

Discordancia entre cultivos de vellosidades coriónicas, de corto y largo plazo. Presentación de un caso y revisión del tema

Short and long term chorion villi culture discordance. Presentation of a case and theme review

María Quiroga de Michelena ¹, Erasmo Huertas ^{2,3}, Denisse Paredes ¹, Alicia Diaz ¹

¹ Instituto de Medicina Genética. Lima, Perú.

² Instituto Especializado Materno Perinatal. Lima, Perú.

³ Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Resumen

Presentamos un caso de diagnóstico prenatal en el que se halló un resultado falso negativo en un cultivo a largo plazo de vellosidades coriónicas, discordante con los resultados del cultivo a corto plazo, que mostraba trisomía 21. Se discute las posibles causas de discrepancia en éste y otros casos similares, y la mejor manera de proceder para asegurar el diagnóstico correcto.

Palabras clave: Biopsia de la vellosidad coriónica; diagnóstico prenatal; anomalías cromosómicas sexuales; síndrome de Down.

Abstract

We present a prenatal diagnosis case with false negative result in long term villi culture discordant with short term villi culture showing trisomy 21. We discuss possible causes of discordance in this and similar cases and the best way to proceed to ensure correct diagnosis.

Key words: Chorionic villi sampling; prenatal diagnosis; sex chromosome aberrations; Down syndrome.

INTRODUCCIÓN

La biopsia de vellosidades coriales es una prueba de diagnóstico prenatal que tiene como objetivo confirmar o descartar anomalías fetales de origen cromosómico, detectadas mediante pruebas de tamizaje ecográficas y/o bioquímicas, debido a sus altas tasas de sensibilidad (98,6 a 99,5%) y especificidad (98,5 a 98,8%) ⁽¹⁾. Sin embargo, se encuentra en la literatura médica resultados discordantes entre los cultivos de vellosidades a corto y a largo plazo, debido principalmente a dos causas: la contaminación con células maternas y el mosaicismo placentario o fetal.

Las cromosomopatías son un grupo de enfermedades congénitas que resultan de variaciones numéricas, estructurales o combinadas en la población normal de los cromosomas. Entre las cromosomopatías más frecuentes, y que son posibles de pesquisar, ya que presentan signos morfológicos ecográficamente detectables, está la trisomía 21 o síndrome de Down (1 por cada 660 nacidos vivos). Uno de los marcadores ecográficos que permite la detección temprana, entre las 11 y 14 semanas, de fetos afectados por esta patología es la translucencia nucal,

la misma que permite calcular el riesgo individual de cada paciente y por ende la selección de las candidatas a procedimientos invasivos, como la biopsia de vellosidades coriales, por su riesgo alto de probabilidad de estar gestando fetos afectados ⁽²⁾.

PRESENTACIÓN DEL CASO

Primigesta de 31 años, sin antecedentes de importancia, pareja no consanguínea e historia familiar negativa para trastornos cromosómicos. En la semana 13 de gestación, se encontró por ecografía una translucencia nucal de 3,4 mm, ectasia piélica e hipoplasia nasal. Por los hallazgos ecográficos, sugerentes de trisomía 21, se realizó una biopsia de vellosidades coriónicas vía transabdominal. Se recibió un tamaño adecuado de muestra de vellosidades coriónicas. Al examinar en el microscopio invertido, la muestra tenía una morfología inusual, pero se observaba vellosidades coriales, por lo cual se sembró de la manera habitual la totalidad de la muestra, en tres cultivos independientes, uno para el análisis de corto plazo y los otros dos para largo plazo. Se obtuvo un crecimiento celular adecuado. El cariotipo se hizo en un equipo automatizado marca

Elja y la identificación de los cromosomas, con la técnica de bandas G ⁽³⁾.

En el cultivo a corto plazo (24 horas), se observó un cariotipo masculino con trisomía 21: 47,XY,+21. En el primer cultivo a largo plazo (9 días), el cariotipo fue femenino normal, 46,XX. En el segundo cultivo a largo plazo (11 días), nuevamente se obtuvo 47,XY,+21 en todas las células. Ante los resultados discrepantes, se procedió a una cordocentesis, en la que finalmente se obtuvo 47,XY,+21, considerándose este el diagnóstico definitivo. Para entonces, la ecografía confirmó también el sexo fetal masculino. La paciente fue reevaluada ecográficamente al tercer día del procedimiento, encontrándose asintomática y el feto con actividad cardíaca. Lamentablemente, a la semana 15, la paciente presentó un aborto espontáneo, expulsando un producto de sexo masculino de 220 g de peso.

