



# INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

---

SECRETARIA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

ESTUDIO CITOGENETICO EN ABORTOS POR CONCEPCION  
NATURAL Y CONCEPCION A TRAVES DE TECNICAS DE  
REPRODUCCION ASISTIDA



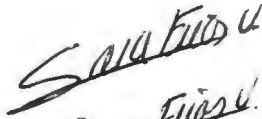
TRABAJO DE FIN DE CURSO QUE PRESENTA  
**BIOL. ELVIRA GALVEZ GALICIA**  
PARA OBTENER EL DIPLOMA DEL CURSO  
**A V A N Z A D O E N :**  
**C I T O G E N E T I C A**

TUTORES DE TESIS: DRA. SARA FRIAS  
DRA. PATRICIA GREYER

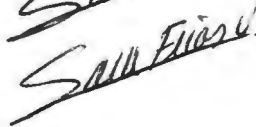
Sitio donde se desarrollo el presente trabajo:

Instituto Nacional de Pediatría / Laboratorio Diagen.

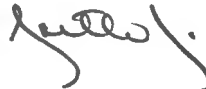
Profesor Titular: Dra. Sara Frías



Directoras de Tesis: Dra. Sara Frías



Dra. Patricia Grether



Alumno:

Biol. Elvira Gálvez



## **DEDICATORIA**

**A TI** que siempre estas conmigo.

**A MIS PADRES** por enseñarme el valor que tiene cada cosa en lugar y espacio.  
Gracias por apoyarme y dejarme ser como soy.

**A MIS HERMANOS**, parte de mi pequeño mundo maravilloso y caótico.

**A MIS ABUELOS** por enseñarme que una meta se obtiene con esfuerzo y perseverancia.

**A JIM.** An angel in my way. Muchísimo

## **AGRADECIMIENTOS**

**DRA GRETHER**, por darme la oportunidad de trabajar con ud y su excelente grupo. Por permitirme ser parte de él, enseñarme sin reservas ni medida y por ser más que mi profesora. A esta mujer que admiro. Gracias

**DRA SARA FRIAS**, por brindarme su apoyo incondicional y guiarme de manera sutil pero con firmeza.

**DR NAVARRO**, por todas las facilidades brindadas en la realización del presente trabajo.

**DRA KOFMAN**, por que siempre esta preguntando... después de esto qué?. Gracias por ser una persona que me alienta y me hace ver que todo se puede lograr.

**Me en C. ALICIA CERVANTES**, porque siempre que lo he necesitado has estado ahí para ayudarme.

**ENFERMERA MARTITHA**, por su tiempo y dedicación a pesar de sus múltiples ocupaciones.

**VICKY, VERO, TATIANA, JORGE, SR. ERNESTO** por todos los conocimientos adquiridos en ese nuevo campo de cultivo de tejidos y por esos momentos que no podré olvidar.

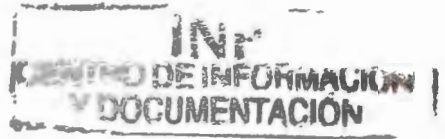
**A TODOS MIS PROFESORES**, que por miedo a omitir a alguno no menciono de manera personalizada. Gracias por todas sus enseñanzas, paciencia, entrega y compromiso. Ahora tengo muchas *misses (os)*. Bueno, tengo que mencionar a mi miss personalizada **Silvia**.

**A TODOS MIS COMPAÑEROS DEL CURSO**, que siempre estuvieron dispuestos a ayudarme y a darme un poco de su tiempo. Gracias.

**A TODOS MIS COMPAÑEROS DEL HOSPITAL GENERAL**. Gracias por su ayuda y comprensión. Especialmente a **Vero, Rosy y Eli**.

**AL HOSPITAL GENERAL DE MEXICO Y AL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA**

# INDICE



	PAGINA
RESUMEN .....	2
I ANTECEDENTES	
I.1 Definición aborto espontáneo .....	4
I.2 Prevalencia .....	5
I.3 Factores de riesgo .....	5
I.4 Etiología .....	6
I.5 Factores genéticos .....	6
I.6 Mecanismos de producción y origen .....	9
II OBJETIVOS .....	15
III MATERIALES Y METODOS .....	16
IV RESULTADOS Y DISCUSION .....	22
V CONCLUSIONES .....	33
VI REFERENCIAS .....	35
VII APENDICE	
VII.1 Materiales y reactivos .....	38
VII.2 Preparación de reactivos .....	39
VII.3 Solicitud de estudio cromosómico .....	41

## RESUMEN

El aborto es la terminación de un embarazo en o antes de la semana 20 de gestación. Las causas que los producen son múltiples: medio ambientales (infecciosas), endócrinas, inmunológicas, anatómicas y genéticas, siendo las anatómicas y genéticas las mejor definidas. Dentro de las causas genéticas las alteraciones citogenéticas explican el 50 al 60% de los abortos espontáneos del primer semestre y este porcentaje se incrementa cuando existen factores de riesgo como la edad y la presencia de abortos previos. Debido a esto, muchas parejas recurren a tratamientos de reproducción asistida (TRA) entre los que se encuentran fertilización *in vitro* (FIV) e inyección intracitoplásmica (ICSI).

Con el advenimiento de estas técnicas ha surgido la inquietud de conocer si estos procedimientos producen un incremento en la incidencia de alteraciones cromosómicas en los abortos espontáneos ocurridos posteriores a la aplicación de estos métodos de reproducción. Existen pocos estudios al respecto y hay controversia respecto a las implicaciones que puedan tener las TRA en la producción de las alteraciones cromosómicas.

En el presente trabajo se estudiaron a nivel citogenético una población de 31 abortos espontáneos 25 de los cuales son por concepción natural y 6 provienen de concepción a través de TRA.

Los objetivos del presente trabajo fueron 1.- Describir el cariotipo de los productos de aborto espontáneo provenientes de embarazos por concepción natural y por reproducción asistida y determinar si existen diferencias a nivel citogenético entre los dos grupos. 2.- Determinar si existe una relación entre la edad materna, la frecuencia y tipo de alteraciones encontradas en los productos de abortos espontáneos provenientes de embarazos por concepción natural y reproducción asistida. 3.- Determinar si existe relación entre la edad gestacional y algún tipo particular de alteración cromosómica.

En el análisis citogenético de los 31 abortos espontáneos obtenidos por concepción natural y concepción a través de TRA podemos concluir que los embarazos por TRA presentaron una incidencia de cromosomopatía mayor que los de embarazo natural; aunque no podemos obtener resultados concluyentes debido a que el tamaño de muestra es muy pequeño. El tipo de anomalías encontradas en el grupo de embarazo natural fueron poliploidías, aneuploidías y estructurales, mientras que en el grupo de embarazo por TRA fueron aneuploidías y estructurales. No hay diferencia significativa en cuanto a la relación entre la edad materna, la frecuencia y tipo de alteraciones encontradas. El tipo de anomalías cromosómicas varió con la edad gestacional presentándose las trisomías con mayor frecuencia entre las semanas 5 - 8 y los abortos triploides a la semana 9 - 12 de gestación. En el estudio la mayor proporción de alteraciones cromosómicas se encontraron entre las semanas 6 - 9 de gestación.

## I ANTECEDENTES

### I. 1 Definición

El aborto es la terminación de un embarazo en o antes de la semana 20 de gestación cuando el embrión o feto pesa menos de 500 gramos. Los abortos pueden ser precoces (hasta la semana 12 inclusive) o tardíos (desde la semana 13 hasta la 20) y también pueden ser espontáneos o provocados. La pérdida de dos o más embarazos consecutivos recibe el nombre de aborto recurrente (Parrilla, 1997).

