



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ANÁLISIS CITOGENÉTICO EN PACIENTES CON  
ANTECEDENTES DE INFERTILIDAD DE LA CLÍNICA DE  
REPRODUCCIÓN ASISTIDA MÉDICA FÉRTIL”**

**TESIS INDIVIDUAL**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

**DONAJI MORA LANDA**

DIRIGIDA POR

**M. en C. ANNA BERENICE JUÁREZ ESPINOSA**

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2008.

No. Adq. H7200G

No. Título \_\_\_\_\_

Clas B

572.8

4827a

\_\_\_\_\_

R

F



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ANÁLISIS CITOGENÉTICO EN PACIENTES CON  
ANTECEDENTES DE INFERTILIDAD DE LA CLÍNICA DE  
REPRODUCCIÓN ASISTIDA MÉDICA FÉRTIL”**

**TESIS INDIVIDUAL**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

DONAJI MORA LANDA

DIRIGIDA POR

M. en C. ANNA BERENICE JUÁREZ ESPINOSA

**SINODALES**

M. en C. ANNA BERENICE JUÁREZ ESPINOSA \_\_\_\_\_  
DIRECTORA

Dra. MARÍA GUADALUPE GARCÍA ALCOCER \_\_\_\_\_  
SINODAL

Dra. LAURA CRISTINA BERUMEN SEGURA \_\_\_\_\_  
SINODAL

M. en C. ISIDRO RESÉNDIZ LÓPEZ \_\_\_\_\_  
SINODAL

## Dedicatorias:

A mis padres que me apoyaron en todo momento y me dieron su confianza para lograrlo, muchas gracias.

A mis compañer@s y amig@s de generación que me dieron su apoyo en algún momento de este largo camino, pero en especial a Paty por su amistad y apoyo incondicional.

Al laboratorio Genédica por el apoyo brindado para la realización de éste proyecto.

A las compañeras del laboratorio de Genédica que de alguna manera ayudaron en este trabajo.

Y a todas las personas que cruzaron por mi camino durante esta etapa.

A todos muchas gracias.

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1 Desarrollo de la citogenética	3
II.2 Cromosomas	7
II.2.1 Morfología y clasificación de los cromosomas humanos	8
II.2.2 Ciclo celular	12
II.2.3 Mitosis	15
II.2.4 Meiosis	17
II.2.4.1 Espermatogénesis y ovogénesis	20
II.2.5 Anormalidades cromosómicas	21
II.2.5.1 Alteraciones en el número de cromosomas	22
II.2.5.2 Alteraciones cromosómicas estructurales	25
II.2.6 Variantes normales o heteromorfismos	31
II.2.7 Origen de anormalidades cromosómicas	31
II.2.7.1 Individuos con rearrreglos balanceados	32
II.2.7.2 Individuos con aneuploidías	33
II.2.7.3 No segregación	33
II.2.7.3.1 Predivisión de cromátidas, Hipótesis de Angell	33
II.2.7.3.2 Causas de no segregación	35

II.2.7.3.3 No segregación en mitosis	35
II.2.7.3.4 No segregación en meiosis	36
II.3 Cromosomas e infertilidad	37
II.3.1 Cariotipos asociados con infertilidad	38
II.3.1.1 Síndrome de Klinefelter (47,XXY)	38
II.3.1.2 Varones 47,XYY	38
II.3.1.3 Síndrome de Turner	39
II.3.1.4 47,XXX	39
II.3.1.5 Síndrome de Down (trisomía 21)	40
II.3.1.6 Infertilidad por translocaciones	40
II.3.1.7 Infertilidad por inversiones	41
II.3.1.8 Cromosomas marcadores o supernumerarios	43
III. HIPÓTESIS	45
IV. OBJETIVOS	46
IV.1 General	46
IV.2 Especificos	46
V. METODOLOGÍA	47
V.1 Materiales	47
V.2 Método	50
V.2.1 Cariotipo en sangre periférica	50
V.2.1.1 Recolección de muestra	50
V.2.1.2 Siembra	50
V.2.1.3 Cosecha	51
V.2.1.4 Laminillas	51
V.2.1.5 Bando G	52
V.2.1.6 Análisis	53

VI. RESULTADOS	54
VII. DISCUSIÓN	87
VIII. CONCLUSIONES	97
IX. ANEXO I	98
X. BIBLIOGRAFÍA	99

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Grupos cromosómicos y su descripción	11
2	Pacientes con diagnóstico de pérdida repetida de la gestación	55
3	Pacientes con espermatobioscopía alterada	63
4	Pacientes varones con diagnóstico de infertilidad idiopática	79
5	Pacientes mujeres con diagnóstico de infertilidad idiopática	82
6	Pacientes con factor físico de infertilidad	85
7	Frecuencia de cariotipos alterados encontrados	86
8	Características de los pacientes con Síndrome de Klinefelter	90
9	Características de los pacientes con translocaciones recíprocas	93
10	Características de pacientes con alteraciones en el cromosoma 9	95



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Cromosomas vistos por Tjio y Levan en 1956	4
2	Bandeo Q (quinacrina) realizado por Caspersson en 1968	5
3	Ideograma de bandas G	7
4	Esquema de la morfología de un cromosoma	9
5	Clasificación de los cromosomas humanos según la posición del centrómero	10
6	Clasificación de los cromosomas humanos	12
7	Diagrama del ciclo celular	14
8	Célula en metafase, tercera fase de la mitosis	16
9	Entrecruzamiento (crossing-over)	18
10	Esquema de la meiosis	19
11	Espermatogénesis y oogénesis	21
12	Constitución de un individuo con células en mosaico	23
13	Modelos de la no segregación cromosómica durante la meiosis	24
14	Formación de mosaicos por falla en la segregación durante la mitosis en cigotos	25
15	Representación de una deleción en el cromosoma 5	26
16	Ejemplo de una duplicación en el cromosoma 16	27
17	Representación de una inversión en el cromosoma 18	28
18	Ejemplo de una translocación entre los cromosomas 4 y 8	29
19	Cromosoma X en anillo	30
20	Isocromosoma X	31
21	Hipótesis de Angell	34
22	Apareamiento y segregación de cromosomas con translocación recíproca en meiosis	41
23	Apareamiento y segregación de cromosomas con inversión paracéntrica	42

24	Apareamiento y segregación de cromosomas con inversión pericéntrica	43
25	Cariotipo normal femenino	56
26	Cariotipo normal masculino	56
27	Metafase representativa del caso 52-05	57
28	Cariotipo de translocación recíproca t(6;13)	58
29	Metafase representativa del caso 115-05	59
30	Cariotipo con translocación recíproca t(8;18)	60
31	Metafase representativa del caso 165-05	61
32	Cariotipo con duplicación de material genético 9qh+	62
33	Metafase representativa del caso 08-05	65
34	Cariotipo del caso 08-05	66
35	Metafase representativa del caso 118-05	67
36	Cariotipo del caso 118-05	68
37	Metafase representativa del caso 13-06	69
38	Cariotipo del caso 13-05	70
39	Metafase representativa del caso 15-06	71
40	Cariotipo con translocación recíproca t(2;4)	72
41	Metafase representativa del caso 28-06	73
42	Cariotipo del caso 28-06	74
43	Metafase representativa del caso 40-06	75
44	Cariotipo con translocación recíproca t(1;17)	76
45	Metafase representativa del caso 79-07	77
46	Cariotipo del caso 79-07	78
47	Metafase representativa del caso 52-07	80
48	Cariotipo con inversión pericéntrica inv(9)	81
49	Metafase representativa del caso 124-05	83
50	Cariotipo del caso 124-05	84

## ABREVIATURAS

ATP	Adenosín trifosfato
aprox.	Aproximadamente
°C	Grados Celsius
Cat	Catálogo
CO <sub>2</sub>	Bióxido de carbono
del	Delección
der	Cromosoma derivativo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dup	Duplicación
FISH	Hibridación in situ fluorescente
FIV	Fertilización in vitro
HMR	Huevo muerto retenido
hrs	Horas
i	Isocromosoma
IAH	Inseminación artificial homologa
ICSI	Inyección intracitoplasmática del esperma
IUI	Inseminación intrauterina
Inf	Infertilidad
inv	Inversión
KCl	Cloruro de potasio
M	Molar
mar	Cromosoma marcador
mL	Mililitros
mM	Milimoles
mm	Milímetros
NaCl	Cloruro de Sodio
PBS	Buffer salino de fosfatos
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PGD	Diagnóstico prenatal

PRG	Pérdida repetida de la gestación
r	Anillo
rpm	Revoluciones por minuto
t	Translocación
µg	Microgramos
µL	Microlitros

## **RESUMEN**

La infertilidad es la incapacidad de concebir después de un año de relaciones sexuales sin protección. La infertilidad puede ser causada por problemas hormonales, edad avanzada, exceso de ejercicio, problemas fisiológicos, obesidad, entre otros. Se ha asociado con genotipos específicos y algunas anomalías genéticas a nivel cromosoma. Las alteraciones cromosómicas más frecuentes en pacientes con antecedentes de infertilidad involucran principalmente a los cromosomas sexuales, las translocaciones y las inversiones. Con el surgimiento de las técnicas de reproducción asistida el estudio citogenético ha sido de gran importancia para un mejor diagnóstico y tratamiento de los pacientes. En este trabajo se analizaron pacientes con antecedentes de infertilidad de la clínica de reproducción asistida Médica Fértil, realizándoles un estudio citogenético (cariotipo) determinando la frecuencia de alteraciones cromosómicas en este grupo de pacientes. Los cariotipos se realizaron en sangre periférica, obteniendo células en metafase a partir de cultivos celulares de linfocitos. En nuestra población se identificaron alteraciones cromosómicas tanto numéricas como estructurales que permitieron identificar la etiología de la falla reproductiva, de tal manera que el médico pudiera dar un diagnóstico genético específico a cada pareja.

## I. INTRODUCCIÓN

Existen diversos organismos vivos y cada uno tiene la capacidad de reproducirse, las plantas producen más plantas, los animales dan origen a más animales y los humanos también se reproducen, las características que se obtienen durante este proceso se conoce como herencia.

Se tuvo conocimiento hasta el siglo XIX que los caracteres que se transmiten de padres a hijos los hacen por medio de genes, que son las unidades de la herencia. Al revisar las células en el microscopio fue posible ver los cromosomas que son los vehículos de los genes.

Cada especie tiene una constitución y número específico de cromosomas. A la clasificación y acomodo de los cromosomas en grupos se le llama cariotipo. Varios investigadores trabajaron en técnicas que permitieran identificar y clasificar de manera individual cada uno de los cromosomas contenidos en las células humanas, desarrollaron tinciones que pudieran diferenciar los cromosomas y así obtuvieron el cariotipo humano: los 22 pares autosómicos clasificados en los siete grupos y el par sexual. Cuando esta constitución cromosómica esta alterada se producen enfermedades como el síndrome de Down, síndrome de Turner y el síndrome de Klinefelter.

Las técnicas de tinción utilizadas permitieron obtener patrones de bandas característicos para cada cromosoma, lo que contribuyó a una mejor resolución para la identificación de alteraciones cromosómicas como las translocaciones, deleciones, inversiones, inserciones, duplicaciones, marcadores y anillos. Al realizar un análisis citogenético en pacientes con antecedentes de infertilidad se observan alteraciones cromosómicas relacionadas con la infertilidad que presentan. Al analizar nuestros datos de pacientes con este diagnóstico, tanto en varones

como en mujeres, se observó que un 10.6% de estos individuos presentaban alteraciones cromosómicas estructurales y/o numéricas.

Dentro de las que destacan en varones son el síndrome de Klinefelter y las translocaciones; y en mujeres las translocaciones y los polimorfismos de cromosoma 9. El evidenciar estas alteraciones cromosómicas en las parejas, permite dar un diagnóstico y tratamiento más certero y específico dependiendo de la alteración identificada.

## II. ANTECEDENTES

### II.1 DESARROLLO DE LA CITOGENÉTICA

La citogenética es la rama de la genética que estudia los componentes de la célula implicados en la herencia; fundamentalmente la estructura, función y origen de los cromosomas. Dentro del núcleo de cada célula, el material genético o DNA (por sus siglas en inglés, deoxyribonucleic acid) está empaquetado con varias proteínas formando estructuras llamadas cromosomas.

La investigación de los cromosomas ha estado en curso por más de un siglo. Los cromosomas fueron vistos por primera vez en el siglo XIX. Desde su descubrimiento se pensó que estos cuerpos, que se tiñen intensamente y aparecen en el núcleo de las células en división eran el material de herencia. La palabra cromosoma es una combinación de palabras griegas que significan cuerpos coloreados. Originalmente se creía que el número de cromosomas en los humanos era de 48. El número exacto de cromosomas en células somáticas fue finalmente determinado por Tjio y Levan en 1956, que desarrollaron mejores técnicas para el análisis de los cromosomas, usando cultivos de células de tejido de pulmón fetal (ver Figura 1). Ford y Hamerton (1956), examinaron cromosomas meióticos y contaron 46 cromosomas en metafases de espermatocitos. Ambos grupos de investigadores demostraron que el número correcto de cromosomas era de 46.

En 1959 se dio la primera demostración de la correlación genotipo-fenotipo, cuando Jérôme Lejeune y colaboradores descubrieron un cromosoma de más en pacientes con Síndrome de Down y fue seguido en poco tiempo por el reconocimiento y la asociación de otros síndromes con números cromosómicos anormales. Con el surgimiento de varias técnicas de tinción en los años 70's para la identificación cromosómica, surge la citogenética y a la fecha, se conoce una gran cantidad de



información acerca del papel de los cromosomas en las enfermedades humanas (Gartler, 2006; Harper, 2006; Rooney, 2001; Verma y Babu, 1995).

Los avances en la citogenética humana han dependido en gran medida de factores técnicos, como la disponibilidad de tejido apropiado que contenga un número adecuado de células con el potencial para dividirse, el uso de mitógenos para estimular a las células para dividirse y el tratamiento con soluciones para obtener un rompimiento de membrana y por lo tanto una mejor dispersión de los cromosomas, aumentando el número de metafases analizables. La caracterización individual de los cromosomas fue una ardua tarea y la clasificación de estos en grupos fue un logro importante, gracias a ello se identificaron cromosomas que sufrían modificaciones en su estructura (alteraciones estructurales).

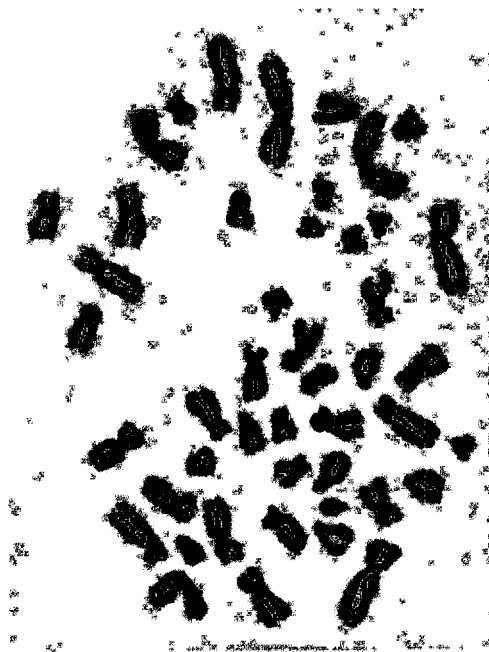


Figura 1. Cromosomas vistos por Tjio y Levan en 1956. Se observa una metafase con los 46 cromosomas humanos, demostrando así por primera vez el número correcto en cada célula (Gartler, 2006).

Los métodos convencionales de tinción con aceto-orceína no eran los adecuados para poder distinguir estas alteraciones. Varias investigaciones a principios de los 60's, intentaron identificar los cromosomas individualmente por técnicas de autoradiografía. Sin embargo, ni la morfología de los cromosomas, ni la autoradiografía permitieron identificar a los cromosomas de manera correcta. Casperson y su grupo de investigadores describió la tinción de cromosomas por "quinacrina mostaza", una técnica que ellos llamaron "bandas-Q", porque los cromosomas eran diferenciados por regiones claras y oscuras, denominadas bandas (ver Figura 2). Esta técnica permitió la caracterización de anomalías estructurales, y alentó a muchos genetistas a estudiar los mecanismos involucrados en el bandeo de cromosomas. Consecuentemente muchos más procedimientos de tinción han sido descritos hasta el momento (Caspersson y col., 1968; Verma y Babu, 1995).

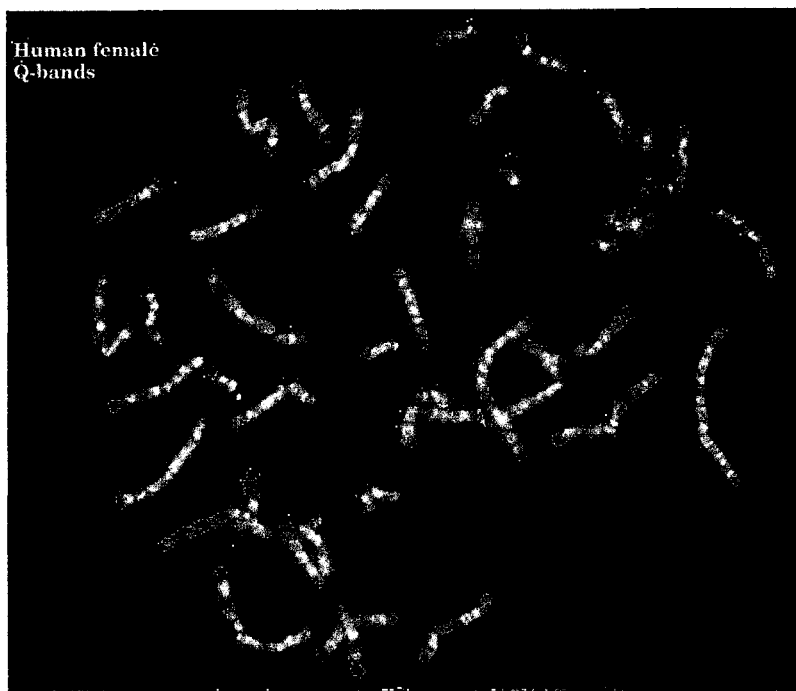


Figura 2. Bando Q (quinacrina). Los cromosomas se observan con regiones claras y oscuras llamadas bandas. (Rooney, 2001).

Hoy en día, para el análisis de los cromosomas se utilizan técnicas de tinción por bandeado. Estas tinciones dan patrones de bandas a los cromosomas que permiten diferenciar un par de otro. Entre las técnicas de tinción con bandeado se encuentran las tinciones con quinacrina (bandas-Q), Giemsa (bandas-G) o Leishman (bandas-R). Todas estas técnicas producen patrones de bandas que se pueden comparar y complementar entre ellos.

Los laboratorios de diagnóstico citogenético basan sus resultados en el análisis de cromosomas bandeados, con niveles de resolución de 350 – 650 bandas por par de cromosomas. La mayoría utiliza bandas-G como principal técnica y las combinan con otros métodos de tinción para obtener mejor diferenciación de bandas. Existen diferentes métodos para obtener estas bandas, la más utilizada es tratando las preparaciones de células con una proteasa llamada tripsina o con una sal de citrato. Los patrones de bandas que se obtienen reflejan la composición estructural y funcional de los cromosomas (ver Figura 3) (Rooney, 2001).

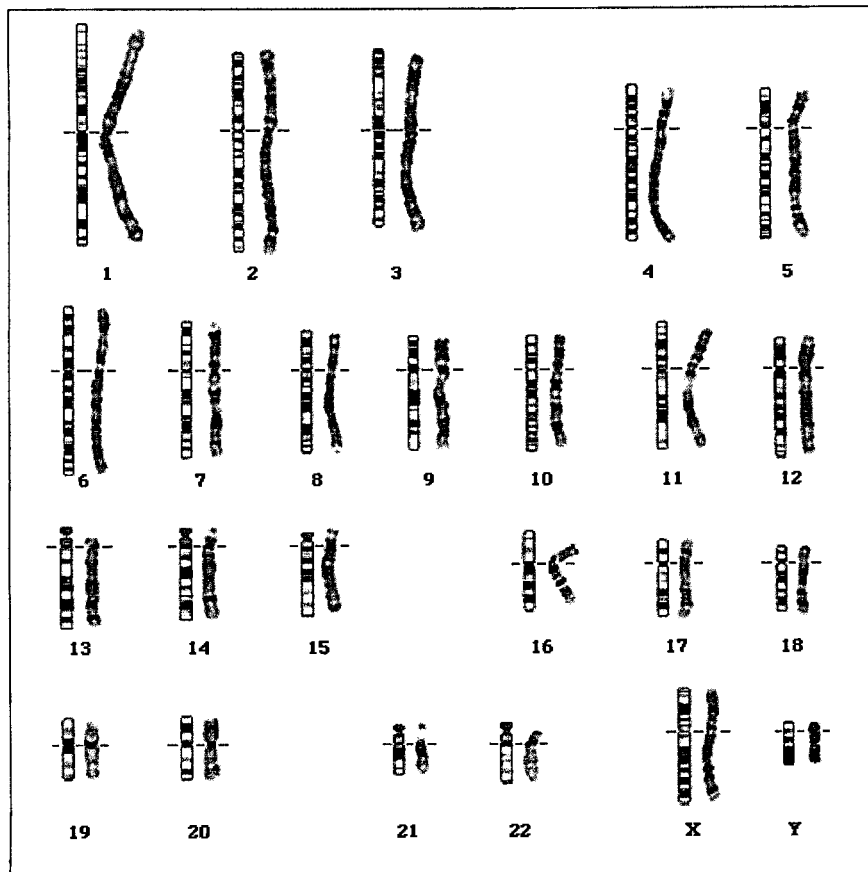


Figura 3. Ideograma de bandas G. Se muestra el ideograma de bandas G para cada cromosoma seguido de la imagen de un cromosoma para hacer la comparación de bandas (Herráez, 2002).

## II.2 Cromosomas

Antes de que los biólogos conocieran la estructura del DNA, se había reconocido que los genes estaban dentro de los cromosomas, descubiertos como estructuras filiformes del núcleo de la célula eucariota y que se hacen visibles cuando la célula comienza a dividirse. Cuando los análisis bioquímicos fueron posibles, se encontró que los cromosomas consistían de DNA y proteínas. El DNA contiene la información hereditaria de la célula, y las proteínas empaquetan, controlan y

protegen a las moléculas de DNA formando así a los cromosomas (Alberts y col., 2002).

El genoma humano contiene largas cadenas de DNA, estas moléculas contienen en su estructura la información genética necesaria para dirigir todos los aspectos de la embriogénesis, desarrollo, crecimiento, metabolismo y reproducción, esencialmente todo lo que hace a un humano un organismo funcional. El genoma contiene un estimado de 30,000 a 40,000 genes que son las unidades de la información genética. Dentro de cada célula el genoma se empaqueta como cromatina, donde el DNA está combinado con diversas clases de proteínas cromosomales. Algunas de estas proteínas tienen funciones estructurales, mientras otras sirven para regular la expresión de genes. Visto al microscopio la cromatina se encuentra distribuida en el núcleo con una apariencia homogénea, pero cuando la célula se divide, ese material se condensa dentro del núcleo hasta formar lo que denominamos cromosomas (Alberts y col., 2002; Nussbaum y col., 2001).

### II.2.1 Morfología y clasificación de los cromosomas humanos

Los cromosomas se ven fácilmente durante la mitosis debido a su compactación. Estas estructuras tienen un tamaño y una forma característica. Cada cromosoma tiene una región delgada o constreñida, llamada centrómero, dos brazos que se encuentran unidos al centrómero y los extremos que se denominan telómeros (ver Figura 4) (Gardner y Sutherland, 2004; Guízar, 2001; Klug y Cummings, 1999).

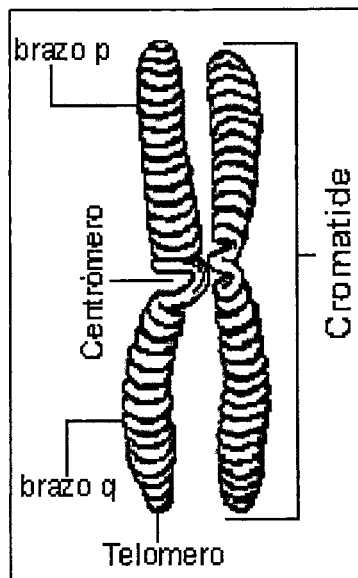


Figura 4. Esquema de la morfología de un cromosoma. La estructura de un cromosoma consta de dos cromátidas, un centrómero, dos brazos unidos al centrómero y los extremos de los brazos se llaman telómeros (modificado de Guízar, 2001).

De acuerdo con la nomenclatura citogenética, el brazo corto se designa como *p* (de petit o pequeño) y el brazo largo se determina *q* (por ser la letra siguiente en el alfabeto). La forma de los cromosomas se define por la posición del centrómero, si el centrómero se encuentra en el centro del cromosoma, se denomina metacéntrico; si la posición del centrómero es más o menos central, el cromosoma se denomina submetacéntrico, y cuando el centrómero ocupa una posición subterminal, el cromosoma se denomina acrocéntrico. Finalmente si el centrómero ocupa una posición totalmente terminal, el cromosoma se llama telocéntrico (ver Figura 5). Además de constricción primaria o centrómero, algunos cromosomas tienen una constricción secundaria. La porción de cromosoma al otro lado de la constricción secundaria se llama satélite (cromosomas acrocéntricos) (Puertas, 1999; Klug y Cummings, 1999).

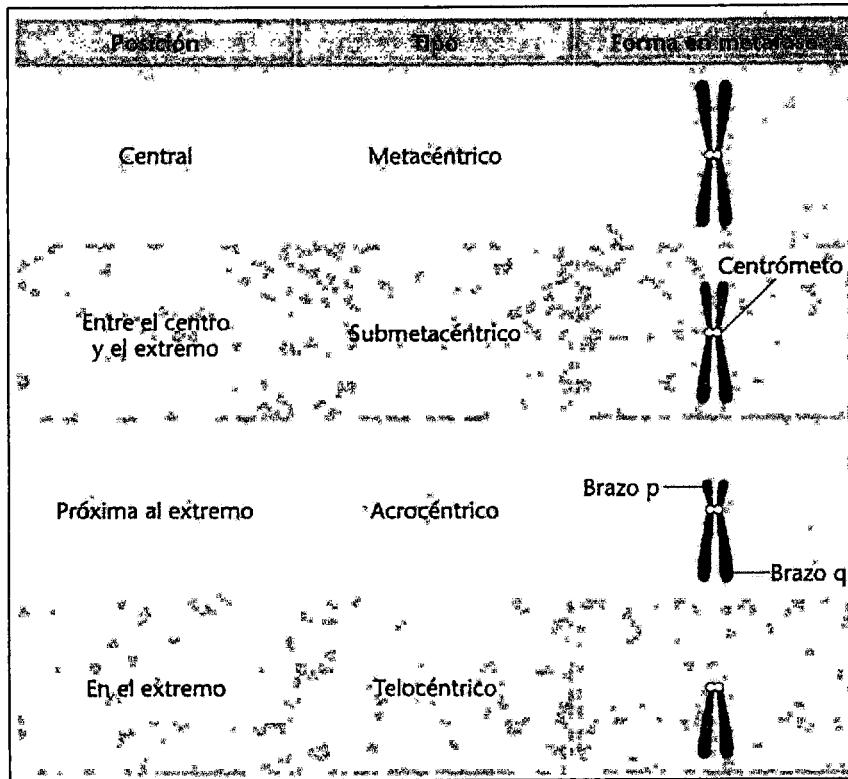


Figura 5. Clasificación de los cromosomas según la posición del centrómero. Dependiendo de la posición del centrómero los cromosomas pueden ser metacéntricos, submetacéntricos, acrocéntricos o telocéntricos (modificado del Klug y Cummings, 1999).

Cada especie tiene un complemento cromosómico característico: un número de cromosomas y morfología, al cual se le denomina cariotipo. El humano tiene 46 cromosomas, distribuidos en 23 pares, donde un cromosoma de cada par proviene de la madre y el otro del padre. De los 23 pares, 22 pares de cromosomas son autosómicos, y tienen la misma morfología tanto en hombre como en mujeres, y el par restante es el par sexual, las mujeres tienen dos cromosomas X y los varones tienen un cromosoma X y un cromosoma Y (Figura 6) (Guízar, 2001; Nussbaum y col., 2001).

Los cromosomas humanos se han ordenado en siete grupos, que se designan por letras, de la A a la G, y que se describen en el cuadro 1.

Cuadro 1. Grupos cromosómicos y su descripción (Guízar, 2001).

