

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
CENTRO NACIONAL DE GENÉTICA MÉDICA



MOSAICISMO CROMOSÓMICO EN EL DIAGNÓSTICO PRENATAL CITOGENÉTICO POR CULTIVO DE AMNIOCITOS

Tesis presentada en opción al grado científico de
Doctor en Ciencias de la Salud

AUTOR: Luis Alberto Méndez Rosado

TUTORA: Araceli Lantigua Cruz

Ciudad de La Habana

Año 2009

Ministerio de Salud Pública

**INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
CENTRO NACIONAL DE GENÉTICA MÉDICA**

**MOSAICISMO CROMOSÓMICO EN EL
DIAGNÓSTICO PRENATAL CITOGENÉTICO
POR CULTIVO DE AMNIOCITOS**

Tesis presentada en opción al grado científico de
Doctor en Ciencias de la Salud

AUTOR: MSc. Luis Alberto Méndez Rosado

TUTORA: Prof. Tit., Dra. Araceli Lantigua Cruz, DrC.

Ciudad de La Habana

Año 2009

Motivación

*La vida sería oscuridad al menos que en ella haya estímulo,
y el estímulo sería ciego, al menos que haya conocimiento,
y el conocimiento, sería inútil al menos que haya trabajo
y el trabajo sería vacío, al menos que haya amor.*

Khalil Gibrán Khalil

*A mis adoradas Silvias,
A Víctor Manuel y Luis Javier,
A mi Judith*

Agradecimientos:

Este trabajo comenzó hace 12 años a partir de un diagnóstico prenatal de mosaicismo cromosómico y recoge la labor de 24 años del Laboratorio de Citogenética. Deben suponer que les debo agradecer a muchas personas que de algún modo directo o indirecto han colaborado en su resultado final.

Primeramente a los profesores de la Facultad de Biología que me brindaron los suficientes conocimientos para mis inicios en la Genética Humana.

A todos los Citogenetistas del Laboratorio presentes y ausentes que han permitido con su esfuerzo la realización de esta tesis. En especial a mis compañeros de esta última etapa, que formando un colectivo muy unido, han sido capaces de asumir mi trabajo en el laboratorio para que yo pudiese redactar el documento final.

A la Doctora Aracelys Lantigua tutora de la tesis, por sus enseñanzas en el campo de la genética y su asesoría para mejorar la calidad y claridad del documento.

A la Doctora Beatriz Marcheco por su ayuda para solucionar todos los problemas colaterales que implicó la predefensa y defensa de este documento.

A las Doctoras Manuela Herrera y Maria Elena de la Torre por la excelente oponencia que realizaron del documento.

A los Doctores Francesc Sole y Alberto Plaja que con su asesoría en genética han contribuido a una mejor calidad en aspectos específicos de la investigación.

A los Doctores Victor Penchazade, Santiago Munnen y Luis Alberto Sotillo que me ayudaron a obtener valiosa bibliografía.

A los especialistas en Genética, Citogenetistas y Masteres en Asesoramiento Genético que colaboraron en la colecta de los resultados de las necropsias.

A los departamentos de Anatomía Patológica de los hospitales Ramón Glez Coro, América Arias y Eusebio Hernández por la ayuda prestada en la obtención de los resultados de la necropsia fetal.

A esta gente excepcional que con su ejemplo, sin ser concientes de su empeño educativo, lograron inculcarme valores que me permiten seguir trabajando en esta labor para el bien de la comunidad, a mi familia, especialmente mi madre.

A Judith, que ha padecido junto a mí el alumbramiento de este trabajo, haciendo aportes relevantes para mejorar su calidad, dándome consejos muy útiles y siendo mi compañera en todos los momentos, los buenos y los difíciles.

Abreviaturas utilizadas

DPC	Diagnóstico Prenatal Citogenético
AEM	Avanzada edad materna
CNGM	Centro Nacional de Genética Médica
MCP	Mosaicismo confinado a la placenta
DUP	Disomía uniparental
CVS	Muestra de vellosidades coriónicas
GTG	Bandeo de tinción con giemsa
EDTA	Ácido tetra acético etilendiamina
rpm	Revoluciones por minuto
PHA	Fitohemaglutinina
RPMI-1640	Tipo de medio de cultivo
CIA	Comunicación interauricular
MCS	Marcador cromosómico supernumerario
FISH	Hibridación in situ fluorescente
M-FISH	Hibridación in situ fluorescente multicolor
LA	Líquido amniótico
Bandas CGB	Bandeo que tiñe las zonas de heterocromatina
Bandas NORs	Bandeo que tiñe los tallos de los satélites de cromosomas acrocéntricos
RM	Retraso mental
CIV	Comunicación Inter Ventricular
p-	Deleción de brazos cortos de un cromosoma
q-	Deleción de brazos largos de un cromosoma

Síntesis de la Tesis

El mosaicismo cromosómico es un acontecimiento raro en el Diagnóstico Prenatal Citogenético (DPC) por cultivo de amniocitos. Su exclusión se dificulta debido a la presencia de diferentes eventos fortuitos que crean incertidumbre en su determinación, por lo que constituye un problema a resolver en nuestro medio. La red de laboratorios de citogenética, necesita criterios diagnósticos para la definición del mosaicismo y el pseudomosaicismo cromosómico. Con el objetivo de analizar el mosaicismo y el pseudomosaicismo, se estudiaron 16 950 casos del laboratorio de citogenética del Centro Nacional de Genética Médica en 24 años de labor. El mosaicismo presentó una frecuencia del 0,28% y el pseudomosaicismo, del 3,63%. Los mosaicos cromosómicos sexuales fueron más frecuentes (37,5%), seguidos por los autosómicos (33,3%), los de cromosomas marcadores (18,7%) y los de aberraciones estructurales (14,5%). Los cromosomas X, 21, 22, 18, 13 y 20 fueron frecuentes en mosaicos, mientras en pseudomosaicos fueron los cromosomas 2, 20 y 17. Se propone una estrategia para el diagnóstico del mosaicismo cromosómico, demostrando su eficacia mediante la comparación de dos períodos de trabajo (1984-1998 y 2003-2007). Se observó una disminución de los casos falsos positivos. Se recomienda extender estos resultados a la red de laboratorios de citogenética del país.

ÍNDICE

	<i>Pág.</i>
INTRODUCCIÓN -----	1
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA -----	9
1.1- Mosaicismo cromosómico -----	10
1.2- Eventos que entorpecen el DPC del mosaicismo -----	11
1.2.1- Pseudomosaicos -----	11
1.2.2- Mosaicismo atribuido a tejidos extra embrionario -----	11
1.2.3- Quimeras -----	12
1.2.4- Aneuploidía variegada -----	12
1.2.5- Gemelos evanescentes -----	13
1.2.6- Contaminación con células maternas -----	13
1.3- Experiencias internacionales y definiciones sobre mosaicismo y pseudomosaicismo cromosómicos en el DPC -----	14
1.4- Mosaicos cromosómicos más frecuentes en el DPC -----	14
1.5- Mosaicos cromosómicos menos frecuentes en el DPC -----	18
1.6- Mosaicismo de aberraciones estructurales -----	28
1.7- Manejo en el laboratorio de los casos con sospecha de mosaicismo cromosómico -----	29
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS -----	31
2.1- Diseño de la investigación -----	32
2.1.1- Criterios de inclusión -----	32
2.1.2- Criterios de exclusión -----	32
2.1.3- Universo de estudio -----	33
2.1.4- Definición de muestra de estudio -----	33
2.1.5- Estudios de corroboración del DPC -----	34
2.1.6- Estudios citogenéticos en los padres -----	34
2.1.7- Estudios de seguimiento posterior al DPC de un mosaico -----	35
2.1.8- Manejo bioético de las decisiones médicas asociadas al estudio -----	36
2.1.9- Tipo de estudio -----	37
2.2- Obtención de la muestra biológica -----	37
2.3- Técnica del cultivo y procesamiento de células de LA -----	38

2.4- Técnica del cultivo y procesamiento de sangre -----	40
2.5- Técnica del cultivo y procesamiento de piel fetal -----	41
2.6- Técnica de bandeado GTG. Bando de rutina -----	42
2.7- Análisis cromosómico -----	42
2.8- Bando cromosómico especiales -----	43
2.8.1- Bando CBG -----	43
2.8.2- Bando NORs -----	44
CAPÍTULO 3. MOSAICISMO CROMOSÓMICO -----	45
3.1- Introducción -----	46
3.2- Objetivos -----	46
3.3- Resultados-----	46
3.3.1-Mosaicismos de aneuploidías de cromosomas autosómicos -----	47
3.3.1.1- Mosaicismos de aneuploidías autosómicas más frecuentes -----	47
3.3.1.1.1- Mosaico de trisomía 21 -----	47
3.3.1.1.2- Mosaico de trisomía 20 -----	49
3.3.1.1.3- Mosaico de trisomía 18 -----	49
3.3.1.1.4- Mosaico de trisomía 13 -----	50
3.3.1.2- Mosaicos cromosómicos de trisomías autosómicas raras -----	51
3.3.1.2.1- Mosaico de trisomía 22 -----	51
3.3.1.2.2- Mosaico de trisomía 9 -----	52
3.3.2 -Mosaicismo de aneuploidías de cromosomas sexuales -----	62
3.3.2.1- 45,X/ 46,XX -----	62
3.3.2.2- 47,XXX/ 46,XX -----	63
3.3.2.3- 47,XXY/ 46,XY-----	64
3.3.2.4- 45,X/ 46,XY-----	64
3.3.2.5- 47,XYY/ 46,XY-----	64
3.3.3- Mosaicismo de aberraciones estructurales -----	69
3.3.3.1- Mosaico de aberración estructural balanceada -----	70
3.3.3.2- Mosaico de aberración estructural desbalanceada -----	70
3.3.4- Mosaicismo de marcador cromosómico supernumerario -----	75
3.3.4.1- MCS de novo -----	75
3.3.4.2- MCS heredados -----	77
3.3.4.3- Minutas de MCS -----	77
3.4- Conclusiones del capítulo Mosaicismo Cromosómico -----	81

CAPÍTULO 4. PSEUDOMOSAICISMO	82
4.1- Introducción	83
4.2- Objetivos	83
4.3- Pseudomosaicismo.....	83
4.3.1- Nivel I.....	83
4.3.2- Nivel II	84
4.3.3- Discusión	84
4.4- Cromosomas más frecuentes en pseudomosaicismo	86
4.4.1- Discusión	86
4.5- Conclusiones del capítulo pseudomosaicismo	87
CAPÍTULO 5. ESTRATEGIA PARA EL DIAGNOSTICO PRENATAL DEL MOSAICISMO CROMOSÓMICO	88
5.1- Introducción.....	89
5.2- Objetivo-	89
5.3- Estrategia para el diagnóstico y manejo del mosaicismo cromosómico en el laboratorio de citogenética del CNGM en el período 2003-2007.....	89
5.3.1- Evolución en la aplicación de los criterios científico-técnicos para el manejo del mosaicismo en el laboratorio de citogenética del CNGM.....	91
5.3.1.1- Periodo 1984 – 1998	91
5.3.1.2- Periodo 1999- 2002	92
5.3.1.3- Periodo 2003-2007	92
5.4- Resultados	93
5.4.1- Periodo 1984 –1998	93
5.4.2- Periodo 2003- 2007	94
5.5 – Discusión	94
5.6- Conclusiones del capítulo	96
CONCLUSIONES DE LA TESIS	98
RECOMENDACIONES	99
BIBLIOGRAFÍA	100

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Dentro de las numerosas aplicaciones médicas de la Citogenética, el Diagnóstico Prenatal Citogenético (DPC) constituye tal vez el punto más crítico, debido a que de sus resultados se deriva una importante decisión para la familia: el continuar o no un embarazo.

El DPC mediante cultivo de amniocitos es realizado entre las 16-20 semanas de embarazo a aquellas gestantes con riesgo de tener descendencia afectada con una anomalía cromosómica. El principal grupo de riesgo lo constituyen aquellas embarazadas con avanzada edad materna (AEM), considerado cuando sobrepasan los 35 años de edad. El resultado final del DPC debe ser seguro y capaz de transmitirle a la pareja la certeza de que el riesgo que conllevó el proceder invasivo a que fue sometida la embarazada, no fue en vano.

Objeto de la investigación

En muchos casos el resultado de la prueba de DPC muestra de forma clara un feto cromosómicamente normal o, en menor proporción, uno que está afectado con una anomalía de reconocidas consecuencias clínicas. Sin embargo, al encontrarnos en una misma muestra de líquido amniótico células con cariotipo normal y células con cariotipo anormal, surge un gran dilema, **la sospecha de un mosaicismo cromosómico**. En consecuencia, debe hacerse una correcta distinción entre un mosaico cromosómico verdadero que representa una anomalía "*in vivo*" y un pseudomosaicismo debido a errores en la mitosis de las células del cultivo (*in vitro*). Otros factores, como las células que se derivan del tejido extraembrionario (placenta, saco vitelino, cordón umbilical, etc), las células procedentes de un embarazo gemelar dicigótico (no reconocido debido a la muerte

temprana de uno de los fetos) o la contaminación con células maternas, adicionan confusión al DPC del mosaicismo.⁽¹⁾

Durante la realización del DPC se siembran al menos tres frascos de cultivo por cada paciente que es remitida al laboratorio. Técnicamente se ha considerado que cuando aparecen una o varias células con la misma anomalía cromosómica pero restringida a un frasco de cultivo estamos en presencia de un pseudomosaico, mientras que si la línea celular aberrante aparece en al menos dos frascos de cultivo diferentes se puede definir como un mosaico verdadero. Esta regla cumplida estrictamente, aún cuando ofrece un mayor nivel de seguridad en el DPC, no descarta excepciones que provocan incertidumbres en el diagnóstico.⁽²⁾

En grandes estudios realizados en décadas pasadas en laboratorios de citogenética de Europa, Canadá, New York y Estados Unidos, se concluyó que la incidencia del mosaicismo verdadero fluctúa en un rango entre 0,10% al 0,30%, mientras que la frecuencia del pseudomosaicismo, tomando en conjunto sus diferentes tipos, tuvo una media de 3,25%.⁽³⁻⁶⁾

En nuestro país, Méndez y colaboradores teniendo en cuenta los criterios técnicos referidos sobre el mosaicismo y el pseudomosaicismo en el DPC, realizaron un primer trabajo con 1487 amniocentesis analizadas en el laboratorio de citogenética de Ciudad Habana en el período comprendido entre 1996-1999. Debido a lo reducido de la muestra los por cientos de mosaicismo obtenidos fueron muy superiores a lo reportado internacionalmente.⁽⁷⁾ No obstante, este trabajo demostró la importancia de tener en cuenta una metodología para el diagnóstico prenatal del mosaicismo cromosómico, que hasta ese momento no era tomada en consideración y conllevaba a errores diagnósticos.

En Cuba el DPC con objetivos de pesquisaje cromosómico comenzó desde principios de los 80. Durante muchos años el número de laboratorios de citogenética fue reducido, realizando DPC en un volumen limitado de casos por año, que no cubría la demanda de la población. A partir del año 2003, con la inauguración de la nueva instalación del Centro Nacional de Genética Médica por nuestro Comandante, se ha producido un fortalecimiento del desarrollo de la Genética Médica en Cuba que ha permitido en un corto tiempo, ampliar la cobertura del programa de DPC en el país y la incorporación de nuevos laboratorios de citogenética y formación de recursos humanos para esta tarea. Esto ha evidenciado la necesidad de establecer criterios que contribuyan al análisis citogenético adecuado y a la correcta evaluación del mosaicismo cromosómico.

Teniendo en cuenta las premisas anteriormente señaladas se concibió el siguiente problema e hipótesis de trabajo:

Problema

La red de laboratorios de citogenética del país, formada en su mayoría por técnicos y profesionales de nueva formación, necesita adquirir los criterios científicos para el correcto análisis y manejo del mosaicismo cromosómico en el DPC. El desconocimiento de estas normas conlleva al diagnóstico de falsos positivos durante la realización del DPC, lo cual conduce a un asesoramiento genético errado e incorrecta toma de decisiones por parte de la pareja con la continuación del embarazo.

Hipótesis de trabajo:

El diagnóstico y el manejo correctos del mosaicismo y el pseudomosaicismo cromosómicos reducen la incidencia de casos falso-positivos en el DPC.

Objetivos:

1. Determinar la frecuencia del mosaicismo y pseudomosaicismo cromosómicos en el DPC del laboratorio de citogenética del CNGM, en los resultados obtenidos en el periodo 1984 - 2007.
2. Describir la posible correspondencia entre la expresión fenotípica y el resultado del diagnóstico prenatal emitido como mosaicismo cromosómico.
3. Determinar la frecuencia de tipos específicos de cromosomas involucrados en mosaicismo y pseudomosaicismo tanto de aberraciones numéricas como estructurales.
4. Proponer una estrategia aplicable a la red nacional de Genética Médica, que permita establecer los criterios sobre el diagnóstico del mosaicismo y el pseudomosaicismo.

Novedad científica de este trabajo

Este trabajo recoge un estudio del mosaicismo y el pseudomosaicismo cromosómicos en 16 950 diagnósticos prenatales realizados durante el periodo de 1984 a 2007 en el Laboratorio de Citogenética del CNGM. Su novedad consiste en que:

- 1- Es el primero en nuestro país que reporta las frecuencias de mosaicos y pseudomosaicos en el DPC de un gran volumen de casos, lo cual lo hace más confiable. Además, para determinar estas frecuencias fueron utilizados los criterios técnicos establecidos internacionalmente, lo que le confiere mayor rigor científico.
- 2- Con esta investigación se demuestra, al comparar dos periodos de labor de este laboratorio, que es posible eliminar casos falso-positivos del DPC, siempre que se tengan en cuenta los criterios para la clasificación y el manejo del mosaicismo cromosómico.

- 3- Se describen los cromosomas más frecuentemente involucrados en mosaicos y en pseudomosaicos cromosómicos en el DPC, hallándose variaciones con respecto a los reportes internacionales.
- 4- Se describe la correspondencia entre la expresión fenotípica y el resultado del diagnóstico prenatal emitido como mosaicismo, lo cual acumula una experiencia valiosa para trazar una estrategia en el manejo de estos diagnósticos acorde al cromosoma involucrado en la línea anómala.
- 5- Se explora la posible relación entre el fenotipo y el por ciento de la línea aberrada detectada, en los casos de mosaicismo cromosómico.

Fundamento Metodológico

Esta es una investigación observacional descriptiva, longitudinal, que está en fase exploratoria. El universo de trabajo estuvo constituido por 16 950 diagnósticos prenatales, por cultivo de amniocitos, seleccionados durante el periodo de 1984-2007, teniendo en cuenta que tuviesen como mínimo 10 metafases analizadas de diferentes frascos de cultivo.

La tesis consta de cinco capítulos (Figura 1). El capítulo uno expone la revisión bibliográfica sobre los temas de mosaicismo y pseudomosaicismo cromosómicos, tratados en esta investigación. En el capítulo dos se describen los materiales y métodos usados en el desarrollo del estudio.

En el capítulo tres se hace un análisis de los 48 casos de mosaicismo hallados. Se determina su frecuencia en la muestra y se clasifica de acuerdo a la aberración cromosómica presente en la línea aberrada. Los resultados se analizan, teniendo en cuenta los reportes internacionales y se definen los cromosomas más frecuentemente implicados en los

diferentes tipos de mosaicismo. Se realiza una descripción de las malformaciones halladas en los casos de mosaicismo, en que fue posible obtener la información.

En el capítulo 4 se estudian los 616 casos de pseudomosaicismo detectados y se determina su frecuencia en el estudio. Se discuten los resultados de acuerdo a los descritos en la bibliografía internacional sobre pseudomosaicismo. Se clasifican en nivel I y II, se determinan los cromosomas más involucrados en cada nivel.

En el capítulo 5 se efectúa una comparación de dos periodos de trabajo, el primero, de 1984 a 1998, donde se aplicaron criterios errados para clasificar el mosaicismo; y el periodo de 2003 a 2007, en el cual fueron empleados los criterios científico-técnicos establecidos en la literatura internacional para su clasificación. Tomando en consideración los resultados obtenidos de este estudio y la experiencia acumulada en estos años de labor, se propone una estrategia para el manejo del mosaicismo y el pseudomosaicismo cromosómico en el laboratorio de citogenética.

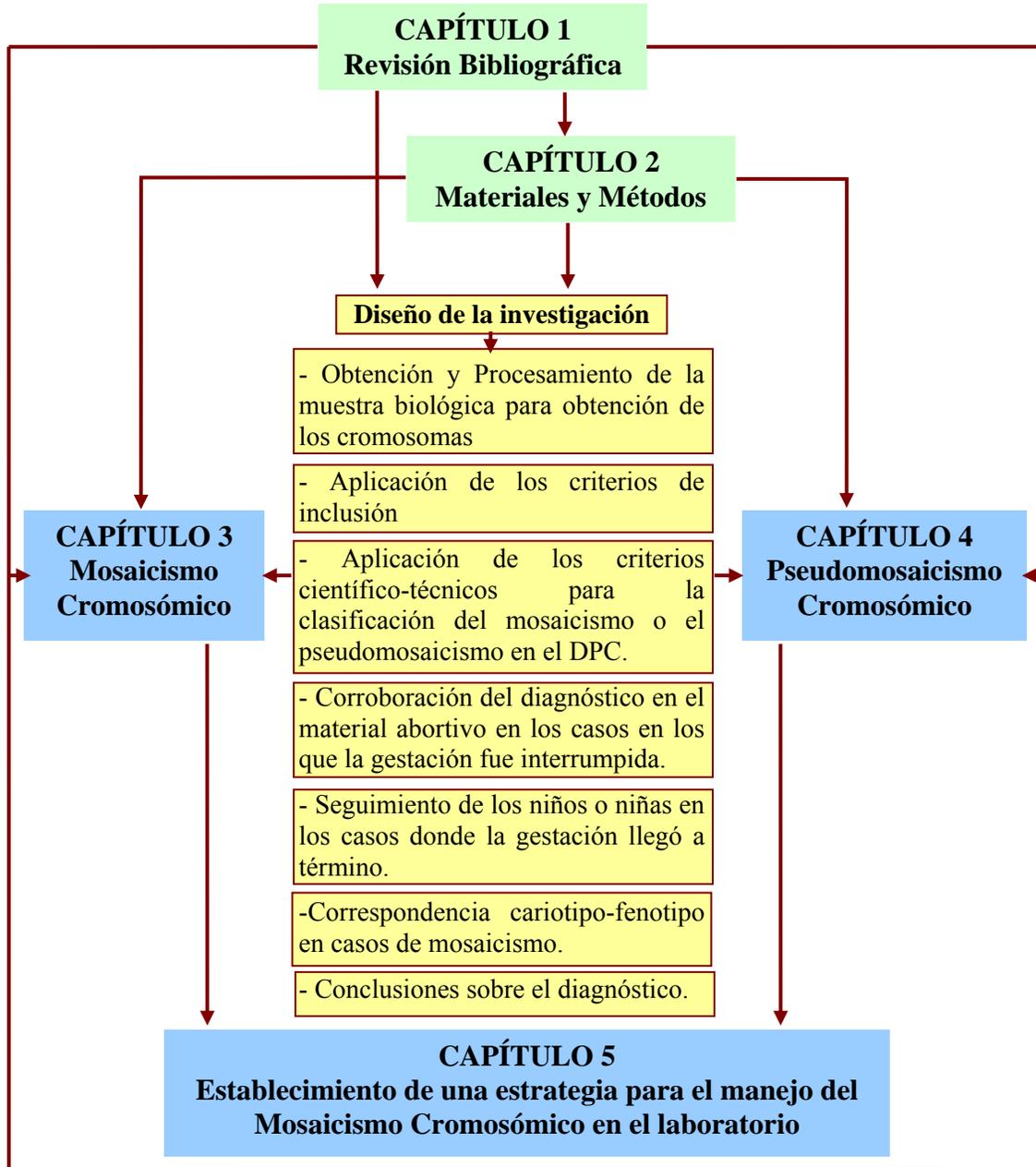


Figura1. Esquema que representa el fundamento metodológico seguido en la investigación.

Capítulo 1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1- Mosaicismo cromosómico

Se define como la presencia en un individuo o tejido de al menos dos líneas celulares que difieren en su cariotipo, derivando ambas de un cigoto único. Se produce bien por una mutación postcigótica (origen mitótico), o bien por la corrección de una mutación en un cigoto (origen meiótico y rescate de trisomía).⁽⁸⁾

En consecuencia, el mosaicismo somático tiene como efectos la presencia de un fenotipo más moderado, la distribución asimétrica y en parches de las manifestaciones y la posible discordancia en gemelos monocigóticos.

Los mosaicos cromosómicos más frecuentes implican anomalías numéricas que se producen como consecuencia de una no disyunción, una pérdida anafásica postcigótica o un fenómeno de rescate de trisomía en un cigoto afectado (Figura 2). Sus repercusiones clínicas son muy variables y dependen del tipo de alteración genética, la frecuencia de las líneas mutantes y los tejidos implicados.

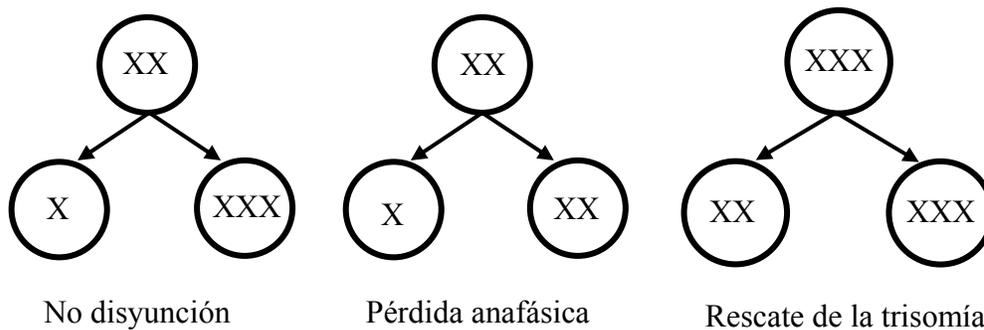


Figura 2. Esquema que representa el origen de los mosaicos cromosómicos

1.2- Eventos que entorpecen el DPC del mosaicismo

1.2.1- Pseudomosaicos

Debido a las condiciones artificiales del cultivo donde deben desarrollarse las células del líquido amniótico, en ocasiones se producen errores en los mecanismos de control de la mitosis, que conllevan a fenómenos de cambios en el complemento cromosómico que pueden manifestarse en forma clonal o no clonal y no reflejan el cariotipo real del feto, siendo fuente de casos falso-positivos.⁽¹⁾

Por otra parte, en ocasiones las líneas celulares aneuploides que están presentes en los tejidos fetales, no presentan la suficiente competitividad para el crecimiento en estos medios de cultivo, con respecto a las líneas cromosómicas normales, que se desarrollan preferencialmente. Esto constituye una fuente de resultados falso-negativos.⁽¹⁾

1.2.2- Mosaicismo atribuido a células de tejidos extra embrionarios

Ocurre cuando la línea celular con el cariotipo alterado solo aparece en placenta y membranas que rodean al feto; no obstante en el líquido amniótico cultivado estas células están presentes y pueden confundir el diagnóstico, dando un falso positivo. Gosden y colaboradores reportaron que las trisomías de los cromosomas autosómicos más implicadas en el mosaicismo confinado a la placenta (MCP) fueron: la del cromosoma 2, 3, 7, 9, 12, 13, 15, 16, y 18.⁽⁹⁾ De 295 embarazos con MCP se halló que el 22% de los mismos tuvieron retraso del crecimiento intrauterino o pérdida de la gestación^(10,11); niveles muy elevados con respecto a las frecuencias observadas en la población general, que es tan solo del tres al siete por ciento⁽¹²⁾ para el retardo del crecimiento intrauterino, y del dos al tres por ciento en las pérdidas de embarazo durante el segundo y tercer trimestre.⁽¹³⁾ En los embarazos con MCP frecuentemente el feto ha sido trisómico y ocurre una pérdida post-cigótica del

cromosoma extra, provocándose una dicotomía entre el feto y la placenta. En un tercio de estos casos se ha observado la ocurrencia de disomía uniparental en el feto. ^(14, 15)

1.2.3- Quimeras

En las quimeras, las diversas líneas celulares se originan a partir de cigotos diferentes. Las quimeras naturales más frecuentes se producen como consecuencia de una transfusión feto-fetal en una gestación gemelar, suelen afectar únicamente a tejido sanguíneo y generalmente se detectan fortuitamente en individuos de fenotipo normal. ^(16,17) Al menos en un caso, la presencia de una quimera en sangre ha llevado a una asignación incorrecta de sexo. ⁽¹⁸⁾ En el resto de los casos, la quimera se produce presumiblemente por una fusión de blastómeros o una doble fertilización de un óvulo y su corpúsculo polar. Los efectos fenotípicos dependerán de la constitución genética, distribución y frecuencia de las diversas líneas celulares.

1.2.4- Aneuploidia variegada

Los defectos en los mecanismos de control de la mitosis producen la aparición de células con diferentes trisomías y monosomías (aneuploidía variegada) en cada célula que es analizada durante el DPC; es un fenómeno asociado a la división prematura de los centrómeros. En los cultivos de linfocitos las aberraciones más involucradas son las trisomías del X, 8 y 18.; en los cultivos de fibroblastos las trisomías más frecuentemente halladas son las del 2, 7, 12, 20. Pueden ser erróneamente interpretados en un diagnóstico prenatal como un pseudomosaico o mosaicos verdaderos. Estos pacientes generalmente presentan malformaciones que en ocasiones son de origen prenatal entre las que se mencionan microcefalia, anomalías del sistema nervioso central, puente nasal ancho,

anomalías de la piel y genitales ambiguos en varones. Es frecuente el retardo mental y la tendencia a desarrollar cáncer. ⁽¹⁹⁻²¹⁾

1.2.5- Gemelos evanescentes

La presencia de células extra fetales procedentes de un gemelo evanescente puede también simular un mosaico ^(22,23). En el curso de un diagnóstico prenatal cromosómico puede ser muy difícil diferenciar entre una quimera y un gemelo evanescente. La presencia de una línea cromosómicamente no viable, acompañada de una ecografía y un resultado cromosómico normal en sangre de cordón es una fuerte evidencia a favor de un gemelo evanescente.

1.2.6- Contaminación con células maternas.

La contaminación con células maternas afecta al 0.31% de los análisis citogenéticos en líquido amniótico ⁽¹⁾ y de un 0.91% al 6.4% de los cultivos largos de vellosidad corial. ^(24, 25)

En cambio, es prácticamente inexistente en el cultivo semi directo de vellosidad corial (0.5% a 0.06%). ⁽²⁵⁾ En aproximadamente el 35% de los cultivos de líquido amniótico está asociada a muestras hemáticas. De hecho, es posible reducirla a dos veces y media si se descartan los primeros mililitros de líquido amniótico extraído.

Si se sospecha una contaminación materna es aconsejable un cuidadoso seguimiento ecográfico. Durante el diagnóstico pueden existir tres posibilidades a tener en cuenta A)- Predominio de células XX en el diagnóstico y baja frecuencia de células XY: posible error al procesar varios cultivos en paralelo, donde por un fallo técnico, las células de un feto varón, contaminan a células de un caso procedente de un feto hembra; B)- Predominio de células XY en el diagnóstico y baja frecuencia de células XX: posible error al procesar

varios cultivos en paralelo o contaminación con tejido materno; C-Siempre existe la remota posibilidad de que se trate de una quimera 46,XX/46, XY. ⁽²⁶⁾

1.3- Experiencias internacionales y definiciones sobre mosaicismo y pseudomosaicismo cromosómicos en el DPC

Las divergencias en el manejo y diagnóstico certero del mosaicismo cromosómico en el DPC durante la década de los años 70, unido a la carencia de datos con rigor científico sobre este tópico llevaron a tomar acuerdos entre los investigadores en este periodo. Se realizaron tres grandes estudios en los principales centros de desarrollo de la citogenética a nivel mundial, lo cual permitió ahondar en el conocimiento de esta temática. (Anexo 1 Resumen de los tres grandes Estudios Internacionales de Mosaicismo en DPC)

1.4- Mosaicismos cromosómicos más frecuentes en el DPC

Wallerstein y colaboradores revisaron una serie de 305 casos de las trisomías más comunes involucradas en los mosaicismos de los cromosomas autosómicos. ⁽²⁸⁾ Sus resultados permitieron concluir que es una necesidad realizar un análisis sistemático del riesgo y su significado para la descendencia. A continuación se describe el análisis realizado en este estudio de dichas trisomías.

Mosaicismo de trisomía 13

Fueron seguidos 25 casos de mosaico de trisomía 13. Diez casos resultaron en interrupción de la gestación, las malformaciones fetales más comunes fueron: retardo del crecimiento intrauterino, defectos congénitos del corazón e hydropis fetal. En estos casos se encontró una media del 58% de los amniocitos con trisomía 13, variando en un rango desde el 6% hasta el 94%.

En los casos que la línea celular con trisomía 13 apareció en más de un 50% de las células analizadas en el DPC, existió un 60% (6/10) de probabilidad de que el feto tuviese anomalías. En aquellos, en los que la línea celular trisómica se observó por debajo del 50%, el riesgo de malformaciones fue del 26%.⁽²⁸⁾

Mosaicismo de trisomía 18

Se detectaron 31 casos de mosaico de trisomía 18. Del total, 17 casos (54%) tuvieron un feto con malformaciones, y fueron abortados. En ellos se reportaron múltiples anomalías congénitas, facie dismórfica y retardo del crecimiento intrauterino. En estos casos la media de las células con trisomía fue del 37% con un rango de variación entre el 2% y el 95%. Once casos resultaron en abortos (37%), en los que no fue posible identificar alteraciones. Hubo tres recién nacidos sin defectos congénitos (10%) que presentaron un nivel de células trisómicas del 7% con un rango entre el 2% y el 20%.⁽²⁸⁾

En aquellos casos con más de un 50% de amniocitos trisómicos, existió un 75% (6/8) de evidencias de anomalías fetales. En cambio, cuando la línea trisómica apareció en una proporción menor al 50%, se reportó un 52% de anomalías fetales (11/21).⁽²⁸⁾

Los estudios de confirmación se realizaron en doce casos, de los cuales ocho presentaron resultados positivos (60%). En los fetos abortados que presentaron malformaciones fetales, los estudios de confirmación presentaron un nivel medio de células trisómicas del 37%.⁽²⁸⁾

Mosaicismo de trisomía 21

Noventa y siete casos de mosaicismo de trisomía 21 se encontraron. Del total, 48 casos (51%) tuvieron una terminación anormal del embarazo. Hubo 43 casos (45%) que resultaron en abortos de fetos anormales, donde las anomalías encontradas fueron: facies de Síndrome de Down (18 casos), múltiples anomalías congénitas (15 casos), muerte fetal

intrauterina (cinco casos), retardo del crecimiento intrauterino (4 casos) y defecto cardiaco congénito aislado (un caso).

Los nacidos vivos normales tuvieron una media de células trisómicas en el líquido amniótico del 17 %. En aquellos casos en los cuales la línea celular con trisomía 21 superaba una media del 50% durante el estudio prenatal, hubo un 59% (22/37) de probabilidades de que se presentaran anomalías fetales, comparado con el riesgo del 45% de los casos (27/60) en los cuales la línea celular trisómica no rebasaba la media del 50%.

