





**Anàlisi citogenètica en pèrdues  
gestacionals i avaluació del cribatge  
prenatal per ecografia per a la detecció  
d'alteracions cromosòmiques**

**Neus Baena Díez**  
Tesi doctoral  
Sabadell, desembre 2010



# **Anàlisi citogenètica en pèrdues gestacionals i avaluació del cribatge prenatal per ecografia per a la detecció d'alteracions cromosòmiques**

**Neus Baena Díez**

Memòria presentada per optar al grau de Doctora per la Universitat Autònoma  
de Barcelona

Aquesta tesi doctoral ha estat realitzada sota la direcció de la Dra María Rosa  
Caballín Fernández i la codirecció de la Dra. Míriam Guitart Feliubadaló a la  
Corporació Sanitària Parc Taulí de Sabadell.

Tesi doctoral adscrita al departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i  
Ecologia de la Universitat Autònoma de Barcelona.  
desembre 2010

María Rosa Caballín Fernández

Míriam Guitart Feliubadaló

Neus Baena Díez

Els treballs duts a terme en aquesta tesi han estat realitzats al laboratori de recerca de la UDIAT-Centre Diagnòstic de la Corporació Sanitària Parc Taulí de Sabadell. Han estat possible gràcies al suport obtingut del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS) del Instituto Carlos III, Fundació Parc Taulí Institut Universitari UAB, European Registration of Congenital Anomalies and Twins (EUROCAT).



Als meus pares pel seu esforç

i

Carles, Quim i Joan





La nostra recompensa es troba en l'esforç i no en el resultat.

Un esforç total és una victòria completa.

*Mahatma Gandhi*



<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	
<b>1.1 DEFECTES CONGÈNITS</b>	<b>1</b>
1.1.1 DEFINICIÓ	1
1.1.2 ANTECEDENTS	1
1.1.3 CLASSIFICACIÓ	2
1.1.4 ETIOLOGIA	3
1.1.5 AGENTS TERATOGÈNS	4
1.1.6 REGISTRES DE DEFECTES CONGÈNITS (DC)	5
1.1.6.1 Registres espanyols de base poblacional	6
1.1.6.2 Registres espanyols de base hospitalària	7
1.1.6.3 Registres internacionals	8
<b>1.2 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES</b>	<b>9</b>
1.2.1 INCIDÈNCIA I TIPUS	9
1.2.1.1 Aneuploidies	10
1.2.1.2 Anomalies cromosòmiques estructurals	10
1.2.2 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES EN PÈRDUES GESTACIONALS	12
1.2.2.1 Incidència	14
1.2.2.1.1 Avortament espontani	14
1.2.2.1.2 Mort fetal intrauterina i mort fetal pospart	15
1.2.2.1.3 Interrupció voluntària de l'embaràs (IVE)	16
1.2.3 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES RARES	17
1.2.4 LA SÍNDROME DE TURNER	18
<b>1.3 TÈCNiques PER L'ESTUDI PRENATAL</b>	<b>24</b>
1.3.1 TÈCNiques NO INVASIVES	24
1.3.1.1 Ecografia	24
1.3.1.2 Ecocardiografia	25
1.3.1.3 Ressonància magnètica fetal	25
1.3.1.4 Cribatge bioquímic en sèrum matern	26
1.3.2 TÈCNiques INVASIVES	28
1.3.2.1 Biòpsia de còrion	28
1.3.2.2 Amniocentesi	28
1.3.2.3 Funiculocentesi	30
1.3.2.4 Diagnòstic ràpid d'aneuploidies	30
1.3.3 TÈCNiques EN DESENVOLUPAMENT	32
1.3.3.1 Estudi de cèl·lules fetals en sang materna i estudi de cèl·lules trofoblàstiques de descamació	32
1.3.3.2 Diagnòstic preimplantacional	32
1.3.3.3 Array-CGH (hibridació genòmica comparada)	33
<b>1.4 DIAGNÒSTIC DE DC PER MITJÀ DE L'ECOGRAFIA</b>	<b>37</b>
1.4.1 CRIBATGE ECOGRÀFIC DE DC DURANT EL SEGON I TERCER TRIMESTRE	37
1.4.2 CRIBATGE ECOGRÀFIC DE DC DURANT EL PRIMER TRIMESTRE	40
1.4.3 CRIBATGE D'ANEUPLOIDIES	41
1.4.4 MARCADORS ECOGRÀFICS DE PRIMER TRIMESTRE D'ANEUPLOIDIES	44
1.4.5 MARCADORS ECOGRÀFICS D'ANEUPLOIDIES DE SEGON I TERCER TRIMESTRE	49
<b>1.5 OBJECTIUS</b>	<b>53</b>