El periodo gestacional en el que se producen los abortos espontáneos incluye dos etapas del desarrollo intrauterino: El periodo embrionario (hasta la octava semana de gestación) y el periodo fetal (a partir de la octava semana), los abortos espontáneos predominan en el primer trimestre de la gestación. Después de la semana 20 la pérdida gestacional se denomina muerte fetal. La mayoría de los abortos esporádicos son precoces, el 80% ocurren en las primeras 12 semanas y el 20 % restante ocurre de la semana 12 hasta la 20 (Tomado de Parrilla, 1997). Fig 1

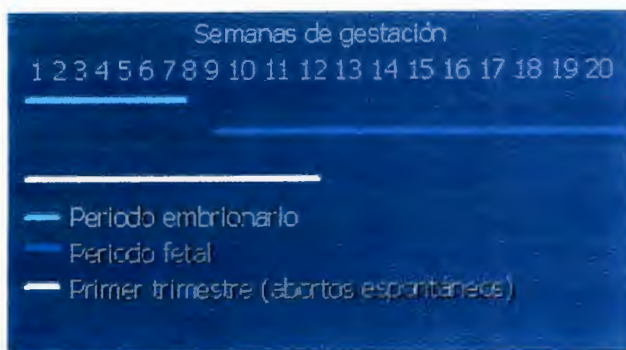


Fig. 1 Periodo gestacional en el que se producen los abortos



## 1.2 Prevalencia

Se estima que aproximadamente el 15% de los embarazos del primer trimestre reconocidos clínicamente, terminan en aborto espontáneo y 1 a 2% del segundo trimestre también se pierden (Tomado de Parrilla, 1997)

## 1.3 Factores de riesgo

En general, y aunque existen muchas variables, la existencia de abortos previos es uno de los factores de riesgo más importantes para la producción de un nuevo aborto. En una población no seleccionada Knudsen (1991) comunicó que el riesgo de abortar en una pareja que no había tenido ningún aborto era del 15%, con un aborto el riesgo se incrementaba a 16%, con dos abortos previos a 25%, con tres a 45% y con cuatro a 54%. Fig. 2

La edad materna y paterna también es un factor importante, teniendo mayor contribución la edad materna (Hassold, et al 1980). Muchos autores han observado mayor riesgo de muerte fetal en abortos espontáneos en mujeres de edad avanzada, en los cuales la tasa de abortos oscila en un 20 a un 40% en mayores de 40 años, con un aumento paralelo de incidencia de alteraciones cromosómicas (Hansen, 1986).

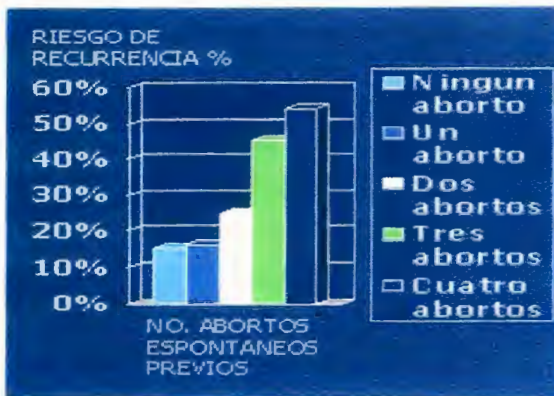


Fig.2 Riesgo de recurrencia de abortos de acuerdo al número de abortos espontáneos previos. Knudsen (1991)

#### 1.4 Etiología

Las causas de aborto son múltiples; medio ambientales (infecciosas), endocrinas, inmunológicas, anatómicas y genéticas (monogénicas y cromosómicas). En este trabajo analizaremos únicamente los factores cromosómicos.

#### 1.5 Factores genéticos

La principal causa de abortos espontáneos reconocidos clínicamente en el primer trimestre, se debe a la presencia de alteraciones cromosómicas. Se ha observado que la incidencia de éstas disminuye a medida que avanza el desarrollo embrionario. En el periodo de preimplantación se detectan anomalías cromosómicas en un 85% de los abortos, durante el primer trimestre las anomalías cromosómicas son la causa de abortos espontáneos en más del 50% de las gestaciones, mientras que solo afectan al 10% - 50% de los abortos tardíos y el 5% - 7% de las muertes perinatales (Eiben et al, 1990; Burgoyne et al, 1991). Fig 3.

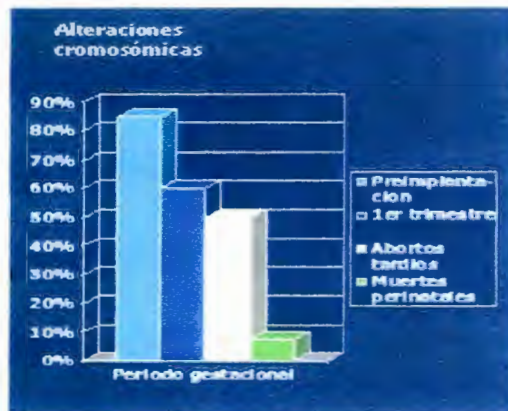


Fig. 3 Alteraciones cromosómicas en relación al desarrollo embrionario (Eiben, et al 1990; Burgoyne, et al 1991)

Observaciones *in vitro* realizadas durante el periodo de preimplantación muestran que las monosomías autosómicas pueden ser letales aún antes de que la mórula se convierta en blastocisto (aunque algunos alcanzan este estadio). Las monosomías de los cromosomas sexuales son letales en el caso 45,Y mientras que los 45,X tienen mejor sobrevivencia durante la gestación. Con respecto a las trisomías, se ha observado que aquellas que involucran cromosomas con una alta densidad de genes o con genes muy importantes no son viables y de hecho existen algunos que ni siquiera llegan a ser abortos clínicamente reconocidos. En embriones preimplantación se han encontrado trisomías 1 que no se presentan en el primer trimestre y se ha observado que las trisomías 22 son muy frecuentes, seguidas por las trisomías 16, 21 y 15 (Sandalinas, et al 2001; Munne, 2003).

La trisomía 16 representa casi un tercio del total de las alteraciones cromosómicas en las primeras semanas del embarazo y es la responsable del 70% – 80% de los abortos que se producen antes de la octava semana de gestación. Esta se encuentra entre las anomalías cromosómicas que no son compatibles con el desarrollo embrionario más allá del primer trimestre (Trisomías 16, 3 y 5). Otras anomalías permiten continuar el desarrollo (trisomías 13, 18 y 21), pudiendo detectarse en abortos espontáneos en etapas tardías y solo una pequeña parte de ellas llegara a termino (Parrilla, 1997). Fig.4

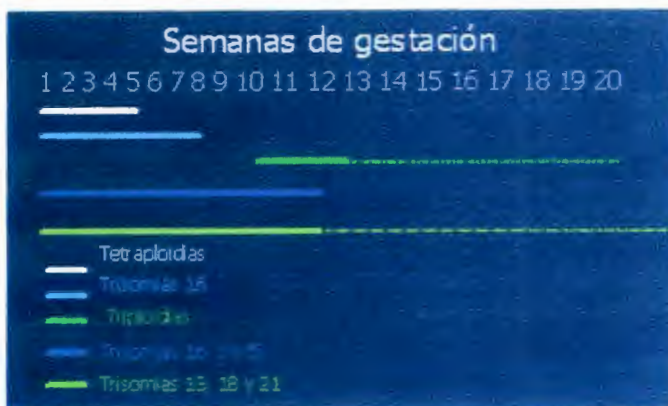


Fig. 4 Alteraciones cromosómicas de acuerdo a la semana de gestación

En orden de frecuencia, las anomalías cromosómicas mas frecuentes en abortos espontáneos son las trisomías autosómicas, poliploidías y monosomías X. (Dhont, 2003). Fig. 5

Las trisomías explican cerca del 60% de todas las anomalías citogenéticas identificables en abortos espontáneos y su incidencia presenta un efecto de edad materna (Tomado de Miller y Therman, 2001; McKinlay y Sutherland, 2004) Fig. 5

Los únicos tipos de poliploidías encontrados en humanos son triploidía ( $3n$ ) y tetraploidías ( $4n$ ). Las tetraploidías raramente progresan más allá de 4 ó 5 semanas de gestación y se presentan con menor frecuencia que las triploidías. La mayoría de los embriones poliploides mueren tempranamente y son abortados. Es importante mencionar que la poliploidía presenta una frecuencia independiente de la edad materna (Dhont, 2003; Tomado de Miller y Therman, 2001, McKinlay y Sutherland; 2004).

