco principalmente al Dr. Víctor Raggio, tutor de la carrera en Biología Humana, por su disposición, dedicación y paciencia en este trabajo.
- Agradezco a mi tutora, la Dra. Faride Uturbey, por brindarme su apoyo y conocimiento durante la pasantía en el Laboratorio de citogenética de la Facultad de Medicina.
- Agradezco también a la Dra. Cynthia de Almeida integrante retirada del Laboratorio de citogenética del Hospital Militar.
- Y el apoyo y motivación de mi familia y amigos que hicieron que llevara adelante este proyecto, por lo cual también merecen mi agradecimiento.

"Siempre he defendido con energía la postura de que debemos basar nuestra visión del mundo en el estado de nuestro conocimiento, en los hechos, y no en lo que nos gustaría que ocurriera. Por eso la genética es tan importante. Porque nos llevará a respuestas para muchas de las mayores y más complicadas cuestiones que han preocupado a la gente durante cientos (...) de años. Pero muchas de esas respuestas no son fáciles, puesto que (...) la genética puede ser cruel".

James Dewey Watson.

## INDICE

RESUMEN .....	4
ABSTRACT .....	6
INTRODUCCION Y ANTECEDENTES .....	7
OBJETIVO GENERAL .....	15
OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	15
MATERIALES Y METODOS .....	16
Análisis retrospectivo de datos citogenéticos.....	16
Incorporación de la metodología de laboratorio .....	16
RESULTADOS .....	18
DISCUSIÓN .....	28
CONCLUSIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA .....	31

## RESUMEN

La citogenética es el área de la genética que se ocupa del análisis de los cromosomas por microscopía óptica convencional y bandeado G o fluorescencia. El análisis del cariotipo humano ha permitido descubrir alteraciones cromosómicas en diversas enfermedades. En este trabajo se busca identificar los cromosomas obtenidos en las técnicas de cultivos realizadas en pacientes referidos al área de Citogenética del Departamento de Genética de la Facultad de Medicina, Universidad de la República (UdelaR), entre julio de 2016 y julio de 2017, para diagnóstico constitucional, usando la técnica de bandeado G. Se describen los resultados en pacientes referidos a: baja talla, retardo global del desarrollo/discapacidad intelectual, trastorno del espectro autista/alteraciones conductuales, alteraciones morfológicas, sexo ambiguo/alteraciones del desarrollo sexual, infertilidad o abortos a repetición, o sospecha de un síndrome específico. De los 440 casos estudiados el porcentaje de individuos sin alteración fue mayoritario, en relación a los que tenían alteraciones numéricas (4,7%), estructurales (2,0%), en mosaico (0,9%) y alteraciones complejas (0,5%). La frecuencia de alteraciones cromosómicas por grupo de edad (n=273), fue de 60% en los recién nacidos, de 1 meses a 3 meses (25,0%), 4 meses a 6 meses (16,7%), 7 meses a 2 años (8,6%), 3 años a 10 años (1,0%), 11 años a 17 años (6,3%) y mayores de 18 años (9,8%). Una de las causas frecuentes de estudio fue la baja talla. En este caso se encontraron diversas alteraciones numéricas, estructurales y en mosaico. La mayoría (90%) de los estudios son normales. Para el retardo global del desarrollo/discapacidad intelectual, otra de las causas frecuentes de referencia (n= 128), vemos que hay solamente 3 estudios que tienen alteración: uno es un síndrome de Down, otro un síndrome de Klinefelter y otro un material adicional en el cromosoma 21. Entre las alteraciones morfológicas aparece un caso de trisomía 18, dos casos con alteraciones estructurales y un mosaicismo. Para el dato clínico Infertilidad o abortos a repetición, hay dos casos con alteraciones estructurales y dos con mosaicismos. A pesar de las limitaciones del trabajo los hallazgos coinciden con lo esperado, de acuerdo a series grandes de casos publicadas.

## ABSTRACT

Cytogenetics is the area of genetics that deals with the analysis of chromosomes by conventional optical microscopy and G banding or fluorescence. The analysis of the human karyotype has allowed the discovery of chromosomal alterations in various diseases. In this work we seek to identify the chromosomes obtained in the culture techniques performed in patients referred to the Cytogenetics area of the Department of Genetics of the Faculty of Medicine, University of the Republic (UdelaR), between July 2016 and July 2017, for constitutional diagnosis, using the G. banding technique. The results are described in patients referred to: short stature, global developmental delay/intellectual disability, autistic spectrum disorder/behavioral alterations, morphological abnormalities, alterations of sexual development, infertility or repeated abortions, or suspicion of a specific syndrome. Of the 440 cases studied, individuals without an alteration were the vast majority, in relation to those who had numerical (4.7%), structural (2.0%), mosaic (0.9%) and complex alterations (0,5%). The frequency of chromosomal alterations by age group (n=273) was 60% in newborns, from 1 month to 3 months (25.0%), 4 months to 6 months (16.7%), 7 months to 2 years (8.6%), 3 years to 10 years (1.0%), 11 years to 17 years (6.3%) and over 18 years (9.8%). One of the frequent causes of study was short stature. In this case, several numerical, structural and mosaic alterations were found. The majority (90%) of the studies were normal. In the cases with global developmental delay / intellectual disability, another frequent cause of reference (n=128), there are only 3 studies with alterations: one is a Down syndrome, another was a Klinefelter syndrome and another an additional material in chromosome 21. Among the morphological alterations, there is a case of trisomy 18, two cases with structural alterations and a case of mosaicism. For the patients referred because of Infertility or recurrent abortions, there are two cases with structural alterations and two with mosaicisms. Despite study limitations, our findings are in accordance with previous large published case series.

## INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

El comportamiento de los cromosomas humanos a través de su análisis es el objeto de estudio de la Citogenética Humana. El número cromosómico de la especie humana se determinó en el año 1956 (Tjio y Levan, 1956), confirmando que el número cromosómico humano era 46, y no 48 como se había establecido previamente. En 1959 se publica la primera enfermedad humana vinculada a una anomalía cromosómica numérica: el Síndrome de Down, a la cual llamaron: Trisomía del Cromosoma 21 (Lejeune y cols., 1959). Entre los años 1959 y 1963 se estudiaron varias alteraciones, aneuploidías de cromosomas sexuales vinculadas a los síndromes de Turner y Klinefelter, síndromes asociados a alteraciones estructurales como el síndrome de "*cri du chat*", donde aparece una deleción parcial del brazo corto de un cromosoma 5. A nivel hemato-oncológico se realizó el descubrimiento del cromosoma Philadelphia en pacientes con leucemia mieloide crónica, el que con el avance posterior con nuevas metodologías de bandeo cromosómico se definió como el producto de una translocación recíproca entre un cromosoma 9 y un cromosoma 22 (Nowell y Hungerford, 1960). A fines de los 60s, Caspersson y cols. (1968), observaron que los cromosomas teñidos con ciertos colorantes del ADN como la quinacrina presentaban un patrón de bandas específico, que fuera descrito posteriormente como bandeo Q (Weisblum y De Haseth, 1972).

A principios de los años 70 algunos trabajos independientes demostraron que las bandas producidas por la Quinacrina podían reproducirse en preparados teñidos con colorantes no fluorescentes como el Giemsa (Gersen, 2005), donde las bandas que se teñían de oscuro eran las mismas que se observaban brillantes en la tinción con Quinacrina, mientras que las bandas claras correspondían a las bandas apagadas u opacas con Quinacrina. Este patrón de bandas no fluorescentes se denominó "G" (de Giemsa), dando

patrones de bandas específicos que caracterizan todas las regiones de los brazos cromosómicos. Con este descubrimiento de los años 70 (Drets y Shaw, 1971) se inicia una era diferente en la Citogenética Humana y Médica que constituye hasta nuestros días el dominio de la llamada citogenética convencional (Silva, Contreras & Fonseca, 2008).

