



# **Seminario N°7: Cariograma, FISH y MLPA. Técnica y aporte de su uso prenatal**

**Dra. Gabriela Rodríguez B.**  
**Tutora: Dra. Catherine Díaz**

# INTRODUCCION

Los trastornos genéticos fetales son anomalías en la estructura o función causadas por diferencias en el genoma.

Los tests genéticos prenatales son pruebas dirigidas al análisis del genoma fetal con el fin de identificar la causa genética de una determinada enfermedad.

**Diagnóstico prenatal:** Conjunto de pruebas diagnósticas que se realizan durante el embarazo para intentar identificar la presencia de posibles anomalías congénitas en el feto o factores de riesgo maternos que pueden requerir controles estrictos a lo largo de la gestación

# ANOMALIAS GENETICAS

## Anomalías cromosómicas

- **Numéricas**
- **Estructurales** (equilibrados o desequilibrados)

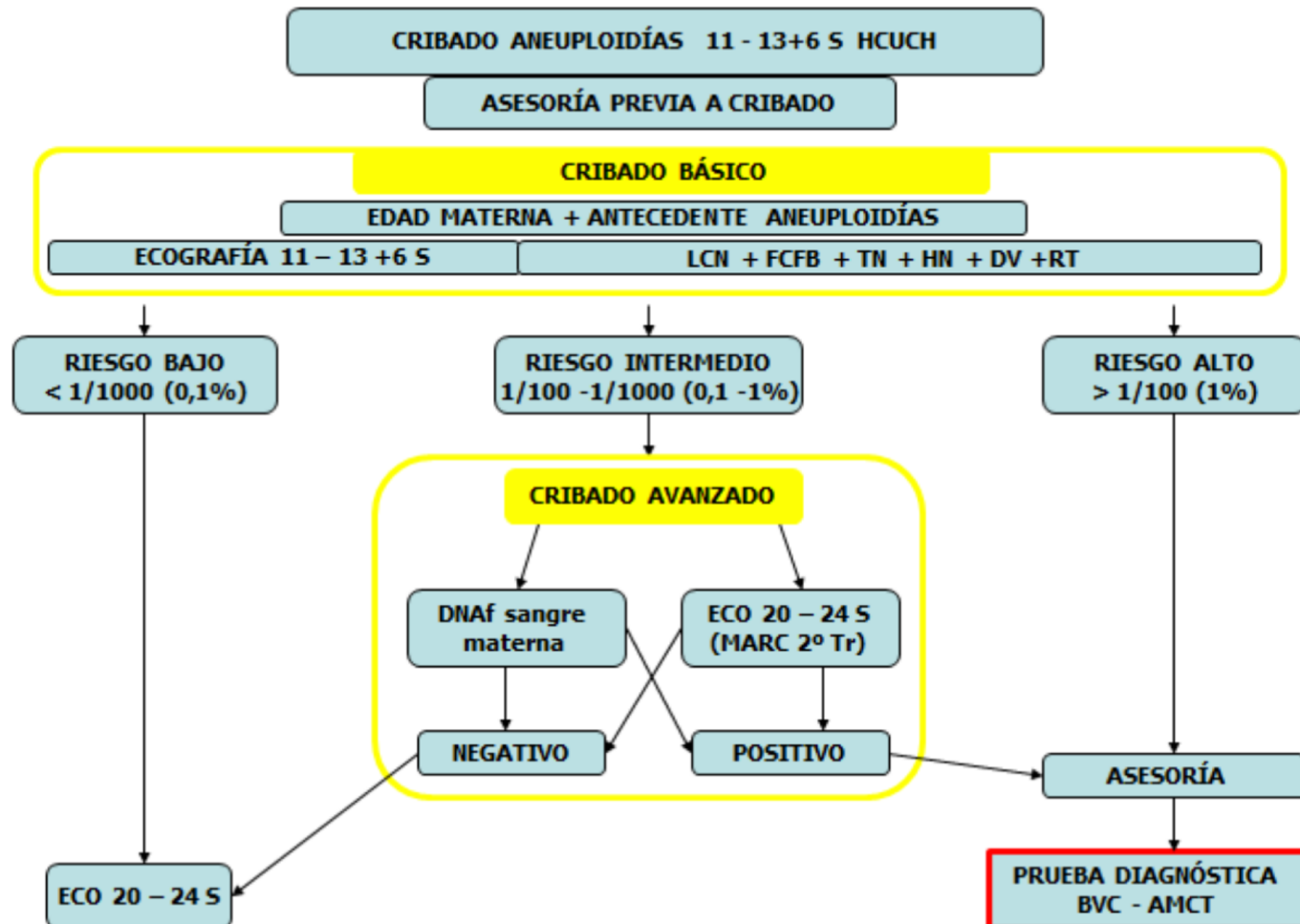
## Síndromes de microdelección y microduplicación

