

1.2.3.3.- monosomies

Només dos grups de la taula 1.1, pàgina 22, refereixen casos de monosomia per un cromosoma autosòmic (Kajii et al. 1973; Grimoldi et al. 2001); la resta dels casos de monosomia trobats fan sempre referència a la monosomia X.

En l'únic autosoma en què s'ha descrit monosomia és el cromosoma 21, sempre en avortaments espontanis i en molt pocs casos (Joosten et al. 1996). Ja que les monosomies s'han de produir amb la mateixa freqüència que les trisomies, el fet que quasi no es detectin es deu, molt probablement, a que en principi són letals en etapes molt més precoces del desenvolupament embrionari (Edwards 1986). De fet, segons es desprèn d'estudis realitzats en animals i en embrions aconseguits *in vitro* de parelles on un dels dos membres és portador d'una translocació equilibrada, sembla que els embrions amb una monosomia parcial, fruit de l'herència desequilibrada de la translocació, no solen arribar a la fase de blastocist (Evsikov et al. 2000).

La monosomia X és l'única monosomia que es troba freqüentment entre els avortaments espontanis: 9% del total i 19.7% dels avortaments espontanis amb anomalia cromosòmica; la majoria dels embrions i fetus amb monosomia X són avortats (99.8%) (Egozcue 1997).

L'efecte de l'edat materna en la monosomia X sembla ser la contrària que en les trisomies: l'edat materna en els avortaments espontanis amb la monosomia és significativament més baixa que en els avortaments espontanis amb cariotips normals (Kajii i Ohama 1979).

En el 80% dels casos l'únic cromosoma sexual present és el d'origen matern; així que l'error que ocasiona la gran majoria de monosomies X ha de produir-se durant l'espermatogènesi o després de la fertilització, amb l'eliminació selectiva del cromosoma sexual patern (Jacobs 1990).

Pellestor dóna suport a l'existència d'un *imprinting* parental del cromosoma X, ja que no detecta excés d'hipohaploidia en espermatozoides. Segons això, les concepcions on falta el cromosoma X matern serien avortades molt precoçment (Pellestor 1991). Altres estudis, però, sí que troben un excés d'hipohaploidia i una tendència a la no-disjunció en espermatozoides de pares de monosomia X (Martínez Pasarell et al. 1999b; Martínez Pasarell et al. 1999a).

1.2.3.4.- anomalies estructurals

Les anomalies cromosòmiques estructurals es van començar a descriure sobretot a partir de la introducció de les tècniques de bandes per a l'anàlisi de les metafases obtingudes. Segons la qualitat i resolució del bandeig serà possible detectar més o menys anomalies d'aquest tipus.

Es troben anomalies estructurals en l'1.8% dels avortaments i en el 4.1% dels avortaments amb anomalies cromosòmiques; el 53.4% dels casos acaba amb un avortament (Egozcue 1997). Les anomalies cromosòmiques estructurals són heretades només en un 3-5% dels casos (Rubio et al. 1999).

Les més freqüents són les fusions cèntriques o translocacions robertsonianes. Altres anomalies estructurals són les translocacions recíproques, les inversions, les delecions i les insercions (aquestes dues darreres molt poc freqüents). Per altra part, aquests reordenaments poden ser heretats (d'origen patern en el 80% dels casos) o *de novo*, i ser equilibrats o desequilibrats.

1.2.3.5.- mosaics

Els valors publicats sobre anomalies cromosòmiques en mosaic són del 2 al 4.9% (Creasy et al. 1976; Hassold 1980; Chandley 1981). Evidentment, els valors oscil·laran segons el nombre de metafases analitzades. Hassold crea dos grups de pacients, segons el nombre de metafases estudiades, i el mosaicisme en el grup on ha analitzat 3-4 metafases és de l'1.8%, mentre que en el grup amb 10 metafases analitzades és del 6% (Hassold 1982). En l'altre extrem, Kajii suggereix que part del mosaicisme detectat en sèries amb una taxa molt elevada pot provenir d'anomalies *in vitro* associades amb cultius de llarga duració (Kajii et al. 1980).