La monosomía más común en abortos espontáneos es la monosomía X y explica un 20% de todos los abortos, independiente de la edad materna. (Dhont, 2003; McKinlay y Sutherland; 2004). Debido a que las monosomías se originan por la pérdida de un cromosoma o no disyunción y las trisomías se originan solo por no disyunciones estas últimas deberían ser menos frecuentes. De hecho, debido a que la pérdida de material genético puede ser mas grave que la ganancia las monosomías deberían ser más frecuentes entre los abortos espontáneos que las trisomías. Sin embargo, las monosomías autosómicas prácticamente no se encuentran en los abortos clínicamente reconocidos. Los cigotos monosómicos quizá mueran tan tempranamente que no se implanten, porque se abortan rápidamente o bien, porque sean productos de concepciones no detectables para el estudio por ser embarazos no reconocidos (Millar y Therman, 2001) Fig. 5

Las alteraciones estructurales y los mosaicos también se presentan en abortos aunque en una frecuencia más baja que las alteraciones numéricas. (McKinlay y Sutherland; 2004) Fig. 5.

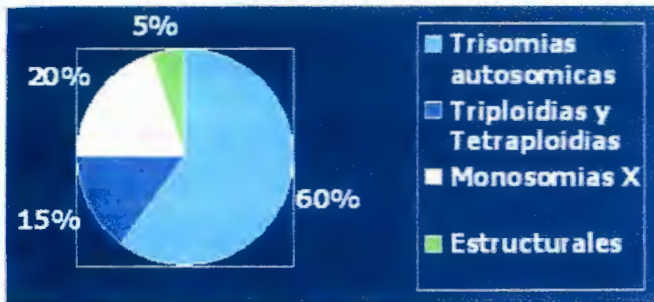


Fig.5 Frecuencia de alteraciones cromosómica

#### 1.6 Mecanismo de producción y origen de alteraciones numéricas.

Las alteraciones numéricas son el resultado de 2 procesos diferentes: las poliploidías y las aneuploidías.

La poliploidía se define como la ganancia de los cromosomas en múltiplos del número cromosómico haploide. Un complemento cromosómico que contenga 3 sets haploides se llama triploide ( $3n$ ), con 4 se llama tetraploide ( $4n$ ) y así sucesivamente. Los mecanismos por los cuales se produce la Triploidía son la diandria y la diginia con la doble contribución paterna y materna respectivamente (Tomado de Millar y Therman, 2001).

La diandria generalmente es la fecundación del óvulo por 2 espermias (dispermia) y con menor probabilidad la fertilización del óvulo por un espermatozoide diploide; originado de una no-disyunción del set completo durante la espermatogénesis (Zaragoza y cols 2000) (Fig. 6).

La diginia en general se presenta por la retención del corpúsculo polar o bien por la diploidía del ovocito que es el resultado de la no-disyunción del set completo, ya sea en la primera o segunda división meiótica durante la ovogénesis. De acuerdo a Zaragoza y cols (2000) los errores en MI explican el 67% de los casos, las fallas en MII el 22% y la fusión de dos óvulos es una causa rara Fig. 6

Las tetraploidías son resultado de una división cromosómica normal pero la ausencia de división a nivel del citoplasma en la primera división del cigoto. Otra posibilidad es la fertilización dispérmica de un óvulo el cual contenga doble set cromosómico resultado de una no-disyunción en MI Fig. 6 (Tomado de McKinlay y Sutherland, 2004).

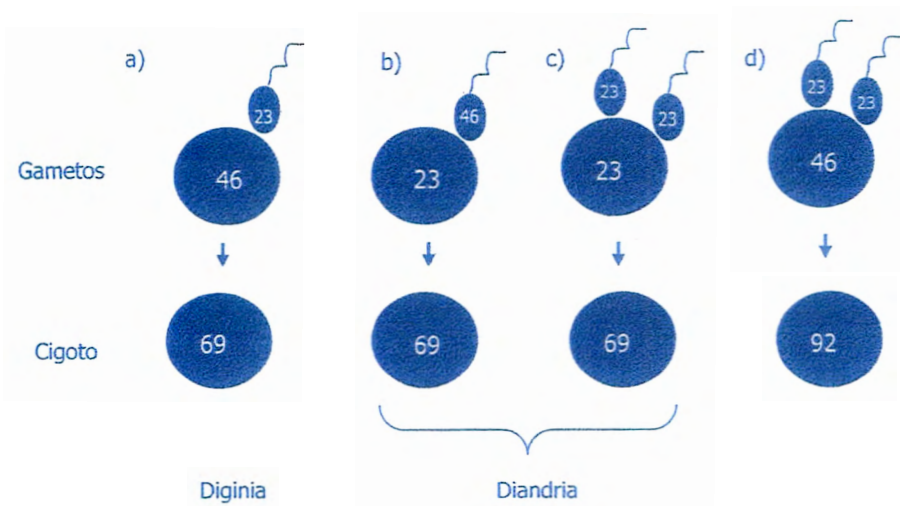


Fig. 6 Mecanismos de producción de triploidías incisos a - c y tetraploidía inciso d. Tomado y modificado de McKinlay y Sutherland, 2004.

La aneuploidía se define como la pérdida o ganancia de cromosomas individuales y es el resultado de una segregación cromosómica incorrecta que puede ocurrir tanto en meiosis como en mitosis. Cuando falla la segregación de los dos homólogos en la anafase I de la meiosis, ambos homólogos se pueden ir hacia un mismo polo, mientras el polo opuesto queda privado de cualquiera de los dos; esto es la no disyunción en la meiosis I (MI). De forma análoga, cuando dos cromátidas hermanas no se separan en la anafase de la meiosis II (MII), se denomina no disyunción de la división II (Fig. 7). Así, la no-disyunción se refiere a cualquier proceso que causa que 2 cromosomas homólogos se dirijan a un mismo polo cuando ellos deberían segregarse a polos opuestos. En todos los casos el resultado de una no-disyunción es la producción de una aneuploidía que se refleja en el número total de cromosomas cuando se da la fecundación de los gametos (Tomado de Millar y Therman, 2001).

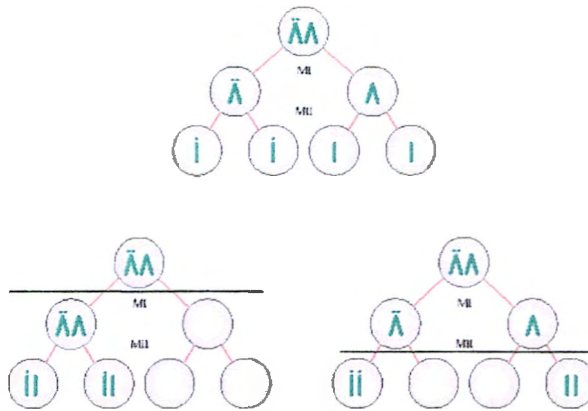


Fig. 7 Meiosis normal y no disyunción en MI y MII (Modificado de Moore y Best, 2001)

El origen de las anomalías en la mayoría de los casos son resultado de errores en meiosis materna I y esto incluye la mayoría de las trisomías: trisomías 13, 14, 16, 21, y 22 con excepción de la trisomía 18, ya que usualmente se origina en meiosis materna II (modificado de Millar y Therman 2001; Hassold y Hunt 2001). En la tabla 1 se muestra el origen de algunas alteraciones cromosómicas presentes en abortos espontáneos.