Grupo	Descripción
Grupo A	Incluye los pares 1, 2 y 3 que son los cromosomas más grandes del cariotipo. El 1 y 3 son metacéntricos, mientras que el 2 es submetacéntrico.
Grupo B	Pares 4 y 5, que son submetacéntricos, y de menor tamaño que los del grupo A.
Grupo C	Pares del 6 al 12, submetacéntricos todos y más pequeños que los del grupo B, y por su tamaño se incluye en este grupo al cromosoma X.
Grupo D	Pares 13, 14 y 15 son acrocéntricos y más pequeños que los del grupo C.
Grupo E	Pares 16, 17 y 18 son submetacéntricos, pero el 16 tiene su centrómero un poco más hacia el centro. Son de menor tamaño que el grupo D.
Grupo F	Pares 19 y 20, tienen apariencia de metacéntricos y son más pequeños que el grupo E.
Grupo G	Pares 21 y 22 son los más pequeños del cariotipo y son acrocéntricos. Se incluye por tamaño en este grupo al cromosoma Y, que sin embargo no tiene satélites.

Cada par de cromosomas se denominan cromosomas homólogos. Las parejas de estos cromosomas tienen una semejanza genética, poseen los mismos genes, situados en los mismos lugares a lo largo del cromosoma que se denominan locus (en plural loci) un cromosoma proviene del padre y el otro de la madre. Los miembros de cada par de genes no son necesariamente idénticos, pueden contener formas alternativas del mismo gen que se denominan alelos. El número de cromosomas en las células somáticas humanas es de 46, al cual se le llama número diploide. En células germinales el número de cromosomas es haploide, que es igual a la mitad del número diploide. El complemento haploide existe como tal solo en las células germinales, que son el óvulo y el espermatozoide (Gardner y Sutherland, 2004; Klug y Cummings, 1999).



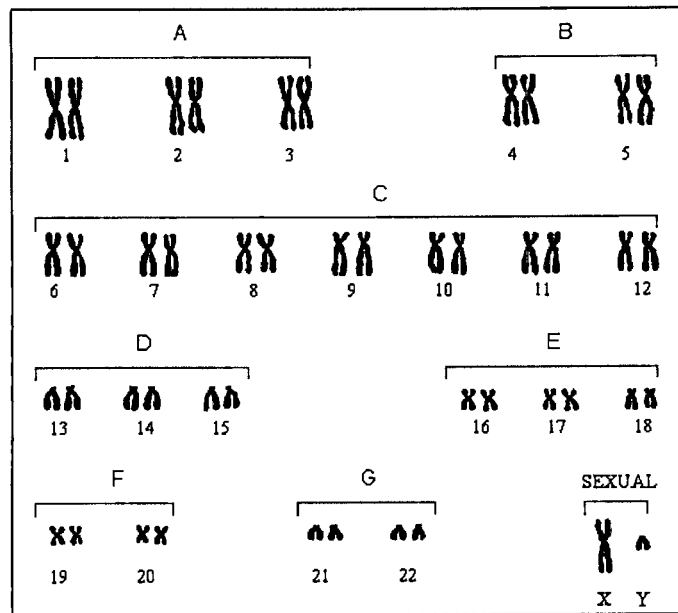


Figura 6. Clasificación de los cromosomas humanos. La clasificación de los cromosomas se realizó por el tamaño y posición del centrómero de cada uno, el par sexual se dejó en un grupo aparte (Lee, 2005).

## II.2.2 Ciclo Celular.

Existen dos tipos de división celular: mitosis y meiosis. La mitosis es la división celular de células somáticas, por la cual el cuerpo crece, se diferencia y efectúa la regeneración de tejidos. De la división mitótica resultan dos células hijas, cada una con cromosomas y genes idénticos a la célula de origen. En contraste, la meiosis ocurre solo en células germinales. El propósito de la meiosis es producir células para la reproducción y se reduce el número de cromosomas, del número diploide 46 al número haploide 23 en los gametos: uno de cada par autosómico y uno del par sexual. Los gametos en el hombre y la mujer, pasan por las mismas etapas en la meiosis, pero con algunas variantes, obteniéndose al final un número diferente de células en cada uno (Gardner y Sutherland, 2004; Rooney, 2001).

Las células presentan una alternancia continua entre división y no división. El intervalo entre cada división mitótica se denomina interfase y durante esta se realiza la replicación del DNA de cada cromosoma (Klug y Cummings, 1999).

La mayoría de las células requieren de tiempo para crecer y tener el doble de proteínas y organelos que requieren para replicar su DNA y dividirse. Para darle más tiempo a la célula para crecer, las fases G1 y G2 se integran a la mayoría de los ciclos celulares. Estas fases funcionan como más que simples lapsos de tiempo para que la célula siga creciendo, sino que también dan tiempo a la célula para monitorear el ambiente interno y externo, asegurando que las condiciones son las adecuadas antes de entrar en las fases S y M (Alberts y col., 2002).

Inmediatamente después de la mitosis, la célula entra en la primera fase G1, en la cual se realizan varias actividades como secreción, conducción, endocitosis, etc. Es el periodo que más variación de tiempo presenta, pudiendo durar días, meses o años. Las células que no se dividen nuevamente pasan toda su vida en este período, que en estos casos se denomina G0. Aunque los mecanismos moleculares que controlan la progresión del ciclo celular no están completamente comprendidos, el ciclo celular está regulado por una serie de puntos de control o chequeo que determinan el tiempo de cada paso en la mitosis. Además, estos puntos de control verifican que la síntesis de DNA se realice correctamente, así como el ensamblado y fijación de una red de microtúbulos para facilitar el movimiento de los cromosomas. Si se detecta algún daño en el genoma, estos puntos de control mitóticos detienen el ciclo celular hasta que se repare el daño, o si el daño es excesivo, hasta que la célula reciba instrucciones para la programación de la muerte celular.

La etapa de G1 está seguida de la fase S, que es donde se sintetiza el DNA. Durante esta etapa, cada cromosoma se replica para convertirse en un cromosoma de cromátida doble. Al término de la fase S, todo el DNA contenido en la célula se

ha duplicado y la célula entra en una breve etapa, llamada G2. Dado que el proceso de síntesis consume una gran cantidad de energía en la fase G2, la célula entra nuevamente en un proceso de crecimiento y adquisición de ATP (adenosín trifosfato). La energía adquirida durante la fase G2 se utiliza para el proceso de mitosis (Murray y Kirschner, 1991; Nussbaum y col., 2001).

La etapa de G2 es el final de la mitosis, la cual inicia cuando los cromosomas se empiezan a condensar y se vuelven visibles bajo el microscopio. Las etapas G1, S y G2 constituyen la interfase (ver Figura 7). En células humanas en división, las tres fases tienen una duración de 16 a 24 horas, dependiendo del tipo de célula, mientras que la mitosis solamente toma de 1 a 2 horas (Klug y Cummings, 1999; Nussbaum y col., 2001).

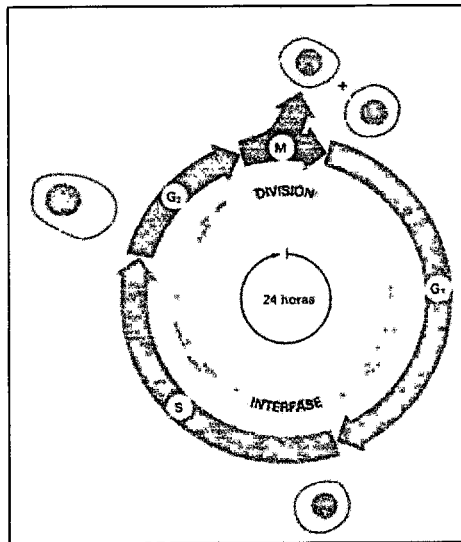


Figura 7. Diagrama del ciclo celular. Se observan las etapas del ciclo celular: G1, S y G2 que conforman la interfase y M donde la célula se divide (modificado de Rooney, 2001).

### II.2.3 Mitosis

Durante la mitosis actúan tres sistemas de control para asegurar que cada una de las dos células hija reciba un juego completo de información genética. Esto se logra por un mecanismo que distribuye una cromátida de cada cromosoma a cada célula hija proceso denominado segregación cromosómica (Alberts y col., 2002; Nussbaum y col., 2001).

El proceso de mitosis es continuo, pero se distinguen 5 fases: Profase, prometafase, metafase, anafase y telofase. En la profase la cromatina se condensa lentamente formando cromosomas bien definidos. Cada cromosoma se ha duplicado durante la fase S y ahora consta de dos cromátidas hermanas, cada una con centrómero, necesario para la correcta segregación del cromosoma. En la prometafase se desintegra la envoltura nuclear y los cromosomas se unen al huso. Durante la metafase los cromosomas se alinean en el ecuador de la célula en un arreglo llamado placa metafásica. Cada cromosoma se mantiene en tensión en esta placa por los cinetócoros apareados y por sus microtúbulos asociados, los cuales están unidos a los polos opuestos del huso (ver Figura 8) (Alberts y col., 2002; Nussbaum y col., 2001, Rooney, 2001).

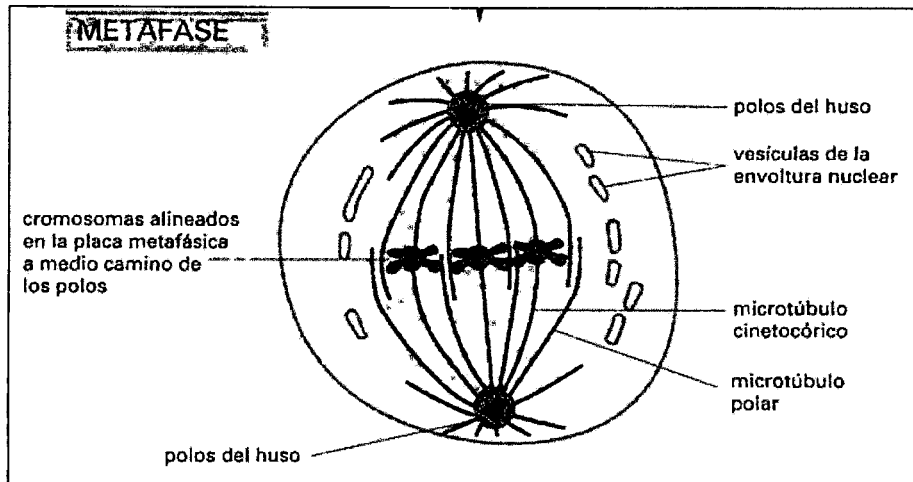


Figura 8. Célula en metafase, tercera fase de la mitosis. Se observan los cromosomas alineados en el ecuador de la célula, unidos al huso que los separará para distribuirlos en las 2 células que se generarán (modificado de Alberts y col., 2002).

Durante la anafase los cinetócoros apareados de cada cromosoma se separan, permitiendo que cada cromátida (ahora denominada cromosoma) sea arrastrada lentamente hacia un polo del huso. En la telofase las cromátidas que se han separado llegan a los polos, los microtúbulos desaparecen y se vuelve a formar una envoltura nuclear. Al término de la mitosis la membrana nuclear y los nucleolos empiezan a reaparecer y la cromatina condensada se expande de nuevo.

El citoplasma se divide mediante un proceso conocido como segmentación o citocinesis, que por lo general comienza en la anafase. La membrana de la zona central de la célula, situada en medio de los dos núcleos hijos, se desplaza hacia dentro originando el surco de segmentación que gradualmente se vuelve más profundo, hasta llegar a romperse, produciendo así dos células hijas completas y separadas (Alberts y col., 2002; Nussbaum y col., 2001).

La morfología de los cromosomas se estudia durante la mitosis. Durante la interfase, el núcleo está ocupado sobre todo en la duplicación de la cromatina; se observa la cromatina dispersa por todo el núcleo. Sin embargo, cuando la célula entra en división, el material genético se empieza a compactar y a formar

cromosomas. Los citogenetistas buscan el momento del ciclo celular en el que la observación de la morfología cromosómica pueda dar mejores resultados. Generalmente, el momento adecuado para observar los cromosomas en microscopio óptico es en la etapa de metafase de la mitosis. En este momento es cuando se puede realizar el análisis de los cromosomas (Puertas, 1999).

#### II.2.4 Meiosis

La meiosis es el tipo de división celular por la cual las células germinales diploides dan lugar a gametos haploides. La meiosis permite la reducción del número de cromosomas por medio de dos divisiones celulares sucesivas, denominadas primera y segunda división meiótica, con una sola duplicación de los cromosomas. Los cromosomas homólogos se aparean en la primera división de meiosis y realizan un proceso de intercambio de material genético denominado entrecruzamiento (crossing-over) que tiene notable importancia en la evolución y variación genética de las especies que se reproducen sexualmente (ver Figura 9) (Guízar, 2001; Nussbaum y col., 2001).

La profase de la primera división meiótica consta de cinco etapas: leptoteno, zigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis. Durante estas etapas, los cromosomas homólogos se aproximan y se aparean en una o más regiones, formando lo que se llama bivalentes, así cada par de cromosomas realiza entrecruzamientos en distintos puntos del cromosoma (ver Figuras 9 y 10) (Nussbaum y col., 2001; Rooney, 2001).

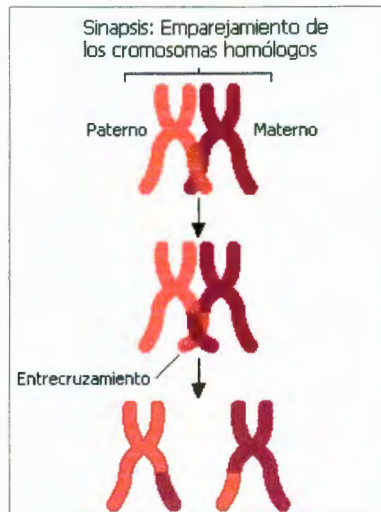


Figura 9. Entrecruzamiento (crossing-over). Se observa el intercambio de segmentos entre cromosomas homólogos (modificado de Nussbaum y col., 2001).

En la metafase de la primera división meiótica los cromosomas homólogos se colocan en el plano ecuatorial de la célula, orientando sus centrómeros hacia cada uno de los polos; durante la anafase los dos cromosomas de cada par se separan dirigiéndose cada uno de ellos al polo celular correspondiente. Esta separación de los homólogos o diadas constituye la base física de la segregación de los alelos. En la telofase I se completa la primera división de meiosis, los dos grupos de cromosomas haploides se encuentran agrupados en los polos opuestos de la célula. Después de la telofase I, la célula se divide en dos células haploides y entra en la interfase meiótica (ver Figura 10). En contraste con la mitosis, esta interfase es breve y la meiosis II comienza. El punto notable que distingue la interfase mitótica y meiótica es que no hay fase S entre la primera y la segunda división meiótica.

La segunda división meiótica es similar a una mitosis ordinaria, excepto que el número de cromosomas de la célula que entra a meiosis II es haploide. Por consiguiente, cada una de las dos células obtenidas en la meiosis I originará a su

vez otras dos, o sea 4 en total. Cada uno de estos gametos tendrá un número simple o haploide de 23 cromosomas. Durante la metafase II los cromosomas se colocan en el plano ecuatorial de la célula y en la anafase II ocurre la división longitudinal del centrómero. La migración hacia los polos se completa en la telofase II (ver Figura 10) (Guízar, 2001; Nussbaum y col., 2001).

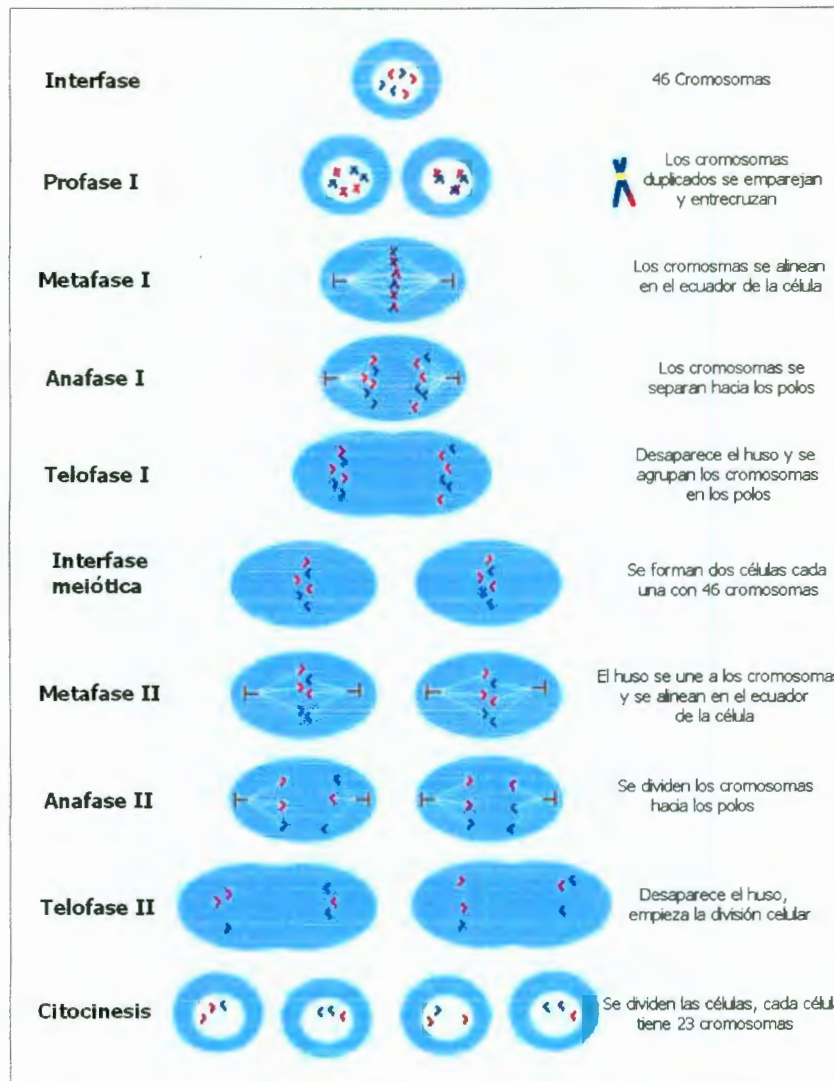


Figura 10. Esquema de la meiosis. Se observan y se describen brevemente las etapas de la meiosis (modificado de Nussbaum y col., 2001).



#### II.2.4.1 Espermatogénesis y ovogénesis

Lo que ocurre durante las divisiones meióticas es similar en los gametos, pero tanto la espermatogénesis como la ovogénesis tienen sus diferencias. La meiosis en las mujeres se inicia durante el desarrollo fetal con un número limitado de células. En contraste con el hombre, la meiosis se inicia durante la adolescencia y la generación de espermatozoides es continua (Guízar, 2001; Klug y Cummings, 1999; Nussbaum y col., 2001).

La espermatogénesis tiene lugar en los testículos que son los órganos reproductores masculinos. El proceso comienza con el crecimiento de una célula germinal diploide no diferenciada, denominada espermatogonia. Esta célula aumenta de tamaño hasta convertirse en un espermatocito primario, que sufre la primera división meiótica. Los productos de esta división se denominan espermatocitos secundarios, contienen un número haploide de cromosomas. Posteriormente sufren la segunda división meiótica y cada una de estas células produce dos espermátidas haploides. Las espermátidas, mediante una serie de cambios en el desarrollo, se convierten en espermatozoides maduros. Todos los espermatozoides que se producen durante la espermatogénesis reciben igual cantidad de material genético y citoplasma (ver Figura 11a).

La ovogénesis tiene lugar en los ovarios, que son los órganos reproductores femeninos. El óvulo se desarrolla de la oogonia, al tercer mes del desarrollo prenatal, la oogonia empieza a desarrollarse hasta formar un ovocito primario, los cuales en su mayoría entran en profase de la meiosis I. El proceso de ovogénesis no está sincronizado y ambos estados, oogonia y ovocito primario, coexisten en el ovario fetal. Después que la mujer alcanza su madurez sexual, cada uno de los ovocitos maduran y ocurre la ovulación. Cada ovocito primario completa la meiosis I y se divide en dos células: una se vuelve ovocito secundario y contiene la mayoría del citoplasma con sus organelos; la otra se vuelve el primer cuerpo polar,

conteniendo muy poco citoplasma. Durante la segunda división meiótica, el primer cuerpo polar puede o no dividirse. El óvulo maduro se producirá a partir del ovocito secundario en la segunda división meiótica, que empieza durante la ovulación. En esta división el citoplasma del ovocito secundario se reparte de nuevo desigualmente, dando lugar a un ovocito y a un segundo cuerpo polar (ver Figura 11b). La meiosis II se completa solo si ocurre la fertilización (Klug y Cummings, 1999; Nusbaum y col., 2001).

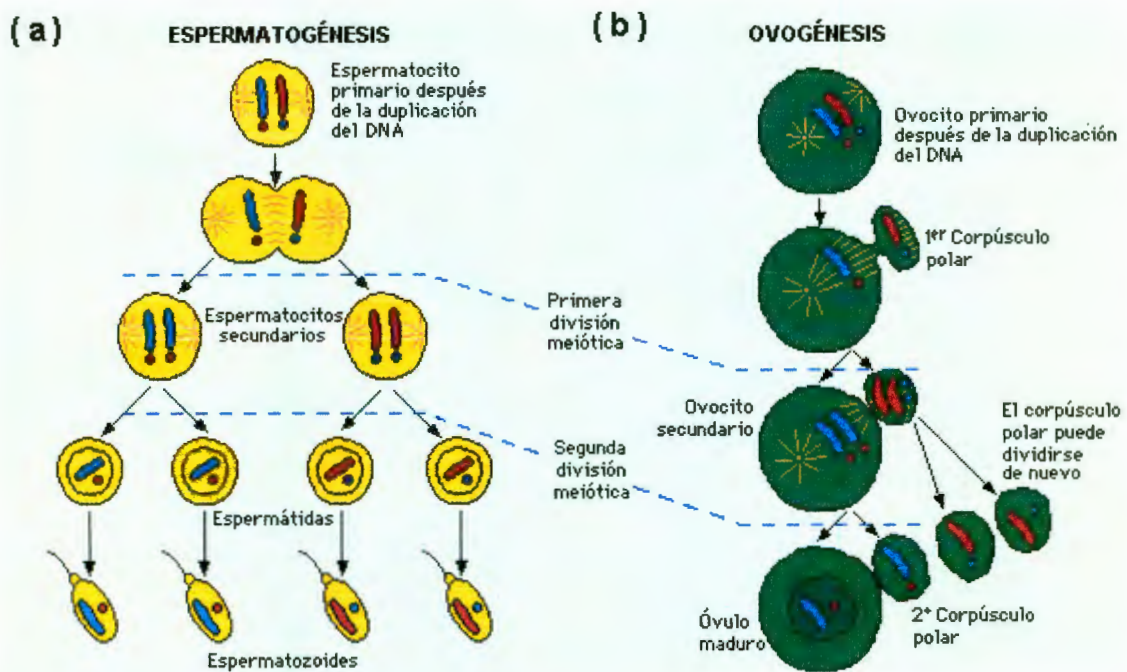


Figura 11. Espermatogénesis y ovogénesis. (a) En la espermatogénesis a partir de un espermatocito primario se obtienen 4 células que madurarán hasta formar espermatozoides. (b) En la ovogénesis de un ovocito primario se obtiene una célula que madurará formando un óvulo (Encarta, 2007).

## II 2.5 Anormalidades cromosómicas

Los cromosomas se distribuyen a cada célula hija por medio de la división celular en un proceso muy preciso, pero aún así puede sufrir errores que se denominan alteraciones cromosómicas. Las alteraciones cromosómicas son cambios en el

cariotipo que afectan el número o la estructura de uno o más cromosomas y estas se pueden clasificar en dos clases: numéricas y estructurales. Estos cambios pueden ser heredados de alguno de los padres o pueden ser *de novo* producto de una nueva mutación ocurrida en las células germinales o después de la fecundación (Gardner y Sutherland, 2004; Guízar, 2001).

Generalmente la citogenética médica se enfoca en las consecuencias de los desórdenes meióticos que produce un gameto cromosómicamente anormal, que al momento de la concepción genera una alteración cromosómica. Este tipo de anomalía cromosómica que está presente desde la concepción e involucra todo el cuerpo, se denomina anomalía constitucional (Gardner y Sutherland, 2004).

#### II 2.5.1 Alteraciones en el número de cromosomas

Las células pueden tener variaciones en el número de sus cromosomas que impliquen múltiplos del número haploide, denominadas poliploidías o cambios en los cuales solo uno o varios cromosomas estén implicados, a las que se conoce como aneuploidías. Las aneuploidías de cromosomas autosómicos más frecuentes son las trisomías de los cromosomas 13, 18 y 21; pero la trisomía 21 es la única aneuploidia compatible con la vida. En las poliploidías se repite varias veces el número haploide ( $n$ ) de 23, por lo que una célula con  $3n$  tendrá 69 cromosomas y constituye la triploidía; si tiene  $4n$  tendrá 92 y es tetraploidía, y así sucesivamente. Tanto las aneuploidías como las poliploidías repercuten de manera significativa en la reproducción humana ya que ocasionan abortos en etapas tempranas del embarazo. Por lo general, los productos que llegan al nacimiento son prematuros, con malformaciones, retraso psicomotor y generalmente fallecen horas o días después del nacimiento y los que sobreviven más tiempo normalmente tienen una mezcla de líneas celulares normales y alteradas llamado mosaicismo (ver Figura 12) (Gardner y Sutherland, 2004; ISCN, 1995).

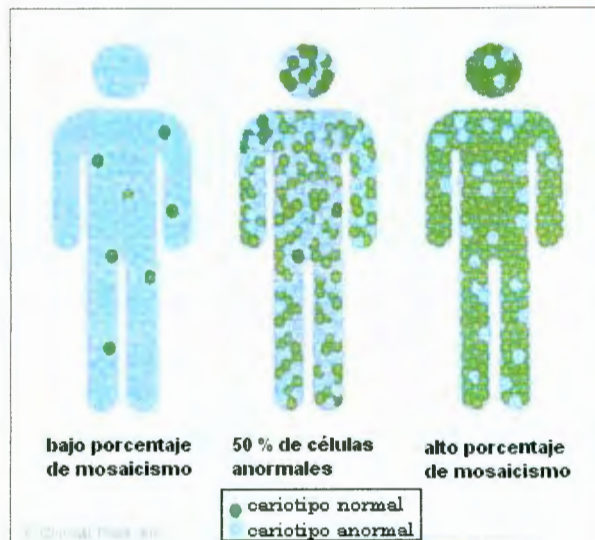


Figura 12. Constitución de un individuo con células en mosaico. Los individuos con mosaico tienen un porcentaje de células anormales y un porcentaje de células normales, mezcladas en todo el organismo (Clinical Tools Inc., 2006).

Las aneuploidías son más conocidas por sus repercusiones como causas de malformaciones congénitas al nacimiento. Se presentan como resultado de una falla en la segregación de los cromosomas o por rezago anafásico de un cromosoma durante la anafase de la división celular. Estas fallas pueden presentarse tanto en la meiosis como en la mitosis (ver Figura 13) (Gardner y Sutherland, 2004; Guízar, 2001).

Las aneuploidías más importantes son las siguientes:

- Trisomía: Cuando hay un cromosoma de más, como en el síndrome de Down (46,XX,+21).
- Monosomía: Es cuando falta un cromosoma, como en el síndrome de Turner (45,X).

- Doble trisomía: Cuando se encuentran dos cromosomas adicionales de distinto par, como en una paciente con tres cromosomas X y síndrome de Down, cuyo cariotipo sería 48,XXX,+21.
- Tetrasomía: Los dos cromosomas adicionales son del mismo par, por ejemplo, cariotipo 48,XXXX (Gardner y Sutherland, 2004; Guízar, 2001; ISCN, 1995).

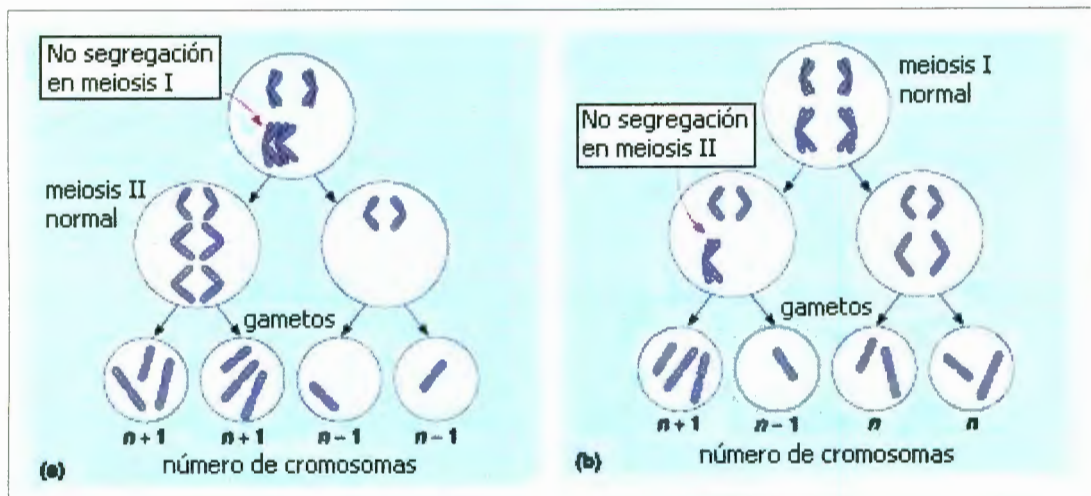


Figura 13. Modelos de la no segregación cromosómica durante la meiosis. Si la no segregación ocurre en la meiosis I se originan dos células disómicas y dos nulisómicas para el cromosoma no segregado (a). Si la no segregación ocurre en la meiosis II se originan dos células normales, una disómica y una nulisómica para el cromosoma no segregado (b) (modificado de Chen, 2006).