<b>2. MATERIAL I MÈTODE</b>	
<b>2.1. ESTUDI CITOGENÈTIC DE PÈRDUES GESTACIONALS</b>	<b>55</b>
2.1.1 Material biològic	55
2.1.2. Material de laboratori	56
2.1.3 Productes i solucions	56
2.1.4. Metodologia	57
2.1.4.1. Processament i cultiu de placenta	57
2.1.4.2. Processament i cultiu de cartilag	58
2.1.4.3. Extracció del cultiu i obtenció de preparacions cromosòmiques	59
2.1.4.4. Anàlisi de les preparacions cromosòmiques	60
<b>2.2 CRIBATGE PER ECOGRAFIA PER A LA DETECCIÓ D'ALTERACIONS CROMOSÒMIQUES</b>	<b>61</b>
2.2.1 Grup d'estudi EUROSCAN	61
2.2.1.1 Població d'estudi	61
2.2.1.2 Definició de cas	61
2.2.2. Recollida de les dades	61
2.2.2.1 Qüestionari	61
2.2.3. Elaboració de les dades i anàlisi estadístic	62
2.2.3.1 Codificació	62
2.2.3.2 Anàlisi estadística	62
<b>3. RESULTATS</b>	<b>67</b>
3.1 ARTICLE N°1. Fetal and placenta chromosome constitution in 237 pregnancy losses.	67
3.2 ARTICLE N°2. Prenatal detection of rare chromosomal autosomal abnormalities in Europe.	75
3.3 ARTICLE N°3. Turner Syndrome: Evaluation of Prenatal Diagnosis in 19 European Registries.	85
3.4 ANNEX DE RESULTAT. ARTICLE N°4. Contribution of ultrasonographic examination to the prenatal detection of chromosomal abnormalities in 19 centres across Europe.	90
<b>4. DISCUSSIÓ</b>	<b>101</b>
<b>4.1 ANÀLISI CITOGENÈTICA EN PÈRDUES GESTACIONALS</b>	<b>101</b>
4.1.1 TÈCNICA D'ESTUDI	101
4.1.2 FREQUÈNCIA D'ANOMALIES CROMOSÒMIQUES	101
4.1.3 DISCREPÀNCIES EN ELS RESULTATS CITOGENÈTICS PRENATAL I POSTNATAL O IVE.	102
<b>4.2 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES EN EL CRIBATGE ECOGRÀFIC DE DEFECTES CONGÈNITS PRENATAL.</b>	<b>104</b>
4.2.1 FREQUÈNCIA GLOBAL	104
4.2.2 ANEUPLOIDIES AUTOSÒMIQUES FREQUENTS	105
4.2.2.1 TAXA DE DETECCIÓ I DEFECTES CONGÈNITS	105
4.2.3 SÍNDROME DE TURNER	107

---

4.2.3.1	TAXA DE DETECCIÓ .....	107
4.2.3.2	DEFECTES CONGÈNITS.....	108
4.2.3.3	CORRELACIÓ ENTRE CARIOTIP I DEFECTES CONGÈNITS.....	109
4.2.3.4	CONSELL GENÈTIC .....	111
4.2.4	TRIPLOIDIA.....	112
4.2.5	ANOMALIES DELS CROMOSOMES SEXUALS EXCLOENT LA SÍNDROME DE TURNER.....	112
4.2.6	ANOMALIES CROMOSÒMIQUES AUTOSÒMIQUES POC FREQUENTS.....	114
4.2.6.1	TAXA DE DETECCIÓ I DEFECTES CONGÈNITS.....	114
4.2.6.2	TIPUS D'ANOMALIES CROMOSÒMIQUES POC FREQUENTS.....	115
<b>4.3</b>	<b>DISCUSSIÓ GLOBAL.....</b>	<b>120</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONS .....</b>	<b>123</b>
<b>6.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>125</b>



En primer lloc voldria agrair a les meves directores **Dra. M<sup>a</sup> Rosa Caballín** i **Dra Míriam Gúitart**. Gracias M<sup>a</sup> Rosa, fuiste tú la que me pusiste en contacto con Míriam. La M<sup>a</sup> Rosa una profesora de la que vam aprendre el sentit aplicat de la Genètica. Amb molta gratitud i afecte a la Míriam de la que tot he après, i amb la que cada dia ens instrueix, gràcies a ella vaig aprendre tot el que se de la genètica. Un model a seguir, pel seu gran coneixement, per saber compaginar la tasca assistencial amb el seu toc romàntic per la recerca, sempre avançant-se, una lluitadora. També unes lletres per agrair a la **Dra. Elisabeth Gabau** de la que tantes coses aprenem, per la seva gran humanitat i sensibilitat amb els pacients, pel seu sentit comú i naturalitat. Al **Dr. Joan Carles Ferreres** amb el que gràcies a la seva col·laboració vam començar l'estudi de les pèrdues fetals, tant entusiasta de la patologia fetal, encara conservo algun dibuix seu.

I show my immense gratitude to **EUROCAT** since this work would not have been possible because it allowed us to collaborate in the study **EUROSCAN**. Merci beaucoup à **Prof. Stoll** et **Dra. de Vigan**. Grazie al **Prof. Clementi** e il **Dr. Carlati**.

