

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

**DIAGNOSTICO PRENATAL DEL SEXO POR  
LA CROMATINA SEXUAL DE CELULAS DEL  
LIQUIDO AMNIOTICO HUMANO**

**JOSE ANTONIO SOTO**

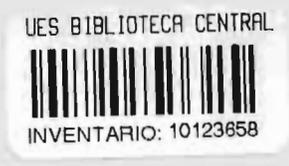
TESIS PRESENTADA PREVIA OPCION DEL  
TITULO DE DOCTOR EN MEDICINA

SAN SALVADOR, EL SALVADOR. C. A.

MAYO DE 1960

T  
672.647  
S718d  
1960  
F.med.  
G.5

38684



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector:

DR. NAPOLEON RODRIGUEZ RUIZ

Secretario General:

DR. ROBERTO CUELLAR MILLA

FACULTAD DE MEDICINA

Decano :

DR. JOSE KURI ASPRIDES

Secretario General :

DR. MARIO RIVAS TORRES

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

Primer examen de Doctoramiento Privado

CLINICA MEDICA:

Dr. Rodolfo Torres

Dr. Simón Basagoita

Dr. Luis J. Escalante

Segundo examen de Doctoramiento Privado

CLINICA QUIRURGICA:

Dr. Luis Macías

Dr. Saturnino Cortés

Dr. Fernando Alvarado Piza

Tercer examen de Doctoramiento Privado

CLINICA OBSTETRICA:

Dr. Roberto Orellana

Dr. Arturo Jovel Manguía

Dr. Antonio Matheu Lloré

Doctoramiento Público:

Dr. Jorge Bustamante

Dr. Guillermo Guillén Alvarez

Dr. Roberto Bracamonte

D E D I C A T O R I A

A la memoria de mi abuelo

Dr. José Isaac Soto (Médico)

En recuerdo cariñoso de

Luciana Flores (Q.D.D.G.)

A mis queridos Padres

José Isaac Soto

Carmen de Soto

A mis hijos

José Santos, Carmen Guadalupe,

Isaac y José Pedro

A mi hermana

Isabel del Carmen Soto

A mis abuelitos

Vicente Reyes

Isabel Velásquez de Reyes

A mis tías

Raquel Soto

Ester Soto v. Cantuccio (Q.D.D.G.)

A mis padrinos

Dr. Carlos M. Peña

Dr. Alfonso R. Gustave (Q.D.D.G.)

A mis profesores

A mis compañeros

## I N D I C E

Introducción.....	pag. 1
Revisión Bibliográfica.....	9
Material y Método.....	28
Resultados.....	32
Conclusiones y Resumen: Castellano e Inglés.....	40
Bibliografía.....	46

## I N T R O D U C C I O N

Desde que BARR y BERTRAM en 1949 distinguieron el sexo del animal por la cromatina sexual de los núcleos de células nerviosas y que MOORE & BARR en 1954 lograron lo mismo en seres humanos, tomando biopsias de piel y otros tejidos, muchos investigadores se interesaron inclusive en determinar el sexo antes del nacimiento por el examen de las células descamadas del feto en el líquido amniótico, habiendo logrado a entera satisfacción la seguridad de dicha prueba.

La denominación heterocromatina se empezó a usar cuando se comprobó que los cromosomas sexuales de algunos saltamontes no desaparecían durante la interfase es decir entre dos mitosis consecutivas. Como la cromatina de estos cromosomas era distinta de la cromatina de los demás en el aspecto de no desaparecer en la interfase, fué denominada heterocromatina (de heteros=el otro de dos).

Más tarde el término se aplicó a la cromatina que no desaparece en la interfase tanto si es parte de un cromosoma sexual como si no guarda relación con él.

Como en otros animales, las células somáticas del ser humano difieren según el sexo, en el sentido que las células de la hembra contienen en su núcleo 46 autosomas y 2 cromosomas sexuales del tipo XX. Los núcleos de las células somáticas de los varones constan de 46 autosomas y 2 cromosomas sexuales de distinto tipo, XY.

La heterocromatina de los 2 cromosomas X en las células de la hembra de los animales superiores, es diferente de la heterocromatina de la combinación XY de los cromosomas sexuales en las células de los varones, permitiendo distinguir durante la interfase los núcleos femeninos de los masculinos (HAM, A.W., 1957).

BARR y colaboradores denominaron a la cromatina de los cromosomas sexuales, cromatina sexual. Esta forma un cuerpo visible en el núcleo de las células en interfase de la hembra. También se encuentran en las células masculinas pero es sumamente pequeña para poder identificarla al microscopio ordinario, excepto en circunstancias muy favorables.

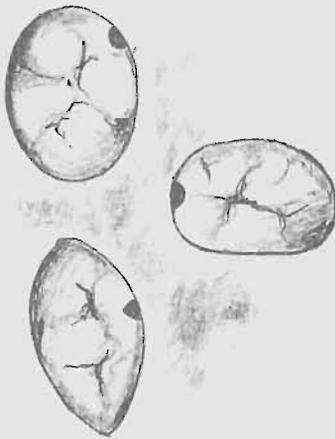


Fig. 1-Núcleos de la epidermis con la cromatina sexual adosa da a la membrana nuclear .

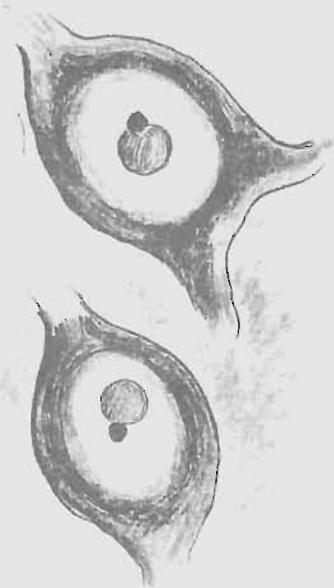


Fig. 2-Células nerviosas de gata mostrando la cromatina adosa da al nucleolo (colección del Dr. Manuel Francisco Sagarán ).

En los primeros años que siguieron al descubrimiento de BARR y colaboradores, la prueba se hacía tomando biopsias de piel. Más recientemente MOORE & BARR 1955 efectuaron frotis de células obtenidas de un simple raspado de la cara interna de la mejilla con una espátula de madera.

La cromatina sexual de la célula femenina se ve de preferencia en los núcleos claros, pálidos y voluminosos de tipo vesicular. Es vista fácilmente en las células de la mejilla y de la epidermis, en cortes delgados; aparece como una masa oscura de forma plano-convexa o triangular comprimida contra la membrana nuclear, midiendo una micra de diámetro aproximadamente. Sin embargo, su localización es distinta en el tejido nervioso, encontrándose adosada al nucleolo y no a la membrana nuclear, aunque puede haber posiciones intermedias.

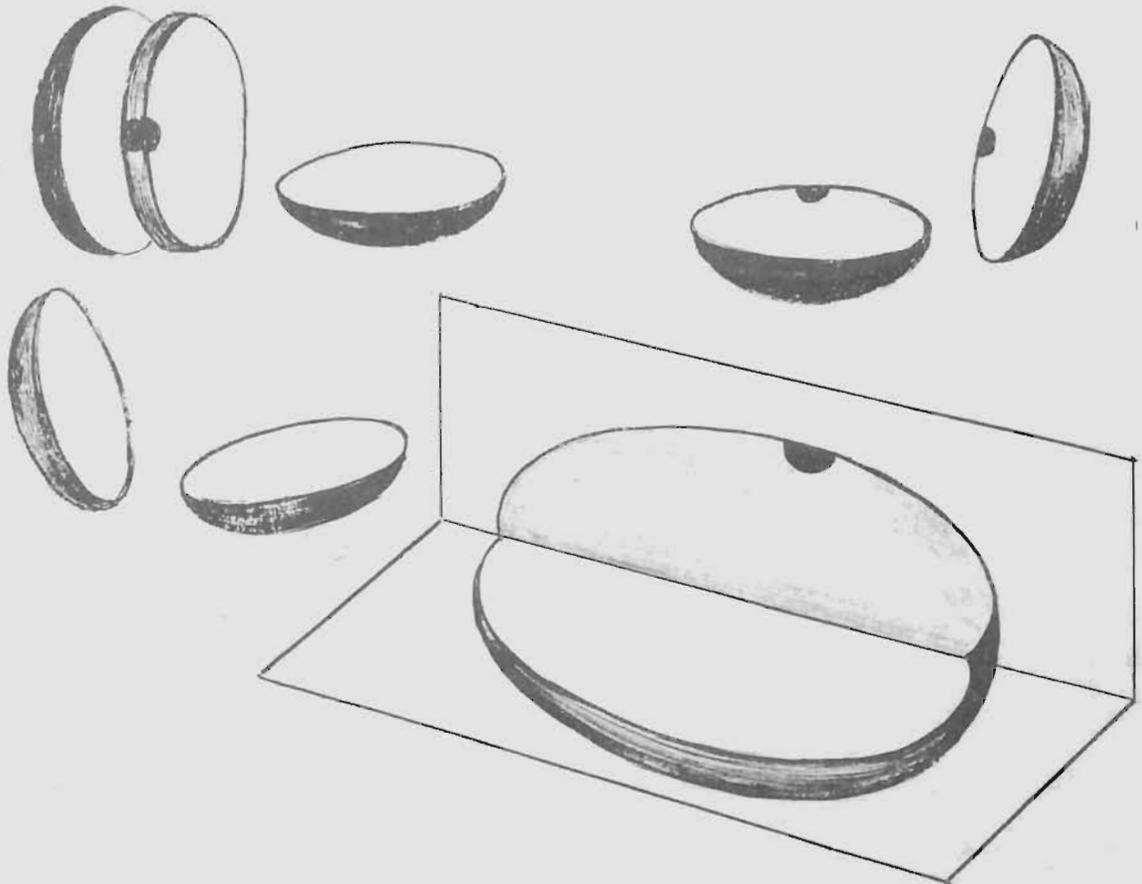


Fig.3-Esquemas demostrando la presencia o ausencia de heterocromatina en cortes de un mismo núcleo.