La citogenética convencional se ocupa del análisis de los cromosomas (“chromo”: color y “soma”: cuerpo). En los mismos podemos reconocer las siguientes estructuras: el brazo corto denominado con la letra (p), el brazo largo denominado con la letra (q), centrómero y telómero. El centrómero suele recibir el nombre de constricción primaria y divide al cromosoma en dos brazos. La posición del centrómero en el cromosoma permite clasificarlos en: metacéntricos, donde el centrómero está ubicado en el centro del cromosoma, submetacéntricos, donde el centrómero se encuentra desplazado hacia un extremo del cromosoma y acrocéntricos, con centrómero ubicado cerca de un extremo del cromosoma y telocéntrico, que lo ubican en un extremo (este cromosoma solo tiene el brazo largo y no se encuentran en los humanos). Los telómeros son los extremos de los cromosomas y su estructura particular brinda estabilidad a los mismos, evitando que los cromosomas se adhieran a ese nivel entre sí.

Las células humanas contienen 46 cromosomas (22 pares de autosomas, más los cromosomas sexuales X e Y). Para su estudio se ordenan en parejas de cromosomas homólogos según su tamaño y posición del centrómero. Se le denomina cariotipo al conjunto de cromosomas que posee un organismo y en la especie humana se dividen por tamaño decreciente en varios grupos que se denominados desde la letra A hasta la G:

Grupo A: (cromosomas 1, 2 y 3); meta y submetacéntrico, grandes.

Grupo B: (cromosomas 4 y 5), submetacéntricos grandes.

Grupo C: (cromosomas 7, 8, 9, 10, 11, 12 y además el cromosoma X)

Submetacéntricos medianos.

Grupo D: (cromosomas 13, 14 y 15) acrocéntricos grandes.



Grupo E: (cromosomas 16, 17 y 18) submetacéntricos pequeños.

Grupo F: (cromosomas 19 y 20) metacéntricos pequeños.

Grupo G: (cromosomas 21, 22 y cromosoma Y) acrocéntricos pequeños.

Los cromosomas sexuales X e Y se separan de sus grupos correspondientes y se ubican juntos, separadamente al final del cariotipo.

Por medio del análisis del cariotipo podemos detallar diferentes anomalías cromosómicas. Las mismas se clasifican en anomalías numéricas y anomalías estructurales. Las anomalías cromosómicas numéricas tienen aumento o disminución de cromosomas de uno o más pares cromosómicos. Estas constituyen las llamadas aneuploidías que se diferencian de las denominadas poliploidías que involucran diferencias respecto al número normal en grupos haploides completos. Las alteraciones estructurales involucran reordenamientos inter o intracromosómicos que pueden dejar como resultado pérdidas (deleciones) o ganancias (inserciones) lo que conduce a alteraciones parciales de los cromosomas; puede haber cambios de posicionamiento de segmentos cromosómicos sin pérdida o ganancia pero que sí involucran modificaciones moleculares (inserciones y traslocaciones) con consecuencias o no para el individuo (Solari, 2011).

El ISCN (International System for Human Cytogenetic Nomenclature) es el encargado de la nomenclatura para describir los cariotipos normales o alterados, basándose en reglas establecidas por consenso. Primero se especifica el número de cromosomas, continuado de los cromosomas sexuales y, si se encuentran alteraciones, se especifican a continuación. Los datos obtenidos van separados por comas sin espacio antes ni después de las mismas. Si el individuo presenta mosaicismo (la presencia de dos o más líneas celulares diferentes a nivel cromosómico), la condición cromosómica implicada debe de describirse separado por una barra, por ejemplo: 46,XX/45,XO, indica que existes dos líneas celulares una normal femenina y otra con una mosomía del par sexual. En el caso de que el individuo presentara alteraciones estructurales, los cromosomas involucrados deben ir entre paréntesis y

seguidamente las regiones implicadas en otros paréntesis diferentes, y en el caso de ganancia por pérdida de cromosomas debe especificarse con el signo de más o de menos, por ejemplo: 46,XY,add(21)(q22), indica que hay un material adicional en el brazo largo del cromosoma 21 (Villaverde, 2007).

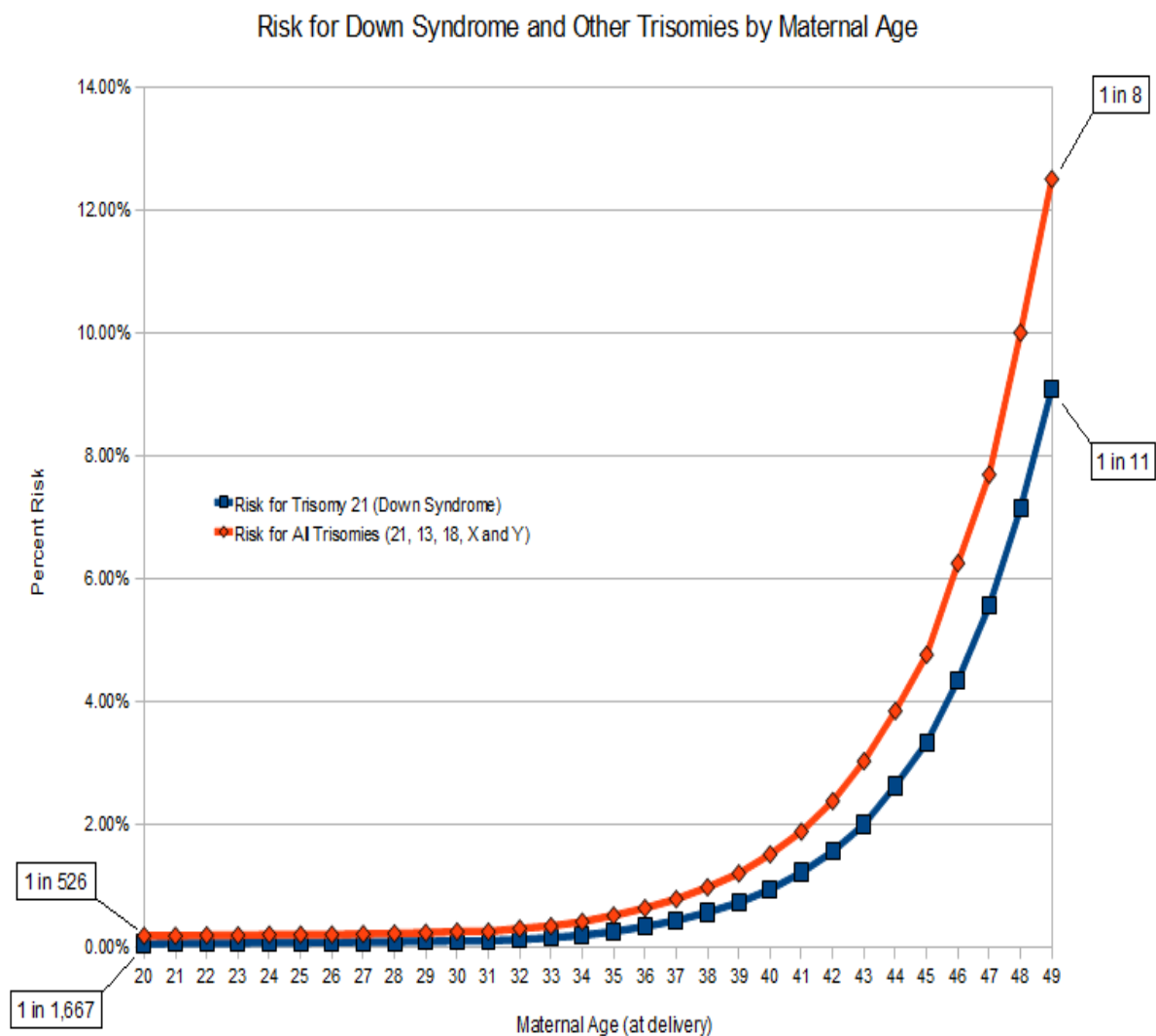
En el año 1971 se da la reunión de París para discutir y establecer consensos de estandarización en cuanto a la nomenclatura citogenética en función del avance de las nuevas metodologías, publicándose el primer ideograma con las bandas típicas de cada cromosoma, lo que constituye una representación gráfica de las mismas (Conferencia de París, 1971). En sucesivas reuniones internacionales se fueron actualizando los criterios de la nomenclatura cromosómica (ISCN, 2013).