Expressar també el meu agraïment a la **Corporació Sanitària Parc Taulí** en especial al laboratorí que hem va permetre formar-me. A la Mari Carmen perquè ella em va ensenyar tot sobre els cultius, quants cromosomes retallats, quantes hores a la cambra fosca.... Mes recentment a la Carmeta amb la que compartim la feina diària. Del laboratorí, a molts companys, molt especialment a la M<sup>a</sup> José Amengual, sempre donant un cop de mà a tots els nivells. A la Montse Torra per haver-me permès estar i continuar ara. A companys amb els que compartim feina Anna Veraguas, la super Mila, Encarna, la Llimós.....

Del laboratorí de recerca a tants companys, el Chema, Montse Vendrell, Sergi, Laura, Inma. Como no a Mariela amb la que sempre pots parlar i intercanviar inquietuds. Per mí i molt especial de la genètica molecular a la Marina que sempre em fa un cop de mà amb el MLPA i amb la que cada dia parlem una mica. A la genial Anna Brunet, per les bones estones a BC, pel seu bon caràcter, el seu sentit de l'humor i pel seu ajut en la part final del treball.

Després de tant temps són moltes les persones amb les que m'he creuat pel camí. A tots els meus companys de **Balagué Center** perquè d'una manera o altre m'han ajudat, des del inici amb el Jordi Rosell, Nancy Govea, Elisabet Silvestre, Isabel Granada i Marta Bernués. I mes tard en una segona etapa amb la Maguí Ortega, Eulàlia Solsona, Susana Gaitan i Yolanda Álvarez amb les que hem compartit tantes i tantes coses. No puc deixar de pensar en altres persones amb les que també he compartit molts moments, en cotxe a les 5h30' del matí amb l'Alberto, la Peris i el Ruben. Tres puntals en les tècniques, la Mary la primera de totes, la Mònica i la Juaní amb les que he compartit molts secrets. No m'oblido de la Cris, de la Naima, David, Josep, Lorena i resta de companys de prenatal i de Quantánamo. A tants i tants cap de setmana treballant per treure el "tap" que mai s'acabava i sorgia un altre.

Com no a la meva família, un record molt especial als meus pares ja que gràcies a ells tot ha estat possible, als meus germans Josemí i Gabriel. Als meus sogres, cunyats i nebots. Als meus xicots Carles, Quim i Joan que han estat molt pacients amb mí.





# 1. INTRODUCCIÓ



## 1.1 DEFECTES CONGÈNITS

### 1.1.1 DEFINICIÓ

Es defineix **DEFECTE CONGÈNIT (DC)** a tota alteració morfològica, estructural, funcional o molecular present en el naixement independentment del seu origen, localització i moment en que es posa de manifest o es diagnostica. Una *malformació* congènita és un defecte estructural primari que té lloc durant el desenvolupament d'un òrgan o teixit. Un 2-3% dels recent nascuts presenten DC durant el primer any de vida.

Els DC poden tenir un origen genètic o ambiental. Des del moment de la concepció fins el naixement l'embrió o el fetus està exposat a diversos agents que poden incidir en el seu desenvolupament. El ràpid avanç de la tecnologia generada durant les darreres tres dècades permeten investigar a fons en la salut de l'embrió i del fetus des del moment de la concepció fins el part, detectant un nombre cada cop més gran de DC.

Els DC són actualment la principal causa de mortalitat perinatal i una de les primeres causes de morbiditat infantil en els països desenvolupats (De Galan-Roosen i col·ls, 1998; Clementi i Stoll, 2001; Patteden i col·ls, 2010). Sovint produeixen greus discapacitats físiques i/o mentals que afecten al individu de per vida. Les implicacions personals, familiars, socials i econòmiques dels DC són molt importants, això implica que des de fa varies dècades s'estan dedicant recursos en la recerca de les seves causes amb la finalitat de prevenir-los. Els DC individuals són relativament rars, però en conjunt són importants per a la salut pública. L'estudi dels DC és sens dubte un tema de gran interès i actualitat, degut a que aporten informació bàsica que contribueix a aclarir l'etiopatogènia i conseqüentment a planificar una millor actuació profilàctica i terapèutica.

### 1.1.2 ANTECEDENTS

Durant molts anys els DC es consideraven successos impossibles de predir, inevitables i poc freqüents, com a conseqüència d'això i perquè existien altres causes de mortalitat i morbiditat infantil, des del punt de vista sanitari no eren tractats com a fets rellevants.

Els estudis epidemiològics sobre els DC eren inexistents durant la primera meitat del segle XX. Probablement el primer investigador interessat en l'epidemiologia dels DC fou Greg (oftalmòleg australià) que el 1940, observà un increment en la freqüència de determinats DC oculars presumiblement associats a epidèmies de rubèola.

Cal assenyalar un fet històric determinant: *La catàstrofe de la talidomida*, que es produí a començament de la dècada dels 1960, aquest fet va demostrar la necessitat de realitzar estudis epidemiològics de DC (Zetterström i Eriksson, 1987).