La cromatina sexual puede no aparecer en todos los núcleos de un dado campo microscópico; el motivo se debe a que el corte no pasará necesariamente en el lugar en que se encuentra localizada ésta - en cada una de las células. En un frotis sucede lo mismo ya que la cromatina puede hallarse en la mitad superior o en la mitad inferior y no en la periferia (Fig. No. 3).

En algunas células masculinas es visible la cromatina sexual, siendo en un porcentaje mínimo pero no despreciable (BARR y col. 1954).

La cromatina sexual, como toda la cromatina en general, se tiñe bien a los colores básicos como la hematoxilina y el violeta de cresilo.

MOORE & BARR describen una técnica de tinción con violeta de cresilo, que es usada en este trabajo y está descrita adelante en el capítulo de material y método.

---

Al Dr. Roberto Cuéllar (4) debo la sugerencia de investigar el sexo en el pseudohermafroditismo por medio de la cromatina sexual - como tema de tesis doctoral, ya que fué el prelude de este trabajo.

Con ese propósito inicié mi estudio, sin embargo habiendo laborado durante algunos meses bajo la dirección del Dr. Orlando Aida (1) quien me inició sobre el reconocimiento de la cromatina sexual, haciendo frotis de raspado de mucosa bucal en niños y adultos jóvenes, todos normales, y habiendo llegado a mis manos un sólo caso de pseudohermafroditismo (caso ingresado en el Departamento de Pediatría del Hospital Rosales) hube de sentirme desorientado debido a la escasez de material.

No tardé en madurar una idea que tenía in mente; me pregunté si podría diferenciar el sexo del feto, estudiando la cromatina sexual de las células descamadas de éste, en el líquido amniótico.

Con ese objeto obtuve líquido amniótico de pacientes del Hospital de Maternidad(6) puncionando membranas prominentes al momento de indicarse su ruptura. Ya en las primeras muestras logré algunos resultados sobre el hallazgo de la cromatina con relación al sexo fetal.

Habiendo manifestado mi idea y mis primeras experiencias al Dr. Orlando Aídar, quien aprobó con entusiasmo el comienzo de este nuevo trabajo, me sugirió revisara la literatura internacional al respecto.

No tardé en buscar la colaboración del Dr. Jorge Bustamante(2) a quien manifesté mi idea de obtener líquido amniótico por la vía abdominal, recibiendo de él toda clase de ayuda, incluso el efectuar las primeras punciones transabdominales, para este trabajo, previo permiso del Sr. Director del Hospital de Maternidad Dr. José González Guerrero(3) quien atendió de inmediato mi solicitud, amén de haberme proporcionado la ayuda necesaria, algunas sugerencias y demostración de interés al respecto.

La tendencia de la obstetricia moderna a proteger y respetar en todo lo posible al producto de la concepción, ha sacrificado, y con sabia naturalidad, el escudriño del contenido del útero grávido antes de su evacuación. No obstante el mismo objetivo obliga a permitir la investigación en busca de adelantos que redundan en beneficio del ser y de su familia.

De hecho se multiplican los nuevos métodos de exploración fi

siológica, diagnóstica y terapéutica del útero grávido sin el menor riesgo para la madre y el feto.

La idea de obtener líquido amniótico de la mujer grávida fué sugerida por SHAT en 1882. Sin embargo fué HENKEL en 1919 quien reportó el primer caso en que se practicó la punción. En el año de 1920 WORMSER efectuó punciones abdominales en polihidramnios crónicos por vía transabdominal (HENRY et al. 1958).

Según HENRY y colaboradores, fueron DIECKMANN y DAVIS los primeros americanos que usaron la punción transabdominal para usos experimentales en 25 pacientes en el último trimestre de la gestación. En la actualidad la punción constituye un procedimiento inocuo y usado para propósitos experimentales como terapéuticos y diagnósticos; de este último nos ocuparemos dado que en manos cuidadosas no trae consecuencias peligrosas para el feto y la madre.

#### A G R A D E C I M I E N T O S

Al Dr. Orlando Aidar, maestro en toda forma, quien con su amplitud de conocimientos despertó en mi mente una nueva orientación, un verdadero interés por la investigación científica cuyo inicio sólo los grandes mentores con su modestia son capaces de enseñar.

Al Dr. Jorge Bustamante, obstetra y ginecólogo avezado, curioso de su especialidad, luchador contra los tradicionalismos dañinos, quien hizo efectivo mi trabajo, orientando y estimulando mi esfuerzo.

Al Dr. José González Guerrero, obstetra y ginecólogo de experiencia de quien tuve la autorización necesaria y la ayuda para llevar

a cabo mi tesis, sin dejar de mencionar su interesada colaboración, atendiendo todas mis solicitudes.

Al Dr. Roberto Cuéllar, quien me indujo a este trabajo, habiéndome dado la relación científica necesaria y su apoyo.

Al Dr. Juan José Rodríguez y Sra. por su colaboración en la lengua Inglesa.

Al Dr. Manuel Francisco Sigarín, compañero y amigo, que supo con amabilidad intachable prestarme toda la colaboración y orientación.

A las señoritas Blanca Olivia Reales y Bertha Casco Ramírez, cuya colaboración indispensable en la preparación del material técnico y dactilográfico, respectivamente, fué integrado a mi plena satisfacción.

Al personal de la Sala de Parto del Hospital de Maternidad de El Salvador, quien desplegó su colaboración gustosa y que hizo posible elaborar mi tesis, así como a los practicantes permanentes que me auxiliaron.

- 
- (1) Profesor asistente de la Universidad de São Paulo, Brasil. Actual jefe del Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de El Salvador.
  - (2) Médico jefe de Servicio, Hospital de Maternidad de El Salvador. Profesor auxiliar del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de El Salvador.

- (3) Director del Hospital de Maternidad de El Salvador
- (4) Profesor auxiliar de Embriología, Facultad de Medicina de la U  
niversidad Autónoma de El Salvador.
- (5) Profesor auxiliar de Anatomía, Facultad de Medicina de la Uni\_\_  
versidad Autónoma de El Salvador.
- (6) Hospital de Maternidad de la República de El Salvador.

R E V I S I O N      B I B L I O G R A F I C A

BARR, BERTRAM y LINDSAY(1950) estudiando cortes de tejido nervioso en 12 gatos(6 hembras y 6 machos)establecen la diferencia que existe entre los cromosomas sexuales que contienen los núcleos de la hembra y del macho, describiendo un cuerpo intranuclear que semeja un pequeño satélite adherido al nucleolo mucho más desarrollado en la hembra. Usan el término satélite nuclear para mencionar dicho cuerpo. Las preparaciones fueron teñidas con tionina, verde metilo-pironina, nitrato de plata reducida y hematoxilina férrica.

La incidencia en que se encontró dicho satélite fué de 56 a 87% para los núcleos femeninos y 2.1 a 6.3 % para los machos, variando la posición de este en el núcleo, encontrándose mucho más frecuente adyacente al nucleolo; otras veces está adherido a la membrana nuclear, habiendo también posiciones intermedias.

Los autores concluyen que en la hembra se ve un cuerpo de una micra de diámetro adosada al nucleolo y que en los machos es raramente visto.

Que la coloración de Feulgen y verde metil-pironina indica que el satélite nuclear contiene ácido desoxirribonucleico, distinto del nucleolo que contiene ácido ribonucleico.

En base de lo visto es sugestivo que el satélite nuclear es producto de los cromosomas XX, y que la citogénesis de este cuerpo está menos intimamente relacionada al nucleolo que el resto del núcleo.

BARR y BERTRAM(1951) en su trabajo sobre la conducta que experimenta la estructura nuclear de las neuronas motoras a la estimulación eléctrica, y practicado en tejido nervioso de gatos, obtienen

las conclusiones siguientes: las células nerviosas de la hembra acusan un satélite nucleolar de una micra de diámetro aproximadamente, teniendo afinidad por los colores básicos de Feulgen y verde metilo pironina por contener ácido desoxirribonucleico, en contraste con el nucleolo y los corpúsculos de Nissl cuyo componente es el ácido ribonucleico. Este satélite es raramente visible en el macho.

Haciendo un estudio sobre la incidencia de la posición del satélite nuclear usando como colorante el violeta de cresilo, han encontrado dicho satélite adosado al nucleolo mucho más frecuente que a la membrana nuclear y que la posición intermedia.

Seguidamente a la estimulación eléctrica de la neurona el satélite tiene tendencia a movilizarse hacia la membrana nuclear; la posición normal fue restaurada después de mucho tiempo de haber cesado la estimulación, aumentando también de tamaño.

La estimulación eléctrica en las neuronas de nervios hipoglo-  
sos produce depleción de los cuerpos de Nissl, siguiendo en las 12  
horas subsecuentes una cromatolisis que aumenta progresivamente. Las  
células pasan a través de un estado de hiperchromatosis antes de re  
tornar a su normal estado.

El nucleolo aumenta progresivamente de tamaño a partir de las  
48 horas recobrando su tamaño más tarde; su posición es inalterable.

Estos autores hacen notar la posibilidad de que el nucleolo y  
el satélite nuclear jueguen un importante papel en la síntesis de -  
la ribosa-nucleoproteína que es un importante constituyente de los  
cuerpos de Nissl de la célula nerviosa.

MOORE, GRAHAM y BARR(1953) estudiando muestras de piel humana en

50 varones y 50 hembras de sexo normalmente desarrollado, de las cuales 20 biopsias (10 masculinos y 10 femeninos) y el resto de autopsias, demostraron una diferencia en la estructura nuclear de acuerdo al sexo en las células del lecho malpighiano.

Los núcleos de las hembras mostraban una masa de cromatina sexual que es raramente vista en las células de los varones. Dicha cromatina sexual deriva de la parte heterocromática de los cromosomas. Los cromosomas XX forman una masa cromatínica suficientemente grande para ser identificada mientras que los cromosomas XY forman una masa pequeña apenas perceptible para distinguirla de las partículas de cromatina en general.