- AG que involucran fragmentos genómicos entre 10kb y 10mb.

## Enfermedades monogénicas

- **Autosómicas dominantes**
- **Autosómicas recesivas:** (ambos progenitores portadores sanos o afectados de la enfermedad).
- **Ligadas al cromosoma X:** madre sana, pero portadora, transmite el cromosoma X con la alteración al 50% de su descendencia y el 50% de los hombres estarán afectados por la enfermedad.

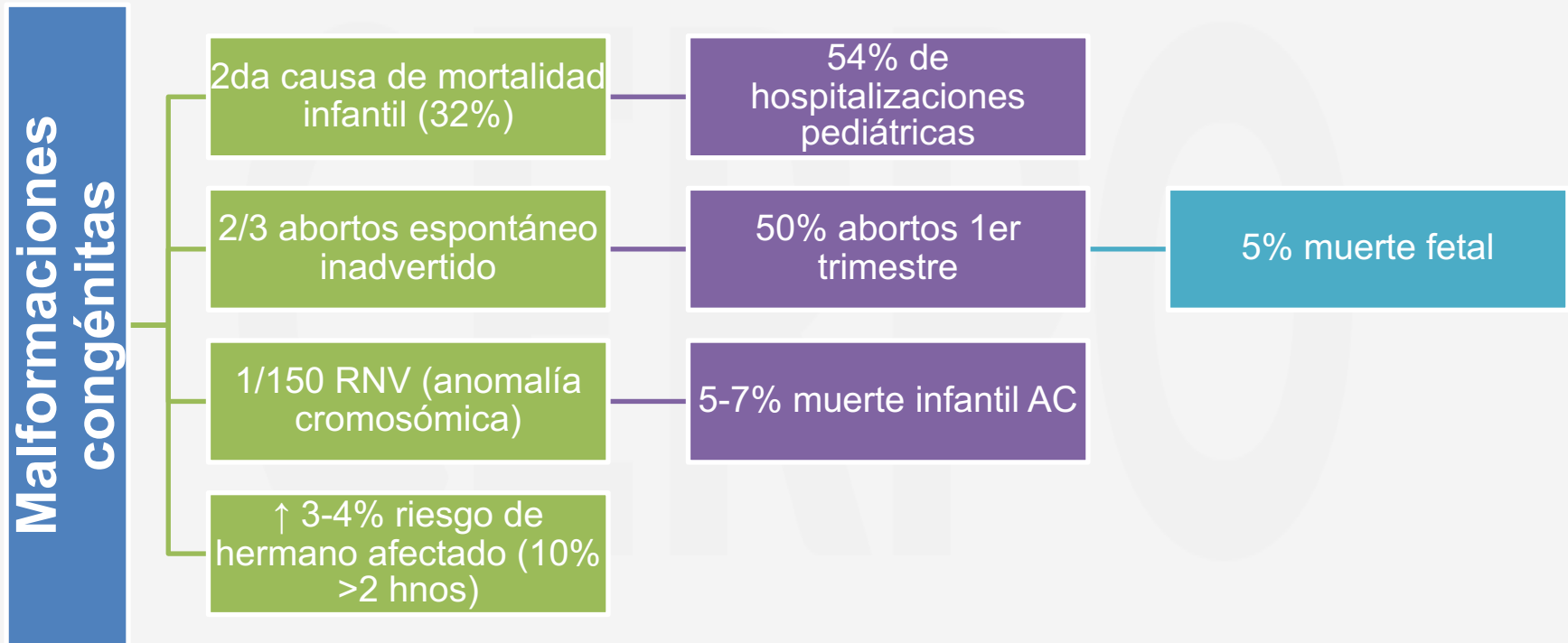
# CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS



