

# CITOGENÉTICA PRENATAL

DRA. FANNY CORTÉS M.  
MÉDICO PEDIATRA-GENETISTA.  
DEPARTAMENTO DE PEDIATRA.  
DEPARTAMENTO DE GINECO OBSTETRICIA.  
fcortes@clinicalascondes.cl

T.M. GIANNINA FRANCO C.  
T.M. PAULA VELÁSQUEZ M.  
T.M. CECILIA BE R.  
LABORATORIO DE CITOGENÉTICA.  
CLÍNICA LAS CONDES.

## RESUMEN

Las afecciones cromosómicas son responsables de un alto porcentaje de las muertes prenatales y neonatales. El realizar un adecuado y oportuno diagnóstico prenatal es fundamental para que el equipo médico y la familia estén preparados de la mejor forma para recibir y tratar al recién nacido.

En esta publicación se describe la experiencia de 18 años (1989-2007) del Laboratorio de Citogenética de Clínica Las Condes en el diagnóstico citogenético prenatal.

Durante este periodo se realizaron 2.526 estudios prenatales: 1.446 en vellosidades coriales, 683 en líquido amniótico, 379 en sangre fetal y 18 en otros fluidos (11 líquidos de hidrotórax y 7 orinas fetales), lo que representa un 26% del total de exámenes realizados por el laboratorio durante el periodo ( $n=9.738$ ). El porcentaje de exámenes alterados fue de 20,3%. Se analizan los resultados de acuerdo al tipo de muestra, edad materna, edad gestacional y tipo de alteración encontrada.

## SUMMARY

Chromosomal abnormalities are the cause of an important number of prenatal and neonatal deaths. Early and reliable prenatal diagnosis is essential for families and for professional teams in order to be prepared to receive and treat in the best way the newborn.

In this report we describe the 18 years experience (1989-2007) of the Cytogenetics Lab of Clínica Las Condes in cytogenetic prenatal diagnosis.

During this period 2526 prenatal cytogenetics analysis were performed (1446 corionic villi sample, 683 amniotic

fluid, 379 fetal blood and 18 in others fluids (11 fluid from hydrothorax and 7 fetal urine); this represents 26% of the total samples analyzed at the Lab during this period ( $n=9738$ ). The percentage of abnormal results was 20,3%. We present and discuss the results according to type of sample, maternal age, gestational age, and type of chromosomal abnormalities detected.

Key words: Cytogenetics, karyotype, prenatal diagnosis.

## INTRODUCCIÓN

La historia de la citogenética humana es relativamente nueva, recién en 1956 Tjio y Levan determinaron que el número de cromosomas de la especie humana era de 46 (1). La primera publicación en que se demostró una anomalía cromosómica como causa de una enfermedad humana fue la de Lejeune en 1959: la trisomía del cromosoma 21 era responsable del síndrome de Down (2). Esta publicación fue seguida rápidamente por otras en que se reportaron anomalías en el número de cromosomas sexuales y las trisomías de los cromosomas 13 y 18 (3, 4).

En la medida que han ido mejorando las técnicas de estudio citogenético y que también ha mejorado la disponibilidad de obtener muestras para estudio cromosómico, más allá de los linfocitos de sangre periférica, ha sido posible la búsqueda y determinación de alteraciones cromosómicas como etiología de múltiples patologías incluyendo principalmente las áreas de la dismorfología, neuropsiquiatría, oncología y por supuesto la medicina reproductiva.

Las alteraciones cromosómicas son una causa frecuente de morbimortalidad en el hombre, especialmente en la edad pediátrica. Se estima que alrededor de 0,6% de los recién nacidos vivos presentan una alte-

ración cromosómica. Sin embargo, las alteraciones cromosómicas son también causa importante de muerte fetal y embrionaria. Se estima que un 6% de los mortinatos y más del 60% de los abortos espontáneos del primer trimestre presentan una alteración cromosómica (5). Estudios realizados en el Laboratorio de Citogenética de Clínica Las Condes, muestran que más del 70% de los estudios citogenéticos realizados en abortos espontáneos tienen una alteración cromosómica (6).