DISCUSIÓN

El estudio de vellosidades coriónicas es un método de diagnóstico prenatal temprano, realizado entre las semanas 10 y 12 de gestación, que consiste en la extracción de células trofoblásticas y fetales, vía transcer-

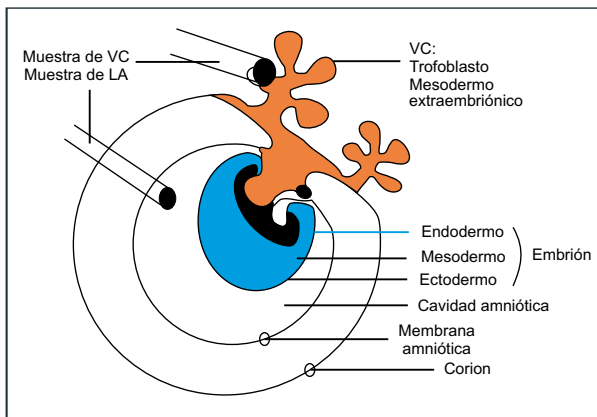


Figura 1. Esquema del embrión y lugar de toma de muestra en biopsia de VC y LA. El color naranja indica la localización del mesodermo en el esquema de embrión-placenta (posterior a la tercera semana de desarrollo embrionario) y blastocisto (segunda semana) en las figuras 1 y 2 respectivamente.

VC: vellosidades coriónicas. LA: líquido amniótico. Modificado de Gardner R, Sutherland G. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2da ed. New York: Oxford University Press; 1996: p. 348⁶⁾.

vical o transabdominal⁽⁴⁾. En la Figura 1 se muestra un esquema del lugar de punción en la placenta. En la muestra obtenida se puede realizar estudios citogenéticos, bioquímicos y de ADN. Para el estudio cromosómico, habitualmente se examina dos líneas celulares diferentes: una de división rápida, procedente del citotrofoblasto o porción fetal del trofoblasto (Figura 1), analizada mediante cultivo a corto plazo (24 a 48 horas), con resultados a los 3 días del procedimiento, y una línea celular procedente del mesénquima, representativa del tejido fetal, que se cultiva durante 6 a 12 días^(5,6) (Figura 2). El citotrofoblasto pertenece a una línea celular más antigua y en casos raros puede representar células confinadas a la placenta y no presentes en el embrión. Esto lo diferencia de la amniocentesis, en la cual se estudia únicamente las células propias del feto, porque analiza células procedentes del líquido amniótico que se desprenden del epitelio amniótico (capa interna del amnion), epitelio pulmonar y renal, todos derivados del epiblasto⁽⁶⁾, además de ser un procedimiento más tardío, realizado entre las 15 y 18 semanas.

La ventaja de tomar muestras de vellosidad corial es que el cultivo a corto plazo permite resultados preliminares rápidos y confiables. Aún si los cultivos a largo plazo fallaran, la desventaja es que en raras ocasiones la muestra puede contener células maternas y esto se refleja

de contaminación con células maternas, al realizar la disección de vellosidades coriónicas macroscópicamente. La tasa bajó a 0,91%, si la disección se realizaba bajo el microscopio⁽¹⁰⁾. La tasa de contaminación por células maternas puede llegar a ser tan baja como 0,4%, si se tiene los cuidados apropiados⁽¹¹⁾.

En nuestra experiencia, esta es la primera vez que encontramos discrepancia entre los cultivos a corto y largo plazo en el examen de vellosidades coriales. Asumimos que la discrepancia observada se debió a la contaminación con células maternas, ya que no se hizo la disección de los tejidos con microscopio óptico, suponiendo que la muestra era íntegramente

de origen fetal. La contaminación con células maternas es una causa infrecuente de discrepancia entre cultivos, que puede considerarse un artefacto. Sin embargo, existen situaciones en las cuales la discordancia es real, es decir se debe a

mosaicismo en la placenta o en el feto. Esto ocurre en 1 a 2% de los análisis citogenéticos en vellosidad corial⁽¹²⁾, y se debe al origen diferente de las células analizadas en el cultivo a corto plazo y las analizadas en el cultivo a largo plazo (ver Tabla 1). Se define el mosaicismo en vellosidades coriales como: 1) la presencia de por lo menos dos células con la misma anomalía cromosómica y, al mismo tiempo, la presencia de una línea celular normal y/o con otra anomalía cromosómica, en el cultivo de corto plazo, cultivo de largo plazo o ambos; o, 2) la existencia de una aberración en todas las mitosis del cultivo a corto plazo y una línea celular normal o con una anomalía diferente en todas las células del cultivo a largo plazo, o viceversa⁽¹⁾.