Cuando la no segregación cromosómica se produce en la mitosis temprana, después de la formación del cigoto, en los primeros blastómeros se originan los mosaicos o mixoploidías. Si la no segregación ocurre en etapas tempranas del cigoto, el porcentaje de mosaico será mayor y estará presente en todos los tejidos. Si la no segregación ocurre en etapas de mayor desarrollo del cigoto, el porcentaje de mosaico será menor estando presente solo en ciertos tejidos (ver Figura 14) (Gardner y Sutherland, 2004; Guízar, 2001).

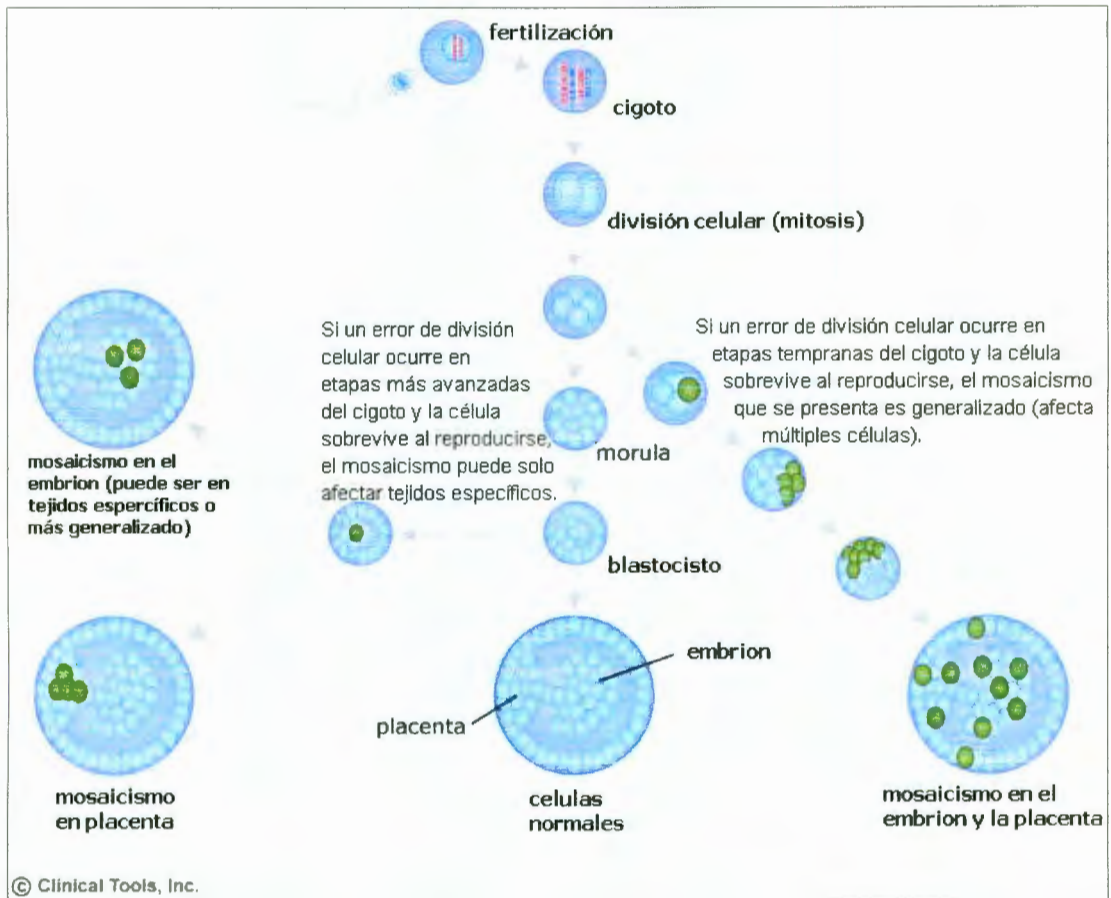


Figura 14. Formación de mosaicos por falla en la segregación durante la mitosis en cigotos. Se representa la formación de mosaicos en diferentes etapas del desarrollo del cigoto (modificado de Clinical Tools Inc., 2006).

## II 2.5.2 Alteraciones cromosómicas estructurales

Los cromosomas están expuestos a la acción de numerosos agentes ambientales mutagénicos que los dañan y les ocasionan fracturas o roturas. Estos agentes pueden ser físicos como la radiación, químicos como fármacos, agentes alquilantes o biológicos como los virus y mutaciones *de novo*. Aunque existen diversos mecanismos de reparación celular, los errores pueden ser tan graves que resulta ineficiente la reparación, ocasionando alteraciones cromosómicas estructurales. Si un cromosoma pierde un segmento de su estructura se dice que tiene una deleción o pérdida del material genético, la deleción puede ser terminal o intercalar,

dependiendo si sucede en un extremo o en una zona intermedia del cromosoma (ver Figura 15). Para designar una deleción se utiliza la abreviación “del” seguida, dentro de un paréntesis del cromosoma que la presenta y por último en otro paréntesis se indica el punto de ruptura o la zona del cromosoma afectado (Guízar, 2001; ISCN, 1995).

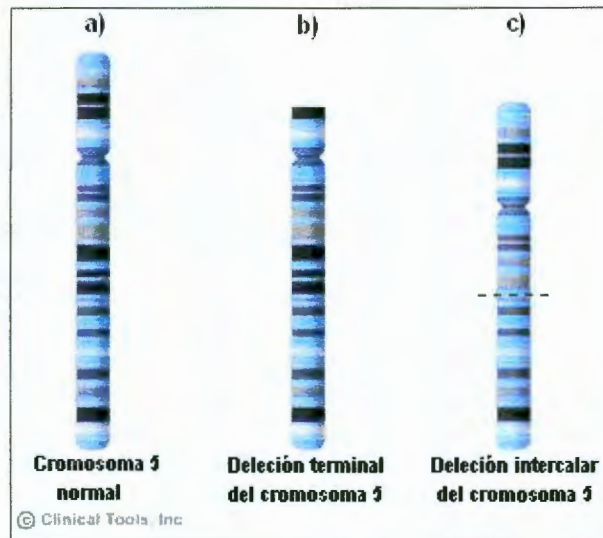


Figura 15. Representación de una deleción en el cromosoma 5. El cromosoma con deleción pierde un segmento de su estructura. a) cromosoma normal, b) cromosoma con deleción terminal y c) cromosoma con deleción intercalar (modificado de Clinical Tools Inc., 2006).

Se denomina duplicación cuando un segmento o una misma secuencia de genes aparecen dobles en el mismo cromosoma (ver Figura 16). Las duplicaciones se designan con la abreviatura “dup” seguida, dentro de un paréntesis, del cromosoma afectado, y por último en otro paréntesis el lugar del fragmento duplicado.

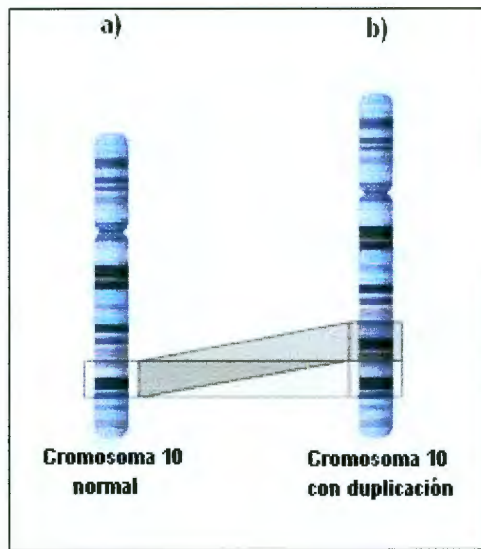


Figura 16. Ejemplo de una duplicación en el cromosoma 16. a) Cromosoma normal y b) cromosoma con duplicación de un fragmento (modificado de Clinical Tools Inc., 2006).

Se produce una inversión cuando un segmento cromosómico rota  $180^\circ$  sobre sí mismo y se coloca en el cromosoma en forma invertida, quedando la secuencia de genes alterada. La inversión puede ser paracéntrica si el segmento invertido no incluye el centrómero o pericéntrica si el centrómero queda incluido (ver Figura 17). Las inversiones se designan con la abreviatura "inv" seguidas, en paréntesis, del cromosoma afectado y por último, en otro paréntesis, se indica el fragmento del cromosoma que está invertido (Gardner y Sutherland, 2004; ISCN, 1995).



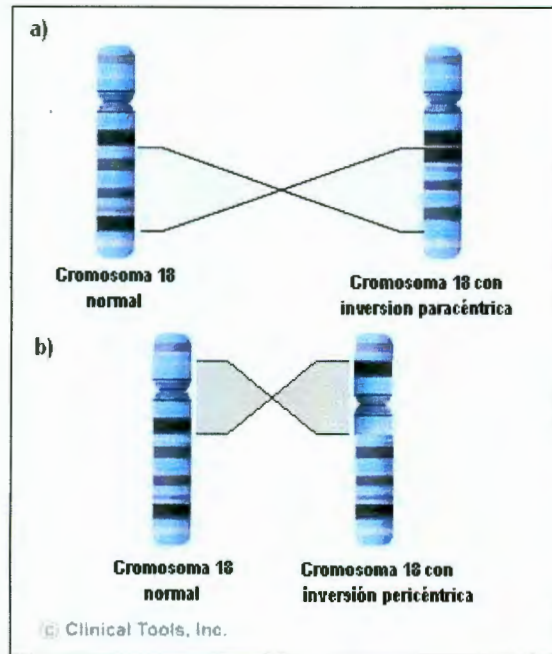


Figura 17. Representación de una inversión en el cromosoma 18. En el cromosoma aparece un segmento de forma invertida. a) inversión paracéntrica, b) inversión pericéntrica (modificado de Clinical Tools Inc., 2006).

Una translocación es el intercambio de segmentos entre cromosomas, puede ser recíproca o no, e implicar cromosomas homólogos o no homólogos. Un tipo especial de translocación es la fusión céntrica o robertsoniana que ocurre con más frecuencia entre cromosomas acrocéntricos (ver Figura 18). Las translocaciones se designan con la abreviatura “t” seguida, en paréntesis, del cromosoma afectado y por último, en otro paréntesis, se indican el fragmento de los cromosomas que están involucrados.

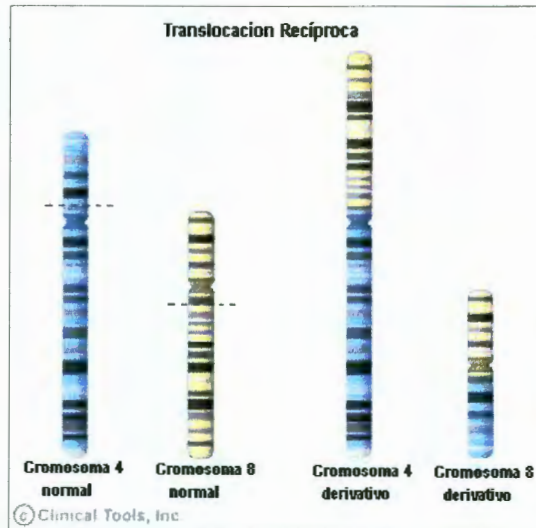


Figura 18. Ejemplo de una translocación entre los cromosomas 4 y 8. Los segmentos de dos o más cromosomas se combinan entre sí, dando como resultado cromosomas derivativos (modificado de Clinical Tools Inc., 2006).

El anillo es otra aberración estructural que se forma cuando el cromosoma presenta simultáneamente rompimiento en los telómeros del brazo corto y del brazo largo, de tal manera que al separarse los telómeros la porción de cromosoma que lleva el centrómero une sus extremos rotos originando un cromosoma circular (ver Figura 19). Los anillos se designan con la abreviatura “r” seguidos, entre paréntesis, del cromosoma afectado; y por último se agregan los puntos de ruptura y unión del cromosoma. (Gardner y Sutherland, 2004; Guízar, 2001).

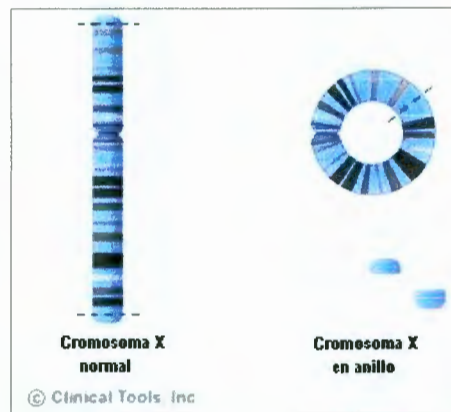


Figura 19. Cromosoma X en anillo. Se forma al romperse los telómeros de cromosoma y unirse los extremos del cromosoma restante (modificado de Clinical Tools Inc., 2006).

Un isocromosoma se forma cuando el centrómero, en vez de dividirse de manera longitudinal, lo hace de modo transversal pudiéndose formar un isocromosoma de brazos largos o un isocromosoma de brazos cortos. El cromosoma dicéntrico es aquel que tiene dos centrómeros y que presenta, por lo mismo un comportamiento especial en la meiosis, ya que originan puentes de tensión en la anafase cuando cada centrómero tiende a migrar hacia un polo diferente. Se forman así rompimientos a distintos niveles en la región intercentromérica del cromosoma anormal. El dicéntrico puede resultar de una translocación de cromosomas no homólogos o de una translocación de las dos cromátidas del mismo cromosoma (ver Figura 20). Para designar a un isocromosoma se utiliza la abreviación “i” seguida, dentro de un paréntesis, el cromosoma involucrado y por último, en otro paréntesis, se indican los puntos de ruptura y unión en el cromosoma (Guízar, 2001; Nussbaum y col., 2001).

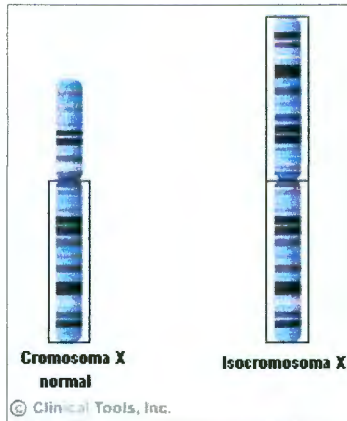


Figura 20. Isocromosoma X. Este cromosoma tiene dos brazos largos del mismo cromosoma unidos al mismo centrómero (modificado de Clinical Tools Inc., 2006).

### II.2.6 Variantes normales o heteromorfismos

La palabra heteromorfismo se ha utilizado como sinónimo de los términos polimorfismo o variantes normales. Se presentan en ciertas regiones de heterocromatina de los cromosomas y su visualización depende de las técnicas que se utilicen para su análisis. Se definen como variaciones hereditarias de sitios en los cromosomas homólogos o variaciones de regiones cromosómicas que al ser comparadas con una gran población de estudio no tiene algún impacto fenotípico. Los heteromorfismos más frecuentes se presentan en los cromosomas 1, 9 y 16, los acrocéntricos 13, 14, 15, 21 y 22, así como el cromosoma Y (Bhasin, 2005; Brothman y col., 2006).

### II.2.7 Origen de anomalías cromosómicas

Las anomalías cromosómicas pueden ser de dos tipos: los que son heterocigotos con un rearrreglo estructural balanceado (translocación, inversión e inserción) pero son fenotípicamente normales; y los que tienen rearrreglos no

balanceados como aneuploidías completas o parciales y con un fenotipo anormal (Gardner y Sutherland, 2004).

#### II.2.7.1 Individuos con rearrreglos balanceados

Los heterocigotos con rearrreglos balanceados involucran solo pequeños segmentos, los cromosomas pudieran “ignorar” el material no homólogo que contienen, emparejarse (hetero sinapsis) y segregarse como sucedería en una meiosis normal. En otros rearrreglos balanceados, la tendencia inherente a emparejarse dicta que segmentos homólogos de cromosomas con rearrreglos se alinearan (homosinapsis). Esto requerirá que el cromosoma haga un tipo de contorsionismo, formando configuraciones complejas así como multivalentes y asas reversas. Los gametos producidos, y por lo tanto los productos que se originan, frecuentemente son no balanceados. En este contexto una aneuploidía parcial se involucra, lo que significa que una parte del cromosoma se encuentra en estado trisómico o monosómico, o lo que es más frecuente, una combinación de un segmento con trisomía y otro con monosomía (ESHRE, 2002; Gardner y Sutherland, 2004; Nagvenkar y col., 2005; Parmar y Sira, 2003).

En algunos rearrreglos la recombinación presenta riesgos más altos. Las inversiones e inserciones pueden producir un nuevo cromosoma recombinante que tiene una composición genética diferente del rearrreglo original. El producto formado sería no balanceado y con repercusiones fenotípicas (Gardner y Shutherland, 2004).

### II.2.7.2 Individuos con aneuploidías

En el individuo con una aneuploidía completa y que es capaz de realizar gametogénesis, teóricamente se formaría un trivalente, o un bivalente y un univalente independiente. Cualquiera de estos puede llevar a una segregación 2:1.

Un error mitótico puede causar anomalías fenotípicas al generar una línea celular anormal en algún punto de la embriogénesis. Si nos enfocamos en el resultado final, la característica distintiva entre los errores mitóticos y los meióticos es que los mitóticos forman un producto con mosaico, mientras que los errores meióticos forman un producto aneuploide. Entre más temprano ocurra un error mitótico en la embriogénesis la probabilidad de que una fracción considerable en el individuo sea aneuploide es mayor, generando anomalías fenotípicas. Es probable que las anomalías mitóticas que surgen lleven a la muerte celular, sin dejar rastro de las mismas (Gardner y Sutherland, 2004).

### II.2.7.3 No segregación

La no segregación se define como la falla de cromosomas homólogos para segregarse simétricamente en la división celular. Esto puede resultar en aneuploidías, donde implica uno o más cromosomas; o dar origen a poliploidías, involucrando a todo el número haploide de cromosomas (Gardner y Sutherland, 2004, Strauss y Barbieri, 2004).

#### II.2.7.3.1 Predivisión de cromátidas, Hipótesis de Angell

Un mecanismo alternativo para la no segregación se basa en la premisa de que la separación precoz de cromátidas ("predivisión") es el factor crucial en la meiosis I. Esta hipótesis está basada en observaciones directas de ovocitos. Tres eventos

secuenciales comprenden esta teoría. Primero, los homólogos fallan al emparejarse durante la meiosis I, y si logran hacerlo, se separan de nuevo antes de que la meiosis I se complete. Segundo, estos univalentes están propensos a “predividirse”, esto es la separación de las cromátidas que debiera pasar normalmente en meiosis II en lugar de hacerlo cuando todavía están en el primer ciclo meiótico. Esto puede pasar en los dos univalentes o solo en uno. Tercero, en la anafase de la meiosis I, ésta cromátida doble o simple del cromosoma se segrega al ovocito y al cuerpo polar independientemente (Figura 21) (Gardner y Sutherland, 2004).

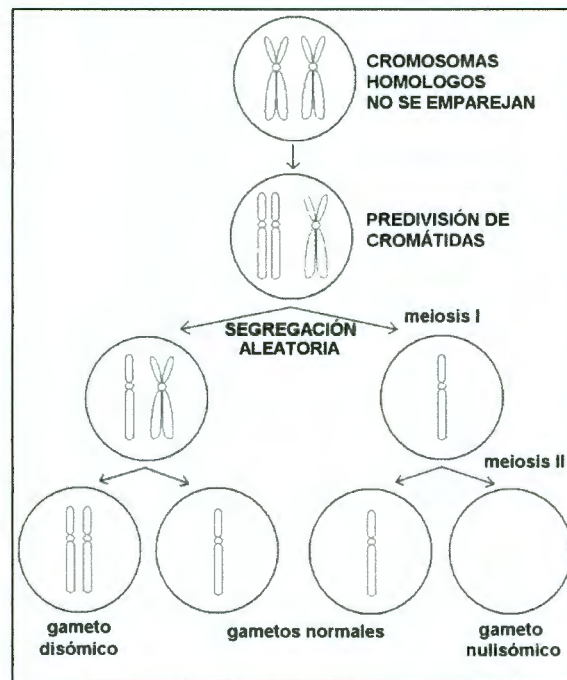


Figura 21. Hipótesis de Angell. Se representa la predivisión de cromátidas que ocurre en meiosis I y los gametos resultantes después de la segregación en meiosis II (modificado de Gardner y Sutherland, 2004).

### II.2.7.3.2 Causas de no segregación

La mayoría de las aneuploidías se originan de la no segregación en la ovogénesis. Una vulnerabilidad particular en la meiosis materna puede deberse a la degradación, debida al paso del tiempo, de factores que aseguran la adhesión de las cromátidas homologas del bivalente, llevando a los cromosomas a adoptar una posición inestable en la meiosis. La posición inestable dependerá, cuando solo hay un quiasma, en si el sitio esta cerca del centro o de un extremo del cromosoma. Otra teoría nos dice que las proteínas asociadas al centrómero pueden ser un punto vulnerable. Los cromosomas se mueven a lo largo del huso a su destino apropiado por la intervención activa del cinetócoro y las proteínas involucradas en la segregación, y si éstas no trabajan apropiadamente, los cromosomas pueden terminar donde no deben. Los puntos de control son más efectivos en varones que en mujeres. La diferencia radica en que las mujeres nacen con alrededor de 3 millones de ovocitos primarios, los cuales ya iniciaron la primera división meiótica y están detenidos en las últimas fases de la profase I hasta que entren en ovulación varios años después y continúen con la meiosis. Además, la segunda meiosis solo se completa si ocurre la fecundación del óvulo. En los varones las células germinales comienzan la meiosis hasta la etapa de la pubertad y producen espermatozoides constantemente (Gardner y Sutherland, 2004; Guízar, 2001).

### II.2.7.3.3 No segregación en mitosis

La no segregación puede ocurrir inicialmente en un cigoto normal, con la generación de un mosaico para una línea celular trisómica o monosómica, así como la línea celular normal. En el 3% de los casos 47,XXY que son aparentemente no mosaicos y el 9% de los casos 47,XXX; el error fue postcigótico, probablemente antes de la formación de la masa celular interior. Si hay una no segregación del cromosoma X tiempo después en la vida del embrión, las dos líneas celulares anormales estarán presentes, por ejemplo el mosaico



45,X/46,XX/47,XXX, el cual probablemente provenga de un cigoto 46,XX. La no segregación mitótica es la mayor causa por la cual se originan los mosaicos (ESHRE, 2002; Gardner y Sutherland, 2004).

La no segregación puede ocurrir en mitosis postcigótica en un producto que inicialmente es trisómico para un cromosoma autosómico, por lo tanto una copia del homólogo se pierde. El mismo resultado se puede deber al mecanismo del retraso de anafase. En este último caso, el cromosoma falla al conectarse al huso o se retrasa al ir al polo correspondiente, no incluyéndose dentro de la nueva membrana nuclear, por lo tanto queda suelto en el citoplasma formando un micronúcleo que posteriormente desaparecerá. Un producto con una "trisomía terciaria de intercambio", que es un cariotipo con 47 cromosomas y contiene dos cromosomas translocados y una copia adicional de un cromosoma derivativo, puede generar una línea celular con el estado balanceado, si uno de los cromosomas derivativos se pierde postcigóticamente. Si dentro de la línea celular balanceada se encuentra el tejido que formará la sangre, pero la mayoría del cuerpo consiste de células con el estado no balanceado, el producto puede tener un fenotipo anormal, y en sangre periférica se observaría un cariotipo normal (Gardner y Sutherland, 2004).

#### II.2.7.3.4 No segregación en meiosis

La descripción clásica del mecanismo de no segregación meiótica es la siguiente: si en una persona con cromosomas normales, su par de homólogos incluyendo el bivalente, falla en separarse en meiosis I, una célula hija tendrá dos de los cromosomas y la otra no tendrá nada, esta es una segregación 2:0. La no segregación puede ocurrir en meiosis II, habiendo pasado por meiosis I correctamente. En meiosis II, las cromátidas son las que fallan en separarse. Entonces, al fertilizarse, el producto termina trisómico o monosómico, asumiendo que el otro gameto es normal. Una trisomía o monosomía en un hijo de padres normales se llama trisomía o monosomía primaria. La no segregación es frecuente,

y en consecuencia muchos productos humanos, tal vez un tercio, son trisómicos o monosómicos (Gardner y Sutherland, 2004, Strauss and Barbieri, 2004).

### II.3 Cromosomas e infertilidad.

La infertilidad se define como la incapacidad de concebir después de un año de tener relaciones sexuales regularmente y sin protección, y se presenta en un 15% de las parejas que desean tener hijos. Esta infertilidad puede ser consecuencia de subfertilidad o esterilidad (capacidad innata para concebir) en cualquiera de los cónyuges o en ambos. Infertilidad primaria se refiere a las pacientes que nunca han concebido. Infertilidad secundaria se aplica a las mujeres que ya concibieron alguna vez. Los tipos de infertilidad se pueden clasificar de la siguiente manera: falla reproductiva, espermatobioscopía alterada o factor masculino severo, falla ovárica, pérdida repetida de la gestación, alteraciones físico-anatómicas e infertilidad de causa desconocida o idiopática (Pernoll, 2003; Shah y col., 2003).

La infertilidad puede ser causada por problemas hormonales, edad avanzada, alteraciones genéticas, exceso de ejercicio, obesidad, enfermedades infecciosas, inmunológicas, psicológicas, resultado de una cirugía, bloqueo de los aparatos reproductores, entre otros. Es difícil evaluar la contribución genética que conduce a la infertilidad y algunos de los factores mencionados parecen tener un componente genético. Sin embargo, existen cariotipos específicos asociados con infertilidad que han ayudado a explicar la naturaleza de algunos casos de infertilidad. Es común encontrar anomalías cromosómicas durante la reproducción: se estima que un 8% de los productos presentan una anomalía cromosómica, ya sea de novo o heredada (Clementini y col., 2005; Shah y col., 2003, Strauss and Barbieri, 2004).

Las evaluaciones para infertilidad deben seguir un orden en las pruebas y procedimientos que toman en cuenta la probabilidad, la invasividad, los riesgos y

los costos de esta. La valoración básica suele requerir seis a ocho semanas, incluso si en el interrogatorio se sugiere una causa probable de infertilidad, debe complementarse con la evaluación de todos los factores principales para no pasar por alto un factor secundario o contribuyente. Posteriormente la pareja infértil puede recurrir a tratamientos de reproducción asistida, entre los que se encuentran la fertilización in vitro (FIV) con transferencia de embrión y la inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI por sus siglas en inglés intracytoplasmic sperm injection) (Pernoll, 2003; Strauss and Barbieri, 2004).

### II.3.1 Cariotipos asociados con infertilidad

#### II.3.1.1 Síndrome de Klinefelter (47,XXY)

El síndrome de Klinefelter se presenta en uno de 1000 nacimientos de varones y se asocia con el cariotipo 47,XXY; el cual puede presentarse en todas las células del individuo o en mosaico. Los varones son generalmente estériles, principalmente debido a una azoospermia u oligozoospermia. Incluso en casos donde aparentemente involucra todas las células, se han encontrado células germinales funcionales que muestran un complemento XY (los pacientes son mosaicos gonadales), y existe evidencia de que el ambiente testicular comprometido de estos varones lleva a un incremento en los errores de segregación cromosómica. Por lo tanto, los varones con síndrome de Klinefelter que se reproducen tienen más probabilidad de tener hijos con aneuploidías (Dohle y col., 2002; ESHRE, 2002; Nagvenkar y col., 2005; Okada y col., 1999; Shah y col., 2003).

#### II.3.1.2 Varones 47,XYY

Presentes en uno de 1000 nacimientos de varones, el 47 XYY se origina por una no segregación paterna en meiosis II del cromosoma Y. Esto causa un desequilibrio

hormonal en el ambiente gonadal, lo cual afecta la función normal de la gonadotropina coriónica humana y es usual que se presente daño espermático. Como en el 47,XXY, se cree que los varones 47,XYY son fértiles o presentan mosaicos gonadales. Esto indica que la pérdida de un cromosoma Y, seguido por un proceso de competencia de líneas celulares, en donde las células XY tienen una ventaja selectiva sobre las aneuploides, es responsable del desarrollo normal de espermias (Shah y col., 2003).

