

CARACTERIZACIÓN DE VARIEDADES DE CULTIVO DE LÍQUIDO AMNIÓTICO PARA EL DIAGNÓSTICO PRENATAL DE POLIPLOIDÍAS EN CAMAGÜEY.

Autores: Dra. Tania Díaz González¹, Dra. Llanetsy Llanes Mesa², MSc. Héctor Pimentel Benítez³, Dra. Elena Edita Rubio López⁴.

¹Especialista de 1er grado en MGI e Histología, Profesora asistente en la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, Cuba, ²Especialista de 1er grado en MGI e Histología, Profesora auxiliar en la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, Cuba, ³Especialista de 1er grado en Genética Médica y Máster en Genética Médica del Centro Provincial de genética médica de Camagüey, Profesor auxiliar en la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, Cuba. ⁴Especialista de 1er grado en MGI y Bioestadística, Profesora asistente en la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, Cuba.

e-mail: dgtania.cmw@infomed.sld.cu

Resumen

El cultivo celular permite el análisis directo de las células vivas mediante un microscopio. El estudio de las células contenidas en el líquido amniótico, mediante técnicas de cultivo, detecta anomalías en el número y morfología de los cromosomas, que pueden relacionarse con enfermedades genéticas. Se realizó un estudio descriptivo transversal, con el objetivo de caracterizar las variedades de cultivo de líquido amniótico para el diagnóstico prenatal de poliploidías, en el periodo comprendido de noviembre de 2016 a abril de 2018. La población de estudio estuvo constituida por 1 571 muestras útiles de líquido amniótico obtenidas por amniocentesis, en gestantes en el segundo trimestre, evaluadas en consulta multidisciplinaria con criterios clínicos de estudios cromosómicos según lo establecido en el Diagnóstico Prenatal Citogenético, previo consentimiento informado. Se utilizaron 20 ml de líquido amniótico para la siembra de células fetales, y se aplicaron tres variantes de cultivo abierto (directo, centrifugado y expandido). Se determinó el complemento cromosómico en cada variedad. Predominó el complemento cromosómico normal. Las tetraploidías prevalecieron en el cultivo expandido. El índice mitótico fue similar en las tres variedades de cultivo y el cultivo directo tuvo el más bajo índice de poliploidías.

Palabras Claves: cultivo celular, líquido amniótico, poliploidías.

INTRODUCCIÓN

Las células vivas pueden mantenerse y estudiarse fuera del cuerpo, lo que tiene gran utilidad para el estudio del efecto aislado de las moléculas sobre un tipo de célula o tejido. El cultivo celular permite el análisis directo del comportamiento de las células vivas mediante un microscopio, así como también de diversos procesos que no se pueden llevar a cabo en un animal vivo y que sí se pueden efectuar *in vitro*. El cultivo de tejidos ha sido considerado durante mucho tiempo como una mezcla de ciencia y arte. Fue considerada inicialmente como una técnica particularmente difícil de aprender.^{1,2}

Esta técnica se desarrolló a partir de los últimos años del siglo XIX como una continuación de las técnicas de la embriología. Wilhem Roux mantuvo en el año 1885 células de embrión de pollo en solución salina durante unos días.¹

Harrison fue el primer autor que empleó técnicas *in vitro* para el estudio de fenómenos *in vivo*, realizando cultivos de médula espinal embrionaria de anfibios. Pudo observar el crecimiento de los axones de los neuroblastos. El cultivo se realizaba en una gota de linfa del anfibio. Burrows y Carrel realizaron los primeros intentos de establecer cultivos de células de mamíferos, y consiguieron mantener explantes obtenidos a partir de perros, gatos y conejos de indias, así como en el crecimiento de tumores sólidos. Roux y Jones (1916) emplearon por vez primera extractos enriquecidos en tripsina para disociar las células de embriones de pollo, estableciendo el primer cultivo celular. En 1913 Carrel demostró la posibilidad de mantener en cultivo células extraídas de un animal, embrión de pollo, durante un periodo de tiempo superior al de la vida de éste.²

Actualmente, al conjunto de técnicas que permiten el mantenimiento de las células 'in vitro', conservando al máximo sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y genéticas se le denomina cultivo celular.^{1,2}