# CUANDO OFRECER

- A todas las mujeres embarazadas se les debe ofrecer una evaluación prenatal para detectar aneuploidías mediante pruebas de detección o diagnóstico, independientemente de la edad materna u otros factores de riesgo
- El asesoramiento previo a la prueba debe ser un proceso de toma de decisiones compartida y debe incluir una discusión sobre el riesgo del paciente de sufrir aneuploidía y otras enfermedades genéticas

# IMPORTANCIA DE LOS TEST GENÉTICOS



# TÉCNICAS INVASIVAS



## Biopsia de vellosidades coriales

- Entre semana 10 y 13 de edad gestacional. Vía transcervical o transabdominal. Las células obtenidas permiten un tiempo de procesamiento menor (5-7 días). Riesgo de pérdida del embarazo de 0,22%. Riesgo de sangrado post procedimiento transcervical 32%. Riesgo de falla de cultivo, infección o Rotura de membranas es menor a 0,5%.

## Amniocentesis

- Entre 15 y 20 sem EG y más. No hay mayor riesgo de pérdida del embarazo si punción es o no transplacentaria. Riesgo de pérdida entre 0,13-0,27%. Rotura de membranas o sangrado 1-2%. Sobrevida perinatal a RPM post AMCT en >2 Trimestre es > 90%.

## Cordocentesis

- Desde las 20 sem EG. Riesgo 1,3% pérdida del embarazo. 5-10% riesgo de bradicardia. 20-30% riesgo de sangrado desde el sitio de punción.

# TIPOS DE TEST GENETICOS



Cariograma

FISH

MLPA

QF-PCR

Microarray

EXOMA

# CARIOGRAMA

- Analiza el número y estructura de los cromosomas en metafase: muestra la **dotación cromosómica completa**.
- Se basa en 20 metafases. **Precisión diagnóstica >99%** para las aneuploidías y anomalías cromosómicas estructurales.
- **Buena relación costo-beneficio** a pesar de procesamiento manual e interpretación por experto.
- Estudio de patrón de bandas por Bandeo G. Número de bandas mínimo para un cariotipo prenatal 250-400.
- Detección de mosaicismos entre 6 a 12% según número de metafases analizado.

# CARIOGRAMA

- **Anomalías del cariotipo:** aproximadamente 50% de los fetos con malformaciones estructurales en la ecografía.
- **Tipos:**
  - **Alteración numérica:** monosomías, trisomías, nulisomías (pérdida de un par), tetrasomías, poliploidías.
  - **Alteración estructural:** duplicaciones, deleciones, translocaciones balanceadas y desbalanceadas, inversiones, cromosomas en anillo, cromosomas marcadores.
- **Discrepancias feto-placentarias:** 1-2% en VC por lo que se debe confirmar anomalía en LA. Resultados fiables → anomalías homogéneas (no mosaicos).

# CARIOGRAMA

## Cultivo corto

- Semidirecto en VC (replicación células de trofoblasto)
- Cariotipo en 3-7 días
- Sin riesgo de contaminación materna
- 2% riesgo de detectar anomalías confinadas a la placenta
- 1/3000 falsos negativos → cultivo largo VC confirmación

## Cultivo largo

- VC o LA
- Cultivo de células mesenquimáticas 10-15 días
- Fallo de cultivo > en óbito fetal v/s feto vivo
- Riesgo de contaminación materna
- Menos falsos negativos, menos probabilidad de detectar anomalía confinada a la placenta.