Este método de diagnosticar el sexo de un individuo fue aplicado a 2 casos de pseudohermafroditismo, uno de ellos presentó cromosomas masculinos y el otro cromosomas femeninos.

De la aplicación de este estudio a otros casos intersexuales se espera aclarar el complejo problema del pseudohermafroditismo.

La importancia de la biopsia de piel hace posible un método simple para diferenciar el sexo dominante en la infancia en aquellos casos dudosos.

MOORE & BARR (1954) hacen estudio sobre la morfología de las células de tejidos humanos en relación al sexo.

El material se obtuvo por autopsias y biopsias humanas de sujetos cuya edad estaba entre los 22 y 29 años. Los bloques de tejido fueron fijados por solución de Davidson modificada y coloreados por hematoxilina-eosina, por Feulgen y por verde de metilo-pironina. Los autores estudiaron el asunto en un gran número de tejidos.

La cromatina sexual en la hembra fué descrita como una masa plano-convexa de 1 micra o poco menos, adosada a la cara interna de la membrana nuclear más fácilmente identificable en los núcleos de tipo vesiculosos, sin embargo en las células nerviosas, dicha masa no se encuentra adherida a la membrana nuclear sino junto al nucleolo, como si fuera satélite de éste.

En el macho la frecuencia de la cromatina fué más baja y sus dimensiones por lo general eran menores además encontraron variaciones porcentuales y dimensionales un poco distintas de un tejido a otro.

La frecuencia de la cromatina sexual encontrada por ellos fué de 69 a 80 % para los núcleos de las hembras, mientras que de 2 a 14% para los varones.

Concluyen que la diferencia sexual de la morfología nuclear descrita por MOORE, GRAHAM & BARR(1953) para la epidermis, es un fenómeno general que existe en todos los tejidos y órganos humanos.

GRAHAM(1954) basado en los estudios de BARR, BERTRAM y LINDSAY (1950), GRAHAM & BARR(1952) describe la diferencia sexual de los núcleos masculinos y femeninos en las células nerviosas, neuroglia y otros tejidos del cuerpo. Esta autora estudió 39 embriones de gato en varios estados de desarrollo tomando muestras de varios tejidos del embrión incluso de las membranas amnióticas y alantoides.

La duración del período de gestación del gato es de 60 a 63 días. La diferenciación del sistema reproductivo en estos embriones no ha ocurrido a la edad de 19 a 24 días sino hasta los 29 días.

Usó violeta de cresilo y el método de Feulgen para sus cortes;

encontró una masa de cromatina sexual en los núcleos de la hembra, menos frecuente en los núcleos de los machos. Aunque los embriones jóvenes fueron examinados antes de la diferenciación de las gonadas pudo determinar que los embriones con cromatina sexual manifiesta en los núcleos de sus células eran hembras y que los embriones con cromatina sexual dudosa eran machos, por tanto, la diferencia sexual en la morfología nuclear está presente en los embriones en temprana edad como durante el resto de su vida intrauterina.

PRINCE, GRAHAM y BARR (1955) en estudio sobre la morfología nuclear según el sexo en macacus rhesus, establecen lo siguiente: que en el tejido nervioso la cromatina sexual se encuentra adosada al nucleolo de la célula; también concluyen que esta localización varía según el tipo de neurona estudiado, teniendo posiciones intermedias entre el nucleolo y la membrana nuclear y aun adosada a la propia membrana nuclear; que la incidencia de la cromatina sexual en el núcleo femenino es de un 76 % y su tamaño varía desde 0.8 micras hasta 1.1 micra; que la cromatina sexual es Feulgen positiva y tiene afinidad especial por el verde metilo, indicando con estas reacciones que esa cromatina sexual, como los cromosomas en general, contiene ácido desoxirribonucleico.

También afirman que en los machos la cromatina sexual se encuentra en algunos núcleos, teniendo la misma posición, forma y estructura que en la hembra. Según los autores el porcentaje es menor que en las hembras, no pasando del 10 %; no pueden precisar si dicha masa representa la cromatina cromosómica o si es de origen autosomal.

Concluyen: lo. - que en los varios tejidos del macacus rhesus la

morfología nuclear es distinta según el sexo. Que la cromatina sexual en la hembra representa una masa bien visible y localizada a la membrana nuclear y que en el macho esta masa es raramente vista. 2.- que es muy fácilmente visible en los núcleos de tipo vesicular, y difícil de identificar en los núcleos pignóticos. 3o.- que la cromatina sexual de la hembra representa los cromosomas XX, mientras que la del varón representa los cromosomas XY, de menor tamaño.

BUR, G.E. (1956) en biopsias de piel y de la mucosa gingival se vale de la cromatina sexual de la célula para determinar el sexo en malformaciones genitales, estados intersexuales, virilización y agenesia gonadal.

Afirma en sus estudios que la estructura cromosomal es variable aun bajo la acción de tratamientos hormonales y en casos de proliferación carcinomatosa.

Dicho autor aconseja como colorantes la hematoxilina (Harris). Su trabajo se basa en 10 fetos nacidos muertos (5 masculinos y 5 femeninos), en pacientes con síndrome de virilización, de agenesia gonadal y pseudohermafroditismo, en un total de 30 casos.

Concluye en su trabajo que prefiere la biopsia de la mucosa gingival por poseer un epitelio con más cuerpos de Malpighi que la piel siendo un método útil para diagnosticar el sexo cuando se tiene duda tal como la agenesia gonadal, la virilización, o sujetos intersexuales.

SOHVAL, A.R. et al (1956), en trabajos con biopsias de piel para determinar el sexo cromosómico concluye que dicho método es de confianza.

El material fué de 28 varones y 27 hembras normales en cuanto al sexo y equilibrio hormonal y un grupo de 76 sujetos con marcadas alteraciones sexuales e inestabilidad hormonal. Entre estos había - hembras con virilismo, deficiencia estrogénica, con síndrome de Cushing y enfermedad de Addison como también machos con deficiencia androgénica, criptorquidismo, bajo terapia androgénica y estrogénica, síndrome de Cushing y Addison, estados intersexuales como pseudohermafroditismo masculino y hermafroditismo verdadero. La edad estaba comprendida desde recién nacido a individuos de 80 años.

La masa cromatínica sexual se encontró característica solamente en los núcleos femeninos y no en los masculinos. Los estudios de la morfología nuclear, tanto en sujetos normales como aquellos con marcadas alteraciones sexuales e inestabilidad hormonal, han demostrado que la característica cromatínica deriva de los cromosomas XX de la hembra y no de la función hormonal.

El sexo cromosómico corresponde al sexo genital aparente en los jóvenes con criptorquidia unilateral sin complicación; en hombres con síndrome de Cushing y enfermedad de Addison.

El autor afirma que la identificación del sexo cromosómico por el método de biopsia de piel es seguro también para diferenciar los varones de las hembras en caso de pseudohermafroditismo.

También dice haber encontrado núcleos de estructura masculina en pacientes con agenesia ovárica, lo mismo que para determinar el verdadero sexo gonadal coincidente con el cromosómico en los casos de pseudohermafroditismo y de hermafroditismo verdadero.

SHETTLES(1956) practicó punciones de la cavidad amniótica en ce

sárea baja cervical y en membranas prominentes, durante el trabajo de parto.

40 pacientes fueron estudiadas usando como colorante el método de Feulgen modificado, después de centrifugar el líquido amniótico.

Dice que las células de este líquido provienen de la piel del feto, del epitelio gastrointestinal, del epitelio respiratorio y del tracto urinario como también del cordón y del amnios; que por medio de la cromatina sexual en los respectivos núcleos es posible diagnosticar el sexo cromosomal; que el líquido amniótico puede ser estudiado para determinar el sexo de los niños dando poca oportunidad de errores; y que de los 40 casos estudiados resultaron 20 fetos masculinos y 20 femeninos. La cromatina sexual fué vista en el 28 a 65% en los núcleos femeninos pero en ninguno de los masculinos.

Según SERR, SACHS, DANON (1957) el diagnóstico del sexo fetal por la cromatina de las células, en el líquido amniótico, es un medio de confianza, superior a otros métodos, naturales o subnaturales según los clasifica BLAKEL.

Las bases técnicas se fundan en la diferencia cromosómica de las células masculinas y femeninas.

El líquido amniótico lo obtuvieron momentos antes del parto, - puncionando membranas prominentes o por ruptura de membranas para inducción al parto, por punción transabdominal y directamente en el útero expuesto en cesárea; además usaron también líquido amniótico de fases más tempranas del embarazo.

Para la punción transabdominal colocaron a las pacientes en posición de Trendelenburg, previo cateterismo vesical, asepsia rigurosa,

e infiltración con procaína al 1 %. Se practicó la punción con aguja espinal No. 19, recta, provista de mandril, a media altura de la línea umbilico-púbica con adaptación de momento según el caso.

El líquido obtenido es centrifugado por 5 minutos a 2500 revoluciones, inmediatamente después de haberlo obtenido. Algunos fueron centrifugados después de 10 horas.

Practican frotis del sedimento en una lámina con albúmina de huevo, fijándolo en Alcohol-Eter  $\bar{a}\bar{a}$  de una a 24 horas. Al ser necesario transporte de la lámina se pasaba por alcoholes a 70 % a 50 %, agua destilada y luego glicerina y agua. Se lavan las láminas por 8 minutos con ácido clorhídrico a 60°, se tiñe con fuchsina básica por una hora seguida de tres baños de ácido sulfuroso y tres baños con agua destilada; pasar por alcoholes al 70 y 95 %, se tiñe con verde pálido en solución alcohólica al 95 %, y se sigue con dos baños de alcoholes al 95 %, alcohol absoluto y xilol  $\bar{a}\bar{a}$ , luego xilol y bálsamo del Canadá.

De 63 casos estudiados, 50 en el 9<sup>o</sup>, mes resultaron 23 masculinos y 27 femeninos. De los 13 restantes el diagnóstico fué correcto en todos menos en 1 por falta de células; 12 de ellos fueron punciones-transabdominales de las cuales se hizo el diagnóstico correcto en 11 casos, 1 de ellos sangró mucho y el líquido salió con meconio no obstante fué diagnosticado masculino habiendo expulsado 2 semanas después un feto masculino.