Si el teixit fetal que s'analitza és placentari (per exemple, vellositats coriòniques), hi ha la possibilitat que aquest mosaïcisme estigui només confinat a la placenta i que l'embrió no tingui aquesta línia cel.lular amb una cromosomopatia. Això passa en aproximadament el 2% de totes les gestacions (Kalousek 1994), i els cromosomes més afectats són el 7, el 16 i el 18.

Normalment, l'origen és un zigot trisòmic amb una pèrdua post-zigòtica del cromosoma addicional (pèrdua anafàsica), donant com a resultat un risc de 1/3 que l'embrió disòmic sigui portador d'una disomia uniparental per aquell cromosoma (Kalousek i Barrett 1994). El que no està tant clar és si aquest fenomen pot ser la causa d'un avortament espontani, ja que hi ha treballs que postulen que no (Van Opstal et al. 1998) i altres que incouen la mort fetal dins del ventall de complicacions causades per un mosaïcisme placentari (Henderson et al. 1996).

En la Fig.1.8, pàgina 40, hi podem veure representats els diferents tipus de mosaics obtinguts en les estructures embrio-fetals a partir d'un zigot on s'han originat dues línies cel.lulars, una diploide i l'altra aneuploide, durant el període preimplantatori.

En (A) el mosaïcisme és generalitzat i es trobarà tant en l'embrió com en el fetus; en (B) el mosaïcisme ha quedat confinat a la placenta, mentre que l'embrió serà normal; en (C) a la placenta només s'hi trobarà la línia aneuploide, mentre que l'embrió és normal; i, finalment, en (D) el mosaïcisme està confinat al fetus, mentre que a la placenta només hi ha cèl.lules normals.

Amb un estudi citogenètic a partir de vellositats coriòniques, en els casos (B) i (C) el resultat serà un fals positiu i en (D) serà un fals negatiu respecte al cariotip embrionari, però això no vol dir que el zigot no tingués la línia aneuploide i que per tant aquesta anomalia cromosòmica no hagi pogut tenir un paper en l'avortament espontani d'aquest embrió.