Las alteraciones cromosómicas son cambios en el cariotipo que afectan el número y/o la estructura de uno o más cromosomas. Estos cambios pueden ser heredados a partir de inversiones o translocaciones balanceadas presentes en alguno de los progenitores o pueden ser de novo, producto de una nueva mutación producida en las células germinales. Las alteraciones cromosómicas corresponden a pérdida, ganancia o rearrreglos del material cromosómico. Se clasifican en alteraciones numéricas y estructurales (7). Las alteraciones numéricas son relativamente fáciles de identificar a través de técnicas estándar de citogenética, y son de dos tipos: a) aneuploidías que corresponden a la pérdida o ganancia de uno o más cromosomas de un par homólogo y b) poliploidías que corresponden a la ganancia de un set cromosómico haploide completo (triploidías, tetraploidías...). La aneuploidía autosómica más frecuente es la trisomía 21 (1:670 RN vivos, en Chile). Las poliploidías generalmente son incompatibles con la vida (7). Las alteraciones cromosómicas estructurales se producen por mutaciones genómicas o por quiebres cromosómicos que se reparan erróneamente. Se distinguen varios tipos de alteraciones cromosómicas estructurales: translocaciones, duplicaciones, deleciones, inversiones, anillos, isocromosomas, la mayoría de ellas detectables por estudios de citogenética clásica. Sin embargo también pueden existir microdeleciones terminales o intersticiales de segmentos cromosómicos muy pequeños que no pueden ser resueltas con las técnicas clásicas y que requieren para su diagnóstico de técnicas de fluorescencia e hibridación in situ (FISH) con sondas de secuencias específicas.

Todas estas anomalías cromosómicas, salvo translocaciones balanceadas, pueden manifestarse desde el período prenatal con diferentes alteraciones dependiendo de la edad gestacional. Las alteraciones más frecuentemente asociadas a aberraciones cromosómicas esencialmente aneuploidías incluyen: aumento de translucencia nucal, ausencia de hueso nasal, retraso de crecimiento intrauterino, disminución de longitud de los huesos largos, higroma quístico, atresia duodenal, malformaciones congénitas (a mayor número de defectos es más probable que se trate de una alteración cromosómica) (8). Es en estos casos en los que se recomienda ofrecer a los padres la alternativa de diagnóstico prenatal citogenético. Otras indicaciones de estudio cromosómico prenatal son: embarazos en que se sabe que uno de los padres es portador de una alteración cromosómica balanceada o antecedente de un hijo previo, vivo o fallecido, con una alteración cromosómica (9). La alta frecuencia de alteraciones cromosómicas encontradas en fetos y embriones perdidos en forma espontánea en diversas etapas del embarazo, ha incentivado por una parte la implementación de técnicas que permitan obtener en forma más segura muestras de tejido fetal

o embrionario para estudio citogenético, y por otra parte ha obligado a desarrollar nuevas técnicas de laboratorio que permitan detectar un mayor número de alteraciones. Es así como se ha mejorado la resolución de la citogenética clásica y se han implementado nuevas técnicas de detección como el FISH para microdeleciones o para estudios subteloméricos, o técnicas como el PCR cuantitativo para el estudio de aneuploidías (10, 11).

Es importante señalar también que ha habido un avance muy importante en relación con los estudios no invasivos, marcadores ecográficos fetales y marcadores bioquímicos maternos, que permiten definir con una mayor certeza a la población en riesgo de una alteración cromosómica a la que se le ofrecerá la alternativa de diagnóstico prenatal cromosómico a través de biopsia de vellosidades coriales, amniocentesis o cordocentesis (12). Estas técnicas de screening ecográfico y bioquímico serán discutidas en detalle en otros artículos de esta revista. Durante los últimos años se han propuesto algunas técnicas no invasivas para aislar células fetales para estudios genéticos. Estas técnicas incluyen: el estudio de células fetales en sangre materna, células fetales en el cervix y DNA fetal libre en sangre materna. Hasta la fecha ninguna de estas técnicas ha probado su confiabilidad por lo que aún se mantienen en proceso de investigación (13). Las técnicas invasivas: biopsia de vellosidades coriales, amniocentesis y cordocentesis continúan siendo las técnicas de elección, dependiendo de la edad gestacional, para la obtención de células fetales para estudio citogenético.

En resumen, el diagnóstico cromosómico prenatal es un campo que ha ido rápidamente cambiando especialmente por la disponibilidad de técnicas moleculares que complementan el estudio cromosómico clásico, lo que permite tener diagnósticos certeros más precozmente. El realizar un adecuado y oportuno diagnóstico prenatal es fundamental para que el equipo médico y la familia estén preparados de la mejor forma para el recibir y tratar al recién nacido afectado. Por otra parte un diagnóstico prenatal certero es fundamental para la consejería genética que necesariamente se debe realizar en estos casos.

