



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Perspectiva de la Medicina Fetal en la era de la genómica prenatalTania T. Herrera^{1,2}

1) Centro de Investigación Médica Pacífica Salud, Hospital Punta Pacífica; 2) Sistema Nacional de Investigación, Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología, Ciudad del Saber, Panamá, de Panamá;

Recibido: 27 de abril de 2023 / Aceptado: 3 de mayo de 2023 / Publicado: 15 de junio de 2023

© Autor(es) 2023. Artículo publicado con Acceso Abierto.

**Resumen**

En las últimas décadas, la medicina prenatal ha incorporado progresivamente diferentes tecnologías de diagnóstico que han logrado complementar los métodos existentes. Técnicas citogenéticas tales como el cariotipo han sido complementadas con novedosas técnicas moleculares de alta resolución, permitiendo así identificar cambios genómicos con resolución de nucleótidos individuales. Algunas de estas técnicas incorporadas a la evaluación de casos prenatales son el QF-PCR, la hibridación genómica comparativa (arreglo CGH), diferentes métodos de secuenciación masiva paralela, entre otras. Actualmente estas tecnologías moleculares para el diagnóstico prenatal están siendo implementadas en nuestra región desde en la última década. Todo proceso de implementación trae consigo ventajas y retos intrínsecos de cada tecnología, y el equipo multidisciplinario debe manejar con claridad las indicaciones de su uso y las implicaciones posteriores a la generación de resultados. En este trabajo presentamos algunas de las consideraciones por parte del Colegio Americano de Medicina Genética y Genómica y la Sociedad Internacional de Diagnóstico Prenatal en cuanto a las indicaciones de estas pruebas moleculares y la consejería post-prueba. Esto permitirá al personal de salud involucrado en las mismas su implementación eficaz, y la obtención de un mayor beneficio para el paciente.

INTRODUCCION

Las anomalías congénitas son condiciones que provocan una alta tasa de mortalidad infantil y de discapacidad [1-3]. En el mundo, hay 3,2 millones de niños con discapacidades al año y cada año mueren 270,000 recién nacidos debido a anomalías congénitas. La mayoría de estos casos nacen sin tener un diagnóstico genético prenatal específico [4,5].

A todos los pacientes en quienes se diagnostica una anomalía fetal se les debe ofrecer asesoramiento genético que incluya una descripción de las diversas pruebas genéticas existentes con ventajas y desventajas [5]. Este grupo de pruebas en genética prenatal incluyen pruebas dirigidas (QF-PCR y paneles genéticos) y estudios genómicos en diferentes niveles (cariotipo, microarreglos, secuenciación exómica y secuenciación completa del genoma) (Tabla 1) [6].

Históricamente, el cariotipo de bandas-G (resolución entre 5-10 Mb) se ha centrado en la detección de anomalías cromosómicas. Su mayor desventaja ha sido el tiempo de obtención de resultados [4-7]. La utilización combinada de otras técnicas moleculares, como son la hibridación in situ por fluorescencia (FISH) y la QF-PCR (la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa y fluorescente) han permitido la detección rápida (2-3 días) de las aneuploidías fetales más comunes (trisomías 21,18,13 y alteraciones numéricas de los cromosomas sexuales) [6]. Hacia el año 2010 se implementó el microarreglo (resolución de 0.2 Mb) en el diagnóstico prenatal, con lo cual se detectaba ganancias y pérdidas del ADN en el genoma. Su importancia radica en que puede detectar hallazgos adicionales

Autor correspondiente

Tania T. Herrera

Email

tt Herrera@pacificasalud.com

Palabras clave: diagnóstico molecular, diagnóstico prenatal, recomendaciones.

Aspectos bioéticos: Los autores declaran no tener potenciales conflictos de interés, y que se obtuvo consentimiento informado de los participantes. Este trabajo fue aprobado por el comité de ética institucional:

Financiamiento: Los autores declaran que no hubo financiamiento externo para la confección de este manuscrito.

Licencia y distribución: Publicado por Infomedic International bajo Licencia Internacional Creative Commons 4.0.

DOI: 10.37980/im.journal.ggcl.20232195

Tabla 1. Métodos de diagnósticos genéticos prenatal.