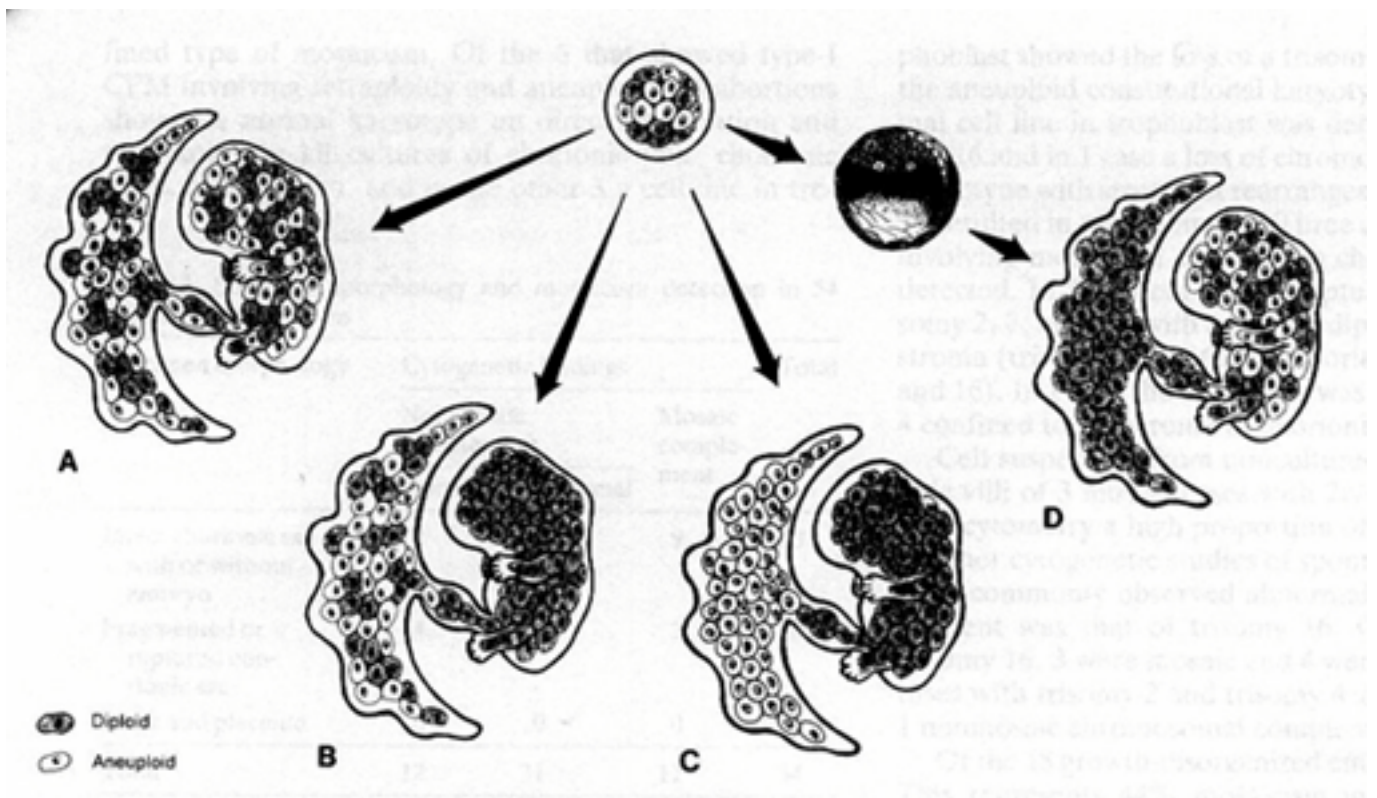


Fig.1.8.- Diferents tipus de mosaicisme originats en el període preimplantatori. (A) mosaicisme generalitzat. (B) mosaicisme confinat a la placenta i embrió normal. (C) placenta aneuploide i embrió normal. (D) placenta normal i embrió mosaic.

1.2.4.- anomalies cromosòmiques en el primer trimestre de la gestació

1.2.4.1.- incidència

Les poques publicacions restringides al primer trimestre de la gestació evidencien un augment en l'índex d'anomalies cromosòmiques en els avortaments espontanis analitzats (Eiben et al. 1987; Gueneri et al. 1987; Gardó i Bajnóczky 1992; Strom et al. 1992; Ribas et al. 1997) que confirmen les estimacions realitzades per Burgoyne a partir de la revisió de les dades de cinc centres (Burgoyne et al. 1991): un 70-80% dels embrions analitzats procedents d'avortaments espontanis de fins les 12 setmanes de gestació són portadors d'una anomalia cromosòmica.

Comparativament, l'estudi col.laboratiu europeu publicat sobre el diagnòstic citogenètic en vellositats coriòniques de gestacions evolutives de primer trimestre dona una taxa d'anomalies cromosòmiques del 5.2% (Hahnemnn i Vejerslev 1997).

1.2.4.2.- dificultats per a l'estudi

Hi ha dificultats per a l'estudi citogenètic dels embrions, que fan que hi hagi molt poques dades d'aquest primer període de la gestació. Entre elles hi ha la contaminació amb cèl.lules d'origen matern, les contaminacion fúngiques i bacterianes, i el no-creixement cel.lular degut a la mort de les cèl.lules, la falta d'adhesió cel.lular o un baix índex mitòtic.

