

DIAGNOSTICO GENETICO DEL SEXO EXPERIENCIA CLINICA

Luis Fernández Molinari

El fenómeno de reproducción en el mundo animal se divide en reproducción asexual y sexual. Esta última se produce por la conjunción de dos gametos que formarán el cigote. Por tanto en la reproducción se establece siempre un intercambio de caracteres hereditarios.

Es sabido que al ocurrir la división cariogenética, los cromosomas se dividen en pares o alelos iguales. Las células somáticas tienen el doble número de cromosomas (diploides) que las sexuales (haploides), siendo en el humano 22 pares o sea 44 cromosomas. El par de heterocromosomas (sexuales) o autosomas aparece con características distintas, lo que permite distinguir entre varón y hembra.

El sexo genético humano presenta asimetría en el masculino y simetría en el femenino, siendo así que el primero contiene 22 autosomas y una pareja de heterocromosomas, y al verificarse la meiosis algunos espermatozoides recibirán cromosoma X y otros una Y.

Las células somáticas femenina contienen 22 pares de autosomas (44 autosomas) y 1 pareja de heterosomas X (XX), total 46, que al dividirse el ovocito, reciben 22 autosomas y 1 heterosoma X.

Si la fecundación une un espermio $22+X$ con el óvulo $22+X$, resultará $44 XX$ o sea sexo femenino; pero si el espermio es $22+Y$, resultará $44+XY$ o sea masculino. Por tanto masculinidad o feminidad residen en cada célula del organismo y no en las gónadas.

En 1949 Barr y Beltrán descubrieron que en el 40% de las células de nervios de la gata presentaban un corpúsculo cromático que no se encontraba en el macho. Se identificó que era originado por el cromosoma X no funcionante; vale decir que de los $2X$, uno solo es funcionante y el otro sólo está presente en el corpúsculo.

El hallazgo de corpúsculos en las células de la piel, mucosa oral y vaginal, en el humano, ha permitido observar que un número de 25 a 40% es encontrado en el sexo femenino, mientras que el sexo masculino no lo tiene o es menor de 10%. Son masas plano convexas pegadas a la superficie nuclear y que sintetiza RNA.

Desde mediados de 1960 se practica técnicas que permiten hacer que las células humanas lleguen a la

mitosis, lo que abrió el campo para el estudio del cariotipo. Se estandarizó la nomenclatura de los cromosomas humanos, nombrando a los pares autosómicos en orden decreciente de tamaño del 1 al 22, divididos en 7 grupos desde el A al G de acuerdo al tamaño, localización del centrómero, etc.; los cromosomas sexuales fueron llamados X e Y. El X es igual al par 7, y por lo que se le llama también C - X; y el Y es igual al G, por lo que se suele denominar GY.

El trabajo de Fuch en 1950 sobre la posibilidad de usar líquido amniótico en la determinación del sexo cromático, abrió las posibilidades de detención de problemas genéticos.

En nuestro medio el reconocimiento de los defectos genéticos tiene connotación únicamente académica, pues el aborto no es legalmente aceptado. Sin embargo, es necesario clarificar para el médico clínico los alcances que el avance en el estudio genético intrauterino no puede proporcionarle. Se podría caer en la trampa de querer aplicar a la clínica, lo que aún está en proceso de investigación y, aún más, lo que todavía no es confirmado por otros investigadores. Los médicos también pueden estar bajo la impresión que las técnicas y los resultados que son referidos en las publicaciones, pueden ser obtenidos en cualquier laboratorio. Y, aún más, aunque cientos de desórdenes genéticos han sido reconocidos, sólo un pequeño número ha sido detectado prenatalmente. Si a todo lo expuesto agregamos que el diagnóstico prenatal puede dar una falsa seguridad a los padres cuando los métodos usados no son totalmente garantizados, veremos que se debe tomar, por el momento, con mucha calma los hallazgos que reportan otras realidades.

Pongámonos entonces en el centro del problema y seamos realistas. Es aceptado que 1 en 40 (2.5%) de todos los nacimientos vivos están asociados con defectos genéticos al nacimiento. De acuerdo a Carter, 10 en 1,000 nacimientos vivos tendrán serios defectos. La ocurrencia de cromosoma autosómico dominante en un individuo lleva un 50% de posibilidades de repetirse en sucesivos embarazos; si es recesivo, sólo el 25% se repite. De los hemizigotes, los descendientes hombres llevan un 50% de riesgo, mientras que el otro 50% será portador femenino sin manifestaciones y un 50% de los descendientes masculinos de estas portadoras tendrá riesgo de ser afectado.

Los desórdenes cromosomales resultan principalmente de errores durante la gametogénesis, especial-

mente la oogenesis, al producir un número anormal de cromosomas. Esto es achacable al ovario viejo por lo que es más común que se presente en mujeres sobre los 40 años de edad. Ejemplo claro de ello se da en el síndrome de Down (Trisomía 21). El riesgo de tener un bebé mongólico varía de 1/3000 si es menor de 30 años y 1/1000 después de haber tenido un bebé con Down a 1/40 en madres de 45-49 años a 1/15 si ya tuvo un Down. El promedio de todas las edades es de 1/665; es de 1/200 si ya hubiera tenido un bebé con Trisomía 21.