Hacia fines de los años 80 y principios de los 90 la Genética Médica incorpora técnicas derivadas de la Genética Molecular, fundamentalmente lo que se denominó FISH (Fluorescent In Situ Hybridization). Es una técnica citogenética molecular de marcaje de cromosomas mediante la cual estos son hibridados con sondas que emiten fluorescencia y permiten la visualización, distinción y estudio de regiones cromosómicas específicas. Esta técnica permite la rápida determinación de aneuploidías, microdeleciones, duplicaciones, inversiones, así como la adjudicación de un marcador genético a un cromosoma. La técnica de FISH puede realizarse tanto en cromosomas metafásicos como en interfase. Al no utilizar sólo metafases como en la citogenética convencional, el análisis se puede hacer a lo largo de todo el ciclo celular, cuestión de particular importancia para el estudio de células no proliferantes (Speicher y Carter, 2005).

En los estudios constitucionales, los cromosomas que son usualmente analizados por FISH son: 13, 18, 21, X e Y, que son los más frecuentemente asociados a anomalías. Están relacionados a enfermedades como el síndrome de Patau (13), el síndrome de Edwards (18), el síndrome de Down (21), el síndrome de Turner, Klinefelter y el síndrome del XYY entre otros. El advenimiento de la citogenética molecular no desplaza a la citogenética convencional sino que complementa los análisis, dependiendo de la situación diagnóstica en que nos encontremos, tanto a nivel del diagnóstico de

anomalías congénitas como adquiridas (Solari, 2011).

En cuanto a los síndromes clínicos relacionados a anomalías cromosómicas se deben destacar las “clásicas” anomalías numéricas. El síndrome de Down es la principal causa genética de discapacidad intelectual. Se genera por la presencia de un cromosoma extra del par 21, o una parte de él. La prevalencia es de 1 cada 700 nacidos vivos. Es muy significativa la edad materna en la determinación del riesgo de que ocurra esta anomalía (**Figura 1**).



SOURCES:  
Hook EB, Cross PK, Schreinemachers DM. Chromosomal abnormality rates at amniocentesis and in live-born infants. JAMA 1983;249(15):2034-38.  
Newberger, D., *Down Syndrome: Prenatal Risk Assessment and Diagnosis*. American Family Physician. 2001.  
Down syndrome births in the United States from 1989 to 2001. Egan JF - Am J Obstet Gynecol - 01-SEP-2004; 191(3): 1044-8.

**Figura 1:** Frecuencia de nacimientos con síndrome de Down en relación con la edad materna al momento del parto. Referencias en la figura.

La mayoría de las trisomías se deben a una no disyunción materna. En el gráfico de la frecuencia relacionado con la edad materna, vemos que se mantiene lineal hasta aproximadamente los 32 años y después va aumentando en forma casi exponencial. El 95% tiene una trisomía libre, y 4% presenta una translocación cromosómica, habiendo casos de mosaicismo. Existen varios tipos de translocaciones que dan origen al síndrome de Down, siendo la mayoría de tipo robertsoniano. Las que aparecen con mayor frecuencia son las que involucran a un cromosoma acrocéntrico grande del grupo D con el 21, y las que afectan a dos cromosomas acrocéntricos pequeños entre sí. En la clínica estos pacientes presentan un fenotipo con: hipotonía muscular marcada, discapacidad intelectual, facies características, pliegues epicánticos y abertura palpebral sesgada hacia arriba, hipoplasia maxilar y del paladar que determina la protrusión de la lengua, malformaciones digestivas y cardiopatías congénitas, dedos cortos, con hipoplasia de la falange media del quinto dedo y dermatoglifos característicos (Solari, 2011).

El síndrome de Patau, causado por la presencia de un cromosoma extra del par 13, se debe generalmente a una trisomía libre, por no disyunción cromosómica durante la meiosis, mientras que el 20%, se da por translocación  $t(13;14)$ , y en el 5% se han descrito en mosaicismo. La prevalencia de este síndrome es de 1 vez cada 12.000 nacidos vivos. Crece el riesgo a medida que aumenta la edad materna, de forma similar a la trisomía 21 (si bien es mucho menos frecuente). El síndrome se caracteriza por malformaciones como: paladar hendido con labio leporino, microftalmia, polidactilia, criptorquidia en los varones, útero bicorne en las mujeres, microcefalia, profundo retraso del desarrollo neurológico, implantación baja de las orejas con pabellón mal formado, malformaciones cardíacas, anomalías renales y gastrointestinales así como malformaciones cerebrales (Thompson, 1996).

El síndrome de Edwards se debe a la presencia de tres cromosomas 18. De los nacidos vivos, aparece en 1 de cada 6.000 a 8.000. Existe mayor riesgo de que ocurra este síndrome, cuanto mayor edad tiene la madre. La mayoría fallecen en las primeras semanas o meses de vida. El 96% de casos

corresponden a una no-disyunción, el resto se estima que sea por translocación o mosaicismo. La trisomía parcial y el mosaicismo suelen tener un fenotipo incompleto. En la clínica se observa: retraso del crecimiento, hipertonía muscular marcada con las manos crispadas y el segundo y quinto dedo superpuestos a los vecinos, sindactilia, dislocación de la cadera, malformaciones del pabellón auricular, hipoplasia del mentón, eventración o hernias abdominales, criptorquidia o hipoplasia de los labios mayores, cardiopatía congénita, hidrocefalia, microcefalia. Durante la gestación y el parto se observan determinadas características siendo frecuente el polihidramnios y la placenta de menor tamaño, el feto es posmaduro, de menor tamaño, y es frecuente detectar ecográficamente malformaciones. Prácticamente la totalidad de los afectados padecen defectos cardíacos (Aytés, 2000).

El síndrome de Turner, se vincula con una anomalía cromosómica, caracterizada por la ausencia completa de un cromosoma del par sexual o una delección parcial del cromosoma X y, en ocasiones, por mosaicismos que lo involucran. La prevalencia de este síndrome es de 1 en 2.500 a 3.000. En la clínica las afectadas presentan amenorrea primaria con ausencia de los cambios puberales femeninos, estatura baja, cuello membranoso o en esfinge y cubito valgo. En el año 1959 se comprobó la fórmula sexual es decir: 45,X0. Este síndrome no presenta relación con la edad materna, sino que se origina mayormente durante la meiosis del padre por irregularidades en la disyunción del par XY. El único X en el feto es de origen materno en el 80 por ciento de los casos y de un 20 por ciento es de origen paterno. Es una causa frecuente de abortos espontáneos, esto ocurre en la mayoría de los casos en que el cigoto es 45,X0. Las mujeres adultas que presentan este síndrome, padecen una disgenesia ovárica careciendo de ovocitos y folículos. La disgenesia ovárica es la que determina la amenorrea, la falta de caracteres sexuales secundarios y esterilidad. El recién nacido tiene edemas en pies y manos lo que determina pliegues cutáneos muy visibles en el cuello (Thompson, 1996).