Hay áreas de investigación fuertemente dependientes de las técnicas de cultivo celular como son: virología, investigación del cáncer, inmunología, ingeniería de proteínas, estudios de interacción y señalización celular, en la diferenciación y en el desarrollo, y además en aplicaciones diagnósticas, como es el caso de los estudios cromosómicos que se realiza para determinar si las células somáticas de un individuo o feto tienen el número normal de

cromosomas, así como para detectar anomalías de la estructura cromosómica que pueden tener consecuencias clínicas o reproductivas y relacionarse con enfermedades genéticas.^{2,3,4,5}



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

Desde la década del 70, a partir del desarrollo alcanzado en las técnicas citogenéticas, surgieron numerosos centros de diagnóstico prenatal, principalmente en países desarrollados. En 1984 en Ciudad de La Habana se inició el diagnóstico prenatal del Síndrome de Dawn SD y otras enfermedades cromosómicas. El diagnóstico cromosómico fetal mediante cultivo de las células fetales descamadas del líquido amniótico, es el método más utilizado en el Diagnóstico Prenatal Citogenético (DPC) y es un componente indispensable de los programas preventivos en genética que impulsa la Organización Mundial de la Salud (OMS), además constituye la principal modalidad en Cuba para realizar los estudios cromosómicos prenatales.⁶

El DPC de cromosomopatías incluye dos pasos fundamentales: la identificación de las gestantes con riesgo y la aplicación de la prueba diagnóstica a través de procedimientos invasivos, para la obtención de las células fetales. Su objetivo es establecer de forma precoz la existencia de una anomalía cromosómica fetal. Las anomalías cromosómicas constituyen la causa principal de enfermedad genética, que genera una gran proporción de pérdidas reproductivas, malformaciones congénitas y retraso mental.^{5,7}

Las poliploidías como aberración cromosómica fueron estudiadas como una condición concerniente únicamente al reino vegetal y en los humanos eran consideradas como condición letal, sin embargo, células somáticas como los hepatocitos son normalmente poliploides.⁶

El análisis de las poliploidías en cultivos de tejidos ha generado dificultades en el diagnóstico citogenético. En cultivo de sangre periférica está bien establecida por ser este tejido comúnmente utilizado debido a las ventajas que el mismo propicia. Sin embargo, se reportan frecuencias variables de células poliploides en cultivo de líquido amniótico. Estas pueden ser muy particulares para cada tipo de célula de este fluido.^{6,7}

Debido a las condiciones artificiales del cultivo donde deben desarrollarse las células del líquido amniótico, en ocasiones se producen errores en los mecanismos de control de la mitosis, que

conllevar a fenómenos de cambios en el complemento cromosómico, y no reflejan el cariotipo real del feto.⁸

Por otra parte, en ocasiones las líneas celulares aneuploide que están presentes en los tejidos



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

fetales, no presentan la suficiente competitividad para el crecimiento en estos medios de cultivo, con respecto a las líneas cromosómicas normales, que se desarrollan preferencialmente.⁸

A pesar de considerarse, el cultivo de las células fetales, como el estándar de oro para el análisis cromosómico, muchas veces no se detectan duplicaciones o deleciones. Unido a esto, el cultivo celular tiene la gran desventaja de que es laborioso, y las células demoran entre una y tres semanas en crecer lo suficiente, además, para realizar un cariotipo fetal es necesario obtener metafases en suficiente cantidad y calidad, lo cual no siempre se logra con éxito.^{8,9}

No obstante, la bibliografía consultada coincide en que la etapa prenatal es el momento ideal para el diagnóstico de las cromosomopatías utilizando el cultivo celular, sin embargo, no se especifica la frecuencia de aparición de alteraciones numéricas en cada variedad del mismo.

En la actualidad es aceptado que los cultivos celulares inducen errores en la mitosis, por lo que esta investigación pretende caracterizar las variedades de cultivo de líquido amniótico para el diagnóstico prenatal citogenético de poliploidías.

OBJETIVOS

General:

Caracterizar las variedades de cultivo de líquido amniótico para el diagnóstico prenatal citogenético de poliploidías en el Centro Provincial de Genética Médica de Camagüey, en el periodo comprendido de noviembre de 2016 a abril de 2018.

Específicos:

1. Identificar el complemento cromosómico en el estudio citogenético prenatal.
2. Determinar características del complemento cromosómico en cada variedad de cultivo.
3. Identificar en cada variedad de cultivo el índice de mitosis y de poliploidías.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo transversal, con el objetivo de caracterizar las variedades de cultivo de líquido amniótico para el diagnóstico prenatal de poliploidías en el Centro Provincial de Genética Médica de Camagüey, en el periodo comprendido de noviembre de 2016 a abril de 2018.