### II.3.1.3 Síndrome de Turner

La falta de un cromosoma X (45,X) es el cariotipo característico de los pacientes con síndrome de Turner y ocurre aproximadamente en el 55% de los casos. Se presenta en una de cada 5,000 a 10,000 mujeres nacidas. El fenotipo característico de estas pacientes son las gónadas vestigiales con hipoplasia e infantilismo sexual a causa de la haplo-insuficiencia de los genes homólogos XY cruciales para el desarrollo gonadal y resultan en completa esterilidad en la mayoría de los pacientes (ESHRE, 2002; Gravholt, 2004; Shah y col., 2003).

### II.3.1.4 47,XXX

Ocurre en una de 1000 mujeres nacidas. En el 95% de los casos el cromosoma X de más es de origen materno, el cual está asociado con la edad materna avanzada. La mayoría de las mujeres 47,XXX tienen peso, altura, función mental normal, desarrollo pre-puberal normal y son fértiles, pero tienen una menopausia precoz alrededor de los 30 años, comparado con el promedio de 50 años. El incremento en la dosis de genes que escapan de la inactivación del cromosoma X explican las características clínicas. La severidad de los síntomas aumenta en proporción con el número de cromosomas X, y principalmente asociados con retraso mental (Shah y col., 2003).

### II.3.1.5 Síndrome de Down (trisomía 21)

La trisomía 21 es la causa principal de retraso mental y se estima que ocurre en uno de 700 nacimientos. Las mujeres afectadas en casos raros se pueden reproducir, sin embargo la mayoría o todos los hombres afectados son estériles: el fenotipo incluye arresto espermatogénico, reducción en el número de células germinales y túbulos hialinizados (Guízar, 2001; Shah y col., 2003).

### II.3.1.6 Infertilidad por translocaciones

Las translocaciones recíprocas pueden reducir la fertilidad, provocar abortos espontáneos o defectos de nacimiento, cada caso depende de los cromosomas involucrados y el origen de la translocación. En translocaciones que involucran cromosomas autosómicos, la reducción de la fertilidad es mediada por el hecho de que los cromosomas translocados, al pasar por meiosis, tienen que aparearse para formar los bivalentes y así entrecruzarse (Figura 22). Existe evidencia de que los segmentos de los cromosomas translocados tratan de aparearse con los cromosomas X y Y durante la meiosis I, que interfiere con la inactivación del cromosoma X, causando un efecto de dosificación génica mortal para las células germinales. Finalmente, las interacciones de los cromosomas translocados con otras partes del núcleo pueden producir errores en la meiosis y muerte celular (ESHRE, 2002; Franssen y col., 2006; Gardner y Sutherland, 2004; Nagvenkar y col., 2005; Shaffer y Lupski, 2000).

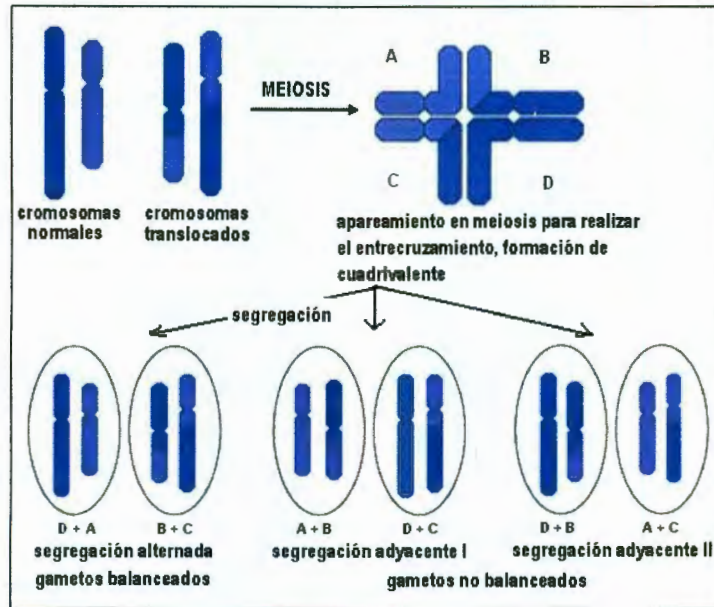


Figura 22. Apareamiento y segregación de cromosomas con translocación recíproca en meiosis. Cuando la célula entra en meiosis, los cromosomas tienen que aparearse para el entrecruzamiento, cuando hay una translocación recíproca los cromosomas forman un cuadrivalente. Al segregarse, los gametos pueden ser balanceados o no balanceados (modificado de Korf, 2006).

### II.3.1.7 Infertilidad por inversiones

Las inversiones causan infertilidad por los siguientes mecanismos. Como en las translocaciones, los cromosomas invertidos tienen que aparearse en la meiosis para formar los bivalentes y así entrecruzarse; pero debido a la inversión se forman asas complejas. En una inversión paracéntrica el entrecruzamiento dentro del asa puede producir un cromosoma dicéntrico (con dos centrómeros) y un fragmento acéntrico (Figura 23). En una inversión pericéntrica, el centrómero está dentro de la región invertida, después de la recombinación los cromosomas se segregan normalmente, sin crear un cromosoma dicéntrico. Sin embargo, el entrecruzamiento genera cromosomas con duplicaciones y deleciones (Figura 24). Al fertilizarse estos gametos, los productos que se generan no son balanceados y por lo tanto tampoco son viables. (Gardner y Sutherland, 2004; Griffiths y col., 2000; Shah y col., 2003; Shaffer y Lupski, 2000).

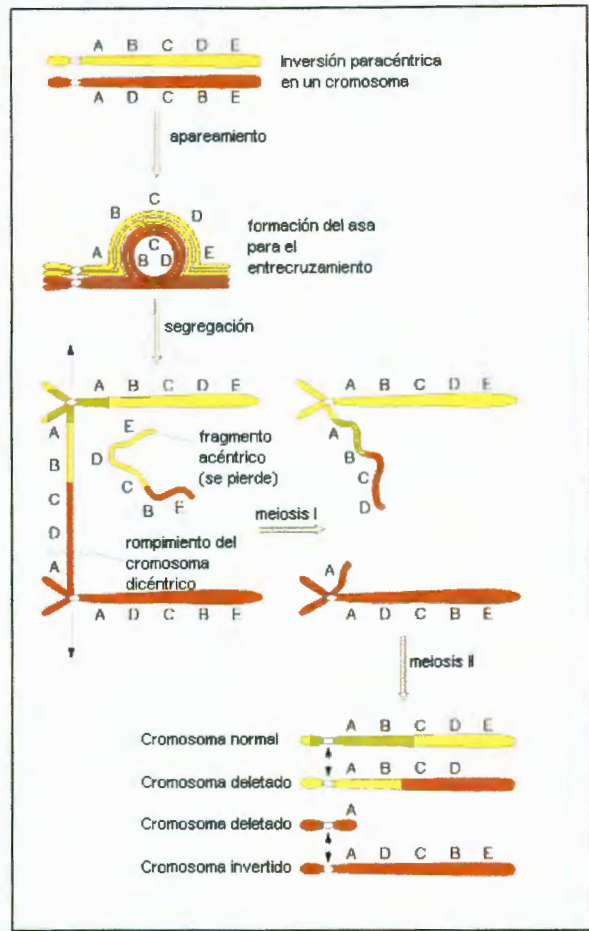


Figura 23. Apareamiento y segregación de cromosomas con inversión paracéntrica. Al aparearse los cromosomas forman asas, y así poder entrecruzarse. Al segregarse forman cromosomas normales, con deleciones e inversiones (modificado de Griffiths y col., 2000).

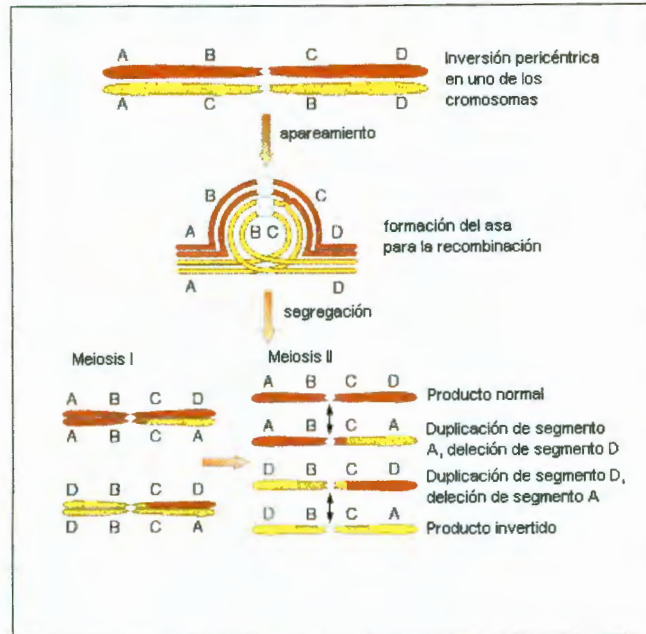


Figura 24. Apareamiento y segregación de cromosomas con inversión pericéntrica. Se ejemplifica la formación de asas al aparearse los cromosomas, y productos que pueden formarse después de segregarse (modificado de Griffiths y col., 2000).

### II.3.1.8 Cromosomas marcadores o supernumerarios

Los cromosomas marcadores son cromosomas estructuralmente anormales que son difíciles de identificar por métodos citogenéticos. La mayoría de los cromosomas marcadores son cromosomas supernumerarios, significa que se encuentran en adición a los 46 cromosomas normales, aunque algunos pueden presentarse sustituyendo algún cromosoma. La frecuencia de cromosomas marcadores es del 0.6-1.5/1000 nacimientos. Cerca del 80% se originan de novo y son más frecuentes en madres de edad avanzada. Gracias al surgimiento de la citogenética molecular, se emplean varias técnicas para la identificación de estos marcadores, una de estas técnicas es FISH (hibridación in situ con fluorescencia, por sus siglas en inglés). Los cromosomas marcadores se designan con la abreviación mar. Los cromosomas marcadores más comunes en el humano son los que derivan de los cromosomas X, 15 y 22. Los segmentos de los cromosomas



tratan de aparearse con los cromosomas X y Y durante la meiosis I. Los cromosomas marcadores se pueden encontrar tanto en individuos fenotípicamente normales, como en individuos con retraso mental. Los portadores de cromosomas marcadores tienen mayor riesgo de infertilidad debido a la inestabilidad y al arresto en la meiosis. (Nagvenkar y col., 2005; Shaffer y Lupski, 2000; Shah y col., 2003, Woo y col., 2003).

### **III. HIPÓTESIS**

Si el material genético en cada una de las células somáticas y gonadales son de vital importancia para la reproducción, entonces, algunos pacientes con antecedentes de infertilidad portan alteraciones cromosómicas que estarán relacionadas con la falla reproductiva.

## IV. OBJETIVOS

### IV.1 General

Relacionar alteraciones cromosómicas detectadas en pacientes de una clínica especializada en reproducción asistida (Médica Fértil) con diferentes tipos de infertilidad.

### IV.2 Específicos

- Elaboración de cariotipos en muestras de sangre periférica en pacientes con antecedentes de infertilidad.
- Analizar los resultados obtenidos y ser capaz de detectar por técnicas de bandeo convencional (bandas G), alteraciones cromosómicas.
- Determinar el tipo de anomalías cromosómicas y con que frecuencia se presentan.
- Identificar si la alteración cromosómica es el agente causal de infertilidad y de qué tipo.

## V. METODOLOGÍA

### V.1 Materiales

#### Equipo:

- Incubador de CO<sub>2</sub>
- Campana de flujo laminar
- Centrífuga
- Congelador
- Refrigerador
- Microscopio de contraste de fases
- Microscopio estereoscópico
- Baño maría
- Regulador de presión. Tanque de CO<sub>2</sub> (15PSI)
- Agitador Vortex
- Micropipetas: 1000µL, 200µL y 300µL
- Balanza analítica
- Computadora Sony y software CarioSys/CarioFish, programa para construcción, análisis y reporte de cariotipos.
- Cámara digital para microscopio

#### Material:

- Portaobjetos con bordes esmerilados
- Agujas para extracción de sangre
- Tubos para recolección de sangre con heparina (vacutainer)
- Cajas coplin
- Tubos cónicos de 15 ml
- Guantes desechables
- Puntas para micropipeta 1000µL
- Puntas para micropipeta 100µL

- Pipetas Pasteur
- Hojas de Papel Filtro
- Cubreobjetos de 25x50 mm
- Papel para limpiar la óptica del microscopio
- Vasos de precipitado (varios volúmenes)
- Probeta graduada de 100mL
- Gradillas
- Tubos de ensaye de 10mL

#### Sustancias, Reactivos y Soluciones:

##### Almacenados a -20°C:

- Suero bovino fetal
- L-Glutamina, 200 mM
- Penicilina-Estreptomicina (10,000 unidades/mL de penicilina G sódica y 10,000 µg/ml de sulfato de estreptomicina)
- Fitohemaglutinina
- Medio de Cultivo Minimum Essential Medium, Alfa Medium

##### Almacenados a 4°C:

- Tripsina (1:250)
- Colchicina (10 µg/ml)

##### Almacenados a temperatura ambiente:

- Metanol
- Alcohol etílico absoluto anhidro
- Éter
- Ácido acético glacial
- Xilol (dimetil benceno)
- Buffer salino de fosfato 10X, pH = 7.2 (PBS10X)
- Aceite de inmersión

- Bicarbonato de sodio
- Cloruro de potasio, cristal
- Colorante GIEMSA
- Eosina-azul de metileno en solución según Wright
- Solución NaCl (cloruro de sodio, solución salina)
- Solución hipotónica [KCl 0.079M]
- Medio de montaje entellan

## V.2 Método

Se analizaron los cariotipos de los pacientes remitidos a un estudio citogenético por antecedentes de infertilidad, desde Enero de 2005 a Marzo de 2006. A los resultados obtenidos se les realizó un análisis estadístico para obtener los porcentajes de las anomalías cromosómicas encontradas en los pacientes con antecedentes de infertilidad.

### V.2.1 Cariotipo en sangre periférica

#### V.2.1.1 Recolección de muestra

Se colectó la muestra en tubos vacutainer con heparina y se mezcló suavemente. Se obtuvieron de 2 a 7 mL de sangre. Los tubos con la muestra eran identificados con el número de caso correspondiente, seguidos del año en el que se realizaron. Una vez recolectada la muestra, pudo ser almacenada bajo refrigeración hasta 5 días. A los pacientes se les realizó un cuestionario para obtener sus datos personales así como antecedentes clínicos (Anexo I).

#### V.2.1.2 Siembra

Las muestras que se procesaban el mismo día se almacenaban a temperatura ambiente, las que se procesaron un día después de almacenaron a 4°C. En tubos falcon estériles de 15mL, rotulados apropiadamente con el número de caso y la hora de siembra, se agregaron 10 mL de medio MEM $\alpha$ , adicionado con 15% de suero bovino fetal y 0.1 mL de Penicilina-Estreptomicina. Se sembraron 2 tubos por muestra. A cada tubo se le agregaron 200  $\mu$ L de fitohemaglutinina y 100  $\mu$ L de glutamina (200 mM). Finalmente se agregó 1mL de sangre a cada tubo. Se mezcló suavemente hasta homogeneizar. Los tubos se colocaron en el incubador a 37°C

con CO<sub>2</sub> y humedad relativa del 80% por 72 hrs. En este intervalo de tiempo, se mezclaron las muestras cada 24 hrs, para homogeneizar los nutrientes. A las 72 hrs de incubación, se agregó a cada tubo 100 µL de colchicina (10 µg/mL) se siguió incubando durante 1 hora.

#### V.2.1.3 Cosecha

Una vez cumplido el tiempo de incubación con colchicina los tubos se centrifugaron por 10 minutos a 1400 rpm y se desechó el sobrenadante. Se agregaron 5 mL de solución hipotónica (KCl 0.079 M) a 37°C, se resuspendió el botón y se incubaron los tubos por 20 minutos a 37°C. Posteriormente se agregaron 6 mL de fijador frío (metanol/etanol 3:1, preparado el mismo día que se utilizó) resuspendiendo las células con pipeta pasteur y luego por 10 minutos con el vortex, posteriormente se colocaron a -20°C por 20 minutos. Después se centrifugaron los tubos a 1400 rpm por 10 minutos. Se quitó el sobrenadante, se agregaron 4 mL de fijador y se resuspendió la muestra. Se realizaron los lavados necesarios a fin de obtener un botón blanco y un sobrenadante transparente. Una vez obtenidas estas características, se dejaron los tubos en el último lavado y se refrigeraron a -20°C y al día siguiente se elaboraron las laminillas.

#### V.2.1.4 Laminillas

A fin de observar los cromosomas en metafase fue necesario elaborar laminillas para observarlos en un microscopio de contraste de fases. Los portaobjetos que se utilizaron para hacer laminillas debieron estar perfectamente limpios. Los tubos con las muestras ya cosechadas se centrifugaron a 1400 rpm por 10 minutos. Se desechó el sobrenadante y se agregaron unas gotas de fijador nuevo y frío. Se tomaron las laminillas limpias y se sumergieron brevemente en un baño de agua destilada a 80°C y después se vertieron de 3 a 4 gotas de la muestra en



suspensión, dejándolas caer a una distancia de aproximadamente 40-50 cm. Esto se realizó en un ambiente húmedo (aprox. 80% de humedad relativa) y una temperatura por arriba de 27°C. Las laminitas se dejaron secar al aire libre. Ya seca la laminilla se observó en el microscopio de contraste de fases. En cada laminilla se anotó el número de caso. Dependiendo de la calidad de las metafases encontradas y si los cromosomas estaban extendidos se especificaba en la laminilla. Si las metafases se observaban muy cerradas, se le daba más altura a la gota de suspensión celular y en algunos casos se utilizaron 1-2 gotas de ácido acético. En caso de no lograr abrir las metafases y si ya no se contaba con más botón celular, se procedía a sembrar otra vez la muestra. Se dejaron madurar las células por 1 día mínimo en estufa a 60°C. Las laminillas que no fueron analizables se desecharon.

#### V.2.1.5. Bando G

Después de dejar las laminitas a 60°C se procedió a bandearlas. El tratamiento de las células con tripsina (1:250) (enzima proteolítica) y posterior tinción con Giemsa generó un patrón de bandas oscuras y claras a lo largo del cromosoma, que es característico para cada cromosoma en forma individual. Para esto se preparó el siguiente tren de tinción: En la primera caja coplin se hizo una solución con 300 mg/mL de tripsina (aliquotas de 300 mg/mL) y 50 mL de solución isotónica. Después de agitar, el pH debió estar entre 7 y 8. Para ajustar el pH se utilizó bicarbonato de sodio. En la segunda caja coplin se colocaron 50 mL de alcohol etílico al 70%. En la tercera caja coplin se pusieron 20 mL de colorante Wright filtrado adicionando 30 mL de buffer salino de fosfatos 10X (PBS 10X) y se agitó hasta obtener una mezcla homogénea. En la cuarta caja coplin se colocaron 5 mL de colorante Giemsa filtrado y 45 mL de agua destilada agitando hasta formar una solución homogénea. En un vaso de precipitados de 250 mL se pusieron aproximadamente 150 mL de agua corriente. Se colocaron las laminillas, una por una en la tripsina; empezando por 45-60 segundos. El tiempo dependió

directamente de la temperatura y siendo variable el tiempo para cada muestra. Se pasó la laminilla al alcohol al 70%, metiendo y sacando la laminilla para enjuagarla. Se pasó al colorante Wright por 15 segundos. De ahí se pasó al colorante Giemsa por 60 segundos. Se enjuagaron con agua corriente y se dejaron secar. Se evaluaron las laminillas al microscopio agregando una gota de agua destilada y cubreobjetos, se buscó con el objetivo de 10X una metafase y se observaron después a 100X con aceite de inmersión. Si las bandas se observaban bien definidas en los cromosomas de manera que era posible identificarlos adecuadamente se retiraba el cubreobjetos y se dejaba secar a temperatura ambiente. El tiempo crítico de la tripsina se aplicó a todas las laminillas de esa muestra. Si a los cromosomas les hizo falta más tiempo de exposición a tripsina, se observaba una coloración rosa homogénea y no se observaban las bandas claras y oscuras características. Si se pasó el tiempo de reacción de la tripsina, los cromosomas se observaban claros o transparentes y con bordes deshilachados. Se secaron y se realizó el montaje de las laminillas agregando 3 gotas de entellan, cubriendo con un cubreobjetos limpio y se dejaron secar al aire libre hasta el otro día. Los restos de resina se quitaron con xilol.

#### V.2.1.6. Análisis

Una vez bandeadas y montadas las laminillas se procedió al análisis del caso. Las laminillas se observaron en el microscopio, con el objetivo 10X para localizar las metafases. Una vez localizadas las metafases, se observaron con el objetivo de inmersión (100X). La imagen de la metafase se capturó y analizó en un programa especializado (CARIOFISH) en computadora. En la pantalla se presentaban los cromosomas desordenados, donde se tuvieron que ordenar y obtener el cariotipo. Se ordenaron los cromosomas por parejas, según su tamaño, posición del centrómero y su patrón de bandas. Se analizaron en promedio 20 metafases y en caso de encontrar alguna alteración se analizaron de 50 a 100 metafases. Terminado el análisis se procedió a realizar el informe de resultados.

## VI. RESULTADOS

Los cariotipos analizados de una población con antecedentes de infertilidad, fueron realizados entre el periodo de enero de 2005 a mayo de 2006 (16 meses). El total de cariotipos fue de 113, involucrando 71 varones (62.8%) y 42 mujeres (37.2%), entre 21 y 49 años de edad

Para el análisis de los resultados dividimos a nuestra población dependiendo del diagnóstico de infertilidad que presentaban, clasificando a los pacientes en los siguientes grupos: pérdida repetida de la gestación (PRG), estudio espermático alterado, infertilidad de causa desconocida y por último, alteraciones fisiológicas o anatómicas de los aparatos reproductores (masculino y femenino).

En pacientes con PRG, es importante realizar el cariotipo en la pareja, ya que este problema puede originarse debido al aporte genético alterado, ya sea por el padre, la madre o ambos. Dentro de este grupo se encuentran 32 pacientes de los cuales 18 son mujeres y 14 varones con edades de 22 a 44 años y dentro de este grupo se encuentran 9 parejas. Esto representa el 28.3% del total de nuestra población. En este grupo se presentaron 3 anomalías cromosómicas que corresponden al 9.4% de este grupo. Dos pacientes presentan una translocación recíproca balanceada, siendo una mujer (caso 52-05) y un varón (caso 115-05); otra mujer presenta un heteromorfismo en el cromosoma 9 (caso 165-05) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Pacientes con diagnóstico de pérdida repetida de la gestación.

Caso	Edad	Diagnóstico	Cariotipo
05-05	36	PRG	46,XX
<b>52-05</b>	<b>28</b>	<b>PRG</b>	<b>46,XX,t(6;13)</b>
65-05	38	PRG	46,XX
91-05	33	PRG	46,XX
92-05	34	PRG	46,XY
93-05	42	PRG	46,XY
106-05	36	PRG	46,XX
107-05	34	PRG	46,XY
114-05	22	PRG	46,XX
<b>115-05</b>	<b>27</b>	<b>PRG</b>	<b>46,XY,t(8;18)</b>
122-05	34	PRG	46,XX
141-05	26	PRG	46,XY
151-05	34	PRG	46,XX
156-05	32	PRG	46,XY
160-05	36	PRG	46,XY
161-05	26	PRG	46,XX
<b>165-05</b>	<b>28</b>	<b>PRG</b>	<b>46,XX,9qh+</b>
166-05	28	PRG	46,XY
16-06	31	PRG	46,XX
19-06	32	PRG	46,XX
22-06	33	PRG	46,XX
23-06	35	PRG	46,XY
37-06	44	PRG	46,XY
38-06	39	PRG	46,XX
42-06	31	PRG	46,XX
43-06	33	PRG	46,XY
44-06	30	PRG	46,XX
45-06	26	PRG	46,XY
50-06	32	PRG	46,XX
54-06	33	PRG	46,XX
55-06	37	PRG	46,XY
71-06	34	PRG	46,XY

PRG: pérdida repetida de la gestación

Se presentan las imágenes de los cariotipos normales tanto de una mujer (Figura 25) como de un varón (Figura 26), las cuales permiten hacer la comparación con los que presentan alguna alteración cromosómica.

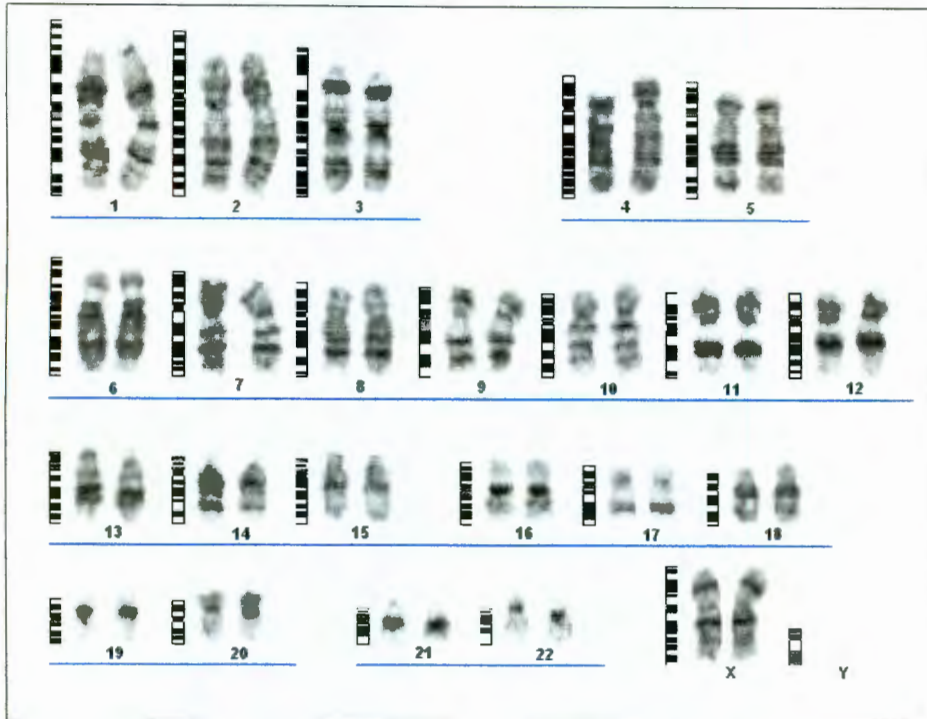


Figura 25. Cariotipo normal femenino. Paciente con cariotipo 46,XX que corresponde a un genotipo femenino normal.

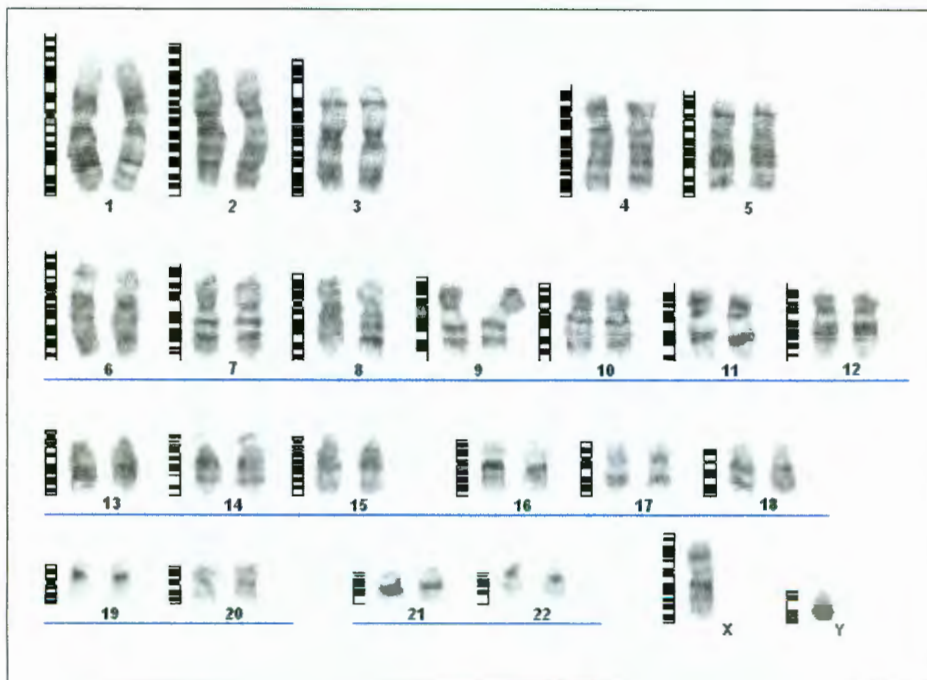


Figura 26. Cariotipo normal masculino. Paciente con cariotipo 46,XY que corresponde a un genotipo masculino normal.

