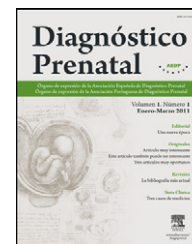


Diagnóstico Prenatal

www.elsevier.es/diagnprenat



Revisión

Tecnología BACs-on-Beads™ aplicada al diagnóstico prenatal y al estudio citogenético de restos abortivos

Inmaculada Campos-Galindo*, José Antonio Martínez-Conejero, Sandra García-Herrero, Gustavo Ayala-Álvarez y Carmen Rubio Lluesa

IVIOMICS, Parc Científic, Universitat de València, Paterna, Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 20 de marzo de 2012

Aceptado el 5 de abril de 2012

On-line el 7 de mayo de 2012

Palabras clave:

Prenatal rápido

BAC-on-Beads™

Aborto

Cariotipo

Aneuploidías

RESUMEN

La tecnología de BACs-on-Beads utiliza sondas de ADN procedentes de Cromosomas Artificiales Bacterianos o BAC fijados en microesferas Luminex®. La muestra marcada y los ADN de referencia marcados se hibridan respectivamente con las mismas sondas BoBs™ complementarias. Después de la hibridación se leen las intensidades de la señal mediante el sistema instrumental Luminex® 100/200. Se puede aplicar al diagnóstico prenatal rápido con un kit diseñado para descartar aneuploidías para los cromosomas 13, 18, 21 y los cromosomas sexuales así como ganancias y pérdidas de ADN asociadas con 9 síndromes de microdeleción como son: Síndrome de DiGeorge, Síndrome de Williams-Beuren, Síndrome de Prader-Willi, Síndrome de Angelman, Síndrome de Smith-Magenis, Síndrome de Wolf-Hirschhorn, Síndrome de Cri du Chat, Síndrome de Langer-Giedion, y Síndrome de Miller-Dieker. Basados en esta misma tecnología se ha desarrollado un kit llamado KaryoLite-BoBs™, que permite descartar aneuploidías para los 24 cromosomas y que se puede aplicar al estudio de alteraciones cromosómicas numéricas en restos abortivos. En este trabajo se presentan los resultados de nuestro grupo tras la aplicación de la tecnología de BAC-on-Beads™ en 332 muestras de líquido amniótico, 48 muestras de vellosidades coriales y en el estudio de aneuploidías en 71 muestras de restos abortivos.

© 2012 Asociación Española de Diagnóstico Prenatal. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

BACs-on-Beads™ technology applied to prenatal diagnosis and the cytogenetic study of abortion remains

ABSTRACT

BACs-on-Beads (BoBs) technology is based on DNA sequences from Bacterial Artificial Chromosomes fixed in Luminex® microspheres. The study sample and the reference DNA are labeled with similar but complementary BoBs™ probes. After the hybridisation, signal intensities were analysed using the Luminex® 100/200 instrumental system. This technology has been applied to rapid prenatal diagnosis with a kit designed to analyse aneuploidy for chromosomes 13, 18, 21 and sex chromosomes, and a panel of 9 microdeletion syndromes: DiGeorge, Williams-Beuren, Prader-Willi, Angelman, Smith-Magenis, Wolf-Hirschhorn, Cri du Chat, Langer-Giedion, and Miller-Dieker syndrome. Based on a similar technology,

Keywords:

Rapid prenatal diagnosis

BAC-on-Beads™

Abortion

Karyotype

Aneuploidy

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: Inmaculada.Campos@iviomics.com (I. Campos-Galindo).

2173-4127/\$ – see front matter © 2012 Asociación Española de Diagnóstico Prenatal. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diapre.2012.04.001>

KaryoLite-BoBs™ kit allows the identification of aneuploidy for all 24 chromosomes, and can be applied to the analysis of products of conception, among other possibilities. In this study we present our current experience in the application of BAC-on-Beads™ technology in 332 amniotic fluid samples; 48 chorionic villus samples and 71 samples from products of conception.

© 2012 Asociación Española de Diagnóstico Prenatal. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Los defectos congénitos son una de las causas principales de morbimortalidad en las sociedades desarrolladas. De ellos, el 6% es debido a cromosomopatías y se calcula que uno de cada 200 recién nacidos sufre alguna¹. Estos defectos congénitos pueden ser causados por una anomalía cromosómica o por una anomalía monogénica. Hay un pequeño grupo de defectos congénitos provocados por causas ambientales, como las infecciones fetales, aunque la mayoría de malformaciones físicas son de origen multifactorial, es decir, en ellas intervienen tanto factores ambientales como genéticos.