Método	Qué detectamos	Ventajas	Desventajas	Aplicación Prenatal
Cariotipo	Anomalías cromosómicas Numéricas (poliploidías O aneuploidías). Tamaño: 5-10 Mb	Detecta anomalías estructurales cromosómicas. Técnica económica	Resultado tardío, entre 12-15 días. Las anomalías submicroscópicas son indetectables.	Subgrupo de pacientes con Tamizaje del primer trimestre o segundo trimestre de alto riesgo. Ultrasonografía estructural normal.
Array-CMA	Anomalías cromosómicas Numéricas (poliploidías O aneuploidías). CNVs. ROH.	Detecta anomalías cromosómicas que el cariotipo no encuentra. Se puede realizar en tejido no viable.	No detecta la mayoría de los desórdenes de un único gen. Limitantes para detectar mosaicismo.	Estudio indicado de primera línea cuando se encuentran anomalías estructurales en la ecografía. Recomendado como primera línea cuando existe una Translucencia nucal >3.5mm.
Secuenciación Dirigida Paneles	Análisis comprehensivo de genes seleccionados. Deleciones y duplicaciones. CNVs.	Más económicos si los comparamos con secuenciación exómica y secuenciación completa.	Es difícil definir fenotipos con todas sus características prenatalmente Depende de edad gestacional, posición fetal, los estudios de imagen disponibles y el IMC materno. Hay diferencia entre el fenotipo prenatal y el postnatal de un desorden genético.	Paneles descritos para displasia esqueléticas
Secuenciación exómica	Análisis de exones.	Identifica nuevas variantes (presentes feto y ausentes en los padres). Herencia de variantes recesivas.	El incremento en el rendimiento de la prueba depende del manejo con genetista experto. No se detectan variantes en regiones no codificadas, indels, rearrreglos o translocaciones. No detecta CNVs.	30% diagnóstico de RASopatías en Hydrops No inmune. Podría considerarse segunda línea cuando existe múltiples anomalías en diversos sistemas.
Secuenciación completa del genoma	Análisis de regiones intrones y exones. CNVs	Tiempo entrega de resultados es rápido.	Sólo secuencias codificadas, no todos los genes se capturan por igual. Caro.	Situaciones en las cuales se sospecha desórdenes de un solo gen.

CNVs, variación en el número de copias; CMA, análisis de micromatrices; ROH, regiones de homocigocidad; indels: inserciones y deleciones.

a los métodos tradicionales como duplicaciones, deleciones, aneuploidías y otras aberraciones cromosómicas complejas. Entre estos tenemos que estos arreglos pueden identificar variantes cuyo tamaño es menor de 5 Mb, y por lo tanto no son reconocidos en cariotipo convencional.

Adicionalmente, los arreglos son capaces de evaluar todo el genoma en un único procedimiento [6]. De esta forma, se comenzó a utilizar estas técnicas para identificar el cambio de número de copias (CNVs) y microdeleciones/microduplicaciones que no son detectables por los métodos convencionales de menor resolución [6-8].

En 2012, se marcó un punto de transición en el diagnóstico prenatal, cuando Wapner et. al. [8], reportaron un incremento del 4-6% en el diagnóstico, utilizando microarreglos, en los fetos con una anomalía estructural que tenían cariotipo normal. El microarreglo detectó deleciones y duplicaciones clínicamente relevantes en aproximadamente 1 de 60 embarazos sin

anomalías estructurales y en 1 de cada 17 embarazos con anomalía estructural.

En la práctica clínica, el microarreglo tiene varias ventajas: no requiere realización de cultivo celular, por lo cual el tiempo de entrega de resultados es más corto (3-4 días), se puede utilizar en muestras de pérdidas fetales (muerte fetal, pérdidas gestacionales recurrentes). Esto último fue demostrado en un estudio donde se analizaron 532 muestras de muertes fetales por microarreglo y los investigadores pudieron encontrar variantes en número de copias causales en 87.4% de los casos.

Un diagnóstico genético preciso puede ayudar a definir el pronóstico fetal y mejorar la atención prenatal, ya que los pacientes pueden tomar decisiones que mejoren su resultado reproductivo [6]. Conocer estos diagnósticos es extremadamente importante para la terapia *in utero*, la planificación del parto y el manejo neonatal, ya que potencialmente se puede disminuir la morbilidad y la mortalidad asociada a las anomalías genéticas.