## Cultivo en sangre fetal

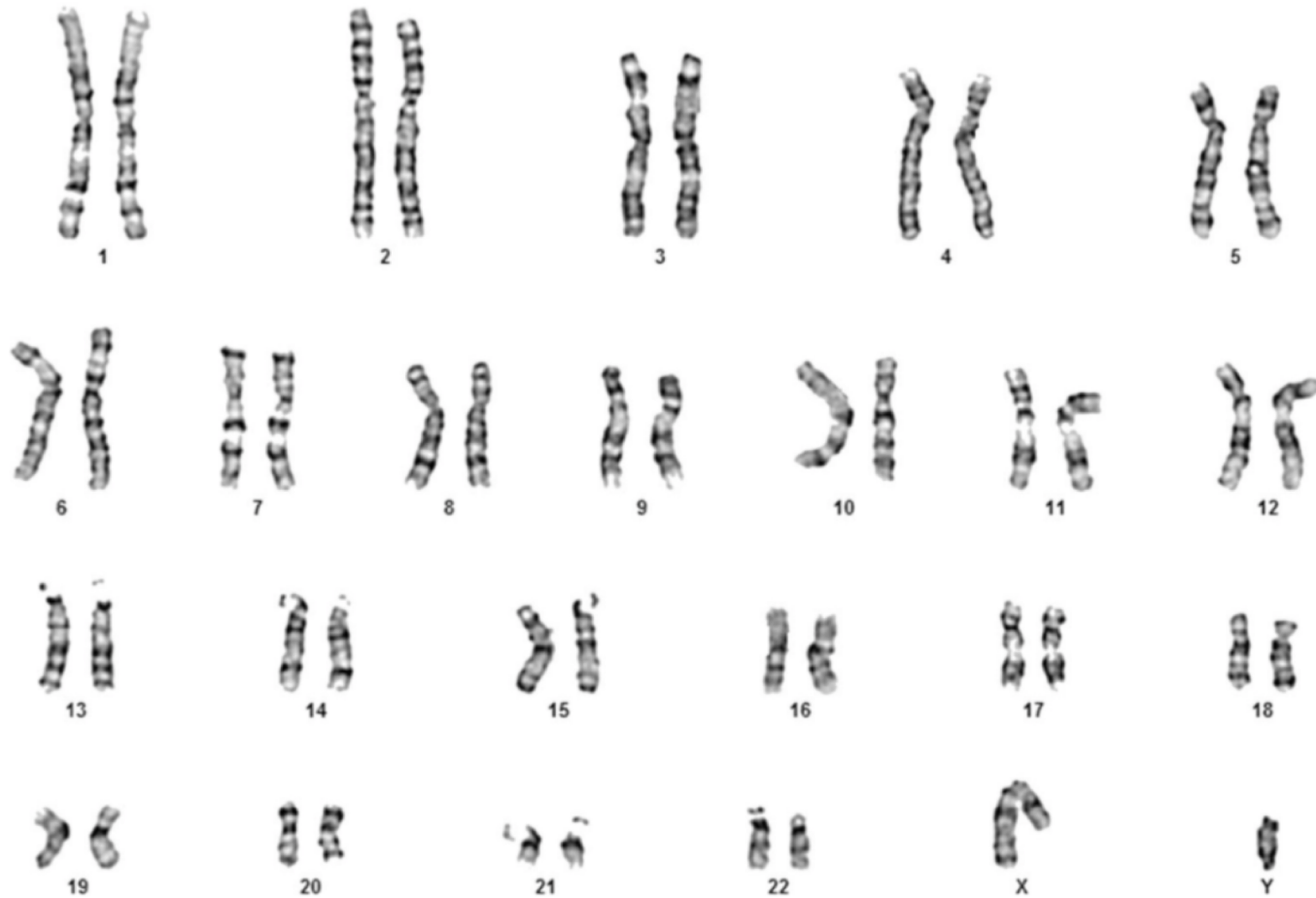
- Linfocitos en sangre fetal (cultivo 7 días)
- En caso de sospecha o hallazgo de un mosaicismo se deben estudiar un mínimo de 50 metafases.