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

La población objeto de estudio estuvo constituida por 1571 muestras útiles de líquido amniótico obtenidas por amniocentesis, de las gestantes evaluadas en la consulta multidisciplinaria del Servicio Provincial de Genética Médica con criterios clínicos de estudios cromosómicos, según los criterios establecidos para el Diagnóstico Prenatal Citogenético (DPC) y consintieron en la realización de la misma.

Se utilizaron 20 ml de líquido amniótico en la siembra de células, según técnicas de cultivos establecidas por el Centro de Genética Nacional con el medio de cultivo Amniomax. En todos los casos se realizaron las tinciones cromosómicas de rutina con bandas GTG, analizándose 10 a 15 metafases de los diferentes frascos de cultivos para identificar el complemento cromosómico.¹⁰

Se calcularon los siguientes índices:

Índice mitótico (IM): mide la actividad proliferativa celular directamente en la sección histológica elegida. Se refiere específicamente al número de células expresado como una fracción del total. Comúnmente se mide como número de mitosis por el número de campos que el investigador decida (10 campos). Se contabilizó el número de metafases encontradas en 2000 células sucesivas por 10 campos. Se evaluó con la siguiente fórmula:^{10,11}

$$IM = \frac{\text{Número de metafases}}{2\,000 \text{ células}} \times 100 \text{ en las muestras de líquido amniótico}$$

Índice de poliploidías (IP):

Mide la aparición de poliploidías directamente en la sección histológica elegida. Se refiere al número de células poliploides ($\neq 2n$) expresado como una fracción del total de células con complejo cromosómico normal ($= 2n$). Se evaluó con la siguiente fórmula:¹²

$$IP = \frac{\text{Número de células poliploides } (\neq 2n)}{\text{Total de células con complejo cromosómico normal } (=2n)} * 100$$

Los datos fueron procesados con el paquete estadístico *Statistical Package for Social Sciences*(SPSS) versión 21.0 para Windows, se utilizaron medidas de resumen para variables cualitativas y cuantitativas, los resultados se presentaron en tablas y gráficos estadísticos.



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

Resultados y discusión

La tabla 1 muestra que periodo analizado se estudiaron 1571 pacientes con riesgo prenatal de cromosomopatías, de las cuales con cariotipo normal 1478 (95 %), mientras que solo 93 (5,9 %) pacientes tuvieron alguna alteración citogenética del número de cromosomas.

Las cifras encontradas en el presente estudio coinciden con estudios realizados por V. Beatriz en España, en el año 2011, que reporta en una serie de 800 análisis citogenéticos en líquido amniótico por año, el 93 % de los casos el resultado con cariotipo normal y el resto (6 %) se encontraron alteraciones numéricas.¹⁰

En décadas pasadas se realizaron estudios que arrojaron resultados concluyentes en laboratorios de citogenética de Europa, Canadá, y Estados Unidos donde las alteraciones numéricas fluctúa en un rango entre 0,10 % al 0,30 % dentro de las alteraciones cromosómicas.⁸

Ribate Molina en la Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza y otros estudios en Costa Rica también coinciden en que las cromosomopatías numéricas tienen prevalencia sobre las estructurales, a pesar de su baja aparición en las poblaciones de estudio.^{9,13,14}

En La Habana en un periodo de 30 años, el citogenetista Méndez Rosado y su equipo, en el Instituto Nacional de Genética, realizó 22 835 diagnósticos prenatales en este periodo de tiempo, y obtuvo un índice de positividad general del 2,68 % con un bajo reporte de los defectos numéricos.¹⁵

En el Laboratorio de Citogenética del Centro Provincial de Genética Médica de Camagüey se han realizado múltiples estudios sobre alteraciones numéricas del complemento

cromosómico. En la investigación de Pimentel Benítez en un periodo de 20 años, sobre los resultados del diagnóstico prenatal citogenético, a partir de líquido amniótico obtuvo, que el 25,62 % eran aberraciones numéricas. El autor expone además el poco conocimiento que existe sobre este tema.⁷

Estos resultados se corresponden con los del presente estudio si se tiene en cuenta el periodo de tiempo analizado que es de varias décadas.