Mosaico de trisomía 20

Se reportaron 152 estudios prenatales como mosaico de trisomía 20 en este estudio. ⁽²⁸⁾ Diez casos tuvieron un fenotipo anormal (6,5%), de los cuales, seis casos fueron recién nacidos y cuatro casos fueron abortos. En los seis nacidos vivos, cuatro casos presentaron retardo del crecimiento intrauterino, y en dos casos se hallaron múltiples anomalías congénitas: anomalías estructurales del sistema nervioso central, en uno de ellos, y dismorfismo facial, hipotonía y retardo del crecimiento y del desarrollo a los 16 meses de edad, en el otro. Estos niños tuvieron una media de células trisómicas en líquido amniótico del 64% con un rango que osciló entre el 25% al 97%. ⁽²⁸⁾

Hubo 18 casos de abortos en los que los fetos fueron aparentemente normales. Estos tuvieron un promedio de células trisómicas en el cultivo de amniocitos del 27% con un rango entre el 8% al 66%. En los casos con más de un 50% de hallazgo de la línea celular trisómica se reportó un 20% (4/20) de anomalías, lo cual contrasta con el riesgo del 4,5% reportado (6/132) en aquellos casos con menos del 50% de células trisómicas halladas en el análisis citogenético prenatal. ⁽²⁸⁾

El riesgo de que se manifieste un rasgo fenotípico anómalo se incrementa al aumentar el porcentaje de aparición de las células trisómicas en el mosaico. De hecho, existe una diferencia entre el riesgo que subsiste cuando las células trisómicas están presentes por debajo del 50%, que cuando estas aparecen con una frecuencia mayor del 50%. De acuerdo a esto se obtuvo:

- Un 26% (4/15) contra un 60% (6/10) para el mosaico de la trisomía 13
- Un 52% (11/21) contra un 75% (6/8) para el mosaico de la trisomía 18
- Un 4.5% (6/132) contra un 20% (4/20) para el mosaico de la trisomía 20.
- Un 45% (27/60) contra un 59% (22/37) para el mosaico de la trisomía 21

Los embarazos con mosaico de trisomía 13, 18 y 21 que llegaron a término y los fetos nacieron vivos, tuvieron una media de células trisómicas menor del 10%. Mientras que, cuando la media de células trisómica fue mayor del 31% para estas tres trisomías en mosaico, no se reportaron fetos nacidos vivos normales.⁽²⁸⁾

Kalousek y colaboradores indicaron que una línea celular normal en los citotrofoblastos de la placenta de un embarazo con trisomía completa 13 y 18, facilita la sobrevivencia intrauterina de estos fetos debido al evento de rescate de trisomía. Estos estudios concluyeron que la función placentaria es el mayor determinante de la sobrevivencia intrauterina.⁽¹⁰⁾

Sin embargo, el estudio de la sangre fetal no es adecuado para detectar el mosaico de trisomía 20 debido a que existe un bajo riesgo de anomalías comparado con el riesgo que conlleva la realización del proceso invasivo de la toma de sangre del cordón. En 27 casos que tuvieron una terminación normal de la gestación, las células trisómicas no fueron

observadas en la sangre fetal; mientras que en los casos donde la gestación fue interrumpida, las células trisómicas fueron detectadas en un 30%.⁽²⁸⁾

En la serie de casos con mosaico de trisomía 20 reportados por estos autores, el 6,6% presentó anomalías fetales; similarmente estudios previos de este mosaico han descrito un 10,8% de fetos malformados.⁽³⁰⁾ En la actualidad es aceptado que el riesgo total de afecciones es del 8,3%; no obstante, existe una amplia variabilidad en el fenotipo.⁽²⁸⁾

En la mayoría de los casos de los mosaicos de trisomía 20, las células trisómicas están confinadas a tejidos extraembrionarios y por tanto más del 90 % de los embarazos tiene una terminación normal.⁽²⁸⁾

1.5- Mosaicismos cromosómicos menos frecuentes en el Diagnóstico Prenatal Citogenético

Hsu y colaboradores agruparon los datos de aquellos mosaicismos cromosómicos de menor frecuencia y más difíciles de manejar en el proceso de asesoramiento genético, teniendo en cuenta varios aspectos: son eventos aún más raros, con escasos reportes en la literatura, un seguimiento inadecuado y pocos estudios de confirmación citogenética del hallazgo prenatal.⁽²⁹⁾

Mosaicismo de trisomía 2

El cromosoma 2 es el más implicado en el pseudomosaicismo, tanto de nivel I como de nivel II⁽²⁹⁾. No obstante, en este muestreo fue reportado en once ocasiones, y en diez de ellas estuvo asociado a severas anomalías en el desarrollo del embarazo. Las malformaciones fenotípicas fueron variables y no tuvieron un patrón específico. Se reportaron dos abortos y una muerte intrauterina. El único caso sin alteraciones fenotípicas solo tuvo un 4% de células con la trisomía 2 en el DPC y el mosaicismo no se confirmó en

la sangre, ni en la placenta. Sin embargo, otros dos casos que también presentaron un porcentaje bajo, del 6% de células con trisomía 2, resultaron en muertes intrauterinas y el mosaicismo se confirmó en el tejido placentario. ⁽²⁹⁾

Los estudios de confirmación citogenética del mosaico de trisomía 2 se realizaron en siete casos, de los que tuvieron un fenotipo anormal. El diagnóstico se confirmó en cinco casos, tanto en fibroblastos como en tejido placentario; en los cultivos de sangre generalmente solo se observaron células con un cariotipo normal. ⁽²⁹⁾

El mosaicismo confinado a la placenta puede ser una de las causas que contribuyó a la muerte fetal de tres de los casos de esta serie, en todos fue hallada la línea con trisomía 2 en los cultivos de placenta. ⁽²⁹⁾

Cuando un diagnóstico de mosaico de trisomía 2 es establecido en varios frascos de cultivo de un mismo caso, debe ser tomado en cuenta muy seriamente. Es recomendable un examen ultrasonográfico para detectar posibles anomalías fetales, lo que por medio del asesoramiento genético puede ayudar a los padres en la toma de decisiones con respecto al seguimiento del embarazo. ⁽²⁹⁾

Mosaicismo de trisomía 4

Se reportaron cuatro casos de DPC de este mosaico. Uno de ellos, con un 10% de células con la trisomía, fue un recién nacido normal con un desarrollo normal al transcurrir el primer año; en los estudios de confirmación realizados en sangre y en piel del prepucio solo se hallaron células normales. El otro caso, que presentó un 34% de la línea trisómica en el DPC, resultó ser un recién nacido con múltiples malformaciones congénitas. Los otros 2 casos fueron recién nacidos con múltiples malformaciones, en los que fue corroborada la

trisomía 4 en piel y en tejido placentario. Existen varios reportes de diagnósticos prenatales con mosaicos de trisomía 4 corroborados en diferentes tejidos. ^(29, 31-34)

Mosaicismo de trisomía 7

Se registraron ocho casos con trisomía 7 en mosaicos. Todos continuaron hasta el término del embarazo. Como resultado, siete fueron recién nacidos vivos normales; a cuatro de los cuales, se les realizó seguimiento hasta los cuatro años y fueron normales en su desarrollo; en dos de ellos, se confirmó el mosaicismo en fibroblastos de la piel. Solo un recién nacido presentó alteraciones fenotípicas como: retardo medio del desarrollo, asimetría facial e hipomelanosis de Ito. En este caso, los amniocitos presentaron la trisomía 7 en nueve células de un frasco de cultivo y fue normal en las 30 células analizadas del otro frasco. Aunque el diagnóstico del mosaico de trisomía 7 no fue establecido prenatalmente, sí se confirmó en los fibroblastos de la piel, a los siete años de edad. ⁽²⁹⁾

Es conocido que el hallazgo de la trisomía 7 en el diagnóstico prenatal está asociado generalmente al pseudomosaicismo de nivel I o de nivel II (su frecuencia es semejante a la del pseudomosaicismo de trisomía 2). ⁽¹⁾ El hallazgo de células con esta trisomía en preparaciones directas de CVS ha conducido en varios casos a que exista discrepancia entre los resultados de la CVS y el cariotipo fetal. ⁽²⁵⁾ El mosaicismo de trisomía 7 ha sido diagnosticado postnatalmente al menos en seis ocasiones. Tres de estos casos estaban asociados con agenesia renal (Síndrome de Potter) o displasia renal. ⁽³⁵⁾

Mosaicismo de trisomía 8

Catorce casos de este tipo de mosaicismo fueron analizados. Un caso que presentó el 77% de las células con la trisomía fue reportado como anormal. El resto de los 13 casos fueron fetos aparentemente normales (ocho casos fueron abortados) o recién nacidos de apariencia

normal. En todos, la línea celular con la trisomía 8 estuvo presente en un rango que varió entre el 3,8 al 40%. Estos resultados no son sorprendentes; como es conocido, realizar un diagnóstico clínico del mosaico o no mosaico de trisomía 8 es muy difícil en un recién nacido. ⁽²⁹⁾ De los ocho abortos de fetos con apariencia normal, en siete, se realizaron estudios de confirmación en fibroblastos, y el mosaicismo de trisomía 8 fue hallado en cinco. Dos casos presentaron el mosaicismo de trisomía 8 en placenta. ⁽²⁹⁾

Entre los 5 casos donde se realizó cordocentesis y/o estudios de sangre, se hallaron células con la trisomía 8 en dos de ellos. Cuando un mosaico de trisomía 8 es hallado en el DPC, la cordocentesis podría ayudar a confirmar el resultado; sin embargo si se obtiene un resultado de solo células normales, no se puede descartar la presencia del mosaicismo de trisomía 8, y de hecho, podría dar un falso sentido de seguridad. ⁽²⁹⁾

En cinco casos, donde apareció el mosaicismo de trisomía 8, hubo discrepancias entre el diagnóstico por CVS y el diagnóstico por cultivo de amniocitos. En estos casos, todos los fetos tuvieron un cariotipo normal, por lo que es razonable concluir que el mosaicismo de trisomía 8 confinado a la placenta puede ocurrir. La alta probabilidad de identificar como aparentemente normal a un feto que se le diagnosticó prenatalmente un mosaico de trisomía 8, parece estar relacionado a que no es posible detectar características clínicas sutiles de la trisomía 8 y que puede deberse a un mosaicismo confinado a la placenta. ⁽²⁹⁾

Mosaicismo de trisomía 9

Veinticinco casos fueron reportados. Veintiuno de ellos, eligieron la terminación del embarazo. En 13 se detectaron anomalías: ocho casos tuvieron múltiples malformaciones congénitas, dos casos presentaron anomalías menores, y no se recibió información de los restantes 3 casos. Los ocho abortos restantes fueron fetos aparentemente normales. ⁽²⁹⁾

Entre los cuatro casos que eligieron continuar el embarazo, uno resultó ser un recién nacido anormal con retardo del crecimiento intrauterino y características del síndrome de trisomía 9. Los restantes tres nacimientos no presentaron anomalías, incluso uno de ellos, que tuvo seguimiento hasta la edad de tres años y ocho meses, se reportó como normal. ⁽²⁹⁾

De los 14 casos que tuvieron un fenotipo anormal, se realizó cultivo de fibroblastos para confirmar el diagnóstico en ocho de ellos (siete abortos y el recién nacido). Todos los casos abortados presentaron la línea con la trisomía 9, mientras que en el recién nacido con malformaciones solo se encontró la línea normal. En el cultivo de sangre, la línea aberrada solo apareció en tres casos (dos abortos y el recién nacido). ⁽²⁹⁾

Así, en los 9 casos con anomalías, los estudios de confirmación citogenética en fibroblastos o en sangre presentaron la línea con trisomía 9. Sin embargo, en aquellos casos que los fetos fueron normales, los estudios de confirmación citogenética solo hallaron la línea con trisomía 9 en tres casos (dos, en fibroblastos del material abortivo y uno, en la sangre de un niño que fue prematuro). ⁽²⁹⁾

La línea con el mosaico de la trisomía 9 fue hallada en tres de los cuatro estudios de placenta del grupo de descendientes normales y en el único estudio de placenta que se hizo del grupo de descendientes anormales. ⁽²⁹⁾

Debido a que las células con trisomía 9 son detectables en los estudios de sangre periférica y que pueden estar presentes anomalías congénitas mayores, en estos casos es recomendable el uso de la cordocentesis y del ultrasonido para los estudios de confirmación. ⁽²⁹⁾

Según reportes de la literatura, más de 40 casos han sido diagnosticados postnatalmente. Las principales anomalías fenotípicas incluyen retardo mental y del crecimiento, facie

dismórfica con orejas malformadas, microftalmia, nariz bulbosa, enfermedades cardíacas, anomalías renales y esqueléticas. ^(36,37)

Si comparamos las principales características presentes en los casos post natales y los prenatales observamos que son similares. Los datos prenatales disponibles sugieren que aquellos fetos que presentan un fenotipo anormal detectable por ultrasonido, presentan un alto riesgo de tener la línea con trisomía 9. En este estudio fue del 56% (14/25). ⁽²⁹⁾

Mosaicismo de trisomía 12

Fueron colectados 23 casos con este tipo de mosaicismo: doce pacientes decidieron continuar el embarazo; de ellas, dos tuvieron un óbito fetal, dos tuvieron recién nacidos a término con múltiples malformaciones; los ocho casos restantes nacieron aparentemente normales. ⁽²⁹⁾

En general, de los 23 casos, en seis se hallaron malformaciones (26,1%), de los cuales, se realizó estudio de confirmación citogenética en solo tres casos y se corrobora la trisomía 12 en piel y placenta de un caso. Los estudios realizados en sangre de este caso y de los dos restantes solo dieron como resultado la línea normal. ⁽²⁹⁾

De los 17 casos que presentaron un resultado fenotípico normal, en once se efectuaron estudios de confirmación. La línea con trisomía 12 fue hallada en siete de los 10 cultivos de piel, en tres de los cinco cultivos de placenta y en uno de los siete cultivos de sangre. En este último, la línea con trisomía 12 fue hallada en el 1% de las células de la sangre analizadas. ⁽²⁹⁾

El índice de confirmación citogenética para el mosaicismo de trisomía 12, combinando casos de fenotipo normal y anormal, fue 8 de 11 para cultivo de fibroblastos, 4 de 6 en el

cultivo de placenta y solo un caso para la sangre. En estos casos la cordocentesis resulta de poca utilidad para los estudios de confirmación citogenética. ⁽²⁹⁾

Con el objetivo de demostrar si existen diferencias entre el porcentaje de células con trisomía 12 en los casos de resultados anormales y en los casos de resultados normales, se realizó una comparación. En seis casos con un resultado anormal el porcentaje de células trisómicas varió de 23 a 62% (con cuatro casos mayor del 40%), mientras que el porcentaje de células trisómicas en los casos de resultados normales varió de 6 a 64% (11 casos con menos del 20%). En el mosaico de trisomía 12 se tiende a asociar los casos de resultados anormales con los de mayor porcentaje de hallazgo de la línea trisómica. ⁽²⁹⁾

Mosaicismo de trisomía 14

En este trabajo se colectaron cinco casos. Tres pacientes optaron por continuar el embarazo, todos fueron normales a grosso modo, los tres se hicieron estudios de confirmación, ya sea por cordocentesis, sangre periférica y/o fibroblastos de piel y solo presentaron células normales. Los otros dos pacientes eligieron terminar el embarazo. A un feto se le halló hidrocefalia por ultrasonido, y en el análisis del otro se detectaron dismorfia facial y malformaciones congénitas. No se realizaron estudios de confirmación citogenética. ⁽²⁹⁾

Hasta el momento de este estudio, han sido reportados, postnatalmente, veinte casos de mosaico de trisomía 14. Los principales rasgos clínicos descritos son el retardo mental, y del crecimiento, las malformaciones cardíacas y la asimetría facial o del cuerpo. Como una excepción Merritt describió un caso sin evidencias de retardo del neurodesarrollo. En estos casos diagnosticados postnatalmente la línea con trisomía 14 ha sido hallada en células de la sangre y en menor cuantía en fibroblastos de la piel. No parece que existiese correlación

entre el porcentaje de células con trisomía 14 y la severidad de la manifestación clínica. La cordocentesis y el ultrasonido de alta resolución pueden ser de ayuda para el diagnóstico y asesoramiento. ^(38,39)

El hallazgo de la hidrocefalia en un caso de esta serie es compatible con las características clínicas reportadas en varios casos de disomía uniparental materna del cromosoma 14 y mosaicismo en baja proporción. ^(40,41)

Mosaicismo de trisomía 15

Once casos fueron estudiados; seis resultaron en una descendencia anormal (cinco abortos y un nacido vivo). Entre los hallazgos fenotípicos de estos casos aparecieron: defectos cardiacos, mal rotación intestinal, presencia de dos vasos en el cordón umbilical, retardo del crecimiento intrauterino, arrinencefalia, contractura de las manos, implantación baja de las orejas. La línea con la trisomía 15 fue confirmada en los seis casos (seis, en fibroblastos y cuatro, en células placentarias). Los cinco casos restantes fueron fetos normales (tres nacidos vivos, un prematuro y un aborto). ⁽²⁹⁾

El mosaicismo de trisomía 15 ha sido confirmado en fibroblastos y células placentarias de niños nacidos vivos y de un feto del tercer trimestre mediante cordocentesis. ⁽⁴²⁻⁴⁴⁾ Sin embargo, en cuatro casos diagnosticados en amniocitos, el cultivo de la sangre fetal presentó células con la trisomía 15 en tan solo un caso. La cordocentesis parece tener un valor limitado en estos casos. ⁽²⁹⁾

Comparando el resultado final del embarazo con el porcentaje de hallazgo de la línea con trisomía 15 en los cultivos de amniocitos, tenemos que en cinco casos de fetos normales, cuatro tuvieron 6% o menos de la línea aberrada y un caso tuvo un 31%. ⁽²⁹⁾

Al parecer un alto porcentaje de la línea con trisomía 15 (mayor al 40%) tiende a estar asociada a un resultado anormal de la gestación. Esta asociación se mantiene también en los cultivos de fibroblastos. ⁽²⁹⁾

Mosaicismo de trisomía 16

Veintiún casos fueron detectados. Trece pacientes decidieron continuar el embarazo, dentro de estos, ocho fueron fenotípicamente anormales y cinco normales. ⁽²⁹⁾

Ocho pacientes decidieron la terminación del embarazo, siete fueron fenotípicamente anormales y uno se reportó como normal. En total, el 71,4% (15/21) de los casos resultó en una descendencia anormal; 13 casos tuvieron alguna característica dismórfica, 10 presentaron cardiopatías y anomalías esqueléticas, también se hallaron anomalías gastrointestinales y renales. ⁽²⁹⁾

La trisomía 16 es una de las más comunes en los hallazgos cromosómicos de los abortos espontáneos del primer trimestre. Fue observada en el 31% de los casos de una larga serie estudiada. De modo semejante, el mosaicismo de la trisomía 16 es el mosaico más comúnmente detectado en el material abortivo. ⁽²⁶⁾ Pocos casos de mosaicos de trisomía 16 se han diagnosticado prenatalmente, todos presentaban retardo del crecimiento intrauterino, malformaciones cardíacas y rasgos dismórficos. ⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾

En el grupo de los afectados en su fenotipo que se diagnosticaron prenatalmente, 11 de 15 casos tuvieron un 20% o más de incidencia de la línea aberrada. En el grupo fenotípicamente normal, 4 de 6 casos tuvieron un 10% o menos de aparición de la línea con trisomía 16. ⁽²⁹⁾

De los 15 casos con resultados alterados, 14 tuvieron estudios de confirmación. En nueve casos se confirmó la existencia de la línea con trisomía 16 (siete en estudios de fibroblastos

y dos en cultivos de sangre). Células con la trisomía 16 fueron encontradas en nueve de 10 tejidos placentarios estudiados. ⁽²⁹⁾

De nueve casos en que se estudió tanto fibroblastos como células placentarias, tres casos presentaron la línea con trisomía 16 solo en placenta, pero no en fibroblastos, lo cual sugiere un mosaicismo confinado a la placenta. Un caso mostró células normales en ambos tejidos. ⁽²⁹⁾

El mosaicismo de trisomía 16 ha sido una causa frecuente de discrepancias diagnósticas entre los resultados obtenidos en el cultivo de vellosidades coriónicas y el cariotipo fetal, al menos en 12 ocasiones ha sido reportado. No obstante, los datos disponibles de estudios prenatales indican que un diagnóstico de mosaicismo de trisomía 16 en amniocitos tiene un alto riesgo de anomalías fetales. En estos casos se recomienda un ultrasonido de alta resolución; la cordocentesis es de valor muy limitado debido a lo infrecuente de esta línea en la sangre periférica. ⁽²⁹⁾

En 17 casos se contó con información respecto a la indicación para la amniocentesis. Es significativo el hecho de encontrar los niveles elevados de alfa-feto proteína y/o gonadotropina coriónica como indicación en ocho casos con un resultado adverso. Diversos autores han encontrado asociación entre los altos niveles de estos marcadores y el mosaico de trisomía 16. ^(48,49)

Mosaicismo de trisomía 22

Once casos de este tipo de mosaicismo fueron colectados. Siete (63,6%) tuvieron un fenotipo anormal, incluyendo: dos nacidos vivos con enfermedad cardiaca congénita y rasgos dismórficos, una muerte neonatal con retardo del crecimiento intrauterino e

hidrocefalia, un infante prematuro con retardo del crecimiento, dos abortos con rasgos dismórficos y/o anomalías esqueléticas y una muerte fetal a las 15 semanas de gestación.

El porcentaje de células con la trisomía 22 varió desde un 3.6% a un 28 % para los siete casos de resultado anormal; y desde un 5 a un 20% para los cuatro casos con un producto normal; lo que indica que no existen diferencias significativas entre el rango de aparición de la línea con trisomía 22 y el resultado fenotípico en el feto. ⁽²⁹⁾

En el grupo de los que presentaron resultados anormales se obtuvo confirmación citogenética del mosaicismo en seis casos. La línea con trisomía 22 estuvo presente en tres cultivos de fibroblastos de los cuatro estudiados y en tres cultivos de placenta de los cuatro estudiados. Así, la trisomía 22 en mosaico fue confirmada en 5 de los 7 casos con resultados anormales. Entre los cuatro casos con resultados normales hubo dos casos con estudios de confirmación positivos (uno fue hallado en sangre, piel y placenta, y en el otro, en placenta y sangre). ⁽²⁹⁾

Aunque la trisomía 22 es el segundo hallazgo más común encontrado en los abortos espontáneos del primer trimestre, algunos casos de recién nacidos han sido reportados con esta anomalía cromosómica ⁽²⁶⁾ Las principales características asociadas con la trisomía 22 son: retardo del crecimiento intrauterino, microcefalia, orejas anormales, piel redundante en el cuello, malformaciones cardíacas y dedos largos. Los estudios de seguimiento por ultrasonido son esenciales en estos casos. La trisomía 22 en mosaico o pura ha sido diagnosticada en varias ocasiones. ⁽⁵⁰⁻⁵²⁾

1.7- Mosaicismo de aberraciones estructurales

En 1996 Hsu y colaboradores en un estudio conjunto que incluía 179 663 amniocentesis hallaron 57 mosaicos de aberraciones estructurales de los autosomas y 28 que involucraban

igual entidad en los cromosomas sexuales, ⁽⁵³⁾ Kleczkowska y colaboradores en 1990 en una serie de 74306 diagnósticos prenatales encontraron seis casos de mosaicos de aberraciones estructurales balanceadas; ⁽⁵⁴⁾ mientras que Bui y colaboradores en 44170 casos hallaron siete pertenecientes a mosaicos de aberraciones estructurales. ⁽⁴⁾

Méndez y colaboradores hallaron cinco casos de mosaicos de aberraciones estructurales en 10676 amniocentesis, de los cuales, uno constituyó un falso positivo, que no se corroboró en la sangre, ni en la piel fetal; el feto presentó un fenotipo normal. ⁽⁵⁵⁾

Debido a su baja frecuencia en el DPC, es importante señalar que se debe tener extremo cuidado cuando es detectada una aberración estructural en forma de mosaico. En estos casos debe tenerse en cuenta el por ciento de la línea aberrada y la presencia de algún tipo de malformación fetal encontrada por ultrasonido de alta resolución. Estos dos elementos constituyen importantes parámetros a tener en cuenta para descartar el pseudomosaicismo.

1.8- Manejo en el laboratorio de los casos con sospecha de mosaicismo cromosómico

El criterio mínimo para el establecimiento de un diagnóstico de mosaicismo en cultivo de amniocitos es el hallazgo de una o varias células con idéntica anomalía cromosómica en al menos dos frascos de cultivo y de una línea celular normal en dichos frascos. ⁽²⁷⁾

Hsu y colaboradores en 1992 proponen una guía basada en la experiencia acumulada en Norteamérica y otros laboratorios del mundo. En ella se optimiza la labor de seguimiento de los casos con sospecha de mosaicismo cromosómico y se tuvo en cuenta la frecuencia de los hallazgos clínicos encontrados en dependencia de la aberración, cromosoma involucrado y veces en que esta era reportada. En dicha guía se prioriza el trabajo de seguimiento de los casos con un mosaicismo potencial, máxime cuando la línea aberrada

incluye una trisomía autosómica que comúnmente es viable, con respecto a aquellos casos en que la línea afectada implica una aneuploidía de los cromosomas sexuales o una aberración estructural. ⁽⁶⁾

Esta guía ha sido diseñada para lograr un alto nivel de detección de los mosaicismos con repercusiones clínicas para el feto, reducir la ansiedad de los pacientes y minimizar la intensidad del trabajo en el laboratorio descartando los casos de pseudomosaicismo. Propone tres niveles de trabajo en el diagnóstico cromosómico: extensivo, moderado y estándar. En 1999 Hsu y Benn plantean una modificación en la guía: incluir en el nivel de trabajo extensivo la búsqueda de mosaicismo en los casos que la línea aberrada presenta trisomía del cromosoma 2, 16 y 5, lo que anteriormente se incluía en el nivel de trabajo moderado de búsqueda de mosaicismo. ⁽⁵⁶⁾ Esto se basó en el hecho de que hasta ese momento existían 14 reportes de mosaicismo verdadero del cromosoma 2, en los que se encontraron anomalías fenotípicas en 13 de ellos. ^(57,58) Con respecto al cromosoma 16 se reportaron 35 casos de mosaicos, y en 27 de ellos el fenotipo fue anormal. ^(59,60) Asimismo, se reportaron cinco casos de mosaicos de trisomía 5 y en dos de ellos fueron halladas afecciones fenotípicas. ⁽⁶¹⁾ (Ver guía en Anexo 2)

Capítulo 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1- Diseño de la investigación

Los datos a que hace referencia este estudio fueron obtenidos de los resultados del diagnóstico prenatal citogenético por cultivo de amniocitos durante un periodo de 24 años (1984-2007) en el laboratorio de citogenética del Centro Nacional de Genética Médica.

Estos datos fueron extraídos de los registros anuales de diagnóstico del laboratorio (Anexo 3) donde se recogió: número del caso, fecha de entrada al laboratorio, motivo de indicación para el DPC, número de frascos analizados, número de metafases analizadas por frasco de cultivo, fecha en que fue concluido el diagnóstico, resultado final, firma del investigador encargado del caso. Los casos fueron seleccionados de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión establecidos para el estudio.

2.1.1- Criterios de inclusión:

- 1- Casos en que el análisis de las metafases se realizó con bandeo GTG de al menos dos frascos de cultivo.
- 2- Casos en que el conteo de metafases superó las 10 células analizadas (periodo 1990-2003) o las 14 células analizadas (resto de los años).
- 3- Las células con monosomías cromosómicas se tuvieron en cuenta, solamente cuando se repitió la aneuploidía del mismo cromosoma en el caso.

2.1.2- Criterios de exclusión:

- 1- No tuvieron resultados
- 2- Existió un conteo insuficiente de metafases
- 3- No fue posible descartar aberraciones estructurales, por deficiencias en el bandeo GTG.
- 4- Se analizó solo de un frasco de cultivo.

2.1.3- Universo de estudio

Teniendo en cuenta los criterios de inclusión y de exclusión del estudio fueron seleccionados 16 950 casos diagnosticados prenatalmente durante este período de trabajo.

2.1.4- Definición de muestra de estudio

Se aplicaron los criterios técnicos de Boue y colaboradores ⁽²⁷⁾ (Tabla) a los 16 950 casos de DPC seleccionados. La muestra quedó constituida por los casos del DPC en los que se identificaron al menos dos líneas celulares. Por consiguiente, se realizó una recalificación de los DPC seleccionados.

Niveles	Descripción del hallazgo detectado
Nivel I o pseudomosaicismo I	Presencia de sólo una célula anormal en uno de los frascos de cultivo.
Nivel II o pseudomosaicismo II	Se presentan múltiples células con idéntica aberración, pero únicamente en un frasco de cultivo
Nivel III o mosaico verdadero	Se observa la misma aberración en diferentes frascos de cultivo o como mínimo en 2 de ellos. Está presente en los tejidos de la placenta y/o tejidos fetales

La recalificación dio como resultado que la muestra de estudio estuvo constituida por:

- 616 casos de pseudomosaicismo, distribuidos en 553 de nivel I y 63 de nivel II.

- 48 casos de mosaicos cromosómicos.

A partir de esta muestra fueron obtenidas las frecuencias de mosaicismo y pseudomosaicismo, los cromosomas más involucrados en ambos eventos y se realizó el seguimiento para detectar posibles malformaciones físicas en los casos reportados como mosaicos cromosómicos.

2.1.5- Estudios de corroboración citogenética del resultado del DPC

En aquellos casos con diagnóstico de mosaicismo cromosómico o una sospecha de mosaicismo se realizaron estudios de confirmación del resultado prenatal. Estos se hicieron utilizando linfocitos de la sangre o fibroblastos de la piel tomados del material abortivo (si el embarazo fue interrumpido). Otro método de corroboración utilizado fue la cordocentesis, que permite la obtención de sangre fetal por punción de la base del cordón umbilical intraútero. A partir del cultivo de los linfocitos de esta muestra de sangre se obtuvieron cromosomas para confirmar el resultado obtenido en el cultivo de las células amnióticas.

En los casos diagnosticados como mosaicos cromosómicos y que posterior al asesoramiento genético la pareja decide continuar el embarazo, los estudios de corroboración del DPC se hicieron en el recién nacido utilizando la sangre del neonato, siempre que los padres dieron su consentimiento.

2.1.6- Estudios citogenéticos en los padres

Cuando la línea aberrada involucrada en el mosaico cromosómico del DPC fue factible hallarla en alguno de los padres, se realizaron estudios cromosómicos de ambos progenitores (como en los casos de marcadores cromosómicos supernumerarios). Para ello se utilizó el cultivo de leucocitos de sangre periférica. El resultado de estos estudios permitió determinar si el hallazgo prenatal es heredado o de novo y así estimar el mayor o menor riesgo de anomalías para la descendencia. Una vez conocido el resultado le fue informado al asesor genético para que ofreciera el asesoramiento pertinente.

2.1.7- Estudios de seguimiento posterior al diagnóstico prenatal de un mosaicismo cromosómico.

La posible correspondencia entre la expresión fenotípica y el resultado emitido como mosaicismo fue determinada a partir de los estudios de seguimiento realizados a estos casos. Estos incluyeron tanto a los casos de mosaicos en los que se interrumpió la gestación, como aquellos recién nacidos vivos que continuaron su desarrollo postnatal.

En los casos que fueron interrumpidos se recoge la información del informe de la necropsia fetal proveniente del departamento de anatomía patológica del hospital donde se llevó a cabo la interrupción del embarazo. (Anexos 34 y 35)

Durante este período se analizaron muestras de las provincias de Ciudad Habana, Pinar del Río, Habana, Matanzas y Camagüey, lo que requirió que se utilizaran diversas vías para obtener los datos correspondientes. Los especialistas en genética de dichos territorios participaron y colaboraron en la obtención de esta información; aunque también intervinieron citogenetistas y masteres en asesoramiento genético. Los datos colectados se enviaron al autor por vía telefónica, correo electrónico o fueron entregados personalmente. En los casos procedentes de los Hospitales de Ciudad Habana, Ramón González Coro y América Arias, el autor por sí mismo recogió los datos.

Dentro de las limitaciones que debemos reconocer en el presente trabajo son que en ocasiones resultó imposible efectuar un adecuado seguimiento y corroboración del diagnóstico prenatal de los casos por diferentes razones entre las que se cuentan: distancias geográficas, fetos macerados, imposibilidad de conocer la institución hospitalaria en que se produce la interrupción del embarazo, mala conservación del material abortivo, deficiencias en el traslado de la muestra, parejas que emigran del país, etc.

En aquellos casos en los que los padres decidieron continuar el embarazo se realizó un análisis del niño(a), teniendo en cuenta los siguientes aspectos:

Observación del crecimiento y desarrollo psico-motor, observación de algún tipo de dimorfismo cráneo facial o en manos, pies y genitales, defectos congénitos que aparecieron y la presencia de retraso mental.

Estos niños fueron atendidos en las consultas de genética llevadas a cabo por especialistas de genética de sus municipios. Algunos fueron atendidos en consultas de referencia nacional de Genética Clínica en los Hospitales Juan Manuel Márquez o Pediátrico de Centro Habana.

2.1.8- Manejo bioético de las decisiones médicas asociadas a este estudio

Durante la realización de este trabajo fue necesario tomar decisiones en las cuales existía un determinado riesgo para la salud de la mujer embarazada o la continuación del embarazo, producto del proceder invasivo a que era sometida la gestante durante la amniocentesis o la cordocentesis.

En otras ocasiones se hizo necesario realizar estudios de corroboración citogenética del resultado cromosómico del diagnóstico prenatal, para lo cual se tomaron muestras del material abortivo (piel y sangre) o del recién nacido (sangre).

Para cada una de estas situaciones fue establecido un consentimiento informado. En los casos de la amniocentesis y la cordocentesis se confeccionó de manera escrita (Anexo 4) y debía ser firmado por la gestante en caso de estar de acuerdo. Para los estudios de corroboración el consentimiento informado fue verbal, si los padres estaban de acuerdo se procedía a realizar el análisis.

Las muestras biológicas obtenidas durante la realización del estudio, se desecharon inmediatamente después que se obtuvo un resultado, y no se utilizó con otros fines.

2.1.9- Tipo de Estudio.

Esta es una investigación observacional descriptiva, longitudinal, que está en fase exploratoria. En una primera etapa, iniciada en el año 1999, tuvo un carácter longitudinal retrospectivo, sirviendo de base para el trabajo de terminación de tesis de maestría del autor. A partir del año 1999 tuvo un carácter longitudinal prospectivo debido a que el autor continuó con su estudio hasta culminarlo en el año 2007. No obstante, para obtener las conclusiones finales del trabajo y mayor rigor científico, el autor hizo una recalificación de todos los casos seleccionados para conformar su universo de estudio.

2.2- Obtención de la muestra biológica.

Para el DPC se extrajeron 20 ml de líquido amniótico por punción transabdominal en condiciones de asepsia y bajo seguimiento ultrasonográfico por un obstetra, en el periodo del embarazo comprendido (por regla general) entre las 16 y 20 semanas. Esta maniobra tiene un riesgo de pérdida del embarazo que oscila entre 0,5%-1%.⁽⁶²⁾ Además, durante el proceso del cultivo de las células del líquido amniótico se pueden presentar eventos que entorpecen llegar a un diagnóstico certero. Todas estas limitaciones del diagnóstico y riesgos del proceder invasivo fueron recogidas en un consentimiento informado que por escrito se les entregó a las pacientes y que estas firmaron, si aceptaban los condicionamientos y riesgos, de realizarse este procedimiento. (Anexo 4)

Las células que sobrenadan en el líquido amniótico se sembraron en al menos tres frascos de cultivo que fueron colocados en diferentes incubadoras. Dichos frascos fueron debidamente rotulados con el número que correspondió a la muestra.

El diagnóstico prenatal cromosómico se obtuvo generalmente entre 15 a 30 días después de la amniocentesis.

En los estudios de corroboración del DPC fue usada la cordocentesis, método que bajo guía ultrasonográfica permite extraer sangre fetal del cordón umbilical en el periodo comprendido entre las 21-25 semanas de embarazo.

Asimismo para la corroboración del DPC se empleó el cultivo de fibroblastos fetales procedentes de la piel. Se tomó una muestra de piel fetal de la región del talón o axilas (posterior a la interrupción del embarazo) y fue transportada al laboratorio en suero fisiológico con exceso de antibiótico (1ml de antibiótico en 3 ml de suero fisiológico). También en los estudios de corroboración del DPC se empleó el cultivo de la sangre fetal (posterior a la interrupción del embarazo) que se extrajo por punción cardíaca previa heparinización de la jeringuilla estéril.

2.3- Técnica del cultivo y procesamiento de células del líquido amniótico

Los amniocitos son uno de los tipos de células que se encuentran en el líquido amniótico y constituyen las células de elección para realizar el DPC, aunque en ocasiones también se obtienen resultados satisfactorios empleando otros tipos de células presentes en el líquido amniótico como los fibroblastos y en menor medida las células epitelioides. Al cultivarse, estas células crecen en forma de colonias adheridas a la superficie del frasco de cultivo.

Durante este periodo de trabajo en nuestro laboratorio se utilizaron los métodos de cultivo de amniocitos cerrado y abierto, en dependencia del medio de cultivo utilizado y de la técnica de cultivo empleada (en frascos o in situ con placas petris). En el método cerrado no existe intercambio gaseoso de las células cultivadas con el medio exterior, mientras que en el abierto este intercambio si se produce.

Por cada caso se sembraron 3 ml del líquido amniótico en frascos de cultivo de 25 cm² o en placas petri de 3 cm, por triplicado, utilizando 3 ml del medio de cultivo disponible y se incubaron a 37 °C, en atmósfera humidificada y 5% de CO₂. Una vez que las colonias celulares alcanzaron el desarrollo óptimo se realizó el procesamiento o cosecha de los cultivos celulares.

Proceso o cosecha del cultivo celular:

Este proceso fue realizado a temperatura ambiente. Se describen los pasos seguidos en caso de que las células fueron cultivadas en frascos o en placas petri.

En frascos:

El primer paso consistió en añadirle al cultivo 70ul del antimetabólico (10mg/ml) durante dos horas y media. Las células fueron lavadas con 2ml de EDTA dos veces para eliminar los restos de medio y se trataron con solución de Tripsina/EDTA (0,5% tripsina/0.002% EDTA) de 2 a 5 minutos. Una vez que las células estuvieron despegadas del fondo del frasco se les añadió 3 ml de medio para detener la acción de la tripsina. Se transfirieron a tubos de centrifuga de 10 ml y se centrifugaron a 1000 rpm, durante 10 minutos. La hipotonía se realizó con KCl 0.075 M durante 20 minutos. A continuación se centrifugaron a 900 rpm, 15 minutos. La primera fijación se realizó con metanol-ácido acético (3:1), 30 minutos. Se centrifugó a 1000 rpm, 10 minutos. La segunda fijación se efectuó con metanol-ácido acético (3:1) durante 30 minutos. Se realizó la extensión del material en láminas portaobjetos.

En placas petris:

Primeramente se añadió al cultivo 35 µl del antimetabólico (10mg/ml) durante dos horas y media. Se decantó el sobrenadante de la placa y se añadió gota a gota la solución de KCl

0.075 M para realizar la hipotonía durante 20 minutos. Se decantó el sobrenadante de la placa y se realizó la fijación con metanol-ácido acético (3:1) durante 30 minutos. Posteriormente se colocaron los cubreobjetos sobre los portaobjetos.

2.4- Técnica de cultivo de la sangre

Las muestras fueron recepcionadas en el laboratorio en jeringuillas estériles y heparinizadas, enviadas desde el lugar de extracción en el menor tiempo posible. Este protocolo incluye el procesamiento de los linfocitos de la sangre cualquiera que sea su origen (fetal, recién nacido o adulto). Generalmente se sembraron 2 frascos de cultivo por caso, aunque esto pudo variar de acuerdo al volumen de cada muestra. La sangre restante después de la siembra se guardó a 4 °C por si fuese necesaria una resiembra de las muestras.

El medio de cultivo para la siembra, se prepara con 50 mL de RPMI-1640, 1 mL de Fitoheماغlutinina (PHA), 0.5ml de L-glutamina.

La siembra o cultivo se realizó con 3 ml de la mezcla anterior y 0.5 ml de suero fetal, se agita suavemente y se incubó a 37 °C durante 72horas.