A continuación mostraremos la experiencia de 18 años del Laboratorio de Citogenética de Clínica Las Condes en el diagnóstico citogenética prenatal. Se realiza sólo un análisis descriptivo de los estudios realizados hasta la fecha. Un análisis detallado está en preparación para su publicación.

## METODOLOGÍA

Se revisan todas las muestras recibidas para diagnóstico prenatal en el laboratorio de Citogenética de Clínica Las Condes en el período comprendido entre enero de 1989, fecha en que se inician los estudios prenatales en Clínica Las Condes, y diciembre de 2007. Para el análisis se consideraron todas las muestras recibidas incluyendo vellosidades coriales, líquido amniótico, sangre fetal y otros (líquido pleural, orina, líquido de higroma). La información se obtuvo de los registros de exá-

menes del laboratorio, los que realizan en forma sistemática desde el primer día de funcionamiento de éste.  
Cada muestra fue analizada de acuerdo a técnicas estandarizadas.

## RESULTADOS

Durante este período (1989-2007) se realizó un total de 2.526 estudios prenatales: 1.446 en vellosidades coriales, 683 en líquido amniótico, 379 en sangre fetal y 18 en otros fluidos (11 líquidos de hidrotórax y 7 orinas fetales). El estudio prenatal representa un 26% del total de exámenes realizados por el laboratorio durante el período (n= 9.738). El número total de exámenes prenatales alterados en análisis de diagnóstico prenatal, encontrados durante el período en estudio fue de 513 (20,3%), de los cuales 276 corresponden a vellosidades coriales (54%), 131 a líquido amniótico (25,5%), 103 a sangre fetal (20%) y 3 (0,5%) a otros fluidos. Al analizar el porcentaje de exámenes alterados según el tipo de muestra, se observa que el porcentaje es idéntico, 19% para las muestras de vellosidades coriales y líquido amniótico y es

significativamente más alto, 27%, para las muestras de sangre fetal. Al analizar el tipo de alteraciones cromosómicas encontradas se observa que del total de exámenes alterados (n=513), 460 (89,7%) corresponden a alteraciones numéricas y 53 (10,3%) a alteraciones estructurales.

Un resumen del tipo de alteraciones cromosómicas encontradas de acuerdo al tipo de muestra se entrega en la Tabla I.

Al analizar la edad de la madre al momento del examen se observa que el rango de edad es similar para cada tipo de muestra; entre 16 y 49 años para vellosidades coriales, 14 y 48 años para líquido amniótico, 14 y 48 años para sangre fetal. Al analizar el número total de exámenes realizados se observa que en relación con la edad el grupo mayoritario para vellosidades coriales y para líquido amniótico se encuentra entre 36 y 41 años. En cambio en el caso de la sangre fetal, la curva de edad se encuentra desviada hacia las edades menores con una mayoría entre los 28 y los 33 años. Un detalle de las edades de las madres al momento de la toma de muestra se entrega en la Figura 1.

**TABLA 1. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS MÁS FRECUENTES DE ACUERDO A TIPO DE MUESTRA**

VELLOSIDADES CORIALES			LÍQUIDO AMNIÓTICO			SANGRE FETAL			OTROS		
Diagnóstico	n	%	Diagnóstico	n	%	Diagnóstico	n	%	Diagnóstico	n	%
T21	101	36,6	T21	42	32,1	T18	36	34,9	T18	1	33,3
45,X	51	18,5	T18	30	22,9	T21	28	27,3	45,X	2	66,7
T18	40	14,5	45,X	18	13,8	T13	19	18,5			
3 n	11	4	T13	9	6,9	45,X	4	3,9			
T13	10	3,6	mos 4n	7	5,3	T22	2	1,9			
45,X/46,XX	6	2,2	mos +13	2	1,5	T9	2	1,9			
der(13;14)+13	5	1,8	Otras alt. numéricas	10	7,6	der (13;13) +13	2	1,9			
mos +21	3	1,1	Otras alt. estructurales	13	9,9	der (13;14) +13	2	1,9			
mos +2	3	1,1			47,XXY	1	1				
mos +18	3	1,1			otras alt. estructurales	7	6,8				
T22	2	0,7									
mos +13	2	0,7									
der(13;13) +13	2	0,7									
Otras alt. numéricas	14	5,1									
Otras alt. estructurales	23	8,3									
<b>Total</b>	<b>276</b>	<b>100</b>		<b>131</b>	<b>100</b>		<b>103</b>	<b>100</b>		<b>3</b>	<b>100</b>

T: Trisomía.