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

En la tabla 2 las células con cariotipo normal aparecieron con una frecuencia relativa del 97,70 %, mientras que solo se observaron 433 células poliploides en el cultivo directo que representan menos del 3 % de la muestra, de ellas las tetraploides se observaron en todos los frascos, para un 2,28 %, mientras que células triploides solo hubo 2 (0,01 %) en los frascos de cultivo 1 y 2.

Resultados similares son abordados en Argentina, por Aissa Delia en el Manual de Citogenética Teórico Práctico del 2015, el cual esboza que la aparición de células tetraploides suele ser común en las preparaciones a partir de líquido amniótico.¹⁶

Estos datos coinciden con el estudio realizado por las doctoras Castro I. y Jiménez J. en Costa Rica en el cual 3,97 % de las metafases de los cultivos de líquido amniótico son tetraploides, y se pueden encontrar en más de un frasco de cultivo.¹⁷

Investigaciones en Pinar del Río, Cuba obtuvieron similares resultados, las alteraciones en el número de cromosomas no pasaron del 4 % siendo las triploidías las más infrecuentes en la serie estudiada.⁶

El estudio realizado por García y Pimentel en Camagüey, sobre el fenotipo Mixoploide, refiere la baja frecuencia de poliploidías en los estudios prenatales y las triploidías son muy infrecuentes y son incompatibles con la vida del niño si el embarazo llega a su término.¹¹

A pesar de la coincidencia en los resultados en cuanto a la frecuencia de aparición de las poloploides no se encontró en la bibliografía examinada ningún estudio que aborde este tema según las técnicas de cultivo aplicadas.

En la tabla 3 se aprecia que el 95,84 % de las células tenían un cariotipo normal mientras que las poliploidías estuvieron confinadas a menos del 5 %, las triploidías con solo el 0,10 % y las

tetraploidías con 4,04 %. Estas alteraciones numéricas del complemento cromosómico aparecieron en todos los frascos de cultivo.

Estudios realizados por Castro Volio en Costa Rica, obtienen similares resultados, pero no los relacionan con las variantes de cultivo aplicadas. En esta investigación de 625 cariotipos fetales obtenidos, fueron normales 570 y solo 55 tuvieron alteraciones numéricas.¹⁸



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

Daniel A, Wu Z reportan datos coincidentes con los resultados de esta investigación. Exponen que las células tetraploides o triploides son muy infrecuentes, a pesar de realizarse estudios prenatales citogenéticos en muestras amplias y de varios años.¹⁹

Coinciden con esta investigación, la realizada en la Universidad de Zaragoza, España, donde se diagnosticó una triploidía en una serie de 12563 pacientes en un estudio prenatal. Al igual que lo reportado por International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research en el año 2011.^{20,21}

Las investigaciones de Gómez-Puente, en la Facultad de medicina y Hospital Universitario, UNAL y en el reporte realizado por International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research del 2015 coinciden en la aparición de células poliploides en cultivos celulares teniendo mayor frecuencia las triploidías.^{22,23}

En Cuba, Méndez Rosado reveló, que solo un 3,97 % de las metafases de los cultivos de líquido amniótico son tetraploides y se pueden encontrar en más de un frasco de cultivo.⁸

En Camagüey, los estudios citogenéticos tienen resultados similares a los obtenidos en esta investigación. En ellos se ha demostrado la baja frecuencia de estas alteraciones, por ejemplo, en 2014 Pimentel solo detectó un caso de alteración numérica del complemento cromosómico coincidiendo con el primer caso en Cuba de Mixoploide diploide/triploide, diagnosticado en el período prenatal.²⁴

Todos los estudios consultados coinciden en la frecuencia de aparición de células poliploides, sin embargo, en ninguno se establece relación con los tipos de cultivos utilizados pero coinciden en que pueden producir alteraciones en cualquier momento de la mitosis o por las condiciones de cultivo.

En el estudio del cultivo centrifugado, que se muestra en la tabla 4, las células tetraploides fueron las más frecuentes de las poliploidías, con el 2,96 % y aparecen en todos los frascos de cultivos, solo se observaron células triploides en el frasco 1 que representaron el 0,03 % del mismo. Los complementos cromosómicos con cariotipo normal fueron los más frecuentes aportando más el 97,27 % de la muestra.