El síndrome de Klinefelter está vinculado con una anomalía cromosómica caracterizada por la fórmula: 47,XXY. Se da en 1 cada 600 varones nacidos vivos, con lo cual es la aberración más frecuente en los

varones junto con el síndrome de Down. Su origen es mixto, ya que un 50% de los casos es debido a no disyunción en la meiosis materna y el otro 50% en la meiosis paterna. Puede haber casos con más de 2 cromosomas X y a medida que aumenta el número de cromosomas X en estos pacientes, disminuye su coeficiente intelectual. Además se asocian, malformaciones óseas, faciales y cardiopatías congénitas. El signo más frecuente en estos pacientes es el microorquidismo, que es causado por la incompatibilidad de dos cromosomas XX y el microambiente testicular, siguiendo en nivel de aparición la ginecomastia. Son pacientes altos, delgados y piernas largas (López-Siguero, 2014). Frente a sospechas de cualquiera de estas anomalías se puede recurrir a la realización de un cariotipo. Aproximadamente uno de cada 160 nacidos vivos tienen una alteración cromosómica y estas generan el 50% de los abortos espontáneos.

La determinación de las anomalías cromosómicas, es una herramienta que permite la confirmación del diagnóstico de dichas enfermedades y también el asesoramiento genético del paciente y su familia. Además de confirmar la sospecha clínica de enfermedades cromosómicas, el cariotipo se ha convertido en una herramienta fundamental para el estudio etiológico de: discapacidad intelectual, baja talla, ambigüedad genital, mujeres con enfermedades ligadas al X, infertilidad y/o parejas con abortos recurrentes (Silva, Contreras & Fonseca, 2008).

## **OBJETIVO GENERAL**

Establecer una correlación genotipo-fenotipo de los resultados de estudios citogenéticos constitucionales del período: Julio de 2016 a Julio de 2017, comparando con los trabajos realizados a nivel internacional desde una perspectiva epidemiológica.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Extraer de la base de datos del laboratorio de citogenética resultados obtenidos de los pacientes referidos al laboratorio de manera anónima, en el período mencionado.
- Identificar las alteraciones numéricas y estructurales halladas y realizar análisis estadístico epidemiológico.
- Adquirir conocimientos de las técnicas empleadas en citogenética.

## **MATERIALES Y METODOS**

### ***Análisis retrospectivo de datos citogenéticos***

- 1- Se recopilaron los resultados cromosómicos constitucionales de un año del Laboratorio de Citogenética del Departamento de Genética de la Facultad de Medicina (UdelaR), del período que incluye julio de 2016 hasta julio de 2017. La población a analizar corresponde a 440 individuos.
- 2- Se clasificó la información obtenida del archivo del laboratorio antes mencionado y se elaborará una planilla de datos. El criterio de clasificación será en función de sexo, edad, datos clínicos y las alteraciones cromosómicas encontradas.
- 3- Una vez clasificados se procedió a hacer la comparación con la información disponible en las bases de datos y publicaciones a nivel internacional.

### ***Incorporación de la metodología de laboratorio***

#### 1- Cultivo de células

Se cultivarán las células de sangre periférica en medio PBMAX, penicilina (100 U/ml), estreptomycin (100 ug/ml), gentamicina (50 ug/ml) a 37 ° C y 5% de CO<sub>2</sub>. Se sembrará la muestra a razón de 1 ml de sangre total por cada 9 ml del medio cultivo en frascos de plástico TC 25. El medio comercial PBMAX es un medio listo para usar que contiene fitohemaglutinina (mitógeno), el cual se va acoplar a las proteínas de membranas de los linfocitos estimulando la transformación en linfoblastos dentro de las primeras 24 hs del cultivo, dejándolo 72 horas en la estufa a 37° C. El protocolo utilizado corresponde, al conjunto de técnicas de cultivo celular validadas internamente, en el Laboratorio Citogenética del Departamento de Genética de la Facultad de Medicina, Universidad de la República (UdelaR).



## 2- Recolección de los cultivos

Pasadas las 72 horas de cultivo se agrega un estimulante mitótico para detener el ciclo celular en metafase (colcemid 0.1 ug/ml) durante una hora.

Cumplido el tiempo de acción del colcemid se transfiere la suspensión celular a tubos de centrifuga cónicos y se centrifuga a 1000 rpm durante 10 minutos quitando el medio de cultivo y agregando 8 ml de solución hipotónica (KCl 0.075 M) durante una hora. Se centrifuga en las mismas condiciones y se descarta el sobrenadante para realizar una fijación de células con una mezcla de ácido acético y metanol (3:1) durante 20 minutos y repetiremos dos veces el mismo procedimiento. Realizaremos los extendidos celulares sobre portaobjetos escrupulosamente limpios.

## 3- Identificación cromosómica

Se mantendrán las preparaciones cromosómicas a 37° C 48 horas para que se envejeczan uniformemente para realizar el bandeo G en las mismas preparaciones con un pretratamiento a base de tripsina 0.25 %. Se tiñen los preparados con colorante de Giemsa 6 % mezclando con buffer fosfato pH 6.8 durante 5-7 minutos; Se analizarán por lo menos 20 metafases bandeadas a fin de detectar las anomalías presentes. Los cariotipos serán designados de acuerdo al ISCN de 2013.

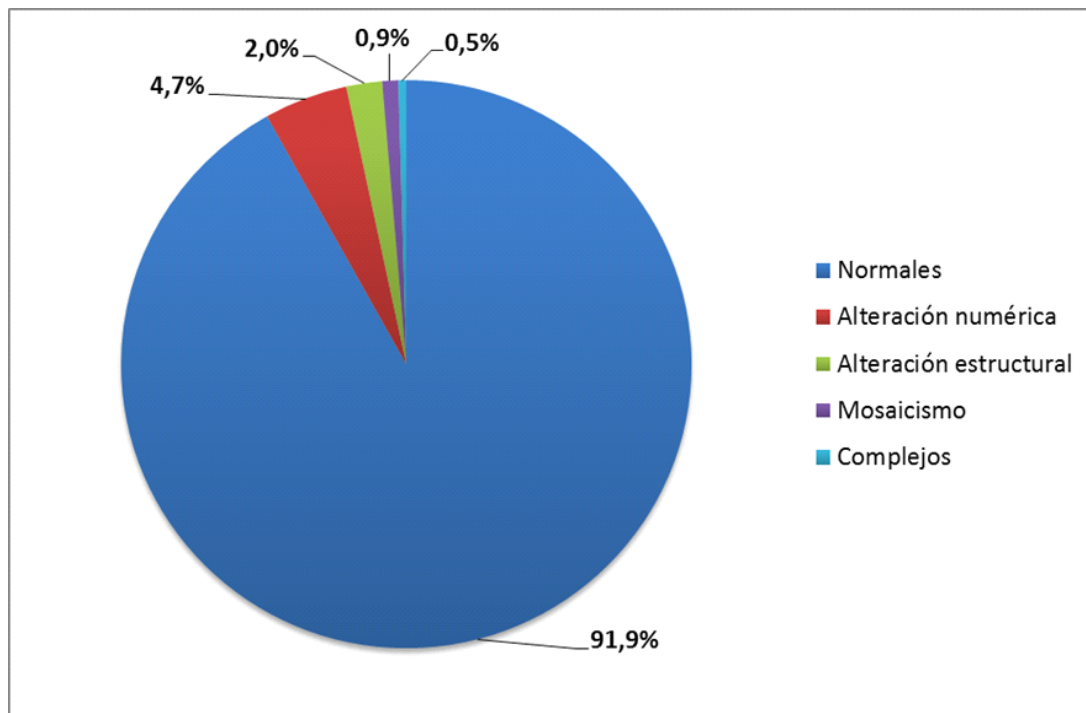
## 4- Documentación fotográfica y/o informática

Se harán los registros utilizando el fotomicroscopio Olympus BX 40 empleando cámara CCD Infinity 1; una vez captadas las imágenes se procesarán para que puedan ser "cariotipadas" de manera semiautomática con el programa Smart Type. Se finalizará con el análisis de las aberraciones cromosómicas investigando los distintos perfiles citogenéticos a fin de identificar patrones normales y patológicos.