El caso 52-05, mujer de 28 años de edad, presentó un diagnóstico de infertilidad secundaria, pérdida repetida de la gestación (2 abortos) y un huevo muerto retenido; además de un antecedente de un producto malformado con trisomía 13 que fallece a los 5 años. Al realizarle un cariotipo en sangre periférica muestra una translocación recíproca entre los cromosomas 6 y 13 (Figuras 27 y 28), el cariotipo se describe de la siguiente manera:

46,XX,t(6;13)(6qter→6p24::13q14→13qter;13pter→13q14::6p24→6pter)

Los puntos de unión y ruptura se encuentran en el cromosoma 6 en la banda p24 del brazo corto y en el cromosoma 13 en la banda q14 del brazo largo.

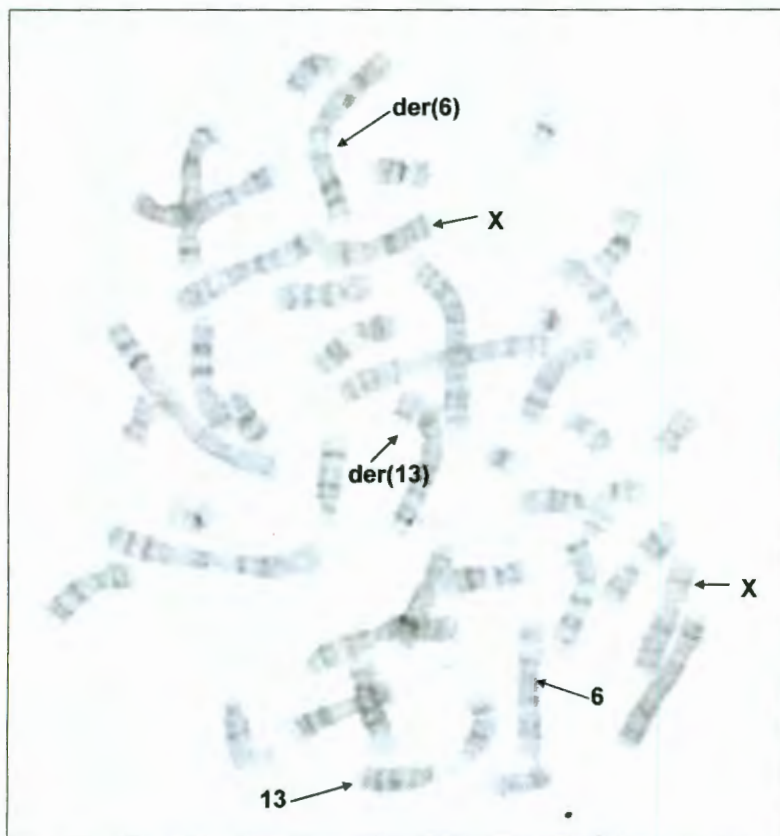


Figura 27. Metafase representativa del caso 52-05. Se muestra la translocación entre los cromosomas 6 y 13. La notación der(6) indica el cromosoma derivativo para el cromosoma 6 y el der(13) indica el cromosoma derivativo para el cromosoma 13. Además se muestran los cromosomas 6 y 13 normales, así como el par sexual.

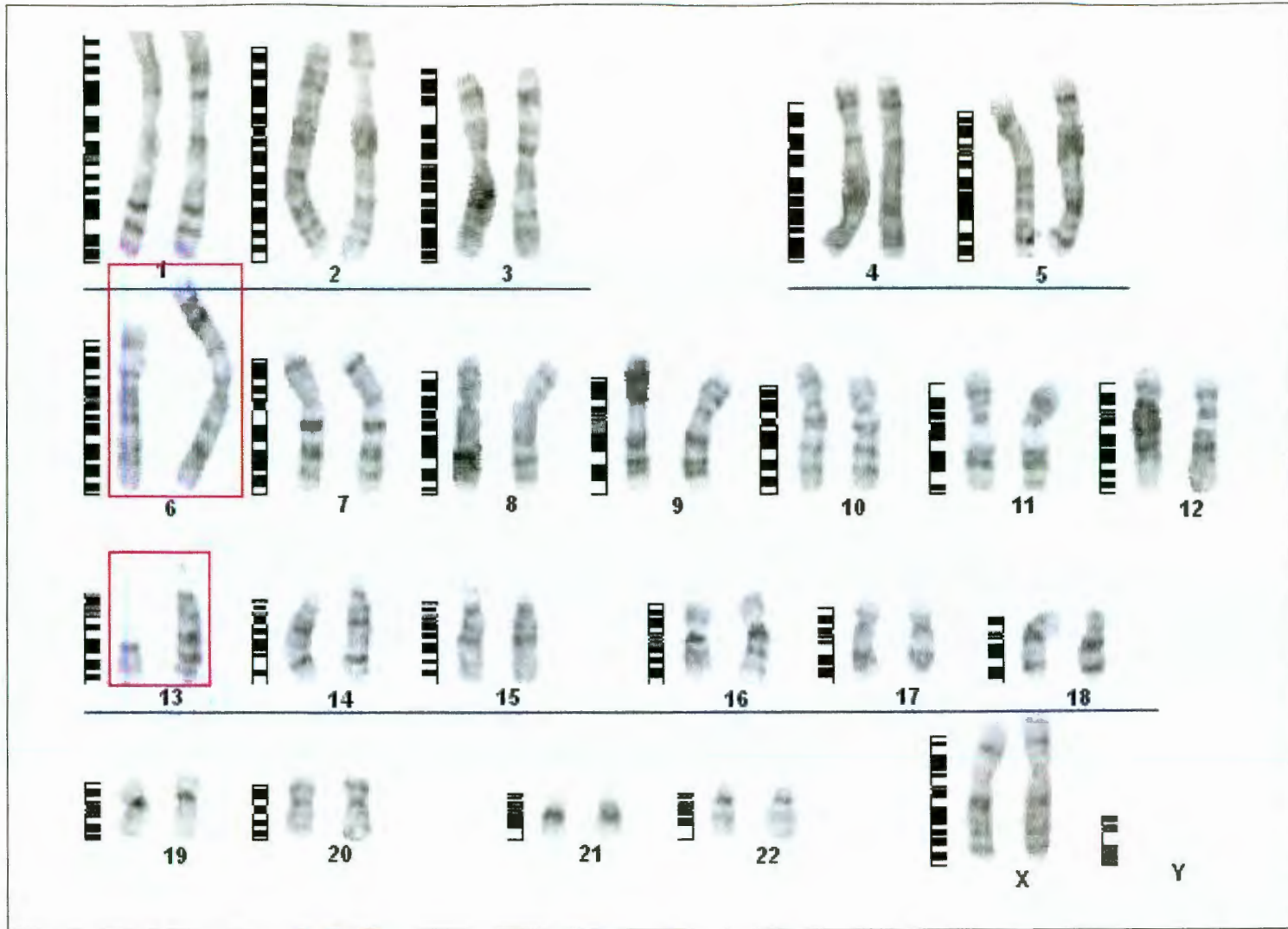


Figura 28. Cariotipo con translocación recíproca  $t(6;13)$ . Caso 52-05 con una translocación recíproca entre los cromosomas 6 y 13.

El caso 115-05, el cual es varón de 27 años, presenta un diagnóstico de infertilidad primaria de 4 años y pérdida repetida de la gestación. Al realizarle el cariotipo muestra una translocación recíproca entre los cromosomas 8 y 18 (Figuras 29 y 30). El cariotipo es el siguiente:

46, XY,t(8;18)(8qter→8p11.1::18p11.1→18pter;18qter→18p11.1::8p11.1→8pter)

Los puntos de ruptura son en los brazos cortos (p) de los dos cromosomas, en la banda p11.1 en ambos cromosomas. La nomenclatura completa de la translocación indica el lugar de ruptura y unión de los cromosomas, dando así dos cromosomas derivados.

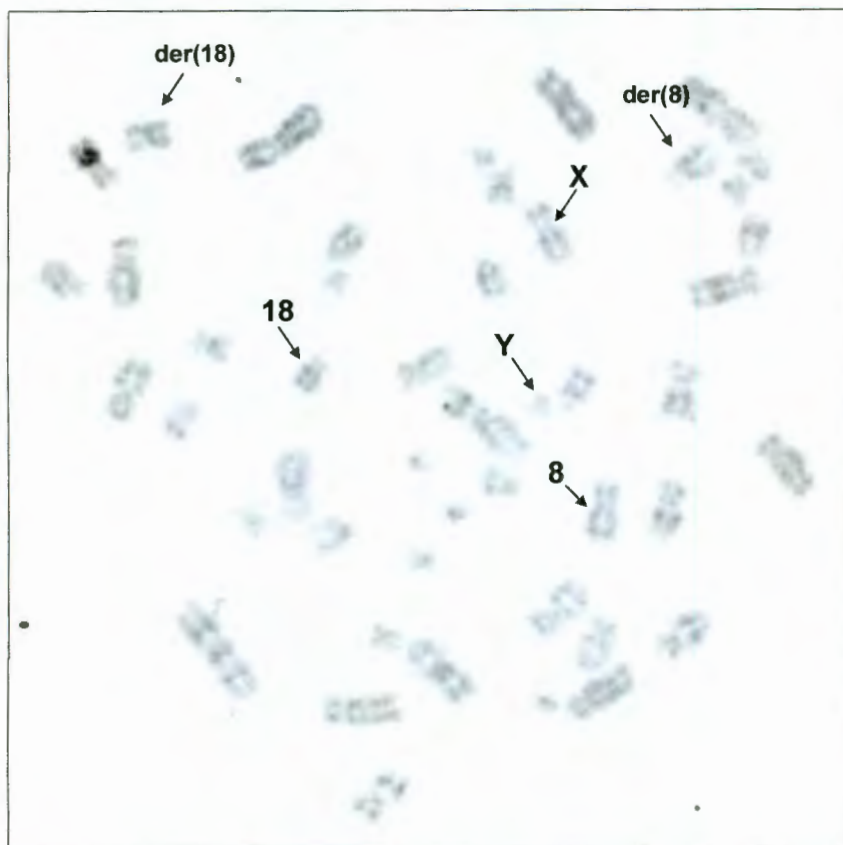


Figura 29. Metafase representativa del caso 115-05. Metafase con una translocación entre los cromosomas 8 y 18. El der(8) indica el cromosoma derivativo 8 y el der(18) indica el cromosoma derivativo 8, que son los cromosomas involucrados en la translocación. Se muestran además los cromosomas 8 y 18 normales y el par sexual.





Figura 30. Cariotipo con translocación recíproca t(8;18). Imagen del caso 115-05 con una translocación recíproca de los cromosomas 8 y 18.

El caso 165-05, presentaba como diagnóstico pérdida repetida de la gestación. Al realizar el cariotipo de sangre periférica muestra un heteromorfismo en el cromosoma 9 (46,XX,9qh+) (Figuras 31 y 32).

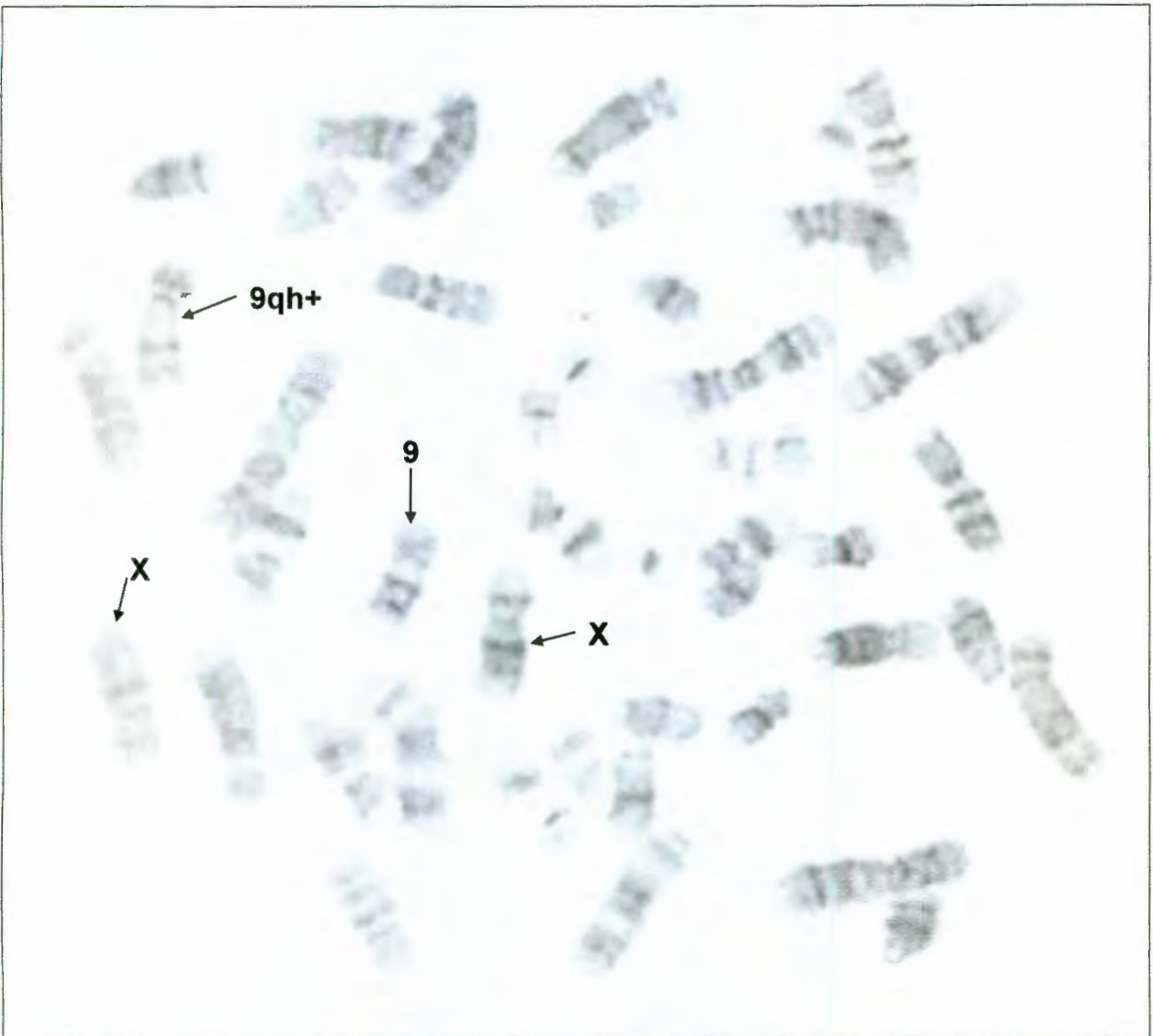


Figura 31. Metafase representativa del caso 165-05. Metafase mostrando el heteromorfismo en el cromosoma 9 (qh+), el cromosoma 9 normal así como el par sexual.

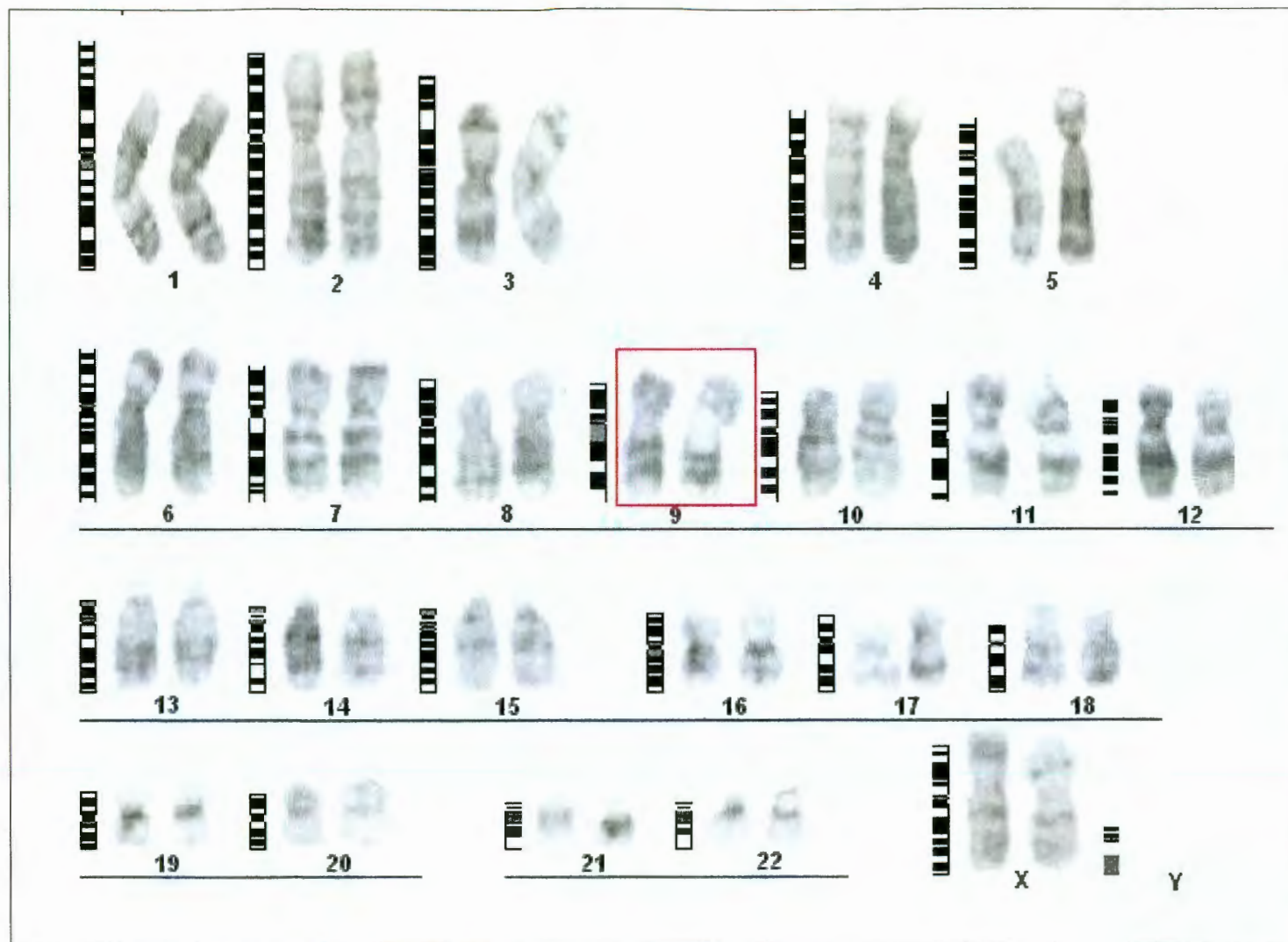


Figura 32. Cariotipo con duplicación de material genético 9q+. Imagen de caso 165-05 que presenta una duplicación en el cromosoma 9 (qh+).

El grupo con espermatobioscopia alterada, de 23 pacientes presentaron anomalías en la espermatobioscopia, mostrando desde oligozoospermia-leve a severa, astenozoospermia-leve a severa, teratozoospermia, hipospermia y azoospermia. Todos son varones con edades de 21 a 52 años y representan el 38% de nuestra población (Cuadro 4).

Dentro de este grupo, 7 presentan alguna alteración cromosómica (16.3%). De este grupo 4 presentaban un cariotipo 47,XXY que corresponde al síndrome de Klinefelter y representa 9.3% de este grupo (casos 08-05, 118-05, 28-06 y 79-07). El caso 13-06 muestra un heteromorfismo en el cromosoma 9 (46,XY,9qh+). Los casos 15-06 y 40-06 mostraron translocaciones recíprocas, 46,XY,t(2;4) y 46,XY,t(1;17) respectivamente.

Cuadro 3. Pacientes con espermatobioscopia alterada.

Caso	Edad	Diagnóstico	Cariotipo
08-05	31	Azoospermia	47,XXY
31-05	34	Oligoasteno severa	46,XY
68-05	34	OAT, azoospermia	46,XY
72-05	31	Asteno leve	46,XY
88-05	30	Asteno severa	46,XY
94-05	32	Azoospermia	46,XY
99-05	29	Azoospermia	46,XY
104-05	21	Azoospermia	46,XY
118-05	41	Hipospermia, Oligo severa, asteno leve	47,XXY
121-05	40	Oligo leve, Asteno severa	46,XY
125-05	24	Asteno leve	46,XY
126-05	44	Oligo Severa	46,XY
131-05	52	Azoospermia	46,XY
132-05	36	Oligo Asteno	46,XY
133-05	29	Asteno Leve	46,XY
139-05	35	Asteno leve	46,XY
159-05	38	Oligo/terato severa, asteno moderada	46,XY
179-05	31	Hipospermia oligo severa/asteno leve	46,XY
184-05	33	Asteno leve	46,XY
04-06	41	Hipospermia, asteno leve	46,XY
05-06	44	azoospermia	46,XY
06-06	40	Azoospermia	46,XY

(continúa Cuadro 3)

07-06	35	Oligo leve, cabeza esperma anormal	46,XY
08-06	34	Asteno leve, hipospermia	46,XY
11-06	38	Hipospermia, asteno severa	46,XY
13-06	39	Asteno leve	46,XY,9qh+
15-06	36	Azoospermia	46,XY,t(2;4)
17-06	31	hipospermia	46,XY
20-06	34	Asteno leve	46,XY
27-06	35	Azoospermia	46,XY
28-06	33	Azoospermia	47,XXY
32-06	34	Azoospermia	46,XY
39-06	38	Azoospermia	46,XY
40-06	36	Oligo moderada, asteno leve, terato.	46,XY,t(1;17)
46-06	30	Asteno leve	46,XY
48-06	36	Asteno leve	46,XY
49-06	35	Oligo, asteno leve, terato	46,XY
51-06	31	Asteno leve	46,XY
53-06	32	Azoospermia	46,XY
58-06	29	Oligo moderada, asteno leve	46,XY
61-06	40	Asteno leve	46,XY
64-06	49	Astenoteratozoospermia	46,XY
79-07	30	Azoospermia	47,XXY

■ Pacientes con alteración cromosómica

El paciente 08-05 de 31 años, presentó un diagnóstico de infertilidad primaria de 7 años. Al realizarse el historial clínico se observó azoospermia, testículos pequeños y niveles de la hormona folículoestimulante altos. Al realizar el cariotipo en sangre periférica mostró un cariotipo 47,XXY en el 100% de las células (Figuras 33 y 34).

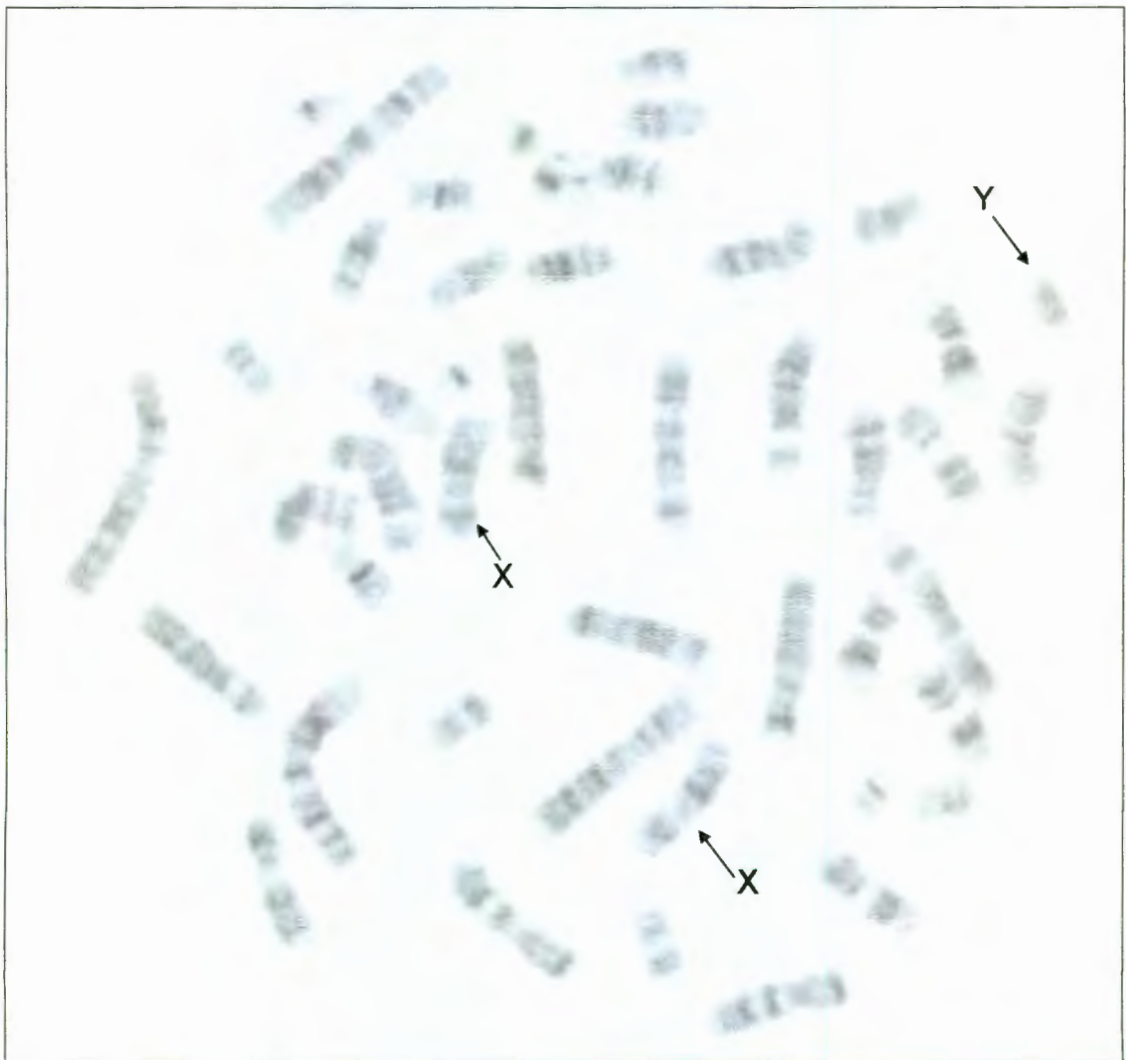


Figura 33. Metafase representativa del caso 08-05. Se muestra un complemento cromosómico 47,XXY que corresponde al síndrome de Klinefelter.



Figura 34. Cariotipo del caso 08-05. Paciente con cariotipo 47,XXY que corresponde al síndrome de Klinefelter.

El paciente 118-05 de 41 años, presentó infertilidad primaria de 16 años. Al realizar el historial clínico se observa que presentaba hipospermia, oligo severa y asteno leve; además de presentar niveles altos en las hormonas luteinizante y foliculoestimulante. Al realizar el cariotipo en sangre periférica mostró un complemento cromosómico 47,XXY en el 100% de las células analizadas (Figuras 35 y 36).

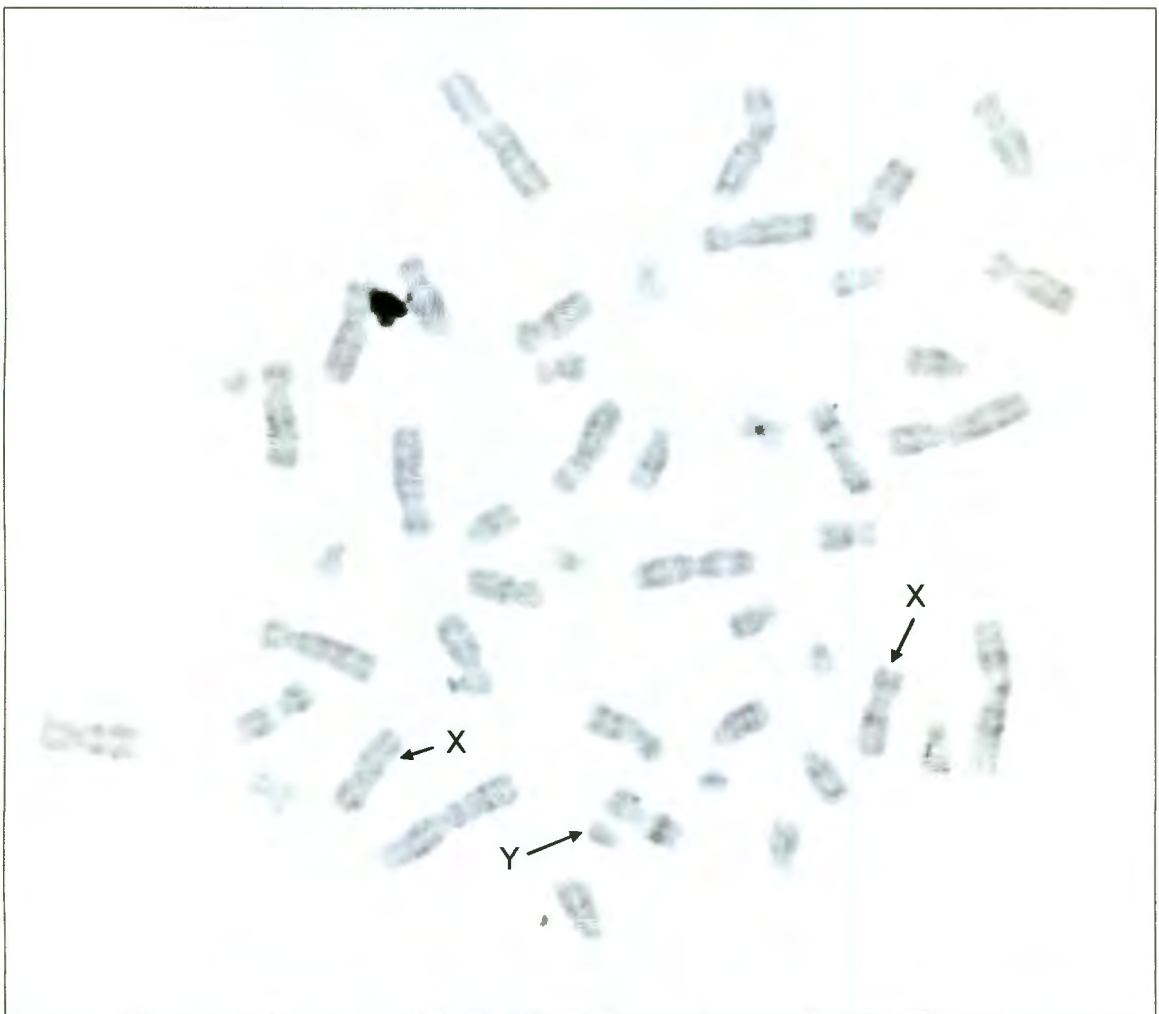


Figura 35. Metafase representativa del caso 118-05. Se muestra un complemento cromosómico 47,XXY.