Se detalla 5 tipos de mosaicismo confinado a la placenta (ver Tabla 2)⁽⁶⁾:

I: si un error mitótico sucede en una célula trofoblástica, da lugar a un mosaicismo confinado a este tejido; se le detecta en cultivos de vellosidades coriónicas de corto plazo. II: si el error mitótico ocurre en el mesodermo extraembrionario, produce un mosaicismo confinado a la placenta y afecta al estroma vellososo. Se detecta en cultivos de vellosidades coriónicas de largo plazo.

III: El error mitótico en la masa interna, que no afecta el hipoblasto (ver Figura 2), producirá un feto anormal, con cultivos de corto y de largo plazo normales. Corresponde a un falso negativo.

IV: El error en una célula totipotencial que contribuye a la masa interna y afecta tanto a epiblasto e hipoblasto, lleva a una anomalía en el feto y en el estroma de las vellosidades coriónicas, pero con un trofoblasto normal.

V: El último caso, es una concepción trisómica, en la que ocurre una 'corrección' en las células que dan origen al epiblasto. Se traduce en un embrión disómico y una placenta trisómica. Si la corrección ocurre

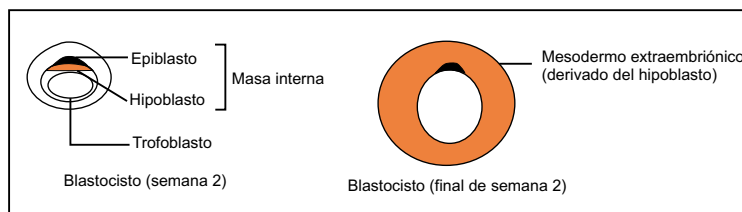


Figura 2. Esquema del blastocisto. El epiblasto se diferencia en endodermo -que da origen al epitelio pulmonar y renal- y mesodermo extraembrionario.

Modificado de Gardner R, Sutherland G. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2da ed. New York: Oxford University Press; 1996: p. 348.⁶⁾

Tabla 1. Procedencia de las células analizadas en diferentes métodos de diagnóstico prenatal⁽⁶⁾.

Procedencia	Método de diagnóstico prenatal
Trofoblasto- parte externa del corion	BVC: Células para cultivo a corto plazo
Mesodermo extraembrionario o coriónico (color anaranjado en los gráficos)	BVC: Células para cultivo a largo plazo
Membrana amniótica, ectodermo, células epiteliales pulmonares y renales	Amniocentesis
Células sanguíneas fetales	Cordocentesis

BVC: biopsia de vellosidades coriales o coriónicas.

Tabla 2. Tipos de mosaicismo en cultivos de vellosidades coriónicas.

Tipo	Cultivo VC a corto plazo	Cultivo VC a largo plazo	Embrión/Feto
I	Anormal o mosaico	Normal	Normal
II	Normal	Anormal o mosaico	Normal
III	Normal	Normal	Anormal o Mosaico
IV	Normal	Anormal o mosaico	Anormal o mosaico
V	Anormal o mosaico	Anormal o mosaico	'Normal' Disómico

VC: Vellosidades coriónicas. Gardner R, Sutherland G. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2da ed. New York: Oxford University Press; 1996. p. 353. (6)

un poco después, durante la formación del epiblasto, habrá un mosaicismo verdadero en el embrión. Este caso también puede llevar a un embrión anómalo, con disomía uniparental de algún cromosoma, aunque el cariotipo sea normal.