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

Esa baja frecuencia de poliploidías no es reportada en México, por la Facultad de Medicina y Hospital Universitario, en un estudio de 7 años realizado por. Gómez-Puente y colaboradores. En él se muestra que dentro de las alteraciones cromosómicas estructurales la más frecuente fue la presencia de alteraciones numéricas las que correspondieron al 77 % de 249 muestras.²²

En Cuba, el grupo de investigaciones del Centro de Genética Nacional declara que en una serie de estudio en 10 676 diagnósticos prenatales citogenéticos analizados existieron bajos porcentajes con alteraciones numéricas solo el 0,04 %.²⁵

Si bien se han incrementado las investigaciones sobre este tema tanto en el ámbito internacional como en Cuba, en la bibliografía revisada no se encontraron estudios sobre diagnóstico de alteraciones cromosómicas relacionados con los tipos de cultivo.

La tabla 5 muestra los resultados del análisis citogenético en este estudio. En ella se refleja que en todos a los cultivos prevaleció el cariotipo normal siendo la variante expandida la de menor frecuencia con el 32,4 % y con menos figuras mitóticas (32,8 %). Se observa, además, que el mayor índice mitótico es de 9,6 en el cultivo centrifugado, y en la totalidad de las muestras de 9,3. En cuanto al índice de poliploidías en el cultivo directo fue de 2,3, mientras que en la variedad de cultivo expandido este índice alcanzó casi el doble (4,3). Al analizar este indicador de forma general el índice de poliploidías no sobrepasó un 3,2.

En varias publicaciones internacionales como Chen CP, en Taiwan y la Guía práctica de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, hacen referencia, al fenómeno de la endorreduplicación que puede surgir debido al cultivo en un medio artificial siempre por debajo del 3 % de las células en metafase, pero no al índice de poliploidías que pueden aparecer en los mismos.^{26,27}

Otros estudios en América como el de Silva en Colombia, y Garibay en México abordan las características del cultivo celular en el diagnóstico prenatal citogenético, pero no reflejan los índices de aparición de poliploidías en los cultivos.^{28,29}

Garibay en México y Saurat en Francia alegan la aparición de alteraciones numéricas en los cultivos celulares, pero no los índices de poliploidías.^{30,31,32}



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

Reyes y un grupo de investigadores, en Las Tunas, Cuba, realizaron un estudio citogenético durante seis años, en el cual las trisomías fueron las cromosomopatías numéricas más frecuentes.^{27,30}

Disímiles investigaciones en Cuba advierten que algunos cambios en la estructura, y en especial, el número de los cromosomas detectados durante el análisis citogenético, no están asociados con defectos clínicos, por lo que representan una disyuntiva para el asesor genético principalmente durante la realización de un estudio prenatal.^{30,31}

En la bibliografía analizada en esta investigación, no se hace referencia a estos índices en los cultivos de células del líquido amniótico solo a la frecuencia de células poliploides o con cariotipo normal. Esto apunta a la baja percepción que existe de este tema de ahí se infiere la insuficiente información sobre el mismo.

CONCLUSIONES

- Predominó el complemento cromosómico normal sobre alteraciones citogenéticas del número de cromosomas.
- El cariotipo normal predominó sobre las alteraciones numéricas, de las cuales, la tetraploidía fue la más frecuente, y prevaleció en el cultivo expandido.
- El índice mitótico fue similar en todas las variedades de cultivo, mientras que en el cultivo directo se presentó el más bajo índice de poliploidías.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Junqueira L, Carneiro J. Histología básica. 13ra ed. Barcelona: Masson, SA; 2013.
2. Méndez Rosado LA, Hernández Pérez G, Placencia Céspedes D, Quiñones Maza O, Barrios Martínez A, Suárez Mayedo U. Mosaicismo de aberraciones estructurales, incidencia y repercusión prenatal. Rev Cubana Genet Comunit. 2007; 1(1): 34-6.
3. Garrote Santana, Heidys et al. Cinco décadas de la biología molecular y la citogenética aplicadas a la hematología cubana. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2017, [citado 2020 Dic 19]; vol.33, n.1, pp.1-8. ISSN 0864-0289. Disponible <http://scielo.sld.cu/scieloOrg/php/reference.php?pid=S086402892017000100004&caller=scielo.sld.cu&lang=es>
4. Alfirevic Z1, Navaratnam K, Mujezinovic F. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. Cochrane Database Syst Rev. [Internet]. [citado 2020 abril 19] - February 3, 2020; 9.Disponible <https://www.clinicalkey.es/#!/content/medline/2-s2.0-28869276>