## RESULTADOS

### Frecuencia general y tipo de alteraciones cromosómicas

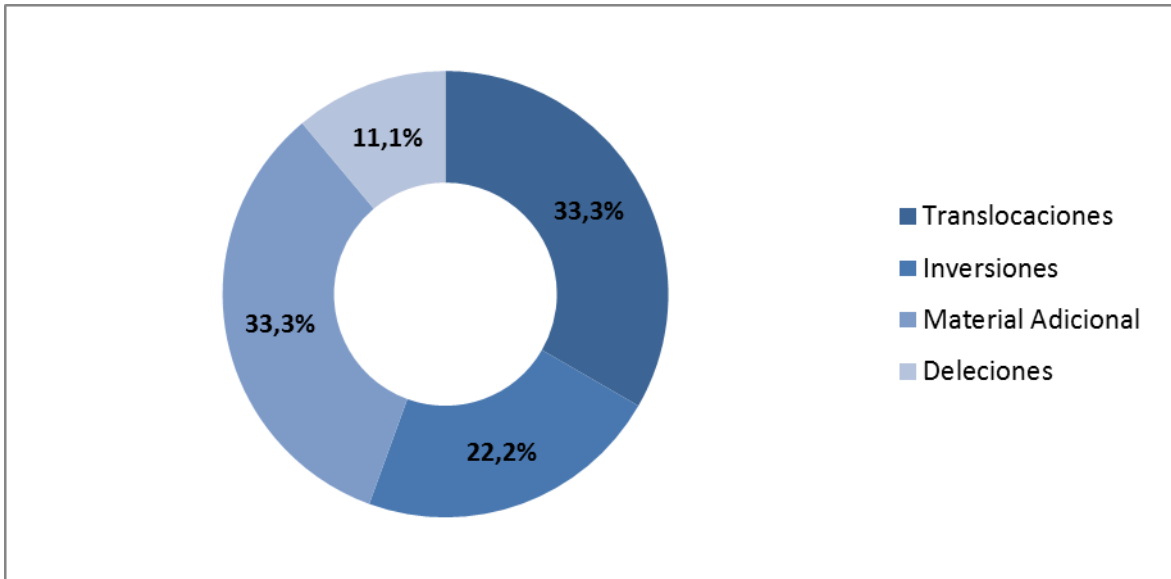
De los 440 casos estudiados, el porcentaje de individuos sin alteración fue mayoritario, en relación a los que tenían alteraciones numéricas (con un porcentaje de 4,7 %), seguidas por las alteraciones estructurales (con un porcentaje de 2,0 %). Los individuos que presentan mosaicismos son 6 (un porcentaje de 0,9 %), habiendo un 0,5 % de casos con alteraciones complejas (Figura 2).



**Figura 2.** Porcentajes de cariotipos normales y con distintos tipos de anomalías.

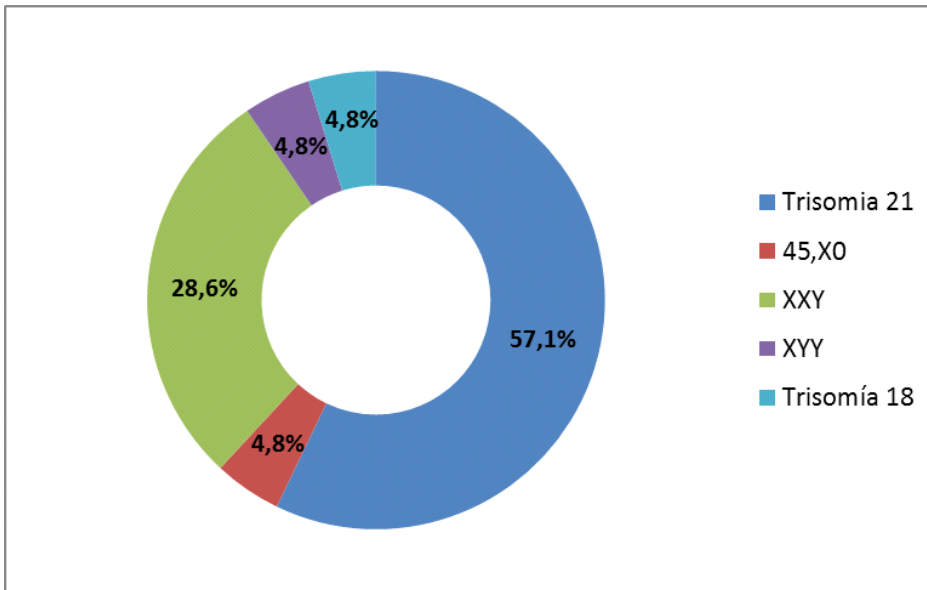
Entre los individuos que presentan alteraciones estructurales, se puede observar un porcentaje mayor que tienen alteraciones aparentemente balanceadas: translocaciones (33,3 %) e inversiones (22,2 %). La presencia de

material cromosómico adicional se ve en un 33,3 % de las alteraciones estructurales y las deleciones en un 11,1% (**Figura 3**).



**Figura 3.** Frecuencia de los distintos tipos de alteraciones estructurales.

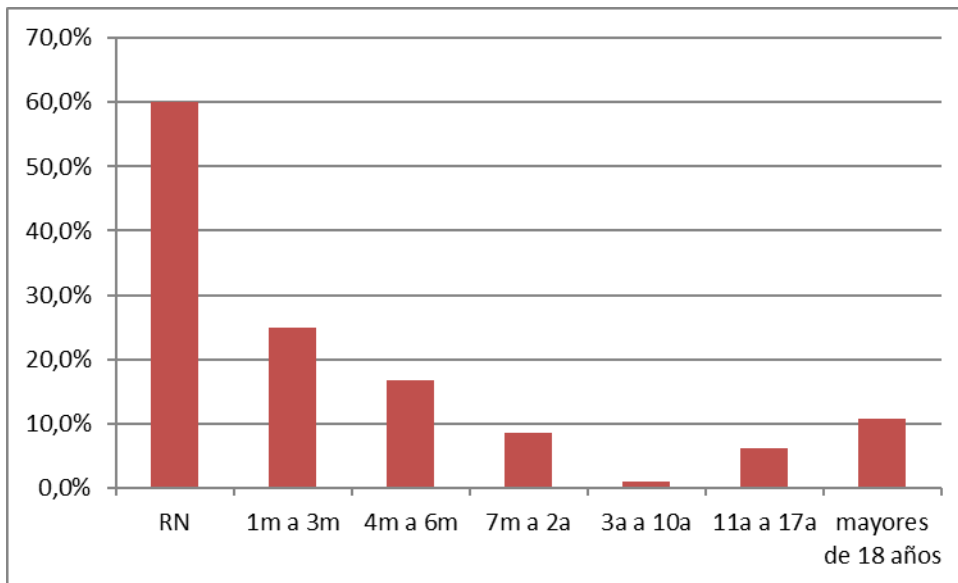
Entre los individuos que presentan alteraciones numéricas, la gran mayoría (el 57,1%) corresponde a la trisomía 21; se registró una trisomía 18 (que representa el 4,8%). El resto de las alteraciones numéricas involucran a los cromosomas sexuales: fundamentalmente: 47,XXY (28%), y un caso de 45,X0 (4,8%) y otro de 47,XYY (**Figura 4**).