# CARIOGRAMA



- **Indicaciones:**
  - Screening de aneuploidías alterado
  - Anomalía estructural detectada en la ecografía → Alteraciones en 14%
  - Restricción del crecimiento fetal severo
  - Hijos de portadores de anomalías cromosómicas estructurales
  - Antecedente de hermano con anomalía cromosómica estructural o aneuploidía
  - Óbito asociado a malformaciones o sin causa reconocible
  - Estudio de trofoblasto (o restos ovulares)

# CARIOGRAMMA



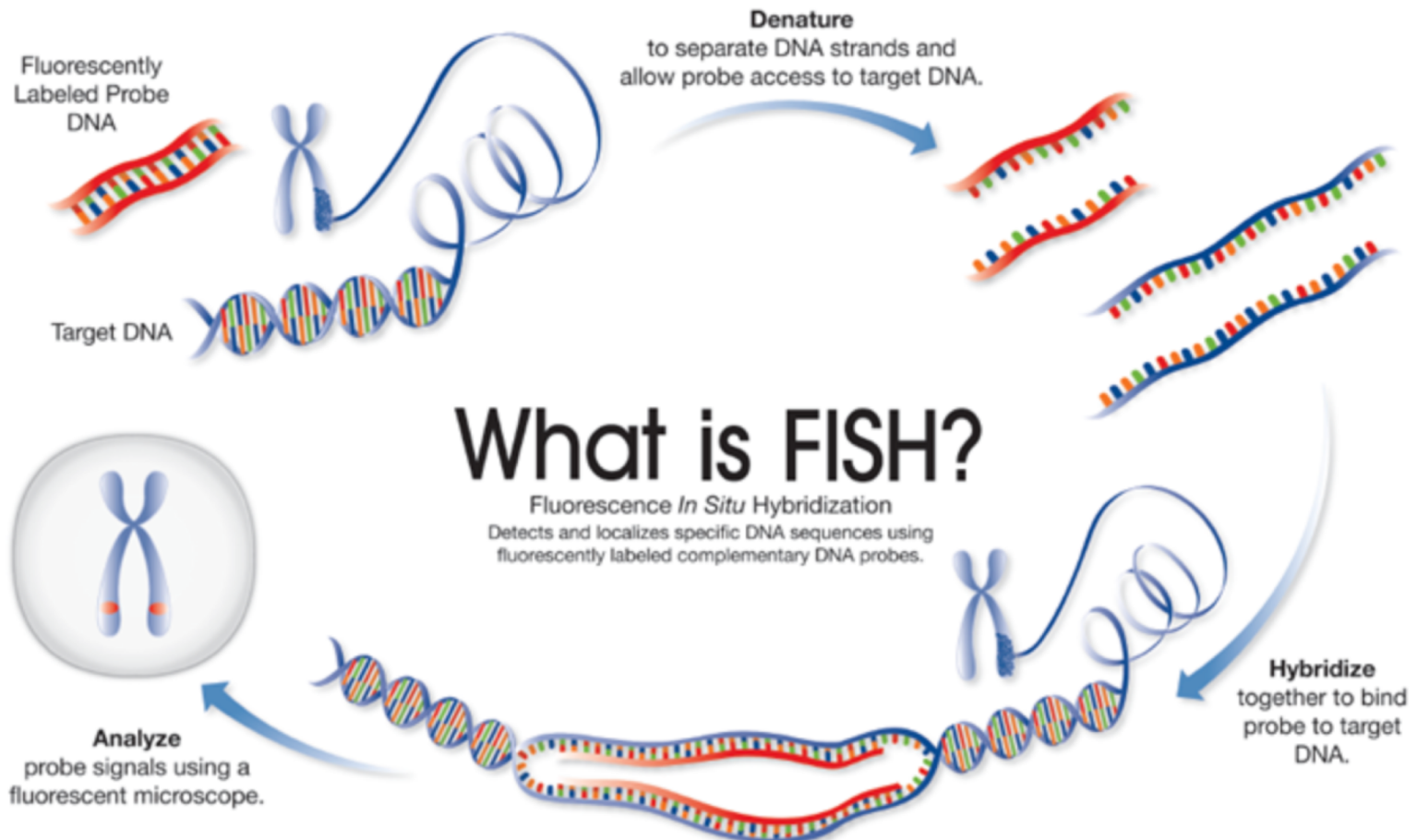
**FIG. 4.1** Cariotipo maschile normale con bande G.