Cariotipo	Paterna		Materna		Poscigóticas
	MI	MII	MI	MII	
Trisomía 2	28	-	54	13	6
Trisomía 13	12		60	28	-
Trisomía 16	0		100	-	-
Trisomía 18	3		26	59	12
Trisomía 21	3	5	65	23	3
Trisomía 22	3	-	94	3	-
45,X	80		20		-

Tabla 1. Origen de las alteraciones cromosómicas presentes en abortos espontáneos  
Modificado de Millar y Therman, 2001; Hassold y Hunt, 2001)

Debido a que la pérdida del embarazo es muy común y en la mayoría de los casos puede ser considerada como un método de selección natural para una descendencia genéticamente normal. Se acepta que al menos 50% de los abortos clínicos son resultado de anomalías cromosómicas (Hassold, et al. 1980). La incidencia de anomalías cromosómicas fetales disminuye gradualmente con la duración del embarazo hasta el 1% en los niños nacidos vivos (Munné, 2003).

Debido a que el riesgo de aborto incrementa cuando existen abortos espontáneos previos, muchas parejas recurren a tratamientos de reproducción asistida entre los que se encuentran tratamientos con métodos no invasivos (estimulación ovárica con coito programado y estimulación ovárica con inseminación artificial) y tratamientos con métodos invasivos (fertilización *in vitro* e ICSI)



La reproducción asistida con la donación de ovocitos o espermatozoides es una opción para procrear individuos sanos cuando un factor genético está implicado. A través de técnicas como el diagnóstico genético preimplantación para aneuploidías y translocaciones se ha demostrado que la incidencia de aborto puede ser reducida (Braude et al. 2002). Dentro de las técnicas de reproducción asistida tenemos:

La fertilización *in vitro* (FIV) que implica la estimulación ovárica, la obtención de ovocitos por endoscopia y la fertilización con espermatozoides capacitados en el laboratorio así como la posterior transferencia de los embriones seleccionados por criterios morfológicos.

La inyección intracitoplásmica (ICSI) que implica la estimulación ovárica, la obtención de ovocitos por endoscopia y la inyección intracitoplásmica de un espermatozoide obtenido ya sea por eyaculado o por punción testicular o del epidídimo.

Con el advenimiento de las técnicas de reproducción asistida ha surgido la inquietud de conocer si estos procedimientos producen un incremento en la incidencia de las anomalías genéticas en los abortos espontáneos ocurridos posteriores a la aplicación de estas técnicas. Devroey y Steirteghem (2004) observaron en 1586 embarazos obtenidos por FIV o ICSI la incidencia de anomalías cromosómicas detectadas por BVC o por amniocentesis fue del 2.96% (47/1586), lo cual no muestra una diferencia significativa con respecto a lo esperado en población general. En contraparte, Lathi y Milki (2004) al evaluar aneuploidía FIV vs ICSI sugieren que la incidencia de aneuploidías es mayor en los productos obtenidos por ICSI.

En ICSI, un solo espermatozoide se microinyecta en el ovocito, atravesando la zona pelúcida y la membrana del ovocito (olemma) asegurando la fertilización.

Mientras que ICSI ha revolucionado, el tratamiento de la infertilidad de factor masculino, los críticos cuestionan su impacto potencialmente negativo sobre la constitución genética de las generaciones futuras, dado que ICSI aumenta el potencial reproductivo de genotipos masculinos mutantes con la consiguiente posibilidad de alterar la constitución genética de las poblaciones humanas futuras. La incidencia de alteraciones cromosómicas en hombres infértiles varía entre el 5.8% y el 13.7%, comparado con el 0.38% en recién nacidos masculinos fenotípicamente normales (Edwards y Riskey, 2003).

Existe poca información respecto a trabajos citogenéticos realizados en abortos espontáneos de población sometida a técnicas de reproducción asistida comparada con la población general y en nuestro país hasta donde sabemos, no existe ningún estudio al respecto.

## II OBJETIVOS

1. Describir el cariotipo de los productos de aborto espontáneo provenientes de embarazos por concepción natural y por reproducción asistida y determinar si existen diferencias a nivel citogenético entre los dos grupos.
2. Determinar si existe una relación entre la edad materna, la frecuencia y tipo de alteraciones encontradas en los productos de abortos espontáneos provenientes de embarazos por concepción natural y reproducción asistida.
3. Determinar si existe relación entre la edad gestacional y algún tipo particular de alteración cromosómica.

### III MATERIALES Y METODO

- Criterios de inclusión  
Abortos espontáneos menores de 20 semanas  
Muestras en las que se identifique tejido embrio-fetal y/o placentario
- Criterios de exclusión  
Pacientes en las que no se recabe la información clínica  
Muestras en las que no se pueda obtener un resultado citogenético
- Variables  
Edad de gestación, edad materna, edad paterna, antecedentes reproductivos, tipo de concepción, antecedentes genéticos.

### METODO

El estudio se realizó en vellosidades coriales, membrana amniótica y/o tejido embrionario o fetal

#### *Recolección de muestra*

El material obtenido del aborto se colectó en un frasco con solución salina fisiológica estéril .

En los casos en que la muestra no se procesó, se mantuvo en refrigeración.

#### *Selección del tejido*

En la campana de flujo laminar y en condiciones de esterilidad, sacar el tejido del recipiente original tomándolo con una pinza de disección con dientes y colocarlo en una caja de petri de 100 mm de diámetro.

Lavar con sol. Salina de Hank's con antibióticos.

Utilizando dos bisturíes cortar una pequeña porción de tejido correspondiente a vellosidades coriales, membrana amniótica y si se encontrase en la muestra, tejido embrionario. Lavar cada fragmento nuevamente y retirar con el bisturí todo lo que no corresponda al tejido seleccionado.

### *Siembra*

Llenar la hoja de control de cultivo y asignar una letra a cada frasco de cada cultivo primario.

Agregar 1 ml de medio Amniomax a cada frasco de cultivo. Generalmente se emplean 2 medios diferentes (se rotulan por número consecutivo: uno par y uno non); uno para el frasco de cultivo rotulado como "A" y otro para el frasco de cultivo rotulado como "B". Estos medios son Amniomax y la única diferencia radica en que a uno de ellos se le agrega 1 ml de Antifun.

En condiciones de esterilidad, cortar con dos bisturíes cada tejido hasta obtener múltiples pequeños fragmentos.

Retirar la solución de Hank's y agregar un poco de medio Amniomax para poder transportar con la pipeta de transferencia hacia un frasco de cultivo de 25cc. Mover el frasco hasta distribuir el material por toda la superficie del mismo y retirar casi todo el medio de cultivo para permitir que los fragmentos queden adheridos a la superficie.

Dejar un poco suelta la tapa del frasco e introducirlo en la incubadora de CO<sub>2</sub>

### *Cultivo*

A las 24 horas agregar 3 ml del medio Amniomax que le corresponda.

Revisar los cultivos al quinto día y cambiar de medio a los que tienen medio par y al sexto día a los que tienen medio non.

Posteriormente cada 3 a 4 días cambiar el medio hasta observar el desarrollo de 8 a 12 colonias grandes y entonces subcultivar.

### *Subcultivo*

Revisar las cajas falcon y checar si presentan actividad.

Retirar el medio de cultivo

Lavar con 5 ml de solución de Hank's y decantar en un tubo de polipropileno estéril.

Repetir el paso anterior

Agregar 3 ml de sol de tripsina-verseno e incubar en la incubadora por 50 segundos.