Una contribució en el coneixement de l'etiologia dels DC fou l'aportació en el 1.959 de Lejeune i Turpin, que descobriren que la Síndrome de Down era el resultat d'una trisomia en el parell cromosòmic 21. Durant les dècades posteriors es van descriure nombroses alteracions cromosòmiques associades a diferents tipus de síndromes malformatives i l'anàlisi citogenètica aleshores es convertí en rutina en la diagnosi d'aquestes síndromes.

En el decurs dels darrers anys s'ha produït un augment del interès pels DC. Això és degut en part a l'evidència d'un increment d'aquest tipus de defectes derivats de la introducció en el medi ambient de productes tòxics i dels descens de la mortalitat per altres causes com les infeccions o la malnutrició, etc. A més, el descens de la natalitat ha donat lloc a l'exigència de que els nens siguin sans (Dexeus, 1989). A una millora en la prevenció dels DC van contribuir:

1. Les tècniques d'estudi morfològic del fetus en l'úter per mitjà de l'ecografia.
2. Els estudis bioquímics en sèrum matern, i els estudis genètics que permeten la detecció amb precisió d'anomalies fetals.
3. El major coneixement de les repercussions de malalties maternes, com la diabetis, infeccions, etc. sobre el fetus.

### 1.1.3 CLASSIFICACIÓ

Els DC es poden classificar atenent a la:

- Gravetat: major o menor.
- Localització: externa o interna.
- Associacions: úniques o múltiples.
- Cronologia: blastopatia, embriopatia o fetopatia.
- Nivell d'organització: deformitat, malformació, displàsia/dishistogènesi, i metabolopatia (Taula 1.1).
- Etiologia: genètica, ambiental o multifactorial.

S'ha observat que en un mateix individu poden trobar-se diversos defectes que es relacionen entre sí. Aquests són:

1. Associació malformativa: és quan un individu presenta varies anomalies relacionades estadísticament, però que no tenen cap relació ni etiològica ni patogènica.
2. Síndrome: és el conjunt d'anomalies originades per la mateixa causa.
3. Seqüència: és un conjunt d'anomalies com a conseqüència d'una cascada de successos iniciats per un únic factor primari.

Tipus	Definició	Exemple
<b>Deformitat</b>	Alteració morfològica o postural d'una part de l'organisme causada per factors mecànics	Peus bots
<b>Malformació</b>	Anomalia morfològica d'un òrgan, part d'un òrgan o un àrea degut a una alteració intrínseca de la morfogènesi	Fenedura palatina
<b>Displàsia/Dishitogènesi</b>	Alteració fonamental localitzada en l'estructura dels teixits	S. Marfan
<b>Metabolopatia</b>	Alteració bàsica de naturalesa bioquímica i que afecta a un enzim bloquejant una reacció metabòlica i alterant la funció cel·lular	Fibrosi quística

Taula 1.1. Classificació dels DC d'acord al nivell d'organització

#### 1.1.4 ETIOLOGIA

La recerca de les causes dels DC s'ha convertit en un important repte per a la biomedicina actual. Malgrat el gran avanç en el coneixement de la genètica humana, promogut pel *Projecte Genoma Humà* el mecanisme etiopatogènic dels DC continua essent desconegut per a molts defectes. Es suggereix que en la majoria dels DC l'etiologia estigui determinada pel l'acció concurrent i sinèrgica de factors ambientals i genètics (Green i Moore, 2006). Les causes dels DC són molt diverses, però es poden agrupar en les d'origen genètic, les de causa ambiental i multifactorial. A la Taula 1.2 es mostra les diferents causes dels DC i el percentatge que representa cadascuna respecte el total (Tumpenny i Ellard, 2007).

ORIGEN dels DC	PERCENTATGE (%)
<b>Genètiques</b>	
Gènic (monogènic)	7,5
Cromosòmic	6
CNV	8
Total	21,5
<b>Ambientals</b>	
Infeccions maternes	2
Malalties maternes no infeccioses	2
Fàrmacs i agents químics	2
Agents físics	1
Total	7
<b>Multifactorial</b>	20-30
<b>Desconeguda</b>	41,5-51,5

Taula 1.2. Origen dels DC (Turpenny i Ellard, 2009)

Es pot observar que entre un 38,5 i un 48,5% es desconeix l'agent determinant. Les

noves tecnologies generades de la recerca del genoma humà han permès identificar noves variants genètiques, com les variacions del número de còpia o CNV associades a fenotips clínics. Una CNV es defineix com un segment d'ADN d'almenys 1kb de mida que difereix en el nombre de còpies respecte a una població control. La significació clínica no està inclosa en la definició i es recomana que una CNV sigui descrita com a patogènica, benigne o de significat incert. En general es consideren patogèniques les de mida més gran, aquelles que es troben en àrees riques en gens i les "de novo" (Lee i col·ls, 2008; Aston i col·ls 2008). La tècnica d'array-CGH permet analitzar seqüències curtes fins a 200 Kb, de tot l'ADN genòmic i gairebé fins a un milió de forma simultània, i el seu ús aporta un coneixement molt exhaustiu sobre les variacions genètiques; Bruno i col·ls (2009) aplicant la tècnica d'array-CGH d'alta resolució amb SNP en una sèrie de 117 pacients amb DC i/o discapacitat intel·lectual i cariotip normal troben que un 23% dels pacients mostren una CNV considerada patogènica o significat incert. La detecció d'aquestes variacions en les CNV suggereixen que aquestes síndromes emergents són relativament comunes i que col·lectivament podrien contribuir en una proporció significativa a explicar la causa en aquells pacients amb DC i/o discapacitat intel·lectual.