Proceso o cosecha del cultivo de sangre:

Se añadieron 45 µL de Demecolcine al cultivo durante 15 minutos, a 37 °C. Se centrifugaron a 1 200 rpm, 10 minutos. La hipotonía se realizó con KCl al 0.56%, para lo cual se añadieron 8 ml de esta solución, gota a gota, con una pipeta Pasteur de 2.5 ml, y una segunda pipeta, de forma rápida. Se incubó a 37°C durante 20 minutos. Luego se realizó la prefijación, añadiendo 8 gotas de fijador (metanol- ácido acético 3:1), y se resuspendió dejándolo en reposo 10 minutos. Se centrifugó a 1000-1200 rpm, 10 minutos y se eliminó el sobrenadante. La fijación se realizó añadiendo, primero, 2.5 ml de la solución fijadora,

gota a gota; inmediatamente se añaden otros 2.5 ml de forma rápida con una pipeta Pasteur. Se dejó en reposo durante 30 minutos como mínimo a temperatura ambiente. Se centrifugó a 1000-1200 rpm, 10 minutos. Se continuó con lavados consecutivos con la solución fijadora hasta obtener un sobrenadante transparente y un pellet blanco. Para extender la muestra, se resuspendió en un volumen aproximado de 1 ml de fijador. Antes de extender, se verificó que las láminas estuviesen en agua a 37 °C. La muestra se extendió en la lámina, dejando caer 2 gotas desde una altura de 10 cm hacia la lámina. Posteriormente las láminas se colorearon con giemsa. Las láminas se observaron al microscopio óptico para evaluar el crecimiento del cultivo. Las láminas se envejecieron sometidas a un proceso de deshidratación por calor a 90 °C durante 30 minutos.

2.5- Técnica del cultivo de células de la piel fetal

En placas petris, la muestra de piel fue fraccionada en pequeñas partes no mayores de dos milímetros, utilizando bisturí y pinzas, todo bajo condiciones de completa esterilidad.

Cada fragmento fue ubicado en frascos de cultivo de 25 ml (4 fragmentos por frasco) utilizando las pinzas. Se añadió 1 ml de medio de cultivo y se dejó en reposo a 37 °C y 5% de CO₂ durante 72 horas, al cabo de las cuales se añadieron 2 ml de medio de cultivo en cada frasco y se volvieron a colocar en las condiciones de incubación anteriormente descritas.

Cuando las colonias de fibroblastos alcanzaron un crecimiento adecuado se procede a la cosecha del cultivo celular, que se realizó de manera idéntica al efectuado para el cultivo de amniocitos en frascos.

2.6- Técnica para obtener las bandas GTG de los cromosomas. Bando de rutina.

Preparación del buffer fosfato pH 6.8: Se pesó 9.078g de dihidrógeno fosfato de potasio (KH_2PO_4) para un litro de H_2O destilada. Se pesó 9.200g de disodio hidrogeno fosfato dihidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) para un litro de H_2O destilada. Se mezclaron 50:50 de solución de KH_2PO_4 y Na_2HPO_4 . El pH fue ajustado a pH- 6.8.

Preparación del NaCl: Se pesaron 9.5g de NaCl y diluyeron en un litro de H_2O destilada.

Procedimiento:

En un coplin de 100ml, se disolvieron 0,125 g de tripsina 1:250 en 100 ml de buffer fosfato, y se ubicaron en baño de María a 37°C. Se preparó un coplin de 100 ml con sol. de NaCl 0,9%. Se incubaron en baño de María. Se preparó un coplin con 100 ml: 8 ml de Giemsa y 92 ml de buffer 6,8. Se preparó un coplin con 100ml de buffer 6,8. Se llenaron dos coplins con 100ml de agua destilada.

La lámina portaobjeto se pasó por solución de tripsina. Se enjuagó en solución de NaCl 0,9%. Fue coloreada en solución de Giemsa durante 10 min. Se secó el portaobjeto y fue evaluado el tiempo de tripsina y coloración. Una vez ajustados dichos tiempos, se repitió el proceder con todos los portaobjetos del caso. Se secaron los portaobjetos y se guardaron en lamineros bien documentados para el diagnóstico.

2.7- Análisis cromosómico

Se contaron 10 metafases (periodo 1990-2003) o 15 metafases (periodo 1984-1990 y 2003-2007) de al menos 2 frascos de cultivo diferentes usando la técnica de tinción con bandas GTG. Se realizó el cariotipo de al menos dos metafases, se analizaron exhaustivamente cinco células y las demás fueron contadas.

Si aparece algún caso en que se sospeche un mosaicismo cromosómico, con el objetivo de optimizar el trabajo en el laboratorio se aplica la guía de Hsu y Benn realizada en 1992 y modificada en 1999. ^(6,72) (Anexo 2)

2.8- Bandeos cromosómicos especiales.

Fueron utilizados en el diagnóstico prenatal cuando se hizo necesario definir variantes cromosómicas normales o cambios estructurales en los cromosomas que pudiesen tener repercusión fenotípica en la descendencia.

2.8.1- Bandas CBG

Fueron preparadas las siguientes soluciones:

- Solución de HCL 0.1M diluyendo 0.8 ml HCl en 100ml de H₂O
- Solución de hidróxido de bario diluyendo 3 g Ba(OH)₂ /100ml de H₂O.
- Solución 2XSSC

NaCl 0.3M-----1.73g

C₆H₅Na₃O₇ · 2 H₂O-----0.03M=0.8823g (citrato de sodio).

Estos dos reactivos se mezclaron en 100ml de H₂O destilada formando la solución de 2x SSC.

En un coplin se añadió HCl 0.1 M, se colocaron láminas con la preparación cromosómica durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las láminas se enjuagaron con H₂O corriente, fueron ubicadas en solución de Ba(OH)₂ durante 10 min. Se pasaron a coplin con solución de 2X SSC, durante 1 hora a 60⁰C. Se colocaron en Giemsa al 5% diluida en el buffer 6.8.

Se analizaron al microscopio óptico para definir la calidad del bandeo.

2.8.2- Bandas NORs

Fueron utilizadas las siguientes soluciones:

Solución 1: Acido sulfúrico 1 N. (2,5ml de ácido sulfúrico y completar hasta los 100ml con agua destilada)

Solución 2: 1 ml de ácido fórmico diluido en 9 ml de agua destilada.

Solución 3: Formaldehído 35% (3,5 ml de formaldehído diluidos en 96,5ml de agua destilada, ajustada a ph 2,65. El pH se ajusta con la solución 2)

Solución 4: nitrato de plata (2 gramos de nitrato de plata en 2 ml de agua destilada)

Solución de trabajo: 500 microlitros de solución 4 más 100 microlitros de solución 3.

La lámina con la preparación se sumergió por 7 minutos en la solución 1. Se le hizo un lavado en agua destilada. La lámina fue ubicada en cámara húmeda, a 37 grados centígrados. A la lámina le fue añadida la solución de trabajo en su superficie. La lámina fue cubierta con cubreobjeto y ubicada en el horno a 60 grados centígrados durante 12 minutos. Se retiró cuidadosamente el cubreobjetos y se lavó con abundante agua. Se coloreó con solución de giemsa al 10% durante 5 minutos. Se hizo una evaluación al microscopio de la calidad de las bandas NOR.

Capítulo 3
MOSAICISMO CROMOSÓMICO

3.1-Introducción

El mosaicismo cromosómico es un acontecimiento poco frecuente en el DPC. Su diagnóstico correcto en ocasiones se dificulta por la presencia de diferentes eventos fortuitos que crean incertidumbre en su determinación. Este hecho constituye una de las limitaciones para obtener un resultado certero de la prueba prenatal.

Sin embargo, a pesar de su baja frecuencia, cuando es detectado surge un dilema para el citogenetista y el asesor genético, que debe ser manejado con extrema cautela. Por dicha razón es de importancia su estudio.

3.2- Objetivos

- 1- Determinar la frecuencia del mosaicismo cromosómico en nuestro universo de estudio.
- 2- Determinar la frecuencia de los cromosomas que aparecen involucrados en el mosaicismo cromosómico.
- 3- Describir la posible correspondencia entre la expresión fenotípica y el resultado del diagnóstico prenatal emitido como mosaicismo.
- 4- Explorar la posible relación entre el fenotipo y el por ciento de la línea aberrada detectada.

3.3- Resultados

Fueron hallados 48 casos de mosaicismo cromosómico (Anexo 5) para una frecuencia del 0,28% (48/ 16 950). De los 48 casos con mosaicismo cromosómico se hicieron estudios de confirmación citogenética del DPC en 20 para un 41,6% (20/48), no se estudiaron 23 casos para un 47,9% (23/48) y de cinco casos no fue posible coleccionar información (10,4%). Se hallaron malformaciones atribuibles a la línea aberrada en 12 casos. (Anexo 6)

En los casos que se hicieron estudios de confirmación citogenética del DPC, se corroboró el cariotipo prenatal en 12 casos (60%) y en ocho (40%), este no se confirmó.

Debido al comportamiento disímil del mosaicismo cromosómico en dependencia del tipo de aberración involucrada en la línea aberrada, este fue analizado en diferentes acápite: mosaicismo de aneuploidías autosómicas, mosaicismo de aneuploidías sexuales, mosaicismo de cromosomas marcadores y mosaicismo de aberraciones estructurales. Se presentan los resultados y la discusión individualizados por cada acápite.

3.3.1- Mosaicismo de aneuploidías de los cromosomas autosómicos

Las aneuploidías autosómicas estuvieron presentes en el 33,3 % (16/48) de nuestros casos de mosaicismo cromosómico. Se hallaron seis casos de Trisomía 21, tres casos de Trisomía 22, dos casos cada uno de las Trisomías 18, 13 y 20, y un caso de Trisomía 9. (Anexo 7)

En los diferentes estudios reportados en la literatura los autosomas más involucrados en mosaicismo de trisomías son el 20, el 21, el 13 y el 18, responsables de casi el 70% de todos los mosaicos hallados en aneuploidías autosómicas.^(28, 29) En este trabajo constituyen el 75% (12/16) de todos los mosaicos detectados en las aneuploidías de los autosomas.

3.3.1.1- Mosaicismos de aneuploidías autosómicas más frecuentes

3.3.1.1.1- Mosaico de trisomía 21

El cromosoma que con mayor frecuencia aparece involucrado en el mosaicismo de trisomía autosómica en nuestra serie de casos es el 21 que fue hallado en seis pacientes, para una frecuencia del 37,5% (6/16).

De los seis casos detectados, exclusivamente se pudo coleccionar datos de anatomía patológica en tres de ellos que se describen a continuación:

Caso I-1

Fueron analizadas 11 metafases, de las cuales, cinco fueron 47,XX,+21 y seis fueron 46,XX, para un 45,5% de la línea aberrada. El embarazo fue interrumpido y el fenotipo del feto presentó los siguientes rasgos dismórficos: hipertelorismo, nariz pequeña, con raíz nasal aplanada, surco simiano bilateral, baja implantación de las orejas, desviación mongoloide de las hendiduras palpebrales, braquicefalia, y atresia esofágica, que fue el defecto congénito mayor.

Caso I-2

Fueron analizadas 17 metafases; de ellas, nueve presentaron el cromosoma 21 extra y ocho fueron normales, por lo que la frecuencia de la línea aberrada fue del 52,9%. El cariotipo descrito fue 47,XX,+21/46,XX. El embarazo fue interrumpido y el feto presentó los siguientes rasgos dismórficos: orejas displásticas y de baja implantación, desviación mongoloide de las hendiduras palpebrales, nariz pequeña y corta, labio inferior prominente y evertido, abdomen protuberante, clinodactilia y surco simiano.

Caso I-5

Este correspondió con un embarazo gemelar dicigótico en el cual uno de los fetos presentó tres células con la trisomía 21 en diferentes frascos de 40 células analizadas, para un 7,5% de la línea aberrada. El cariotipo descrito fue 47,XY+21/46,XY (Anexo 8). Es remitido por marcadores bioquímicos y ultrasonográficos positivos para riesgo de Síndrome Down y el resultado de la necropsia fetal presentó como datos de interés solamente el hipertelorismo y la baja implantación de las orejas. (Anexo 34)

La imagen del caso I-4 está en Anexo 9.

3.3.1.1.2- Mosaico de la trisomía 20

La trisomía 20 es el hallazgo más frecuente entre los mosaicos de trisomías de los autosomas diagnosticados por cultivos de amniocitos. ^(1, 30, 63, 64) En este trabajo se reporta en dos ocasiones para un 12,5% (2/16).

Los dos casos se describen a continuación:

Caso I-7

El cariotipo fue 47,XX,+20 [4]/46,XX [27]. La línea celular aberrada estuvo presente en un 12.9 % (4/31). El embarazo fue interrumpido, y al análisis físico el feto no presentó anomalías. La línea con la trisomía 20 no se halló en los estudios de piel y sangre fetales.

Caso I-8

El cariotipo fue 47,XY, + 20[2]/46,XY[48]. Se encontraron dos células con trisomía 20, de 50 que fueron analizadas. El por ciento de la línea trisómica fue de 4% (2/50). El embarazo continuó, y el recién nacido no presentó alteraciones fenotípicas; actualmente el niño de 11 años presenta un neurodesarrollo normal. El análisis de la sangre mostró solamente la línea normal.

3.3.1.1.3-Mosaico de trisomía 18

Fue hallado en dos ocasiones dentro de los 16 casos de mosaicos de trisomías autosómicas, para una frecuencia del 12,5%. El análisis de ambos casos presentó:

Caso I-9

Paciente remitida por AEM. El cariotipo descrito fue 47,XX,+18[13]/46,XX[4]. La trisomía fue hallada en 13 células de las 17 analizadas para un 76% de la línea aberrada. El embarazo fue interrumpido, y en el examen del feto se encontró: orejas grandes en rotación posterior y de baja implantación, fosas nasales en anteversión, posición en valgus de

miembros inferiores, dificultad para la extensión del codo, camptodactilia bilateral, dorsi flexión del primer dedo de ambos pies y CIA tipo agujero oval de 0,2 cm. No se realizaron estudios de corroboración citogenética en el material abortivo.

Caso I-10

Paciente remitida por AEM. Fue hallada una célula con trisomía 18 de 15 analizadas en un solo frasco de cultivo. Se realizaron estudios de corroboración del DPC en la sangre fetal a través de una cordocentesis y el resultado fue 47,XY,+18[10]/46,XY[10]. El embarazo fue interrumpido, y en el material abortivo solo se describe: retardo del crecimiento fetal, occipucio prominente e implantación baja de las orejas.

3.3.1.1.4- Mosaico de trisomía 13

Se detecta en dos casos, lo que corresponde a una frecuencia del 12,5%, dentro de los casos de mosaicos de aneuploidías autosómicas. El análisis de ambos casos presentó:

Caso I-11

Paciente remitida por AEM. El resultado del cariotipo fue 47,XY,+13[5]/46,XY[11]. La línea aneuploide se encontró en el 31,25% de las células estudiadas. La gestación fue interrumpida y al analizar el feto fueron detectados: retardo del crecimiento, microcefalia, surco simiano. La presencia de las dos líneas celulares diagnosticadas prenatalmente se corrobora en la piel fetal.

Caso I-12

Paciente remitida por ansiedad materna. El resultado del cariotipo fue 47,XX,+13[6]/46,XX[10]. La trisomía estuvo presente en el 37,5% de las células analizadas. El embarazo fue interrumpido; se informó feto malformado sin precisar detalles. En este caso no se realizaron estudios de confirmación citogenética del DPC.

3.3.1.2- Mosaicos cromosómicos de trisomías autosómicas raras

3.3.1.2.1- Mosaicismo de trisomía 22

La trisomía del cromosoma 22 en mosaico se le considera dentro de los llamados casos raros de mosaicismo de los autosomas. ^(1, 29) En nuestro estudio tiene una incidencia del 18,7% (3/16) en mosaicos de aneuploidías autosómicas. La encontramos dos veces en forma de trisomía libre (I-13 y I-15) y una vez en forma de trisomía por translocación Robertsoniana (I-14). Descripción de los casos:

Caso I-13 - En este se encuentran dos células con trisomía 22, de las 30 que fueron analizadas. El cariotipo fue 47,XY,+22[2]/46,XY[28]. El por ciento de la línea aberrada fue del 6,6%. El DPC se corrobora en la piel fetal después de la interrupción del embarazo.

El embarazo se interrumpió a las 26 semanas de gestación, el feto pesó 1140 gramos, y le fue hallado: foramen oval de 8mm, hipertelorismo, surco simiano bilateral, nariz en pico de cotorra, microcefalia y estenosis de la aorta.

Caso I-14 - 46, XY, der (13; 22) (q10;q10),+22[17]/46,XY[13]

La paciente se realiza el DPC a las 19 semanas de embarazo debido a malformaciones detectadas por ultrasonografía que hacían sospechar una alteración cromosómica. El resultado del DPC presentó una línea celular normal 46, XY en 13 células analizadas y una línea con una trisomía 22 por translocación Robertsoniana (Anexo 10) en 17 células de tres diferentes frascos de cultivo (56,6% de la línea aberrada). El examen en anatomía patológica del feto abortado presentó: microcefalia, implantación baja de las orejas, canal atrio ventricular y surco simiano. En este caso no se hicieron estudios de corroboración citogenética en el material abortivo.

Caso I-15 - Son contadas 65 metafases apareciendo 3 con la trisomía 22. El embarazo es interrumpido. El feto es un varón fenotípicamente normal. El por ciento aparición de la línea trisómica fue de 4,6 %(3/65). Cariotipo: 47,XY,+22[3]/ 46,XY[62]. No se realizan estudios de corroboración del DPC.

3.3.1.2.2- Mosaicismo de trisomía 9

Encontramos un caso con mosaicismo de trisomía 9 en siete células de las diez que fueron analizadas de diferentes frascos de cultivo. Para este tipo de trisomía esto nos da una incidencia del 6,2% dentro de las aneuploidías de los autosomas. Fue remitido al laboratorio por malformaciones detectadas por ultrasonido.

Caso I-16 - Cariotipo: 47,XX,+9 [7]/46,XX [3] (Anexo 11). El análisis del material abortivo en el informe de anatomía patológica presentó: espina bífida oculta, hernia diafragmática, hipoplasia de pulmón izquierdo, hipoplasia del páncreas, vías biliares y yeyuno, corazón bilocular, hidrocefalia, malformaciones renales (estenosis del tercio medio y tercio inferior a nivel de uretes). (Anexo 35) En los estudios de corroboración del DPC la trisomía del cromosoma 9 se halló en la piel y en la sangre fetal.

Discusión

La frecuencia de mosaicismo cromosómico reportada en este trabajo esta dentro del rango establecido por estudios de otros autores. ⁽³⁻⁶⁾

En los casos que se hicieron estudios de confirmación citogenética del DPC, se corroboró el cariotipo prenatal en 12 casos (60%) y en ocho (40%), este no se confirmó. Diversos autores han tenido porcentajes de confirmación del cariotipo prenatal que oscilan entre el 60 y 74 %, esto no es inusual si tenemos en cuenta los diversos factores confusores de un diagnóstico de mosaicismo cromosómico en el DPC. ^(3-6, 29)

De la comparación de las frecuencias obtenidas en nuestro estudio, de los mosaicos de aneuploidías autosómicas más comunes (cromosomas 21, 20, 13 y 18), con los resultados obtenidos por otros autores, se realiza el siguiente análisis:

El mosaico de trisomía 18 es relativamente común durante los hallazgos del DPC por cultivo de amniocitos. ^(1, 3, 6, 28) Hsu lo reporta en 15 casos, de las 277 trisomías en mosaico de los autosomas, para un 5,4%. ⁽⁶⁾ Worton lo describe en dos ocasiones, de 15 casos de mosaicos de aneuploidías autosómicas, lo que se corresponde a un 13,3%, ⁽³⁾ mientras que Wallerstein detecta este mosaicismo en 31 casos de 436 para un 7,1 %. ⁽²⁸⁾

El mosaico de trisomía 13 también es considerado como un mosaico relativamente común en el DPC. ^(1, 3, 6, 28) Hsu y Perlis lo detectaron en 89 casos de mosaicismo de aneuploidías autosómicas en dos ocasiones para un 2,2%. ⁽⁵⁾ Hsu en el estudio de los laboratorios de New York reporta el mosaicismo de trisomía 13 en dos ocasiones en 50 casos de trisomías autosómicas (4%). ⁽⁶⁾ Wallerstein en 436 casos de mosaicos de aneuploidías autosómicas lo describe en 25 casos para un 5,7%. ⁽³⁰⁾ Mientras que las frecuencias halladas por Worton tienden a ser más parecidas a las nuestras al describir dos casos en 15 mosaicos de trisomías autosómicas (13,3%). ⁽³⁾

Respecto al mosaico de trisomía 18 y 13, nuestras frecuencias coinciden con lo reportado por Worton y colaboradores ⁽³⁾ y no son notoriamente diferentes a lo reportado por Wallerstein. ⁽²⁸⁾ No coinciden con los reportes de frecuencia de Hsu y colaboradores ^(5,6)

En relación a los hallazgos de los fetos abortados que presentaron el mosaicismo de la trisomía 18, en el primer caso (I-9), donde la presencia de la línea aberrada superaba el 70%, los caracteres fenotípicos propios de la trisomía 18 fueron más acentuados e incluso apareció una malformación cardíaca. El segundo caso de mosaico de trisomía 18 (I-10) presentó malformaciones más discretas (pero frecuentes en la trisomía pura del 18) debido

a una mayor presencia de la línea normal; la línea aberrada estuvo presente en el 50% de las células analizadas en los estudios de corroboración por cordocentesis.

Los dos casos de mosaicos de trisomía 13 presentaron la línea aberrada en proporción moderada, 31,2% el primero y 37,5 % el segundo; en ambos casos se presentaron anomalías.

Wallerstein plantea que el riesgo de una anomalía fetal se incrementa al aumentar el porcentaje de las células trisómicas autosómicas en el mosaico. Hay una distinción, aunque no una completa separación, entre el riesgo de una terminación anormal del embarazo en los casos con menos del 50% de células trisómicas y aquellos que están por encima del 50% respecto al total de células analizadas. ⁽²⁸⁾

De acuerdo a lo anterior, este autor considera que:

- Para el mosaicismo de la trisomía 13 existe un 26% (4/15 casos) de riesgo de malformaciones en casos con menos del 50% de la línea trisómica, contra un 60% (6/10 casos) de riesgo en casos en que la línea trisómica supera el 50% de las células analizadas. ⁽²⁸⁾ Los dos casos de nuestro estudio con mosaicismo de trisomía 13, a pesar de no superar el 50% de la línea aberrada, los fetos sí presentaron anomalías físicas. Esto, sin dudas, es indicativo del valor del diagnóstico ultrasonográfico para la toma de decisiones en dichos casos.
- Para el mosaicismo de la trisomía 18 existe un 52% (11/21 casos) de riesgo de malformaciones cuando la línea trisómica no supera el 50% de las células analizadas contra un 75% (6/8 casos) de riesgo cuando la línea trisómica sí supera el 50% de todas las células analizadas. ⁽²⁸⁾ En nuestra serie los dos casos con malformaciones tenían el 50% o más de las células afectadas, presentando ambas malformaciones confirmadas en el material abortivo.

- Los embarazos con mosaico de trisomía 13 y 18 que resultaron en una terminación normal tuvieron una media de células trisómicas menor del 10%. No se observaron nacidos vivos normales cuando la media de la línea celular trisómica fue mayor del 31% para estas dos trisomías. ⁽²⁸⁾ Los datos presentados en este trabajo sobre los mosaicos de trisomía 18 y 13 corroboran esta conclusión, en los cuatro casos la línea afectada supera el 31% de aparición y en todos se presentaron malformaciones.

El mosaico de trisomía 20 tuvo una frecuencia del 12,5% en nuestra serie, no podemos concluir que fuese el más frecuente tal como reportan otros autores. Nuestros datos coinciden con lo reportado por Worton,⁽³⁾ no así con lo descrito por Hsu^(5 y 6) y Wallerstein. ⁽²⁸⁾ Hsu y col. lo detectaron con una frecuencia del 37% (103/277). ⁽⁶⁾

De manera similar, Wallerstein lo describe en un 34,8% (152 veces en 436 casos de mosaicos diagnosticados). ⁽²⁸⁾ En el estudio de los laboratorios de EEUU ⁽⁵⁾ fue hallado en 20 ocasiones en 87 aneuploidías autosómicas (22,9%). Sin embargo, Worton lo reporta tan sólo en un 13,3% (2/15) en su trabajo, en el que analiza 12 386 amniocentesis. ⁽³⁾

Hsu en el capítulo “Diagnóstico Prenatal a través de la Amniocentesis” del libro sobre Enfermedades Genéticas del Feto, de A. Milunski, ⁽¹⁾ plantea que la frecuencia tan elevada del mosaico de trisomía 20 pudiera estar sesgada por el hecho de que al coleccionar datos del mosaicismo cromosómico para ser incluidos en grandes series, se tienen en cuenta reportes y publicaciones de casos que son abundantes para el mosaicismo de dicho cromosoma. Por el contrario, los casos con mosaicismo que comprenden las trisomías 21, 18 y 13 no han recibido mucha atención, han sido poco reportados en la literatura y sus resultados son poco seguidos. ⁽¹⁾

Sin embargo, el mosaico de trisomía 20 es raramente encontrado en los muestreos citogenéticos de abortos espontáneos;^(63, 64) por todo lo anteriormente mencionado es comprensible que ante su hallazgo surja un gran dilema ante el consejero genético y el citogenetista.

En diferentes estudios realizados en casos de mosaico de trisomía 20 ^(30,63) se ha notado que la inmensa mayoría (85%) tiene un fenotipo normal y las anomalías halladas en el 15% restante fueron inconsistentes. En consecuencia, no ha sido posible establecer una relación causal entre el mosaico de trisomía 20 y un síndrome específico. Existen autores ⁽⁶³⁾ que plantean la posibilidad de una asociación entre un fenotipo anormal y un alto porcentaje de la línea celular con trisomía 20 (por encima de 60%), pero generalmente esta línea tiene un origen extraembrionario y las oportunidades de una terminación normal del embarazo están por encima del 90%. ⁽³⁰⁾

Sin embargo, otros autores plantean que debido al poco tiempo de seguimiento post-natal que se le da a estos casos, unido a los fallos en la evaluación de otros tejidos fetales en busca de la trisomía 20 (aparece principalmente en piel, riñones e intestinos y no en sangre), y que los defectos fenotípicos que presentan son menores, en ocasiones se hace una sub-valoración de los efectos clínicos de este mosaico, que según ellos, son principalmente un retraso marcado en el desarrollo motor y la hipotonicidad en el niño, condiciones estas que deberían ser tomadas en cuenta como riesgo adicional a pesar de que los ultrasonidos y las pruebas de sangre del cordón sean normales. ⁽⁶⁴⁾

En los dos casos reportados en este trabajo de mosaico de trisomía 20 (I-7 y I-8) el porcentaje de mosaicismo fue realmente bajo (14% en uno y 4% en el otro), el feto producto de la interrupción del embarazo no presentaba malformaciones visibles en esa

etapa del desarrollo. En el caso que el embarazo continuó el niño nació normal y hasta la actualidad su desarrollo ha sido normal.

El mosaicismo cromosómico de trisomía 21 esta descrito como uno de los más frecuentes en el cultivo de amniocitos; pero al mismo tiempo es uno de los que menos se conoce el resultado final del embarazo, pues debido a su relativa común ocurrencia y a que siempre se espera un resultado afectado con más o menos las mismas características, no son recogidas o publicadas las estadísticas acerca de las consecuencias finales de estos embarazos.

Hsu en un trabajo que agrupa 277 casos de mosaicos de aneuploidías de los autosomas, encuentra la trisomía 21 en 60 casos para una frecuencia del 21,6% ⁽⁶⁾ Worton en un muestreo de mosaicismo en DPC en laboratorios canadienses reportó un 20% de frecuencia de este mosaico ⁽³⁾ y Wallerstein reportó un 22,2% de aparición de la trisomía 21. ⁽²⁸⁾

La frecuencia que reportamos en este trabajo es del 37,5%, mayor que en los tres reportes internacionales con la cual la comparamos. La posible explicación es que en nuestra serie exista un sobre diagnóstico del mosaico fetal de trisomía 21, lamentablemente en ningún caso de los reportados se hizo estudios de corroboración citogenética del diagnóstico prenatal y solo se tiene información de 3 casos (I-1, I-2 y I-5), en los dos primeros los hallazgos fenotípicos encontrados en el material abortivo nos sugiere la presencia de la línea con la trisomía 21. El tercer caso (I-5) que presentó tres células con la línea trisómica y 40 con la línea normal, es remitido por marcadores bioquímicos y ultrasonográficos positivos para riesgo de Síndrome Down, en el resultado de la necropsia solo son reportadas la baja implantación de las orejas y el hipertelorismo, eventos que por sí solos en esa etapa fetal no son definitorios de algún síndrome cromosómico. Probablemente en este caso la línea trisómica solo estuviese presente en tejido placentario, pero no puede afirmarse al no realizar estudios de corroboración citogenética en material abortivo.

En otro de los casos (I-4) se detecta la línea trisómica en 18 metafases y en tres células la línea 46, XX, en este caso no puede descartarse una contaminación con células maternas y que el feto fuese una línea pura 47,XX,+21. De los restantes 3 casos con mosaicos de trisomía 21 no se tienen estudios de seguimiento, ni informes de anatomía patológica acerca del material abortado.

En los dos casos que se presentaron malformaciones fetales la línea con la trisomía 21 superó el 45% de aparición con respecto a la normal.

Generalmente cuando se realiza un DPC de Síndrome Down este caso no es seguido, aún siendo un mosaico cromosómico. El hecho de que esta sea una de las enfermedades de origen cromosómico más frecuente no debe implicar una falta de seguimiento y corroboración en estos casos, aún más cuando se trata de un mosaicismo cromosómico, una de las fuentes de falsos positivos y falsos negativos del DPC. Desafortunadamente ha caído en desuso la práctica de corroborar los resultados del DPC ya sea en el material abortivo o en el recién nacido, en aquellos casos que así lo requiere.

La trisomía 22 es el segundo hallazgo más comúnmente encontrado en los abortos espontáneos del primer trimestre, esto justifica su baja incidencia de aparición durante el DPC del segundo trimestre, aún en forma de mosaicos.⁽⁵¹⁾

Hsu y colaboradores reportan una incidencia del 3,9% (11/277) en una gran serie de mosaicos de aneuploidías autosómicas.⁽²⁹⁾ Hsu en los estudios de los laboratorios de New York de 1992 solo encuentra un mosaico de trisomía 22, en 18 casos de aneuploidías autosómicas para un 5,5% de incidencia.⁽⁶⁾

Los dos casos del mosaico de trisomía libre del 22 en nuestro trabajo presentaron baja proporción de aparición de la línea trisómica. El caso I-13 mostró un 6,6 % (2/30) y el I-15

presentó un 4,6% (3/65). El primer caso presentó anomalías fetales y se corroboró el DPC en estudios de piel del material abortivo (único tejido disponible). El segundo caso se interrumpió era un varón aparentemente normal, no se le realizaron estudios de corroboración citogenética. Existe una aparente paradoja en hallar casos con tan baja proporción en la línea afectada y con resultados fenotípicos fetales tan diferentes. En el trabajo de Hsu acerca de los llamados mosaicos de trisomías raras se plantea: “en nuestro estudio el porcentaje de células con la trisomía 22 varió desde 3.6% a un 28 % para los siete casos de resultado anormal y desde un 5 -20% para los cuatro casos con un resultado normal; no existiendo diferencias significativas entre el rango de aparición de la línea con trisomía 22 y el resultado fenotípico en el feto”.⁽²⁹⁾ Por otra parte, diferentes autores en trabajos que incluyen el seguimiento postnatal a largo plazo de 13 casos de mosaicos de trisomía 22, encontraron diferentes grados de retraso mental en todos, excepto en uno; no pudiendo ser establecida una correlación entre el porcentaje de células trisómicas y el grado de retraso mental (siete casos con RM medio, dos casos con RM moderado, tres casos con RM severo y un caso con desarrollo normal).⁽⁶⁷⁻⁷⁰⁾

En nuestro trabajo fue hallado un tercer mosaico de trisomía 22 (I-14) por translocación Robertsoniana 13-22. La paciente es remitida por detectarse por ultrasonido malformaciones fetales que hacían sospechar un desbalance cromosómico. El caso fue abortado y el feto era anormal. La línea trisómica apareció en 17 células de 30 que fueron analizadas para una frecuencia del 56,6%. En estos casos de fetos portadores de translocaciones Robertsonianas es más frecuente el fenómeno del mosaicismo de trisomías cromosómicas, lo cual justifica el conteo y análisis adicional de células para el DPC de los

mismos. El riesgo de disomía uniparental es mayor en los fetos portadores de translocaciones Robertsonianas entre cromosomas acrocéntricos no homólogos. ⁽⁷¹⁻⁷²⁾

Las principales características asociadas con la trisomía 22 son el retardo del crecimiento intrauterino, microcefalia, orejas anormales, piel redundante en el cuello, malformaciones cardíacas y dedos largos. En nuestra serie reportamos dos fetos malformados que tenían en común la microcefalia y las malformaciones cardiovasculares, que están asociadas con el síndrome de mosaico de trisomía 22. ^(65,67,69,70)

El hecho de encontrar tan elevada frecuencia del mosaicismo de trisomía 22 en este estudio, aunque no es usual no resulta del todo inexplicable. A pesar de que la trisomía 22 no es observada con frecuencia en nacidos vivos, se estima que ocurre en cerca de 1/200 embarazos clínicamente diagnosticados y es responsable de aproximadamente el 2,7% de los abortos espontáneos y el 0,2% de las muertes fetales, siendo una de las aberraciones cromosómicas más frecuentemente reportada en abortos del primer trimestre. ^(73,74) El hecho de que esta trisomía apareciera acompañada de la línea normal puede explicar la sobre vivencia fetal hasta el segundo trimestre del embarazo y su hallazgo durante el DPC por amniocentesis.

El mosaicismo del cromosoma 9 clasifica entre los mosaicos raros. Hsu, 1997 reporta 25 casos en 277 mosaicos de aneuploidías autosómicas para una frecuencia del 9%. ⁽²⁹⁾ En el estudio del mosaicismo de los laboratorios de los EEUU ⁽⁵⁾ se colectaron seis casos de un total de 87 con aberraciones numéricas autosómicas (6,8%). La frecuencia con que se comporta el mosaico de trisomía 9 en nuestra serie (6,2%) concuerda con los reportes de la literatura.

Los datos de los estudios citogenéticos prenatales, de la literatura, sugieren que aquellos fetos que por ultrasonido se le detectan malformaciones, tienen un alto riesgo (del 56%) de tener en su constitución genética la línea con la trisomía 9 detectada en el DPC. ⁽²⁹⁾

Para el mosaico de la trisomía 9 existe un amplio rango en la expresión fenotípica, generalmente cuando logran llegar a término, los recién nacidos no sobreviven durante mucho tiempo. ⁽⁷⁵⁻⁷⁹⁾ Los pocos casos estudiados que han logrado una cierta sobre vivencia presentan unas severas discapacidades cognoscitivas, aunque Saneto y colaboradores y Sánchez y colaboradores han descrito casos con un retardo mental medio a ligero y mayor tiempo de vida, siendo casos excepcionales. ^(78,79)

Las anomalías físicas más comúnmente reportadas incluyen: malformaciones faciales, anomalías esqueléticas, defectos congénitos cardiacos y malformaciones genito-urinarias.

El caso observado en esta serie reúne varias de estas malformaciones reportadas.

3.3.2- Mosaicismo de aneuploidías de los cromosomas sexuales:

En el trabajo de 16 950 casos de DPC, fueron hallados 48 casos de mosaicos cromosómicos, correspondiendo 18 (37,5%) de los mismos a mosaicos de aneuploidías sexuales. (Anexo 12)

3.3.2.1- 45,X/ 46,XX

El mosaicismo de Síndrome Turner constituyó el 50% de los mosaicos sexuales (9/18), y el 18.7 % (9/48) de todos los mosaicos hallados en nuestro trabajo. De los nueve casos, siete embarazos fueron interrumpidos por decisión de los padres posterior al asesoramiento genético, un embarazo llegó a término y del otro no se tuvo información.

En tres casos no se corroboró el resultado del diagnóstico prenatal. En el caso II-1, que el resultado del DPC fue 45,X[20]/46,XX[10], en el estudio de corroboración citogenética en material abortivo se detecta la línea monosómica en la sangre fetal, único tejido disponible. En el caso II-2 en el DPC se observaron cinco células con la línea monosómica, de 33 que se analizaron, y en los estudios de corroboración citogenética en material abortivo, solo aparecieron células 46,XX en la sangre fetal (el cultivo de piel fue fallido) . En el caso II-3 se hallaron dos células con la monosomía del X, de 14 analizadas en el DPC, y la línea 45,X no fue hallada en los estudios de corroboración, a pesar de analizar la piel y la sangre fetales.

En el caso II-4, el mosaicismo 45,X/46,XX tuvo confirmación de los resultados hallados en el DPC, en sangre periférica (no hubo otro tejido disponible).

No fueron estudiados cuatro casos; de ellos en el caso II-7, en que los padres deciden continuar el embarazo, nació una niña aparentemente normal y no se realizaron estudios de confirmación por decisión de los padres. Otro caso, el II-8 fue un óbito fetal detectado después de las 23 semanas de gestación que no fue posible estudiar. Los casos II-5 y II-6 no se estudiaron en el laboratorio. Del caso II-9 no se pudo colectar información.

En esta serie de mosaicos de Síndrome de Turner sólo hubo dos casos que presentaron afecciones fenotípicas. En el caso II-1 se detectó retardo del crecimiento intrauterino, y en el estudio de confirmación solo se halló la línea 45,X. El caso II-2 presentó paladar hendido, malformación que no se ha reportado relacionada a este síndrome.

3.3.2.2- 47,XXX/46,XX

De los mosaicos cromosómicos sexuales que reportamos con más frecuencia en nuestra serie está el 47,XXX/46,XX que apareció en cuatro ocasiones, lo que representa una frecuencia del 8.3% (4/48) en el total de mosaicos reportados.