De lo enunciado podríamos dar las siguientes indicaciones de cuándo estaría indicado solicitar un estudio de cariotipo.

A.— Etapa no Gestacional

1. Aberraciones sexuales
2. Malformaciones no genitales: Cri du chat
Down
Paladar hendido
Enfermedad cardíaca hereditaria?
3. Retardo de crecimiento
4. Amenorrea: Klinefelter
Turner
5. Infertilidad no explicada
6. Aborto habitual

B.— Etapa Gestacional

1. Hemofilia
2. Padres con 1 ó más Down
3. Historia de padres jóvenes con Down
4. Diagnóstico de Down en mujeres sobre 35 años
5. Diagnóstico de sexo?

En el Hospital Regional Docente de Trujillo no existe infraestructura para cultivar células amnióticas y por lo tanto nuestro trabajo se reduce a descubrir Cuerpos de Barr en el líquido amniótico, lo que constituye el motivo de la presentación de la siguiente exposición sobre 150 muestras obtenidas.

Material y Métodos

De 150 muestras de líquido amniótico, se eliminó 50 (sobre todo las primeras) por deficiencias en la toma de muestras, en la fijación, contaminación, tinción, etc.

Fijación de 5 ml. de líquido amniótico con 15 ml. de formol al 10% y centrifugación al máximo de

revoluciones durante 10 minutos. Se descarta el sobrenadante, lo restante se extiende en 2 láminas y se saca a estufa durante 30'; luego se procede al teñido en la forma siguiente:

1. Xilol, alcohol absoluto, alcohol 95% o, agua destilada
2. Teñir por 3 a 5 minutos en Violeta de Cresilo
3. Pase con 2 cambios de agua destilada
4. Alcohol 95% o por 30 segundos
5. Alcohol absoluto por 30 segundos
6. Xilol por 1 minuto
7. Mezcla bálsamo xilol durante 2 minutos
8. Diferencia en alcohol absoluto 2 cambios de 10 a 30 segundos cada uno, chequeo de los resultados en el microscopio
9. Xilol varios cambios
10. Repetición del 7 al 9
11. Montaje permanente en bálsamo del Canadá

Se utiliza objetivo de inmersión (100 X) y se cuenta 100 células en mitosis de cada muestra. Si los resultados no concuerdan, se lee 2 a 3 veces, moviendo la lámina en U.

La toma de muestras variaron en el tiempo y se realizaron desde el 8o. mes de gestación, hasta horas previas del parto. Así mismo se tomó 20 muestras de mucosa oral de bebés de ambos sexos en el día 4o. de nacimiento.

RESULTADOS:

Gráfica No. 1

Cuadro No. 1

Conclusiones:

1. El hallazgo de 0 a 15 corpúsculos de Barr hacen el diagnóstico cromático de somático masculino. De 20 a 25 corpúsculos de Barr, se determina sexo femenino. Cifras entre 16 a 19 imposibilitan un diagnóstico correcto.
2. La efectividad del método fue de 92% o.
3. El estudio comparativo entre células de líquido amniótico y mucosa oral concordaron en un 95% o.

BIBLIOGRAFIA

- AMAROSE W. AND PLOTY C., Prenatal sex prediction. New England J. Med. Vol. 1 No. 275: 725, 1966.
- CARR, D.H., Chromosome studies in selected abortions: III Early pregnancy loss. *Obstet. Gynecol.* 37:750, 1971
- CARR, D.H., Aspectos citogenéticos de los abortos provocados y espontáneos. *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas.* 15:203, Marzo 1972.
- CARR, H.D., Chromosome Studies in abortuses and stillborn in infants. *The Lancet*, Vol 2 No. 7308, 1966

- CARTER, K.; EVANS, A., Risk of parents who have had one child with Down's Syndrome, having another child similarly affected, *The Lancet* Vol. 2, No. 2: 785, 1961.
- CARTER, C.O., Practical aspects of early diagnosis of human genetic defects. *Fogarty International Center Proceeding*. No. 6, 1970.
- MILUNSKY, A. Prenatal genetic diagnosis. *New England J. Med.*, 283, 1370, 1970.
- BERIRSCHKE, K., When is cromosomal analysis indicated? *Controversy in Obst. and Gyn.* Vol. II, 665, W.B. Saunders, 1974.
- CHRISTAKOS, A., When is chromosomal analysis Indicated In Obstetrical and Gynecological practice? *Controversy in Obst and Gyn.* Vol. II, 673, W.B. Saunders, 1974.
- MALCONS, A.; FERGUSON, S., *Am. J. Obst. and Gyn.* Vol. 7, No. 90:1035, 1964.
- PAGE, E.; VILLEE, C.; VILLEE, D., *Human, Reproductions*, Chapter 6, 109 - 153. W.B. Saunders, 1976
- SILLIPHANT W., *Cresyl Violet Manual of Cytologic and Special Staining Technics*. Armed Forces Institute of Pathology Washington Vol. 2: 159, 1957.
- STENCHEVER, M.: When is chromosomal analysis Indicated In Obstetrics and Gynecological practice? *Controversy in Obst-Gyn.*, Vol. II, 680, W.B. 1974.