# FISH (Fluorescence in situ hybridization)



- Sonda fluorescente detecta la presencia o ausencia de cromosomas o segmentos específicos de cromosomas (microdeleciones o duplicaciones).
- Permite el recuento del número y la ubicación de grandes fragmentos de cromosomas.
- Ha aumentado la sensibilidad, la especificidad y la resolución de los análisis cromosómicos
- Resultados en 48-72 horas
- FISH en metafase (resolución 2 Mb) o interfase (resolución 40-250 Kb)

# FISH



# FISH (Fluorescence in situ hybridization)



- **Finalidades principales:**

- **Caracterización cromosómica:** útil ante hallazgo de reorganizaciones cromosómicas o de cromosomas marcadores (de origen desconocido).
- **Estudio de microdeleciones:** síndrome de DiGeorge (del22q11.2) o el síndrome de Williams (del7q11.23). Cada microdelección requiere de una sonda específica.
- **Diagnóstico rápido de aneuploidías típicas (21,18,13, X e Y) sobre núcleos interfásicos sin cultivar:** Se ha sustituido por la QF-PCR.

- **Limitaciones:**

- FN o FP descritos entre 0,024% y 0,044% respectivamente → factores técnicos o hibridación cruzada que disminuye o anula señal.
- No identifica mutaciones pequeñas, disomía uniparental, inversiones cromosómicas.

# MLPA (multiple ligand probe amplification)



- Sondas que detectan secuencias específicas de ADN, se unen a secuencia diana de forma adyacente ligándose entre ellas → amplificación por PCR.
- Señal emitida por sondas amplificadas permite analizar el número de copias de la región de interés.
- **Permite diagnóstico de:**
  - Microdeleciones / Duplicaciones de regiones o genes específicos.
  - Variantes de número de copias (CNV), pequeños reordenamientos.
  - Alteraciones de la impronta / metilación (MS - MLPA).
  - Disomía uniparental

# MLPA (multiple ligand probe amplification)



- **No permite diagnosticar:**
  - Reordenamientos cromosómicos equilibrados.
  - Deleciones y duplicaciones que quedan fuera del alcance de las sondas de MLPA utilizadas (teloméricas, mutaciones puntuales, inserciones y deleciones pequeñas).
  - Repeticiones secuenciales o mutaciones en el ADN mitocondrial.
- **Sensibilidad analítica y especificidad para MLPA: 99%**

Norton, M. E., Kuller, J. A., & Dugoff, L. (Eds.). (2019). Genética Perinatal. Elsevier.

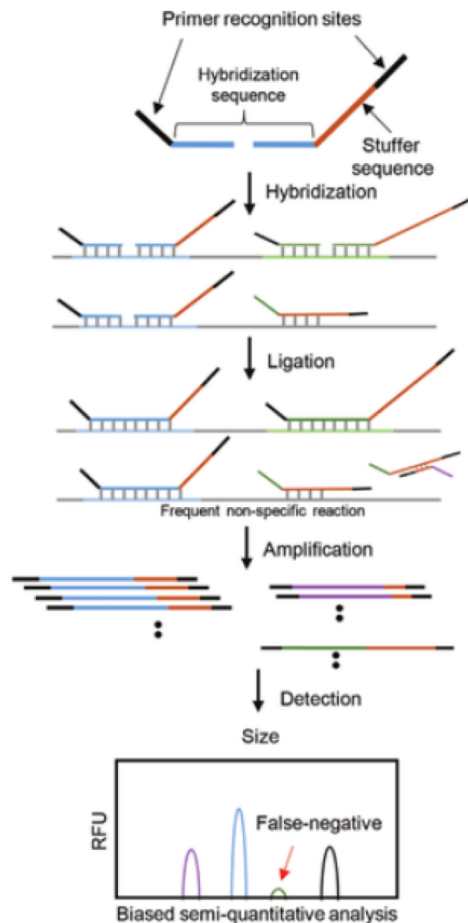
Langlois, S., Duncan, A., Wilson, R. D., Audibert, F., Brock, J.-A., Carroll, J., Cartier, L., Désilets, V. A., Gagnon, A., Johnson, J.-A., Langlois, S., Murphy-Kaulbeck, L., Okun, N., Pastuck, M., Langlois, S., Chitayat, D., DeBie, I., Demczuk, S., Désilets, V. A., ... Skidmore, D. (2011). Use of a DNA method, QF-PCR, in the prenatal diagnosis of fetal aneuploidies. Journal d'obstetrique et Gynecologie Du Canada [Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada], 33(9), 955–960. [https://doi.org/10.1016/s1701-2163\(16\)35022-8](https://doi.org/10.1016/s1701-2163(16)35022-8)

MRC Holland (2022). Protocolo general de MLPA.