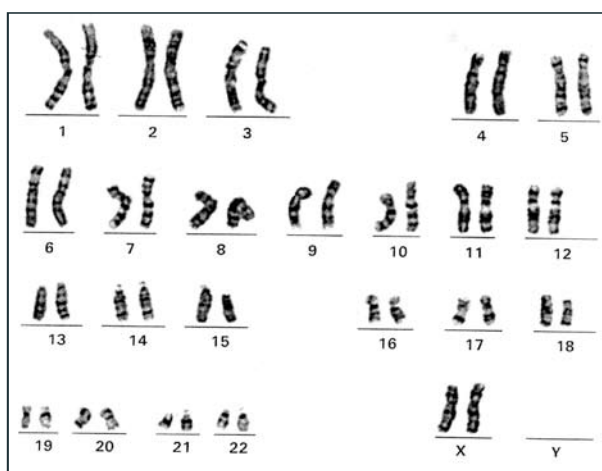


Figura 3. Cariotipo femenino normal.

En el caso que presentamos, el sexo diferente entre la línea celular normal (femenino) (Figura 3) y la línea con trisomía 21 (masculino) (Figura 4) descarta que se trate de un feto mosaico. El hecho de que solo en un cultivo y en todas las células de éste se encontrara la línea femenina normal, sugiere que en esa placa de cultivo se sembró un fragmento de tejido materno.

La discrepancia entre los resultados de los cultivos a corto y largo plazo, como sucedió en este caso, es muy rara y plantea la necesidad de exámenes adicionales, en nuestro caso, una cordocentesis.

Un resultado normal en el cultivo de corto plazo y anómalo en el de largo plazo sugiere que el cariotipo fetal es el anómalo, pero requiere la confirmación del diagnóstico, mediante amniocentesis o cordocentesis y seguimiento con una ecografía detallada. Kennerknecht y col. combinaron los datos de cultivos de vellosidades coriónicas de corto y largo plazo publicados de centros y estudios colaborativos y encontraron que, cuando los resultados se basan únicamente en el cultivo a corto plazo, en 1 de cada

82 casos se encuentra un falso negativo, es decir el cariotipo del cultivo a corto plazo es normal, pero en el cultivo a largo plazo y en la amniocentesis el resultado demuestra un cariotipo fetal anómalo. En cambio, si los resultados se basan en cultivos a corto y largo plazo, solo 1 de cada 3 279 es un falso negativo, es decir ambos cultivos tienen cariotipos normales, pero el cariotipo fetal real es anormal (13).

Hay solo ocho casos en la literatura de falsos negativos 'verdaderos', es decir, que los cultivos a corto y largo plazo no coinciden con el del recién nacido (13). Las causas posibles son contaminación de la muestra con células maternas, reabsorción de un feto normal en una gestación gemelar, mosaicismo no detectado por el índice mitótico bajo o la distribución focal de una línea celular anormal.

Lo expuesto resalta la importancia de una muestra tomada en las condiciones adecuadas y sembrada solo después de haber sido examinada minuciosamente. Aún existe

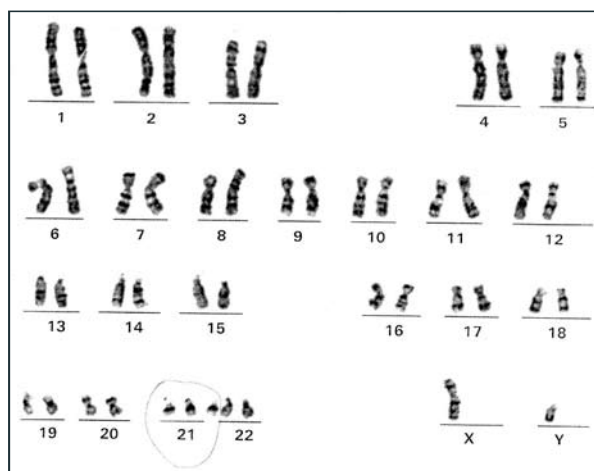


Figura 4. Cariotipo trisomía 21.

controversia sobre qué tipo cultivo debe establecerse si la muestra es insuficiente para establecer varios cultivos. Van der Berg y col. sugieren emplear el cultivo a

largo plazo, si la indicación para el examen es anomalías ecográficas fetales. De lo contrario, se prefiere la investigación del cultivo a corto plazo (14).

A pesar que la sensibilidad de la biopsia de vellosidad corial para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas es 98,6 a 99,5% (IC 95%) y la especificidad es igualmente alta, 98,5 a 98,8% (IC 95%), no se recomienda considerar como definitivo el resultado del cariotipo obtenido de una preparación directa, sino esperar el cultivo de largo plazo (11).