Parar la reacción con la solución Hank's depositada en el tubo de polipropileno y centrifugar a 1250 rpm durante 10 minutos. Agregar previamente 3 ml de medio de cultivo a la caja falcon y colocarla nuevamente en la incubadora.

Retirar el sobrenadante del tubo de centrifuga, agregar 0.5 ml de medio Amniomax y resuspender suavemente con pipeta.

Preparar de 3 a 4 cajas de petri de 45 mm con un cubreobjetos estéril y colocar en ellas pequeñas gotas de la suspensión (5 a 9 gotas) e incubar hasta el día siguiente.

Agregar 2.5 ml de medio de cultivo (alimentar). Cosechar a las 24 – 48 hrs después de haber subcultivado.

Nunca cosechar todas las petris de un mismo caso al mismo tiempo.

#### *Cosecha*

Agregar tres gotas de colcemid con jeringa de insulina con aguja (bisel hacia arriba) y 4 gotas de bromuro de etidio (bisel hacia abajo) a cada Petri con 2.5 a 3 ml. de medio. Incubar a 37° C por 45 min.

Colocar las cajas en un lugar fijo en donde se procesará toda la cosecha y sin moverlas de la mesa, retirar el medio con una pipeta de transferencia desechable. Agregar suavemente 2.5 ml. de solución hipotónica de citrato de sodio precalentada a 37 grados con jeringa sin aguja. Dejar a temperatura ambiente por 20 min.

Agregar muy lentamente, con jeringa sin aguja, 2.5 ml. de fijador recién preparado y dejarlo por exactamente 2 min. Posteriormente, retira la mezcla y agregar 3 ml. de fijador por 20 min.

Retirar el fijador suavemente y agregar 3 ml. de fijador recién preparado y dejarlo por 20 min.

Repetir el paso anterior.

Retirar el fijador suavemente y agregar 3 ml. de fijador recién preparado por 10 min.

Verificar humedad y temperatura ambiental antes de levantar. Idealmente temperatura de 25 grados con humedad de 50%

Retirar el último fijador y secar el cubreobjetos suavemente, utilizando mechero, aire y procurando que el tiempo de secado sea de aproximadamente 60 seg.

Revisar la laminilla en contraste de fase para valorar la calidad de las metafases y corregir el secado si fuese necesario.

Levantar el cubre y en la cara posterior anotar el número de muestra y cultivo con el marcador de punto fino.

Colocar el cubre en la caja Petri con las células hacia arriba y dejarlo incubar a 90°C por una hora o a 60°C de un día para otro.

### *Tinción*

Iniciar en solución de tripsina para bandeado a temperatura ambiente con 1 min. y 58 seg. Ajustar el tiempo según resultados.

Enjuagar en buffer 7.0 por uno a dos segundos.

Enjuagar en segundo buffer 7.0 por un minuto.

Teñir en Wright fresco por 90 segundos, este vaso debe permanecer tapado todo el tiempo.

Teñir en Giemsa fresco por 90 segundos, este vaso debe permanecer tapado todo el tiempo.



Enjuagar con agua destilada.

Dejar secar y montar.

### *Análisis*

El análisis se llevara a cabo haciendo las anotaciones correspondientes en la hoja de lectura. Se contarán 15 metafases y se analizara el patrón de bandas en por lo menos cinco metafases. Se analizaran de ser posible dos cultivos primarios.

#### IV RESULTADOS Y DISCUSION

*Descripción del cariotipo de los productos de aborto espontáneos provenientes de embarazos por concepción natural y concepción por Técnicas de reproducción asistida (TRA).*

En el presente trabajo se llevo a cabo el análisis citogenético de 31 muestras de aborto espontáneo; 25 de las cuales forman parte del grupo de estudio de abortos espontáneos por concepción natural y 6 del grupo de estudio de abortos espontáneos de embarazos obtenidos por técnicas de reproducción asistida que incluyen inseminación artificial, fertilización *in vitro* e inyección intracitoplasmática (Tabla 2). Los tejidos analizados fueron en su mayoría vellosidades coriales y membrana amniótica. Según Kajii y cols (1980) cuando una alteración cromosómica esta implicada en el aborto, el reconocimiento de un feto resulta poco probable. En nuestro estudio no se observó la presencia de embrión o feto en ninguno de los casos.

DESCRIPCION	NUMERO DE ABORTOS	NUM. DE ABORTOS CON ALTERACIONES NUMERICAS	NUMERO DE ABORTOS CON ALTERACIONES ESTRUCTURALES
EMBARAZO NATURAL	25	15	1
EMBARAZO TRA	6	4	1
TOTAL	31	19	2

Tabla 2. Total de muestras de abortos espontáneos TRA (Técnica de Reproducción Asistida)

Las observaciones citogenéticas específicas de los cariotipos de los abortos espontáneos por concepción natural y concepción TRA se presentan en la tabla 3 y 4 respectivamente.

#### EMBARAZO NATURAL

CARIOTIPO
46,XX
69,XXY
45,X
46,XY
92,XXYY
46,XX
69,XXX
45,X
45,X
47,XX,+21
47,XX,+16
46,XX
46,XY
69,XXY
47,XX,+16
46,XX
mos46,XY,der(5)(?:p15→qter)[7]/46,XY,r(5)(p15;q35)[11]
47,XX,+16
47,XX,+13
69,XXX
69,XXY
46,XX
46,XY
46,XY
47,XY,+13

Tabla 3. Descripción del cariotipo de productos de aborto espontáneo en embarazo por concepción natural

En el grupo de abortos espontáneos por concepción natural se presentaron con una frecuencia de 0.64 de abortos con alteraciones cromosómicas. En el análisis citogenético realizado se observaron según la frecuencia, los cariotipos normales (0.36), seguido de las poliploidías y trisomías que se presentan en igual proporción (0.24) y con menor frecuencia los que presentan 45,X (0.12) y las alteraciones estructurales (0.4) (Tabla 5)(Grafica 1).

En este grupo se observó la presencia de un mosaico con cariotipos  $46,XY,der(5)(?::p15\rightarrow qter)[7]/46,XY,r(5)(p15q35)[11]$  En este cultivo se observó la presencia de células femeninas provenientes de contaminación con tejido materno en las que se observó un cariotipo  $46,XX,t(1;5)(q32;p15)$ . Debido a este hallazgo consideramos que la línea embrionaria original fue  $46,XY,der(5)t(1;5)(q32;p15)mat$  y posteriormente de esta línea surgió la  $46,XY,r(5)(p15q35)$  que es la línea predominante en el cultivo probablemente por encontrarse con menor desbalance que la línea original.

En el grupo de abortos espontáneos por concepción a través de TRA se encontró una frecuencia de 0.83 alteraciones cromosómicas, lo cual podría sugerir que los embarazos por TRA presentan una mayor incidencia de cromosopatías que los abortos por concepción natural (0.64). Nuestros resultados son diferentes a los reportados por Planchot (1989), Causio y cols (2002), Shields y cols (1992) que presentan un porcentaje similar de alteraciones cromosómicas entre los abortos naturales vs TRA. Sin embargo, nuestro número de muestras en el grupo de TRA es pequeño, por lo que nuestros resultados no son concluyentes.

Es importante mencionar que como se muestra en la tabla 4 hubo un caso que presentó alteración estructural y numérica. En la gráfica 3 se incluyó en las frecuencias estructurales.

### EMBARAZO TRA

CARIOTIPO
47,XX,+16
47,XY,+15
48,XY,t(6;20)(q16;p12)+der(20)t(6;20)+21
46,XX
45,X
47,XY,+18

Tabla 4. Descripción del cariotipo de productos de aborto espontáneo en embarazos por concepción a través de TRA

Al analizar la incidencia por tipos de anomalía cromosómica se detectaron algunas diferencias. En el grupo de TRA no se observaron poliploidías mientras que en los embarazos espontáneos las poliploidías afectaron a 6 de 25 casos (0.24). Probablemente las poliploidías no se presentaron en el grupo de TRA debido a que antes de la transferencia e implantación se efectúa una selección de los preembriones y aquéllos que muestran datos morfológicos de poliploidía no son transferidos (Tabla 5) (Grafica 2).