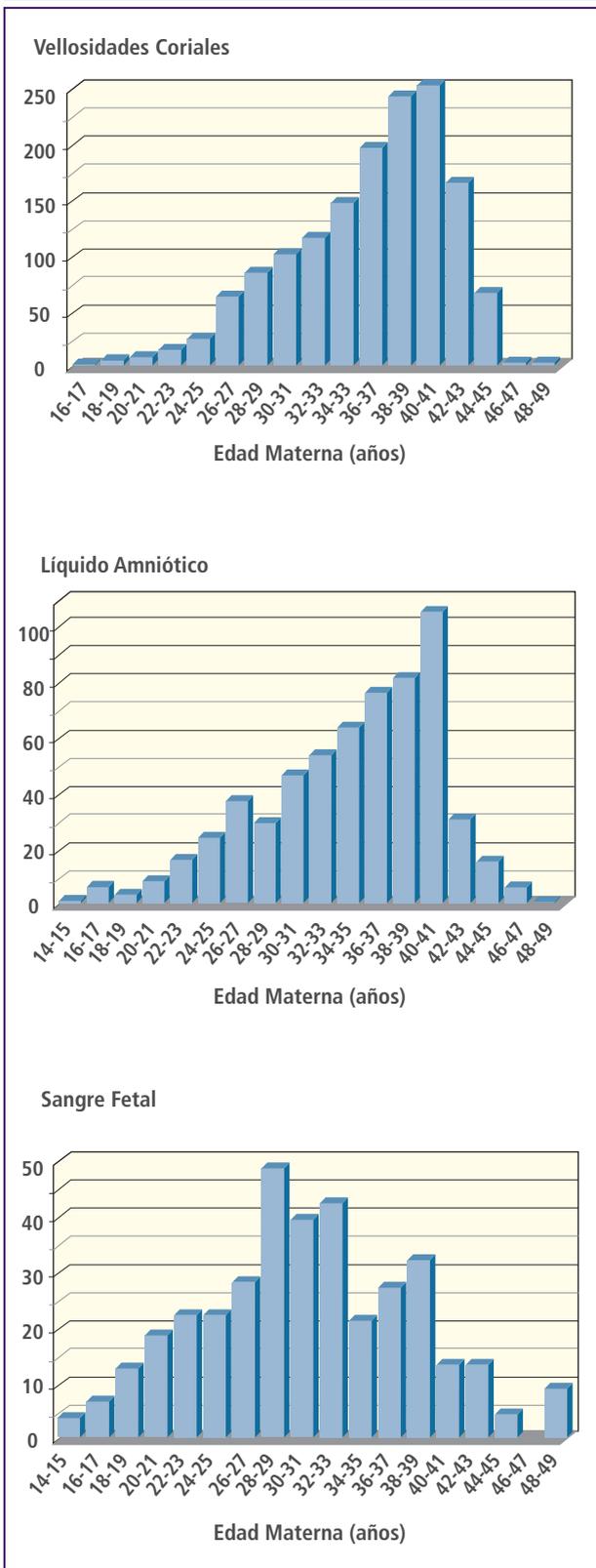
3 n: Triploidía.

der: Derivativo.