En estos casos se interrumpieron tres embarazos y el material abortivo fue normal. En ninguno de ellos se realizaron estudios de confirmación citogenética. Estos casos presentaron bajos porcentajes de aparición de la línea aberrada en el DPC: caso II-10, 17,6% (3/17); caso II-11, 10,5% (4/38) y caso II-12, (Anexo 13) 14,2% (3/21).

El cuarto caso llegó a término (II-13), del que nació una niña de fenotipo normal, y donde se realizó el estudio de confirmación; la línea con trisomía X fue hallada en sangre periférica. Este caso presentó siete células con 47,XXX de las 23 analizadas prenatalmente (30.4% de la línea aberrada).

3.2.2.3- 47,XXY/46, XY

El 47,XXY/46,XY en nuestro trabajo aparece con una frecuencia del 11,1% (2/18) en los casos de mosaicismo de los cromosomas sexuales. Los dos casos con mosaicos de Síndrome de Klinefelter son interrumpidos, no se hallaron malformaciones en el análisis del material abortivo. En el DPC se hallaron tres células trisómicas de 10 analizadas en el caso II-14 (30% de la línea aberrada). En el caso II-15 aparecieron 4 células 47,XXY de 15 analizadas (26.6% de la línea aberrada). El primero de los casos fue confirmado en estudio de piel fetal, el segundo no fue estudiado.

3.3.2.4- 45,X/ 46,XY

Dentro de los mosaicos sexuales que tienen una menor frecuencia en nuestra serie encontramos el 45,X/46,XY en un caso (II-16). Se hallaron seis células monosómicas para

el cromosoma X de 25 que fueron analizadas. El embarazo se interrumpió, el feto fue normal en el análisis físico. En los estudios de corroboración del DPC la línea 45,X no se observó en el análisis cromosómico de la sangre y piel fetal.

3.3.2.5- 47,XYY/46,XY

Un caso (II-17) con este tipo de mosaicismo es hallado en nuestro trabajo. Nació un niño fenotípicamente normal, no se realizaron estudios de confirmación citogenética.

La incidencia de esta aneuploidía sexual es de 1 en 1000 varones nacidos.

El caso **46,X,i(X)(q10)[8]/45, X[2]/ 46,XX[4]** será analizado en el capítulo de mosaicos de aberraciones estructurales debido a que la línea con el isocromosoma del X es más frecuente en este mosaico. (Ver Caso III-6)

Discusión

El mosaicismo de las aneuploidías sexuales es considerado el más frecuente en grandes investigaciones de mosaicismo cromosómico en el DPC, en nuestro trabajo aparece con una frecuencia del 37,5% (18/48), superior al 33,3 % (16/48) en que se vieron implicadas las aneuploidías autosómicas. Resultados similares son reportados por Hsu y colaboradores donde el porcentaje de mosaico de aneuploidías sexuales es del 47,7% versus 36,8% de mosaicos de aneuploidías autosómicas. ⁽¹⁾

El mosaicismo 45,X/46,XX es el mosaico sexual más comúnmente hallado en el DPC por cultivo de amniocitos, constituyendo alrededor del 40% de todos los casos de mosaicos cromosómicos sexuales y aproximadamente el 20% de todos los casos de mosaicos cromosómicos. En nuestra serie existe una coincidencia con los reportes internacionales, el mosaico de Turner constituyó el 50% de los mosaicos sexuales (9/18), y el 18,7 % (9/48) de todos los mosaicos hallados. ^(4, 80, 81)

En los casos II-1 y II-2 en los que el resultado del DPC no fue corroborado (solo se realizaron estudios de sangre), queda la duda con respecto a la posibilidad de haber encontrado la otra línea celular en tejidos de piel fetal, hecho que no es inusual en los mosaicos cromosómicos. En ambos casos la posibilidad de un mosaicismo confinado a la placenta no se puede descartar, aunque en uno de ellos (II-1), donde solo se halló la línea 45,X, existe la probabilidad de una contaminación con células maternas durante el estudio prenatal, debido a que en dicho análisis fue hallado un 67% de células 45,X y un 33% de células normales (45,X[20]/46,XX[10]). El caso II-3, en el que no se corroboró el resultado del DPC, ni en piel, ni en sangre fetal, pudiese constituir un pseudomosaico a pesar de haber hallado la línea monosómica del X en diferentes frascos de cultivo. El hecho de que la línea 45,X solo se hallase en dos ocasiones; pudiera sugerir el origen del pseudomosaicismo debido a un error técnico (hipotonía o fijación incorrectas), unido a un conteo insuficiente de metafases (14 células), según la guía de Hsu y Benn. ⁽⁶⁾

En este estudio solo un caso presentó alguna característica fenotípica que pudiese estar asociada al Síndrome de Turner, lo que representa un 11.1% (1/9) de incidencia de malformaciones. Esta baja incidencia de malformados es frecuentemente observada, aún cuando en un paciente solo existiese la línea 45,X, las principales características del Síndrome de Turner como la baja estatura y la disgenesia gonadal solo son evidentes en las edades pre-adolescentes o adolescentes. ^(81, 82) Hsu y colaboradores en 189 casos de 45,X/46,XX diagnosticados prenatalmente, encontraron que de 114 casos con información acerca del fenotipo del producto, solo en 12 (10.5%) se reportaron algunas características que pudiesen estar asociadas al Síndrome de Turner. ⁽⁶⁾

El 20 % de todos los abortos espontáneos de causas cromosómicas se deben al Síndrome de Turner (45,X), pero en los casos de mosaicos cromosómicos, y más aún cuando la línea

afectada está presente con un bajo por ciento, la probabilidad de la culminación del embarazo es alta y el riesgo de presentar afecciones en la descendencia es bajo. ⁽⁸¹⁾ Las características fenotípicas de estas mujeres en la edad adulta son muy cercanas a la normalidad y las principales afecciones están restringidas al plano reproductivo ⁽⁸³⁾

Robinson y colaboradores en un trabajo que reúne el DPC de 30 casos con 45,X/46,XX, reporta que el 93% de los padres optó por la continuación del embarazo. ⁽⁸⁰⁾ Esto contrasta con nuestros resultados en los cuales de 10 casos de mosaicos de Síndrome Turner solo una pareja decidió continuar la gestación.

En una serie de 520 casos de aneuploidías sexuales diagnosticadas prenatalmente fueron hallados 26 con 47,XXX/46,XX para un 5% de aparición de este mosaicismo. ⁽⁸⁰⁾ En nuestra muestra de 18 mosaicos sexuales es hallada en 4 ocasiones, para una ocurrencia del 22.2%. Hsu lo reporta con un 8,2% de incidencia (6/73). ⁽⁵⁾ Este tipo de mosaicismo en nuestra serie supera la frecuencia de aparición reportada por otros autores.

Como en el caso del mosaicismo 45,X/46,XX tampoco en este existe una significativa afección del fenotipo, lo más frecuentemente reportado para el 47,XXX/46,XX son algunos problemas con el lenguaje, las habilidades motoras y las habilidades en el aprendizaje, ⁽⁸⁰⁾ sin embargo de los 4 casos hallados 3 son abortados. Sería conveniente investigar el por qué de este alto índice de interrupciones en embarazos con tan bajo riesgo para el fenotipo del individuo afectado. Los resultados obtenidos sugieren la posibilidad de causas atípicas en nuestro medio que traen como consecuencia este alto porcentaje de decisiones adversas para dichos embarazos.

El hallazgo del 47,XXY/46,XY en nuestra investigación aparece con una frecuencia ligeramente menor que lo reportado en la literatura en los casos de mosaicismo de los cromosomas sexuales. Este mosaico es frecuentemente hallado en series de mosaicos

sexuales y como es de esperar los riesgos para el desarrollo del futuro individuo son menores con respecto a la línea pura. Hsu en 73 mosaicos de los cromosomas sexuales lo halla en 13 casos para una frecuencia del 17,8%.⁽⁵⁾ Worton lo reporta en cinco casos de 19 mosaicos sexuales para un 26,3% de incidencia.⁽³⁾

En estos casos el grado de mosaicismo presente en los estudios de vellosidades coriónicas y de células del líquido amniótico no refleja necesariamente el grado de afección fenotípica del individuo. El fenotipo probablemente será normal, siendo posible la fertilidad y los riesgos para el desarrollo son menores comparados con los individuos que solo presentan la línea pura, sin embargo predicciones precisas no pueden ser realizadas y una intervención temprana con suplementación de testosterona podría ser necesaria.⁽⁸⁰⁾

Respecto al caso 45,X/46,XY, en que fueron halladas seis células con la línea 45,X en diferentes frascos de cultivo, el hecho de no corroborar los resultados del DPC en los estudios del material abortivo puede tener diversas explicaciones:

- se trata de un mosaicismo confinado a la placenta^(10,11)
- se trata de un caso de gemelo evanescente en el cual el que tenía el cariotipo 45,X falleció en estadios tempranos del embarazo, aunque sus células quedaron dentro del saco amniótico.^(22,23)
- Puede ser un mosaicismo críptico que aparece en muy baja proporción en el individuo, afectando solamente a un limitado número de tejidos.⁽⁸⁴⁾

El mosaicismo 45,X/46,XY fue hallado en 17 ocasiones por Hsu , realizándose 13 estudios de confirmación citogenética en tejidos del material abortivo (12 casos) o el recién nacido (un caso). La confirmación del DPC se obtuvo en ocho casos, en cinco no se halló la línea monosómica.⁽⁵⁾

Según plantea Robinson no existe una correlación directa entre la proporción de células 45,X y el fenotipo en estos casos. ⁽⁸⁰⁾ Es aconsejable la realización de un ultrasonido prenatal detallado de los genitales, de no encontrarse alteraciones, la probabilidad de un fenotipo de varón normal es alta.

Respecto al mosaicismo cromosómico 47,XYY/46,XY, Worton lo reporta en cinco casos de 19 mosaicos de aberraciones sexuales para una frecuencia del 26,3%. ⁽³⁾ Sin embargo, Hsu lo reporta en dos casos de 73 de mosaicos de los cromosomas sexuales para una frecuencia en mosaicismo del 2,7%. ⁽⁵⁾ En nuestra muestra tiene una ocurrencia del 5,5% (1/18).

Los varones con este mosaicismo no se caracterizan por tener características fenotípicas anómalas, que justifiquen una interrupción del embarazo.

3.3.3- Mosaicismo de aberraciones estructurales

De los 48 mosaicos cromosómicos detectados en nuestra investigación, siete correspondieron a mosaicos de aberraciones estructurales. Uno de ellos involucra a los cromosomas sexuales y el resto a autosomas, para una frecuencia del 14,5 %. (Anexo 14)

Se detectaron dos casos de reordenamiento estructural balanceado: dos translocaciones, una recíproca y la otra Robertsoniana. Se hallaron cinco casos de reordenamientos estructurales desbalanceados, que correspondieron a tres deleciones terminales, un isocromosoma del X y una trisomía 22 por translocación Robertsoniana. Cuatro de los cinco casos fueron abortados.

En dos de los casos de las deleciones terminales no se corroboró el resultado del DPC y en uno no se realizaron estudios de corroboración.

3.3.3.1- Mosaico de aberración estructural balanceada

Caso III-1: 46, XX, t(13;18)(q21.2;q12.1)/46XX (Anexo 15)

Caso hallado de manera fortuita en una mujer con AEM. En el diagnóstico prenatal la translocación recíproca es detectada entre los brazos largos de los cromosomas 13 y 18, aparentemente balanceada. Fueron analizadas 20 células de dos frascos de cultivo independientes y en todas aparece este hallazgo. El análisis de los cariotipos de ambos padres fue normal. Debido a ser un evento de novo, que aportaba cierto riesgo a la descendencia, los padres deciden la interrupción del embarazo. ⁽⁸⁵⁾

En los estudios de corroboración citogenética del resultado prenatal se observó que la sangre fetal era completamente normal en 30 células analizadas. En el cultivo de piel fetal es hallada idéntica aberración a la reportada en el DPC, en 20 células analizadas. El examen físico fetal fue normal.

Caso III-2: 45, XY, der (13; 22) (q10; q10) [5]/ 46, XY [10]

Caso que es remitido por AEM. En cinco células de frascos diferentes se detecta la translocación robertsoniana 13-22, en 10 células se detecta un cariotipo 46, XY. Los padres deciden continuar el embarazo posterior al asesoramiento genético. Nace un varón que es normal al examen físico. En estudios de sangre del recién nacido es confirmado el resultado del DPC. El niño actualmente tiene cinco años de edad y es normal.

3.3.3.2-Mosaico de aberración estructural desbalanceada

Caso III-3: 46, XY, del (7) (q31.1) [3]/46, XY [17]

Paciente que se realiza el DPC por AEM. Es hallada una deleción terminal del brazo largo del cromosoma 7 a partir de la banda q31 (Anexo 16), en tres metafases de diferentes frascos de cultivo. No se observaron malformaciones fetales por ultrasonido. La pareja

decide la interrupción del embarazo. En los estudios de confirmación del resultado del DPC realizados en sangre y piel fetal no aparece la deleción del cromosoma 7. El análisis físico del feto fue normal.

Caso III-4: 46, XY, del (21) (q22) [4]/46, XY [17]

Paciente remitida por AEM. De 21 metafases analizadas en cuatro se detecta una deleción del cromosoma 21 a nivel de la banda q22. Se realiza una cordocentesis y se analizaron 100 células todas normales. Los padres deciden la continuación del embarazo. El análisis físico del recién nacido no muestra alteraciones físicas.

Caso III-5: 46, XY, del (18) (p11, 3) [5]/46, XY [15]

Paciente remitida desde otra provincia a nuestro laboratorio por AEM. En 5 metafases de diferentes frascos de cultivo, aparece una deleción del brazo corto del cromosoma 18 a nivel de la banda p11.3. El embarazo es interrumpido. En el examen físico del feto no se hallaron anomalías. No se realizaron estudios de corroboración del DPC.

Caso III-6: 46, X, i(X) (q10) [8]/45, X [2]/ 46, XX [4]

Un feto, con higroma quístico del cuello, presentó en el estudio prenatal estas tres líneas celulares. En el estudio de corroboración que se realizó en el material abortivo, el resultado de la piel mostró las tres líneas celulares presentes en el DPC, en sangre solo son halladas las líneas 45,X y 46,XX. En este caso se muestra la combinación de una aberración numérica y una estructural, la monosomía del X y el isocromosoma de brazo largo de la X; la combinación de ambas produce Síndrome de Turner. El isocromosoma de brazo largo de la X es el más común de los reordenamientos estructurales y esta presente en el 10-15 % de los individuos con Síndrome de Turner.

El higroma quístico es una malformación que frecuentemente aparece asociada al Síndrome de Turner.

El caso **46,XY,der(13;22)(q10;q10)+22/46,XY** a pesar de tener una translocación Robertsoniana, fue tratado en el capítulo de los mosaicos de aneuploidías autosómicas para agruparlo con los casos de trisomías del cromosoma 22.

Discusión

El hecho de que en 16 950 amniocentesis sean reportados solo siete casos de mosaicos de aberraciones estructurales nos demuestra que es un evento muy infrecuente en el DPC, para un 0,04%. Hsu y colaboradores describieron en 179 663 amniocentesis un total de 85 aberraciones estructurales en mosaicos (28 que involucraban a los cromosomas sexuales y 57 a los autosomas) para un 0,04%.⁽⁵³⁾ A su vez, Kleczkowska y colaboradores en 1990 en una serie de 74 306 diagnósticos prenatales encontraron seis casos de mosaicos de aberraciones estructurales balanceadas,⁽⁵⁴⁾ y Bui y colaboradores en 44 170 casos hallaron siete pertenecientes a mosaicos de aberraciones estructurales lo que corresponde a un 0,01%.⁽⁴⁾

El mosaicismo de aberraciones estructurales al constituir un evento raro en el DPC debe ser manejado con extremo cuidado, debido a que es una fuente de falsos positivos para este diagnóstico. Un gran número de estas aberraciones son reportadas para los casos de pseudomosaicos.⁽³⁻⁶⁾

Los casos, que en nuestro trabajo, presentaron malformaciones fetales fueron desbalances cromosómicos en los cuales la línea aberrada superaba el 50% de las células analizadas:

- 46, XY,der (13; 22)(q10;q10)+22 (56.6%) vs 46,XY (43.3%)
- 45, X/46,X,i(X)(q10) (71,4%) vs 46,XX (28,5%). En este caso indudablemente

la línea con monosomía del X contribuyó al efecto fenotípico (higroma quístico) presente en el feto.

Hsu y colaboradores plantean que de 85 casos con mosaicos de aberraciones estructurales, hallados en su estudio, descartando aquellos mosaicos 46, i (20q)/46 que siempre dan resultados fenotípicos normales y aquellos 47,+i(12p)/46 que siempre dan resultados fenotípicos anormales, se observa que existe una sugerente correlación entre el mayor porcentaje de aparición de la línea anormal y el fenotipo alterado. Los resultados del trabajo de esta autora plantean una media del 60,5% de embarazos con fenotipo alterado cuando la línea aberrada estaba presente en un 51% o más con respecto a la línea normal. ⁽⁵³⁾

De los siete casos de mosaicos de aberraciones estructurales que reportamos solo en dos se reportan malformaciones fetales para una frecuencia de las mismas del 28,5 %. Hsu y colaboradores detectan una frecuencia de malformaciones del 40,4% (19/47) en los casos de aberraciones estructurales presentes en su trabajo. Esta frecuencia relativamente baja de malformaciones detectadas en casos en que la línea aberrada presenta un desbalance (ejemplo: deleciones) no descarta la posibilidad de que características como el retraso mental u otras anomalías neurológicas se hagan evidentes en periodos más tardíos de la vida. También se debe tener en cuenta que muchas de las dismorfias e incluso malformaciones presentes en estos fetos no son detectables en periodos del desarrollo fetal en que son interrumpidos estos embarazos o en neonatos. ⁽⁵³⁾

Los estudios de corroboración del DPC nos muestran que el cultivo de fibroblastos es una mejor elección para descartar el mosaicismo cromosómico de aberraciones estructurales con respecto al cultivo de la sangre. De los tres casos en que fueron corroborados los hallazgos del DPC, en dos (Caso III-1 y Caso III-6) hallamos la línea con la aberración

estructural solo en el cultivo de piel, estando ausente en el cultivo de la sangre. Semejantes resultados fueron hallados por Hsu y colaboradores en su trabajo del 1996. ⁽⁵³⁾

El hallazgo de las 3 líneas celulares, 46,X,i(X)(q10)/45,X/46,XX, se reporta como uno de los cariotipos menos probables que conducen al fenotipo del Síndrome de Turner. El isocromosoma de brazo largo de la X es el más común de los reordenamientos estructurales y esta presente en el 10-15 % de los individuos con Síndrome de Turner. El mosaico 45,X/46,XX se reporta en el 20 % de estos individuos afectados de este síndrome. En cambio la combinación de estas tres líneas celulares es infrecuente. En este caso la pérdida del brazo corto de la X en dos de las líneas celulares acentúa el desbalance cromosómico que conduce a un fenotipo alterado a pesar de estar presente la línea normal. ⁽⁸⁶⁾

Hubo dos casos que no fueron confirmados los resultados del DPC en los estudios realizados en la sangre y/o piel fetal, ambos fueron deleciones terminales de brazos largos de los cromosomas 7 y 21. Ambos tuvieron la característica que la línea aberrada aparecía en baja proporción, 15% para deleción del 7 y 19% para deleción del 21. En esta situación un mosaicismo confinado a tejido extraembrionario o un mosaicismo fetal en baja proporción serían las posibilidades más comunes, lo cual hace imposible o difícil su hallazgo en el tejido abortivo o del recién nacido. Una similitud se puede establecer con los hallazgos de Hsu en una serie de mosaicos de aberraciones estructurales donde encuentra 10 deleciones terminales de las cuales puede confirmar en tejido fetal cinco de las ocho que fueron estudiadas. ⁽⁵³⁾

Debemos tener en cuenta que en el caso con la deleción del 21q solo se utilizó la sangre fetal para el estudio de corroboración (mediante la cordocentesis) y que con frecuencia es reportada la no aparición de la línea con la aberración estructural en dicho tejido.

Actualmente a nivel mundial con estudios de citogenética molecular son detectados muchos de estos mosaicos en baja proporción en individuos que se sospecha una anomalía cromosómica y su cariotipo es normal. ⁽⁸⁶⁻⁸⁸⁾

3.3.4- Mosaicismo de marcador cromosómico supernumerario

El término marcador cromosómico supernumerario (MCS) ha sido definido para identificar a cualquier cromosoma pequeño con un rearrreglo estructural, que aparece extra a la línea celular diploide normal, y en el cual su origen y composición no puede ser definido por la citogenética convencional. ⁽⁸⁹⁾

De los 48 casos de mosaicismo cromosómico detectados, nueve implicaron a un MCS, lo que representa una frecuencia del 18,7%. (Anexo 17)

A continuación se describen los casos de MCS, clasificados de acuerdo a si fueron eventos heredados o de novo

3.3.4.1- MCS que representan eventos de novo

De todos los casos donde se detectó MCS, se obtuvo información en siete de ellos. De estos, el 71,4% constituyeron eventos de novo (5/7).

Caso IV-1: En este caso el MCS fue metacéntrico pequeño. Los estudios cromosómicos en sangre de ambos padres fueron normales, por lo que constituyó un MCS de novo. El embarazo no continuó como consecuencia de un aborto espontáneo a los cinco días de realizada la amniocentesis, siendo imposible el estudio del material abortivo.

Caso IV-2: A este caso le fue diagnosticado un MCS metacéntrico. Al realizarle bandas C, la zona centromérica mostró una gran porción de heterocromatina. No fue hallado en el análisis cromosómico de ambos padres. En consecuencia, les fue dado asesoramiento genético y decidieron la interrupción del embarazo ante el riesgo de constituir un evento de

novo. El examen físico del feto fue normal. (Anexo 18)

Caso IV-3: Presentó un MCS metacéntrico de mayor tamaño que el anterior. Las bandas C solo mostraron una zona heterocromática centromérica. Al no detectarse en los padres se concluyó que es un evento de novo. Los padres decidieron no continuar el embarazo. El reporte de anatomía no describió malformaciones fetales. (Anexo 19)

Caso IV-4: En este caso fue hallado un MCS con estructuras parecidas a satélites. No está presente en los estudios cromosómicos de ambos padres. Al ser de novo, la pareja decide la interrupción del embarazo. No se hallaron malformaciones en el examen físico del material abortivo. (Anexo 20)

Caso IV-5: En este caso la paciente fue remitida por AEM y por presentar retardo del crecimiento intrauterino asimétrico, detectado en la ecografía. En el DPC se diagnosticó un MCS con centrómero de apariencia acrocéntrica. Según el patrón de bandas GTG y el tamaño de este segmento, el marcador semeja un brazo corto del cromosoma 9 que ha perdido todo el brazo largo a partir de la banda q11.1. La identificación fue concluida con los elementos que aporta la citogenética clásica, sin embargo la certeza en el diagnóstico solo es posible con las técnicas de citogenética molecular. (Anexo 21)

Este fragmento apareció en seis células de diferentes frascos de cultivo de las 20 que fueron analizadas.

El embarazo fue interrumpido por decisión de los padres, una vez que recibieron asesoramiento genético. El análisis anátomo-patológico del feto presentó: orejas asimétricas, base ancha de la nariz, clinodactilia del 5^{to} dedo, tórax asimétrico, bajo peso. Algunas de estas características han sido descritas en el síndrome de trisomía 9p^(94, 95) aunque un diagnóstico de certeza solo hubiese sido posible utilizando M-FISH, técnica no

disponible en nuestro laboratorio. No se realizaron estudios de confirmación del diagnóstico prenatal.

3.3.4.2- MCS heredados

Solo dos casos constituyeron MCS que provenían de uno de los padres.

Caso IV-6: Este caso fue remitido por ansiedad materna. En el DPC se detectó un fragmento acéntrico, corroborado por bandas CBG, que estuvo presente en el 80% de las metafases analizadas, y fue hallado en el estudio cromosómico de sangre periférica de la madre. Debido a la estabilidad de este marcador en las sucesivas divisiones celulares de la madre y el feto y la aparente ausencia de heterocromatina pericentromérica, este hallazgo nos sugiere la formación de un neocentrómero en este caso. ⁽⁹⁰⁻⁹³⁾ Los padres decidieron continuar el embarazo. Al término, nació un niño sin anomalías, que actualmente tiene nueve años y es normal. El DPC se corroboró en la sangre del niño.

Caso IV-7: La paciente fue estudiada por avanzada edad materna. En el DPC se diagnosticó un MCS de forma metacéntrica que fue idéntico al que presentó el padre. La pareja decidió continuar el embarazo. El DPC se corroboró en la sangre del niño. El desarrollo psico-motor fue normal y el seguimiento se hizo hasta los tres años de edad.

3.3.4.3- Minuta de MCS

La minuta constituye el más pequeño de los cromosomas marcadores y tiene forma puntual o de fragmentos céntricos, siendo muy difícil de identificar aún con métodos de citogenética molecular. ⁽⁹⁶⁾

Caso IV-9: Este caso presentó cuatro líneas celulares en las cuales aparecieron marcadores en forma de minutas cromosómicas acéntricas. Los estudios ultrasonográficos que fueron realizados no detectaron malformaciones. En correspondencia con estos resultados, se le

ofreció asesoramiento genético a la pareja, la que decidió continuar el embarazo y no realizarse estudios cromosómicos en sangre periférica. Al finalizar la gestación, nace un niño normal al examen físico; actualmente tiene tres años de edad y su desarrollo psicomotor ha sido normal. (Anexos 22, 23, 24)

Discusión

Worton y colaboradores en un estudio de 12 386 amniocentesis detectaron nueve casos de marcadores cromosómicos supernumerarios en 34 casos de mosaicos en el DPC para una frecuencia del 26,4%.⁽³⁾ Hsu reporta siete casos de mosaicos de cromosomas marcadores en 52 mosaicos cromosómicos detectados en 22 000 amniocentesis para una frecuencia del 13,4%.⁽⁶⁾ La frecuencia del mosaico de MCS fue del 18,7 % (9/48) dentro de nuestros casos de mosaicos cromosómicos, lo que se encuentra en el rango reportado internacionalmente.

Los datos de la literatura indican que los cromosomas marcadores de novo aparecen con mayor frecuencia que aquellos que son heredados, lo que suele aumentar en la medida que se incrementa la edad materna. Crolla y colaboradores reportaron que de 109 casos de MCS, el 70% fue de novo, 19% de origen materno y un 11% de origen paterno. Huang en 110 casos de MCS tuvo que 79 (71,8%) fueron eventos de novo, 24 fueron heredados (21,8%) y siete casos de origen indeterminado.^(89, 96, 97) En nuestro muestreo el 71,4 % (5/7) de los casos constituyó eventos de novo, el 14,2% de los casos fue de origen materno (1/7) e igual cifra de origen paterno.

Se debe tener en cuenta que el 35% de los MCS en el DPC provienen del cromosoma 15. Además el 68% de los MCS provienen de cromosomas acrocéntricos (13, 21, 14, 15 y 22), no presentándose trastornos fenotípicos en la mayoría de estos casos, según Huang y colaboradores.⁽⁹⁷⁾

Cuando un cromosoma marcador de forma metacéntrica es identificado, existen grandes posibilidades de que sea una duplicación invertida de un segmento del cromosoma 15. En el caso que el segmento incluya desde el centrómero hasta q11 existe bajo riesgo de alteraciones fenotípicas en el portador del cromosoma supernumerario. No sucede así cuando este segmento duplicado e invertido incluye de la banda q12 en adelante. ^(97, 98)

De los casos de mosaicismo de MCS de novo en nuestro muestreo existe una alta probabilidad que tuvieran su origen en cromosomas acrocéntricos, solo en uno se detectó malformaciones fetales. Los cromosomas metacéntricos de novo, en los cuales no fueron halladas anomalías fetales probablemente tengan su origen en una duplicación e inversión del cromosoma 15. Es imposible ofertar un correcto diagnóstico prenatal en los casos de mosaicos de MCS sin las técnicas de citogenética molecular. Cuando en el DPC aparece un MCS resulta de mucha utilidad un seguimiento por ecografía de alta resolución y comprobar el origen de este marcador por FISH para poder brindar un asesoramiento genético certero. ⁽⁹⁹⁾

No obstante no se puede desechar la posibilidad en el caso de un supernumerario metacéntrico de que podría tratarse de un isocromosoma 18p. Brondum-Nielsen reportaron 10 casos de diagnóstico prenatal en los que apareció un 47, i(18p) de novo, seis de ellos fueron sin mosaicismo y cuatro fueron mosaico. ⁽⁹⁶⁾ De estos, ocho fueron fenotípicamente normales al interrumpirse el embarazo o nacer los niños, lo cual no excluye la posibilidad de un Síndrome 47,i (18p), ya que sus principales características son el retardo mental y otras anomalías neurológicas que solo se hacen evidentes en un período más tardío de la vida del niño. ⁽¹⁰⁰⁾

También en estos casos de cromosomas supernumerarios metacéntricos han sido reportados 47, i (12p) asociado al síndrome Pallister-Killian, en forma de mosaico. ⁽¹⁰¹⁾

En el trabajo de nuestro laboratorio el criterio predominante ante la presencia de un mosaico de MCS fue si este constituía un evento de novo o heredado, considerando que el riesgo de una descendencia alterada cuando el marcador supernumerario es familiar es mínimo. Los datos disponibles en la literatura revisada así lo confirman. Los casos con marcador supernumerario de novo tienen un riesgo incrementado de descendencia con anomalías congénitas. ^(89, 96,97)

Otros criterios que se tuvieron en cuenta fueron tamaño, presencia o no de heterocromatina, satélites y determinación del posible origen. El riesgo de afecciones fenotípicas en el feto disminuye cuando tenemos un MCS con gran contenido de heterocromatina (ADN no codificante). En ocasiones cuando el MCS esta bandedo se puede sospechar su origen por el patrón de bandas GTG de la citogenética convencional, pero esto es inusual. ⁽¹⁰²⁾

En un caso de cromosoma marcador metacéntrico (Caso IV-2) hallado en nuestra muestra con un fuerte componente heterocromático (determinado por bandas CBG) que constituyó un hallazgo de novo, no se pudo descartar la ausencia total de ADN eucromático. Este hecho se convirtió en el factor determinante para inferir el riesgo de un fenotipo alterado en dicho embarazo. Es un ejemplo de las limitaciones de la citogenética clásica para determinar el origen de un cromosoma marcador que en apariencia contenía ADN heterocromático.

En el caso que se presentaron varias líneas celulares con minutas de MCS y que la ecografía fue normal, está descrito en la literatura que existe un riesgo empírico menor o igual al 5%. ⁽¹⁰³⁾

3.4- Conclusiones del capítulo Mosaicismo Cromosómico.

- 1- La frecuencia del mosaicismo cromosómico, en el DPC por cultivo de amniocitos, esta dentro de los rangos reportados internacionalmente.
- 2- La frecuencia de los cromosomas más involucrados en mosaicos en nuestro estudio coincide con los reportes internacionales exceptuando el mosaicismo de trisomía 22 que presentó una frecuencia elevada con respecto a otras series.
- 3- La expresión fenotípica depende en gran medida del cromosoma y tipo de aberración involucrado en la línea anómala del mosaico y de eventos que pueden entorpecer el diagnóstico de un mosaicismo real como el MCP.
- 4- El riesgo de encontrar malformaciones fetales generalmente es elevado cuanto mayor sea el porcentaje de la línea aberrada, en los casos de aneuploidías autosómicas y aberraciones estructurales desbalanceadas. Esto no es válido para los casos de aneuploidías de los cromosomas sexuales, y se cumple en menor medida para los marcadores cromosómicos y aberraciones estructurales balanceadas.

Capítulo 4
PSEUDOMOSAICISMO

4.1- Introducción

Debido a las condiciones artificiales del cultivo donde deben desarrollarse las células del líquido amniótico, en ocasiones se provocan errores en los mecanismos de control de la mitosis, que conllevan a fenómenos de cambios en el complemento cromosómico que pueden manifestarse en forma clonal o no clonal y no reflejan el cariotipo real del feto siendo fuente de casos falso-positivos⁽¹⁾

En el pseudomosaicismo es elevada la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales. Dos tercios de los pseudomosaicos de nivel I y tres quintos de los pseudomosaicos de nivel II están compuestos por dichas aberraciones.⁽⁶⁾

Están establecidos dos niveles de pseudomosaicismos (descritos en la revisión bibliográfica).

4.2- Objetivos

- 1- Determinar la frecuencia del pseudomosaicismo de nivel I y II
- 2- Determinar los cromosomas mas involucrados en pseudomosaicismo en nuestro estudio.

4.3- Pseudomosaicismo

La frecuencia total de pseudomosaicismo fue del 3.63% (616/16950), incluyendo ambos niveles. (Anexos 25-30)

4.3.1- Nivel I

Se detectaron 553 aberraciones cromosómicas involucradas en este nivel de pseudomosaicismo para una frecuencia del 3,26% (553/ 16950). (Anexo 31)

Existió un claro predominio de las aberraciones estructurales (351 células) con respecto a las aberraciones numéricas (202 células).

Dentro de las aberraciones estructurales las más frecuentemente halladas fueron las deleciones, generalmente terminales y en orden decreciente encontramos los marcadores cromosómicos supernumerarios, las translocaciones, material cromosómico adicional, isocromosomas, inversiones y anillos.

4.3.2- Nivel II

Se hallaron 63 casos con este nivel de pseudomosaicismo de los cuales 27 fueron aberraciones estructurales y 31 aberraciones numéricas para una proporción similar en ambos tipos de anomalías y cinco casos con 46,XX/46,XY. (Anexo 32)

La frecuencia del pseudomosaicismo nivel II fue de 0,37% (63/16950).

Las aberraciones estructurales halladas fueron: translocaciones, deleciones, marcador supernumerario, isocromosoma, material cromosómico adicional, inversiones y dicéntrico.

Respecto a las aberraciones numéricas las más frecuentes fueron las trisomías autosómicas (22 casos) y la monosomía del X (siete casos).

Se encontraron cinco casos 46,XX/46,XY de los cuales nacieron tres varones y dos hembras.

4.3.3- Discusión

La literatura internacional tiene establecido un rango para el pseudomosaicismo del nivel I entre 2,47- 7,10%. Los cuatro grandes estudios realizados a nivel mundial ⁽³⁻⁶⁾ también reportan una mayor frecuencia de aberraciones estructurales con respecto a las numéricas llegando en ocasiones a una proporción 3:1. La frecuencia reportada en nuestra serie esta en el rango establecido internacionalmente para el pseudomosaicismo de nivel I. Encontramos

una mayor proporción de aberraciones estructurales con respecto a las numéricas para este nivel I de pseudomosaicismo, aunque las diferencias entre ambas no son tan desproporcionadas como lo citado por otros autores. ⁽³⁻⁶⁾

Respecto al pseudomosaicismo de nivel II la frecuencia citada por otros autores esta en un rango entre el 0.64%-1.1%. ⁽³⁻⁶⁾ En nuestro trabajo está por debajo de este intervalo. Dentro de las posibles causas que pueden provocar este bajo reporte están:

1- Algunos casos de nuestra serie que fueron calificados como mosaicos verdaderos pudieran ser falsos positivos y en realidad constituyan pseudomosaicismos de nivel II o mosaicos confinados a tejido extraembrionario. Aunque esta razón es infrecuente, la posibilidad existe. Roberts y colaboradores reportaron en un caso la presencia de trisomía 2 en todas las células de CVS analizadas, y el análisis de la amniocentesis mostró un mosaico 47,XY,+2[8]/46,XY[8]. Los estudios de disomía uniparental en el líquido amniótico mostraron una herencia biparental normal. El embarazo desarrolló oligohidramnios y retardo del crecimiento intrauterino; como resultado a las 26 semanas nace un niño prematuro que fallece. En todos los tejidos fetales analizados se observó la línea 46,XY, mientras que la línea con trisomía 2 se detectó únicamente en placenta. ⁽¹⁰⁴⁾ Queda demostrado el mosaicismo confinado a la placenta. Por otra parte Hsu ⁽⁵⁾ reporta 20 casos de mosaicos de síndrome Down en el DPC. En los estudios del material abortivo no se logra confirmar la línea con trisomía 21 en dos casos a pesar de estudiar varios tejidos (placenta, sangre y piel), ambos casos eran físicamente normales. Este resultado sugiere que ambos fueron falsos positivos, aún cuando la posibilidad de un mosaico críptico no se puede descartar. ⁽⁸⁴⁾

2- Bajos reportes en las libretas de trabajo de los investigadores de las aberraciones estructurales esporádicas, especialmente en el periodo 2003-2007. Se comprobó que existían unos índices muy bajos de compilación de aberraciones estructurales cuando estas están restringidas a un frasco de cultivo. Estas fueron consideradas por los investigadores como eventos *in vitro* que no requerían ser registrados. No sucede lo mismo en el caso de metafases aneuploides (45, 47 o 48 cromosomas) en que si fue reportado el cromosoma en exceso o defecto. Este evento incidió en que la frecuencia de pseudomosaicismo de nivel II fuera baja; tal es así, que de los años 2003 al 2007 solo fue descrita una translocación en este nivel de pseudomosaicismo.

4.4- Cromosomas más frecuentes en pseudomosaicismo

El cromosoma 2 es el que con más frecuencia está involucrado en el pseudomosaicismo tanto de nivel I como II y en orden decreciente le siguen los cromosomas 20, 17, X, 21, 12, 13, 18 y 22. La trisomía del cromosoma 2 aparece en un 11% de los casos de pseudomosaicos y en orden decreciente encontramos involucrados al cromosoma 20 (9.1%), 17 (8,3%), X (8,1%), 21(8,0%), 12(7,5%), 13(6,9%),18(6,1%) y 22(5,5%).