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

5. Carrasco Salas P, Gómez González C, Prior de Castro C, et al. Estudios genéticos en diagnóstico prenatal. Rev Lab Clin. [Internet]. [citado 2020 marzo 6] 2019;12(1):27—37 Disponible https://www.clinicalkey.es/service/content/pdf/watermarked/1-s2.0-S1888400818300850.pdf?locale=es_ES&searchIndex=
6. Blanco Pérez I, Mitjáns Torres MC, Miñoso Pérez S, Barroso Gázquez C, Socarrás Gámez A. Resultados en el diagnóstico prenatal citogenético en Pinar del Río. Rev Ciencias Médicas [Internet]. 2013 Nov-Dic [citado 2014 Dic 18]; 17(6): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpr/v17n6/rpr09613.pdf>
7. Pimentel Benítez H, García Borrego A, Martín Cuesta N, Alonso Barba Y, Torres Palacios M, Suárez Mayedo U. Diagnóstico Prenatal Citogenético en Camagüey. Resultados de 20 años. Rev Cubana Genét Comunit [Internet]. 2008 [citado 6 Oct 2016]; 2(3): [aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v2n3/PDFsInfomed/tgc07308.pdf>
8. Méndez Rosado LA, Quiñones Maza O. Diagnóstico prenatal citogenético mediante cultivo de amniocitos. Rev Genét Comunt [Internet]. 2009 [citado 22 Oct 2016]; 3(1): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://www.bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v3n1/pdf/rcgc030109.pdf>
9. Malespín-Bendaña W, Ortiz-Morales F, Castro-Volio I. Diagnóstico molecular de cromosomopatías fetales en Costa Rica. Acta Méd Costarric [Internet]. 2009 Oct-Dic [citado 22 Oct 2016]; 51(4): [aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/434/43419241009.pdf>

Esquivel Vázquez B. Valoración epidemiológica de 10.264 estudios citogenéticos prenatales y contribución de las técnicas de Biopsia Corial y FISH a su diagnóstico [Tesis]. Canarias: Universidad de la Laguna; 2010/11 [citado 22 Mar 2016]. Disponible en:

<https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/3395/Beatriz%20Esquivel%20V%C3%A1zquez.pdf?sequence=1>

10. Esquivel Vázquez B. Valoración epidemiológica de 10.264 estudios citogenéticos prenatales y contribución de las técnicas de Biopsia Corial y FISH a su diagnóstico [Tesis]. Canarias: Universidad de la Laguna; 2010/11 [citado 22 Mar 2016]. Disponible en:
<https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/3395/Beatriz%20Esquivel%20V%C3%A1zquez.pdf?sequence=1>
11. Garcia Salazar AA, Pimentel Benítez H, et al. Resultados del Diagnóstico prenatal citogenético en Camagüey, en el periodo 1986-2015 [Internet]. 2017 [citado 20 de Jul 2017]. Disponible en:
<http://www.tecnosaludcmw2017.sld.cu/index.php/socoenf/tecnosalud2017/paper/viewFile/91/54>
12. Soriano Torres M, Morales Rodríguez E, Barrios Martinez A, Mendez Rosado LA, Garcia Gomez D, Gonzalez Garcia D, et al. Manual para la calidad en el diagnóstico citogenético. Versión 1. 2009. La Habana: Centro Nacional de Genetica Medica; 2009.
13. Castro Volio I, Sander Mangel K, Vargas Prado M, Sánchez Chaves L, Escalante Lopez G. Diagnóstico prenatal citogenético mediante amniocentesis durante los trimestres II y III de gestación en Costa Rica. Rev biol trop [Internet]. 2001 [citado 22 Mar 2016]; 49(34):



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

[aprox. 9 p.]. Disponible en:

http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442001000300044

14. Ribate Molina MP, Ramos Fuentes FJ. Diagnóstico prenatal [Tesis]. Zaragoza: Universidad de Zaragoza; 2015 [citado 22 Mar 2016]. Disponible en:
http://riberdis.cedd.net/bitstream/handle/11181/2965/Diagnostico_prenatal.pdf?sequence=1
15. Méndez Rosado L, Morales Rodriguez E, Quiñones Maza O, Barrios Martinez A, Oliva Rodriguez JA, Nodarse Rodriguez A, et al. Aniversario 30 del diagnóstico prenatal citogenético en La Habana. Rev Cubana Genet Comunit [Internet]. 2014 [citado 22 Mar 2016]; 8(3): [aprox. 4. p.]. Disponible en:
<http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v8n3/020314.pdf>
16. Aiassa D, Bosch B, Gentile N, Mañas F, Gorla N, et al. Citogenética. Teoría y Práctica. Manual. Córdoba: CEPYD; 2015.