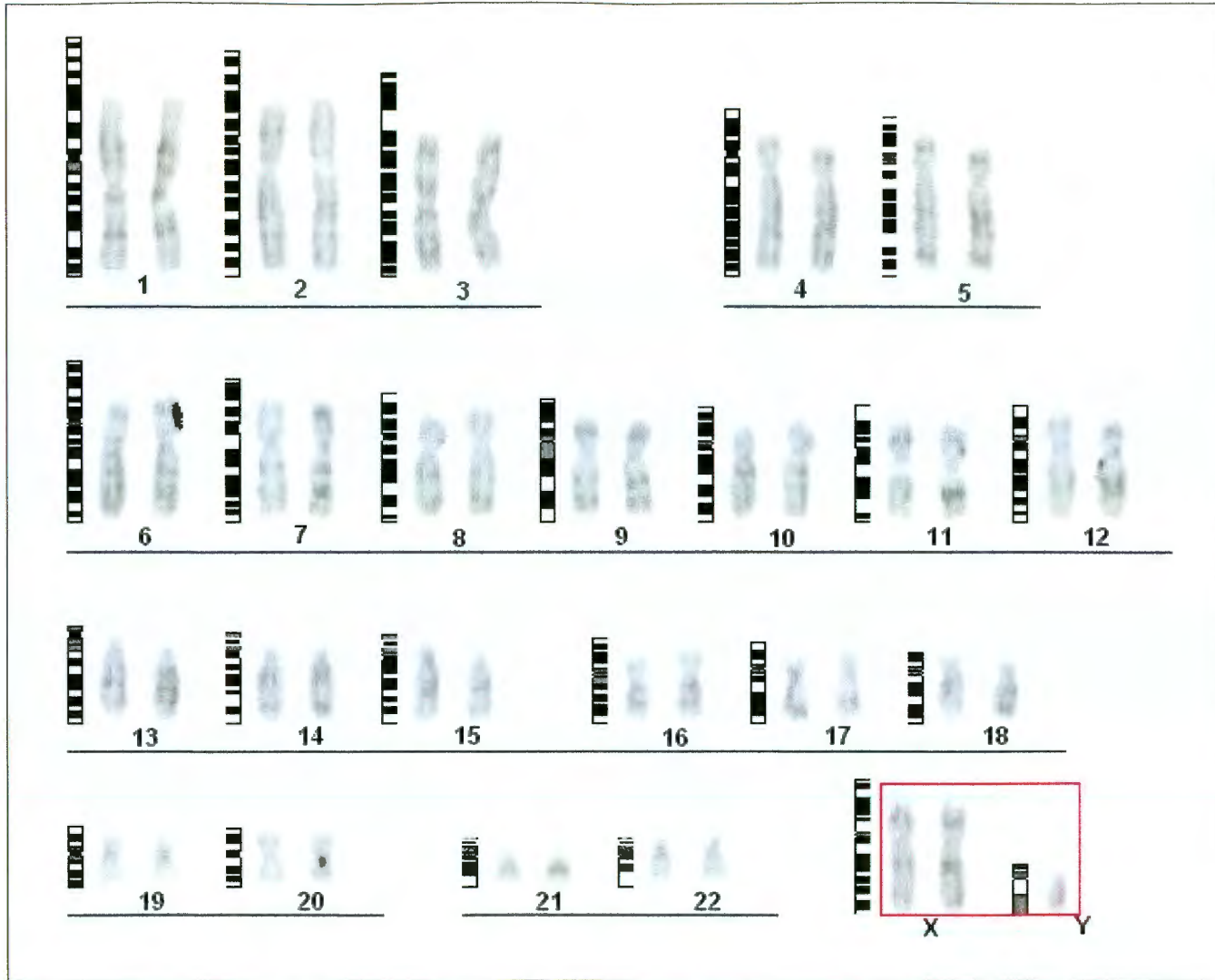


Figura 36. Cariotipo del caso 118-05. Paciente con cariotipo 47,XXY que corresponde a síndrome de Klinefelter.

El caso 13-06, varón de 39 años, presenta como diagnóstico infertilidad primaria de 8 años y asteno leve. Al realizarle cariotipo de sangre periférica muestra un polimorfismo del cromosoma 9 (9qh+), donde la región heterocromática se encuentra alargada (Figuras 37 y 38).

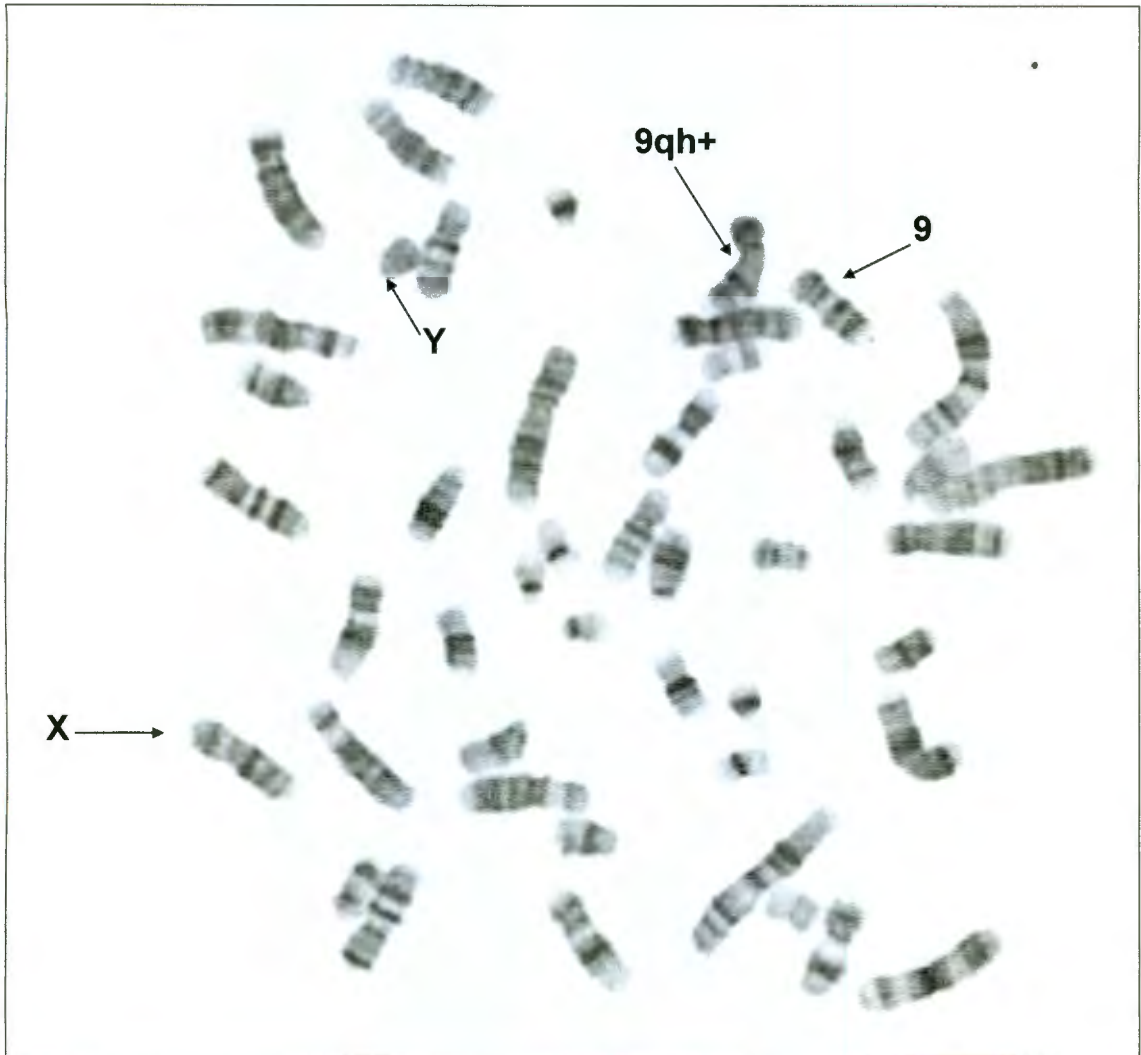


Figura 37. Metafase representativa del caso 13-06. Se muestra el heteromorfismo en el cromosoma 9, mostrándose un cromosoma homólogo más largo que el otro (qh+).

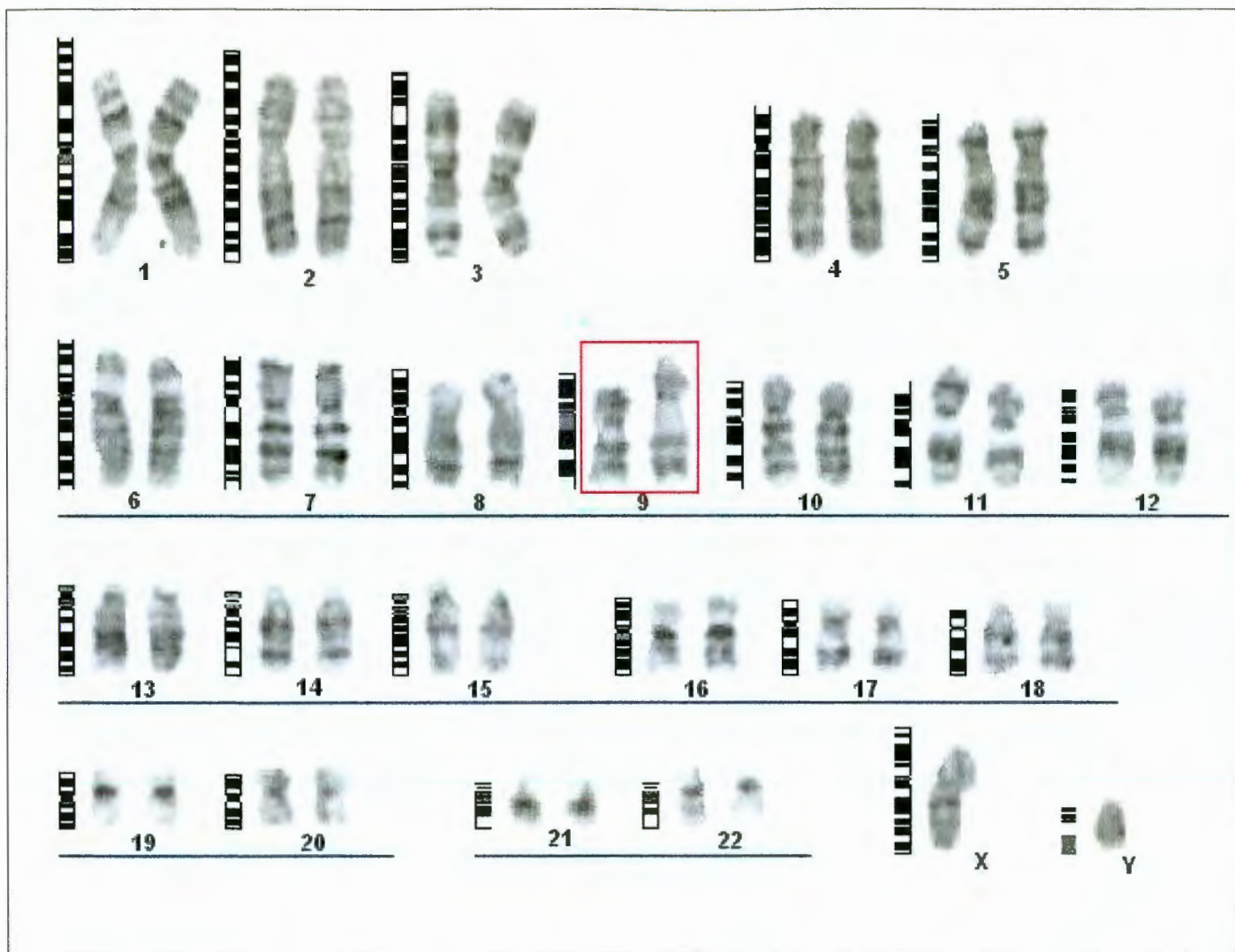


Figura 38. Cariotipo del caso 13-06. Imagen del cariotipo con una duplicación en el cromosoma 9 (qh+).

El caso 15-06, de sexo masculino, presenta un diagnóstico de infertilidad primaria de 2 años, azoospermia, y niveles altos de la hormona foliculoestimulante. Al realizarle cariotipo muestra una translocación recíproca entre los cromosomas 2 y 4 (Figuras 39 y 40). El cariotipo es el siguiente:

46,XY,t(2;4)(2pter→2q35::4q22→4qter;4pter→4q22::2q35→2qter)

Los puntos de ruptura son en los brazos largos (q) de los dos cromosomas. En el cromosoma 2, la banda de ruptura es en q35 y en el cromosoma 4 en la banda q22.

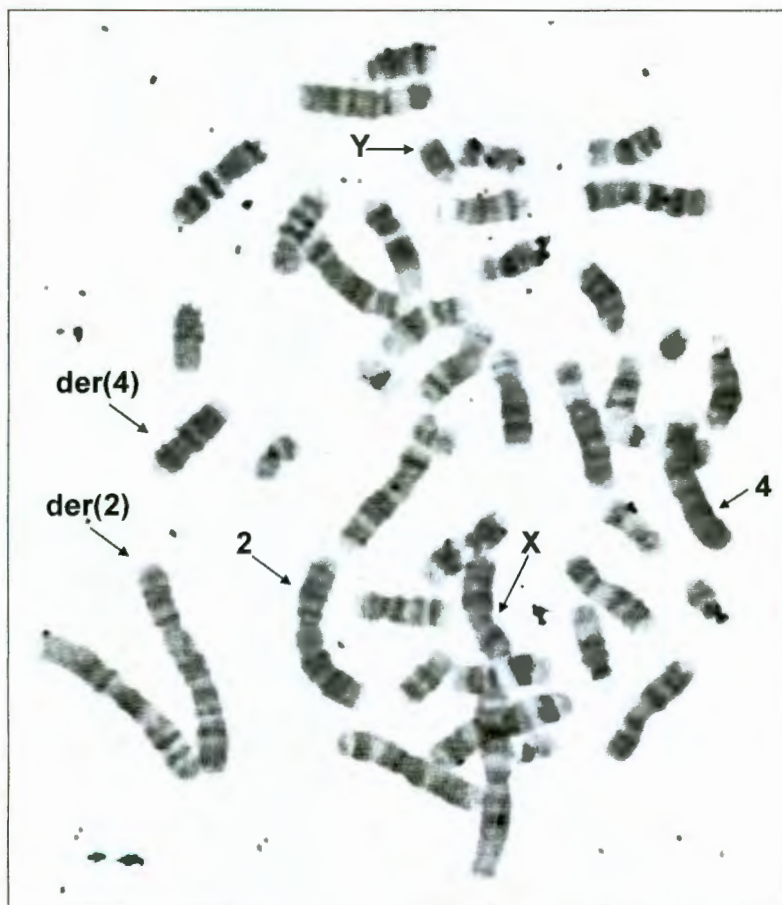


Figura 39. Metafase representativa del caso 15-06. Se muestra la translocación entre los cromosomas 2 y 4. El der(4) indica el cromosoma derivativo para el 4 y el der(2) indica el cromosoma derivativo para el 2. Se señalan también los cromosomas 2 y 4 normales y el par sexual.

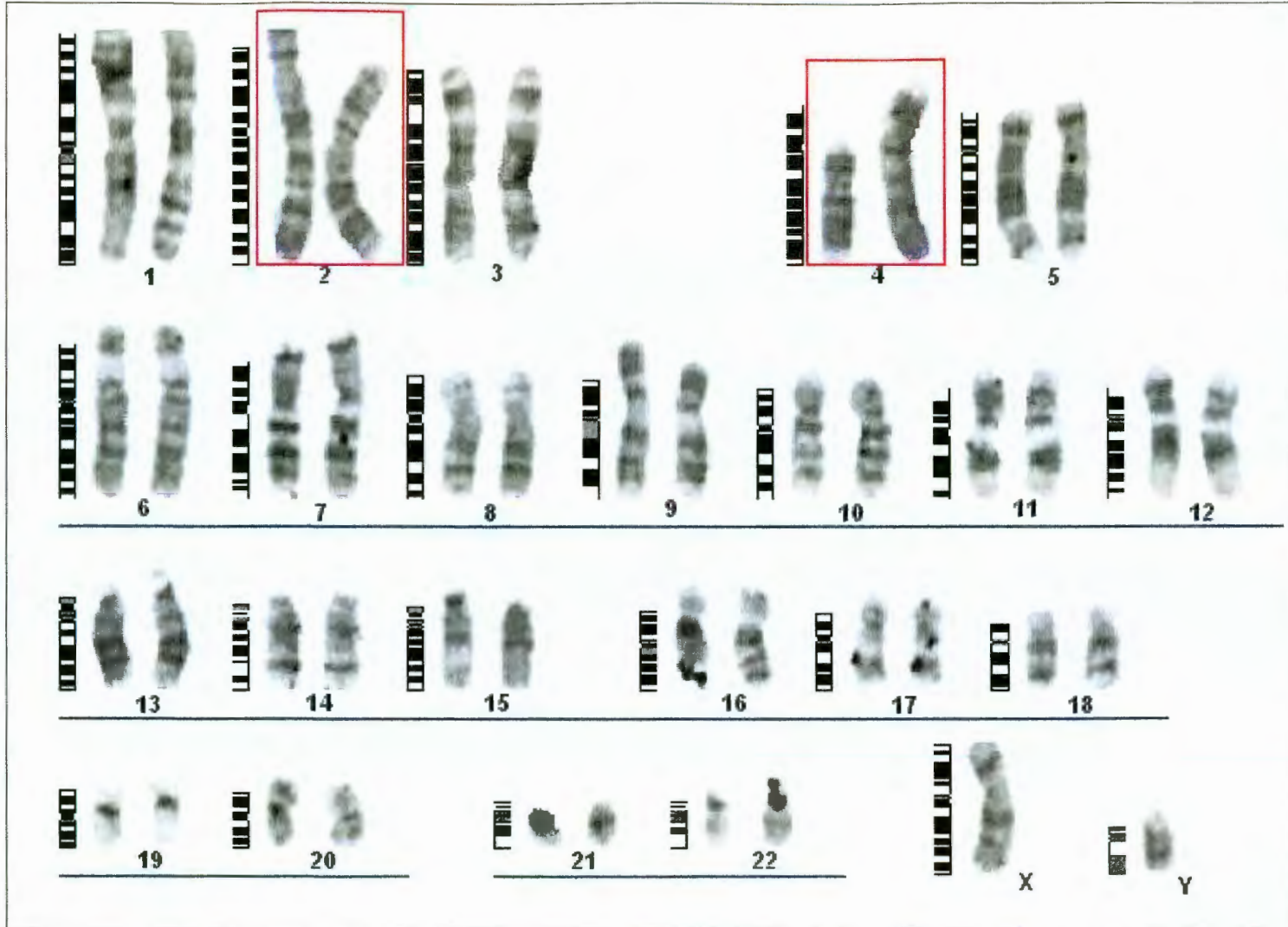


Figura 40. Cariotipo con translocación recíproca t(2;4). Caso 15-06 con una translocación recíproca entre los cromosomas 2 y 4.

El paciente 28-06 de 33 años de edad, presentó un diagnóstico de azoospermia. En el historial clínico muestra testículos pequeños y niveles altos de las hormonas luteinizante y foliculoestimulante. Al realizar el cariotipo mostró un complemento cromosómico 47,XXY en el 100% de las células analizadas (Figuras 41 y 42).



Figura 41. Metafase representativa del caso 28-06. Se muestra un complemento cromosómico 47,XXY que corresponde al síndrome de Klinefelter.

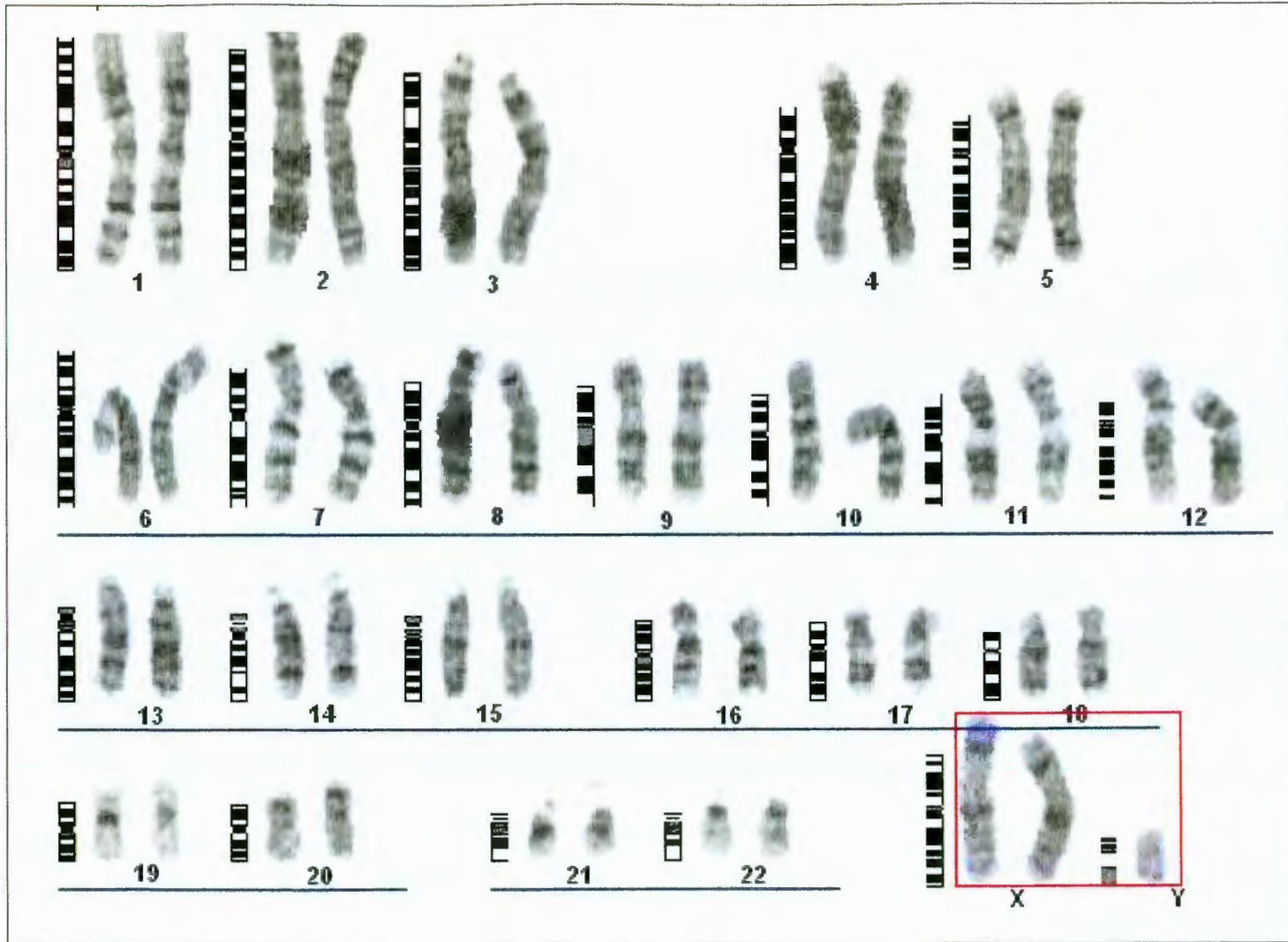


Figura 42. Cariotipo del caso 28-06. Imagen de un cariotipo 47,XXY que corresponde a un paciente con síndrome de Klinefelter.

El caso 40-06 de 36 años, presentó infertilidad primaria de 10 años, oligozoospermia moderada, astenozoospermia leve y teratozoospermia. Al realizarle el cariotipo en sangre periférica mostró una translocación recíproca entre los cromosomas 1 y 17 (Figuras 43 y 44). El cariotipo reportado fue el siguiente:

46,XY,t(1;17)(1pter→1q21::17p11.2→17pter;17qter→17p11.2::1q21→1qter)

Los puntos de ruptura y unión se encuentran en el brazo largo del cromosoma 1 y en el brazo corto del cromosoma 17. En el cromosoma 1 la ruptura está en la banda q21 y en el cromosoma 17 la ruptura se da en la banda p11.2.

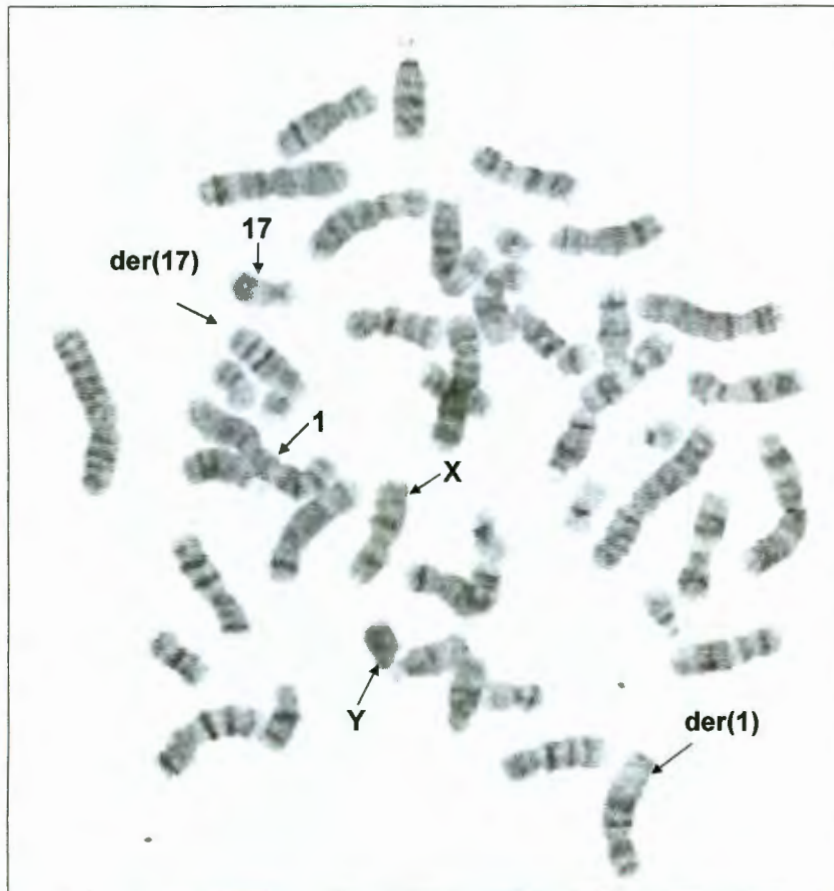


Figura 43. Metafase representativa del caso 40-06. Se muestra la translocación entre los cromosomas 1 y 17. El der(1) indica el cromosoma derivativo para el cromosoma 1 y el der(17) indica el cromosoma derivativo para el cromosoma 17. Se presentan los cromosomas 1 y 17 normales y el par sexual.