4.4.1- Discusión

En todos los reportes con grandes volúmenes de casos es el cromosoma 2 el más implicado en pseudomosaicismos de trisomías. ⁽³⁻⁶⁾ Se debe ser muy cuidadoso con este cromosoma aún cuando aparece en un solo frasco de cultivo y por el hecho de ser el más común en los pseudomosaicos, no debe menospreciarse su efecto cuando aparece en uno o varios frascos de cultivo. Hsu y colaboradores en su trabajo de mosaicismos raros en DPC reporta un altísimo riesgo de malformaciones (> 60%) en los casos que la trisomía 2 se descubra en diferentes frascos de cultivo. ⁽²⁸⁾ Ella propone en las modificaciones a su guía para el

trabajo con los casos en que se sospeche mosaico cromosómico, ⁽⁵⁶⁾ el análisis de hasta 50 metafases de diferentes frascos de cultivo cuando es este cromosoma el implicado en trisomías. Aún cuando el mosaico de trisomía 2 sea un MCP se pueden provocar serias afecciones que lleven al aborto o retardo del crecimiento fetal. ^(28, 104)

Los restantes cromosomas 20, 17, X, 21, 12, 13, 18 y 22 también son reportados con frecuencia por otros autores, ⁽³⁻⁶⁾ excepto el cromosoma 12. Es muy probable que las trisomías que involucran a estos cromosomas en pseudomosaicismos sean derivadas de la placenta, de hecho los reportes de los datos de biopsia de vellosidades coriónicas nos muestran que existen células trisómicas confinadas a la placenta, siendo los cromosomas más frecuentemente hallados : 2, 3, 7, 8, 16, 9, 13, 15, 18, 20 y 22 . ⁽¹⁰⁵⁻¹⁰⁷⁾

El hallazgo del pseudomosaicismo de trisomía 12 entre los más frecuentes en nuestro muestreo es inusual y lo consideramos un evento fortuito.

4.5- Conclusiones del capítulo pseudomosaicismo

- 1- La frecuencia del pseudomosaicismo en nuestro estudio está dentro del rango de los reportes internacionales.
- 2- Los cromosomas más involucrados en pseudomosaicismo coinciden con los reportados en la literatura internacional.

Capítulo 5

**ESTRATEGIA PARA EL DIAGNÓSTICO
PRENATAL DEL MOSAICISMO
CROMOSÓMICO**

5.1- Introducción

La labor de un citogenetista durante la realización de un diagnóstico prenatal debe incluir la detección del mosaicismo cromosómico, latente en el feto, mediante el examen de los cariotipos provenientes de un conjunto de células cultivadas en diferentes frascos. En el laboratorio debe ser establecida una estrategia que permita llevar a cabo un diagnóstico del mosaicismo con un alto grado de confiabilidad. A nivel internacional no existe en la actualidad una estrategia absolutamente segura, debido a que eventos como el mosaicismo confinado a tejido extraembrionario o los efectos de la impronta genómica son difíciles de determinar durante el embarazo. ⁽²⁹⁾

5.2- Objetivo

- Demostrar el aumento de la eficacia del DPC, una vez que es aplicada en el laboratorio una estrategia para el diagnóstico y manejo del mosaicismo cromosómico, mediante la comparación de dos periodos de trabajo.

5.3- Estrategia para el diagnóstico y el manejo del mosaicismo cromosómico en el laboratorio de citogenética del CNGM en el período 2003-2007.

Tomando como base la experiencia acumulada en este estudio de 16 950 DPC y la literatura internacional fue establecida una estrategia, adaptada a las condiciones de nuestro laboratorio, para un diagnóstico más certero del mosaicismo cromosómico y su correcto manejo. La estrategia consiste:

1^{ero}- Ante el hallazgo de una célula o línea celular con un complemento cromosómico diferente al normal se aplica la guía de Hsu y Benn, que ayuda a agilizar la labor en el

laboratorio, definiendo tres niveles de trabajo de acuerdo al tipo de aberración y cromosoma involucrado en la línea anómala. ⁽⁵⁶⁾ (Anexo 2)

2^{do}- Aplicación de los criterios de Boué acerca de los diferentes niveles técnicamente establecidos para el diagnóstico del pseudomosaicismo I y II o el mosaicismo. ⁽²⁷⁾

3^{ero}- Diagnóstico del mosaicismo cromosómico: cuando la línea aberrada aparece en diferentes frascos de cultivo. La información diagnóstica es comunicada al especialista en genética.

- **3^{ero}(a)**- En caso de tratarse de un mosaicismo de cromosoma marcador, se cita a los padres para corroborar si es un suceso heredado o de novo, el riesgo es mas elevado en los eventos de novo.

4^{to}- Diagnóstico del pseudomosaicismo:

Cuando la célula o línea anómala aparece restringida a un solo frasco de cultivo, después de concluir el conteo de metafases estipulado en la guía de Hsu y Benn. En este caso el evento es anotado en los registros del laboratorio, pero nunca informado a la pareja.

5.3.1-¿Qué hacer cuando el conteo de metafases es insuficiente?

La realización del DPC en nuestro laboratorio, no ha tenido las condiciones objetivas ideales para su realización. Tenemos que, en ocasiones, se trabaja con medios de cultivos no idóneos para el crecimiento de las células amnióticas, se carece de frascos de cultivo suficientes para sembrar cuatro frascos por pacientes como está establecido y que los reactivos al ser transportados a grandes distancias no conservan su mejor calidad. Esto provoca que en algunos casos el conteo celular sea insuficiente para cumplir con los requerimientos de la guía de Hsu y Benn, o que solo se pueda hacer el análisis citogenético

en un frasco de cultivo, no existiendo el adecuado crecimiento celular en los restantes frascos. Como resultado es imposible establecer un diagnóstico certero entre mosaicismo o pseudomosaicismo.

En estos casos la estrategia debe tomar un carácter multidisciplinario, interviniendo citogenetistas, genetistas clínicos, obstetras y especialistas en ecografía. Con el objetivo de ampliar el número de metafases analizadas se utilizó la cordocentesis, que además nos permite el análisis citogenético en otro tejido fetal. La limitante es que el cultivo de los linfocitos de la sangre fetal, es de utilidad únicamente en los casos de aneuploidías de los cromosomas 21, 18, 13, 9, 8 ^(29,53) y X (la utilidad del uso del cultivo de sangre fetal para descartar aneuploidías del X es propuesta por el autor). Cuando en la línea anómala estén implicadas aneuploidías de otros cromosomas, aberraciones estructurales o MCS el resultado del análisis de la sangre fetal puede dar una falsa expectativa de seguridad, al no encontrarse la línea aberrada en este tejido, evento usual en estos casos.

Cuando la línea aberrada no puede ser confirmada mediante la cordocentesis, debemos tener en cuenta para la estimación del riesgo de un mosaico diversos factores, como: el motivo de indicación del estudio prenatal, el tipo de aberración y/o cromosoma involucrado en la línea aberrada, el por ciento de la línea aberrada y la sospecha de malformaciones por ecografía de alta resolución.

En los casos que producto de un diagnóstico de mosaicismo o la estimación de un alto riesgo de mosaicismo, la pareja decida la interrupción del embarazo, el diagnóstico debe ser confirmado en el material abortivo utilizando muestras de tejido de sangre, piel (de diferentes regiones del cuerpo) y placenta.

La aplicación de dicha estrategia ha redundado en la eliminación de casos falsos positivos como veremos más adelante. Para una mejor comprensión y demostrar el éxito de la misma comparamos dos periodos de trabajo de nuestro laboratorio.

Resulta necesario explicar la evolución gradual del conocimiento sobre el tema del diagnóstico del mosaicismo en nuestro laboratorio, para que se comprenda el por qué de la elección de los periodos 1984-1998 y 2003-2007.

5.3.2- Evolución en la exigencia de la aplicación de los criterios científico-técnicos para el manejo del mosaicismo en el laboratorio de citogenética del CNGM.

5.3.2.1- Periodo 1984-1998

En el laboratorio de citogenética del CNGM el diagnóstico del mosaicismo cromosómico en DPC por cultivo de amniocitos era concluido ante el hallazgo de una célula o línea aberrada que difería de la línea normal. No se aplicaban los criterios de Boué ⁽²⁷⁾ para la definición de los diferentes tipos de pseudomosaicismos y el mosaicismo. Tampoco se tenía conocimiento de la guía de Hsu y colaboradores ⁽⁵⁶⁾ para optimizar el trabajo en el laboratorio cuando existía la sospecha de un mosaicismo cromosómico prenatal. Todo esto generaba errores diagnósticos que en muchas ocasiones llevó a un asesoramiento genético incorrecto.

5.3.2.2- Periodo 1999-2002

Eran conocidos los criterios de Boué ⁽²⁷⁾ para la clasificación de los diferentes tipos de pseudomosaicos y el mosaicismo, se aplicaba la guía de Hsu y Benn ⁽⁵⁶⁾ para el examen de un caso con incertidumbre diagnóstica respecto al mosaicismo, pero esta estrategia no era llevada a cabo homogéneamente por todos los investigadores del laboratorio. En este

periodo además algunos casos con diagnóstico de pseudomosaicismo le fueron informados a las parejas lo cual conllevó a incorrecta toma de decisiones con la continuación del embarazo. El autor considera que esta etapa es de transición en el trabajo del laboratorio, en el cual gradualmente se fueron generalizando los conocimientos en el diagnóstico y manejo del mosaicismo cromosómico en DPC.

5.3.2.3- Periodo 2003-2007

Existe en el laboratorio una estrategia bien definida y generalizada para el diagnóstico del mosaicismo cromosómico en DPC, aplicándose los criterios de Boué, ⁽²⁷⁾ la guía modificada de Hsu y Benn ⁽⁵⁶⁾ y se tomó la decisión de notificar en los registros del laboratorio los casos de pseudomosaicos pero nunca informarlo a los pacientes.

5.4- Resultados

Con la finalidad de demostrar la hipótesis de trabajo de esta tesis se tomaron para la comparación del trabajo del laboratorio dos periodos de labor comprendidos entre 1984-1998 y 2003-2007.

5.4.1- Periodo 1984-1998

Tomando como referencia un artículo publicado en 1999 por nuestro laboratorio (RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO PRENATAL CITOGENÉTICO EN LAS PROVINCIAS OCCIDENTALES DE CUBA, 1984 - 1998. Revista Cubana de Genética Humana Volumen 1, Número 3. 1999. Anexo 36) ⁽¹⁰⁸⁾ quisiera ilustrar como era interpretado y manejado el mosaicismo cromosómico en el DPC por cultivo de amniocitos, en este periodo.

En el referido trabajo se presenta una muestra de 4884 amniocentesis, hallándose 24 casos de mosaicos cromosómicos, para una frecuencia del mosaicismo del 0,49%. Fueron

reportados cinco casos de mosaicos de aberraciones estructurales, siendo la frecuencia de este mosaicismo del 0,1% (5/4884).

Los casos de aberraciones estructurales reportadas como mosaicos fueron los siguientes (se ha respetado la nomenclatura utilizada)¹⁰⁸:

- 46,XX, t(X;14)/46,XX: Este caso es el LA-179-1998, en él aparecen 3 metafases con esta translocación pero restringidas a un frasco de cultivo. En el otro frasco todas las metafases son normales. Es un pseudomosaicismo nivel II.
- 46,XY, t(3q;7q)/46,XY: Este es el caso LA-362-1998; aparece esta translocación en dos metafases de un frasco de cultivo. Los otros dos frascos de cultivo analizados son normales. Constituye un pseudomosaico nivel II.
- 46,XX,del(8p)/46,XX: Este es el caso LA-316-1998; se observa una metafase con un 8p- y 34 metafases normales. Se cita a la paciente para un ultrasonido evolutivo. Es un pseudomosaico nivel I.
- 46,XX, t(9;17)/46,XX: Este es el caso LA- 273-1989; se observa una metafase con una translocación entre los cromosomas 9 y 17. Las restantes 18 metafases fueron normales, 46,XX. Constituye un pseudomosaicismo nivel I.
- 46,X,i(X)(q10)/45,X/46,XX: Este es el caso LA- 469-1989; las tres líneas celulares se encontraron en diferentes frascos de cultivo. Constituye un mosaico verdadero.

En todos estos casos los embarazos fueron interrumpidos, según describe esta publicación y cito "... Durante el periodo que se analiza, se realizaron un total de 175 interrupciones de embarazo a solicitud de las parejas por las siguientes causas...13 reordenamiento estructurales no balanceados y 33 mosaicos"¹⁰⁸ (incluye los 24 mosaicos de líquido amniótico y nueve mosaicos de vellosidades coriónicas)

5.4.2- Periodo 2003 -2007

En estos años se hicieron 6274 DPC, excluyendo los casos sin resultados o de conteo celular insuficiente (menor de 14 metafases analizadas), y se hallaron 13 mosaicos cromosómicos. Esto permitió obtener un índice de mosaicismo cromosómico en cultivo de amniocitos del 0.20% (13/6274).

En este periodo fueron hallados 3 casos de mosaicismo de aberraciones estructurales lo que representa un 0,04% (3/6274).

5.5- Discusión

En el trabajo publicado por nuestro laboratorio en 1999 ⁽¹⁰⁸⁾ la frecuencia de mosaicos de aberraciones estructurales fue del 0,1% (5/4884). En reportes internacionales la frecuencia de este mosaicismo varía en un rango entre 0,02%-0,04%. ^(3, 53, 54) Esto demuestra un aumento de los casos falso-positivos en este periodo a expensas de este tipo de mosaicismo. Como se describe en el acápite de resultados en la etapa 1984-1998 se tomaron muchos casos de pseudomosaicos como mosaicos reales, debido a la incorrecta clasificación del mosaicismo cromosómico en el DPC. Debemos tener en cuenta la alta incidencia del “mosaico” de aberraciones estructurales reportado (el único caso de mosaico de aberración estructural fue el **45,X/46,X,i(X)(q10)/46,XX**), unido al hecho que el caso 47,XY,+14/46,XY (este es el caso LA-332-1994, donde la trisomía 14 aparece en dos ocasiones, pero restringida a un frasco de cultivo) también constituye un pseudomosaicismo de nivel II y fue reportado como un mosaico real. Si de este muestreo fuesen eliminados estos 5 casos, que realmente eran pseudomosaicos, la frecuencia de mosaicismo descendería a 0,3% (19/4884) y estaría dentro de los parámetros reportados internacionalmente. (Anexo 33)

En el periodo 2003-2007, con la introducción de una estrategia para el DPC del mosaicismo y el pseudomosaicismo cromosómico, se logró reducir considerablemente la frecuencia de casos diagnosticados con mosaicismo a un 0,20%, cifra muy por debajo de lo reportado en el trabajo de 1999 (0,49%), que entra dentro del rango establecido internacionalmente.

En esta segunda etapa solo fueron diagnosticados tres casos de mosaicos de aberraciones estructurales para una frecuencia del 0,04%(3/6274), coincidente con el rango reportado en grandes muestreos internacionales.^(3, 53, 54) Las aberraciones estructurales son esencialmente las que más aportan al pseudomosaicismo cromosómico en el DPC, siendo una fuente potencial de falsos positivos en este diagnóstico, por lo cual deben ser tratadas con extrema cautela.

Estos resultados del periodo 2003-2007 son un índice de mayor calidad en el DPC; nos está indicando una disminución de casos falsos positivos que llevaban a ofrecer un diagnóstico errado y por consiguiente un asesoramiento genético incorrecto. De todos los casos que fueron diagnosticados como pseudomosaicos no existió alguno que tuviese alguna anomalía al nacimiento, imputable a la aberración cromosómica involucrada en el pseudomosaicismo.

El mayor logro del periodo de trabajo 2003-2007 fue que ninguno de los 12 casos de pseudomosaicismo tipo II (potencialmente con más riesgo de ser dado como un falso positivo de mosaico) les fue informado a los padres en el asesoramiento genético, y por tanto se evitó incertidumbre en la pareja acerca de si continuaba o no su gestación. Con esto se evitó el aborto terapéutico de niños cromosómicamente normales, como quedó evidenciado en la publicación de nuestro laboratorio de 1999 en que todos los casos de mosaicos se interrumpieron, existiendo cinco de ellos que en realidad fueron pseudomosaicos.

Actualmente, los casos con pseudomosaicismo tipo I y II son evaluados cuidadosamente en el laboratorio, siguiendo las normas establecidas para el efecto; una vez que se concluye el diagnóstico de pseudomosaicismo, este resultado queda en los libros de registros del laboratorio, pero no se le da a conocer a la pareja, por considerarse innecesario y fuente de confusión y ansiedad para la misma.

5.6- Conclusiones del capítulo

- 1- - La implementación de una correcta estrategia para el diagnóstico y manejo del mosaicismo cromosómico contribuye a la eliminación de casos falsos positivos.

CONCLUSIONES DE LA TESIS

CONCLUSIONES DE LA TESIS

Las conclusiones finales de la tesis son las siguientes:

- 1- Las frecuencias del mosaicismo cromosómico y el pseudomosaicismo, en el DPC por cultivo de amniocitos, en el Laboratorio de Citogenética del CNGM en el periodo comprendido desde 1984-2007 están en los rangos reportados internacionalmente.
- 2- La correspondencia entre la expresión fenotípica y el resultado del diagnóstico prenatal emitido como mosaicismo es similar a los reportes de la literatura internacional que oscila en un rango entre el 60 al 74%. No siempre existe coincidencia entre el cariotipo diagnosticado prenatalmente y el resultado final del embarazo, constituyendo esto una de las limitaciones de dicho diagnóstico.
- 3- Las frecuencias de los cromosomas más implicados en mosaicos cromosómicos coinciden con los reportes internacionales, excepto para el cromosoma 22, que es considerado por otros autores como un mosaicismo raro y en este estudio tuvo una alta frecuencia. Las frecuencias de los cromosomas más involucrados en pseudomosaicismo fueron similares en sentido general a los reportes internacionales.
- 4- La estrategia enunciada en este trabajo para el diagnóstico prenatal del mosaicismo y el pseudomosaicismo, aun cuando no es perfecta, contribuye a la disminución de casos falsos positivos en el DPC y brinda una herramienta para de manera multidisciplinaria lograr un diagnóstico más certero en los casos de conteo insuficiente de metafases.

RECOMENDACIONES

- 1- El diagnóstico y manejo correcto del mosaicismo y pseudomosaicismo cromosómico en el DPC debe ser extendido a todos los laboratorios de citogenética del país, lo cual redundara en un aumento de la eficiencia de dichos laboratorios.
- 2- Las técnicas de citogenética molecular deben ser aplicadas para el diagnóstico del mosaicismo cromosómico en células en interfase, evitando una prueba invasiva como la cordocentesis, en aquellos casos de sospecha de mosaicismo cromosómico de aneuploidías.
- 3- Las técnicas de citogenética molecular deben ser aplicadas para el diagnóstico del mosaicismo cromosómico de cromosomas marcadores.

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

- 1- Hsu YLF. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In: Milunsky A., ed. Genetic disorder and the fetus: diagnosis, prevention and treatment. 4th ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1998:155.
- 2- Featherstone T, Cheung SW, Spitznagel E, Peakman D. Exclusion of chromosomal mosaicism in amniotic fluid cultures: determination of number of colonies needed for accurate analysis. *Prenat Diagn.* 1994 Nov;14(11):1009-17.
- 3- Worton RG, Stern R. A Canadian collaborative study of mosaicism in amniotic fluid cell cultures. *Prenat Diagn.* 1984 Spring;4 Spec No:131-44.
- 4- Bui TH, Iselius L, Lindsten J. European collaborative study on prenatal diagnosis: mosaicism, pseudomosaicism and single abnormal cells in amniotic fluid cell cultures. *Prenat Diagn.* 1984 Spring;4 Spec No:145-62.
- 5- Hsu LYF, Perlis TE. United States survey on chromosome mosaicism and pseudomosaicism in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 1984;4: 97-130
- 6- Hsu LYF, Kaffe S, Jenkins BC, Alonso L, Benn PA, David K, Hirschhorn K, Lieber E et al . Proposed guidelines for diagnosis of chromosome mosaicism in amniocytes based on data derivated from chromosome mosaicism and pseudomosaicism studies. *Prenat Diagn.* 1992;12: 555-573.
- 7- Méndez LA., Hernández G, Quiñones O, Quintana J. Mosaicismo Cromosómico en el diagnóstico prenatal citogenético. *Rev Cubana Genet Human.* 2000; Vol II, No 2
- 8- Grati FR, Grimi B, Frascoli G, Di Meco AM, Liuti R, Milani S, Trotta A, Dulcetti F, Grosso E, Miozzo M, Maggi F, Simoni G. Confirmation of mosaicism and uniparental

- disomy in amniocytes, after detection of mosaic chromosome abnormalities in chorionic villi. *Eur J Human Genet* . 2006;14, 282–288
- 9- Gosden C, Harrison K, Kalousek DK. Chromosomal mosaicism. In: Reed G, Claireaux AE, Bain D, eds. *Diseases of the fetus and new born*. 2nd ed. London: Chapman & Hall, London, 1994
 - 10- Amor DJ., Neo WT, Waters E, Heussler H, Pertil M and Halliday J Health and developmental outcome of children following prenatal diagnosis of confined placental mosaicism *Prenat Diagn* 2006; 26: 443–448.
 - 11- Stetten G, Escallon CS, South ST, McMichael JL, Saul DO, Blakemore KJ. Reevaluating confined placental mosaicism. *American J Med Genetics*, 2004 131, 232-239.
 - 12- Galbraith RS, Karchmar EJ, Pievey WN. The Clinical Predication of intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* .1979;133-281
 - 13- Johnson J, Wapner RJ, Davies GH, Jackson LD. Mosaicism in chorionic villus sampling: An association with poor perinatal outcome. *Obstet Gynecol*.1990; 75:573-77
 - 14- Ariane Paoloni-Giacobino and J Richard Chaillet Genomic imprinting and assisted reproduction. *Reproductive Health* 2004, 1:6 <http://www.reproductive-health-journal.com/content/1/1/6>.
 - 15- Engel E, Delozier-Blanchet C Uniparental disomy, isodisomy and imprinting: Probable effects in man and strategies for their detection. *Am J Med Genetic*. 1991;40:432-39
 - 16- Tsuji A, Munakata E, Kita T, Umetsu K, Ikeda N. ADN analysis of a case of so-called blood group chimerism. *Nihon Hoigaku Zasshi*. 1996,50:17-22
 - 17- Sudik R, Jakubiczka S, Nawroth F, Gilberg E, Wieacker PF. Chimerism in a fertile woman with 46,XY karyotype and female phenotype. *Hum Reprod*. 2001,16:56-58.

- 18- Johannsen TH, Lundsteen C, Visfeldt J, Schwartz M, Petersen BL, Byskov AG, Muller J. Erroneous genetic sex determination of a newborn twin girl due to chimerism caused by foetal blood transfusion. A case report. *Hum Reprod.* 2001;16:56-58
- 19- Plaja A, Mediano C, Cano L, Vendrell T, Sarret E, Farran I, Sanchez MA. Prenatal diagnosis of a rare chromosomal instability syndrome: Variegated aneuploidy related to premature centromere division (PCD). *Am J Med Genet.* 2003;117A:85-86
- 20- Kajii T, Kawai T, Takumi T, Misu H, Mabuchi O, Takahashi Y, Tachino M, Nihei F, Ikeuchi T. Mosaic variegated aneuploidy with multiple congenital abnormalities: homozygosity for total premature chromatid separation trait. *Am J Med Genet.* 1998; 78: 245-249.
- 21- Plaja A, Vendrell T, Smeets D, Sarret E, Gili T, Català V, Mediano C, Scheres J M J C. Variegated Aneuploidy Related to Premature Centromere Division (PCD) is Expressed “in vivo” and is a Cancer-Prone Disease. *Am J Med Genet.* 2001; 98:216-223.
- 22- Landy H J and Keith L G Vanishing Twin Syndrome. *Human Reproduction Update.* 1998; 4: 177–183
- 23- Lloveras E, Lecumberri J M, Perez C, Melero C, Zamora L, Sanchez M A, Solé F, Plaja A. A female infant with a 46,XX/48,XY,+8,+10 karyotype in prenatal diagnosis: a “vanishing twin” phenomenon? *Prenat Diagn.* 2001;21: 896- 897
- 24- Lippmann A, Tomkins D J, Shime J, Hamerton J L. Canadian multicentre randomized clinical trial of chorion villus sampling and amniocentesis. Final report. *Prenat Diagn* 1992; 12: 385- 476
- 25- Ledbetter D H, Zachary J M, Simpson J L, Golbus M S et al. Cytogenetic results from de U.S. collaborative study on CVS. *Prenat Diagn.* 1992; 12: 317- 345

- 26- Gardner R.J.M., Sutherland G.R.: Chromosome abnormalities detected at prenatal diagnosis In: Chromosome abnormalities and Genetic Counselling., 3rd ed. New York, Oxford University Press, Inc., 2004, 345-371.
- 27- Boué J, Morer I, Laisney V, Boué A. Prenatal diagnosis: results of 1530 amniotic taps and prospective study of 1023 cases. *Nouv Presse Med.* 1979; 2949-53, 8 (37)
- 28- Wallerstein R, Ming-Tsung Y, Neu RL, Benn P, Bowen CL, Crandall B, et al Common trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes involving chromosomes 13, 18, 20 and 21: karyotype phenotype correlations. *Pren Diagn.* 2000; 20: 103-122.
- 29- Hsu Lillian Y F, Ming-Tsung Yu, Richard L Neu, Daniel L Van Dyke, Benn A, Bradshaw Cl, et al. Rare Trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes, involving an autosome other than chromosomes 13, 18, 20, and 21: Karyotype/Phenotype correlations. *Prenat Diagn.* 1997;17:3: 201–242 ()
- 30- Hsu LY, Kaffe S, Perlis TE. A revisit of trisomy 20 mosaicism in prenatal diagnosis--an overview of 103 cases. *Prenat Diagn.* 1991;11(1):7-15
- 31- Wiczorek D, Prott EC, Robinson WP. Passarge E, Gillessen-Kaesbach G. Prenatally detected trisomy 4 and 6 mosaicism. Cytogenetic results and clinical phenotype. *Prenat Diagn.* 2003; 23:128–133.
- 32- Zaslav AL, Blumenthal D, Willner JP, Pierno G, Jacob J, Fox J.. Prenatal diagnosis of trisomy 4 mosaicism. *Am J Med Genet.* 2000; 95:381–384.
- 33- Kuchinka BD, Barrett IJ, Moya G, Sanchez JM, Langlois S, Yong SL, Kalousek DK, Robinson WP. Two cases of confined placental mosaicism for chromosome 4, including one with maternal uniparental disomy. *Prenat Diagn.* 2001;21:36–39.
- 34- Brady April N., Kristin M. May, and Paul M. Fernhoff. Mosaic Trisomy 4: Long-Term Outcome on the First Reported Liveborn. *Am J Med Genet.* 2005; 132A:411–413

- 35- Newlin, A.C., McCorquodale, M.M., Miller, M.M., Burton, B.K. Mosaic trisomy 7 in a male with hypomelanosis of Ito and multiple congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 1995; 57 (Suppl.), A98.
- 36- Sanchez J, Celma A M, Lopez MJ Mosaic trisomy 9: report of a new case with a long-term survival *An Pediatr (Barc)* 2008 Mar; 68(3): 273-6
- 37- Moskowitz M, Brener D, Raas-Rothschild A Dental Management of a Child With Trisomy 9 Mosaicism: A Case Report. *Pediatric Dentistry* – 28:3 2006
- 38- Fujimoto, A., Allanson, J., Crowe, C.A., Lipson, M.H., Johnson, V.P. Natural history of mosaic trisomy 14 syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 1992; 44, 189–196.
- 39- Vachvanichsanong, P., Jinorose, U., Sangnuachua, P. Trisomy 14 mosaicism in a 5 year-old boy. *Am. J. Med. Genet.* 1991; 40, 80–83.
- 40- Healey, S., Powell, F., Battersby, M., Chenevix-Trench, G., McGill, J. Distinct phenotype in maternal uniparental disomy of chromosome 14. *Am. J. Med. Genet.* 1994; 51, 147–149.
- 41- Shinawi M, Shao L, Jeng LJ, Shaw CA, Patel A, Bacino C, Sutton VR, Belmont J, Cheung SW. Low-level mosaicism of trisomy 14: phenotypic and molecular characterization. *Am J Med Genet A.* 2008 Jun 1;146A(11):1395-405
- 42- Coldwell, S., Fitzgerald, B., Semmens, J.M., Ede, R., Bateman, C. A case of trisomy of chromosome 15. *J. Med. Genet.* 1981; 18, 146–148.
- 43- Bennett, C.P., Davis, T., Seller, M.J. Trisomy 15 mosaicism in an IVF fetus. *J. Med. Genet.* 1992; 29, 745–746.
- 44- Prontera P, Buldrini B, Aiello V, Gruppioni R, Bonfatti A, Venti G, Ferlini A, Sensi A, Calzolari E, Donti E. Trisomy 15 mosaicism owing to familial reciprocal translocation t(1;15): implication for prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2006 Jun;26(6):571-6.

- 45- Hidaka N, Yamamoto N, Tsukimori K, Hojo S, Suzuki SO, Wake N. Prenatal diagnosis of trisomy 16 mosaicism manifested as pulmonary artery stenosis. *J Clin Ultrasound*. 2008; May 27
- 46- Moradkhani K, Puechberty J, Blanchet P, Coubes C, Lallaoui H, Lewin P, Lefort G, Sarda P. Mosaic trisomy 16 in a fetus: the complex relationship between phenotype and genetic mechanisms. *Prenat Diagn*. 2006 Dec;26(12):1179-82
- 47- Tavokina LV, Sopko NI, Buřnova VA, Sopko IaA, Baronova EV. Prenatally identified case of mosaicism of chromosome 16 trisomy. *Tsitol Genet*. 2006 May-Jun;40(3):59-66
- 48- Vaughan, J., Ali, Z., Bower, S., Bennett, P., Chard, T., Moore, G. Human maternal uniparental disomy for chromosome 16 and fetal development. *Prenat. Diagn*. 1994; 14, 751–756.
- 49- Zimmermann, R., Lauper, U., Streicher, A., Huch, R., Huch, A. Elevated alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin as a marker for placental trisomy 16 in the second trimester? *Prenat. Diagn*. 1995; 15, 1121–1124.
- 50- Hsu LYF, Shapiro LR, Gertner M, Lieber E, Hirschhorn K. Trisomy 22, a clinical entity. *J Pediatr*. 1971; 79: 12–19.
- 51- Bacino CA, Schreck R, Fischel-Ghodsian N, Pepkowitz S, Prezant TR, Gralm JM. Clinical and molecular studies in full trisomy 22: further delineation of the phenotype and review of the literature. *Am J Med Genet*. 1995; 56: 359–365.
- 52- Wang JC, Dang L, Mondal TK, Khan A. Prenatally diagnosed mosaic trisomy 22 in a fetus with left ventricular non-compaction cardiomyopathy. *Am J Med Genet A*. 2007 Nov 15;143A(22):2744-6
- 53- Hsu LYF, Yu MT, Richkind KE, Van Dyke DL, Crandall BF, Saxe DF, Khodr GS, Mennuti M, Stetten G, Miller WA, Priest JH. Incidence and significance of

- chromosome mosaicism involving an autosomal structural abnormality diagnosed prenatally through amniocentesis: a collaborative study. *Prenat Diagn.* 1996; 16: 1–28.
- 54- Kleczkowska A, Fryns JP, Van den Berhe, H. On the Variable effect of mosaic/normal balanced chromosomal rearrangements in man. *J Med Genet.* 1990; 27: 505-507.
- 55- Méndez LA, Hernández G, Quiñones O, Palencia D, Barrios A. Mosaicismo de aberraciones estructurales, incidencia y repercusión prenatal. *Revista Cubana de Genética Comunitaria.* 2007; 1(1): 34-36
- 56- Hsu LYF, Benn PA. Revised Guidelines for the Diagnosis of Mosaicism in Amniocytes. *Prenat Diagn.* 1999;19: 1081-1090.
- 57- Robinson J, Stewart H, Moore L, Gaúnt L. A case of mosaic trisomy 2 diagnosed at amniocentesis in an anormal fetus and confirmed in multiple fetal tissues. *Clin Genet.* 1997; 51: 417-420.
- 58- Sago H, Chen E, Conte WJ, Cox VA, Goldberg JD, Lebo RV, Golabi M. True trisomy 2 mosaicism in amniocytes and newborn liver associated with multiple system abnormalities. *Am J Med Genet.* 1997; 72: 343-346.
- 59- Benn PA. A review of trisomy 16 and trisomy 16 mosaicism. *Am J Med Genet.* 1998; 79:121-133
- 60- Hsu WT, Schohepin DA, Mao R, Berris-Kravis E, Garber AP, Fischel-Ghodsian N et al. Mosaic trisomy 16 ascertained through amniocentesis: evaluation of 11 new cases. *Am J Med Genet.* 1998; 80: 473-480.
- 61- Villa N, Redaelli S, Borroni C, Colombo C, Roncaglia N, Sala E, Crosti F, Cappellini A, Dalprà L. Fetal trisomy 5 mosaicism: case report and literature review. *Am J Med Genet A.* 2007 Oct 1;143A(19):2343-6

- 62- Zikmund- Fisher B, Fagenlin A, Keeton K, Ubel P. Does labeling Prenatal Screening test Results as negative or positive affect women's responses? *Am. J. Obstet Gynecol.* 2007. November; 197(5): 528.e1- 528. e6.
- 63- Hsu LY, Kaffe S, Perlis TE. Trisomy 20 mosaicism in prenatal diagnosis--a review and update. *Prenat Diagn.* 1987 Oct;7(8):581-96
- 64- Reish, O., Wolach,B., Amiel, A., Kedar,I., Dolfin,T., Fejgin,M. Dilemma of trisomy 20 mosaicism detected prenatally : is it an innocent finding?. *Am J Med Genet.* 1998; 77: 72-75.
- 65- Lund HT, Tranebjaerg L. Trisomy 22 mosaicism limited to skin fibroblasts in a mentally retarded, dismorphic child. *Acta Paediatr Scand.* 1990; 79: 714-718.
- 66- Mollica F, Sorge G, Pavone L. Trisomy 22 mosaicism. *J Med Genet.* 1977; 14:224-225.
- 67- Florez L, Lacassie Y. Mosaic trisomy 22: Report of a patient with normal intelligence. *Am J Med Genet Part A.* 2005;132A:223.
- 68- Lessick ML, Szego K, Wong PNK. Trisomy 22 mosaicism with normal blood chromosomes. *Clin Paediatr.* 1988; 27: 451-454.
- 69- Wang J-C, Dang L, Mondal TK, Khan A.. Prenatally diagnosed mosaic trisomy 22 in a fetus with left ventricular non-compaction cardiomyopathy. *Am J Med Genet Part A.* 2007; 143A:2744–2746.
- 70- Lewis B, Fulton S, Short E, Nelson S, Lombardi G, Rosenbaum D, Kercsmar C, Baley J, Singer LT. A longitudinal case study of a child with mosaic trisomy 22: Language, cognitive, behavioral, physical, and dental outcomes. *Am J Med Genet Part A.* 2007; 143A:2070–2074.

- 71- Bruyère H, Wilson RD, Langlois S Risk of mosaicism and uniparental disomy associated with the prenatal diagnosis of a non-homologous Robertsonian translocation carrier. *Fetal Diagn Ther.* 2004 Sep-Oct;19(5):399-403
- 72- Shaffer LG Risk estimates for uniparental disomy following prenatal detection of a nonhomologous Robertsonian translocation. *Prenat Diagn.* 2006 Apr;26(4):303-7
- 73- Philipp T, Kalousek K. Generalized abnormal embryonic development in missed abortion: embryoscopic and cytogenetic findings. *Am J Med Genet.* 2002 Jul 22;111(1):43-7
- 74- Philipp T, Philipp K, Reiner A, Beer F, Kalousek DK. Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies. *Hum Reprod.* 2003 Aug;18(8):1724-32
- 75- Haslam RH, Broske SP, Moore CM, Thomas GH, Neill CA. Trisomy 9 mosaicism with multiple congenital anomalies. *J Med Genet.* 1973;10:180–184.
- 76- Solomon BD, Turner CE, Klugman D, Sparks SE. Trisomy 9 mosaicism and XX sex reversal. *Am J Med Genet Part A.* 2007;143A:2688–2691.
- 77- Tarani L, Colloridi F, Raguso G, Rizzuti A, Bruni L, Tozzi MC, Palermo D, Panero A, Vignetti P. Trisomy 9 mosaicism syndrome. A case report and review of the literature. *Ann Genet.* 1994; 37:14–20.
- 78- Saneto RP, Applegate KE, Frankel DG. Atypical manifestations of two cases of trisomy 9 syndrome: Rethinking development delay. *Am J Med Genet.* 1998;80:42–45.
- 79- Sánchez Zahonero J, Andrés Celma M, López García MJ. Mosaic trisomy 9: report of a new case with a long-term survival. *An Pediatr (Barc).* 2008 Mar;68(3):273-6

- 80- Robinson A, Bender BG, Linden MG. Prenatal diagnosis of sex chromosome abnormalities. In: Milunsky A (ed) Genetic disorders and the fetus, 3d ed. Johns Hopkins University Press, pp 211-239. 1998
- 81- Gunther DF, Eugster E, Zagar AJ, Bryant CG, Davenport ML, Quigley CA. Ascertainment bias in Turner syndrome: new insights from girls who were diagnosed incidentally in prenatal life. *Pediatrics*. 2004 Sep;114(3):640-4.
- 82- Ross J, Roeltgen D, Zinn A. Cognition and the sex chromosomes studies in Turner syndrome. *Horm Res*. 2006, 65 (1) : 47-56
- 83- Thompson and Thompson. *Genetics in Medicine*. Sixth Edition/ Robert L Nussbaum, Roderick R McInnes, Huntington F Willard. 2004.
- 84- Art Daniel, Zhanhe Wu, Artur Darmanian, Paul Malafiej, Varsha Tembe, Greg Peters, Issues arising from the prenatal diagnosis of some rare trisomy mosaics—the importance of cryptic fetal mosaicism *Prenat Diagn* 2004; 24: 524–536.
- 85- Méndez Rosado, LA., Nazabal Cowan, I, Lavista Gonzalez, M, Quiñones Maza O. Quintana Aguilar J. Mosaicismo inusual en un caso de diagnóstico prenatal citogenético. *Rev Cubana Pediatr*. 1998;70(2):105-107.
- 86- Hultén MA, Patel SD, Tankimanova M, Westgren M, Papadogiannakis N, Jonsson AM, Iwarsson E. On the origin of trisomy 21 Down syndrome. *Mol Cytogenet*. 2008 Sep 18;1(1):21.
- 87- Yurov YB, Vorsanova SG, Iourov IY, Demidova IA, Beresheva AK, Kravetz VS, Monakhov VV, Kolotii AD, Voinova-Ulas VY, Gorbachevskaya NL. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy. *J Med Genet*. 2007 Aug;44(8):521-5.