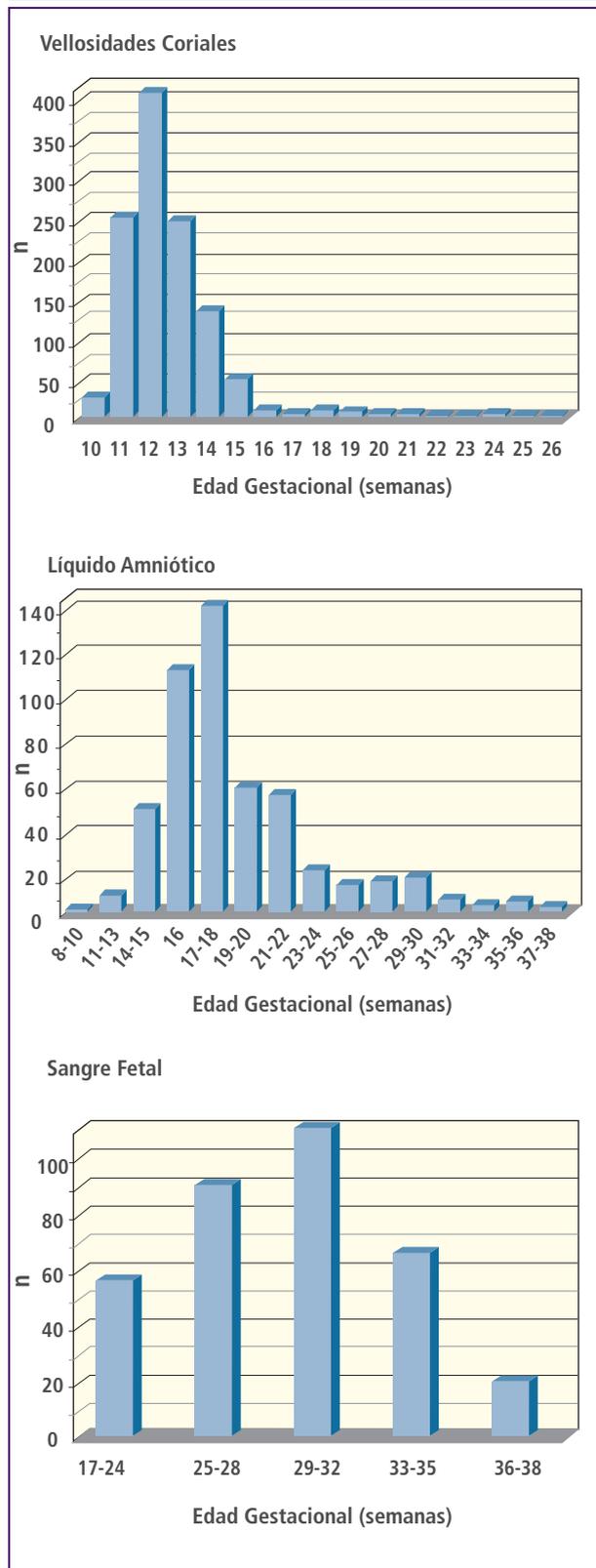
mos: Mosaico.

4 n: Tetraploidía.

**FIGURA 1. EDAD DE LA MADRE AL MOMENTO DE LA TOMA DE MUESTRA**



**FIGURA 2. DISTRIBUCIÓN DE LA EDAD GESTACIONAL DE ACUERDO AL TIPO DE MUESTRA.**



Al analizar las semanas de gestación se observa, como era de esperar, que esta es diferente para cada tipo de muestra. Para las vellosidades coriales en la gran mayoría de los casos (73%) el examen se realiza entre las 11 y las 14 semanas; en el estudio en líquido amniótico el rango de edad es más amplio aunque el mayor porcentaje de exámenes (37%) se realiza entre las 16 y las 18 semanas; los estudios en sangre fetal se realizan mayoritariamente (52%) entre las 25 y las 32 semanas. Un detalle de la edad gestacional en relación con el tipo de muestras se grafica en la Figura 2.

En la Tabla II se resumen los diagnósticos que motivaron el estudio citogenético prenatal, observándose que las tres causas más frecuentes de derivación son edad materna sobre 35 años, malformaciones fetales y translucencia nucal aumentada.

En nuestro laboratorio no fue posible tener resultado citogenético en 36 muestras (1,4%). Los estudios sin resultados incluyen una muestra de vellosidades coriales, una muestra de sangre fetal y 34 muestras de líquido amniótico; estas últimas muestras corresponden mayoritariamente a muestras sobre 30 semanas de edad gestacional, edad en la que el número de células viables encontradas en el líquido amniótico es baja.

## DISCUSIÓN

El alto porcentaje de alteraciones cromosómicas encontradas en nues-

tro estudio es concordante con lo descrito por la literatura. Por otra parte, en la medida que se mejoran las técnicas de estudios citogenéticos y se mejora la resolución, es posible detectar un mayor número de alteraciones estructurales. También la mejoría en la resolución de las técnicas ecográficas y la descripción de marcadores ecográficos y bioquímicos que permiten sospechar de aneuploidías ha permitido acotar la población de mujeres a las que se les ofrece estudios invasivos, para diagnóstico prenatal citogenético.