17. Castro Volio I. El diagnóstico prenatal de defectos cromosómicos en Costa Rica. Rev Biol Trop [Internet]. 2004 Sep [citado 5 Mar 2016]; 52(3): [aprox. 4 p.]. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/15297/14617>
18. Castro Volio I. Diagnóstico prenatal citogenético mediante amniocentesis durante los trimestres II y III de gestación en Costa Rica. Rev. Biol. Trop[Internet] San José Dic.2001[citado 5 Mar 2016];49(3) [aprox. 4 p.]. Disponible en: <https://mail.yandex.ru/compose?mailto=rbt%40biologia.ucr.ac.cr>
19. Daniel A, Wu Z, Bennetts B, Slater H, Osborn R, Jackson J, et al. CKaryotype, phenotype and parental origin in 19 cases of triploidy. Prenat Diagn. 2001 Dec; 21(12): 1034-48.
20. International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research. Annual Report 2011. [Internet] ICBDSR Center; 2011 [citado 5 Mar 2018] [aprox. 4 p.].Disponible en: <http://www.icbdsr.org/wp-content/annual-report/Report2011.pdf>
21. Gómez-Puente VM, Esmer Sanchez MC, Quezada Espinoza C, Martinez de Villareal LE. Estudio citogenético en líquido amniótico, Experiencia de 7 años en la Facultad de Medicina y Hospital Universitario, UANL. Medic Univers [Internet]. 2012 Ene [citado 5 May 2017]; 14(54): [aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/en-revista-medicina-universitaria-304-articulo-estudio-citogenetico-liquido-amniotico-experiencia-X1665579612234352>
22. International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research. Annual Report 2014-2015. [Internet] ICBDSR Center; 2015 [citado 5 Mar 2018] [aprox. 4 p.].Disponible en:http://www.icbdsr.org/wp-content/annual_report/Report2014.pdf
23. Pimentel Benítez HI, Arrieta Garcia R, Lantigua Cruz A, Lechuga Carbo G, Trull Martinez A. Mixoploides humanos: su fenotipo clínico. Experiencia en Cuba y revisión de la literatura. Rev Cubana Genet Comunit [Internet]. 2015 [citado 22 Mar 2017]; 9(2): [aprox. 5 p.]. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v9n2/050215.pdf>
24. Soriano-Torres M, Morales Rodríguez E, Rojas Betancourt I, Méndez Rosado LA. Variantes de la heterocromatina y la eucromatina en el diagnóstico prenatal citogenético. Rev Cubana



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

Obstet Ginecol [Internet]. 2014 Mar [citado 10 Abr 2018]; 40(1): [aprox. 9 p.]. Disponible en: http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2014000100009&lng=es.

25. Chen CP, Lin CL, Ko TM, Chern SR, Chen YT, Wu PS, et al. Interphase FISH on uncultured amniocytes at repeat amniocentesis for rapid confirmation of low-level mosaicism for tetrasomy 18p. Taiwan J Obstet Gynecol [Internet]. 2014 Mar