También se puede afinar el consejo genético al determinar mejor el riesgo de recurrencia y permite que se tomen opciones reproductivas posteriores como el diagnóstico genético preimplantación o permite considerar gametos donados o la realización de estudios genéticos dirigidos en los embarazos futuros [6,9].

A continuación describiremos las estrategias de secuenciación avanzada (next generation sequencing, NGS) que se han desarrollado en los últimos diez años. El diagnóstico prenatal molecular se ha ido introduciendo gradualmente, inicialmente “dentro del marco de investigación” y actualmente en situaciones clínicas específicas, dentro de protocolos establecidos por equipos multidisciplinarios [10].

Secuenciación de nueva generación

1. Paneles Genéticos dirigidos (targeted panel sequencing)

Ante la identificación de un fenotipo clínico particular, se procede a realizar la secuenciación específica de un grupo de genes responsable de provocar un desorden monogénico [4,11]. Uno de los ejemplos de la utilización más costo-efectiva del uso de paneles es el estudio para displasias esqueléticas [12].

Una de las limitantes de este tipo de abordaje es que se debe contar con una identificación lo más precisa posible del fenotipo observado. Para lograr lo anterior, se deben realizar protocolos de seguimientos de estudios como ultrasonografía de alta definición, ecocardiografía fetal y resonancia magnética fetal, al igual que debe existir un manejo interdisciplinario entre medicina fetal, genética y pediatría.

Otra limitante importante, en países de medianos ingresos o con sistemas de salud mixto es la realización completa de estudios adicionales a la ecografía, ya que la misma tiene poca sensibilidad para detectar características dismórficas menores [13]. Por lo tanto, la aplicación de estos paneles debe estar individualizada por el tipo de anomalía detectada.

La limitación por sesgo de selección ocurre al utilizar paneles ya que existe la posibilidad que alguna variante causal de la enfermedad esté localizada en otro gen no incluido en la prueba. Esta limitante es superada a través del tiempo mediante la identificación de nuevos genes involucrados en dicha patología.

2. Secuenciación exómica (SE/WES)

El uso de esta tecnología debe complementar lo observado en un fenotipo particular, permitiendo que la clínica dirija la búsqueda de variantes en genes que han sido previamente asociadas al fenotipo. La secuenciación exómica (del inglés Whole Genome Sequencing - WGS) se basa en el análisis de regiones del genoma que codifican proteínas, las cuales se conocen como exones. Existen más de 20,000 genes que codifican proteínas, esto representa aproximadamente el 2% del genoma [9]. Cerca del 85% de las variantes genéticas conocidas hoy en día asociadas a enfermedades se encuentran en el exoma.

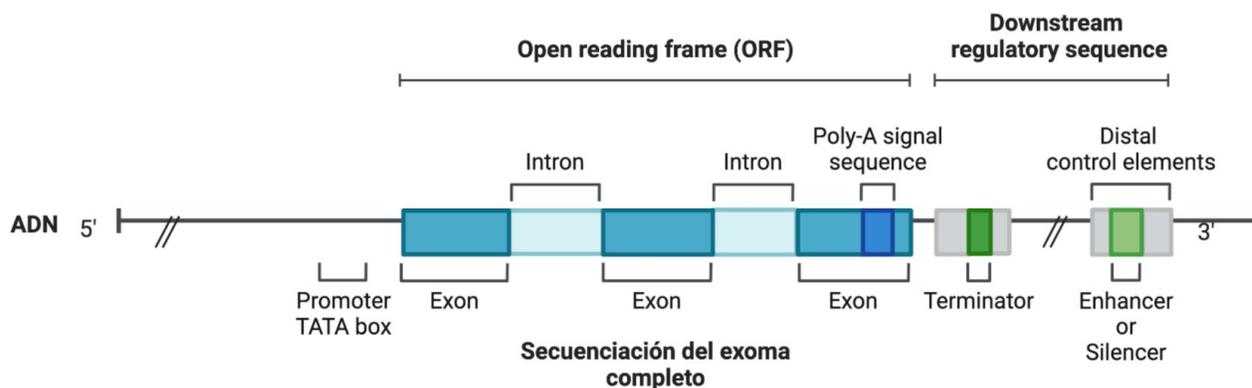
Al realizarse un estudio SE en trío, lo que se conoce como “Trio-based sequencing” (incluye a ambos padres y al feto), permite evaluar la segregación del gen y del fenotipo y determinar de la variante encontrada es *de novo* o heredada [10]. Esto tiene relevancia para la interpretación de la patogenicidad o no de dicha variante. Su efectividad para asociar mutaciones y enfermedades se pone en evidencia en un artículo del 2018 en donde se utilizó WES en 3 familias, demostrando así variantes patogénicas de los genes DNAH11, RAF1 y CHD7 [14].