1.2.4.2.1.- **contaminació materna:** la tècnica obstètrica utilitzada normalment per a l'evacuació uterina fa molt difícil el reconeixement del material d'origen embrionari i del d'origen matern. Per això és freqüent que s'acabi cultivant teixits materns que alteren o falsejen el resultat final. A més, un cultiu llarg de dues o tres setmanes de duració pot seleccionar positivament les cèl.lules materns, en contra de les cèl.lules embrionàries.

1.2.4.2.2.- **contaminacions fúngiques i bacterianes:** les mostres obtingudes sovint estan contaminades, ja sigui per la retenció de l'embrió dins l'úter com pel seu pas pel canal vaginal. A pesar d'utilitzar medis de cultiu amb antibiòtics, és difícil eradicar aquests gèrmens, que impossibilitaran el cultiu cel.lular.

1.2.4.3.- **no-creixement:** degut que moltes vegades la mostra porta ja un dies en procés de lisi cel.lular, és freqüent no obtenir creixement cel.lular suficient com per a poder realitzar l'estudi citogenètic amb la qualitat i quantitat de metafases adequada. La freqüència de no-creixement pot arribar al 50% de les mostres cultivades (Johnson et al. 1990; Ribas et al. 1997).

1.3.- L'estudi citogenètic de les vellositats coriòniques

1.3.1.- resum històric

La possibilitat de biopsiar les vellositats coriòniques com a eina diagnòstica embrio-fetal fou postulada per Mohr al 1968, però no és fins al 1973 que Kullander i Sandahl publicaren les primeres biòpsies de vellositats coriòniques, on obtenien el cariotip en un 50% dels casos mitjançant cultiu llarg. Des de llavors ha augmentat el ventall de possibilitats diagnòstiques realitzables a partir de la mostra de vellositats: defectes enzimàtics, gènics, etc (Soler 1996).

Però l'aportació més important pel diagnòstic citogenètic va ser el realitzat per Simoni i col.laboradors, al descriure el mètode directe, o sigui la consecució de metafases a partir de les vellositats coriòniques sense necessitat de cultiu cel.lular, degut a l'alt índex mitòtic espontani de les cèl.lules trofoblàstiques (Simoni et al. 1983). L'any següent, el mateix grup descriu una variació d'aquest mètode mitjançant una curta incubació de les vellositats per tal d'incrementar el nombre de mitosis espontànies i millorar-ne la qualitat i la resolució; és l'anomenat mètode semidirecte (Simoni et al. 1984).

1.3.2.- fiabilitat de la tècnica

Els estudis col.laboratius publicats (Association of Clinical Cytogeneticists Working Party 1994; Hahnemnn i Vejerslev 1997; Ledbetter et al. 1992; Lippman et al. 1992) recullen dades obtingudes per laboratoris de citogenètica dels Estats Units, Regne Unit, Europa i Canadà, respectivament, sobre

l'aplicació de l'estudi citogenètic en vellositats coriòniques de gestacions evolutives de primer trimestre.

La taxa d'èxits es refereix al nombre de resultats obtinguts sobre el total de mostres processades, i és superior al 97%. Els falsos positius i falsos negatius fan referència a les discrepàncies citogenètiques que hi poden haver entre les vellositats coriòniques i l'embrió: el fals positiu és quan en vellositats apareix una anomalia cromosòmica (en totes les cèl.lules analitzades o en mosaic) però en l'embrió només hi ha cèl.lules normals, i el fals negatiu és quan en vellositats totes les cèl.lules tenen un cariotip normal però en l'embrió hi ha cèl.lules amb cromosomopatia.

Mentre que la possibilitat de falsos negatius és quasi despreciable (0.03%), el 0.15% de falsos positius recomanen comprovar mitjançant amniocentesi un resultat patològic en vellositats coriòniques que no es correspongui amb un patró morfològic malformatiu detectable per ecografia. Les sigles CPM (*confined placental mosaicism*) fan referència al mosaicisme confinat a placenta, és a dir quan un mosaic amb una línia amb una anomalia cromosòmica es pot detectar en vellositats coriòniques però no està present en l'embrió.