Nos parece importante señalar que existe un número de exámenes, en los cuales no es posible obtener resultado, (alrededor del 1% según la literatura), principalmente debido a escaso número celular de la muestra, escasa vitalidad del tejido, infecciones, pobre respuesta a los medios de cultivo y edad gestacional no adecuada para el tipo de muestra.

Es importante destacar el hecho de que el porcentaje de exámenes alterados encontrados en muestras de vellosidades coriales sea idéntico al encontrado en muestras de líquido amniótico. Esto en un primer análisis podría hacer plantear que dado que aparentemente el riesgo fetal sería un poco menor en la punción de líquido amniótico que en la biopsia de vellosidades coriales, sería quizás planteable el hecho de esperar hasta una edad gestacional en que sea posible tener una muestra de líquido amniótico; sin embargo el significativo mayor porcentaje de muestras de líquido amniótico que de biopsias de vellosidades coriales, en las que no se obtiene resultado, en el estudio cromosómico (5% vs 0.07%), es un punto importante a considerar en

**TABLA 2. DIAGNÓSTICO DE DERIVACIÓN SEGÚN TIPO DE MUESTRA**

VELLOSIDADES CORIALES			LÍQUIDO AMNIÓTICO			SANGRE FETAL		
Diagnóstico	n	%	Diagnóstico	n	%	Diagnóstico	n	%
Edad materna	733	56,5	Edad materna	219	39,7	Malformaciones múltiples	50	13,6
Translucencia nucal aumentada	245	18,9	Malformaciones múltiples	61	11,1	Malformaciones renales	37	10,1
Higroma quístico	60	4,6	Triple test alterado	27	4,9	RCIU	35	9,5
Síndrome Down previo	44	3,4	Solicitud materna	21	3,8	Malformaciones SNC	31	8,4
Malformaciones múltiples	30	2,3	Higroma quístico	19	3,5	Hidrops	24	6,5
Solicitud materna	26	2	RCIU	17	3,1	Defecto de tubo neural	22	6,0
Padres con translocación balanceada	12	0,9	Translucencia nucal aumentada	15	2,7	Poli/oligohidroamnios	21	5,7
Hidrops fetal	11	0,8	Defecto de tubo neural	14	2,5	Malformaciones cardíacas	16	4,3
Hoplasia hueso nasal	11	0,8	Malformaciones cardíacas	14	2,5	Sospecha trisomía 18	14	3,8
Onfalocele	11	0,8	Malformaciones renales	13	2,4	Hernia diafragmática	11	3,0
Malformaciones renales	11	0,8	Hidrops	13	2,4	Hidrotórax	11	3,0
RCIU	10	0,8	Onfalocele	10	1,8	Malformaciones esqueléticas	10	2,7
Otras	96	7,4	Otras	108	19,6	Otras	86	23,4
<b>TOTAL</b>	<b>1.296</b>	<b>100</b>	<b>Total</b>	<b>551</b>	<b>100</b>	<b>Total</b>	<b>368</b>	<b>100</b>

RCIU: Retardo crecimiento intrauterino.

SNC: Sistema nervioso central.

el análisis de cuál examen se realizará. El mayor porcentaje de exámenes alterados encontrados en las muestras de sangre fetal, se explica porque este tipo de muestra, que sí se ha relacionado con un mayor porcentaje de riesgo fetal, se indica en casos en que la anatomía fetal es altamente sugerente de una aneuploidía (14).

El tipo de alteraciones cromosómicas encontradas, en que cerca del 90% corresponden a alteraciones numéricas, es concordante con lo descrito por la literatura. Las trisomías 21, 18, 13 y la monosomía del X son responsables de un 46% de los cariotipos alterados encontrados. Sin embargo, ha sido posible también por la buena resolución de los estudios realizados detectar un número importante de alteraciones cromosómicas estructurales únicas, no siempre heredadas y probablemente no detectables con técnicas de menor resolución.

Desde el punto de vista del diagnóstico de derivación para estudio citogenética prenatal, la edad de la madre es lejos la indicación más frecuente tanto para biopsia de vellosidades coriales (50%) como para líquido amniótico (32%). No ocurre lo mismo con las muestras de sangre fetal pues en estos casos la indicación en un 100% de las muestras fue el hallazgo ecográfico de una o más malformaciones fetales.