En un meta-análisis publicado recientemente, el rendimiento diagnóstico de SE, independiente del órgano afectado, fue de 9-47%. Varios estudios han reportado que, en casos de anomalías del sistema nervioso central, el incremento diagnóstico es de 3-34% [16], recomendándose el WES para aquellos casos con cariotipo y metodologías basadas en arreglos con resultados negativos en casos de pacientes con anomalías de este grupo de patologías [17].

3. Secuenciación genoma completo (WGS)

La secuenciación genómica completa analiza todo el genoma, incluyendo las regiones de intrones y regiones regulatorias. Estas regiones pueden contener dominios reguladores importantes para una transcripción correcta de los genes [4,5,11]. Por ejemplo, un reporte del año 2017, presenta el uso de WGS en el contexto de diagnóstico prenatal para la detección de translocaciones cromosómicas balanceadas, superando así las limitaciones que otras técnicas de arreglos presentan [17].

Otra ventaja importante es la capacidad de detectar variantes en regiones que no codifican. Aunque la mayoría de las variantes asociadas a enfermedades descritas hasta ahora están loca-

Figura 1. Estructura de un gen con sus elementos de regulación.

Leyenda: ADN: Acido dexoxyribonucleico; Poly-A: señal de poli-nucleotidos; ORF: Marco de lectura abierto; Imagen bajo licencia de uso por Biorender.com

lizadas dentro de exones y uniones exones-intrones, existe una cantidad considerable de variantes reportadas fuera de estas regiones; por ejemplo, en regiones regulatorias (como promotores, enhancers, and transcription binding sites, etc). Para comprender esto, es importante tener en cuenta la estructura de un gen sus elementos reguladores (Ver figura 1).

Los aspectos generales a considerar son:

Tanto el Colegio Americano de Medicina Genética y Genómica y la Sociedad Internacional de Diagnóstico Prenatal han publicado guías que establecen las indicaciones para cada prueba molecular [5,10]. Hemos enlistado aquí alguna de las indicaciones para las pruebas moleculares más frecuentes en medicina prenatal:

a. Consideraciones pre-test:

1. SE podría ser considerado para un feto que presenta anomalías por ultrasonido, pero que el microarreglo y el cariotipo se reportan negativos. Durante la evaluación multidisciplinaria existe una alta sospecha clínica de una etiología genética (single-gene disorder).
2. Un feto anterior (o hijo) con una anomalía o anomalías que sugieren una etiología genética con una recurrencia inexplicable durante el embarazo actual.
3. No se debe ofrecer SE como estudio de rutina cuando no hay anomalías fetales.

4. Se debe presentar a los pacientes los probables resultados que se podrían obtener incluyendo VUS, las preferencias en el reporte de hallazgos incidentales, de hallazgos no anticipados, tiempo de entrega de los resultados y la probabilidad de tener que tomar nuevas muestras para el re análisis.

b. Consideraciones post-test [11]:

Se debe seguir lo establecido durante el consejo inicial y respetar las decisiones sobre cuales resultados se van a presentar a los pacientes y cuáles se van a re-tener:

1. Un resultado negativo no necesariamente quiere decir que no existe un desorden genético en el feto.
2. En la mayoría de los casos, los resultados inciertos no deben ser utilizados para realizar test de pre-implantación o test genéticos en el siguiente embarazo. Estos resultados deben ser discutidos e interpretados por un genetista con amplia experiencia.
3. Los casos inciertos o negativos se podrían beneficiar del reanálisis si aparecen nuevos hallazgos clínicos.

CONCLUSIONES

La genética molecular ha avanzado en gran medida en Latinoamérica. Esta implementación se ha transformado en una herramienta muy importante para el diagnóstico preciso en casos prenatales.