Per sensibilitat s'entén la proporció de fetus amb cromosomopatia diagnosticats correctament, és a dir amb un diagnòstic per vellositats coriòniques anormal, i per especificitat la proporció de fetus normals diagnosticats correctament, és a dir amb un diagnòstic prenatal normal. Per últim, per valor predictiu positiu (VPP) es refereix a la probabilitat que un fetus

sigui de veres afecte quan el cariotip prenatal és anormal, i valor predictiu negatiu (VPN) que el fetus sigui realment normal quan el cariotip prenatal ha donat un resultat de normalitat. (taula 1.4)

Taula 1.4.- Resum de les dades publicades en estudis col.laboratius realitzats als Estats Units, Canadà, Regne Unit i Europa, respectivament, referents al diagnòstic prenatal citogenètic en vellositats coriòniques de gestacions evolutives de primer trimestre.

	èxits	cariotip normal	fals+	fals-	cont. materna	mosaics	CPM	sensitivitat	especificitat	VPP	VPN
A	99.7%				1.8%	0.8%	1.6%				
B								87.5%	97.7%	52.5%	99.6%
C	97.6%			0	0.5%						
D		94.8%	0.15%	0.03%		0.15%	1%	98.9-99.6%	98.5-98.8%	72.6-78.3%	99.95-99.98

A: Ledbetter et al. 1992

B: Lippman et al. 1992

C: Association of Clinical Cytogeneticists Working Party 1994

D: Hahnemnn i Vejerslev 1997

Les conclusions extretes d'aquests amplis estudis es poden resumir en 5 punts.

En primer lloc és una tècnica eficaç per al diagnòstic d'anomalies cromosòmiques en els embrions, ja que de moment és la principal que es pot realitzar en el primer trimestre de la gestació. L'amniocentesi molt precoç, a les setmanes 11 i 12 de gestació, encara presenta problemes obstètrics, com ara la presència de poca quantitat de líquid amniòtic, i problemes citogenètics, ja que l'índex de cel.lularitat és molt baix en el líquid amniòtic d'aquestes setmanes gestacionals i això provoca problemes en el cultiu cel.lular.

En segon lloc, destacar que a mesura que augmenta l'experiència milloren també els resultats de la tècnica. Així doncs, els estudis més recents, en els quals els laboratoris ja fa més temps que fan diagnòstics prenats en vellositats coriòniques, i per tant amb millors tècniques citogenètiques i més preparació del personal, obtenen millors resultats. L'experiència també té repercussions en el tercer punt, la neteja de les vellositats coriòniques obtingudes per biòpsia sota la lupa binocular, que cal que sigui molt curosa per evitar al màxim la possibilitat de contaminació amb cèl.lules procedents de la mare. L'ús del mètode directe o semidirecte resol quasi definitivament aquest problema, ja que les cèl.lules maternes no haurien d'estar en divisió espontània.

Una altra conclusió és que, tot i que els resultats són bastant segurs, existeix la possibilitat que el cariotip obtingut no es correspongui total o parcialment amb el que realment posseeix l'embrió o fetus. És per això que determinades anomalies cromosòmiques trobades en diagnòstics prenats de gestacions evolutives han de ser comprovades en líquid amniòtic (si se sospita que poden ser anomalies confinades a placenta o no es corresponen amb les anomalies anatòmiques esperades, detectables per ecografia).

Un darrer punt és que el millor mètode per al diagnòstic prenatal citogenètic en vellositats coriòniques és l'aplicació en paral.lel del mètode directe o semidirecte i del cultiu llarg a totes les mostres on s'obtingui la quantitat suficient de vellositats coriòniques; així es realitza el diagnòstic en dos teixits embrionaris d'origen diferents, i permet reduir la possibilitat de falsos positius i negatius.