- 88- Sciorra LJ, Schlenker E, Toke D, Brady-Yasbin S, Day-Salvatore D, Lee ML .Low level mosaicism for a balanced 7;14 translocation in the father of an abnormal 7q+ child. *Am J Med Genet.* 1992 Feb 1;42(3):296-7.
- 89- Crolla JA, Youings SA, Ennis S, Jacobs PA. Supernumerary marker chromosomes in man: parental origin, mosaicism and maternal age revisited. *Eur J Hum Genet.* 2005;13(2):154-60
- 90- Amor D, Bentley K, Ryan J, Perry J, Wong L, Slater H, and Choo K. H. Human centromere repositioning “in progress” Edited by Louis M. Kunkel, *PNAS* April 27, 2004 vol. 101 no. 17 www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.
- 91- Ventura M, Weig S, Carbone L, Cardone M, Misceo D, Teti M, Addabbo P, Wandall A, Björck E, Jong P, She X, Eichler E, Archidiacono N. Recurrent Sites for New Centromere Seeding .*Genome Research* 2004,14:1696–1703
- 92- Baldwin E, May L, Justice A, Martin C, and Ledbetter D. Mechanisms and Consequences of Small Supernumerary Marker Chromosomes: From Barbara McClintock to Modern Genetic-Counseling *The American J Human Genet* 2008 82, 398–410
- 93- Yu D., Barbouth P.J., Benke P.E. ,Warburton Y. S. Characterization of a neocentric supernumerary marker chromosome originating from the Xp distal region by FISH, CENP-C staining, and array CGH. *Cytogenet Genome Res* 116:141–145 (2007)
- 94- Wilson GN et al. The phenotypic and cytogenetic spectrum of partial trisomy 9p. *Am J Med Genet.*1985; 20:277
- 95- Schinzel A: Trisomy 9p, a chromosome aberration with distinct radiologic findings. *Radiology.* 1979;130:125

- 96-Brondum-Nielsen K, Mikkelsen M. A 10-year survey, 1980-1990, of prenatally diagnosed small supernumerary marker chromosomes, identified by FISH analysis. Outcome and follow-up of 14 cases diagnosed in a series of 12,699 prenatal samples. *Prenat Diagn.* 1995 Jul;15(7):615-9
- 97-Huang B, Solomon S, Thangavelu M, Peters K, Bhatt S Supernumerary marker chromosomes detected in 100,000 prenatal diagnoses: molecular cytogenetic studies and clinical significance. *Prenat Diagn.* 2006 Dec;26(12):1142-50
- 98-Magorzata K, Magorzata S, Agnieszka T. Chromosome abnormalities without phenotypic consequences. *J Appl Genet.* 2007; 48(2):157–166.
- 99- Douet-Guilbert N, Basinko A, Le Bris M-J, Herry A, Morel F, De Braekeleer M Strategies to identify supernumerary chromosomal markers in constitutional cytogenetics. *Pathol Biol (Paris).* 2008 Sep ;56 (6):362-7
- 100- Callen DF, Freemantle CJ, Ringenbergs ML, Baker E, Eyre HJ, Romain D, Haan EA. The isochromosome 18p syndrome: confirmation of cytogenetic diagnosis in nine cases by in situ hybridization. *Am J Hum Genet.* 1990 Sep;47(3):493-8
- 101- Schinzel A. Tetrasomy 12p (Pallister-Killian syndrome). *J Med Genet.* 1991 Feb;28(2):122-5
- 102- Liehr T, Mrasek K, Weise A, Dufke A, Rodríguez L, Martínez Guardia N, et al Small supernumerary marker chromosomes--progress towards a genotype-phenotype correlation. *Cytogenet Genome Res.* 2006;112(1-2):23-34
- 103- Cotter PD, Drexler K, Corley AL, Covert SM, Moland JS, Govberg IJ, Norton ME. Prenatal diagnosis of minute supernumerary marker chromosomes. *Gynecol Obstet Invest.* 2005;60(1):27-38)

- 104- Roberts E, Dunlop J, Davis GS, Churchill D, Davison EV. A Further case of confined placental mosaicism for trisomy 2 associated with adverse pregnancy outcome. *Prenat Diagn.* 2003;23(7):564-5.
- 105- Hahnemann JM, Vejerslev LO. European collaborative research on mosaicism in CVS (EUCROMIC) fetal and extrafetal cell lineages in 192 gestations with CVS mosaicism involving single autosomal trisomy. *Am J Med Genet.* 1997 May 16;70(2):179-87
- 106- Wolstenholme J. Confined placental mosaicism for trisomies 2, 3, 7, 8, 9, 16, and 22: their incidence, likely origins, and mechanisms for cell lineage compartmentalization. *Prenat Diagn.* 1996 Jun;16(6):511-24
- 107- Henderson KG, Shaw TE, Barrett IJ, Telenius AH, Wilson RD, Kalousek DK. Distribution of mosaicism in human placentae. *Hum Genet.* 1996 May;97(5):650-4
- 108- Quintana J, Quiñones O, Méndez LA, Lavista M, Dieppa N, Gómez M et al. Resultados del Diagnostico Prenatal Citogenético en las Provincias Occidentales de Cuba. *Revista Cubana de Genética Humana.* 1999;1(3)

El Msc. Luis Alberto Méndez Rosado es Investigador Auxiliar y Profesor Asistente y trabaja en el Laboratorio de Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica.

Autobiografía sobre el tema de la tesis

- 1- Florana Menéndez ,Hector Casaña, Jorge Quintana, Olga Quiñones, **Luis Alberto Méndez**, Ignacio Nazabal, Marta Lavista, Susana Menéndez , Jorge Oliva,O. Zaldivar.
Cytogenetic Prenatal diagnosis in Havana, Cuba The American Journal of Human Genetics
Vol 41 (3). 834.1987
- 2- Florana Menéndez, Jorge Quintana, Hector Casaña,Olga Quiñones,Marta Lavista,
Ignacio Nazabal, **Luis A. Méndez**, Susana Menéndez, Jorge Oliva, O. Zaldivar.
Cytogenetic and prenatal diagnosis in Cuba: experiences and results in amniotic fluid
culture and chorionic villus sampling Kariogram Vol.14 (4), 1988
- 3- Luis A. Méndez,. Ignacio Nazabal, Marta Lavista,. Olga Quiñones, Jorge Quintana.
Mosaicismo Inusual en un caso de diagnóstico prenatal citogenético. Rev Cubana Pediatría
1998; 70(2):105-7
- 4- Jorge Quintana, Olga Quiñones, **Luis A. Méndez**,. Marta Lavista, Margarita Gómez,
Norma Dieppa. Resultados del diagnóstico prenatal citogenético en las provincias
occidentales de Cuba, 1984-1998. Revista Cubana de Genética Humana .Vol 1 No 3.1999

- 5- Jorge Quintana, Olga Quiñones, **Luis Alberto Méndez**, Marta Lavista, Carlos E González, Gisel Hernández. Resultados del Diagnóstico Prenatal Cromosómico en Ciudad Habana. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología 1999;Vol 25 No 3: 153-8
- 6- J. Quintana, O. Quiñones, **L. A. Méndez**, M. Lavista, M. Gómez, N. Dieppa Chromosome prenatal diagnosis in Havana City, Cuba, 1984-1999. The American Journal of Human Genetics. 1999 Vol 65, No 4 : 2018
- 7- Luis A. Méndez, Gisel Hernández, Olga Quiñones, Marta Lavista, Jorge Quintana .Correlación Cariotipo-Fenotipo en mosaicos cromosómicos encontrados en el laboratorio de diagnóstico prenatal citogenético de C. Habana. Revista Cubana de Genética Humana Vol II No 1, 2000
- 8- Lic Luis A. Méndez, Lic Gisel Hernández, Lic Olga Quiñones, Dr. Jorge Quintana. Mosaicismo Cromosómico en el diagnóstico prenatal citogenético. Revista Cubana de Genética Humana Vol II, No 2, 2000
- 9- Olga. Quiñones, **Luis A. Méndez**, Gisel Hernández, Jorge Quintana, Ursulina Suárez. Translocación (3;8) (p21;p23,3). Estudio familiar. Progresos en Diagnóstico y Tratamiento Prenatal. 2003 Vol 15, No1:27-31
- 10- Luis A. Méndez, Olga Quiñones, Gisel Hernández, Jorge Quintana, Norma Dieppa, Ursulina Suárez, et al .Estudio del mosaicismo y pseudomosaicismo en diagnóstico prenatal citogenético. Experiencias en C. Habana. Revista Cubana de Genética Humana Vol 5, No 2, 2004.
- 11- Luis A. Méndez, Gisel Hernández, Olga Quiñones, David Palencia, Anduriña Barrios Mosaicismo de aberraciones estructurales, incidencia y repercusión prenatal. Revista Cubana de Genética Comunitaria, 1(1): 34-36; 2007

12 - Lic Olga Quiñones Maza, Dr Alfredo Nodarse Rodríguez, **Lic Luis A. Méndez**, Lic Iraelis Román Aguirre, Lic. Gisel Hernández Pérez, David Palencia Céspedes, Tec Ursulina Suárez Mayedo. Estudios citogenéticos en sangre fetal obtenida mediante cordocentesis. Revista Cubana de Genética Comunitaria Vol. 1(2) 2007

13- Luis A. Méndez Rosado, Olga Quiñones Maza, Iraelis Román Aguirre, Anduriña Barrios Martínez, Michel Soriano Torres, Nereida González García, et al. Mosaicismo de aneuploidías de los cromosomas sexuales en el diagnóstico prenatal. Revista Cubana de Genética Comunitaria. 2 (3). 2008.

ANEXOS

Anexo 1. Estudios del mosaicismo y pseudomosaicismo en DPC en EEUU, Europa y Canadá.

Estudios	# de casos	Mosaicos (%)		Pseudo mosaicos (%)		Estudios de seguimiento		
		Cromosomas involucrados		Cromosomas involucrados		Pseudomosaicos (Alteraciones fenotípicas halladas)	Mosaicos (% alteraciones físicas halladas acorde a la aberración cromosómica)	Estudios de confirmación del Diagnóstico Prenatal. Realizados en recién nacidos o material abortivo.
Hsu et al (1984)	62 279	0,25%	X, 21,20,9,8,18 , 13	3,25%	2.7.X.9.17 v 20	11 casos con defectos al nacimiento aparentemente no relacionadas con la anomalía cromosómica	37,8% de los autosomas 17,6% de cromosomas marcadores 10,5% cromosomas sexuales	El DPC se confirmó en : 86,8% para cromosomas sexuales 52,3% para autosomas 81,3% para cromosomas marcadores 70 % de confirmación en general
Worton y Stern (1984)	12386	0,30 %	X,8,13,18,20,21	8,2%	2,7,20,21,X,8	Se observaron 7 casos con defectos al nacimiento. Solo una hidronefrosis unilateral pudiese estar relacionada al mosaico de trisomía 20, reportado en varias células de un frasco.	33,3% de los autosomas 12,5% de los cromosomas marcadores 11.1% de los cromosomas sexuales	El DPC se confirmó en : 55.5% para cromosomas sexuales 22,2% para autosomas 37,5% para cromosomas marcadores 60% de confirmación en general
Bui et al (1984)	44 170	0,10%	X,18,20,21,Y,2	3.48%	2,20,21,X,1	3 casos con defectos al nacimiento aparentemente no relacionadas con la anomalía cromosómica implicada.	41.6% de los autosomas 20% de los cromosomas marcadores 13% de los cromosomas sexuales	El DPC se confirmó en : 84,6% de los cromosomas sexuales 44.4% de los autosomas 88.8% de cromosomas marcadores 74% de confirmación en general

Anexo 2

Guía para el Diagnóstico del Mosaicismo en Amniocitos según Hsu y Benn, plantea tres niveles de trabajo a seguir:

Trabajo extensivo

Se recomienda el conteo de 50 metafases, 10 del frasco donde aparece la línea aberrada y las otras 40 distribuidas entre 2 frascos diferentes a este primero, en los casos de:

- Líneas celulares con trisomías autosómicas de los cromosomas 21, 18, 13, 8, 9, 12, 14, 15, 20, 22, 2, 16, 5 (si aparecen en una o varias células),
- En los casos de reordenamientos estructurales desbalanceados (si aparece en múltiples células)
- En los casos de marcadores cromosómicos supernumerarios (en múltiples células)

Trabajo moderado

Se recomienda el conteo de 30 metafases, 10 del frasco donde aparece la línea aberrada y las otras 20 distribuidas entre los otros 2 frascos de cultivo en los casos de:

- Líneas celulares con trisomías autosómicas de los cromosomas 1, 3,4 ,6, 7, 10, 11, 17 o 19 (si aparece en una o varias células)
- En los casos de cromosomas sexuales extras (en una o varias células)
- En los casos de 45,X (en múltiples células)
- En los casos con otros tipos de monosomías (en múltiples células)
- Cromosoma marcador supernumerario (en una célula)
- En casos de aberraciones estructurales balanceadas (en múltiples células)

Trabajo estándar

Se analizarán 20 metafases en aquellos casos que aparezcan:

- 45,X en una célula
- Reordenamiento estructural desbalanceado (en una célula)
- Reordenamiento estructural balanceado (en una célula)

Anexo 5 - CASOS DE MOSAICISMO CROMOSOMICO

TIPO DE ABERRACION	No. CASOS	FENOTIPO		SIN INFORMACION	RESULTADO EMBARAZO		CONFIRMACION DEL CARIOTIPO		
		NORMAL	ANORMAL		NACIDO VIVO	ABORTADO	SI	NO	NO ESTUDIADO
47,+21/46	6		3	3		6			3*
47,+18/46	2		2			2	1		1
47,+13/46	2		2			2	1		1
47,+20/46	2	2			1	1		2	
47,+22/46	2	1	1			2	1		1
47,+9/46	1		1			1	1		
45,X/46,XX	9	6	2	1	1	7	1	3**	4
47,XXX/46,XX	4	4			1	3	1		3
47,XXY/46,XY	2	2				2	1		1
45,X/46,XY	1	1				1		1	
47,XYY/46,XY	1	1			1				1
46,X, i(X)(q10)/45,X/46,XX	1		1			1	1		
46,XY, del(7)(q31)/46,XY	1	1				1		1	
46,XX, t(13;18)(q21.2;q12.1)/46,XX	1	1				1	1		
45,XY, der(13;22)(q10;q10)/46,XY	1	1			1		1		
46,XY, der(13;22)(q10;q10), +22/46,XY	1		1			1			1
46,XY, del(18)(p11.3)/46,XY	1	1				1			1
46,XY, del(21)(q22)/46,XY	1	1				1		1	
47,+marc/46	8	6	1	1	2	5	2		5
47,XY+mar/48,XY+2mar/49,XY+3mar/46,XY	1	1			1				1

* con el estudio fenotípico se consideró suficiente

** se estudió sangre en 2 casos y piel y sangre en 1

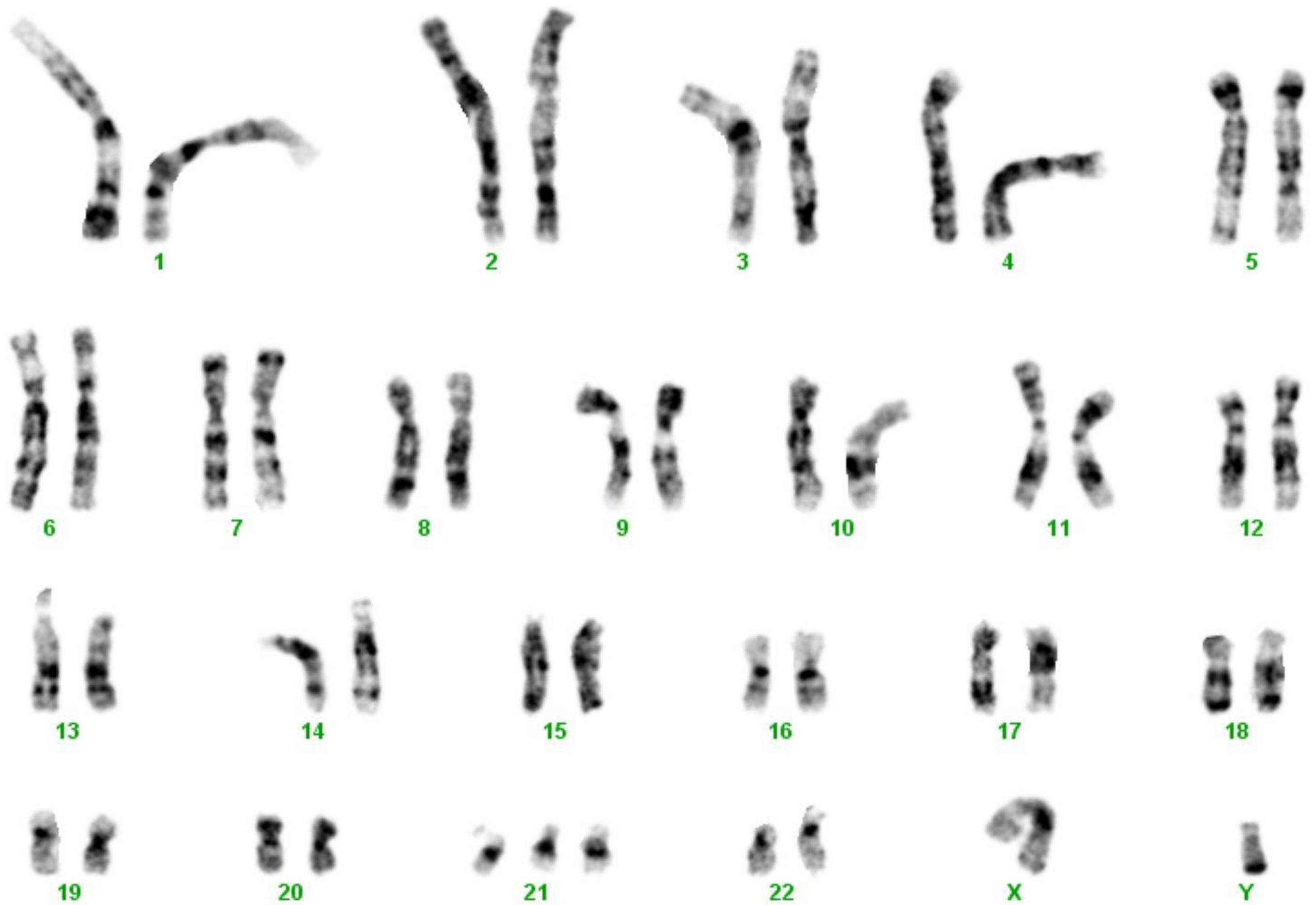
ANEXO 6. Anomalías fenotípicas halladas en los diferentes tipos de mosaicos.

Tipo de mosaico	Casos	Gastrointestinal	Extremidades	Cardiovascular	CIUR	Riñón y vías urinarias	Cráneo facial	Otras
47+21/46	I-1	X	X	-	-	-	X	-
	I-2	-	X	-	-	-	X	-
47+18/46	I-9	-	X	X	-	-	X	-
	I-10	-	-	-	X	-	X	-
47+13/46	I-11	-	X	-	X	-	X	-
	I-12	*	*	*	*	*	*	*
Mosaico de trisomía 22	I-13	-	X	X	-	-	X	-
	I-14	-	X	X	-	-	X	-
47+9/46	I-16	X	-	X	-	X	X	X
45,X/46	II-1	-	-	-	X	-	-	-
46,X,i(X)/45,X/ 46,XX	III-6	-	-	-	-	-	-	X
46+mar/46	IV-5	-	X	-	X	-	X	X

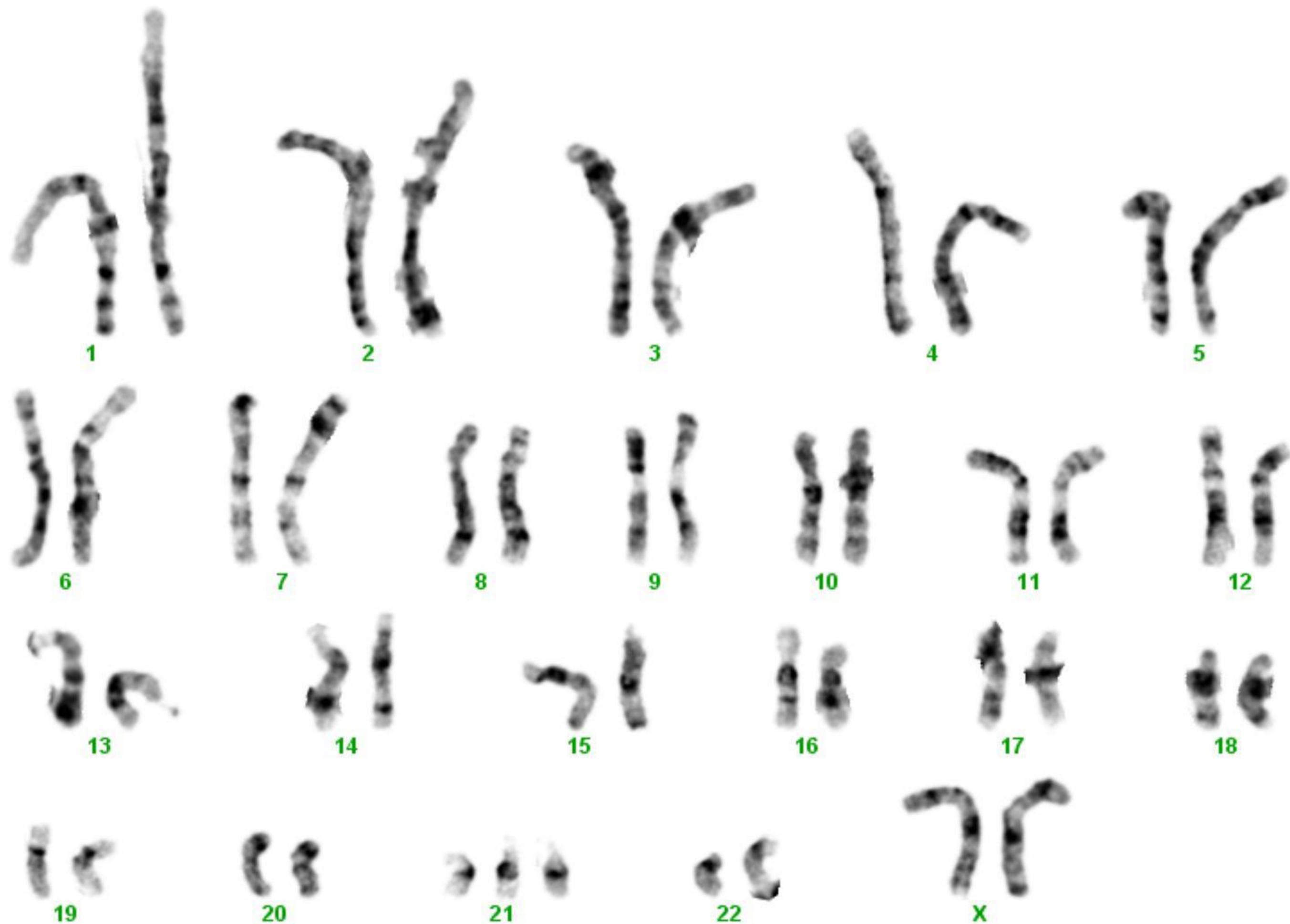
* el feto presentó anomalías compatibles con la presencia de la línea aberrada, pero fue imposible el análisis del material abortivo.

Anexo 7- Mosaicismo de aneuploidías autosómicas.

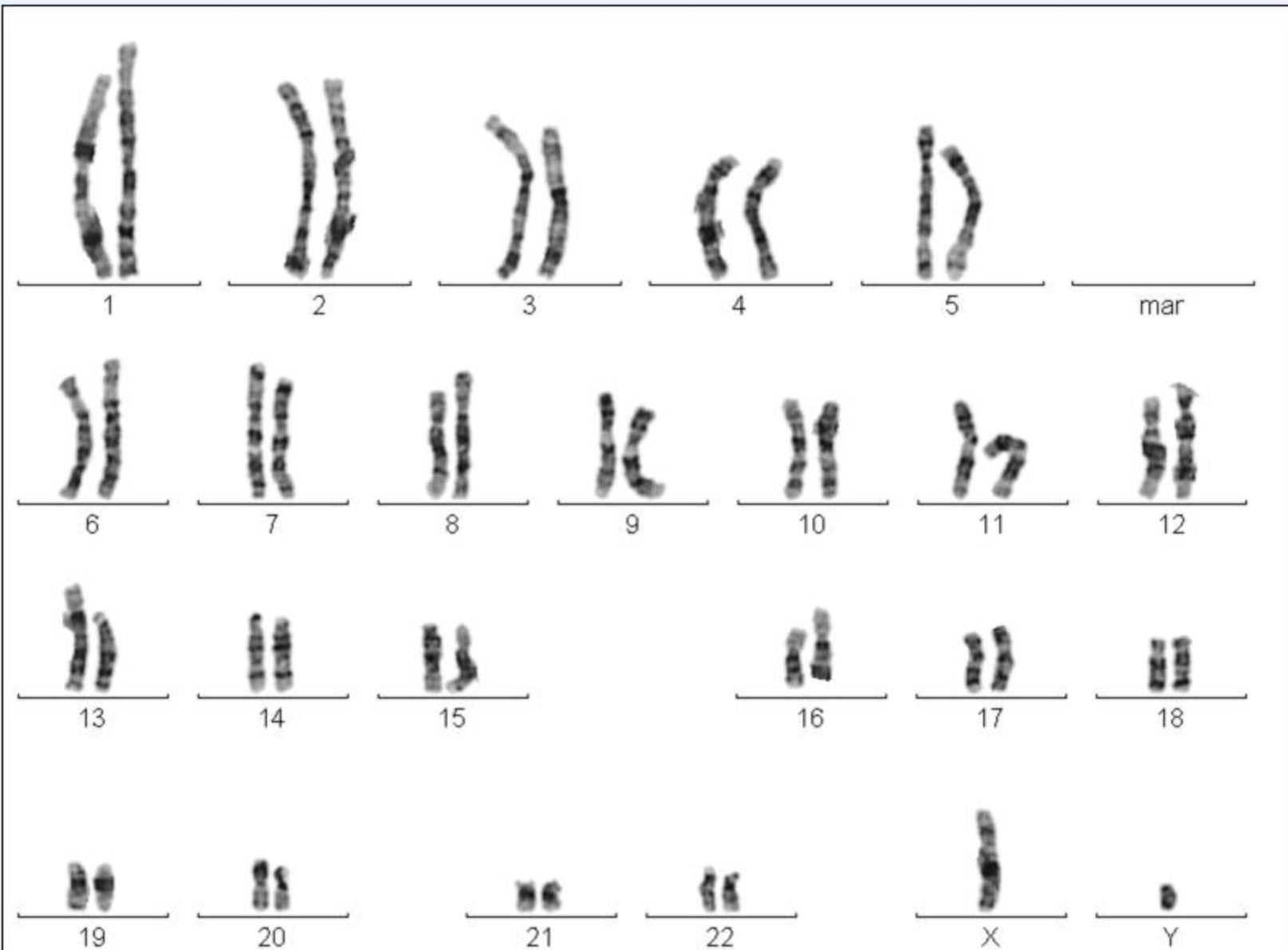
Caso	Cariotipo	% de la línea aberrada	<u># de células línea aberrada</u> # de células línea normal	Examen físico del material abortivo o del recién nacido
I-1	47,XX,+21/46,XX	45.4%	5/6	Anormal
I-2	47,XX,+21/46,XX	52.9%	9/8	Anormal
I-3	47,XY,+21/46,XY	8,1 %	3/37	?
I-4	47,XX,+21/46,XY	85.7%	18/3	?
I-5	47,XY,+21/46,XY	7,5%	3/40	Anormal?
I-6	47,XY,+21/46,XY	52.9%	9/8	?
I-7	47,XX,+20/46,XX	12.9%	4/27	Normal
I-8	47,XY,+20/46,XY	4.0%	2/48	Normal (recién nacido)
I-9	47,XX,+18/46,XX	76.4%	13/4	Anormal
I-10	47,XY,+18/46,XY	50%	10/10	Anormal
I-11	47,XY,+13/46,XY	31,2%	5/11	Anormal
I-12	47,XX,+13/46,XX	37.5%	6/10	Anormal ?
I-13	47,XY,+22/46,XY	6.6%	2/28	Anormal
I-14	46,XY,der(13;22)+22/46,XY	56.6%	17/13	Anormal
I-15	47,XY,+22/46,XY	4.6%	3/62	Normal
I-16	47,XX,+9/46,XX	70%	7/3	Anormal



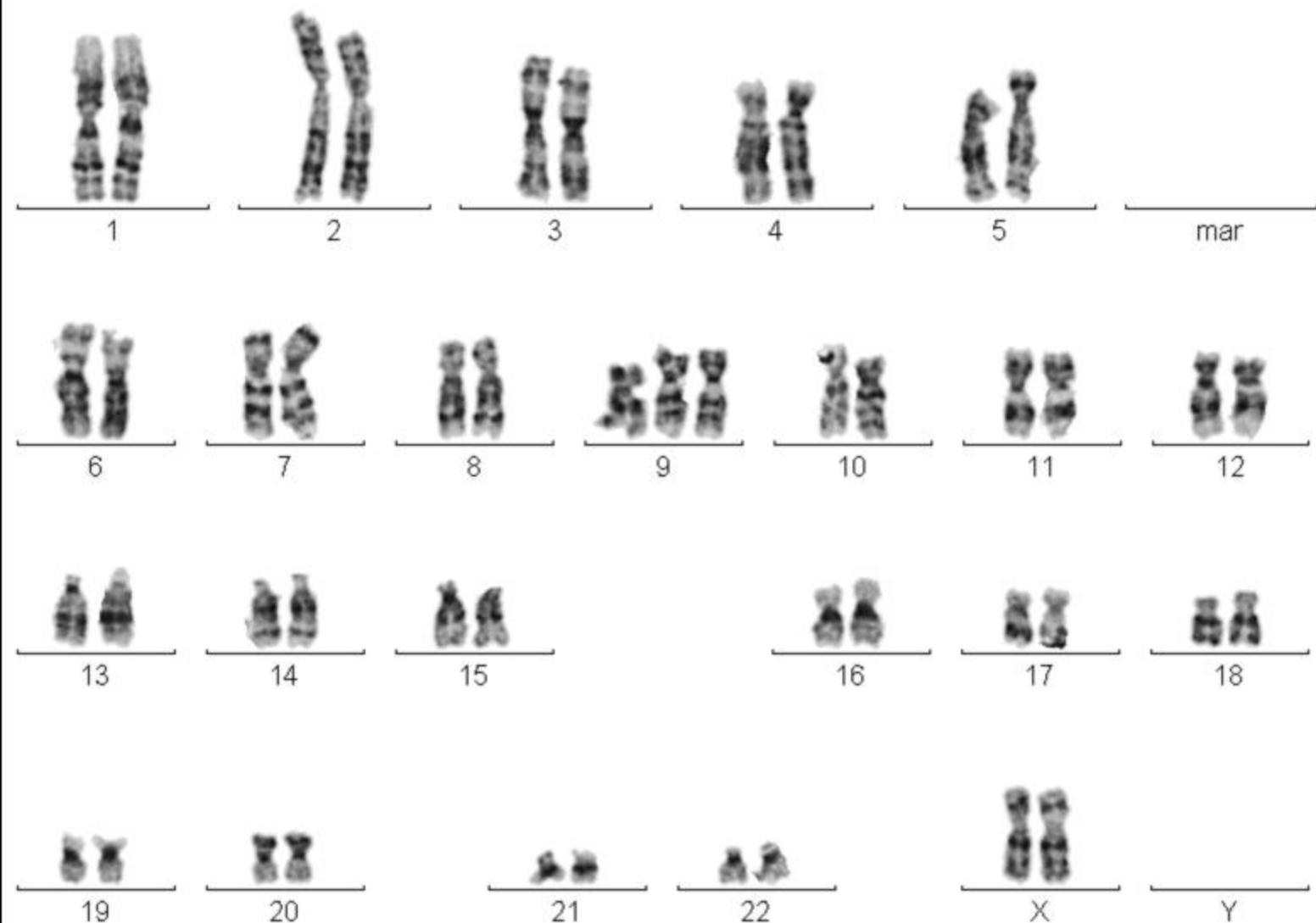
Anexo 8. Caso I-5. Línea con trisomía del par 21 en feto varón.



Anexo 9. Caso I-4. Línea con trisomía del par 21 en feto hembra.



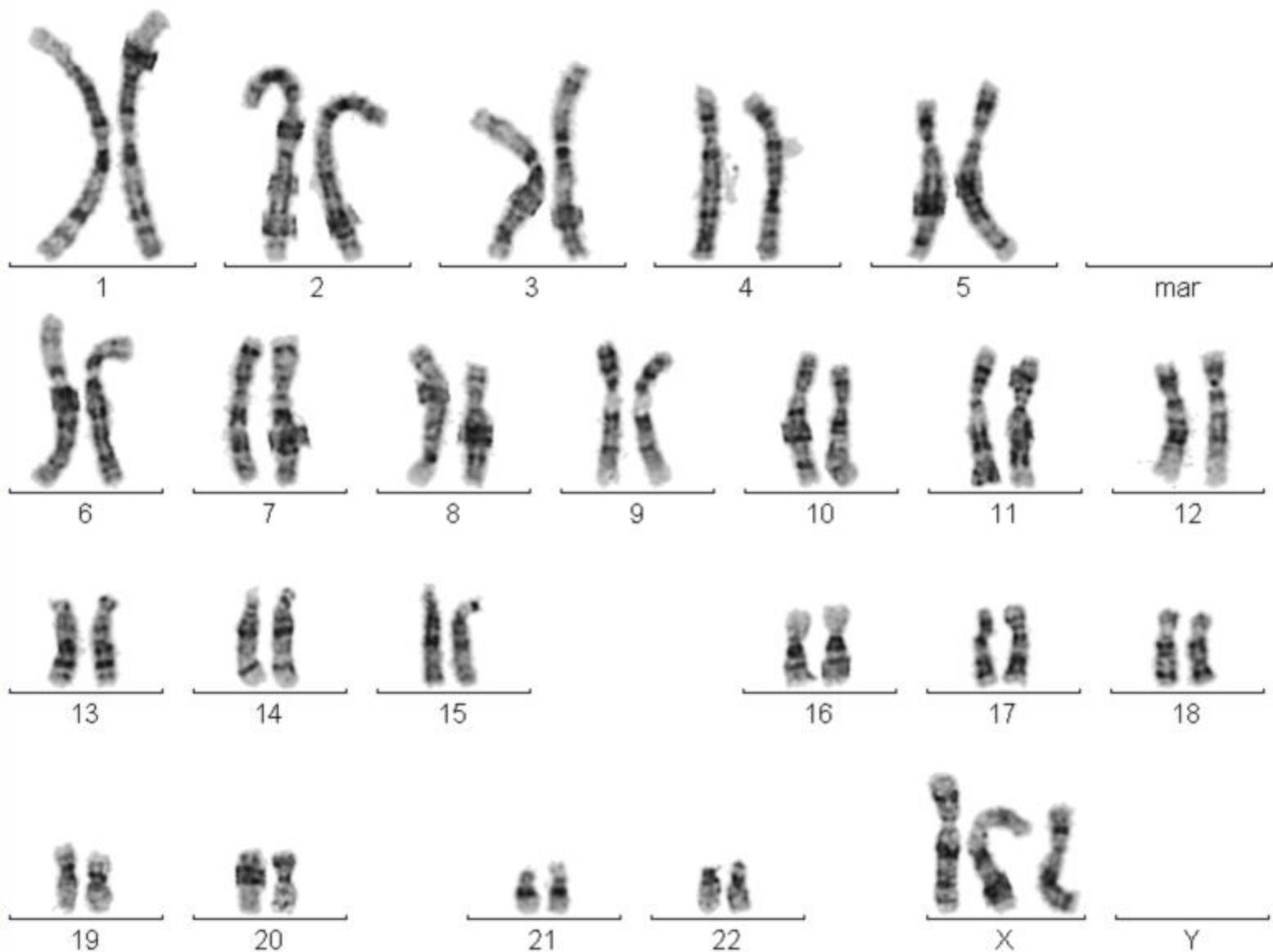
Anexo 10. Caso I-14. Línea con der(13;22)(q10,q10) +22



Anexo 11 . Caso I-16. Línea con trisomía 9

Anexo 12 - Mosaicismo de aneuploidías sexuales.

Caso	Cariotipo	% de la línea aberrada en # total de células	<u># de células línea aberrada</u> <u># de células línea normal</u>	Análisis Físico del material abortivo o recién nacido
II-1	45,X/46,XX	66.6%	20/10	Afectado (retardo del crecimiento intrauterino)
II-2	45,X/46,XX	15.1%	5/28	Afectado (paladar hendido)
II-3	45,X/46,XX	12.5%	2/14	Normal
II-4	45,X/46,XX	25%	3/9	Normal
II-5	45,X/46,XX	19%	4/17	Normal
II-6	45,X/46,XX	15%	3/17	Normal
II-7	45,X/46,XX	15%	4/22	Normal (recién nacido)
II-8	45,X/46,XX	7.5%	3/37	Óbito fetal
II-9	45,X/46,XX	22.2%	6/21	Sin información
II-10	47,XXX/46,XX	17,6%	3/14	Normal
II-11	47,XXX/46,XX	10,5%	4/34	Normal
II-12	47,XXX/46,XX	14,2%	3/18	Normal
II-13	47,XXX/46,XX	30.4%	7/16	Normal (recién nacido)
II-14	47,XXY/46,XY	30%	3/7	Normal
II-15	47,XXY/46,XY	26.6%	4/11	Normal
II-16	45,X/46,XY	24%	6/19	Normal
II-17	47,XYY/46,XY	35,7%	5/9	Normal (recién nacido)



Anexo 13. Caso II-12. Línea con trisomía del cromosoma X

Anexo 14. Mosaicismo de aberraciones estructurales.