**Figura 4.** Frecuencia de las alteraciones numéricas.

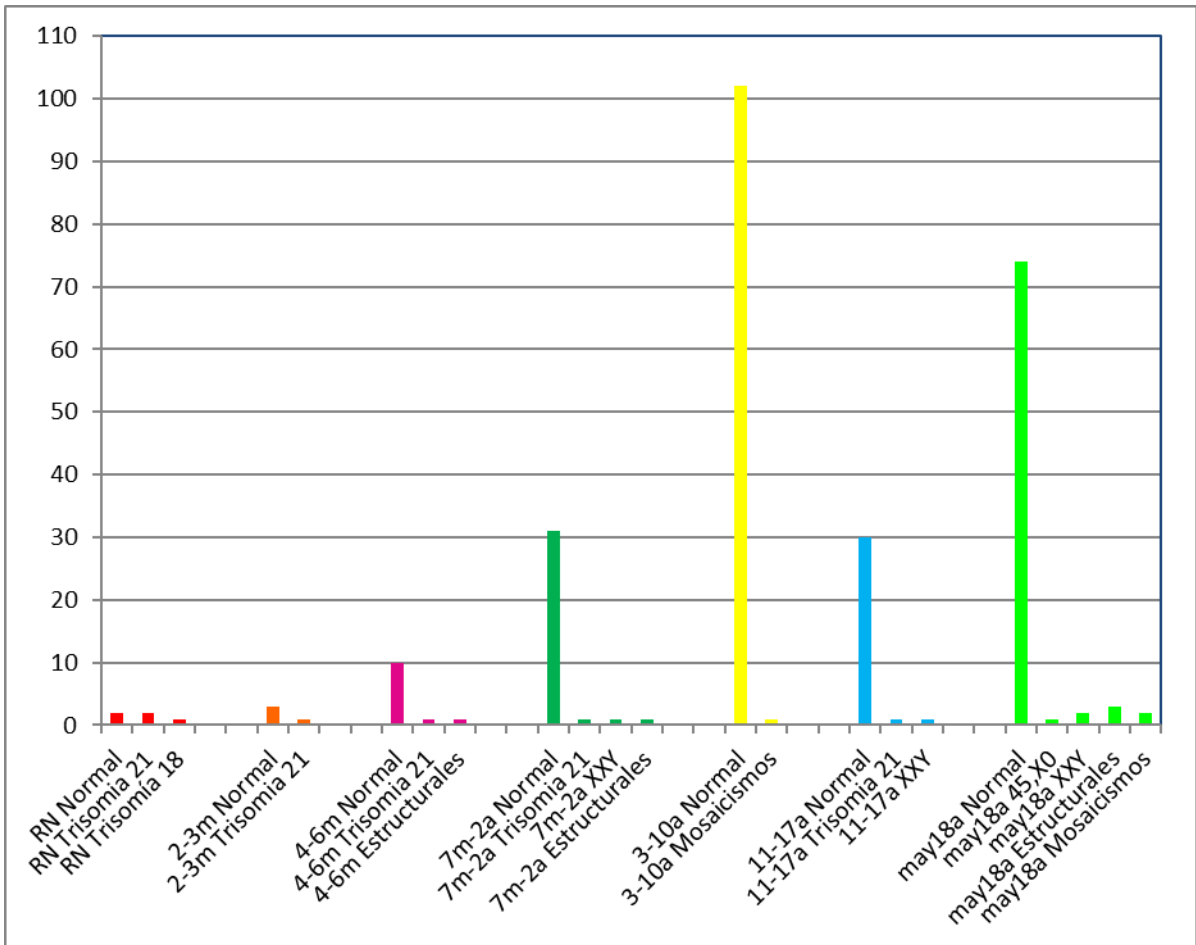
#### Frecuencia de alteraciones según edad

Se contaba con el dato de la edad solamente en 273 estudios. La frecuencia de cariotipos alterados en función de la edad mostró que un 60,0% de los recién nacidos estudiados presentan alteraciones en el cariotipo. En el rango de edad correspondiente a 1m a 3m se presentan en un 25,0%, la franja de 4m a 6m con un 16,7% y de 7m a 2a presenta un 8,6%. En el grupo de 3 a 10 años se presentan solamente en el 1,0%. En niños mayores y adolescentes, de 11 a 17 años, presentan un 6,3% y en mayores de 18 años presentan un 10,8% (**Figura 5**).



**Figura 5.** Frecuencia de cariotipos con alteraciones por rango de edad.

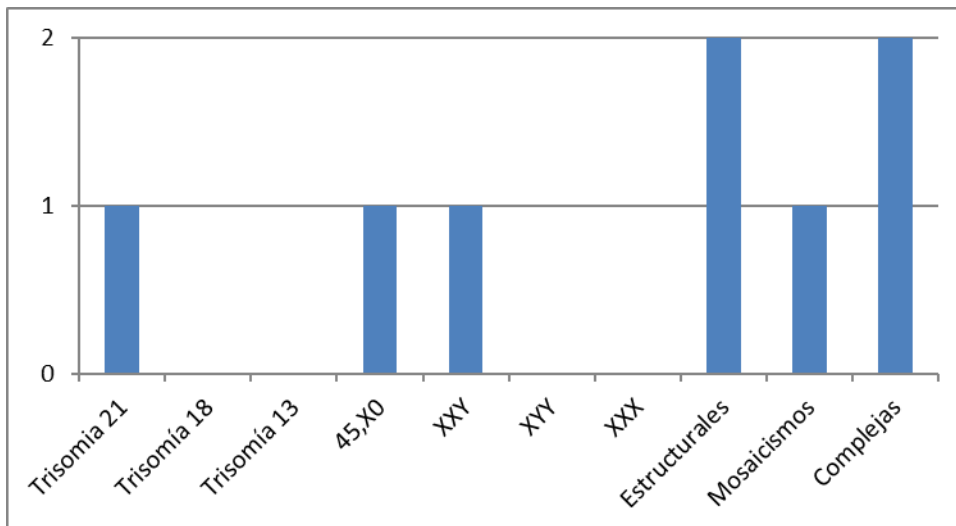
Entre los recién nacidos se detectaron casos de trisomía 21 y trisomía 18. En los grupos de 2 a 3 meses y 4 a 6 meses, se detectaron solamente casos de trisomía 21 y un caso de alteración estructural. En niños mayores de 7 meses y adolescentes se detectan diversas alteraciones: trisomía 21, trisomías de los cromosomas sexuales, especialmente 47,XXY, alteraciones estructurales y mosaicismos. En mayores de 18 años, especialmente casos estudiados por infertilidad y abortos recurrentes, se detectan: 45,X0, 47,XXY, alteraciones estructurales y mosaicismos (**Figura 6**).



**Figura 6.** Distribución de frecuencia de estudios con alteraciones por edad.

Frecuencia de alteraciones según dato clínico

No en todos los casos se contaba con dato clínico. Uno de las causas más frecuentes de referencia para estudio fue la baja talla o hipocrecimiento (BT/Hipo). De los 86 casos estudiados, 79 son normales, uno presenta Trisomía 21, uno presenta 45,X0, dos pacientes presentan alteraciones estructurales, uno presenta mosaicismo y hay dos casos con varias alteraciones (**Figura 7**).