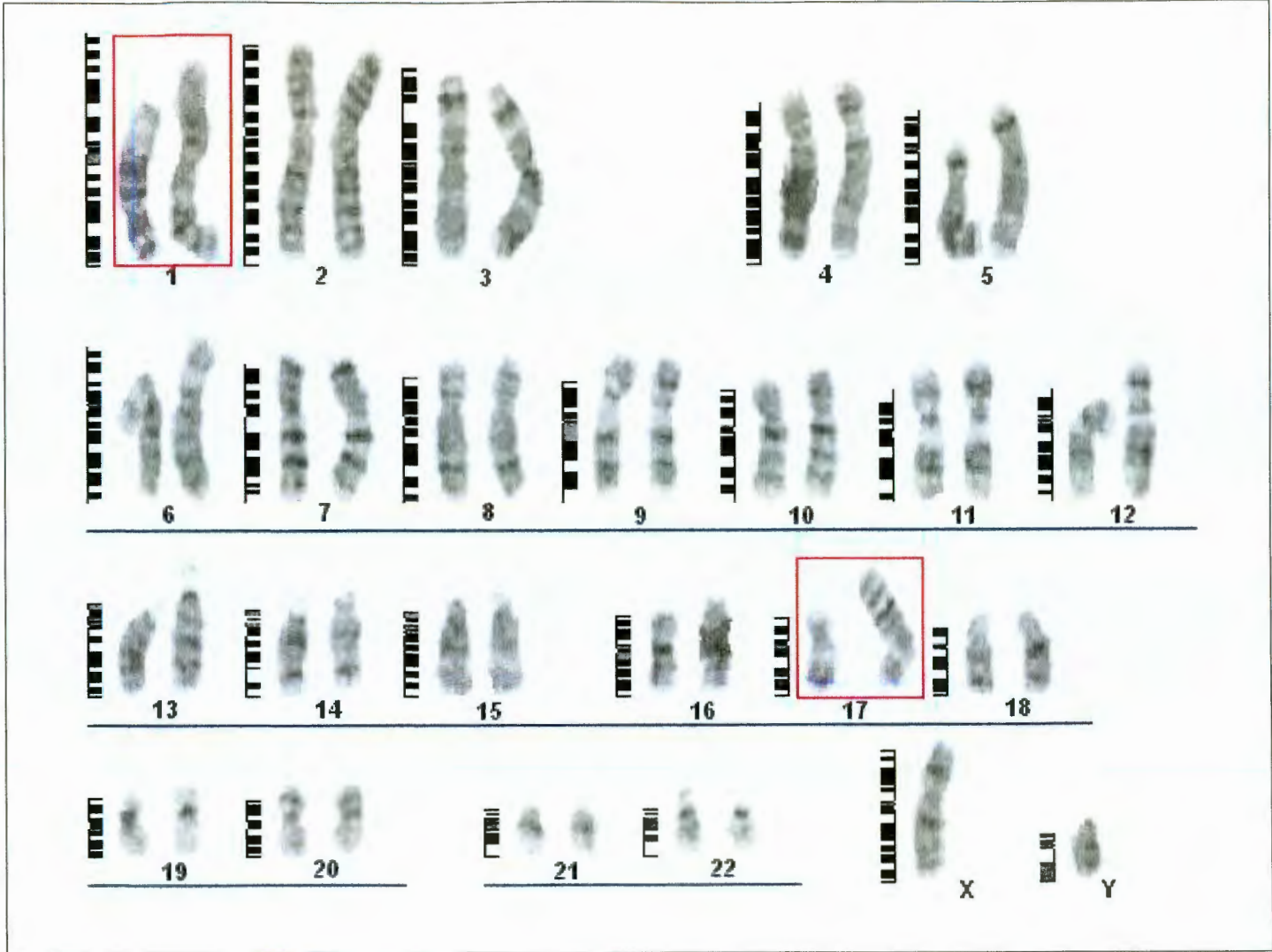


Figura 44. Cariotipo con translocación recíproca t(1;17). Caso 40-06 con una translocación recíproca entre los cromosomas 1 y 17.

El paciente 79-07 de 30 años, presentó un diagnóstico de azoospermia. En el historial clínico muestra testículos pequeños. Al realizar el cariotipo mostró un complemento cromosómico 47,XXY en el 100% de las células analizadas (Figuras 45 y 46).



Figura 45. Metafase representativa del caso 79-07. Se muestra un complemento cromosómico 47,XXY que corresponde a síndrome de Klinefelter.

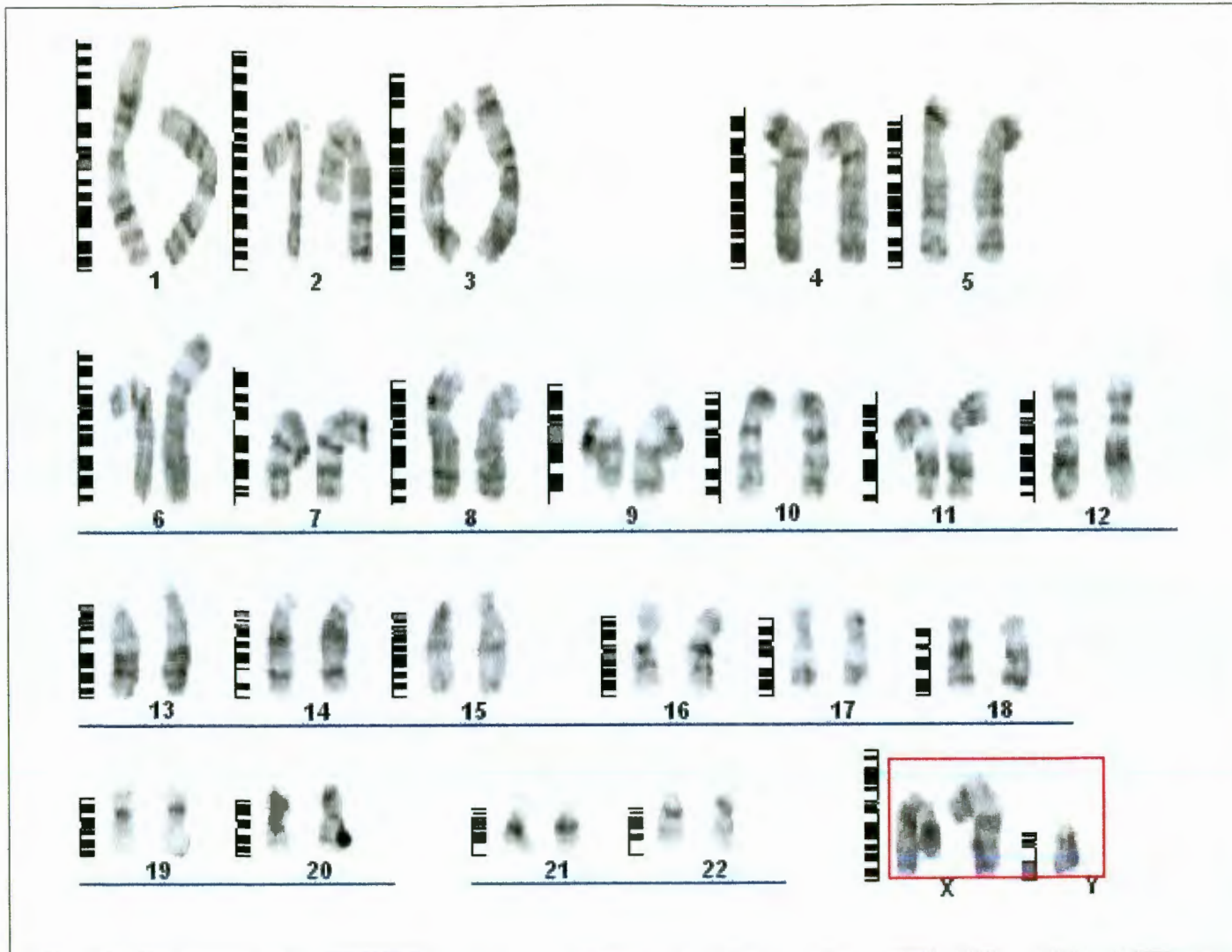


Figura 46. Cariotipo del caso 79-07. Imagen del cariotipo 47,XXY del caso 79-07 que corresponde a síndrome de Klinefelter.

El grupo de infertilidad idiopática en varones de 10 pacientes (8.8%) presenta infertilidad primaria y secundaria de causa desconocida, con edades de 30 a 47 años y todos varones. Dentro de este grupo solo se encuentra una inversión en el cromosoma 9 (caso 52-07), que representa el 10% de este grupo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Pacientes varones con diagnóstico de infertilidad idiopática.

Caso	Edad	Diagnóstico	Cariotipo
23-05	32	Inf. 1ª de 4 años	46,XY
61-05	38	Inf. 1ª de 5 años	46,XY
128-05	40	Inf. 1ª	46,XY
163-05	30	Inf. 1ª	46,XY
167-05	47	Inf. 2ª	46,XY
169-05	30	Inf. 1ª	46,XY
02-06	43	Inf. 1ª de 12 años	46,XY
26-06	36	Inf. 1ª de 15 años	46,XY
<b>52-07</b>	<b>36</b>	<b>Inf. 1ª de 4 años</b>	<b>46,XY,inv(9)</b>
70-06	35	Inf. 1ª de 2 años	46,XY

■ Pacientes con alteración cromosómica

El caso 52-07 presentó un diagnóstico de infertilidad primaria de 4 años de causa desconocida. Este paciente es varón, con edad de 36 años y normozoospermico. Al realizar el cariotipo de sangre periférica muestra una inversión pericéntrica en un cromosoma 9 (Figuras 47 y 48) reportándose un cariotipo:

46,XY,inv(9)(p12;q13)

La inversión se presenta entre las bandas p12 del brazo corto y q13 del brazo largo.

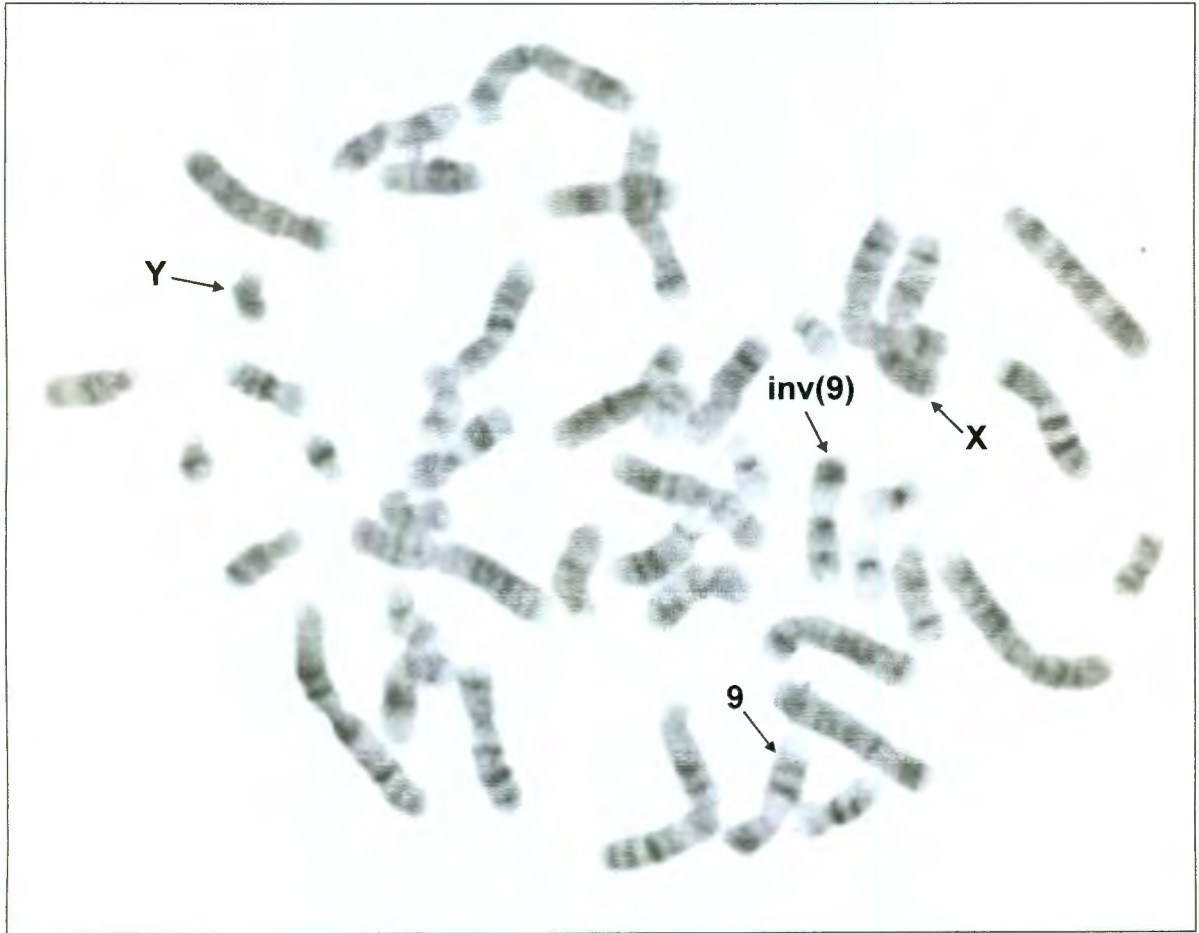


Figura 47. Metafase representativa del caso 52-07. Cromosomas en metafase donde se muestra el cromosoma 9 normal y el cromosoma 9 invertido (inv(9)), así como el par cromosómico sexual.

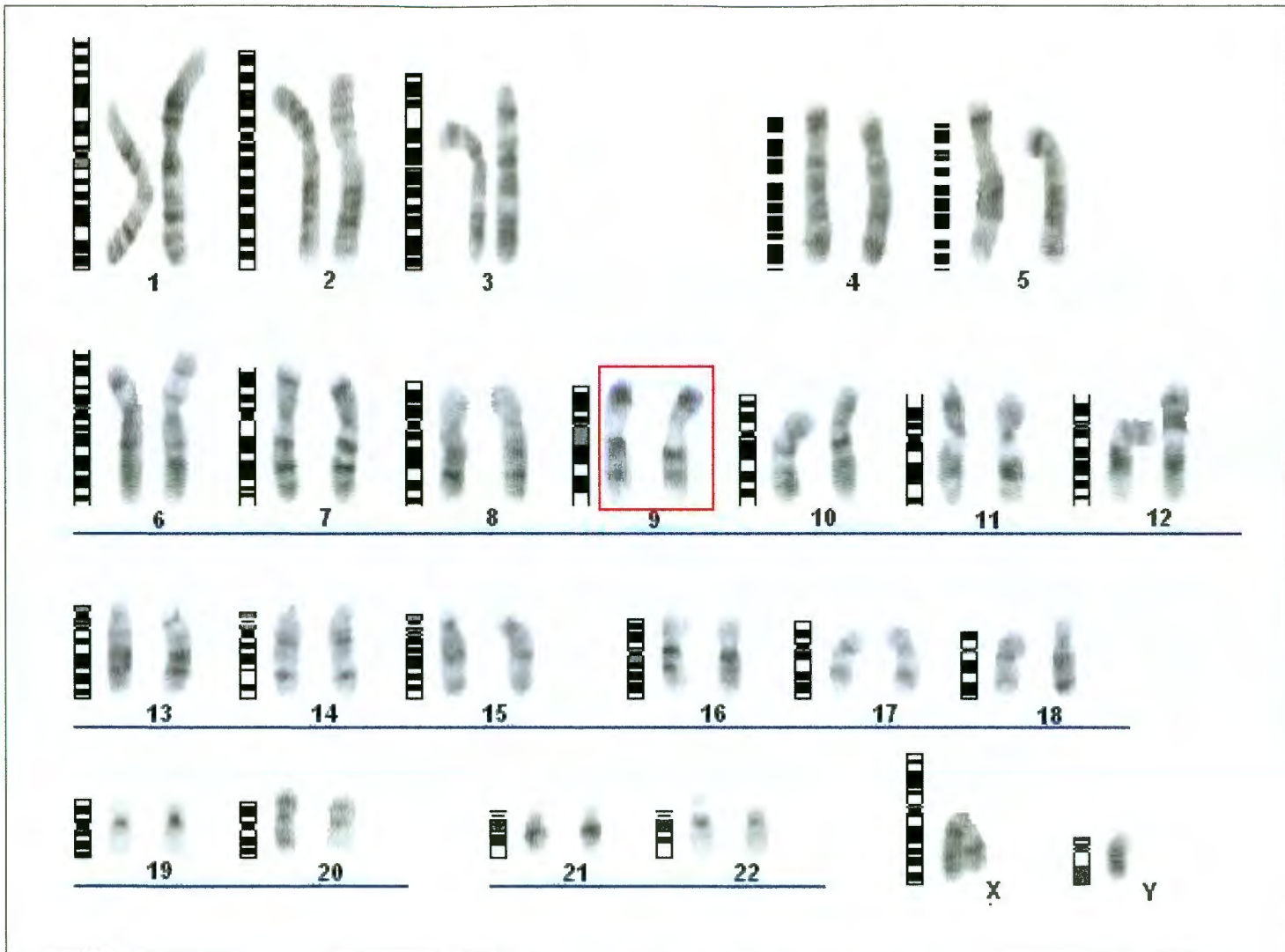


Figura 48. Cariotipo con inversión pericéntrica. Paciente 52-07 con una inversión pericéntrica en un cromosoma 9.

El grupo de infertilidad idiopática en mujeres está formado por 9 pacientes (8%), con edades de 26 a 38 años. Dentro de este grupo se encuentra un heteromorfismo del cromosoma 9 (caso 124-05) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Pacientes mujeres con infertilidad idiopática.

Caso	Edad	Diagnóstico	Cariotipo
03-06	36	Inf. 1ª de 8 años	46,XX
31-06	31	Inf. 1ª de 4 años	46,XX
34-06	26	Inf. 1ª de 4 años	46,XX
35-06	34	Inf. 1ª de 2 años,	46,XX
47-06	34	Inf. 1ª	46,XX
60-06	35	Inf. 1ª de 1 año	46,XX
124-05	35	Inf. 1ª de 1.5 años	46,XX,9qh+
127-05	28	Inf. 1ª de 2 años	46,XX
183-05	38	Inf. 1ª de 6 años	46,XX

■ Pacientes con alteración cromosómica

El caso 124-05 es una mujer con diagnóstico de infertilidad primaria de 8 años y miomatosis uterina. Se le han realizado 3 fertilizaciones in vitro (FIV) con resultados negativos, la segunda con huevo muerto retenido; y tres inseminaciones intrauterinas (IIU) también con resultados negativos. Se le realizó cariotipo de sangre periférica mostrando un heteromorfismo en el cromosoma 9 (Figuras 49 y 50). El cariotipo es el siguiente:

46,XX,9qh+

El heteromorfismo se observa como un alargamiento del brazo largo del cromosoma 9, brazo q, en una región de heterocromatina.

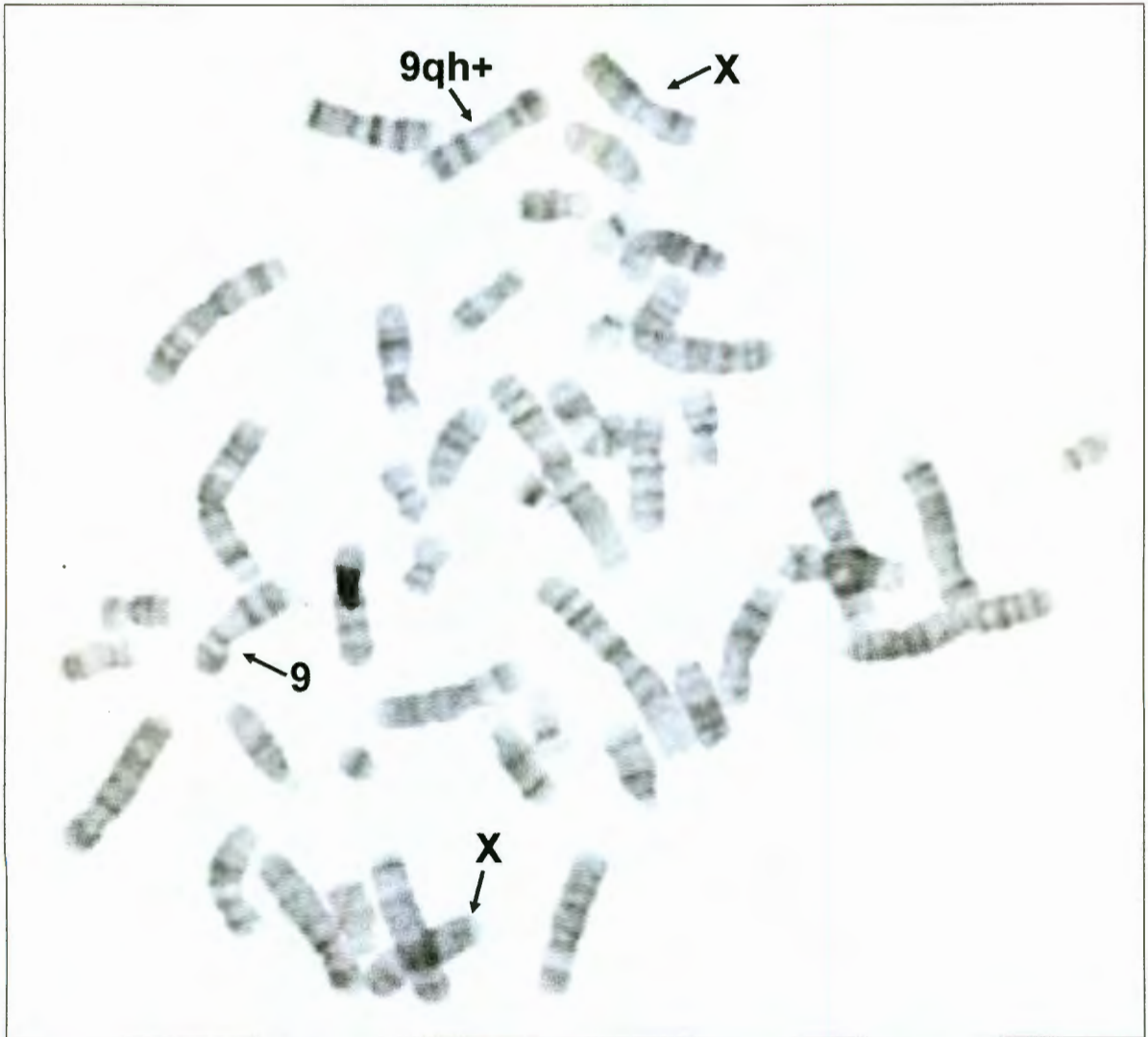


Figura 49. Metafase representativa del caso 124-05. Se muestra el heteromorfismo en el cromosoma 9 (qh+) y se señala el cromosoma 9 normal así como el par sexual.





Figura 50. Cariotipo del caso 124-05. Imagen del cariotipo del caso 124-05 con una duplicación de material en el cromosoma 9 (9qh+).

El grupo con factor físico de infertilidad de 19 pacientes (16.8%), presentaron un factor de infertilidad fisiológico. Dentro de este grupo se encuentran 4 hombres y 15 mujeres de 22 a 38 años, en los cuales no se identificó ninguna anomalía cromosómica por esta metodología (Cuadro 6).

Cuadro 6. Pacientes con factor físico de infertilidad.

Caso	Edad	Diagnóstico	Cariotipo
17-05	33	Hidrocele bilateral	46,XY
24-05	38	Obstrucción tubárica bilateral, factor tuboperitoneal	46,XX
54-05	30	Falla Ovariva Prematura	46,XX
96-05	23	Falla en IIU	46,XX
102-05	22	Calcificación IIU(2) neg	46,XY
71-05	33	Síndrome adrenal severo Factor uterino y tubarico	46,XX
109-05	38	Estenosis cervical severa	46,XX
112-05	25	Útero unicoide	46,XX
129-05	22	Endometriosis grado I	46,XX
138-05	33	Factor endometrial	46,XX
142-05	36	Atrofia testicular bilateral	46,XY
144-05	25	Hipogonadismo hipogonadotrófico	46,XX
170-05	33	Probable Ovario Poliquístico	46,XX
182-05	38	Endometriosis Mioma	46,XX
09-06	33	Probable anomalía mulleriana	46,XX
25-06	36	Probable síndrome adherencial	46,XX
36-06	22	Disginesia gonadal	46,XX
67-06	31	Quiste de epidídimo	46,XY
69-06	29	Miomatosis	46,XX

IIU= inseminación intrauterina

El total de anomalías cromosómicas encontradas en la población analizada fue del 10.6% (Cuadro 7), 4 pacientes con 47,XXY (síndrome de Klinefelter 3.5%), 4 con translocaciones recíprocas balanceadas [t(8;18), t(2;4), t(6;13), t(1;17)] (3.5% al igual que los pacientes con síndrome de Klinefelter), uno con inversión en el cromosoma 9 (que corresponde al 0.9%) y 3 con duplicaciones también en el cromosoma 9 (que representan el 2.7%). La duplicación en el cromosoma 9 es considerada como un heteromorfismo.

Cuadro 7. Frecuencia de alteraciones cromosómicas en pacientes con antecedentes de infertilidad.

Aberración		Cariotipo	Cantidad (% del total de cariotipos)
Numérica	Sexual	47,XXY	4 (3.5%)
Estructural	Translocación	46,XY,t(8;18)	4 (3.5%)
		46,XY,t(2,4)	
		46,XY,t(1;17)	
		46,XX,t(6;13)	
	Inversión	46,XY,inv(9)	1 (0.9%)
	Inserción	46,XY,9qh+	3 (2.7%)
		46,XX,9qh+	
46,XX,9qh+			

■ Varon

■ Mujer

## VII. DISCUSIÓN

Este trabajo muestra los resultados encontrados en pacientes con antecedentes de infertilidad a los que se les realizó un estudio de cariotipo. En estos pacientes se sugiere que las alteraciones cromosómicas son el factor etiológico de la falla reproductiva. Al realizar este estudio encontramos anomalías cromosómicas tanto numéricas como estructurales.

En pérdida repetida de la gestación la frecuencia de anomalías cromosómicas es más alta que en pacientes sin este diagnóstico (Clementini y col., 2005; Gardner y Sutherland, 2004). Un estudio realizado en Israel a 554 parejas con este diagnóstico reporta un 10.19% de anomalías cromosómicas (Carp y col., 2006). Otro estudio realizado en los países bajos a 1324 parejas con antecedentes de pérdida repetida de la gestación reporta una frecuencia de 35.65% de anomalías cromosómicas (Goddijn y col., 2004). El porcentaje de alteraciones cromosómicas encontradas en nuestros pacientes con PRG fue de 9.4% el cual también coincide con el grupo de Carp y colaboradores (Carp y col., 2006). Las alteraciones cromosómicas que encontramos con más frecuencia fueron las translocaciones recíprocas, al igual que lo reportado en la literatura donde muestran a las translocaciones como las más frecuentes en parejas con falla reproductiva (Goddijn y col., 2004; Ogasawara y col., 2004).

Es de gran importancia evaluar a la pareja infértil y no solo a uno de ellos ya que ambos pueden ser portador de alguna alteración cromosómica y ser la causa de la infertilidad, como son los casos de pérdida repetida de la gestación. En el estudio realizado en parejas infértiles de Francia, reportan que el riesgo de ser portador de alguna alteración cromosómica es igual en hombres que en mujeres (Gekas y col., 2001).

Otro grupo que se evaluó fue pacientes con espermatobioscopia alterada. Evaluaciones citogenéticas realizadas a hombres con alguna alteración en la espermatobioscopia muestran una alta incidencia de alteraciones cromosómicas comparados con la población en general y entre mas bajo es el conteo espermático mayor es la incidencia (Clementini y col., 2005; Gekas y col., 2001; Nagvenkar y col., 2005). Varios estudios han reportado en pacientes con azoospermia y oligozoospermia una frecuencia entre un 5.6% a un 11.15% de alteraciones cromosómicas (Clementini y col., 2005; Dohle y col., 2002; Foresta y col., 2005; Nagvenkar y col., 2005; Pina-Neto y col., 2006). En nuestra población de estudio se identificó un 16.3% el porcentaje es alto en comparación con lo reportado en la literatura, lo que se sugiere aumentar el número de población para ver si en realidad nuestro porcentaje esta más elevado que los previamente reportados.

Las alteraciones cromosómicas que se encontraron con mayor frecuencia en pacientes con espermatobioscopia alterada son las que involucra a los cromosomas sexuales. El cariotipo 47,XXY que corresponde al síndrome de Klinefelter es el más frecuente, encontrándose mayormente en el grupo de individuos con azoospermia (Clementini y col., 2005; Dohle y col., 2002; Foresta y col., 2005; Pina-Neto y col., 2006). Esto coincide con lo que obtuvimos en nuestro estudio, ya que el cariotipo 47,XXY fue el más frecuente de este grupo con un 8.5%. En nuestra población también encontramos translocaciones recíprocas en un 4.65%. Esto concuerda con lo reportado anteriormente en pacientes oligozoospermicos y azoospermicos donde las alteraciones cromosómicas estructurales reportadas con frecuencias son las translocaciones recíprocas (Clementini y col., 2005; Dohle y col., 2002; Foresta y col., 2005; Pina-Neto y col., 2006).