Caso	Cariotipo	% de la línea aberrada	<u># de células línea aberrada</u> # de células línea normal	Examen físico del material abortivo o recién nacido
III-1	46, XX, t (13;18)(q21.2;q12.1)/ 46XX	57.1%	20(DPC)+20(piel)/30(sangre)	Normal
III-2	45, XY, der (13;22)(q10;q10)/ 46,XY	33.3%	5/10	Normal (recién nacido)
III-3	46,XY,del(7)(q31)/46,XY	14.2%	3/18	Normal
III-4	46,XY,del (21) (q22)/46,XY	19%	4/17	Normal (recién nacido)
III-5	46, XY, del (18)(p11,3)[5]/46,XY[15]	25%	5/15	Normal
III-6	46,X,i(X)(q10)/45, X/ 46,XX[4] *	66.6%	8/4	Anormal
I-14**	46,XY,der(13;22)+22/46,XY	56,6%	17/13	Anormal

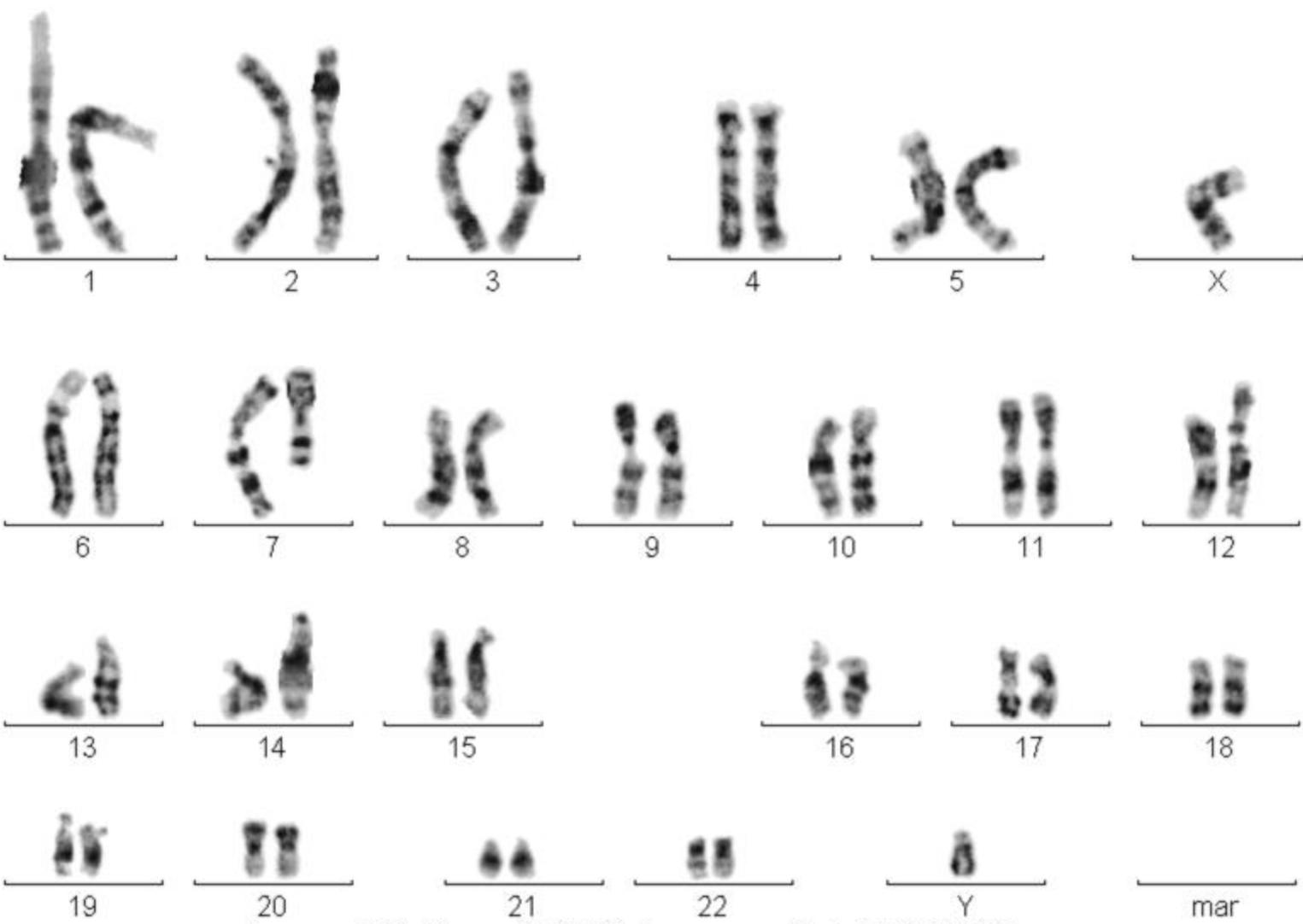
* La línea 46,X,i(X)(q10) es hallada en el DPC y la piel fetal. No es hallada en sangre fetal.

** El caso I-14 es analizado en la sección de mosaicos de aneuploidías autosómicas.

CARIOTIPO PARCIAL



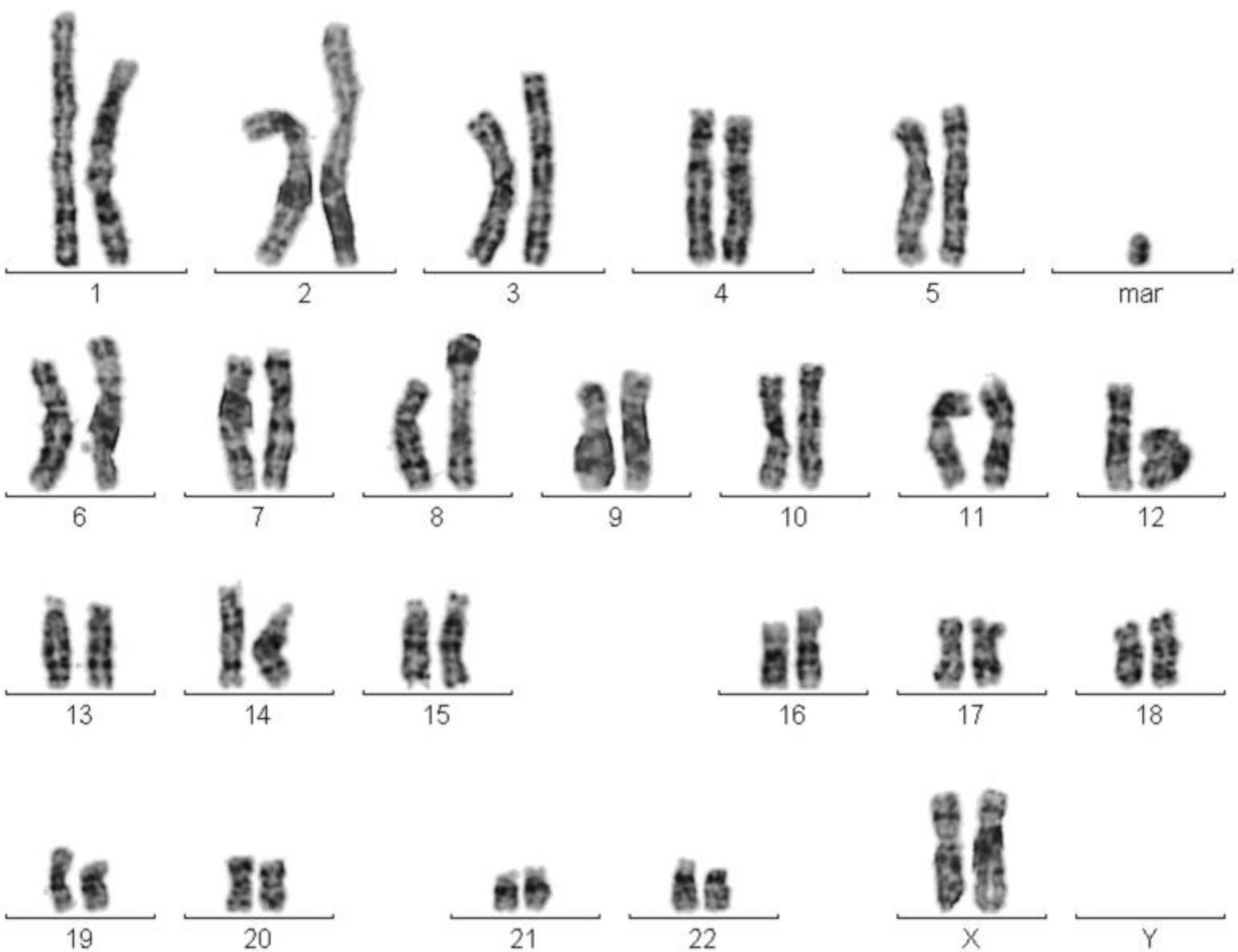
Anexo 15. Caso III-1- Línea cromosómica con t (13;18)(q21.2;q12.1), presente en todas las células del DPC, pero ausente en los estudios de corroboración realizados en sangre fetal.



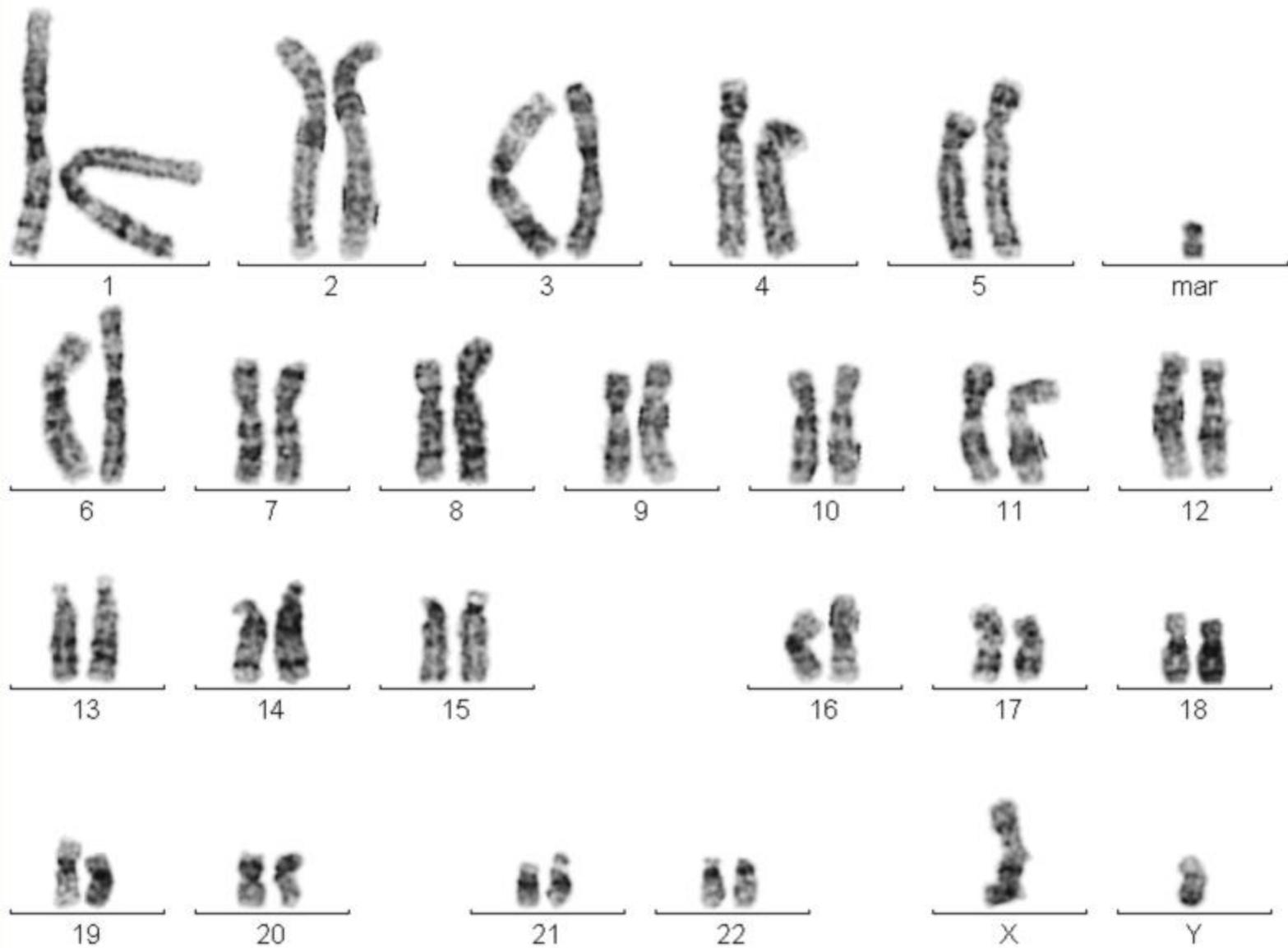
Anexo 16. Caso III-3. Línea con del (7)(q31.2)

Anexo 17 - Mosaicismo de marcador cromosómico supernumerario

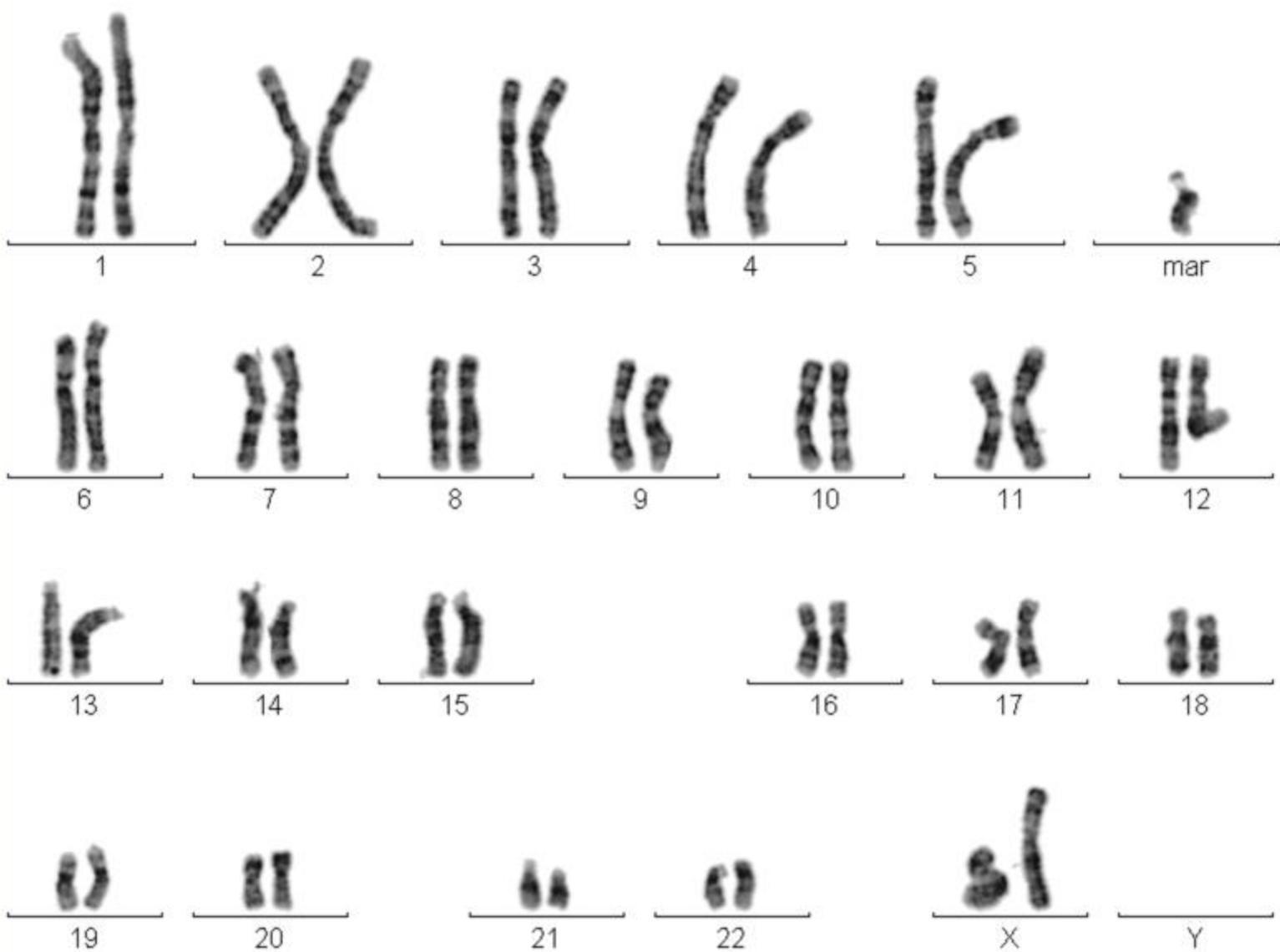
Caso	Cariotipo	Estructura del marcador	<u># de células línea aberrada</u> # de células línea normal	Origen parental o de novo	Análisis físico del material abortivo o recién nacido
Caso IV-1	47,XX, + mar / 46,XX	Metacéntrico pequeño	3/27	De novo	Aborto espontáneo
Caso IV-2	47,XX, + mar / 46,XX	Metacéntrico pequeño con abundante heterocromatina	9/16	De novo	Feto normal
Caso IV-3	47,XY,+ mar/46,XY	Metacéntrico pequeño con heterocromatina centromérica	4/11	De novo	Feto normal
Caso IV-4	47,XY,+ mar/46,XY	Estructura acrocéntrica pequeña con satélites	4/22	De novo	Feto normal
Caso IV-5	47,XX, +mar/ 46,XX	del (9)(q11.1)?	6/14	De novo	Feto anormal
Caso IV-6	47,XY,+ mar/46,XY	Fragmento acéntrico	59/241	Origen materno	Recién nacido normal
Caso IV-7	47,XX, + mar / 46,XX	Metacéntrico pequeño	13/37	Origen paterno	Recién nacido normal
Caso IV-8	47,XY, +mar/ 46,XY	Fragmento pequeño acrocéntrico	2/49	¿?	¿?
Caso IV-9	47,XY,+mar/48,XY,+2mar/49,XY,+3mar/46,XY	Minutas cromosómicas acéntricas	14/10/4/4	¿?	Recién nacido normal



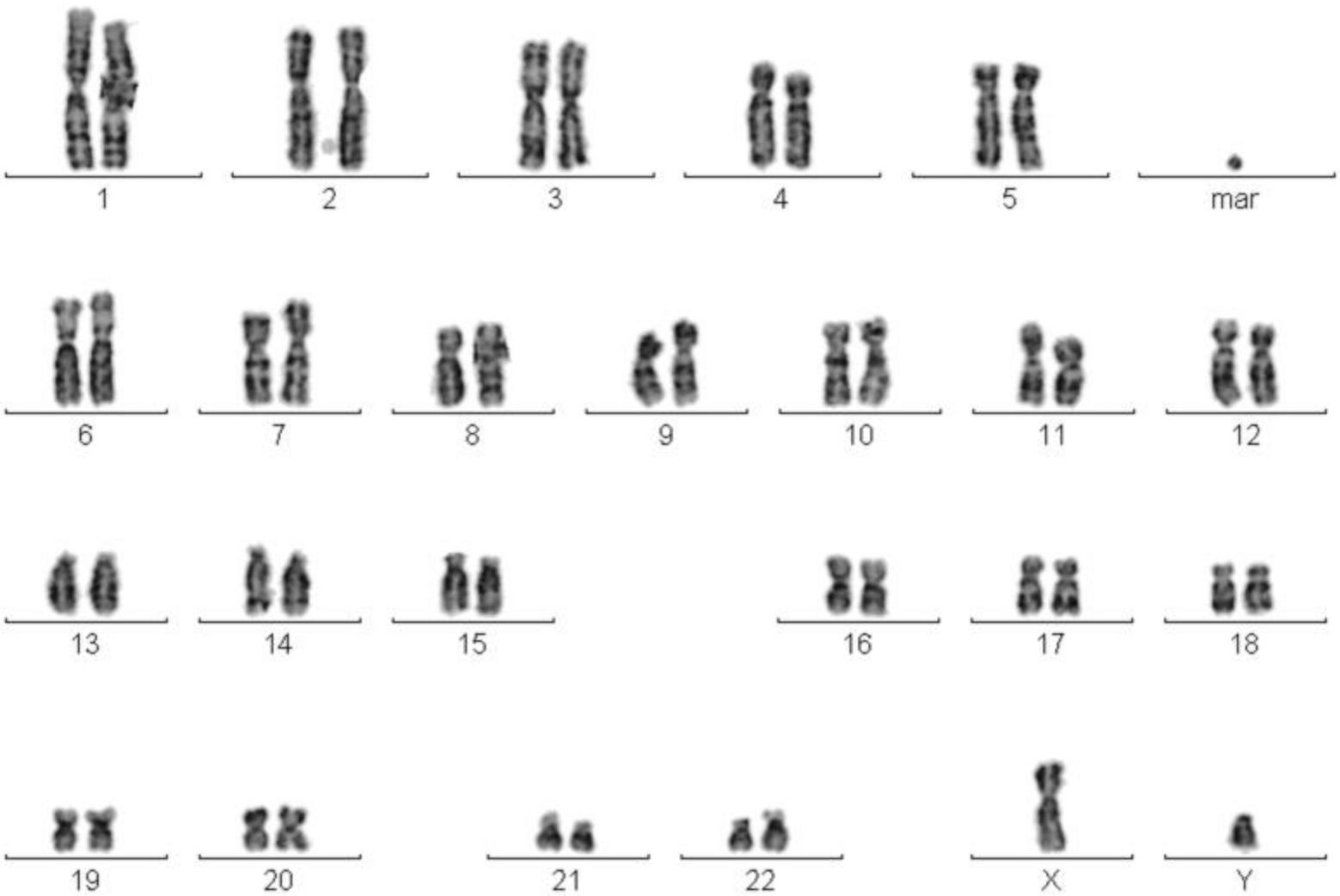
Anexo 18. Caso IV-2. Línea con cromosoma marcador .



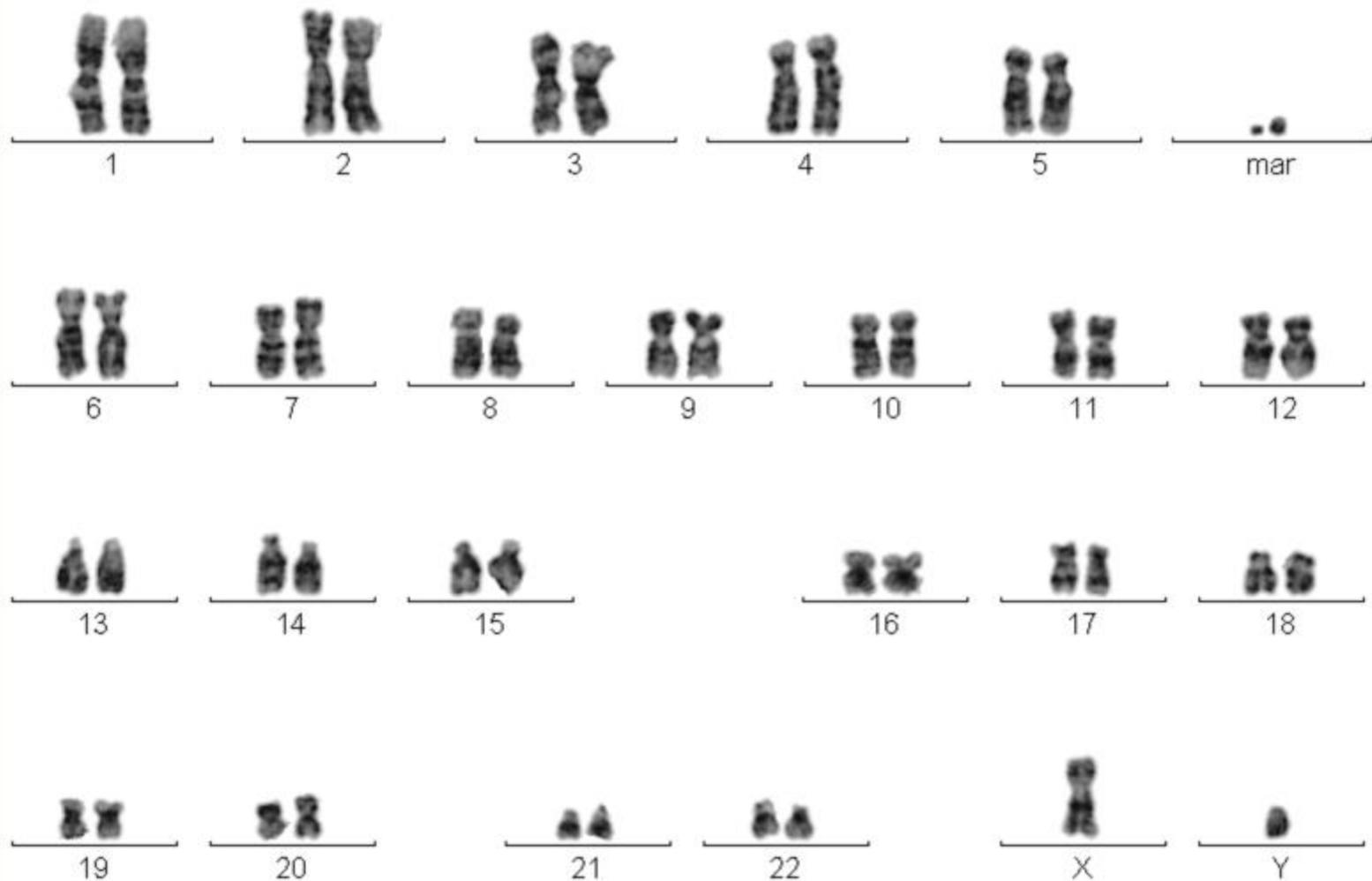
Anexo 19. Caso IV-3. Línea con cromosoma marcador



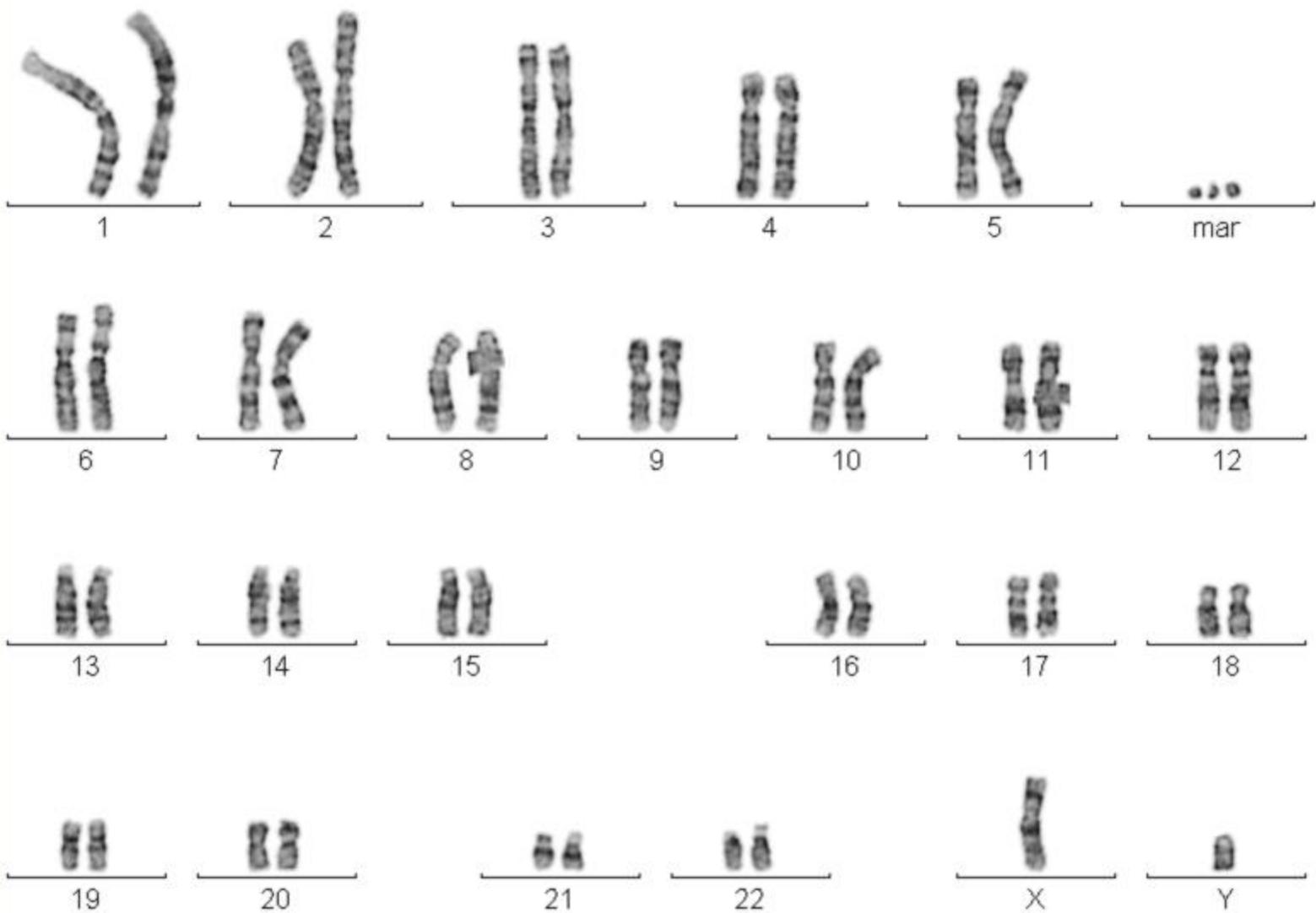
Anexo 20. Caso IV-4. Marcador acrocéntrico con satélites



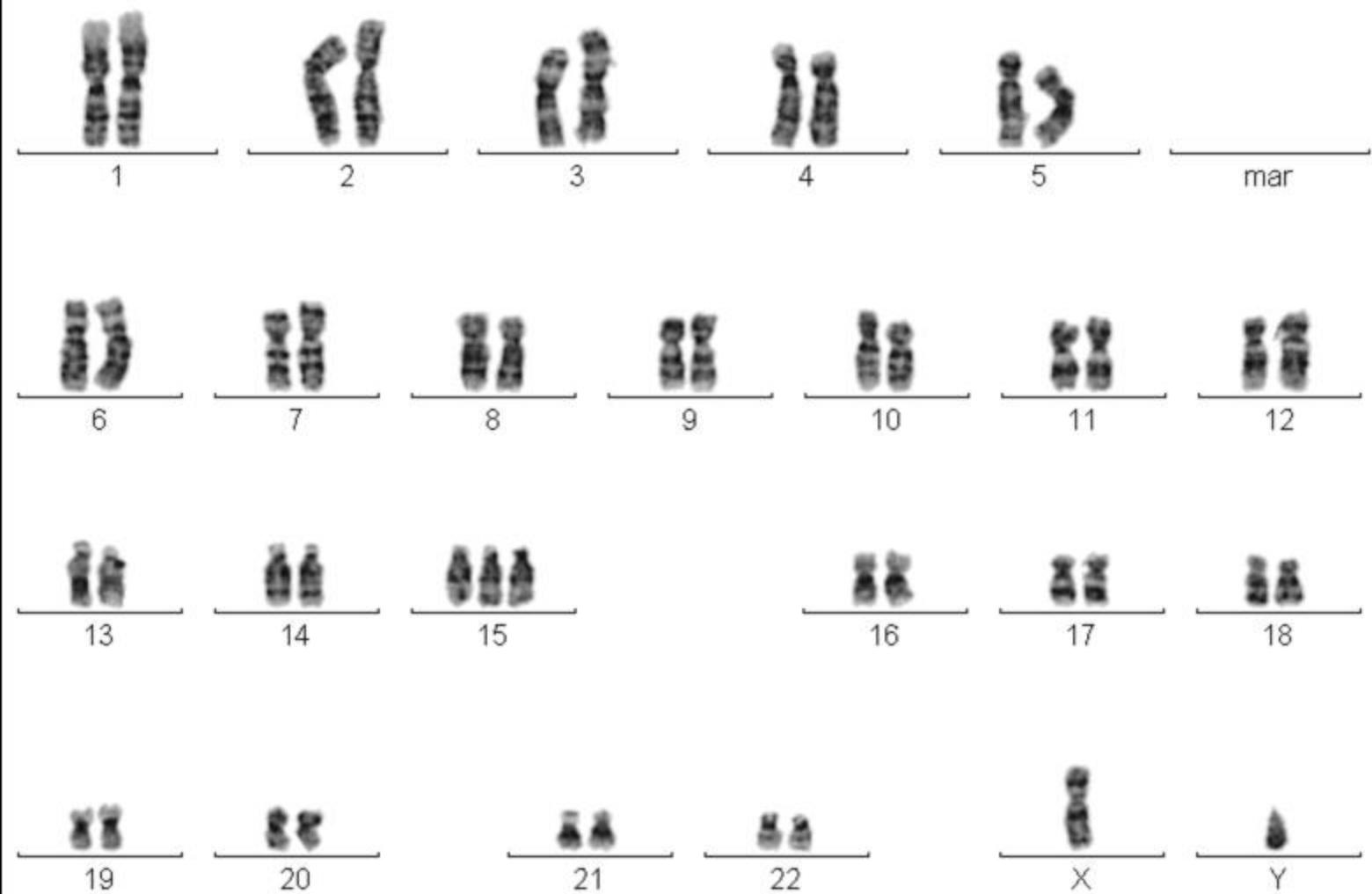
Anexo 22. Caso IV-9. Línea con una minuta cromosómica.