En la actualidad, hay un número creciente de estos defectos congénitos que pueden ser detectados precozmente mediante diagnóstico prenatal². Se dispone de varios métodos de cribado que facilitan un acercamiento al diagnóstico de anomalías congénitas fetales. Un diagnóstico prenatal ecográfico, mediante ecografía de alta resolución, permite poner de manifiesto ciertos rasgos fenotípicos, que se asocian a un riesgo más alto de cromosomopatía. En la población general de bajo riesgo, la efectividad en el cribado mejora si se evalúa conjuntamente marcadores ecográficos y bioquímicos durante el primer trimestre. Concretamente, se trata de determinar la translucencia nuchal, la subunidad β libre de la Gonadotropina Coriónica Humana ($\text{f}\beta$ -hCG) y la Proteína Plasmática A asociada al Embarazo (PAPP-A), en lo que se ha denominado test combinado bioquímico-ecográfico del primer trimestre. Con los marcadores tanto bioquímicos como morfológicos obtenidos, se realiza una estimación de riesgo, cuyo valor de corte está situado en aproximadamente 1/250, considerándose un riesgo alto de cromosomopatías aquellos valores mayores a este².

Si queremos hacer un diagnóstico cromosómico concluyente, la herramienta es el cariotipo en células fetales (amniocitos). El análisis citogenético de las metafases obtenidas tras el cultivo celular es la piedra angular a la hora de realizar un diagnóstico prenatal. El cariotipo convencional es un método altamente fiable para la detección de aneuploidías y reordenamientos estructurales de un tamaño superior a 5-10 millones de pares de bases¹. Sin embargo, las técnicas de citogenética clásica presentan entre otros inconvenientes: las limitaciones inherentes a su límite de resolución, ya que no permite la detección de deleciones y duplicaciones de menos de 5 Mb, así como de alteraciones estructurales crípticas; el periodo de espera de resultados es de 1 o 2 semanas (tiempo necesario para llevar a cabo un cultivo celular); y la necesidad de material cultivable vivo. Por este motivo, junto al estudio clásico del cariotipo fetal, se ofrece la posibilidad de un diagnóstico rápido complementario, en el que se estudian solo aquellos cromosomas implicados en las aneuploidías más

comunes y compatibles con la vida, que son aquellas que implican a los cromosomas sexuales y a los autosomas 13, 18 y 21. En el plazo de 24-48 h tras la recepción de la muestra obtenemos resultados para estas pruebas. Las técnicas de prenatal rápido más usadas actualmente son: hibridación *in situ* fluorescente (FISH), Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction (QF-PCR) y Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA).

En nuestro laboratorio, en los 2 últimos años, se ha implementado un nuevo test de diagnóstico prenatal rápido basado en la tecnología de BACs-on-Beads (BoBs™; CE-IVD) (Perkin Elmer, Turku, Finlandia), llamado Prenatal-BoBs™, que utiliza sondas de ADN procedentes de cromosomas artificiales bacterianos o BAC fijados en microesferas Luminex®. La muestra marcada y los ADN de referencia marcados se hibridan respectivamente con las mismas sondas BoBs complementarias. Después de la hibridación se leen las intensidades de la señal mediante el sistema instrumental Luminex® 100/200. El software compara las intensidades de señal de la muestra y las referencias para determinar cambios en el número de copias de ADN en las regiones diana.

Este kit para diagnóstico prenatal rápido se ha diseñado para descartar aneuploidías para los cromosomas 13, 18, 21 y los cromosomas sexuales así como ganancias y pérdidas de ADN asociadas con 9 síndromes de microdeleción como son: Síndrome de DiGeorge, Síndrome de Williams-Beuren, Síndrome de Prader-Willi, Síndrome de Angelman, Síndrome de Smith-Magenis, Síndrome de Wolf-Hirschhorn, Síndrome de Cri du Chat, Síndrome de Langer-Giedion, y Síndrome de Miller-Dieker.

Vialard et al. analizaron retrospectivamente mediante Prenatal-BoBs, 404 muestras prenatales que previamente habían sido estudiadas por métodos convencionales, demostrando la robustez de la tecnología utilizada y estableciendo una tasa de detección conjunta de aneuploidías para los cromosomas 13,18,21,X/Y y de los 9 síndromes de microdeleción de 1/1.700³.

Prenatal-BoBs™ se indica, preferentemente, como herramienta de anticipación para el despistaje de las aneuploidías más comunes, screening bioquímico-ecográfico del primer trimestre positivo, edad materna avanzada, ansiedad materna, embarazo o hijo previo o historia familiar con anomalías cromosómicas, reordenamiento cromosómico en los padres y gestaciones obtenidas mediante técnicas de reproducción asistida.

Basados en esta misma tecnología se ha desarrollado un kit llamado KaryoLite-BoBs™, (Perkin Elmer, Turku, Finlandia), que permite descartar aneuploidías para los 24 cromosomas y que se puede aplicar al estudio de alteraciones cromosómicas numéricas en restos abortivos. El estudio genético de las

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2813432>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2813432>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)