El diagnóstico del sexo es posible desde las 12 semanas de embarazo, pero más práctico en la 14a y en la 16a semana; 1 de los casos mencionados era de 4 meses de embarazo y aunque el líquido fué esca

so tenía alta proporción de células, facilitando el diagnóstico. En los primeros meses de gestación la mayoría de las células del líquido están íntegras, no habiendo tantos núcleos picnóticos como en los últimos meses. Según los autores la punción es más difícil al final del embarazo, pues en los primeros meses (del 4o al 7o mes) el líquido es relativamente más abundante en comparación con el feto pequeño y móvil.

Se refieren a WHITEHEAD para la determinación radiológica de la posición del feto y de la placenta.

Comentan los datos de tocodinamometría por ALVAREZ y CALDEYRO quienes demuestran que la punción es un método carente de peligro, no habiendo efectos secundarios aún cuando puncionan el útero en contractura.

Recuerdan la revisión bibliográfica de MUELLER sobre aspiraciones de líquido amniótico en polihidramnios para tratamiento, con la conclusión que son escasos los peligros de la punción.

Han sido citadas hemorragias por ABBAN, GALLINA, CENTRONI, AZARINI y GRANJON. El líquido sanguinolento sugiere sangramiento del feto o de la placenta lo cual no ha sido un accidente serio. Para injuriar la placenta sería menester un trocar muy grueso y romo.

La punción ha sido usada no sólo para aspirar el líquido sino también para inyectar sustancias en la cavidad amniótica. Por otro lado los experimentos en radiología han tenido complicaciones por la toxicidad de los medios de contraste.

En los gemelos el diagnóstico de ambos sexos es un problema.

El hermafroditismo es tan escaso que no influencia el porcentaje de la prueba.

En ciertas enfermedades ligadas al sexo como por ejemplo la hemofilia, la punción diagnóstica es importante para considerar la posible interrupción del embarazo.

Según los mismos autores las publicaciones de COOMBS y EDWARD'S sobre los grupos sanguíneos en las células epiteliales y su aplicación a las células del feto en el útero abre más campos para determinar no sólo el desorden hereditario sino la causa autosomal.

En resumen en 63 casos, 50 en el 9o. mes y 13 en el 2o. y el 7o. mes se diagnosticaron correctamente 62; 1 caso de aborto no pudo ser detectado.

De los 13, en 11 se practicó paracentesis abdominal, en 1 punción del útero expuesto por laparotomía y en el último el líquido amniótico se obtuvo del embrión expulsado en un aborto.

KEYMER, SILVA, ISUNZA y COTTS (1957) estudian la determinación antenatal del sexo por la cromatina sexual en las células del líquido amniótico. Obtienen las muestras de la siguiente manera:

- 1o. Por punción de membranas prominentes en el momento de efectuarse el parto (11 casos).
- 2o. Ruptura de membranas para inducción al parto.
- 3o. Por punción transabdominal previo a operación cesárea.
- 4o. Por punción transabdominal en la segunda mitad del embarazo.

El líquido obtenido es centrifugado por 10 minutos y, sin fijar ni colorear, es llevado al microscopio de contraste de fase. El recuento fué hecho en 100 células, no incluyendo las desintegradas.

La cromatina sexual fué observada en su forma plano-convexa, triangular o redondeada, de 0.5 a 1.5 micras de diámetro, en contacto con la superficie nuclear.

Comentan que usando colorantes, MOORE, GRAHAM y BARR obtienen el porcentaje siguiente de cromatina sexual: de 1 a 14 % para el sexo masculino y de 52 a 85 % para el femenino. EMERY y McMILLAN obtienen 4 a 9 % para los masculinos y 25 a 54 % para los femeninos. TAVAREZ, 1 a 18 % para los masculinos y 60 a 80 % para los femeninos.

Los autores encontraron 1 a 10 % para los masculinos y 14 a 70% para los femeninos, lo que establece alguna confusión para determinar el sexo. Proponen la siguiente clasificación en base de los porcentajes obtenidos: sexo femenino, estados intersexuales y contrasexuales.

Concluyen que, ningún varón es 100 % masculino y ninguna hembra 100 % femenina desde el punto de vista cromatínico, en su experiencia el sexo del feto puede ser determinado con seguridad por el estudio del centrifugado del líquido amniótico en el microscopio de fase.

Según los autores la punción transabdominal no es peligrosa.

HENRY, PARRISH, ROUNTREE, LOCK y SALEM (1958) en un trabajo sobre 50 casos de pacientes normales, en quienes practicaron punciones abdominales para extraer líquido amniótico, propusieron el término amniocentesis transabdominal como el más apropiado en lugar de: amniotomía de ASMMON, paracentesis abdominal de EMMEL, aspiración abdominal del líquido amniótico de MÜELLER, punción transcutáneo amniótica de ROUCHY, paracentesis uterina de DANZIGER.

La punción fué hecha en varios estados de la gestación; la edad de las pacientes estaba entre los 17 y los 40 años y la paridad de 0 a VII. Ellas fueron instruídas de que sufrirían una punción no dolorosa. Se excluyeron las pacientes con previa cesárea u otras complicaciones obstétricas.

Las pacientes fueron cateterizadas, se detectó la posición fetal y el foco y fué usado yodo al 10 % en alcohol como antiséptico.

Cubierto el abdomen con campos estériles, la punción fué efectuada a media altura de la línea pubico-umbilical, previa anestesia local con novocaína al 1 % , no teniendo problema alguno en relación al dolor producido por la punción salvo en un 10 % de los casos en que hubo dolor espinal cuando la aguja tocó el peritoneo. La aguja usada es de punción espinal calibre No. 8, de  $3\frac{1}{2}$  pulgadas de longitud.

Al introducirse en el saco amniótico la aguja presentaba fuertes oscilaciones provocadas por los movimientos enérgicos del feto. Al aspirar, se extrajeron de 15 a 25 cc de líquido amniótico.

En 5 casos salió sangre al retirarse el mandril de la aguja, por haber caído posiblemente en la placenta o no haber atravesado la pared uterina; sin embargo, al profundizarla, se extrajo líquido claro.

En 5 casos de cesárea procedidas de la amniocentesis no se encontró gran cantidad de sangre en el líquido ni infiltración hemorrágica en la piel.

La punción la efectúan desde la 20a semana. El líquido antes de la 36a semana estaba claro o ligeramente nublado pero en las últimas semanas está subido de color.

En sus conclusiones, resaltan haber hecho punciones en 50 pacientes, entre la 20a semana y la 40a semana de gestación; que este procedimiento es usado experimentalmente para diagnóstico, terapéutica y estudios del líquido amniótico; que un 50 % de las pacientes no sufrieron ninguna molestia posterior a la punción mientras que las demás acusaron dolencias abdominales durante el primer día (40 %) o duran

te 2 o 3 días (8 %) después de la punción. Una paciente tomó cama por malestar durante un día, sin que el feto o la madre presentaran anomalías; otro caso desarrolló eclampsia, complicación ajena a la punción.

NOYES y KOLB (1958) en su tratado de psiquiatría clínica moderna, enfocan el embarazo y el puerperio como causas de muchos desórdenes mentales. El mantenimiento de la homeostasis fisiológica y de la situación emocional ante el estado de preñez o post-parto pueden ocasionar reacciones psicopatológicas que influyen en la personalidad de la paciente. La embarazada casi inconscientemente piensa en el estado psicológico de ser madre, como también el significado del nacimiento de su hijo. Sin duda, algunas veces, esto reanima a la paciente hacia viejas aptitudes propias de la madre. Otras veces la paciente expresa desagrado indicando hostilidad para su marido o su niño, lo que refleja conflictos en su vida matrimonial o su maternidad.

Rechazos hacia el niño pueden ser expresados por la ilusión de que esté muerto, por abusos del tratamiento o por que alguna otra cosa puede pasarle.

Alrededor de un 50 % de las enfermedades mentales asociadas con el embarazo o el post-parto son esquizofrenias, el 25 % son maniaco-depresivas y un 20 % son reacciones psiconeuróticas.

Estos desórdenes ocurren con la misma frecuencia en el estado post-parto como cualquier otro estado.

SMITH y DAVIDSON (1958) en su simposium sobre sexo nuclear en donde presentan diversos trabajos llegando a varias conclusiones.

Primeramente llaman la atención sobre la posición de la cromosoma

tina sexual en el núcleo. En la neurona se encuentra adosada al nucleolo con mayor frecuencia, también se encuentra adherida a la membrana nuclear en algunos especímenes de mono y hombre. La cromatina sexual se encuentra adosada a la membrana nuclear en las células de otros tejidos.

No se conoce sobre las fuerzas que influyen en la estructura nuclear, variaciones en el estado funcional de las células pueden contribuir en menor o mayor grado a la posición de la cromatina sexual de una neurona a otra en la misma especie ya que su posición es claramente alterada durante la cromatolisis. Sin embargo el factor que interviene en esta variación no ha sido hasta la fecha aclarado y se necesita saber que fuerzas intracelulares actúan.

Respecto al cuerpo accesorio de Cajal que es un componente de los núcleos de la célula nerviosa necesita ser investigado. Esto debe ser discutido, aparentemente no tienen relación con la cromatina sexual. Este cuerpo tiene 0.5 micra a 1 micra de tamaño dependiendo del tipo de neurona y tiene idéntica característica en el macho y en la hembra; usualmente está libre en el nucleoplasma o adherido al nucleolo en algunas neuronas y muy raramente a la membrana nuclear. Este cuerpo es refractario a la tinción básica lo contrario a la cromatina sexual; durante la cromatolisis dicho cuerpo permanece estacionario.

Se necesita mucha seguridad para el recuento de núcleos con cromatina sexual debido que en algunas células hay masas de cromatina similares a la cromatina sexual siendo a veces difícil de catalogar.