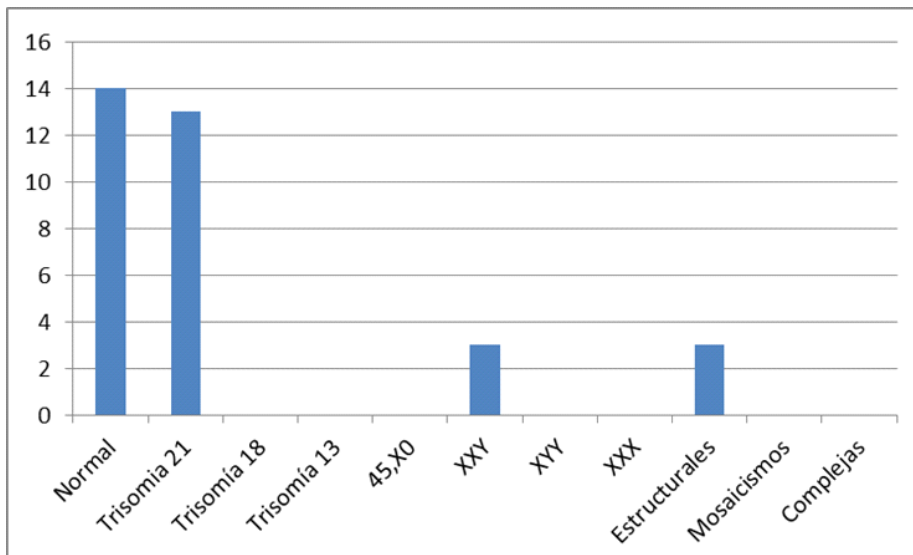
**Figura 7.** Frecuencia de alteraciones para el dato clínico: “talla baja / hipocrecimiento.”

Cuando analizamos los resultados según el dato clínico de retardo global del desarrollo/discapacidad intelectual (RGD/DI), otra de las causas frecuentes de referencia (n= 128), vemos que hay solamente 3 estudios con alteración, uno es un síndrome de Down, otro un síndrome de Klinefelter y otro un material adicional en el cromosoma 21.

En el caso del dato clínico según alteraciones morfológicas múltiples vemos que aparece un caso con trisomía 18, dos casos con alteraciones estructurales y un mosaicismo.

Para el dato clínico Infertilidad o abortos a repetición (AER/I), hay dos casos con alteraciones estructurales, dos con mosaicismos y un caso de 47,XXY.

Cuando se enviaron para estudio con la sospecha de un síndrome específico (33 casos), se encontraron 14 cariotipos normales (42%). Los síndromes correctamente sospechados fueron el síndrome de Down y el de Klinefelter. En tres casos se detectaron alteraciones estructurales (**Figura 8**).



**Figura 8.** Frecuencia de alteraciones ante la sospecha de un síndrome específico.

De los resultados obtenidos en nuestro trabajo destacamos:

I) la frecuencia de alteraciones es baja (5 %). Pensamos que esto se debe a que es una muestra muy poco seleccionada y la indicación para los estudios citogenéticos es muy variada. Por ejemplo, en nuestro medio se solicita cariotipo a casi todos los casos de RGD/DI y a parejas que se van a someter a procedimientos de reproducción asistida. Es esperable que la enorme mayoría de estos casos no presenten alteraciones.

II) Por lejos, la alteración más frecuente observada es el síndrome de Down, seguido por alteraciones numéricas en cromosomas sexuales. En diversas situaciones, pero con baja frecuencia, se encuentran mosaicismos, alteraciones estructurales no recurrentes y alteraciones complejas.

III) En relación a la frecuencia de alteraciones por edad, se estima dentro de lo esperado que la misma vaya decreciendo. Actualmente la gran mayoría de las anomalías cromosómicas son sospechadas y diagnosticadas en los primeros 6 meses de vida. Posteriormente se evidencia un aumento de alteraciones en los mayores de 18 años en virtud de alteraciones estructurales y mosaicismos en casos vinculados a alteraciones de la reproducción.



IV) En los casos estudiados por talla baja se dan múltiples alteraciones. La mayoría de los síndromes o alteraciones cromosómicas inespecíficas, dan alteraciones del crecimiento.

V) La sospecha clínica de síndromes específicos parece ser baja. A excepción de los síndromes de Down y Klinefelter, no parecen sospecharse adecuadamente. En el caso del síndrome de Turner se evidencia claramente que se sospecha mucho más de lo que se confirma, debido a que se analiza frecuentemente como posibilidad diagnóstica en las niñas y adolescentes con baja talla. Estos resultados se pueden corroborar con los cariotipos pedidos en la clínica, hemos realizado por cada paciente los datos clínicos correspondientes, y vimos que en algunos casos coinciden con los cariotipos. Por ejemplo cuando observamos algunos de los datos clínicos como sospecha de síndrome específico en muchos de los casos luego de que se realizara el cariotipo no confirmaba el síndrome planteado.

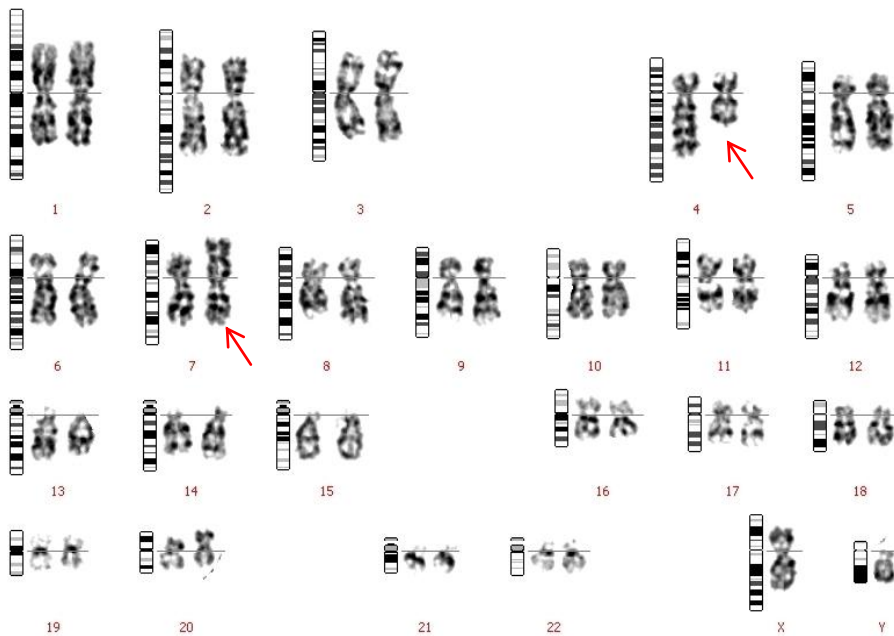
VI) En la mayoría de las indicaciones, RGD/DI, BT/Hipo, TEA, AER/I, el rendimiento diagnóstico es alrededor del 5%. Por lo tanto se debe evaluar en qué situaciones el estudio de cariotipo puede aportar para el diagnóstico o la evaluación de riesgos.

#### Análisis de cariotipos con distintos perfiles citogenéticos.

Algunos de los cariotipos analizados se muestran como ejemplo. Se realizaron cariotipos en metafase con bandeo G. En el ejemplo de la **Figura 9**, se observan 22 pares homólogos autosómicos con una delección en el cromosoma 14 (flecha roja) de casi 15 Mb y un par sexual XY.



En otro ejemplo, vemos otra anomalía estructural: presenta 23 pares autosómicos con una translocación del cromosoma 4 con el cromosoma 7 (indicado con la flechas rojas), y un par sexual XY (**Figura 11**).