### 1.1.5 AGENTS TERATOGENS

La teratologia és la branca que es dedica a l'estudi de la contribució de l'ambient al desenvolupament i creixement embrionari i fetal anormal.

Un *teratogen* és un agent que pot causar anomalies en la forma o en la funció en un embrió/fetus exposat a aquest. Poden produir la mort cel·lular, alterar el creixement tissular o interferir en la diferenciació cel·lular o en els processos morfogènics inclosos els processos mecànics (Hanson, 1983). El potencial teratogènic d'un agent és variable. Existeixen una sèrie de factors que contribueixen a la variabilitat de l'acció d'un teratogen, com són:

- 1) Dosi.
- 2) Moment de l'exposició.
- 3) Temps d'exposició.
- 4) Susceptibilitat de l'individu.
- 5) Interacció amb altres factors.

Els agents teratogènics han estat classificats convencionalment en les següents categories:

- Agents físics.
- Agents infecciosos.
- Agents químics i medicaments.
- Malalties metabòliques i genètiques maternes.

A la taula 1.3 es relacionen alguns exemples d'agents teratògens, els seus efectes en el fetus i els DC que poden produir.

Tipus	DC
<b>Agents físics:</b>	
- Radiació	RCIU, microftalmia, SNC
- Calor	SNC, Sd. Moebius, anomalies posicionals
- Factors mecànics	Potter, exencefàlia, reduccions d'extremitats, fenedures facials
<b>Agents infecciosos:</b>	
- Virus:	
Rubèola	RCIU, cataractes, microftalmia, SNC, defectes cardíacs, DI
Citomegalovirus	DI, SNC, corioretinitis, defectes cardíacs, gastrointestinals i musculoesquelètics
Herpes simple	Microftalmia, microcefàlia, calcificacions intracranials, persistència conducte arteriós
Varicel·la	RCIU, microftalmia, DI
- Bacteris:	
Sífilis	Hidrops, hidrocefàlia, lesions intracerebrals
Micoplasma	Anencefàlia
- Paràsits:	
Toxoplasma	Microftalmia, hidrocefàlia, calcificacions intracranials, cataractes, corioretinitis, DI, sordesa
<b>Agents químics i Farmacològics:</b>	
- Antibiòtic	RCIU, sordera, anomalies dentals, cataractes, anomalies extremitats
- Anticonvulsionants	Fenedures facials, defectes cardíacs, urogenitals, extremitats
- Citostàtics	RCIU, SNC, anomalies musculoesquelètiques, retard psicomotor
- Hormones	Lesions cerebrals, anomalies gastrointestinals, extremitats
- Antidepressius	Defectes cardíacs, reduccions extremitats
- Anticoagulants	Síndrome warfarina
- Vacunes	SNC, defectes cardíacs
- Tòxics laborals	SNC, RCIU, avortaments
- Habituals: alcohol	Ceguesa, retard psicomotor, RCIU, Sd. Alcohòlic fetal i DI
<b>Factors metabòlics i genètics materns</b>	Defectes cardíacs, llavi leporí amb fenedura, DI, RCIU, avortaments

Taula 1.3. SNC: Sistema nerviós central, RCIU: Retard de creixement intrauterí, DI: Discapacitat intel·lectual (Jorde i col·ls, 2003).

### 1.1.6 REGISTRES DE DEFECTES CONGÈNITS

Els registres de DC són en l'actualitat la millor eina de les que es disposa per a la vigilància epidemiològica. L'objectiu principal dels registres de DC és la monitorització regular i sistemàtica dels defectes i l'anàlisi d'associacions entre factors ambientals i certs tipus de DC.

Una de les principals raons per posar en marxa un sistema de monitorització de DC, és

per establir la prevalença en una població definida i identificar possibles augments d'un determinat tipus de defecte congènit o grups de DC el més aviat possible. A més a més permet cercar DC de baixa freqüència i detectar possibles agents teratògens nous.

Els principals objectius d'un registre de DC són:

1. Vigilància epidemiològica: quantificació del nombre de casos, i estudi de tendències de les freqüències.
2. Avaluació i planificació dels serveis sanitaris.
3. Investigació etiològica: estudi de factors de risc desconeguts i control d'exposicions localitzades.