En varios tejidos el porcentaje de los núcleos con cromatina sexual

es de 58 a 68 % en las hembras y de 0 a 21 % en los varones. Los autores recomiendan ser acucioso y cauto en cuanto a establecer el recuento por ser tan variable el porcentaje según la clase de tejido.

Con técnica avanzada puede verse la doble estructura de la cromatina sexual, lo que concluye que los segmentos heterocromatínicos de los cromosomas sexuales son homólogos siendo aún difícil aclarar de donde derivan.

La importancia de la cromatina sexual en los tumores cancerosos para su aplicación clínica está todavía en experimentación.

Los autores aconsejan que el frotis bucal es un método superior por su facilidad para el estudio de la cromatina, si hay duda de esto puede usarse muestras de piel o sangre; en esta última la investigación se lleva a cabo en leucocitos neutrófilos en los cuales la cromatina sexual se encuentra formando un apéndice en palillo de -tambor (drumsticks).

MOORE, K.L. (1959) verificó estudios sobre la incidencia de la reversión sexual en el recién nacido y su conexión con alguna anomalía congénita. La reversión sexual consiste en que el sexo cromosómico difiere del anatómico. La prueba de la cromatina sexual por el frotis bucal la usó en 3715 niños (1911 varones y 1804) durante un año.

La técnica usada fue la siguiente: se raspa la mucosa oral con una espátula estéril de madera, se extiende el frotis en su portaobjeto y se fija con Alcohol-Eter añ; el día siguiente, se colorea con violeta de cresilo. Practicó riguroso examen en cada uno, y en aquellos en que era diferente el sexo cromosómico del anatómico, se usaron otras coloraciones y métodos.

En 5 niños masculinos se encontró cromatina femenina en la proporción de 53 a 64 %. El autor opina que estos niños desarrollarán normalmente hasta la pubertad, algunos de ellos podrán tener disgenesia testicular pero otros serán individuos normales y desarrollarán sin anomalías no distinguiéndose más que por el fenómeno de reversión sexual. Estos varones normales podrán fecundar, pero como tienen cromatina positiva en sus células sus espermatozoides contienen 2 cromosomas X y sus hijos deberán tener cromosomas femeninos. Sin embargo, no se excluye la posibilidad de procrear varones como el padre con cromatina positiva.

La causa de la reversión sexual es desconocida habiendo varias hipótesis como por ejemplo, anomalías cromosómicas, insuficiencia precoz de las células germinativas primordiales, pacientes con disgenesia testicular, desequilibrios hormonales.

El autor concluye que algunos de estos 5 varones con cromatina positiva pueden mostrar signos de disgenesia testicular o mentalidad subnormal.

De 3715 recién nacidos en todos, menos en 5 varones con reversión sexual, el sexo cromosómico correspondió al sexo anatómico.

#### C O M E N T A R I O

De la revisión bibliográfica se puede extractar que la diferencia sexual de la morfología nuclear es un fenómeno general que existe en todos los tejidos y órganos del ser humano, fácil de llevarlo a la práctica con un simple raspado de la mucosa oral dando un alto porcentaje de seguridad en la diferencia del sexo sobre todo en los casos dudosos como por ejemplo pseudohermafroditismo, virilización, su

jetos intersexuales, enfermedades por trastornos glandulares, etc.

Siendo fácil e inocua la obtención del líquido amniótico amerita investigar la cromatina sexual de las células del centrifugado - para pronosticar el sexo del feto, práctica que ha sido efectuada en muchos trabajos con resultados satisfactorios.

Este puede ser obtenido de la siguiente forma: por vía vaginal, puncionando a través de la cara anterior o posterior del cuello; por ruptura directa de las membranas; por punción del útero expuesto previa cesárea u otra operación abdominal; en aborto con embrión intacto y por paracentesis transabdominal.

Es importante comentar que de todas las vías descritas para obtener líquido amniótico, la paracentesis transabdominal es la que ofrece mejores ventajas:

1o. Se puede obtener durante la gestación desde la 20a semana, en varios estados del embarazo. 2o-Ofrece mayor oportunidad de asepsia. 3o La hemorragia es mínima en el lugar de la puntura. 4o-Tiene menor riesgo de conducir al parto prematuro.

El lugar ideal que aconseja la mayoría de los autores para prácticar dicha punción es el punto medio entre la línea umbilico-púbica.

La maniocentesis transabdominal ha sido practicada por algunos autores desde el 4o mes de la gestación y en un caso de 3 meses de embarazo previo a una histerectomía que se practicó por otra patología.

En los primeros meses es mayor la cantidad de líquido en proporción al tamaño del feto; según estos autores la punción hecha en los primeros meses (se refieren del 4o al 7o mes) aunque escasa en células tiene mayor número de elementos no degenerados, lo contrario del lí

quido recogido en los últimos meses en el que existen muchas células pignóticas.

Siendo que el sexo cromosómico es visible, no estando aún diferenciado el sexo anatómico en el embrión, la prueba resulta segura y útil desde las primeras etapas de éste.

Entre las complicaciones teóricas de la amniocentesis transabdominal admitidas por algunos autores podemos citar la hemorragia en el lugar de la punción de la pared abdominal, de las venas o senos uterinos y de la placenta; perforación del intestino o vejiga, absceso, peritonitis, infección fetal, septicemia, injuria traumática del feto, inducción al parto prematuro, embolia del líquido amniótico o de aire. Ninguna de estas complicaciones se registraron en estos estudios ni signos de shock, ni síncope seguido a la punción.

En cuanto a los resultados obtenidos en el recuento de células con cromatina sexual para cualquier muestra son favorables. Todos concuerdan en que el porcentaje de células con cromatina positiva del 25 % en adelante corresponden al sexo femenino mientras que menor del 25 % al sexo masculino.

Respecto a los casos de reversión sexual importa saber que es una anomalía rara.

En cuanto al porvenir genético de estos niños cabe decir con otros que algunos sufrirán durante la adolescencia manifestaciones de disgenesia gonadal pero otros se desarrollarán aparentemente normales y serán aptos para la fecundación. Algunos autores han encontrado espermatozoides en las gonadas de estos pacientes pero no en todos los casos.

M A T E R I A L Y M E T O D O

El líquido amniótico usado en este trabajo se obtuvo de 54 gestantes ingresadas en el Hospital de Maternidad de El Salvador, todas en el 9o. mes de embarazo, de raza mestiza de blanco con indio, del grupo etario de 20 a 30 años y paridad de I a VII. Se seleccionaron pacientes sin cesárea previa, por motivos que se especifican adelante, y sin complicaciones obstétricas o médicas. Siempre que fué posible, se dió preferencia a pacientes con polihidramnios por la facilidad de obtención del líquido.

Obtención del Líquido Amniótico. El líquido amniótico se obtuvo por vía vaginal en 23 casos (Cuadro No.1) y por la vía transabdominal en 26 (Cuadro No.2).

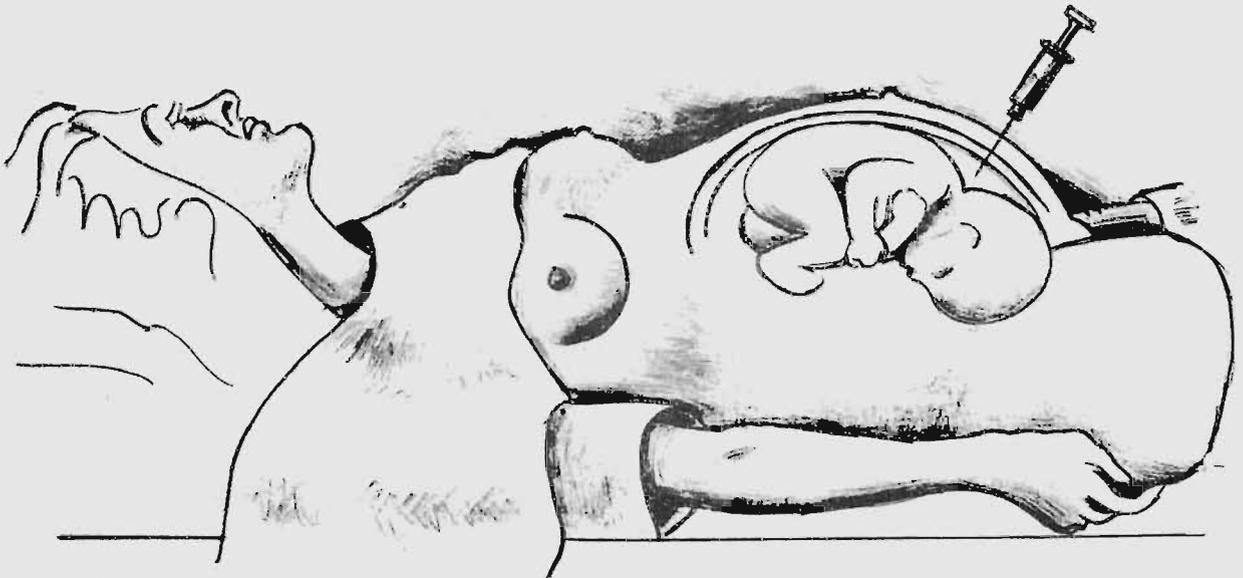
Vía Vaginal. Sin requerir preparación especial de la paciente se utilizó esta vía puncionando las membranas íntegras prominentes al momento de efectuarse el parto. La punción se hizo con agujas hipodérmicas No.20 o 25 adaptadas a jeringas, teniendo la precaución de efectuarlas en el intervalo de los dolores, por estar las membranas sometidas a menor tensión y menos sujetas a desgarró lo cual daría lugar a la pérdida brusca del líquido amniótico, dificultando su aspiración.

Vía Transabdominal. Según el estado de ánimo de la paciente se dió o no explicaciones alentadoras.

Una vez vaciada la vejiga con o sin cateterismo para evitar el riesgo de puncionar el globo vesical, se coloca la paciente en decúbito dorsal.