**Figura 11.** Cariotipo: 46,XY,t(4,7)(q26;p21), sexo cromosómico masculino.

## DISCUSIÓN

A través de la citogenética se realizan estudios de los cromosomas humanos, siendo esto fundamental para el diagnóstico, pronóstico y para efectuar un seguimiento de varias enfermedades. El cariotipo constitucional resulta útil para diagnosticar aberraciones cromosómicas numéricas y estructurales vinculadas a diversas enfermedades humanas (Solari, 2011).

Si bien la muestra analizada es pequeña, y con algunos datos faltantes en relación a la edad de los individuos y la indicación para el estudio, algunas correlaciones genotipo-fenotipo se pueden destacar.

En un estudio realizado en Europa se evaluó durante un periodo de 6 años, 10.323 pacientes con anomalías cromosómicas. 7335 casos fueron de trisomía 21,18 o 13; 473 casos (5%) tuvieron una trisomía cromosómica sexual y 778 (8%) tenían 45,X0 (Wellesley, 2012). Los resultados arrojados en dicho estudio coinciden con los obtenidos en el laboratorio de citogenética de nuestro país, en relación a la aparición de las anomalías conocidas más frecuentes

En Australia se observó durante 5 años en el periodo de (1976-1980), 589 pacientes con anomalías cromosómicas (9.7 %) se detectaron en 6092 cariotipos realizados. En este estudio la tasa de diagnóstico anual de anomalías cromosómicas fue de 5,41 por 100.000 de la población general. Se destacan algunos datos de los tipos de anomalías cromosómicas y la edad al diagnóstico: el 32 % de las anomalías cromosómicas no se diagnostican hasta la vida adulta. El 50 % de los casos de anomalías cromosómicas, permanecen sin diagnosticar antes de la edad de 1 año. Se concluye que una tasa de diagnóstico positiva superior al 10 %, en los laboratorios de cromosomas de rutina, probablemente indica que más de la mitad de los casos verdaderos de anomalías cromosómicas en una población se están pasando por alto. Los resultados también coinciden parcialmente con los obtenidos en nuestro laboratorio dado que hay varios casos de diagnóstico tardío de una anomalía

cromosómica en niños mayores, adolescentes e incluso adultos (Bell, Pearn, McCarthy, Jones, Trouton, Hunt, & Berry, 1982).

En EEUU se estudió la incidencia de anomalías cromosómicas, evaluando los recién nacidos en un total de 4500, durante 1 año. La frecuencia anomalías cromosómicas en los recién nacidos fue del 0,5%. Y en las madres mayores de 34 años, el 1.5 % de los recién nacidos presentaba anomalías cromosómicas. Solo uno de cada cuatro de estos bebés pudo haber sido detectado solo mediante criterios fenotípicos. En este caso también obtenemos resultados parecidos en nuestro laboratorio, en relación a frecuencia general de anomalías y en que muchos casos no se sospecharon a partir de las características fenotípicas (Lubs & Ruddle, 1970).

## CONCLUSIONES

Se puede concluir que a través de los datos clínicos y los cariotipos realizados pudimos llegar a determinar si los pacientes padecen o no alteraciones cromosómicas numéricas o estructurales.

Obtuvimos un panorama aproximado de las frecuencias de las distintas alteraciones cromosómicas, pudiendo determinar cuántos pacientes padecían, anomalías cromosómicas, anomalías estructurales, mosaicismos y alteraciones complejas.

También concluimos que algunas correlaciones genotipo-fenotipo se pueden destacar, como la mayoría de los diagnósticos antes de los 6 meses y la frecuencia de mosaicismos, alteraciones de los cromosomas sexuales y anomalías estructurales en adultos estudiados por alteraciones reproductivas.

La muestra analizada es pequeña, y con algunos datos faltantes en relación a la edad de los individuos y la indicación para el estudio, por lo que se requiere ampliar este estudio, tal vez, de forma anual para obtener un panorama amplio de las frecuencias de anomalías cromosómicas en según la edad de los pacientes y según la causa de indicación del estudio.

Cuando comparamos estudios del laboratorio de citogenética de la Facultad de Medicina de nuestro país con otros países se encontró una concordancia general para diversos hallazgos.

En relación a los pacientes para los que se le indicó la realización de un cariotipo, la gran mayoría no tenían anomalías citogenéticas, y en la minoría coincidía el dato clínico con la anomalía cromosómica, siendo el más frecuente el síndrome de Down.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aytés, A. P. (2000). SINDROME de EDWARDS (Trisomia 18). Asociación Española de Pediatría, editores. Protocolos diagnósticos e terapêuticos en Pediatría. Tomo1. Genética-Dismorfología, 33-36.
- Bell, J., Pearn, J., McCarthy, C., Jones, L., Trouton, C., Hunt, F., & Berry, L. (1982). A total population study of diagnosed chromosome abnormalities in Queensland, Australia. *Clinical genetics*, 22(2), 49-56.
- Caspersson T, Farber S, Foley GE, Kudynowski J, Modest EJ, Simonsson E, Wagh U, Zech L. (1968) Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp Cell Res.* 1:219-22.
- Drets, M. E., & Shaw, M. W. (1971). Specific banding patterns of human chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(9), 2073-2077.
- Gersen SL (2005) History of Clinical Cytogenetics. En *The principles of Clinical Cytogenetics* (pp 3-8).
- ISCN (2013): An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M (eds), (S Karger, Basel 2013).
- Lejeune, J., Gautier, M., & Turpin, R. (1959). Étude des Chromosomes Somatiques de Neuf Enfants Mongoliens (Study of the Somatic Chromosomes of Nine Mongoloid Children). *C R Hebd Seances Acad Sci.* 1959 Mar 16;248(11):1721-2.

- López-Siguero, J. P. (2014). Manejo del paciente con síndrome de Klinefelter. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*, 5, 85-90.
- Lubs, H. A., & Ruddle, F. H. (1970). Chromosomal abnormalities in the human population: estimation of rates based on New Haven newborn study. *Science*, 169(3944), 495-497.
- Nowell P, Hungerford D (1960) A minute chromosome in chronic granulocytic leukemia. *Science* 132:1497-9.
- Paris Conference (1971): Standardization in human cytogenetics. *Cytogenetics*. 1972;11(5):317-62.
- Solari, A. *Genética Humana: fundamentos y aplicaciones en medicina*.(2011). *Editorial Médica Panamericana, 4ª edición. Buenos Aires*, 423-456.
- Speicher MR, Carter NP (2005) The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet*. 2005 6(10):782-92. Review.
- Silva, C. T., Contreras, N. C., & Fonseca, D. J. (2008). Utilidad de la citogenética en la medicina actual. *Acta Médica Colombiana*, 33(4), 309.
- Tjio JH y Levan A. (1956). The chromosome number of man. *Hereditas* 42: 1-6.
- Thompson, M. W., Thompson, M. W., Nussbaum, R. L., MacInnes, R. R., Willard, H. F., Peral, J. S., & Fernández, M. S. (1996). *Genética en medicina (Vol. 5)*. Masson.
- Villaverde, N., & Villaverde, F. J. J. N. (2007). *Genética humana: conceptos, mecanismos y aplicaciones de la genética en el campo de la Biomedicina*. Pearson.



- Weisblum B, De Haseth PL. 1972 Quinacrine, a chromosome stain specific for deoxyadenylate-deoxythymidylaterich regions in DNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 69(3):629-32.
- Wellesley, D., Dolk, H., Boyd, P. A., Greenlees, R., Haeusler, M., Nelen, V. & Mullaney, C. (2012). Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *European Journal of Human Genetics*, 20(5), 521.