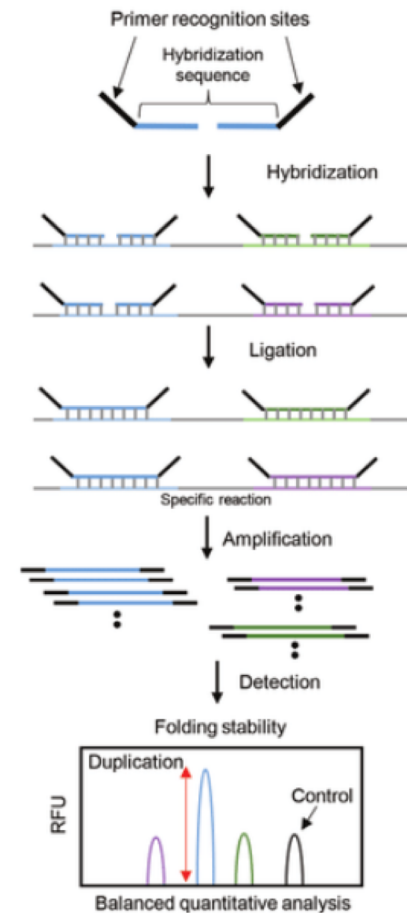
MLPA – Multiplex ligation-dependent probe amplification - IGENOMIX Latino América. (2021, abril 27). Igenomix.com. <https://latam.igenomix.com/diagnostico-genetico/analisis-genes-individuales/mlpa/>

# MLPA (multiple ligand probe amplification)

Conventional MLPA



Stuffer-free MLPA



**Table 1. Tests Available for Prenatal Genetic Diagnosis** ↵

| Test                                 | Turnaround Time                                                              | Conditions Detected                                                                                                               | Comments                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Conventional karyotype               | 7–14 days                                                                    | Chromosomal abnormalities >5–10 Mb                                                                                                | Traditional method for diagnosis of chromosomal abnormalities                                                                                                                                                                |
| FISH—Direct preparation (interphase) | 24–48 hours                                                                  | Rapid assessment of major aneuploidies (chromosomes 13, 18, 21, X, and Y)                                                         | FISH with direct testing of cells from CVS is less accurate than with cultured cells from CVS or amniocentesis. Results should be confirmed on cultured cells or have additional clinical features before acting on results. |
| FISH—Cultured cells (metaphase)      | 7–14 days                                                                    | Microdeletions and duplications                                                                                                   | Can be used to test for specific abnormalities when clinically suspected                                                                                                                                                     |
| Chromosomal microarray               | 3–5 days (direct testing);<br>10–14 days (cultured cells)                    | Copy number variants >50–200 kb                                                                                                   | Whole genome screen for copy number variants. Detects major chromosomal abnormalities except balanced rearrangements and some triploidies. Detection varies with different microarray platforms.                             |
| Preimplantation genetic diagnosis    | 1–2 days                                                                     | Genetic disorder in which familial mutation has been identified                                                                   | Because of possibility of error, confirmation with CVS or amniocentesis is recommended                                                                                                                                       |
| Molecular DNA testing                | 3–14 days (faster with direct testing than when cultured cells are required) | Genetic mutations previously demonstrated to be present in a family or suspected based on ultrasound or other findings in a fetus | Usually a targeted test focusing on a specific disorder (or category of disorders) suspected to be present in a fetus based on ultrasound findings or family history                                                         |

Abbreviations: CVS, chorionic villus sampling; FISH, fluorescence in situ hybridization.



# **Seminario N°7: Cariograma, FISH y MLPA. Técnica y aporte de su uso prenatal**

**Dra. Gabriela Rodríguez B.**  
**Tutora: Dra. Catherine Díaz**