En el caso de infertilidad de causa desconocida se estudiaron dos grupos, uno de hombres y otro de mujeres. En el grupo de hombres se encontró una inversión de cromosoma 9 que corresponde al 10% de este grupo. Clementini y col. reportan en

pacientes con antecedentes de infertilidad y normozoospermicos una frecuencia de 0.96% de alteraciones cromosómicas, Gekas y col. reportan una frecuencia de 3.02%. Nuestros resultados muestran que la frecuencia es más alta, aunque nuestra población tendrá que ser más significativa, lo que nos permitirá hacer un comparativo más confiable, además de proporcionar un estadístico de estos polimorfismos en la población mexicana, principalmente de la región del centro del país. En el grupo de mujeres solo se encontró un heteromorfismo de cromosoma 9 y al igual que en el de hombres el número es muy reducido. Sin embargo, se sugiere incrementar el número de pacientes para obtener información mas certera para la población mexicana del bajo.

Haciendo un comparativo de los pacientes con el mismo tipo de alteraciones cromosómicas se observó que cuatro pacientes con cariotipo 47,XXY que corresponde al síndrome de Klinefelter, tres de ellos reportan azoospermia y uno reporta hipospermia, oligozoospermia severa y astenozoospermia leve. En tres se reportan niveles de la hormona foliculoestimulante alta, así como de la hormona luteinizante. Los cuatro pacientes muestran testículos pequeños (Cuadro 8). Esto concuerda con lo descrito como características generales de pacientes de pacientes con síndrome de Klinefelter (Kamischke y col., 2003). En la mayoría de los casos con este síndrome se presentó en el 100% de las células, los pacientes se reportan como azoospermicos, pero también hay casos reportados donde pueden encontrarse espermatozoides en pacientes con este síndrome e inclusive pueden ser fértiles (Gardner y Sutherland, 2004; Kamischke col., 2003). Por otra parte, otro grupo en el que analizan a 150 hombres candidatos a ICSI con azoospermia y oligozoospermia severa, se encontraron anomalías citogenéticas tanto numéricas como estructurales en el 10%. Entre estos se encontraron 6 pacientes con síndrome de Klinefelter, 3 con azoospermia y los otros tres con criptoospermia. La hormona foliculoestimulante de estos pacientes se encontró elevada (Dohle y col., 2002), datos que son muy semejantes a los reportados en nuestro estudio.

El síndrome de Klinefelter es la forma más frecuente de hipogonadismo, sin embargo a pesar de la alta frecuencia con la que se presenta generalmente es pasado por alto en el historial clínico. Para prevenir esto, las características clínicas deben caracterizarse mejor y los estudios para su detección deben ser empleados para el diagnóstico (Kamischke y col., 2003). También deberá tomarse en cuenta los pacientes con mosaicismo, debido a que pueden tener características fenotípicas variables, excepto el tamaño testicular.

**Cuadro 8. Características en pacientes con síndrome de Klinefelter.**

No. de Paciente	Cariotipo	Características Clínicas
08-05	47,XXY	Azoospermia Infertilidad Primaria de 7 años Testículos Pequeños Hormona Foliculoestimulante Alta
118-05	47,XXY	Infertilidad Primaria de 16 años Testículos pequeños Hipospermia, Oligo Severa, Asteno Leve Hormona Luteinizante poco Alta Hormona Foliculoestimulante Alta
28-06	47,XXY	Azoospermia Testículos pequeños Hormona Foliculoestimulante alta Hormona Luteinizante Alta
79-07	47,XXY	Azoospermia Testículos pequeños

Los pacientes con alteraciones cromosómicas numéricas, totales o mosaicos, tienen mayor riesgo de producir células aneuploides durante la gametogénesis. Un

individuo con aneuploidia completa y que sea capaz de realizar gametogénesis, al pasar por meiosis II puede formar células disómicas. La segregación de estas células es 2:1. Existen estudios que indican que los hombres con este síndrome tienen mayores porcentajes de aneuploidias en espermias comparados con hombres fértiles normales. En el estudio de Gonsalves, se analizaron células meióticas en la fase de paquiteno I de un paciente con síndrome de Klinefelter por medio de FISH (fluorescencia de hibridación in situ), y se compararon con un control. Se encontró que el 47% de las células tenían un cariotipo XXY y el 53% un cariotipo XY en pacientes con este síndrome, mientras que en el control, el porcentaje de células XXY fue de 1% (Gonsalves y col., 2005). En la revisión de Shi y Martin, los pacientes con síndrome de Klinefelter o mosaicos, tienen un daño mayor en la espermatogénesis, resultando en oligospermia severa o azoospermia. Estudios de FISH realizados a espermias de 7 hombres con síndrome de Klinefelter en mosaico, muestran que las frecuencias de disomías en los cromosomas sexuales van desde 1.5 hasta 7%, y es mayor que en hombres normales, donde se han reportado frecuencias menores de 0.5%. Otros estudios realizados a otros 7 hombres con síndrome de Klinefelter completo, muestran que las frecuencias de aneuploidia en espermias es más alta, variando del 2 al 25% (Shi y Martin, 2001).

En otro estudio, analizan los espermatozoides de pacientes con síndrome de Klinefelter completo o en mosaico, mostrando que las frecuencias de las disomías en cromosomas sexuales (XX, YY, XY) son mayores que en los controles normales. Estos muestran frecuencias de disomías de 0.1 a 0.9%, los pacientes con síndrome de Klinefelter completo muestran frecuencias de 0.3 hasta 13.3%, y los mosaicos muestran frecuencias de 0.6 a 1.5%. Aun así, la mayoría de los espermias son normales en pacientes con este síndrome, sea o no mosaico (Foresta y col., 2005). Con los avances en reproducción asistida, los pacientes con síndrome de Klinefelter, en los casos en los que se encuentren células espermáticas o espermatozoides en el eyaculado, tienen una opción para poder ser padres. Por esto es importante realizar el estudio de cariotipo y así poder dar buen



asesoramiento genético a este tipo de pacientes debido a que presentarán mayor riesgo de producir embriones con aneuploidias en los cromosomas sexuales. Staessen y colaboradores realizaron una revisión de casos reportados y encontraron el nacimiento de 37 niños sanos en 53 parejas de 1997 hasta el 2002, todos de padres con síndrome de Klinefelter completo. Ellos también realizaron un estudio con 20 parejas en las cuales el hombre tenía síndrome de Klinefelter y a las cuales se les realizó ICSI, por otra parte a los embriones se les realizó un PGD (diagnóstico genético prenatal, por sus siglas en inglés) para descartar los que tuvieran anomalías cromosómicas. Se logró el nacimiento de 4 bebés sanos de las 20 parejas (20%). En los embriones analizados por PGD se encontraron monosomías X0, 0Y, 13, 18, 21 y 22; trisomías XYY, XXX, 13, 18, 21; mosaicos XY/XXY, XY/XYY y disomía 21/trisomía 21; haploidías, triploidías y tetraploidías, así como casos con varias anomalías a la vez (Staessen y col., 2003). El estudio realizado por Gonzalves también analizó los resultados de ICSI de 4 pacientes con síndrome de Klinefelter. Se les realizó fertilización en los 4 casos, pero solo se transfirió 1 embrión a 3 parejas, resultando tres bebés normales.

En los cuatro pacientes que presentan una translocación recíproca, están involucrados solo 2 cromosomas. Tres de ellos son varones y una mujer. Todos muestran diagnósticos diferentes, además de que las translocaciones se presentan en diferentes cromosomas en cada uno de los pacientes (Cuadro 9). La reducción de la fertilidad debido a las translocaciones dependerá de los cromosomas involucrados, y el tamaño de los segmentos translocados (Shah y col., 2003). En varones la cuenta espermática puede ser desde normozoospermia hasta azoospermia dependiendo del grado de arresto espermático inducido por la translocación. Los pacientes también pueden ser totalmente estériles o presentar pérdida repetida de la gestación ya que dan origen a embriones con cariotipos no balanceados y por lo tanto no pueden ser compatibles con la vida (Egozcue y col., 2000).

Cuadro 9. Características de los pacientes con translocaciones.

No. de Paciente	Cariotipo	Características Clínicas
115-05	46,XY,t(8;18)	Infertilidad primaria de 4 años PRG (2)
15-06	46,XY,t(2;4)	Infertilidad primaria de 2 años Azoospermia no obstructiva Hormona foliculoestimulante alta
40-06	46,XY,t(1;17)	Infertilidad Primaria de 10 años Oligozoospermia Moderada, Astenozoospermia leve, Terarozoospermia
52-05	46,XX,t(6;13)	Infertilidad secundaria Antecedentes de producto malformado que fallece a los 5 años, trisomía 13 PRG(2) / HMR(1)

PRG: pérdida repetida de la gestación

HMR: huevo muerto retenido

Pernice y col. (2002) reporta el caso de un paciente con antecedentes de infertilidad y oligozoospermico con una translocación recíproca entre los cromosomas 6 y 11. Mikelsaar y col. (2006) reportan el caso de un varón infértil con oligoastenoteratozoospermia y con una translocación recíproca entre los cromosomas 7 y 16. Sazci y col. (2005) reportan el caso de un paciente infértil azoospermico, con una translocación recíproca entre los cromosomas 1 y 13. Se han realizado diversos estudios en pacientes con translocaciones y otros rearrreglos estructurales y se ha visto que se pueden transmitir tanto cromosomas normales, balanceados y no balanceados (Egozcue y col., 2000; Oliver-Bonet y col., 2004; Shi y Martin, 2001). Oliver-Bonet y colaboradores (2004) realizaron un estudio de FISH en espermatozoides en dos pacientes varones portadores de translocaciones recíprocas; los resultados que obtuvieron fueron de 40.8% y 44.6% de espermias con la segregación alternada (cromosomas normales y cromosomas balanceados) en cada uno de los pacientes. En la revisión de Shi y Martin (2001) compararon distintos estudios de FISH realizados a portadores de translocaciones recíprocas, la frecuencia de la segregación alternada van desde un 27.4% hasta un 90.5%. Esto varía ya que los cromosomas involucrados en las translocaciones son diferentes,

pero en los que involucran los mismos cromosomas las frecuencias son similares (Shi y Martin, 2001).

Los otros dos pacientes con translocación recíproca, un hombre y una mujer (no son pareja), presentan pérdida repetida de la gestación. Las translocaciones recíprocas son las más frecuentes en pacientes con pérdida de la gestación (Franssen y col., 2006; Goddijn y col., 2004; Ogasawara y col., 2004). La contribución de las translocaciones en la pérdida repetida de la gestación dependerá de la frecuencia de los espermatozoides con cromosomas no balanceados (en el caso de los varones) y de la viabilidad del producto a formarse según las combinaciones de los cromosomas (trisomías o monosomías parciales) (Egozcue y col., 2000). Es difícil analizar los gametos en las mujeres portadoras de translocaciones, por lo que se realiza PGD para obtener las frecuencias de gametos con anomalías cromosómicas (Ogasawara y col., 2004). Es difícil calcular el riesgo de obtener un producto con alguna alteración cromosómica en portadores de translocaciones recíprocas ya que estas tienen efectos diferentes según los cromosomas involucrados en la translocación.

Se encontraron heteromorfismos en el cromosoma 9, una inversión pericéntrica y tres duplicaciones de heterocromatina en el brazo largo, presentándose en dos mujeres y un varón. Estos presentan también diagnósticos diversos (Cuadro 10). Estas variantes en el cromosoma 9 se consideran normales entre la población en general y no tienen alguna repercusión fenotípica (Brothman y col., 2006; Madon y col., 2005). Pocos autores incluyen los polimorfismos del cromosoma 9 como alteración cromosómica en los estudios realizados a pacientes con antecedentes de infertilidad (Nagvenkar y col., 2006; Ogasawara y col., 2004).

**Cuadro 10. Características de pacientes con alteraciones en el cromosoma 9.**

No. de Paciente	Cariotipo	Características Clínicas
124-05	46,XX,9qh+	Infertilidad primaria de 8 años Miomatosis uterina FIV (3)= neg, 2do con huevo muerto retenido IIU (3)= neg
165-05	46,XX,9qh+	Infertilidad primaria de 3 años PRG IIU=saco anembrionico
13-06	46,XY,9qh+	Infertilidad primaria de 8 años Asteno leve, cabezas muy vacuoladas y amorfos IIU (3)= neg
52-07	46,XY,inv(9)	Infertilidad primaria de 4 años Normozoospermia IAH=negativo

FIV: fertilización in Vitro

IIU: inseminación intrauterina

PRG: pérdida repetida de la gestación

IAH: inseminación artificial homóloga

Por otra parte se han mostrado evidencias de la presencia de heteromorfismos en pacientes con falla reproductiva, con pérdida repetida de la gestación y hasta en desórdenes psiquiátricos (Madon y col., 2005). Se han reportado y caracterizado algunas variantes polimorfitas del cromosoma 9 en pacientes con antecedentes de infertilidad (Starke y col., 2002). Ogasawara y col. (2004) menciona las inversiones de cromosoma 9 en su estudio realizado a parejas con antecedentes de pérdida repetida de la gestación y que su frecuencia es alta en este tipo de pacientes. En el estudio realizado por Nagvenkar y col. (2005) reportan un paciente con inversión en el cromosoma 9 y azoospermico. También se han reportado varios polimorfismos del cromosoma 9 (qh+ y qh-) en pacientes azoospermicos y oligozoospermicos, con una frecuencia de 4.5% de estos polimorfismos (Nagvenkar y col., 2005). Se cree que los genes involucrados con la fertilidad se encuentran en regiones heterocromáticas y son importantes para transmitir los cromosomas de una forma correcta. La heterocromatina es importante en la unión de los cromosomas al huso, su movimiento para el apareamiento en meiosis y la unión entre cromátides

hermanas (Madon y col., 2005). Se han relacionado los polimorfismos del cromosoma 9 con problemas reproductivos desde el comienzo del bandeo en cromosomas (Starke y col., 2002). Aun no está claro si estos polimorfismos tienen algún efecto directo sobre la fertilidad y es necesario realizar más estudios para esclarecer su función.

Otros factores que están involucrados en los pacientes son el lugar de residencia, exposición a solventes, pesticidas, radiaciones o químicos, consumo de tabaco, drogas o alcohol; así como antecedentes familiares de retraso mental o malformaciones. Se recuperaron datos para hacer la correlación de algunos de los factores que se mencionaron, pero no se tienen datos exactos de la cantidad de alcohol o tabaco que consumían los pacientes ni su tiempo de exposición, así como la cantidad y tipo de pesticidas y/o solventes a los que estaban expuestos. Así como otras variables que se requieren para estos estudios, como lo son el peso corporal, tipos de pesticidas o de solventes, etc. Debido a la gran cantidad de variables que no nos fue posible controlar, son datos que no pudieron ser analizados.

Actualmente, este estudio se realiza en la clínica, brindando una herramienta diagnóstica para el tratamiento de la pareja infértil y proporcionando los primeros datos epidemiológicos en la población del bajío de México.

## **VIII. CONCLUSIONES**

Se identificaron alteraciones cromosómicas en el estudio de cariotipo por medio de técnicas de bandeado convencional (bandas G) en los pacientes infértiles.

Se determinaron el tipo de anomalías cromosómicas encontradas y su frecuencia en esta población.

Se correlacionaron las alteraciones cromosómicas encontradas en los pacientes con el tipo e infertilidad que presentaban.

Las alteraciones cromosómicas son un factor importante que considerar en pacientes con antecedentes de infertilidad antes de realizar algún tratamiento de reproducción asistida.

## IX. ANEXO I



### Solicitud de Estudio Citogenético

Caso No.: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

Cónyuge: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_ Telefono: \_\_\_\_\_

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_

Antecedentes G-O: \_\_\_\_\_

Antecedentes de hijos o fam. con malformaciones, retraso mental: \_\_\_\_\_

Desarrollo de caracteres sexuales secundarios: \_\_\_\_\_

Exposición a solventes, pesticidas, radiaciones, químicos, etc: \_\_\_\_\_

Medicamentos que toma o dejó de tomar (rango 15 días): \_\_\_\_\_

Durante algún tiempo o actualmente consume: tabaco, alcohol, drogas: \_\_\_\_\_

Estudio solicitado

Cariotipo ( )

Sangre periférica ( )

Tejido de aborto ( )

Líquido amniótico ( )

Indicaciones:

Para cariotipo en sangre periférica: El paciente debe presentarse en ayunas.

Días de recepción de muestras Lunes y Viernes (Celaya), Martes y Sábado (Querétaro).

Tomar la muestra en tubos heparinizados (verdes) aproximadamente 5-7 ml (tubo lleno).

Para tejido de aborto: Favor de colocar el embrión o vellosidades coriales en un contenedor estéril con solución fisiológica, previamente lavado con la misma solución a fin de eliminar el exceso de sangre.

Para líquido amniótico: Se sugiere extraer la muestra en jeringa de 20 ml. marca Plastipak, desechar 1-2 ml y tapar con la aguja. En esas condiciones puede ser llevada al laboratorio.

Paciente: Querétaro  Celaya  Externo

Nombre del médico solicitante: \_\_\_\_\_

Atentamente  
Lab. Genética Reproductiva

## X. BIBLIOGRAFÍA

**Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2002.** Molecular Biology of the Cell. 4<sup>th</sup> Edition, Garland Science, New York: 191-234.

**Bhasin, M. K. 2005.** Human Population Cytogenetics: A Review. Int J Hum Genet. vol 5: No 2: 83-152.

**Brothman, A. R. y col. 2006.** Cytogenetic Heteromorphisms. Survey results and reporting practices of giemsa-band regions that we have pondered for years. Arch Pathol Lab Med. vol 130: 947-949.

**Carp, H., Guetta, E., Dorf, H., Soriano, D., Barkai, G., Schiff, E. 2006.** Embryonic karyotype in recurrent miscarriage with parental karyotypic aberrations. Fertility and Sterility. vol 85: No 2: 446-450.

**Caspersson, T., Farber, S., Foley, G.E., Kudynowski, J., Modest, E.J., Simonsson, E., Wagh, U., Zech, L. 1968.** Chemical differentiation along metaphase chromosomes. Experimental Cell Research, vol 49(1): 219-222.

**Chen, P. 2006.** [http://www.nicerweb.com/doc/class/io1151/Locked/media/ch15/15\\_12Nondisjunction\\_L.jpg](http://www.nicerweb.com/doc/class/io1151/Locked/media/ch15/15_12Nondisjunction_L.jpg)

**Clementini, E., Palka, C., Iezzi, I., Stuppia, L., Guanciali-Franchi, P., Tiboni, G.M. 2005.** Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. Human Reproduction: vol. 20: No. 2: 437-442.

**Clinical Tools, Inc., 2003-2006.** <http://images2.clinicaltools.com/images/gene/> (This information was provided by Clinical Tools, Inc., and is copyrighted by Clinical Tools, Inc.).

**Dohle, G.R., Halley, D.J.J., Van Hemel, J.O., van del Ouweland, A.M.W., Pieters, M.H.E.C., Weber, R.F.A., Govaerts, L.C.P. 2002.** Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. Human Reproduction: vol. 17: 13-16.

**Egozcue, S., Blanco, J., Vendrell, J.M., García, F., Veiga, A., Aran, B., Barri, P.N., Vidal, F., Egozcue, J. 2000.** Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. Human Reproduction: vol. 6: no. 1: 93-105.



**Encarta MSN, 2007**, Microsoft Corporation, [http://es.encarta.msn.com/media\\_121625577\\_961537391\\_-1\\_1/Espermatog%C3%A9nesis\\_y\\_ovog%C3%A9nesis.html](http://es.encarta.msn.com/media_121625577_961537391_-1_1/Espermatog%C3%A9nesis_y_ovog%C3%A9nesis.html)

**European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). 2002.** Physiopathological determinants of human infertility. Human Reproduction Update: Vo l. 8 : No. 5: 435-447.

**Ford, C.E., Hamerton, J.L. 1956.** The chromosomes of man. Nature: vol 178: 1020-1023.

**Foresta, C., Garolla, A., Bartoloni, L., Bettella, A., Ferlin, A. 2005.** Genetic Abnormalities among Severely Oligospermic Men Who Are Candidates for Intracytoplasmic Sperm Injection. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism: Vol. 90:152-156.

**Franssen, M.T.M., Korevaar, J.C., van der Veen, F., Leschot, N.J., Bossuyt, P.M.M., Goddijn, M. 2006.** Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages: case-control study. British Medical Journal: 332; 759-763.

**Gardner, R.J.M, Sutherland, G.R. 2004.** Chromosome abnormalities and genetic counseling. 3th edition, Oxford University Press, New York: 3-48.

**Gartler, S.M. 2006.** The chromosome number in humans : a brief history. Nature Reviews Genetics: 7: 655-660.

**Gekas, J., Thepot, F., Turleau, C., Siffroi, J.P., Dadoune, J.P., Wasels, R., Benzacken, B., Association des Cytogeneticiens de Langue Fancaisse. 2001.** Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI : an equal risk of constitutional aberrations in women and men. Human Reproduction: vol. 16: no.1: 82-90.

**Goddijn, M., Joosten, J.H.K., Knegt, A.C., van derVeen, F., Franssen, M.T.M., Bonsel, G.J., Leschot, N.J. 2004.** Clinical relevance of diagnosing structural chromosome abnormalities in couples with repeated miscarriage. Human Reproduction: vol. 19: no.4: 1013-1017.

**Gonsalves, J., Turek, P.J., Schlegel, P.N., Hopps, C.V., Weier, J.F., Reijo Pera, R.A. 2005.** Recombination in men with Klinefelter síndrome. Reproduction: Vol. 130: 223-229.

- Guízar, J.J. 2001.** Genética Clínica: Diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias. 3ª edición, Editorial El Manual Moderno, México DF.:73-88.
- Gravholt, C.H. 2004.** Epidemiological, endocrine and metabolic features in Turner syndrome. *European Journal of Endocrinology*: 151: 657-687.
- Griffiths, A., Miller, J., Suzuki, D., Lewontin, R., Gelbart, W., 2000.** An Introduction to Genetic Analysis. 7<sup>th</sup> edition, Freeman Press, New York: 523-541.
- Harper, P.S. 2006.** The discovery of the human chromosome number in Lund, 1955-1956. *Human Genetics*: vol. 119: no. (1-2): 226-232.
- Herráez, S.A., 2002.** <http://www2.uah.es/biomodel/principal.htm#citogenetica>.
- ISCN 1995:** An international System for Human Cytogenetic Nomenclature (1995). Ed. Mitelman F. S Karger, Basel, USA.
- Kamischke, A., Baumgardt, A., Horst, J., Nielschlag, E. 2003.** Clinical and Diagnostic Features of Patients UIT Suspected Klinefelter Síndrome. *Journal of Andrology*: Vol. 24: 41-48.
- Klug, W.S., Cummings, M.R. 1999.** Conceptos de Genética. 5ª edición, Prentice Hall, España: 19-50.
- Korf, B. 2006.** Human Genetics and Genomics. 3th edition, Blackwell Publishing, USA: 160-170.
- Lee, F. 2005.** <http://www.web-books.com/MoBio/Free/Ch1C3.htm>
- Lejeune, J., Turpin, R., Gautier, M. 1959.** Mongolism a chromosomal disease (trisomy). *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*: 146: 11-12: 256-265.
- Madon, P.F., Athalye, A.S., Parikh, F.R. 2005.** Polymorphic variants on chromosomes probably play a significant role in infertility. *Reproductive BioMedicine Online*: vol. 11: no. 6: 726-732.
- Mikelsaar, R., Pauklin, M., Lissitsina, J., Punab, M. 2006.** Reciprocal translocation t(7;16)(q21.2;p13.3) in an infertile man. *Fertility and Sterility*: col. 86: no. 3: 719.e9-e11.
- Murray, A.W., Kirschner, M.W. 1991.** Control del Ciclo Celular. *Investigación y Ciencia*: no. 176: 26-41.

- Nagvenkar, P., Desai, K., Hinduja, I., Zaveri, K. 2005.** Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res*: vol. 122: 34-42.
- Nussbaum, R.L., McInnes, R.R., Willard, H.F. 2001.** *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*. 6<sup>th</sup> edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia: 1-32, 135-155.
- Ogasawara, M.S., Ozadaki, Y., Sato, T., Suzumori, N., Suzumori, K. 2004.** Poor prognosis of recurrent aborters with Esther maternal or paternal reciprocal translocations. *Fertility and Sterility*: vol 81: no. 2: 367-373.
- Okada, H., Fujioka, H., Tatsumi, N., Kanzaki, M., Okuda, Y., Fujisawa, M., Hazaña, M., Matsumoto, O., Gohji, K., Arakawa, S., Kamidono, S. 1999.** Klinefelter's síndrome in the male infertility clinic. *Human Reproduction*: vol. 14: no. 4: 946-952.
- Oliver-Bonet, M., Navarro, J., Codina-Pascual, M., Abad, C., Guitart, M., Egozcue, J., Benet, J. 2004.** From spermatocytes to sperm: meiotic behaviour of human male reciprocal translocations. *Human Reproduction*: vol.19: no.11: 2515-2522.
- Parmar, R.C., Sira, P. 2003.** Prenatal diagnosis of partial trisomy 21 associated with maternal balanced translocation 46xx der 21 t(21q;22q) with pericentric inversion of chromosome 9. *J Postgrad Med*: vol. 49: 154-156.
- Pernice, F., Mazza, G., Puglisi, D., Luppino, M.G., Frisina, N. 2002.** Nonrobertsonian translocation t(6;11) is associated with infertility in an oligozoospermic male. *Fertility and Sterility*: vol. 78: no. 1: 192-194.
- Pernoll, M.L., 2003.** Benson – Pernol, *Manual de Obstetricia y Ginecología*. 10a edición, McGraw-Hill, Mexico, 831-862.
- Pina-Neto, J.M., Carrara, R.C.V., Bisinella, R., Mazzucatto, L.F., Martins, M.D., Sartoratto, E., Yamasaki, R. 2006.** Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*: 39: 555-561.
- Puertas, M.J. 1999.** *Genética, Fundamentos y Perspectivas*. 2a edición, McGraw-Hill Interamericana, Madrid: 159-161.
- Rooney, D.E. 2001.** *Human Cytogenetics constitutional analysis*. 3<sup>th</sup> edition, Oxford University Press, New York: 1-54, 99-128.

- Sazci, A., Ercelen, N., Ergul, E., Akpinar, G. 2005.** Male factor infertility associated with an familial tranlocation t(1;13)(q24;q10). *Fertility and Sterility*: col. 83: no. 5: 1548.e19-e21.
- Shaffer, L.G., Lupski, J.R. 2000.** Molecular mechanisms for Constitutional Chromosomal Rearrangements in Humans. *Annual Reviews Genetic*: Vol 34: 297-329.
- Shah, K., Sivapalan, G., Gibbons, N., Tempest, H., Griffin, D.K. 2003.** The genetic basis of infertility. *Reproduction*. Vol 126: 13-25.
- Shi, Q., Martin, R.H. 2001.** aneuploidy in Human Spermatozoa: FISH análisis in men with constitutional chromosomal abnormalities, and in infertile men. *Reproduction*: Vol. 121:655-666.
- Staessen, C., Tournaye, H., Van Assche, E., Michiels, A., Van Landuyt, L., Devroey, P., Liebaers, I., Van Steirteghem, A. 2003.** PGD in 47,XXY Klinefelter's syndrome patients. *Human Reproduction Update*: Vol. 9: No. 4: 319-330.
- Starke, H., Seidel, J., Henn, W., Reichardt, S., Volleth, M., Stumm, M., Behrend, C., Sandig, K.R., Kelbova, C., Senger, G., Albrecht, B., Hansmann, I., Heller, A., Claussen, U., Liehr, T. 2002.** Homologous sequences at human chromosome 9 bands p12 and q13-21.1 are involved in different patterns of pericentric rearrangements. *European Journal of Human Genetics*: 10: 790-800.
- Strauss III, J.F., Barbieri, R.L., 2004.** Yen and Jaffe's Reproductive Endrocrinology, Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management. 5<sup>th</sup> edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 813-873.
- Tjio, J.H., Levan, A. 1956.** The chromosome number of man. *Hereditas*: 42: 1-6.
- Verma, R.S., Babu, A. 1995.** Human Cromosomes Principles and Techniques. 2<sup>th</sup> edition, McGraw-Hill, New York: 1-63
- Woo, H.Y., Cho, H.J., Kong, S.Y., Kim, H.J., Jeon, H.B., Kim, E.C., Park, H., Kim, Y.J., Kim, S.H. 2003.** Marker Chromosomes in Korean Patients: Incidence, Identification and Diagnostic, Approach. *J Korean Med Sci*: vol. 18: 773-778.