En conclusión, en todos los análisis prenatales por biopsia de vellosidad corial es recomendable contar con cultivos tanto a corto como a largo plazo, y para ello se sugiere tomar una muestra abundante, de 15 a 20 mg, para asegurar la suficiencia del tejido (13). Es importante también la disección cuidadosa de la muestra bajo el microscopio óptico y evitar la contaminación por células maternas. El uso de ambos métodos aumenta el grado de éxito y mejora la calidad diagnóstica. En los raros casos en que existe discrepancia entre ambos cariotipos, se debe proceder a un examen de líquido amniótico o de sangre fetal y ultrasonido detallado (4,6,9,15).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hahnemann JM, Vejerslev LOA. Accuracy of cytogenetic findings on chorionic villus sampling (CVS) – diagnostic consequences of CVS mosaicism and non-mosaic discrepancy in centres contributing to EUCROMIC 1986-1992. Prenat Diagn. 1997;17(9):801-20.
- Spencer K, Nicolaidis KH. Screening for trisomy 21 in twins using first trimester ultrasound and maternal serum biochemistry in a one-stop clinic: a review of three years experience. BJOG. 2003;110(3):276-80.
- Turnpenney P, Ellard S. Emery's elements of medical genetics. 13th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2007:32-3.
- Callahan T, Cauhey A. Prenatal screening, diagnosis, and treatment. En: Callahan T, Cauhey A. Blueprints Obstetrics & Gynecology. 4ta ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007:22-35.
- Chmait R, Moore T. Obstetrics procedures. En: Hacker N, Moore J, Gambone J. Essentials of Obstetrics and Gynecology. 4ta ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2004:247-55.

6. Gardner R, Sutherland G. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2da ed. New York: Oxford University Press; 1996:345-71.
7. Phillips O, Gopdrao V, Velagaleti N, Tharapel A, Shulman L. Discordant direct and cultures results following chorionic villus sampling and the diagnosis of a third cell line in the fetus. *Prenat Diagn.* 1997;17:170-2.
8. Zavaleta MJ, Grether P, Manzanero J, Sánchez V, Perez-Segua J, Karchner S. Diagnóstico prenatal por biopsia de vellosidades coriales. *Progreso en diagnóstico prenatal.* 1995;7:325-30.
9. de Martinville B, Blakemore K.J, Mahoney M.J, Francke U. DNA analysis of first-trimester chorionic villous biopsies: test for maternal contamination. *Am J Hum Genet.* 1984;7:325-30.
10. Brun JL, Mangrone R, Gangbo F, Guyon F, Taine L, Roux D, Maygey-Laulon B, Horovitz J, Saura R. Feasibility, accuracy and safety of CVS: a report of 10,741 cases. *Prenat Diagn.* 2003;23:295-301.
11. van den Berg C, Van Opstal D, Brandenburg H, Wildschut HI, den Hollander NS, Pijpers L, Jan H Galjaard R, Los FJ. Accuracy of abnormal karyotypes after the analysis of both short-and long-term culture of chorionic villi. *Prenat Diagn.* 2000;20(12):956-9.
12. Schonberg SA. Cytogenetic analysis in prenatal diagnosis. *West J Med.* 1993;159(3):360-5.
13. Kennerknecht I, Barbi G, Djalali M, Mehnert K, Schneider M, Terinde R, Vogel W. False-negative findings in chorionic villus sampling. An experimental approach and review of the literature. *Prenat Diagn.* 1999;19(9):891-2.
14. van den Berg C, Van Opstal D, Polak-Knook J, Galjaard R.J. (Potential) false-negative diagnoses in chorionic villi and a review of the literature. *Prenat Diagn.* 2006;26(5):401-8.
15. Brisset S, Aboura A, Audibert F, Costa JM, Coulomb A, Gautier V, et al. Discordant prenatal diagnosis of trisomy 21 due to mosaic structural rearrangements of chromosome 21. *Prenat Diagn.* 2003;23:461-9.

Manuscrito recibido el 30 de enero de 2008 y aceptado para publicación el 27 de febrero de 2008.

Correspondencia:
María Isabel Quiroga de Michelena
Aricota 106, 2do. Piso. Chacarilla del Estanque, Surco
Lima 33, Perú
Correo-e: cgenetic@telefonica.net.pe