Existeixen dos tipus de registres de DC, els de base poblacional i els de base hospitalària. En els de base poblacional s'assumeix que la població d'interès està geogràficament definida i que està associada als mateixos factors de risc. En els de base hospitalària les dades obtingudes estan influenciades pels tipus d'hospitals que participin, el grau d'especialització i si són centres de referència.

### 1.1.6.1 Registres espanyols de base poblacional

#### ▪ **Registre de DC de la ciutat de Barcelona**

El registre de DC de Barcelona és un projecte coordinat des del Servei d'Informació Sanitària de l'agència de Salut Pública de Barcelona ([www.aspb.es/quefem/](http://www.aspb.es/quefem/)). Aquest registre va començar a funcionar al gener del 1992. Inclou naixements vius i morts i interrupcions voluntàries de l'embaràs (IVE) de la ciutat de Barcelona que es recullen de 18 maternitats, centres de genètica i comitès de DC. És un registre tipus cas-control i recull informació per una mostra de controls formada pel 2% dels naixements sense DC. La taxa global de casos amb DC en el període 1992-2006 va ser del 2,1%. Aquest registre va obtenir una taxa de detecció global prenatal de DC del 60% (2004-2007), 48% dels quals es van detectar abans de la setmana 23 de gestació (2006). La taxa de detecció prenatal per a la Síndrome de Down al 2007 ha estat del 80%. Aquest registre mostra dades sobre la població control de la ciutat de Barcelona on s'observa que la proporció de gestants sotmeses a una prova invasiva ha augmentat al llarg del temps arribant al 70,4% al 2004 ([www.aspb.es](http://www.aspb.es)).

#### ▪ **Registre de DC d'Astúries**

El registre de DC d'Astúries és un projecte que es va iniciar a l'any 1990 i està coordinat per la "Consejería de Sanidad del Gobierno del Principado de Asturias". A l'igual que l'anterior és un registre de base poblacional que inclou tots els naixements vius o morts i interrupcions voluntàries de l'embaràs que es recullen de vuit maternitats. Es un registre cas-control i es



recullen controls en quatre maternitats. La taxa global de DC és del 2,9% i de detecció prenatal d'aproximadament el 41,1% en el 2004 (Mosquera i col·ls, 2009).

- **Registre de DC País Basc**

El registre de DC del País Basc va sorgir com iniciativa del "Departamento de Sanidad del Gobierno Vasco" i la col·laboració de la Sociedad Vasco-Navarra de Pediatría al 1989. És un registre de base poblacional que inclou tots els naixements vius o morts i interrupcions voluntàries de l'embaràs d'un total de 19 maternitats. La taxa global de DC és del 1,9% (1997-2006) i de detecció prenatal d'aproximadament el 34,4% en el 2006 (Portillo, 2005).

- **Registre de DC del Vallès**

El registre de DC del Vallès és un projecte que es va implementar a l'abril del 1991 i ha estat finançat per diverses ajuts del "Fondo de Investigaciones Sanitàries". La població objecte del registre es controlar tots els naixements vius i morts i IVEs de mares residents als municipis del Vallès, que és al voltant d'un milió d'habitants. S'ha exclòs el municipi de Montcada i Reixac donat que la majoria dels naixements tenen lloc a Barcelona (Salvador i col·ls, 1998).

Es registren tots el casos des del període prenatal fins els primers dies de vida. Per aquells defectes detectats durant el període prenatal s'ha fet un seguiment per confirmar el defecte tant en el neonat com en la IVE a través de la necròpsia .

#### **1.1.6.2 Registres espanyols de base hospitalària**

L' Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas (ECEMC) funciona a Espanya des del 1976, és un registre de base hospitalària que inclou els naixements vius i morts, però no inclou les interrupcions voluntàries de l'embaràs tenint una cobertura del 21,5% de tots els naixements espanyols (<http://iier.isciii.es/er/html/erciac.htm>). Les dades obtingudes provenen dels 146 hospitals participants que col·laboren voluntàriament. La prevalença global de DC d'aquest registre fins desembre del 2008 és de 1%. Les principals limitacions d'aquest estudi són, el no recollir les interrupcions voluntàries de l'embaràs que donat l'increment en la taxa de detecció prenatal per a certs DC pot representar una alta proporció de casos i la derivació d'embarassos de risc cap a hospitals de referència amb la manca de seguiment i confirmació del diagnòstic.

### 1.1.6.3 Registres internacionals

- **ICBDMS**

La primera organització internacional de registres de DC fou el International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring System (ICBDMS). Va començar a funcionar al 1974. Actualment recull informació de 44 registres de 37 països d'Amèrica del Nord i Sud i d'Europa. Els registres que hi participen recullen els casos a nivell poblacional o a nivell hospitalari ([www.icbdsr.org](http://www.icbdsr.org)). La prioritat estratègica d'aquest registre és la vigilància i el intercanvi de dades de DC entre els diferents registres promovent definicions d'uns certs tipus de DC, així com la coordinació de projectes de recerca entre els diferents participants, (<http://www.icbdsr.org/filebank/documents/Report2007.pdf>).