Dado que todas las técnicas de diagnóstico citogenético prenatal implican un procedimiento invasivo con algún grado de riesgo fetal es fundamental asegurar a las pacientes un resultado definitivo del examen. Como señalamos para nuestro laboratorio, el porcentaje de muestras en las que no es posible obtener un resultado es muy bajo para vellosidades coriales (0,07) y para sangre fetal (0,3), no ocurre lo mismo con las muestras de líquido amniótico en que este porcentaje es más alto (5%). Nuestra experiencia nos indica que hay un mayor riesgo de fracaso a mayor edad gestacional y esto tendría una directa relación con el porcentaje de células viables presentes en la muestra. La sospecha de una alteración cromosómica en un embarazo en curso, produce una gran angustia en la pareja, por lo tanto es fundamental acortar los plazos en la entrega de resultados. Es por esto que en el Laboratorio de Citogenética de Clínica Las Condes, se implementó el año 2007, el diagnóstico citogenética molecular a través de la técnica de FISH (Hibridación in situ con Fluorescencia), para el diagnóstico rápido de aneuploidías (cromosomas 13, 18, 21 y X) que permite tener en un tiempo mucho menor, aproximadamente en 24 horas (sangre fetal y líquido amniótico), un diagnóstico definitivo.

Finalmente nos parece importante comentar que muchas veces se discute la utilidad del diagnóstico prenatal en nuestro país, dado la prohibición legal de la interrupción del embarazo. Al respecto queremos señalar que el diagnóstico prenatal en la gran mayoría de los casos es normal y por lo tanto permite tranquilizar a las parejas a las que se les había detectado elementos de riesgo. Por otra parte en los casos en que el estudio citogenético confirma una alteración cromosómica, permite al equipo médico y a la familia prepararse para recibir al recién nacido en las mejores condiciones psicológicas y obstétricas de acuerdo a su patología.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Harper PS. The discovery of the human chromosome number in Lund, 1955-1956. *Hum Genet.* 2006;119(1-2):226-32.
2. Lejeune J, Gautier M, Turpin R (1959). "Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens". *Comptes Rendus Hebd Seances Acad Sci* 248 (11): 1721-1722.
3. Patau K, Smith DW, Therman E, Inhorn SL, Wagner HP (1960). "Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome". *Lancet* 1: 790-3.
4. Edwards JH, Harnden DG, Cameron AH, et al. A new trisomic syndrome. *Lancet.* 9 1960;1:787-90.
5. Gelehrter ThD, Collins FS: Principles of Medical Genetics. Williams and Wilkins, Baltimore, Hong Kong, London, Sydney, 1990.
6. Leiva JL (2008). Comunicación personal.
7. Allende Ma, Curotto B. Bases Moleculares y cromosómicas de las enfermedades genéticas. En: Errores Innatos en el metabolismo en el niño". Colombo, Cornejo & Arriman Eds. Ed Universitaria (2003) pp: 25-45.
8. Holmgren C, Lacoursiere DY. The use of prenatal ultrasound for the detection of fetal aneuploidy. *Clin Obstet Gynecol.* 2008;51:48-61.
9. Daniel A, Hook EB, Wulf G. Risks of unbalanced progeny at amniocentesis to carriers of chromosome rearrangements: data from United States and Canadian laboratories. *Am J Med Genet* 1989;33:14-53.
10. Leclercq S, Lebbar A, Grange G, Tsatsaris V, Le Tessier D, Dupont JM. Optimized criteria for using fluorescence in situ hybridization in the prenatal diagnosis of common aneuploidies. *Prenat Diagn* 2008; 28:313-8.
11. Onay H, Ugurlu T, Aykut A, Pehlivan S, Inal M, Tinar S, Ozkinay C, Ozkinay F. Rapid Prenatal Diagnosis of Common Aneuploidies in Amniotic Fluid Using Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction. *Gynecol Obstet Invest* 2008 29;66:104-110.
12. Cirigliano V, Voglino G, Cañadas MP, Marongiu A, Ejarque M, Ordoñez E, Plaja A, Massobrio M, Todros T, Fuster C, Campogrande M, Egozcue J, Adinolfi M. Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR. Assessment on 18,000 consecutive clinical samples. *Mol Hum Reprod* 2004;10 :839-46.
13. Ndumbe FM, Navti O, Chilaka VN, Monje JC. Prenatal Diagnosis in the first trimester of pregnancy. *Obstetr Gynecol Surv* 2008; 63: 317-328.
14. Evans MI, Wapner RJ. Invasive prenatal diagnostic procedures 2005. *Semin Perinatol* 2005;29:215-8.