Sin sedación previa se hizo antisepsia con jabón, agua estéril, Quirocet y se cubrió la región con un campo perforado; luego se infiltró con 2 cc de xilocaina o meticaína, el sitio de la punción a media

altura de la línea umbilico-púbica. Se introdujo una aguja de punción lumbar No.22 o 20 con su mandril, perpendicularmente al plano abdominal; a veces por los movimientos fetales, se dió un cierto grado de inclinación para evitar daño al feto. El reconocimiento de alcanzar la cavidad amniótica se obtiene cuando la sensación de resistencia a la punción desaparece bruscamente. En este momento por lo



general el feto imprime movimientos vigorosos a la aguja, lo que no indica que se le haya herido. Manipulando la aguja, se puede comprobar si su punta está libre o no; además estando libre, al retirar el mandril, hay salida de líquido amniótico amarillento o blanquecino, grumoso, e incluso a veces con meconio (como sucedió en el caso No.44 del Cuadro No.2). Seguidamente se aplicó una jeringa, aspirando 10 a 15 cc de líquido.

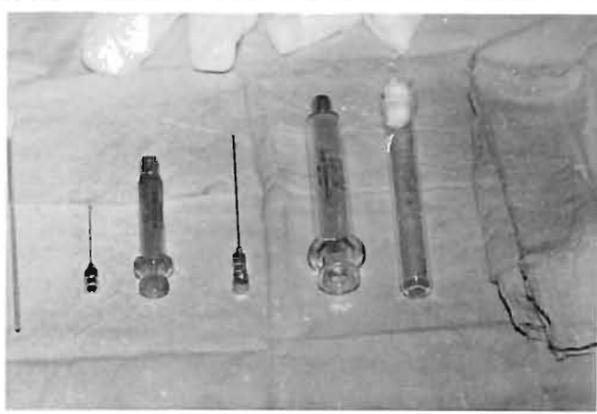
Ocasionalmente sucede que al retirar el mandril gotea sangre; eso ocurre cuando la punta de la aguja se encuentra en la placenta o en el músculo uterino; introduciendo más la aguja se obtiene la muestra hasta que el líquido sea claro; la muestra sanguinolenta se descarta por su abundancia en leucocitos lo que dificultaría el estudio de los elementos epiteliales del líquido.

Preparación del frotis. El líquido amniótico obtenido es centrifugado por 20 minutos a 1000 revoluciones y por 5 minutos a 2500 revoluciones.

Del sedimento resultante se preparan láminas según el método usado por MOORE & BARR, que describimos a continuación .

- 1o. Colocar el sedimento en frotis delgado sobre portaobjetos cubiertos previamente con una fina capa de albúmina de huevo.
- 2o. Colocarles inmediatamente en líquido fijador (Eter-Alcohol a 95 % añ) durante 30 minutos
- 3o. Hidratación de los frotis: pasajes en alcoholes decrecientes -- de 100 % hasta H<sub>2</sub>O, 1 minuto en cada uno.
- 4o. Coloración con solución acuosa al 0.5 % de violeta de cresilo, con cuatro gotas de ácido acético glacial al 1x10 para cada 100 cc de la solución, durante 30 minutos a 50°C. en la estufa.
- 5o. Lavar con agua destilada .
- 6o. Diferenciar en alcohol a 70 % hasta limpiar el fondo.
- 7o. Neutralizar y deshidratar en alcohol a 95 % con bicarbonato -- de soda al 5 % durante 1 minuto.
- 8o. Pasar por alcohol a 95 %, 1 minuto, luego en alcohol al 100 %, 1 minuto y dos a cuatro pasajes por xilol.
- 9o. Montar en bálamo.

I. MATERIAL UTILIZADO PARA LA  
AMNIOCENTESIS TRANSABDOMINAL.



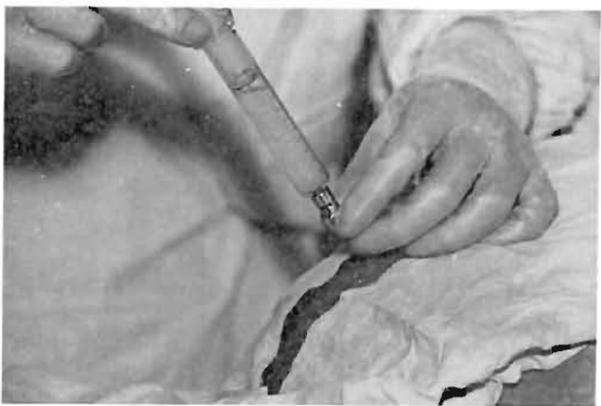
II. INTRODUCCION DE LA AGUJA  
ESPINAL.



III. ASPIRACION DEL LIQUIDO.



IV. OBTENER DE 12 A 15 cc.



R E S U L T A D O S

Para tener una máxima seguridad en el recuento de los núcleos se tomaron como típicos solamente aquellos que contienen la cromatina sexual visible en la periferia es decir, adosada a la membrana nuclear según la Fig. No.1. Esto no da lugar a confundir el núcleo con la cromatina sexual la cual dará errores en el porcentaje.

El conteo se hace considerando solamente los núcleos nítidos en interfase sobre todo los de aspecto vesicular como lo recomiendan MOORE & BARR para evitar errores de interpretación con aquellos que tienen condensaciones de cromatina dispersa y que son artefactos de coloración.

En los datos obtenidos los recuentos de lámina con cromatina sexual visible a la periferia o sea positiva fueron variables, siendo mayor de 24 % para los casos que resultaron fetos hembras y de 0 hasta 12 % en los casos de fetos varones.

Existen líquidos en los cuales no se encuentra cromatina positiva en la célula correspondiente a fetos masculinos; como también líquidos cuyas células tenían cromatina sexual visible en porcentajes desde 1 hasta el 12 % correspondiendo a fetos varones. La cromatina sexual visible en porcentajes bajos, siempre que haya sido correcto el recuento de láminas debe catalogarse como correspondiente al sexo masculino, mientras los líquidos de pacientes con feto hembra tienen porcentajes altos de cromatina sexual visible en los núcleos celulares.

En todos los pacientes salvo en unos pocos casos se recogieron 12 a 15 cc de líquido amniótico. No todos fueron abundantes en células y algunos presentaron un sedimento hasta imperceptible. -

sin embargo aún con escasa cantidad de centrifugado siempre hubo su ficiente acúmulo de células en la lámina para efectuar el recuento en el frotis coloreado.

Ningún líquido presentó bacterias pero en ocasiones tenían a bundantes leucocitos y hematíes, no prestando dificultad para el re cuento por diferente morfología.

Las pacientes se mostraron muy tranquilas no observando compli caciones graves en los días sucesivos.

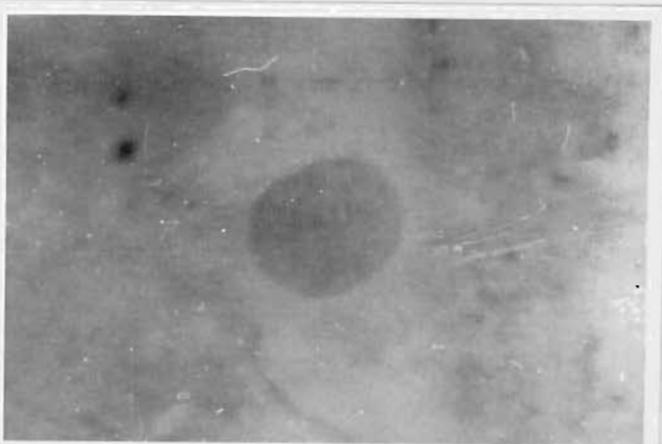
En un caso (No.1 del Cuadro No.2) se aceleró el trabajo de parto sin otras consecuencias.

Otro fué un parto distócico (No.24 del Cuadro No.2) habiendo na cido una niña con espina bífida e hidrocefalía, ninguna otra compli cación.

En otro caso la intención de extraer líquido amniótico fué nu la sin ningún maltrato de la paciente, fué suspendida.