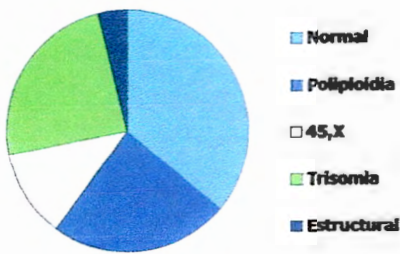
En el grupo de TRA 3 de 6 embarazos presentaron trisomía (0.49) a diferencia del grupo de embarazo natural en el que únicamente 6 de 25 casos (0.24) presentaron esta alteración y en cuanto a la monosomía X no se observaron diferencias entre los grupos (Tabla 5) (Grafica 2).

En la grafica 3 se representan de manera global las alteraciones encontradas, las cuales representan una frecuencia de 0.67 de todos los abortos espontáneos estudiados. Entre las alteraciones se encuentran las trisomías autosómicas, pero no se observaron trisomías de cromosomas sexuales. En contraparte se presentaron monosomías para los cromosomas sexuales como es el caso de 45,X pero no se observaron monosomías para los cromosomas autosómicos; según Sandalinas y cols (2001) y Munne (2003) estas se encuentran en periodos de preimplantación antes de que la mórula se convierta en blastocisto.

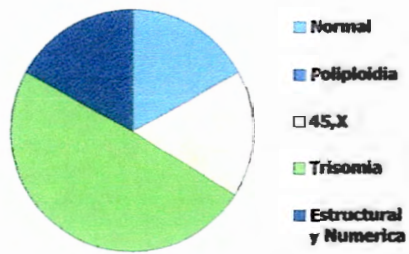
En nuestro estudio citogenético se presentaron triploidías, tetraploidías y alteraciones estructurales.

	NORMAL	TRIPLOIDE TETRAPLOIDE	TRISOMIA	45,X	ESTRUCTURAL	ESTRUCTURAL Y NUMERICA
E. NATURAL	9 (0.36)	6 (0.24)	6 (0.24)	3 (0.12)	1 (0.4)	0 (0)
E. TRA	1 (0.17)	0 (0)	3 (0.49)	1 (0.17)	0 (0)	1 (0.17)

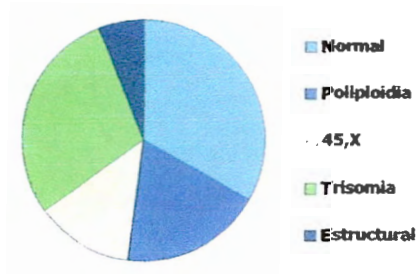
Tabla 5. Diferencias citogenéticas entre los productos de aborto espontáneo por concepción natural y concepción por TRA.



GRAFICA 1. FRECUENCIA ABORTO ESPONTANEO CONCEPCION NATURAL



GRAFICA 2. FRECUENCIA ABORTO ESPONTANEO CONCEPCION TRA



GRAFICA 3. ALTERACIONES GLOBALES INCLUYENDO LOS 31 ABORTOS ESPONTANEOS ANALIZADOS

*Relación entre edad materna, frecuencia y tipo de alteraciones encontradas en los productos de aborto por concepción natural y TAR.*

La edad materna de los 31 abortos espontáneos del presente trabajo se dividió en 2 categorías. La primera fue conformada por aquellas mujeres menores de 35 años a los que consideramos mujeres jóvenes y representan en frecuencia 0.74 de nuestra población y la segunda por aquellas mujeres que presentaron edad de 35 años en adelante a las que consideramos como edad materna avanzada, representando una frecuencia de 0.26 de nuestro grupo de estudio (Tabla 6). A pesar de que la literatura menciona que las mujeres de edad avanzada presentan mayor riesgo de aborto, con un incremento en las alteraciones cromosómicas, en nuestros resultados globales no se observaron diferencias en la incidencia de cromosopatías en relación con la edad materna, representando una frecuencia de 0.65 de alteraciones cromosómicas observadas en el grupo de edad menor de 35 años contra una frecuencia 0.75

de anomalías cromosómicas para el grupo de edad igual o mayor que 35 años de edad.

Se ha documentado que las poliploidías, monosomías X y las alteraciones estructurales presentan una frecuencia independiente de edad materna (Dhont, 2003; Tomado de Miller y Therman, 2001, McKinlay y Sutherland; 2004). En las muestras de aborto espontáneo que presentaron cariotipo normal y 45,X no se observó diferencia en cuanto a frecuencia y edad entre los grupos de mujeres jóvenes y añosas. La frecuencia de poliploidías fue ligeramente mayor en las mujeres jóvenes que en las añosas (0.22 vs 0.125) (Tabla 7).

Las trisomías son las alteraciones cromosómicas que presentaron un efecto de edad materna (Tomado de Miller y Therman, 2001; McKinlay y Sutherland, 2004). La más común vista en cariotipos anormales es la trisomía 16, como se corroboró en el presente trabajo (Tabla 8). Se analizaron de manera independiente la edad materna y su relación con las trisomías sin observarse una diferencia significativa entre los grupos. Cabe mencionar que el caso que presentó alteración tanto estructural como numérica (trisomía), fue considerado como 'alteración estructural y numérica', considerando así su frecuencia dentro de las trisomías (Tabla 7, 8, 9).

Los resultados desglosados de los grupos de mujeres jóvenes y añosas con embarazos espontáneos y de TRA se presentan en la tabla 9. En esta tabla puede observarse que en el grupo de mujeres añosas y TRA todos los embarazos cursaron con cromosomopatía, aun cuando el número de nuestra muestra de estudio es bajo, podría sugerir que en esta población, los factores maternos como endocrinológico, infeccioso o autoinmune han sido controlados mientras que el riesgo de cromosomopatía aunado al efecto de edad materna nos da una incidencia mayor de cromosomopatía en este grupo.



CATEGORIA DE EDAD	NO. DE INDIVIDUOS	ANORMALES
< 35	23	15 (0.65)
> o igual a 35	8	6 (0.75)

Tabla 6. Clasificación de los productos de aborto espontáneo por grupo de edades y porcentaje de alteraciones cromosómicas de la población de estudio.

EDAD MATERNA	ABORTOS CON CARIOTIPO NORMAL	TRIPLOIDE TETRAPLOIDE	45,X	TRISOMÍA	ESTRUCTURAL	ESTRUCTURAL Y NUMERICA
<35 n=23	8 (0.35)	5 (0.22)	3 (0.13)	6 (0.26)	1 (0.4)	0
>35 n=8	2 (0.25)	1 (0.125)	1 (0.125)	3 (0.375)	0	1* (0.125)

Tabla 7. Relación entre edad materna y frecuencia y tipo de alteración cromosómica encontrada. \* 48,XY,t(6;20)(q16;p12)+der(20)t(6;20)+21

EDAD MATERNA	TRISOMIA 13	TRISOMIA 16	TRISOMIA 18	TRISOMIA 21	TRISOMIA 15	TOTAL
<35 n=23	1 (0.166)	3 (0.50)	1 (0.166)	1 (0.166)	0	6
>35 n=8	1 (0.25)	1 (0.25)	0	1* (0.25)	1 (0.25)	4

Tabla 8. Relación entre edad materna y frecuencia de trisomías encontradas.