- **EUROCAT**

Al 1979 es va crear una iniciativa similar que va agrupar alguns registres europeus el "European Registration of Congenital Anomalies and Twins" (EUROCAT) en l'actualitat consta de 43 registres de 20 països. A diferència d'ICBDMS recull solament registres de base poblacional, es a dir es basen en registres que recullen els casos sobre una població definida. Cobreix una població de 1.500.000 de naixements anuals, això representa una cobertura de 29% dels naixements a Europa. Aquest registre cobreix malformacions estructurals, anomalies cromosòmiques, desordres metabòlics i altres malalties hereditàries. No hi ha límit en quan a l'edat de detecció dels DC.

EUROCAT és una acció concertada de la Unió Europea per a la vigilància epidemiològica dels DC. La coordinació d'EUROCAT està finançada per la Unió europea i està coordinada a través d'un responsable (*Project leader*). En l'actualitat la seu del registre central està localitzada en el Servei de Epidemiologia en la Universitat de l'Ulster a Irlanda ([www.eurocat.ulster.ac.uk](http://www.eurocat.ulster.ac.uk)).

La prevalença global de DC de 2004-2008 va ser de 2,3% i les prevalences dels DC més freqüents es mostren a la taula 1.4.

DC	Prevalença 10.000 naixements
Sistema Nerviós Central	24,08
Ull	3,71
Orella, cara i coll	2,27
Cor	71,47
Sistema respiratori	5,5
Fenedures facials	15,62
Sistema digestiu	15,74
Defectes de la paret abdominal	6,41
Sistema urinari	29,5
Genitals	17,7
Extremitats	38,4
Musculoesquelètics	8,67
Síndromes malformatives per teratògens	1,3
Síndromes genètiques	5,7
Síndromes cromosòmiques	35,7

Taula 1.4 Prevalença dels DC més freqüents (www.eurocat.ulster.ac.uk)

En la taula 1.5 s'observen les taxes de detecció prenatal per alguns DC durant el període 1980-2006.

Defecte congènit	Nº Casos	Casos diagnosticats prenatalment
<b>No cromosòmics</b>		
Anencefàlia	953	919 (96%)
Espina Bífida	1575	1155 (73%)
Transposició de grans vasos	972	320 (33%)
Cor esquerre hipoplàstic	702	499 (70%)
Gastrosquisi	909	778 (86%)
Agènesia renal bilateral inclòs Sd. Potter	312	270 (87%)
<b>Cromosòmics</b>		
Síndrome de Down	5877	2994 (51%)

Taula 1.5. Freqüència mitjana de detecció prenatal de 2004-2008 (www.eurocat.ulster.ac.uk)

## 1.2 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES

### 1.2.1 INCIDÈNCIA I TIPUS

La incidència de les anomalies cromosòmiques varia depenent del moment en que s'analitzen. Un 0.65% dels recents nascuts (Hsu, 1992), i entre un 50-60% dels avortaments espontanis presenten una alteració cromosòmica (Boue i Boue 1985; Morales i col·ls, 2008). La

freqüència d'anomalies cromosòmiques en amniocentesis és al voltant del 3,5% (Caron i col·ls, 1999; Boormans i col·ls, 2010) i varia segons l'edat materna oscil·lant des d'un 0,48% a l'edat de 33 anys fins 8,3% a l'edat de 45 anys (Hsu, 1998). La cromosomopatia més freqüent és la trisomia 21, trisomia 18 i aneuploïdies dels cromosomes sexuals. La freqüència d'anomalies cromosòmiques en recent nascuts amb un o més DC està augmentant amb l'aplicació de noves tecnologies. En un estudi en recent nascuts amb DC i cariotip normal amb hibridació *in situ* fluorescent (FISH) amb sondes subtromèriques s'ha trobat que un 10% dels pacients tenien un desequilibri (Rodríguez i col·ls, 2008). Alguns estudis estan realitzats quan hi ha algun tipus de DC específic, com per exemple en fenèdres facials on es troba que un 9% presenta una anomalia cromosòmica (Tolarová i Cervenka, 1998) o bé en nadons amb atresia de coanes on es troba un 6% o un 10% en recent nascuts amb anoftàlmia o microftàlmia (Harris i col·ls, 1997; Källén i Tornqvist, 2005).

### 1.2.1.1 Aneuploïdies

El tipus d'anomalia cromosòmica constitucional més freqüent és la numèrica i en concret les trisomies autosòmiques 21, 18, 13 i les que afecten als cromosomes sexuals (47,XXY; 47,XXX; 47,XYY i 45,X). L'origen de les aneuploïdies és principalment la no disjunció a meïosi o en mitosi post-zigòtiques. L'origen parental de les aneuploïdies varia en funció del cromosoma implicat. Així per les trisomies 21, 18 i 13 són d'origen matern en un 90% dels casos i entre les trisomies sexuals més freqüents, la 47,XXX és d'origen matern mentre que el 50% dels 47, XXY i el 80% dels 45,X són d'origen patern.