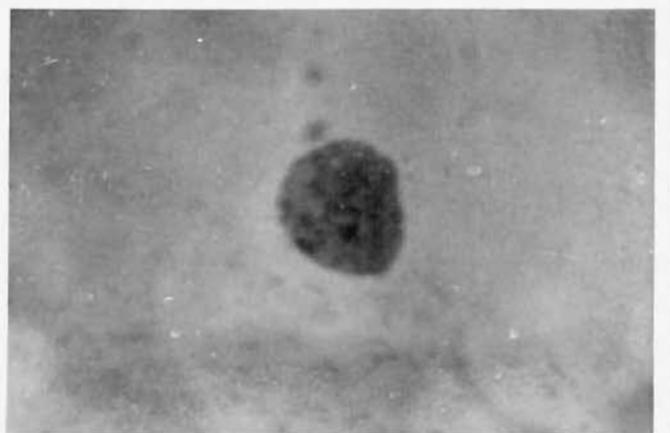
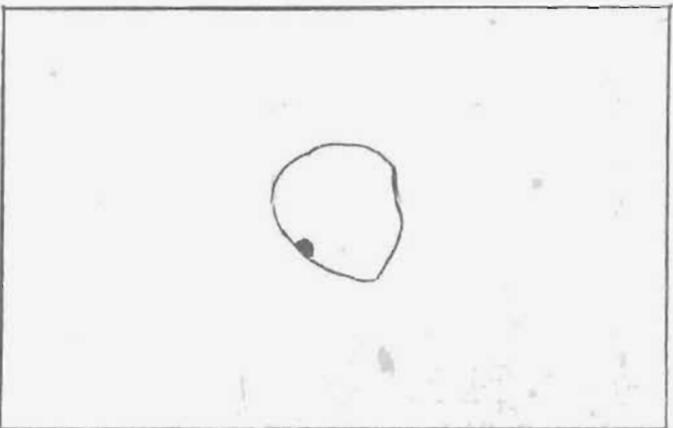
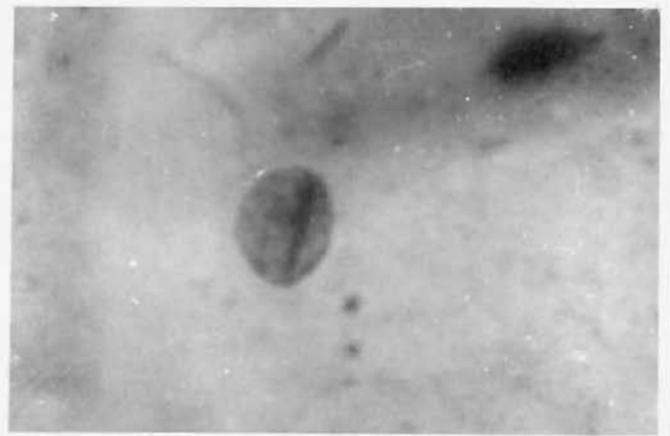
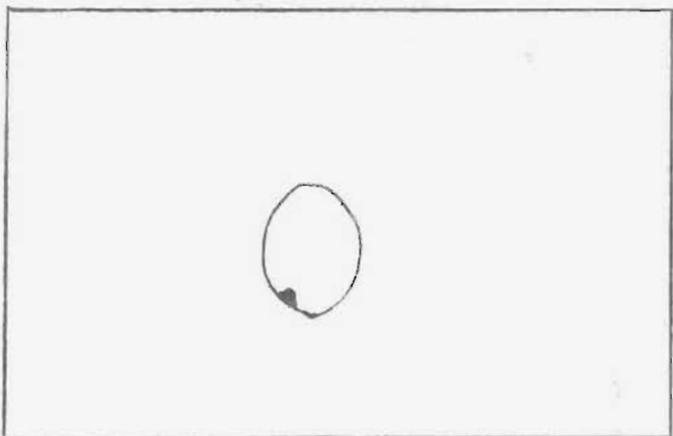
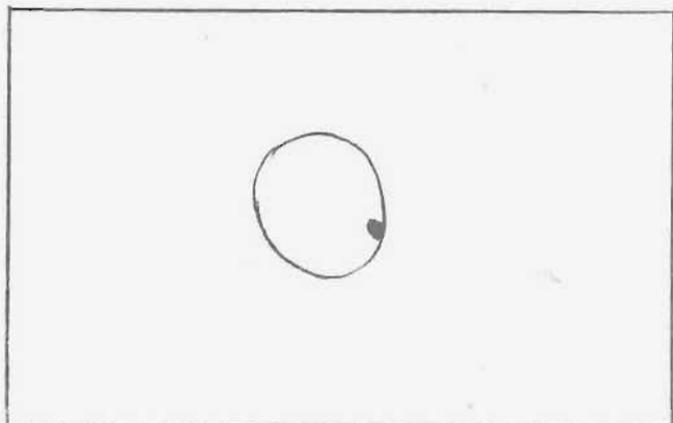
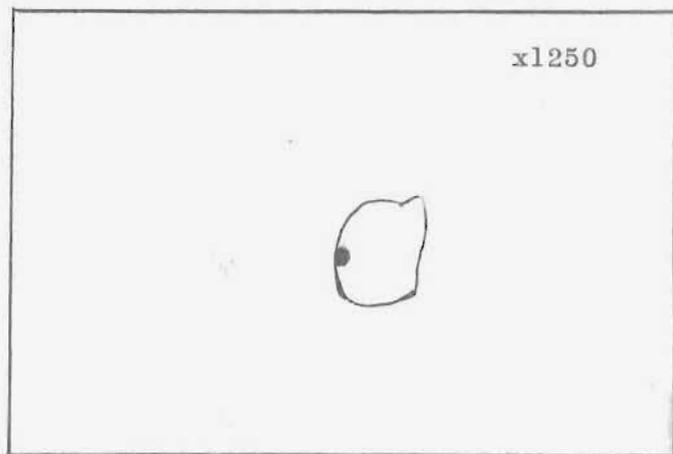
Los recién nacidos no presentaron ninguna injuria visible.

#### M I C R O F O T O G R A F I A S



Núcleo de célula de lí quido amniótico sin - cromatina sexual visi ble correspondiente a feto masculino. x1250

NUCLEOS DE CELULAS DE LIQUIDO AMNIOTICO MOSTRANDO LA CROMATINA SEXUAL



CUADRO No. 1

No.	Archivo Hosp. Matern.	Punción	Cromatina Sexual		Sexo Anatómico del recién nacido
			%	Sexo	
1	49277	Transvaginal	7	♂	Masculino
2	51548	Transvaginal	6	♂	Masculino
3	10821	Transvaginal	39	♀	Femenino
4	36722	Transvaginal	11	♂	Masculino
5	3714	Transvaginal	39	♀	Femenino
6	53144	Transvaginal	29	♀	Femenino
7	53137	Transvaginal	2	♂	Masculino
8	11630	Transvaginal	0	♂	Masculino
9	53281	Transvaginal	25	♀	Femenino
10	32658	Transvaginal	4	♂	Masculino
11	3853	Transvaginal	-		Contaminado
12	53480	Transvaginal	1	♂	Masculino
13	33285	Transvaginal	36	♀	Femenino
14	44479	Transvaginal	0	♂	Masculino
15	14377	Transvaginal	0	♂	Masculino
16	32133	Transvaginal	3	♂	Masculino
17	52598	Transvaginal	4	♂	Masculino
18	53725	Transvaginal	12	♂	Masculino
19	41064	Transvaginal	8	♂	Masculino
20	53874	Transvaginal	3	♂	Masculino
21	45084	Transvaginal	40	♀	Femenino
22	25140	Transvaginal	2	♂	Masculino
23	16926	Transvaginal	25	♀	Femenino

CUADRO No. 2

No.	Archivo Hosp. Matern.	Punción	Cromatina Sexual		Sexo Anatómi- co del recién nacido
			%	Sexo	
1	53380	Transabdominal	1	♂	Masculino
2	7081	Transabdominal	42	♀	Femenino
3	53511	Transabdominal	25	♀	Femenino
4	221	Transabdominal	30.5	♀	Femenino
5	53570	Transabdominal	29	♀	Femenino
6	53536	fallida	--		
7	53187	Transabdominal	33	♀	Femenino
8	3104	Transabdominal	34.48	♀	Femenino
9	53627	Transabdominal	40.8	♀	Femenino
10	154452	fallida	--		
11	38805	Transabdominal	1	♂	Masculino
12	53867	Transabdominal	39	♀	Femenino
13	53955	Transabdominal	8.9	♂	Masculino
14	53427	Transabdominal	28	♀	Femenino
15	54014	Transabdominal	1	♂	Masculino
16	54002	Transabdominal	incid		
17	54043	Transabdominal	6	♂	Masculino
18	11854	Transabdominal	1	♂	Masculino
19	27264	Transabdominal	12.1	♂	Masculino
20	42240	Transabdominal	31	♀	Femenino
21	21924	Hidrocefalo con espina bífida	20	♀	Femenino
22	54307	Transabdominal	0	♂	Masculino
23	38878	fallida	--		
24	33305	2cc liq. Amn.	0	♂	Masculino
25	34867	fallida	--		
26	54384	Transabdominal	2	♂	Masculino
27	54428	Transabdominal	0	♂	Masculino
28	54426	Transabdominal	26.4	♀	Femenino
29	18777	Transabdominal	0	♂	Masculino
30	54559	Transabdominal	30	♀	Femenino

C O M E N T A R I O

Para practicar la punción transabdominal se requiere una asepsia estricta, igual que para cualquier intervención quirúrgica dado el riesgo de contaminar el líquido amniótico, que es un medio fructuoso, evitando así consecuencia graves para el feto y la madre.

El sitio ideal para practicar la punción es la línea media infra-umbilical, en la mitad de la distancia del pubis al ombligo; sin embargo la palpación de partes fetales a este nivel hace que dicho lugar a veces no pueda utilizarse para la punción y es necesario una nueva exploración para apreciar una región donde no se detecte resistencia fetal. La experiencia más que nadie habilita para escoger este lugar que generalmente se acerca al ombligo reconociéndose por cierta elasticidad, fluctuancia y a veces peloteo.

La punción puede practicarse con una aguja de punción lumbar No.20 no obstante la No.22 parece menos traumática.

La amniocentesis ha sido efectuada por algunos autores desde el 4o. mes de embarazo, en nuestro medio fué hecha en el 9o. mes, en las primeras horas de haber comenzado el trabajo de parto con feto flotante o insinuado, incluso encajado, en un caso de placenta previa con 8 meses de embarazo (No.30 del Cuadro No.2) que terminó en cesárea, en dos pacientes con falsos dolores cuyo parto se verificó 18 días después en una y 14 días después en la otra (No.2 y 8 del Cuadro No.2) respectivamente. En una paciente con abundante líquido detectado por la palpación y que por error de interpretación en progreso del parto, fué puncionada 15 minutos antes de verificarse este.

Se escogió a pacientes con embarazo a término con el objeto de corroborar lo más inmediato posible los datos encontrados en el lí

quido con el sexo del recién nacido. Respecto a complicaciones, ninguna fué observada en las pacientes, fuera de la primera punción transabdominal en el cual se aceleró el progreso del parto; sin embargo es importante admitir con otros, algunas posibles complicaciones como hemorragia de la pared abdominal en el lugar de la punción de la placenta, de las venas y senos uterinos, perforación del intestino, vejiga, peritonitis, absceso, infección fetal, septicemia, injuria traumática del feto, inducción al parto prematuro, embolia del líquido amniótico o aire.

Descartamos pacientes con previa cesárea por posibles adherencias del intestino a la cara anterior del útero y el riesgo de perforarlo al momento de la punción. En amenaza de parto prematuro y en otras complicaciones obstétricas.

Respecto a los porcentajes relativos al recuento de células - del líquido amniótico que contienen cromatina sexual hay acuerdo - con las cifras encontradas por otros autores en este trabajo, los frotis que contenían más del 20 % de células con heterocromatina se han considerado pertenecientes a feto hembra y con porcentajes de 0 a 12 % a varones.