\* 48,XY,t(6;20)(q16;p12)+der(20)t(6;20)+21

EDAD MATERNA	NORMAL	TRIPLOIDE TETRAPLOIDE	45,X	TRISOMIA	ESTRUCTURAL	ESTRUCTURAL Y NUMERICA	TOTAL
<35 NATURAL N=23	7 (0.35)	5 (0.25)	3 (0.15)	4 (0.20)	1 (0.5)	0	20
<35 TRA N=23	1 (0.33)	0	0	2 (0.66)	0	0	3
>35 NATURAL N=8	2 (0.40)	1 (0.10)	0	2 (0.40)	0	0	5
>35 TRA N=8	0	0	1 (0.33)	1 (0.33)	0	1* (0.33)	3

Tabla 9. Relación entre edad materna, frecuencia y tipo de alteraciones encontradas en los productos de aborto por concepción natural y TRA.

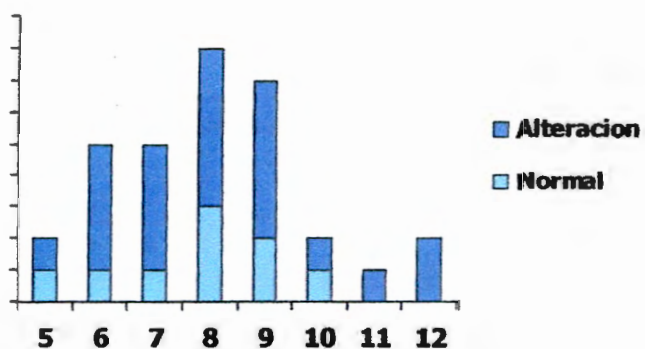
\* 48,XY,t(6;20)(q16;p12)+der(20)t(6;20)+21

*Relación entre edad gestacional y algún tipo particular de alteración cromosómica.*

La edad gestacional fue obtenida por ultrasonido y también fue calculada por el número de días tomando en cuenta el primer día del último periodo menstrual al día de colecta del material a estudiar; no mostrándose diferencias en las semanas de gestación por ambos métodos.

De acuerdo a la literatura el 59 al 80% de los abortos espontáneos se presentan en las primeras 12 semanas de gestación (Tomado de Parrilla, 1997). En el estudio citogenético de abortos espontáneos por concepción natural y TRA del presente trabajo solo se obtuvieron muestras dentro de este intervalo. La frecuencia de anomalías cromosómicas encontradas en relación con la edad gestacional se muestra en la tabla 10 en donde se observa que el mayor número de casos se presentaron entre la semana 6 y 9 de la gestación (Gráfica 4). Al analizar los tipos particulares de cromosomopatía se observó que los abortos triploides ocurrieron con mayor frecuencia entre la semana 9 y 11 de la gestación, mientras que las trisomías se observaron con mayor frecuencia en las semanas 6 y 7, hallazgos que corresponden con lo descrito en la literatura (Tabla 10).

Durante el primer trimestre las anomalías cromosómicas son la causa de abortos espontáneos en más del 50% de las gestaciones, mientras que solo afectan al 10% - 50% de los abortos tardíos (Eiben y cols., 1990; Burgoyne y cols., 1991). En nuestro estudio no se logró comparar si la frecuencia de alteraciones cromosómicas disminuyen en abortos tardíos, ya que, la población estuvo representada solo por abortos tempranos.



GRAFICA 4. RELACION ENTRE EDAD GESTACIONAL Y ALTERACIONES CROMOSOMICAS

SDG	NO. CASOS	NORMAL	TRIPLOIDE TETRAPLOIDE	45,X	TRISOMIA	ESTRUCTURAL	ESTRUCTURAL Y NUMERICA
5	2	1	0	0	1	0	0
6	6	1	0	1	2	1	1
7	5	1	1	0	3	0	0
8	6	4	0	2	0	0	0
9	5	1	3	0	1	0	0
10	2	1	1	0	0	0	0
11	3	1	1	0	1	0	0
12	2	0	0	1	1	0	0

Tabla 10. Relación entre edad gestacional y algún tipo particular de alteración cromosómica.

## V CONCLUSIONES

En el grupo de abortos espontáneos por concepción a través de TRA se presentó una frecuencia de 0.83 de alteraciones cromosómicas mientras que en los de concepción natural la frecuencia de alteraciones fue 0.64. Esto podría sugerir que los embarazos por TRA presentan una incidencia de cromosomopatías mayor, sin embargo el grupo de TRA es pequeño y por ello no es posible obtener resultados concluyentes.

Es importante mencionar que el grupo de abortos espontáneos obtenidos por TRA representan un grupo seleccionado en el que se han descartado causas anatómicas, ambientales (infecciosas) e inmunológicas entre otras, sin embargo, el riesgo de cromosomopatía si ocurre un aborto, es el mismo y el riesgo por el efecto de edad materna avanzada se mantiene.

En el análisis citogenético de los 31 abortos espontáneos obtenidos por concepción natural y concepción a través de técnicas de reproducción asistida podemos concluir que se observó una ligera variación en la frecuencia de las alteraciones cromosómicas.

El tipo de anomalías encontradas en el grupo de embarazo natural fueron poliploidías, aneuploidías y estructurales, mientras que en el grupo de embarazo por TRA fueron aneuploidías y estructurales.

No hay diferencia significativa en cuanto a la relación entre la edad materna, la frecuencia y tipo de alteraciones encontradas. El grupo de mujeres jóvenes presentó cromosomopatía con una frecuencia de 0.65 y el grupo de edad avanzada una frecuencia de 0.75.

El tipo de anomalías cromosómicas también varió con la edad gestacional presentándose las trisomías con mayor frecuencia entre las semanas 5 - 8 y los abortos triploides a la semana 9 - 12 de gestación. La mayor proporción de alteraciones se encontraron entre las semanas 6 – 9 de gestación.

## VI REFERENCIAS

Burgoyne PS, Holland K, Stephens R. (1991) Incidence of numerical chromosome abnormalities in human pregnancy: estimation from induced and spontaneous abortion data. Hum Reprod 6:555 – 565.

Braude P, Pickering S, Flinter F, Mackie C. (2002). Preimplantation Genetic Diagnosis. Nature Review 3:941-953.

Causio F, Fischetto R, Sarcina E, Geusa S, Tartagni M., (2002). Chromosome analysis of spontaneous abortions after *in vitro* fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. Oct.10:105(1):44-8.

Dhont M (2003). Recurrent miscarriage. Current Womens's Health Reports 3:361 – 366.

Devroey P, Steirteghem VA (2004). A review of ten years experience of ICSI. Hum Reprod 10(1):19-28.

Eiben B, Bartels I, Bahr – Porsh S et al. (1990). Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. Am J Hum Genet 47:656 – 663.

Edward R, Risquez, F. (2003). Reproducción Asistida Moderna.

Hansen J. (1986). Older maternal age and pregnancy outcome: a review of the literature. Obstet Gynecol Surv 41:726 – 791.

Hassold T, Chen N, Funkhauser J, et al (1980). A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet*, 44:151-164.

Hassold T, Hunt P. 2001. To err (meiotically) is human: The genesis of human aneuploidy. *Nature Review Genet* 2:280-291.

Kajii T, Ferrier A, Nikawa N, Takahara H, Ohama K, Avirachan S (1980). Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. *Hum Genet* 55:87-98.

Knudsen U, et al. 1991. Prognosis of a new pregnancy following previous spontaneous abortions. *Europ J Gynecol Reprod Biol* 39:31-36.

Lathi RB, Milki AA. (2004). Rate of aneuploidy in miscarriages following in vitro fertilization and ICSI. *Fertil Steril* May;81(5):1270-2.

McKinlay Gardner R. J., Sutherland G.R (2004). Chromosome abnormalities and genetic counseling. 3<sup>th</sup> ed. Ed. Oxford University Press.

Miller O.J., Therman E (2001). *Human Chromosomes*. 4<sup>th</sup> ed. Ed Springer – Verlag New York, Inc.