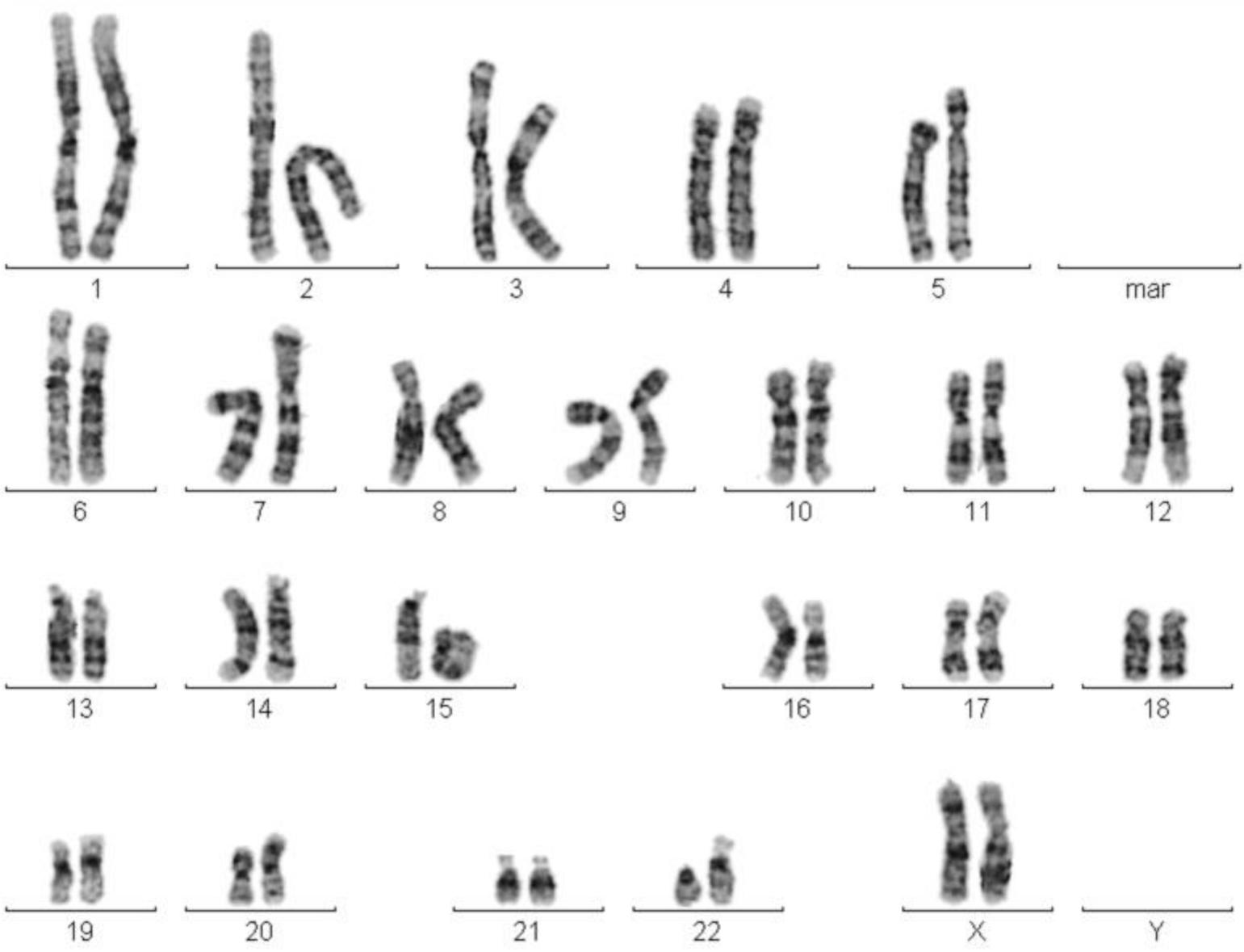
Anexo 23. Caso IV-9. Línea con dos minutas cromosómicas



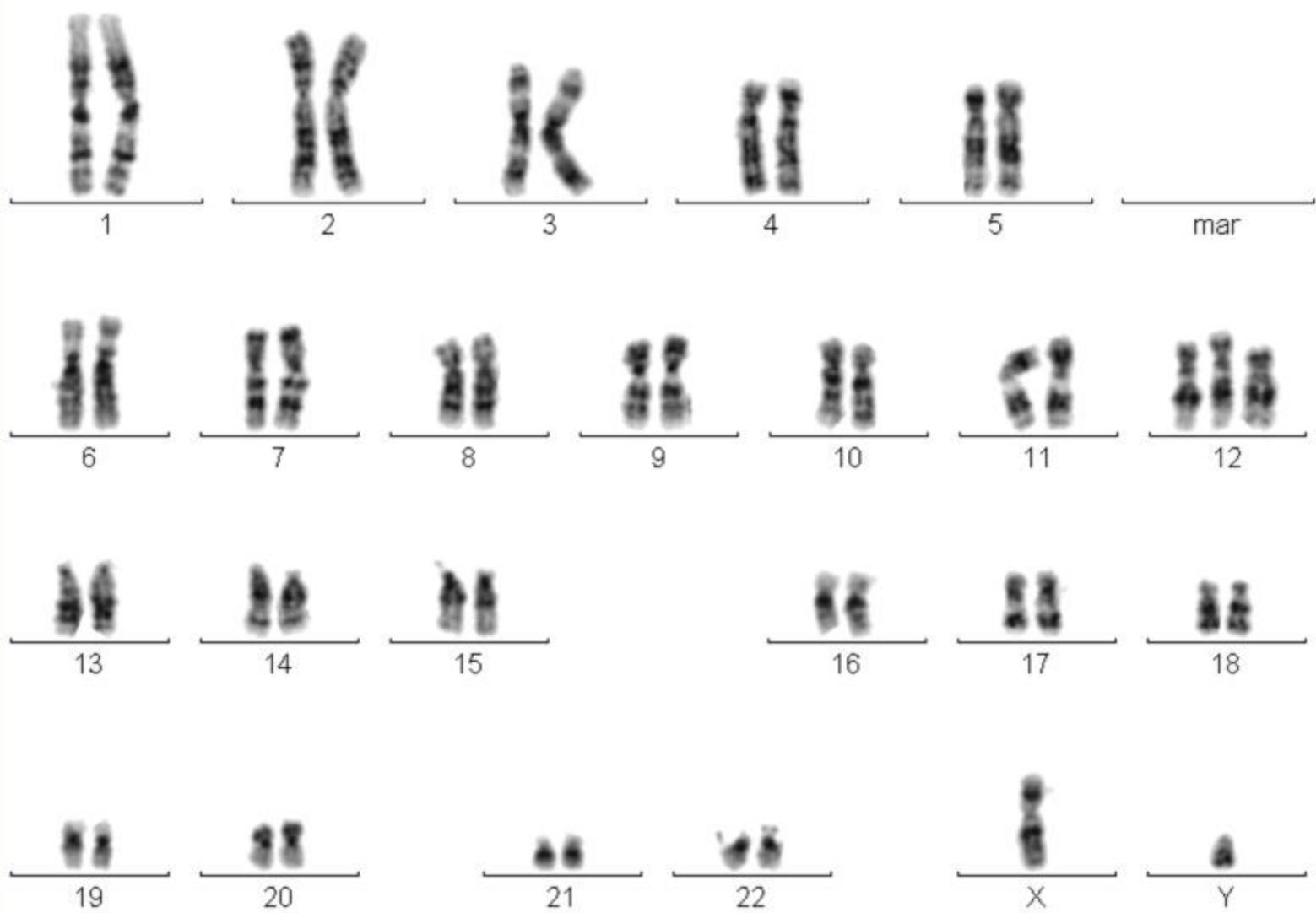
Anexo 24. Caso IV-9. Línea con tres minutas cromosómicas



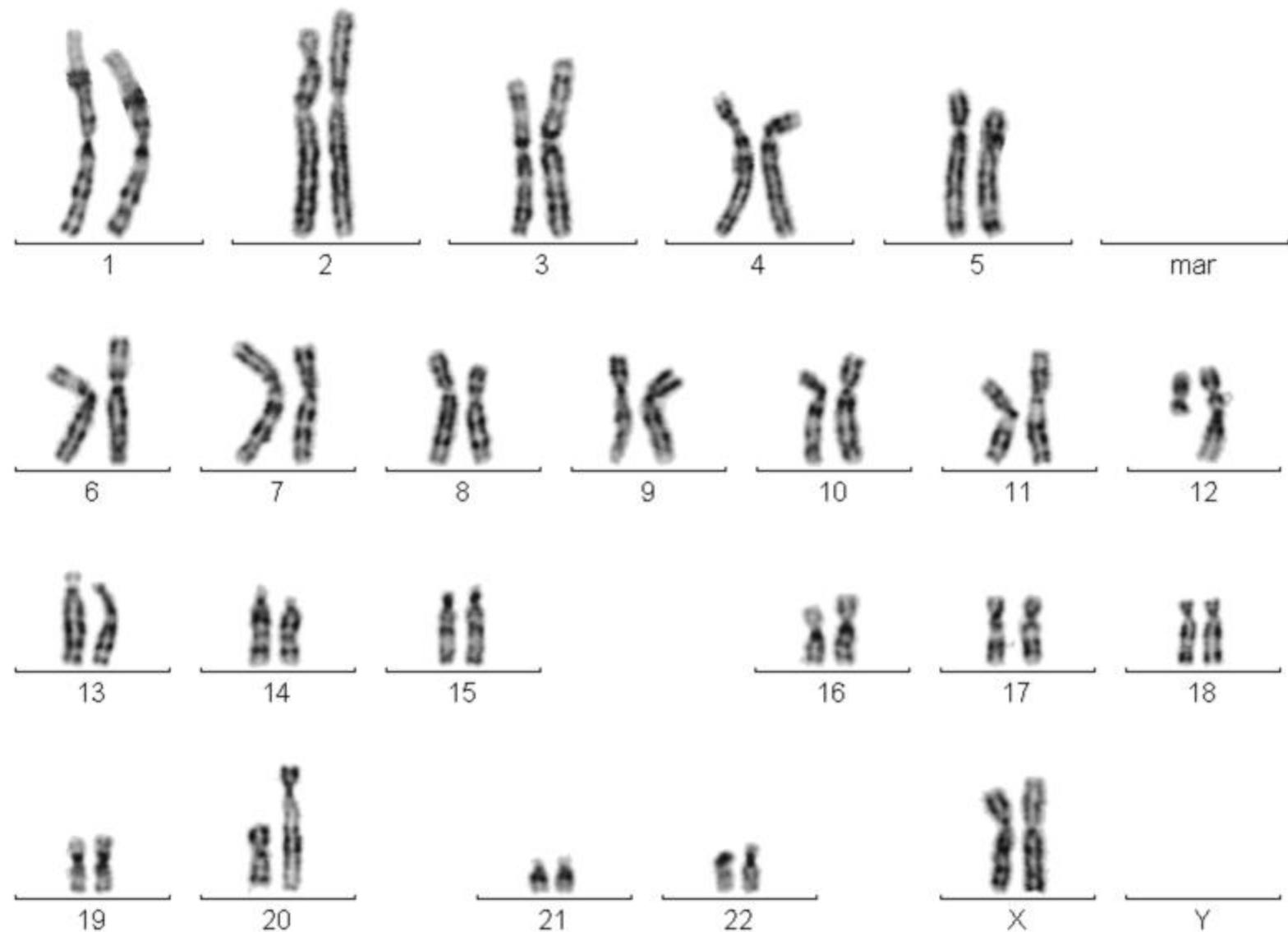
Anexo 25. Pseudomosaicismo. Célula con trisomía 15



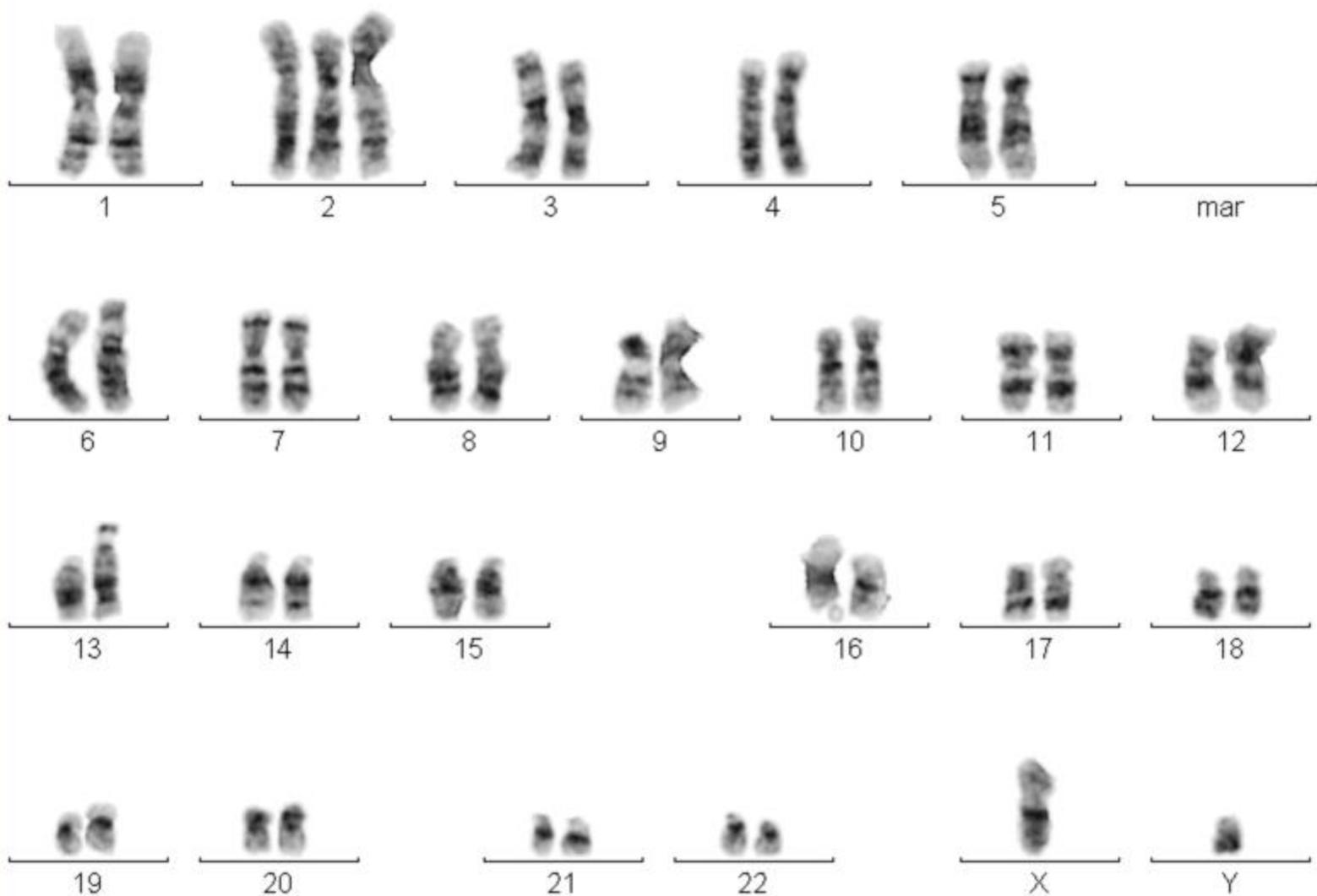
Anexo 26. Pseudomosaicismo. Célula con anillo del cromosoma 15 y del (5p).



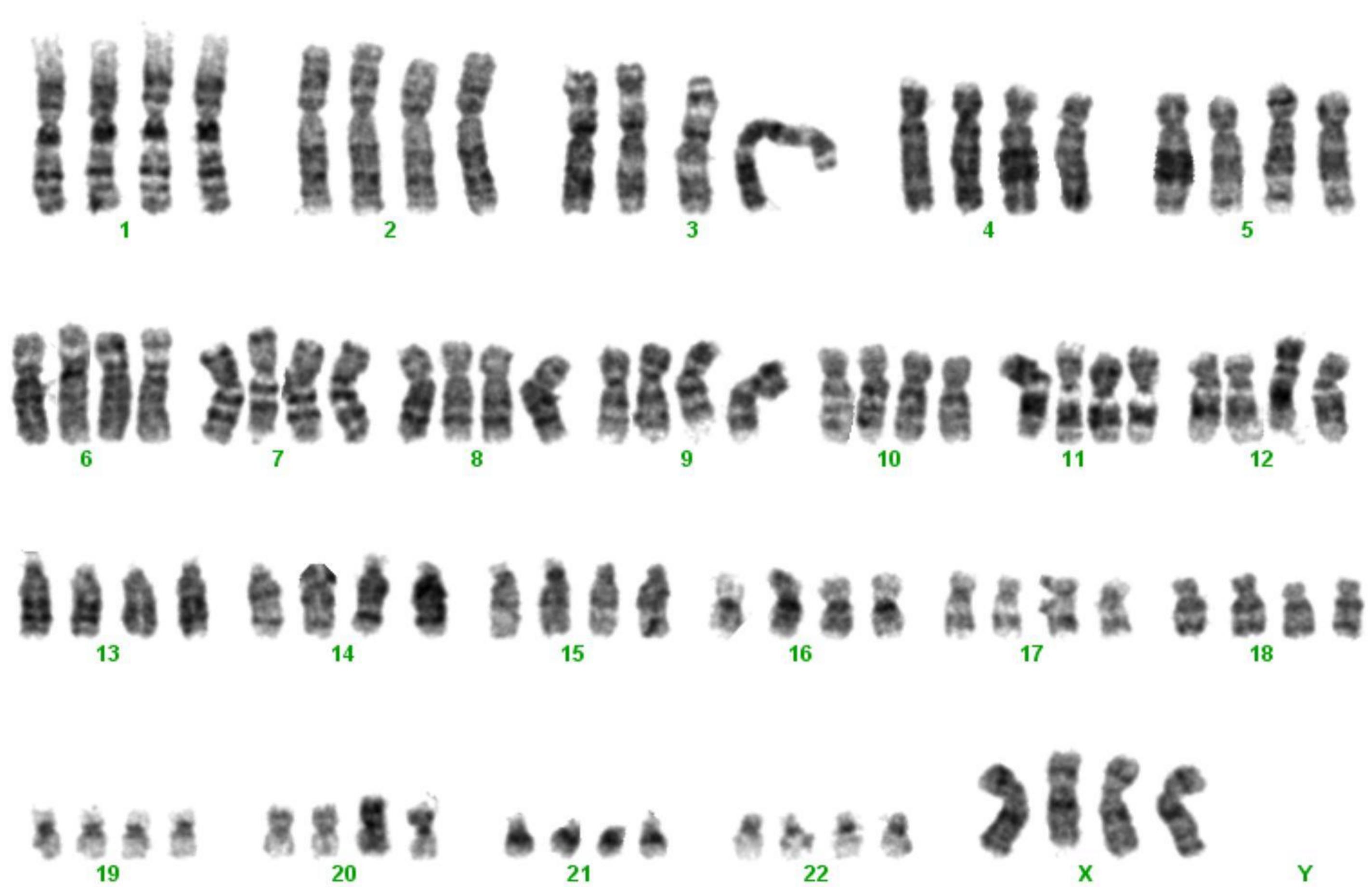
Anexo 27. Pseudomosaico. Célula con trisomía 12



Anexo 28. Pseudomosaicismo. Célula con $t(12;20)(q13.1;q13.3)$



Anexo 29. Pseudomosaicismo. Línea con trisomía 2.



Anexo 30. Ejemplo de pseudomosaicismo. Poliploidía 4n.

Anexo 31 - Pseudomosaicismo de nivel I

Tipos de anomalías	Número de células
Estructural	351
1- Balanceada	
a) Translocación recíproca	64
c) Inversiones	3
2- Desbalanceadas	
a) Deleciones	169
b) Material cromosómico adicional	35
c) Isocromosomas	9
d) Marcador supernumerario	68
e) Anillos	3
Numéricas	202
a) Trisomías autosómicas	192
b) Trisomías sexuales	10
X X X	8
X X Y	1
YY	1
TOTAL	553

Anexo 32 - Pseudomosaicismo de múltiples células.

Tipos de anomalías	Número de casos
1- Estructurales	27
1.1-Balanceadas	
a) Translocación recíproca	11
c) Inversiones	1
1.2- Desbalanceadas	
a) Deleciones	5
b) Material cromosómico adicional	2
c) Isocromosoma	2
d) Marcador supernumerario	5
e) dicéntrico	1
2- Numéricas	31
monosomía autosómica	1
Trisomía autosómica	22
Trisomía sexual	
XXX	1
Monosomias sexuales	
45, X	7
Otros	
46,XX/46,XY	5
Total	63

Anexo 33 - Comparación de los periodos 1984-1999 y 2003-2007 con los rangos establecidos internacionalmente

Estudios por periodos	% de mosaicismo	Mosaicos de aberraciones Estructurales.
1984-1999	0,49%	0,1%
2003-2007	0,20%	0,04%
Rangos establecidos internacionalmente (EEUU, Europa, Canadá)	0,10-0,30%	0,02-0,04%

TÍTULO

RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO PRENATAL CITOGENÉTICO EN LAS PROVINCIAS OCCIDENTALES DE CUBA, 1984 - 1998.

AUTORES

Dr. Jorge Quintana Aguilar, Lic. Olga Quiñones Maza, Lic. Luis A. Méndez Rosado, Lic. Martha Lavista González, Tec. Margarita Gómez González, Tec. Norma Dieppa Padrón.

Departamento de Citogenética. Centro Nacional de Genética Médica, Ciudad de La Habana, Cuba.

E. mail: citogen@infomed.sld.cu

RESUMEN

Objetivos: Determinar las frecuencias de las diferentes anomalías cromosómicas diagnosticadas prenatalmente, el número de interrupciones de embarazo realizadas a partir de este diagnóstico y el análisis de costo beneficio del subprograma de diagnóstico prenatal citogenético.

Metodología: Los datos fueron tomados de los protocolos del Departamento de Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica, donde constan los estudios cromosómicos prenatales realizados mediante análisis de células en muestras de líquido amniótico y de vellosidades coriales. En el caso de detectarse anomalías cromosómicas fetales, estas se informaron a las parejas en consulta de Asesoramiento Genético. Las decisiones sobre las interrupciones de embarazo fueron tomadas libremente por las parejas, siguiendo los principios del Asesoramiento Genético no directivo. El cálculo económico se realizó en base a los costos del diagnóstico prenatal citogenético y los gastos incurridos en la atención de niños con discapacidades en instituciones especializadas.

Resultados: Durante el periodo estudiado se detectaron prenatalmente 211 resultados de análisis con anomalías cromosómicas, incluyendo 92 casos con Síndrome de Down, 41 con reordenamientos cromosómicos estructurales y 38 mosaicos. Se realizaron 175 interrupciones de embarazos en casos de fetos con enfermedades cromosómicas. Como consecuencia del subprograma de Diagnóstico Prenatal Citogenético se ha ahorrado al país, como mínimo \$733 086.00/año.

Conclusiones: El subprograma de Diagnóstico Prenatal Citogenético desarrollado en nuestra institución se justifica, tanto desde el punto ético como económico.

PALABRAS CLAVES

Diagnóstico prenatal, Síndrome de Down, anomalías cromosómicas.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cromosómicas son relativamente frecuentes en poblaciones humanas. Su incidencia al nacimiento es de 0,6 por 100 nacidos vivos y de ellas la más frecuente es el Síndrome de Down, que se presenta en 1:800 recién nacidos (1,2,3). Los métodos de diagnóstico prenatal en parejas de riesgo constituyen un método altamente confiable para su prevención.

El diagnóstico prenatal del Síndrome de Down y otras enfermedades cromosómicas se inició en Ciudad Habana en 1984 mediante análisis de líquido amniótico obtenido por amniocentesis en el segundo trimestre del embarazo (4) y en 1987 se introdujo el diagnóstico por análisis de

vellosidades coriónicas en el primer trimestre (5) como parte del Programa Nacional de Diagnóstico y Prevención de Enfermedades Genéticas dirigido por el Centro Nacional de Genética Médica (6) y financiado por la Dirección Materno Infantil del MINSAP.

En éste trabajo se analizan los resultados del subprograma de diagnóstico prenatal del Síndrome de Down y otras enfermedades cromosómicas en el Departamento de Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica, basándonos en los objetivos siguientes.

1. Determinar las frecuencias de las diferentes anomalías cromosómicas detectadas prenatalmente.
2. Calcular cuantas interrupciones de embarazo se han realizado en casos de fetos con anomalías cromosomas.
3. Realizar un análisis costo beneficio del subprograma de diagnóstico prenatal citogenético desarrollado en Ciudad de La Habana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos fueron tomados de los protocolos del Departamento de Citogenética del Centro Nacional de Genética Médica en Ciudad de La Habana durante el período comprendido desde enero de 1984 hasta diciembre de 1998.

Los embarazos de riesgo para Síndrome de Down y otras enfermedades cromosómicas fueron detectados a nivel primario por los Médicos de Familia y evaluados por los especialistas en Genética Clínica municipales en Ciudad de La Habana y en los departamentos provinciales de Genética de La Habana y Pinar del Río. Las gestantes residentes en Ciudad de La Habana y provincia La Habana fueron remitidas al Departamento Provincial de Genética de Ciudad de La Habana donde fueron atendidas en consultas de Asesoramiento Genético y se les realizaron estudios ultrasonográficos previos a las tomas de muestras por amniocentesis ó biopsias coriónicas. En los casos de Pinar del Río se realizaron las amniocentesis en el Departamento Provincial de Genética de esa localidad y las muestras fueron enviadas a Ciudad de La Habana. En todos los casos el Asesoramiento Genético fue no directivo y se pidió consentimiento informado a las parejas.

En la totalidad de los casos con hallazgos de translocaciones cromosómicas fetales se les brindó a las parejas la posibilidad de realizarse estudios cromosómicos, con vistas a determinar el origen del reordenamiento (si es heredado ó de novo) para un mejor asesoramiento genético y se ofrecieron estudios a otros posibles portadores en las familias.

Los criterios de indicaciones para practicar el Diagnostico Prenatal Citogenético fueron los siguientes:

- Avanzada edad materna (38 años y más).
- Hijo previo con Síndrome de Down u otras enfermedades cromosómicas.
- Historia familiar de malformaciones congénitas y otras alteraciones de etiología supuestamente cromosómica.
- Diagnóstico del sexo fetal en mujeres portadoras de enfermedades ligadas al sexo.
- Un padre portador de reordenamiento cromosómico balanceado.
- Hallazgos ultrasonográficos de malformaciones fetales frecuentemente asociadas a enfermedades cromosómicas.
- Marcadores bioquímicos en suero materno (AFP/hCG).
- Otras (estudios moleculares, exposición a radiaciones ionizantes, ansiedad materna, etc.).

Los cultivos de las células fetales presentes en el líquido amniótico fueron realizados de acuerdo a los métodos convencionales (7) y los análisis cromosómicos en vellosidades coriónicas se hicieron de acuerdo al método directo descrito por Simoni y cols. en 1983 (8). En todos los casos se realizaron las tinciones cromosómicas de rutina con bandas GTG, analizándose al menos 10 metafases de diferentes frascos de cultivos en casos normales. Otras técnicas de bandeado (C y NOR) fueron utilizadas en casos necesarios, de acuerdo a los hallazgos individuales.

Los informes de los resultados fueron enviados a los servicios de genética clínica que remitieron los casos. En casos de detectarse anomalías cromosómicas fetales, ellas se informaron a las parejas en consulta de Asesoramiento Genético por médicos especialistas en Genética Clínica. Las decisiones sobre las interrupciones de embarazo fueron tomadas libremente por las parejas, siguiendo los principios del Asesoramiento Genético no directivo.

Los fetos abortados fueron examinados en los departamentos de Anatomía Patológica de cada territorio, contando generalmente con la participación de los genetistas clínicos, con vistas a la confirmación del diagnóstico realizado.

El cálculo económico se realizó en base a los costos del diagnóstico prenatal citogenético por concepto de reactivos, material gastable, equipos necesarios y salarios del personal. Los gastos estimados para atención de niños con discapacidades se basan en información obtenida en instituciones especializadas.

RESULTADOS

Durante el período que se analiza fueron realizados un total de 6669 estudios cromosómicos prenatales, de ellos 4884 por análisis de líquido amniótico y el resto en vellosidades coriales, detectándose un total de 211 resultados con anomalías cromosómicas para un 3,16% (Tabla1).

Tabla 1. Distribución de análisis de acuerdo al tipo de muestra.

Tipo de muestra	No. de casos	Resultados anormales	%
LA	4884	164	3,35
VC	1785	47	2,63
Totales	6669	211	3,16

LA. Análisis en células de líquido amniótico

VC. Análisis en células de vellosidades coriales

Como puede observarse en la tabla 2, la principal indicación para los estudios fue la avanzada edad materna (70,20 % del total de casos).

Tabla 2. Distribución de casos de acuerdo a las indicaciones para diagnóstico prenatal citogenético.

Indicaciones	No. De casos	(%)
Avanzada edad materna	4682	(70,20)
Hijo previo	696	(10,43)
Historia familiar	447	(6,70)
Enfermedades ligadas al sexo	119	(1,78)
Un padre portador de reordenamiento cromosómico balanceado	35	(0,52)
Hallazgos ultrasonográficos	65	(0,97)
Marcadores séricos	53	(0,79)
Otras	572	(8,57)

En relación con los tipos de anomalías, se encontraron 185 resultados con desbalances cromosómicos; los más frecuentes fueron del tipo de las aneuploidías. En total se detectaron 92 casos de Síndrome de Down, de ellos 83 por trisomías 21 libres, 2 por translocaciones no

balanceadas y 7 mosaicos con una línea celular trisómica para el cromosoma 21. Además, 41 con reordenamientos cromosómicos estructurales y 38 mosaicos.

Tabla 3. Tipos de anomalías cromosómicas.

Tipos de anomalías	No. de casos		
	LA	VC	Totales
Aneuploidías	107	25	132
+21	68	15	83
+18	20	1	21
+13	2	4	6
Sexuales	10	2	12
Marcadores Supernumerarios	5	0	5
Otras	2	3	5
Reordenamientos estructurales	33	8	41
Balanceados	20	6	26
No balanceados	13	2	15
Mosaicos	24	14	38*
Total	164	47	211

* Se incluyen 5 casos de pseudomosaicismos

Las fórmulas cromosómicas de los reordenamientos estructurales y mosaicos aparecen a continuación.

Tabla 4. Reordenamientos estructurales balanceados encontrados en análisis de líquido amniótico.

Fórmulas cromosómicas	No. de casos
45,XY,t(13q;14q)	3
45,XX,t(13q;14q)	1
46,XX,t(5p;9p)	1
46,XX,t(11q;18q)	1
46,XY,t(1q;7q)	1
46,XX,t(13;18)	1
46,XX,t(8q;10q)	1
46,XY,t(1p;7p)	1
46,XX,inv(3q)	1
46,XX,t(7q;14q)	1
46,XY,t(3-?)	1
45,XX,t(15q;21q)	1
46,XY,t(3p21;8p23)	1
46,XX,t(6p;14q)	1
46,XX,t(9q;16q)	1
46,XX,t(8q;22q)	1
46,XY,t(1p;11p)	1
45,XX,t(14q;21q)	1
Total	20

Tabla 5. Reordenamientos estructurales balanceados encontrados en análisis de vellosidades coriónicas

Fórmulas cromosómicas	No. de casos
45,XX,t(14q;21q)	1
46,XX,t(6q;10q)	1
46,XX,t(1q;4q)	1
45,XX,t(13q;14q)	1
46,XX,t(3p;8p)	1
46,XY,t(1q;13q)	1

Total	6
-------	---

Tabla 6. Reordenamientos estructurales no balanceados encontrados en análisis de líquido amniótico.

Fórmulas cromosómicas	No. de casos
46,XX, t(13q;21q)+13	1
46,XX, dup(4q3)	1
46,XX, -21,t(21q;21q)	1
46,XX,-14,-21, t(14q;21q)	1
46,XY, del (18p)	1
46,X, del(Xp)	1
46,X, i(7q)	1
46,XX, 12p+	1
46,XY, t(7q;9q)	1
46,XX, del(8p)	1
46,XX, del(10q)	1
46,XX, del(18p)	1
46,XX, del(2q)	1
Total	13

Tabla 7. Reordenamientos estructurales no balanceados encontrados en análisis de vellosidades coriónicas

Fórmulas cromosómicas	No. de casos
46,XY, dup(10pter)	1
46,XX, t(9q;10q)	1
Total	2

Tabla 8. Mosaicos encontrados en análisis de líquido amniótico.

Fórmulas cromosómicas	No. de casos
46,XX/45,X	7
46,XX/47,XX, +mar (2 casos)	2
46,XX/45,X/46, X, i(Xq)	1
46,XX/46,XX, t(9;17)	1
46,XY/47,XY+18	1
46,XX/47,XX,+21	2
46,XY/47,XY, +21	1
46,XY/47,XY, +14	1
46,XX/47,XXX	1
46,XY/47,XY+13	1
46,XX/46,XX, t(X;14)	1
46,XY/47,XY, +22	1
46,XX/46,XX, del(8p)	1
46,XY/46,XY, t(3q;7q)	1
46,XY/47,XY, +mar	1
46,XY/47,XY, +22	1
Total	24

Tabla 9. Mosaicos encontrados en análisis de vellosidades coriónicas.

Fórmulas cromosómicas	No. de casos
46,XX/47, XX, +8	1
46,XX/46, XY	2 (a)
46,XY/47,XY, +mar	1 (a)
46,XY/47,XY+18	2
46,XX/47,XX,+22	1 (a)

46,XY/47,XY, +21	2
46,XX/47,XX, +21	2
46,XX/47,XXX	1
46,XX/47,XXX	1 (a)
46,XY/46,XY, t(2q;14q)	1
Total	14

(a) Pseudomosaicismos

Durante el período que se analiza, se realizaron un total de 175 interrupciones de embarazo a solicitud de las parejas por las siguientes causas: 129 aneuploidías (entre ellas 81 casos con Síndrome de Down), 13 reordenamientos estructurales no balanceados y 33 mosaicos. No se interrumpieron 26 casos con reordenamientos estructurales balanceados, 5 pseudomosaicos y 5 casos de fetos con anomalías cromosómicas (dos casos con Síndrome de Down, un Síndrome de Turner, y dos con anomalías estructurales: del(Xp) y 12p+). En éstos últimos las parejas optaron libremente por continuar sus embarazos después de conocer sus resultados en consultas de Asesoramiento Genético

En la Tabla 10 aparecen los costos estimados en base a los precios actuales de los insumos en el mercado internacional, así como también gastos en salarios.

Tabla 10. Costos del diagnóstico prenatal citogenético por año (sobre la base de 445 análisis de LA por año).

Concepto	Costo anual (\$)
Reactivos y material gastable	17 800
Equipos de laboratorio	1 574
Salarios	17 940
Total	37 314

El calculo del costo del Subprograma de Citogenética se estima en base a un promedio de 445 análisis en muestras de líquido amniótico por año porque es el que ha predominado en nuestra muestra, considerando como promedio 6 casos de Síndrome de Down por año calculados sobre la base de la totalidad de casos detectados. Los demás casos con anomalías cromosómicas pueden presentar cuadros clínicos muy variables y no se incluyeron en el análisis.

Según información obtenida en el Dpto. Económico del Hogar de Impedidos Físicos y Mentales "La Castellana" en Ciudad de La Habana en 1999 (9), la atención especializada de niños institucionalizados con retraso mental moderado, como son los pacientes con Síndrome de Down tiene un costo estimado de \$1070 por mes. Considerando los gastos por concepto solamente de educación especializada en éstos casos y asumiendo que estarían institucionalizados durante 10 años cada uno de ellos, sería: \$128 400 por cada caso, lo que implica sobre la base de 6 casos de Síndrome de Down por año un total de: \$ 770 400

DISCUSIÓN

La avanzada edad materna como la indicación más frecuente para los estudios prenatales encontrada por nosotros, coincide con lo reportado por Milunsky en 1998, en Estados Unidos de Norteamérica (10).

El hecho de encontrar trisomías 21 libres se explica por la demostrada asociación entre la edad materna y la ocurrencia de la no disyunción cromosómica (11).

Se destacan los hallazgos de 8 translocaciones robertsonianas, 5 de ellas t(13q;14q) además de dos translocaciones (14q;21q) y una (15q;21q). El predominio de las translocaciones (13q;14q) se corresponden con lo reportado por otros autores (11).

En el caso de los reordenamientos estructurales no balanceados se destacan los hallazgos de 3 translocaciones robertsonianas no balanceadas de origen materno; en el caso de la t(21q;21q) el riesgo de recurrencia es de un 100% para el Síndrome de Down.

Entre los mosaicos cromosómicos cabe resaltar la frecuencia de los mosaicos sexuales con monosomías del X (7 casos) tratándose de un tipo de mosaicismo frecuente, con consecuencias fenotípicas consideradas en general como no graves, ya que en los casos de Síndrome de Turner no se presenta retraso mental. Además, se encontraron 3 casos de mosaicos con marcadores cromosómicos supernumerarios de origen desconocido. Particular atención merecen éstos últimos, los cuales constituyen un dilema en el diagnóstico prenatal y posterior asesoramiento genético. Se han descrito algunas técnicas de hibridación in situ que permiten analizar el origen de los cromosomas marcadores con elevada eficiencia (12). Por otra parte, se destacan los hallazgos de pseudomosaicos en análisis de vellosidades coriónicas (5 casos) que resultaron resultados falsos positivos. La frecuencia de mosaicos verdaderos en análisis de vellosidades fue de 0,5% (9/1780).

A pesar de que los criterios de afectación de la calidad de vida en algunos casos como son las aneuploidías sexuales tales como el Síndrome de Turner (por monosomía del X) y el Síndrome de Klinefelter (XXY) son muy discutibles, en nuestra experiencia, la mayoría de las parejas optaron por evitar los nacimientos de niños con enfermedades cromosómicas que puedan causar algún retraso en su desarrollo físico ó intelectual.

Teniendo en cuenta que el costo anual estimado del sub programa de diagnóstico prenatal citogenético es de \$37 314 anuales (Tabla 10), tenemos como resultado un ahorro al país como mínimo de \$733 086 / año. Esto es sin incluir otros gastos tales como hospitalización, tratamientos quirúrgicos, estomatológicos, gastos en medicamentos, dietas y afectación salarial de las madres trabajadoras.

A pesar que económicamente se justifican los gastos incurridos en un programa de prevención de éste tipo, consideramos que el principal beneficio está dado desde el punto de vista social, por los sufrimientos que se evitan en las familias en las que se presentan casos con enfermedades cromosómicas y la seguridad que se brinda a la mayoría de las parejas con resultados normales. Según Modell y Kuliev en 1998 (13), los análisis de costo-beneficio en los servicios genéticos incluyen la "aptitud genética", definida como la capacidad individual relativa a las normas poblaciones para tener niños que puedan crecer y reproducirse normalmente.

De acuerdo a Penchaszadeh, 1999 (14), la experiencia cubana demuestra que un país subdesarrollado con bajos ingresos y limitaciones de recursos puede cumplir con las metas de prevención y cuidados en casos de enfermedades genéticas y defectos congénitos mediante la implementación de políticas claras y una adecuada organización de los recursos.

Agradecimientos: A los Profesores V.B, Penchaszadeh, director de la División de Genética del Hospital Beth Israel en Nueva York y P. Malet (post-mortem), de la Facultad de Medicina de Clermont Ferrand, Francia, como colaboradores.

A los Médicos de Familias, colectivos de los Dptos de Genética Provinciales y genetistas municipales de Ciudad de La Habana, sin los cuales hubiera sido imposible realizar éste trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nielsen J, Wohler M, Faaborg-Anderson J et al: Incidence of chromosome abnormalities in newborn children: comparison between incidence in 1969-1974 and 1980-1982 in the same area. *Hum Genet* 1982;61:98.
2. Nielsen J, Wohler M: Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Hum Genet* 1991;87:81.
3. Stoll C, Alembik Y, Dott B et al: Study of Down's syndrome in 238,942 consecutive births. *Ann Genet* 1998;41:44-51.
4. Menendez F, Casaña H, Quintana J, Quiñones O, Méndez LA, Nazabal I et al. Cytogenetic Prenatal Diagnosis in Havana, Cuba. *Am J Hum Genet* 1987;41:3 (Supplement).

5. Quintana J, Oliva J, Rondon R, Nazabal JI, Carrillo L, Menéndez F: Cuban experience of chorionic villus sampling: cytogenetic findings. Data from 1987 to 1989. Early fetal diagnosis: recent progress and public health implication. Ed. M. Macek, M.A. Ferguson-Smith, M. Spala. Karolinum-Charles University Press, Prague, 1992.
6. Heredero L: Comprehensive national genetic program in a developing country: Cuba. In: Kuliev A, Greendale K, Penchaszadeh VB, Paul NW (Eds): Genetic Services Provision: An International Perspective. Birth Defects Orig Art Ser 1992; 28(3) 52-57.
7. ACT Cytogenetics Laboratory Manual. 2nd ed. Ed. Margaret J Barch. Raven Press, New York, 1991.
8. Simoni G, Brambati B, Danesino C et al: Efficient direct chromosome analysis and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. Hum Genet 1983;63:349-357.
9. López R. (Comunicación personal). Dpto. Economico del Hogar de Impedidos Físicos y Mentales "La Castellana". Ciudad de la Habana, 1999.
10. Milunsky A. Genetics Disorders and the Fetus. Diagnosis, Prevention and Treatment. Fourth ed. The John Hopkins University Press. Baltimore and London, 1998;185.
11. Ferguson Smith MA, Yates JRW. Maternal ages specific rates for chromosomes aberrations and factors influencing them: Report of a collaborative European study on 52,965 amniocenteses. Prenat Diagn (Special Issue) 1984;4-5.
12. Plattner R, Heerema NA, Yurov JB. Efficient identification of markers chromosomes in 27 patients by stepwise hybridization with alpha-satellite DNA probes. Hum Genet 1993;91:131.
13. Modell B, Kuliev A. The history of Community Genetics: the contribution of the haemoglobin disorders. Community Genet 1998;1:3-11.
14. Penchaszadeh VB. (Unpublished data). Presented at the Joint WHO/WAOPBD Meeting on Prevention and Care of Genetic Diseases and Birth Defects in Developing Countries, The Hague, January 5-7, 1999.