La presencia de cromatina sexual en la periferia de los núcleos de algunos fetos varones indudablemente queda justificado si vemos las estadísticas de biopsias con cromatina sexual positiva en individuos masculinos.

Se han tomado en cuenta desde el punto de vista estadístico sólo casos normales en cuanto al sexo cromosómico, dada la posibilidad de encontrarse con anomalías como agenesia ovárica y reversión

sexual de frecuencia rara y cuya sola expresión las define.

Respecto a este último caso mediante la punción se podría revelar prematuramente tal anomalía pudiendo comprobarse más tarde en el neonato por frotis oral o biopsia de piel.

Por otra parte siendo el estado de reversión sexual representante de un porcentaje ínfimo no alteraría en gran parte la positividad y seguridad del método, ni se toma en cuenta para desvalorizar la seguridad de este.

Como su apareamiento en el líquido amniótico revela en realidad el sexo cromosómico en contraposición con el anatómico, constituye una prueba falsa y verdadera: falsa por no dar el sexo anatómico y verdadera por indicar la reversión sexual en éste, siendo así indicativo de tal anomalía que de otra manera hubiera pasado inadvertida.

## C O N C L U S I O N E S Y R E S U M E N

El diagnóstico del sexo por medio de la cromatina sexual en células del líquido amniótico es un método seguro.

Un porcentaje de células con cromatina sexual positiva de 25% en adelante pertenecen a un feto hembra y un porcentaje de 0 a 12 % a fetos masculinos.

En los casos de embarazo gemelar o múltiple no es posible de terminar varios sexos, pero si la punción revela con certeza que hay un feto varón o hembra bien definido.

En los casos de reversión sexual el resultado de la punción amniótica es aparentemente falso sin embargo dicha anomalía al corroborarse en el recién nacido afirma la veracidad de la prueba.

Tanto el embarazo múltiple como los casos de reversión sexual disminuyen en un grado despreciable el porcentaje de seguridad del método.

La obtención del líquido amniótico por la vía abdominal efectuada a media altura de la línea umbilico-púbica, es fácil y está exenta de peligro tanto para la madre como para el feto durante los tres últimos meses de la gestación y de igual valor práctico en los primeros meses donde hay más riesgo para ambos.

### Aplicación

Esta prueba puede ser útil en ciertas enfermedades ligadas al sexo en el ser humano, cuya sintomatología solamente la padece el hombre (ejemplo la hemofilia) y es en estos casos que la punción diagnóstica cobra valor para determinar el sexo embrionario y considerar la posible interrupción del embarazo.

En el pseudohermafroditismo que ocasiona a menudo dificultades para catalogarlo al sexo verdadero, es en realidad el caso ideal en que la cromatina sexual desempeña su importancia, puesto que el examen citológico dará el sexo cromosómico de acuerdo con el sexo real y no conforme a las características genitales externas. En estos casos la seguridad del examen del líquido amniótico puede comprobarse haciendo exámenes de mucosa bucal del recién nacido siendo similar el resultado. La aplicación de este método en medicina legal es obvia. La identificación del sexo en restos embrionarios o placentarios es segura así como también en cadáveres cuyo sexo no es fácil de identificar.

En psiquiatría: Toda mujer grávida espera con ansiedad el nacimiento de su hijo. La mayoría manifiestan el deseo hacia uno u otro sexo, expresándolo en mayor o menor grado de ansiedad que depende de cada madre.

Mientras unas permanecen indiferentes ante la llegada de su hijo sufriendo leves oscilaciones emocionales de alegría o desagrado, en otras, resulta tan lesivo el daño que desequilibra la estabilidad emocional de ésta y sus familiares ocasionando a veces disturbios que encausan a una psicosis de las tantas habidas durante la preñez.

Esta disparidad de gravidez en no querer esperar tal o cual sexo refleja a la madre hacia una supresión del embarazo (aborto o inducción) según la edad de gestación, maniobra condenada bajo todos los aspectos y con un pequeño límite de aplicación

Es aquí donde la actitud del psiquiatra en combinación con el obstetra pueden llevar a cabo una orientación de aquel problema oca

sionado por una triste e infeliz espera.

El acercamiento de madre a hijo al nacer siendo novicio será más llano, más franco ante una mente sanamente preparada que aquellas de pobreza espiritual y poco cultivada. Queda al dominio de la psiquiatría la aplicación de esta prueba contributoria.

S U M M A R Y   A N D   C O N C L U S I O N

The diagnosis of sex by means of the sexual chromatin en cells of the amniotic fluid is a dependable method.

A percentage of 25 % or more cells with a positive sexual chromatin pertains to a female foetus, and that, of 0 to 12 % to a male foetus.

In cases of bigeminal or multiple pregnancies it is not possible to determine various sexes, but the puncture does reveal with certainty that there is a well defined male or female foetus.

In cases of sexual reversion the result of the amniotic puncture is apparently false however such anomaly when corroborated in the newborn infant confirm the veracity of the test .

Cases of multiple pregnancy as well as those of sexual reversion diminish in a negligible degree the percentage of certainly of that method.

The procurement of the amniotic fluid by the abdominal procedure effected at mid-distance between the umbilical-pubic line is simple and is free from danger for the mother as well as the foetus during the last three month of gestation and of similar practical value in the first months when there is more risk for both.

Application

This test may be useful in certain diseases linked to the human sex, the symptomatology of wich only the male suffers (example: Hemophilia) and it is in these cases that the puncture diagnosis is of value in determining the embryonic sex and the consideration of the possible interruption of the pregnancy.

In pseudohermaphroditism, which occasion frequent difficulties to catalogue the true sex, it is actually the ideal case in which the sexual chromatin fulfils its importance since the cytological examination will give the sex chromosome agreeing with the actual sex and not conforming to the external genital characteristics. In these cases, the certainty of the amniotic fluid test may be proved by doing oral mucosa examinations in the newborn infant, with similar result. The application of this method in legal medicine is obvious. The identification of the sex in embryonal or placental remanesis certain as well as in cadavers the sex of which is not possible to identify.

In Psychiatry: Every pregnant woman anxiously awaits the birth of her child. The majority manifest a desire for one or the other sex. The intensity of the expression of that desire depends upon the mother. While some appear indifferent after the birth of their child, undergoing slight emotion changes of joy or displeasure in others its results are so injurious as to unbalance the emotional stability of the woman and her relatives sometimes occasioning disturbances which cause a psychosis of the many during pregnancy.

This disparity of pregnancy is not wishing to have one or another sex reflects on the mother toward the suppression of the pregnancy (abortion or induction) according to the age of the foetus, artifice condemned under all appearances and with a small limit of application.

It is here where the attitude of the psychiatrist combined together with the obstetrician may realize an orientation to that

problem caused by a sad or unhappy expectancy.

The closeness of the mother and child at birth being unobstructed will be easier and more frank with a mind sanely prepared than those of ignorance and spiritual poverty. The application of this contributory test is within the dominion of the psychiatrist.

B I B L I O G R A F I A

BARR, M.L., BERTRAM, L.F. and LINDSAY, H.A., 1950

The morphology of the nerve cell nucleus, according to sex.

Anat. Rec., 104:283-297.

BARR, M.L. and BERTRAM, E.G., 1951

The behaviour of nuclear structures during depletion and

restoration of nissl material in motor neurons. J. Anat., 85:

171-181.

BUR, G.E., 1956

Valor de la biopsia de piel en el diagnóstico del sexo. Revis

ta de la Asoc. Medica Argentina, 70:825-826, pp.230-1, 15-30 de

agosto.

GRAHAM, MARGARET A., 1954

Sex chromatin in cell nuclear of the cat from the early embryo

to maturity. Anat. Rec., 119:469-485.

HAM, A.W., 1957

Histology, 3rd. ed., 63, J.B. Lippincott Company, Philadelphia

HENRY, M.P., ROUNTREE, M.E. and LOCK, F.R., SALEM, W., 1958

Technique and experience with transabdominal amniocentesis

in 50 normal patients. Am. J. Obst. & Gynec., 75:724-727.

KEYMER, E., EDNA SILVA ISUNZA and COTTS, W.E., 1957

Contribution to the antenatal determination of sex. Am. J. Obst.

& Gynec., 74(5):1098-1101.

MOCRE, K.L. & BARR, M.L., 1954

Nuclear morphology, according to sex, in human tissues. Act.

Anat., 21(3):197-208.

MOORE, K.L. and BARR, M.L., 1955

Smear from the oral mucosa and the detection of cromosomal sex. Lancet, 2:57.

MOORE, K.L., 1959

Sex reversal in newborn babies. Lancet, 7066-217, Jan. 31

MOORE, K.L., MARGARET GRAHAM and BARR, M.L., 1953

The detection of chromosomal sex in hermaphrodites from skin biopsy. Surg. Gynec. Obst., 96:641-648.

NOYES, A.P. and KOLB, L.C., 1958

Modern Clinical Psychiatry. 5th ed. pp. 70-71, W.B. Saunders Co. Philadelphia and London.

PRINCE, P.H., GRAHAM, MARGARET and BARR, M.L., 1955

Nuclear morphology according to sex, in macacus rhesus. Anat. Rec., 122:153-171.

SERR, D.M., SACHS, L. and DANON, M., 1957

The diagnosis of fetal sex during pregnancy. Surg. Gynec. Obst. 104(1):157-162.

SHETTLES, L.B., 1956

Nuclear morphology of cells in human amniotic fluid in relation to sex of infant. Am. J. Obst. & Gynec., 71:834-838.

SMITH, D.R. and DAVIDSON, W.M., 1958

Symposium on Nuclear Sex. Interscience Publisher, New York.

SOHVAL, A.R., GAINES, J.A., GAVRILOVE, J.L., 1956

Clinical experiences with the skin biopsy method of detecting cromosomal sex. Am. J. Obst. & Gynec., 70:1074-1082.

TREJOS, A. y RODRIGO ZELEDON, A., 1953

Normas para la preparaci3n de Trabajos Científicos. Ed. Univ. Univ. de Costa Rica. Sec. Tesis de Grado y Ensayos No. 6