A medida que la complejidad de las opciones de diagnóstico prenatal genético se va expandiendo, debe aumentar también la calidad y la cantidad de servicios de consejería genética, basados en una adecuada asesoría pre- y post test.

La oferta educativa debe ser tanto para el proveedor del servicio de salud como también para los pacientes, con la finalidad de que realmente se pueda tomar la mejor decisión informada.

Es importante que los profesionales de la salud comprendan estas nuevas herramientas, y que conozcan sus capacidades, limitaciones e indicaciones de su uso.

REFERENCIAS

- [1] United Nations. Levels and Trends in Child mortality:2020 Report. United Nations Childrens Fund;2020.
- [2] Boyle B, Addor M, Arriola L, et al. Estimating global burden of disease due to congenital anomaly: an analysis of European data. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2018; 103:F22-F28.
- [3] Roncancio CP, Misnaza SP, Peña IC, et al. Trends and characteristics of fetal and neonatal mortality due to congenital anomalies, Colombia 1999-2008. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31: 1748-55.
- [4] Vora NL, Norton ME. Prenatal exome and genome sequencing for fetal structural abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 2023; 228:140-49.
- [5] Monaghan KG, Leach NT, Pekarek D, et al. ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2020; 22: 675-80.
- [6] Almubarak A, Zhang D, Kosak M, Rathwell S, et al. Prenatal genetic testing in the era of next generation sequencing: a one -center Canadian experience. *Genes* 2022;13: doi:10.3390/genes13112019.
- [7] Liu X, Liu S, Wang H, Hu T. Potential and challenges of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Front Genet* 2022; 13: 936183. doi: 10.3389/fgene.2022.938183
- [8] Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 2175-84.
- [9] Normand EA, Alaimo JT, Van der Veyver IB. Exome and genome sequencing in reproductive medicine. *Fertil Steril* 2018; 109: 213-20.
- [10] International Society for Prenatal Diagnosis; Society for Maternal Fetal Medicine; Perinatal Quality Foundation. Joint Position Statement from the International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), the Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), and the Perinatal Quality Foundation (PQF) on the use of genome-wide sequencing for fetal diagnosis. *Prenatal Diagn* 2018; 38: 6-9
- [11] Sparks TN, Dugoff L. How to choose a test for prenatal genetic diagnosis: a practical overview. *Am J Obstet Gynecol* 2023;228:178-86
- [12] Kucinska-Chahwan A, Roszkowski T, Nowakowska M, et al. Extended genetic testing in fetuses with sonographic skeletal system abnormalities. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2022;59:660-7
- [13] Gray KJ, Wilkins-Haug LE, Herry NJ, et al. Fetal phenotypes emerge as genetic technologies become robust. *Prenat Diagn* 2019;39:811-7.
- [14] Leung GKC, Mak CCY, Fung JLF, Wong WHS, Tsang MHY, Yu MHC, Pei SLC, Yeung KS, Mok GTK, Lee CP, Hui APW, Tang MHY, Chan KYK, Liu APY, Yang W, Sham PC, Kan ASY, Chung BHY. Identifying the genetic causes for prenatally diagnosed structural congenital anomalies (SCAs) by whole-exome sequencing (WES). *BMC Med Genomics.* 2018 Oct 25;11(1):93. doi: 10.1186/s12920-018-0409-z. PMID: 30359267; PMCID: PMC6202811.
- [15] Tan H, Xie Y, Chen F, Chen M, Yu L, Chen D, Chen J. Novel and recurrent variants identified in fetuses with central nervous system abnormalities by trios-medical exome sequencing. *Clin Chim Acta.* 2020 Nov;510:599-604. doi: 10.1016/j.cca.2020.08.018
- [16] Instituto de Efectividad Clínica Sanitaria, Secuenciación de exoma completo en pacientes con trastornos neurológicos no diagnosticados, Diciembre 2026, Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/03/981060/ets-180-pami-wes.pdf>
- [17] Liang D, Wang Y, Ji X, Hu H, Zhang J, Meng L, Lin Y, Ma D, Jiang T, Jiang H, Asan, Song L, Guo J, Hu P, Xu Z. Clinical application of whole-genome low-coverage next-generation sequencing to detect and characterize balanced chromosomal translocations. *Clin Genet.* 2017 Apr;91(4):605-610. doi: 10.1111/cge.12844. Epub 2016 Sep 5. PMID: 27491356.