- [citado 18 Ago 2016]; 53(1): [aprox. 3 p.]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/82656631.pdf>
26. Grupo de trabajo de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). Guía de práctica clínica: Diagnóstico prenatal de los defectos congénitos. Cribado de anomalías cromosómicas. Diagnóstico Prenatal [Internet]. 2013 Abr-Jun[citado 1 Jun 2016]; 24(2): [aprox. 20 p.]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-diagnostico-prenatal-327-articulo-guia-practica-clinica-diagnostico-prenatal-S2173412712001059>
 27. Silva Ospina E, Giraldo Ríos A, José Bermúdez A. Diagnóstico prenatal citogenético: líquido amniótico versus vellosidades coriónicas. Rev Col Obst Ginec [Internet]. 2014 [1 Jun 2016]; 48(3). Disponible en: <https://revista.fecolsog.org/index.php/rcog/article/viewFile/1190/1318>
 28. Garibay García J. Intercambio de cromátides hermanas inducidos por el tratamiento en pacientes con cáncer de mama [Tesis]. Mexico: Universidad Autonoma del Estado de Mexico; 2013 Mar [citado 22 Mar 2017]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14374/407856.pdf?sequence=1>
 29. Saurat JH, Grosshans E, Laugier P, Lachapelle JM, Lipsker D, Lacour JP, et al. Génodermatoses et Dermatologie Malformations. 4 ed. Paris: Masson; 2004
 30. Reyes Reyes E, Silva González GK, Ochoa Hidalgo A, Rodríguez Peña Y, Figuera Regueiro A. Resultados de seis años de estudios citogenéticos en líquido amniótico. Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta [Internet]. 2015 [citado 2020 Mar 5];40(11):[aprox. 0 p.]. Disponible en: <http://www.revzoilomarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/369>
 31. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Salud 2017. La Habana: Dirección de Registros Médicos y Estadística de Salud [Internet]. 2018 [citado 22 Abr 2017]. Disponible en: <http://files.sld.cu/dne/files/2018/04/Anuario-Electronico-Espa%C3%B1ol-2017-ed-2018.pdf>
 32. Ping Chen Ch, Kuo Yu-L, Chern Schu-R, et al. Prenatal diagnosis of low-level mosaic trisomy 20 by amniocentesis in a pregnancy with a favorable outcome. Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology [Internet]. 2020 [citado 2020 Mar 6]; 59 327-330 Disponible en: https://www.clinicalkey.es/service/content/pdf/watermarked/1-s2.0-S1028455920300267.pdf?locale=es_ES&searchIndex=



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

Anexos

Tabla 1. Identificación del complemento cromosómico en los estudios citogenéticos prenatales.

Complemento	Años			Total
	2016	2017	2018	

cromosómico	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Cariotipo normal	276	93,5	603	96,2	599	96,1	1478	95
Alteraciones numéricas	19	6,4	48	7,3	26	3,8	93	5,9
Total	295	100	651	100	623	100	1571	100

Fuente: Registro Provincial de Estudios Citogenéticos

Tabla 2. Características del complejo cromosómico según frascos de cultivo en la variedad de cultivo directo.

Complemento cromosómico	Cultivo directo							
	Frasco Nº 1		Frasco Nº 2		Frasco Nº 3		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Cariotipo normal	6162	97,32	5868	97,68	6399	98,05	18429	97,70
Células Triploides	1	0,01	1	0,01	0	0	2	0,01
Células Tetraploides	166	2,62	138	2,29	127	1,94	431	2,28
Total	6329	100	6007	100	6526	100	18862	100

Fuente: Registro Provincial de Estudios Citogenéticos.

Tabla 3. Características del complejo cromosómico según frascos de cultivo en la variedad de cultivo expandido.

Complemento cromosómico	Cultivo expandido							
	Frasco 1		Frasco 2		Frasco3		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Cariotipo normal	5709	94,75	5978	96,60	6182	96,12	17869	95,84
Células Triploides	8	0,13	7	0,11	5	0,07	20	0,10
Células Tetraploides	308	5,11	203	3,28	244	3,79	755	4,04
Total	6025	100	6188	100	6431	100	18644	100

Fuente: Registro Provincial de Estudios Citogenéticos.



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas

V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal

Tabla 4. Características del complejo cromosómico según frascos de cultivo en la variedad de cultivo centrifugado.

Complemento cromosómico	Cultivo centrifugado							
	Frasco 1		Frasco 2		Frasco3		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Cariotipo normal	5835	96,12	6016	97,04	6903	97,7	18804	97,27
Células Triploides	2	0,03	0	0	0	0	2	0,01
Células Tetraploides	233	3,83	183	2,95	158	2,23	574	2,96
Total	6070	100	6199	100	7061	100	19330	100

Fuente: Registro Provincial de Estudios Citogenéticos.

Tabla 5. Análisis citogenético según variedad de cultivo aplicada.

Técnica de Cultivos	Análisis citogenético								
	Total de Células		Metafasas		Cariotipo normal		Índice Mitótico	Poliploi-días	Índice Poliploi-días
	Nº	%	Nº	%	Nº	%			
Directo	299161	32,7	18862	33,1	18429	33,4	9,4	433	2,3
Centrifugado	304702	33,3	19330	34,0	18804	34,1	9,6	576	3,0
Expandido	310423	33,9	18644	32,8	17869	32,4	9,3	775	4,3
Total	914286	100	56836	100	55102	100	9,3	1784	3,2

Fuente: Registro Provincial de Estudios Citogenéticos