Moore M, Best RG. 2001. Chromosome mechanics. *Encyclopedia of Life Science*. Nature Publishing/ [www.els.net](http://www.els.net)

Munné S (2003). Differences in chromosome susceptibility to aneuploidy and survival to trimester. *Reproductive Biomedicine* 8(1):81-90.

Parrilla J.J. (1997). Aborto recurrente. Definiciones, incidencia y factores epidemiológicos. Ed. Panamericana. Cuadernos de Medicina Reproductiva. Vol. 3 (2): 13-21.



Planchot M., (1989). Chromosome analysis of spontaneous abortion after IVF. European Survey Human Reproduction. 4:425-429.

Sandalinas, M., Sadowy, S., Alikani M, Calderon G, Cohen J and Munne, S (2001). Developmental ability of chromosomally abnormal human embryos to develop to the blastocyst stage. Hum Reprod 16:1954-1958.

Shields LE, Serafini PC, Schenken RS, Moore CM. (1992). Chromosomal analysis of pregnancy losses in patients undergoing assisted reproduction. J. Assit. Reprod Genet. 9(1):57-60

Zaragoza MV, Surti U, Redline RW, Millie E, Chakravarti A, Hassold TJ. (2000). Parental origin and phenotype of triploidy in spontaneous abortions: predominante of diandry and association with the partial hydatidiform mole. Am J Hum Genet. 66:1807-1820.



## VII APENDICE

### MATERIALES Y REACTIVOS

Acido acético (Merck)  
Agua bidestilada estéril ampolleta 10 ml  
Antifun (Microlab)  
Bisturí estéril  
Bromuro de etidio fco. de 5 gr (Sigma)  
Buffer pH 6.8 (Gibco)  
Buffer pH 7.2 (Gibco)  
Cajas de cultivo Petri de 35 mm de diámetro  
Citrato de sodio fco de 500 gr (Merck)  
Cloruro de sodio NaCl fco 500 gr (Merck)  
Colcemid (Gibco)  
Frascos de cultivo de 25 cc con tapón de ventilación  
Glutamina (Gibco)  
Medio de cultivo Amniomax  
Metanol (Merck)  
Pinza de disección estéril  
Portaobjetos de 22 x 22 mm estériles (Corning)  
Resina de secado rápido Entellan (Merck)  
Sol. Giemsa (Merck)  
Sol. Wright (Merck)  
Sol. Salina de Hank's (Microlab)  
Tripsina 1:250 (Gibco)  
Tripsina – Verseno fco 100 ml. (Microlab)

## PREPARACION DE REACTIVOS

### *Medio de cultivo amniomax*

Preparación: descongelar el frasco en la estufa a 37 grados, marcar la fecha de descongelación en el frasco y almacenar a 4 C. numerar los frascos con números consecutivos. Generalmente al frasco par agregar 1 ml de antifung  
Después de 7 días, agregar glutamina (el equivalente para dejar una concentración de 1%). Tener siempre dos frascos en uso.

### *Colcemid (sol de trabajo)*

De un frasco 10 mcg/ml, retirar 5 ml y colocarlo en un recipiente estéril, agregar 5 ml de agua bidestilada para llevar el reactivo a una concentración de trabajo de 5 mcg/ml

### *Sol. de citrato de sodio al 0.8%*

Pesar 0.8 gr de citrato de sodio y diluir en 100 ml de agua bidestilada, en matraz aforado. Anotar fecha de preparación e iniciales del que preparo. Almacenar a temperatura ambiente.

### *Bromuro de etidio, sol. de trabajo [0.5 mg/ml].*

Pesar 0.01 gramos y mezclarlo con 20 ml. de sol. salina de Hank's, conservarlo en un frasco protegido de la luz (cubierto con papel aluminio) y guardarlo a 4 grados en el refrigerador. Anotar en la etiqueta o masking tape: sol. de trabajo, concentración, fecha e iniciales de quien preparó. **(Usar guantes)**

### *Buffer pH 6.8*

Disolver una tableta de buffer pH 6.8 en 1000 ml. de agua destilada y checar el pH con el medidor. Conservar a temperatura ambiente. Anotar en una etiqueta, fecha de preparación, pH e iniciales de quien lo preparó.

### *Buffer pH 7*

Pesar 9 gr. de cloruro de sodio y colocar en un matraz aforado de 1000 ml., agregar una tableta de buffer Gurr 7.2 y agregar aproximadamente 600 ml. de agua bidestilada. Agitar hasta que se disuelva y aforar a 1000 ml. Verificar que el pH quede en 7.0 y si no es así ajustarlo.

Marcar la fecha de la preparación e iniciales de quien preparó y conservar a temperatura ambiente en la vitrina gris.

### *Sol. stock de tripsina 1:250*

Se disuelven 1.25 g. de tripsina en 200 ml. de agua destilada, mezclar completamente y filtrar en papel Watman # 1. Se reparte en alícuotas de 2 ml. que se conservan congeladas.

### *Tripsina. Sol. de trabajo para bandeó.*

En una jarra coplin, mezclar dos alícuotas con 47 ml. de buffer 7.0 prepararla poco antes de usarla.

### *Fijador Carnoy*

Metanol – ácido acético 3:1.

Mezclar 3 partes de metanol con 1 parte de ácido acético

### *Sol. de Wright para bandeó.*

En una jarra coplin, mezclar 3 ml. de colorante con 47 ml. de buffer 6.8 prepararla poco antes de usarla y mantenerla tapada todo el tiempo.

### *Sol. de Giemsa para bandeó*

Mezclar 0.6 ml de tinción con 9.4 ml de buffer 6.8 prepararla poco antes de usarla y mantenerla tapada todo el tiempo.

## SOLICITUD DE ESTUDIO CROMOSOMICO EN MATERIAL DE ABORTO

Fecha \_\_\_\_\_ Núm. Laboratorio \_\_\_\_\_

Nombre de la paciente \_\_\_\_\_

FN \_\_\_\_\_ FUM \_\_\_\_\_ G \_\_\_\_\_ P \_\_\_\_\_ A \_\_\_\_\_

Edad de gestación por FUM \_\_\_\_\_

Producto de reproducción asistida No \_\_\_ Si \_\_\_

En caso afirmativo: IVF \_\_\_\_\_

ICSI \_\_\_\_\_

Fecha de transferencia \_\_\_\_\_

En caso de donadores: Ovulo de donadora \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

Esperma de donador \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

Fecha de último ultrasonido y edad gestacional \_\_\_\_\_

Diagnóstico HMR \_\_\_\_\_ E. anembrionario \_\_\_\_\_ Otro \_\_\_\_\_

Ingesta de ácido fólico No \_\_\_ Si \_\_\_ A partir de que fecha \_\_\_\_\_

Edad del esposo \_\_\_\_\_

¿Algún miembro de la pareja ha recibido quimioterapia? No \_\_\_ Si \_\_\_

En la familia de la paciente o de su esposo, ¿ha habido algún caso de niños con malformaciones congénitas, retraso mental o enfermedades hereditarias?

No \_\_\_ Si \_\_\_

En caso afirmativo:

Enfermedad (es) y parentesco que guarda con los afectados \_\_\_\_\_

Estudio citogenético de algún aborto anterior No \_\_\_ Si \_\_\_ Resultado \_\_\_\_\_

Causa de la infertilidad: \_\_\_\_\_

Institución \_\_\_\_\_

Medico tratante y Teléfono \_\_\_\_\_

FN-Fecha de nacimiento FUM-Fecha de última regla G-Gesta P-Para A-Aborto HMR-Huevo muerto retenido  
IVF-Fertilización *in vitro* ICSI-Inyección intracitoplásmica

IN  
CENTRO DE INFORMACIÓN  
Y DOCUMENTACIÓN