### 1.2.1.2 Anomalies cromosòmiques estructurals

Les anomalies estructurals es produeixen per trencaments dels cromosomes originant fragments cromosòmics que poden perdre's o intercanviar-se, o per problemes en la reparació. La pèrdua de gens o el possible canvi d'activitat gènica poden produir disfuncions cel·lulars.

Cadascuna de les anomalies cromosòmiques estructurals pot considerar-se única ja que, encara que els punts de trencament observats al microscopi, es trobin a la mateixa banda, poden estar separats entre si per varies megabases (Warburton, 1991). La pèrdua o duplicació de segments cromosòmics d'una mida semblant pot tenir conseqüències molt diferents depenent dels nombre i funció dels gens que es localitzen en aquestes regions.

Les anomalies estructurals representen un 10% de totes les alteracions cromosòmiques i poden ser equilibrades i desequilibrades (Hsu, 1992). Les més freqüents són les equilibrades i es troben en un 2% dels recent nascuts i en un 5% dels embrions/fetus analitzats per diagnòstic prenatal. Les desequilibrades es troben en un 0.04% dels nounats i entre un 0.06% i un 0.4%

en les sèries de diagnòstic prenatal (Hsu, 1992; Jacobs i col·ls, 1992; Yu i col·ls, 1997; Bugge i col·ls; 2000, Han i col·ls, 2008).

Els principals tipus d'anomalies estructurals son: translocació recíproca, translocació robertsoniana, inversió, deleció, duplicació i cromosoma marcador. Les alteracions estructurals més freqüents són les translocacions. Les freqüències en la població general es mostren a la taula 1.6 (Shaffer i Lupski, 2000).

Alteració cromosòmica	Freqüència en la població general
Translocació robertsoniana	1 en 1000
Translocació recíproca	1 en 265
Cromosoma marcador	1 en 2000
Deleció terminal	Al menys 1 en 5000
Deleció intersticial	Al menys 1 en 4000
Duplicació intersticial	Al menys 1 en 4000

Taula 1.6. Freqüències d'anomalies estructurals (Shaffer i Lupski, 2000).

En general, les alteracions autosòmiques s'associen a fenotips més severes que les que afecten als cromosomes sexuals i els fenotips de les delecions son més severes que els de les duplicacions.

Es calcula que quasi el 10 % de les anomalies estructurals equilibrades i un nombre molt gran de les desequilibrades s'associen a alteracions del fenotip (Crolla, 1996; Brewer i col, 1998 i 1999; Bugge i col, 2000; Schaffer i Lupski, 2000; Li i col, 2000). Les característiques clíniques són retard de creixement intrauterí, discapacitat intel·lectual, dismorfies, alteracions neurològiques, DC i infertilitat.

Actualment, l'array-CGH (hibridació genòmica comparada) és una eina de citogenètica molecular molt valuosa per a la detecció de desequilibris genòmics i s'ha aplicat a diverses series de pacients amb discapacitat intel·lectual, retard del desenvolupament, trets dismòrfics i múltiples DC. Dins les sèries més recents, Lu i col·ls (2007) estudien pacients amb DC i/o trets dismòrfics mostrant un 8,4% de desequilibris genòmics, essent la taxa més alta de tots els grups inclosos en el seu estudi. Shaffer i col·ls, (2008) en una sèrie de nadons fins els tres mesos de vida amb un o mes DC amb cariotip normal o sense cariotip troben un 11.4% d'anomalies genètiques clínicament rellevants amb l'ús d'un array. Altres sèries van mostrar un 16,9% de desequilibris genòmics en una població fenotípicament anòmala (Aston i col·ls, 2008).

Apliquant la tècnica d'array d'alta resolució amb SNP (*single nucleotide polymorphism*), en una sèrie amb DC i/o discapacitat intel·lectual i cariotip normal es va trobar que un 15% presenten una CNV patogènica (Zahir i Friedman, 2007; Bruno i col·ls, 2009). Ahn i col·ls (2010) troben un 26% de desequilibris genòmics en el grup de casos amb cariotip normal i un 22% en pacients on s'aplica l'array com a test de primera línia.

### 1.2.2 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES EN PÈRDUES GESTACIONALS

S'ha estimat que entre un 30 a un 60% de les concepcions no finalitza el seu desenvolupament intrauterí i que més del 60% presenten una anomalia cromosòmica (Boué i col·ls, 1985; Creasy, 1988, Eiben i col·ls, 1990, Morales i col·ls, 2008).

Un embaràs pot finalitzar en qualsevol moment, des del zigot fins el naixement, però es pot considerar que les pèrdues gestacionals succeeixen durant els següents tres períodes:

- a) molt tempranament, des de la concepció fins el moment en que es reconeix clínicament la gestació, a les 4-6 setmanes.
- b) fins a la meitat de la gestació, des del reconeixement clínic de la gestació fins el final del segon trimestre.
- c) avançada la gestació, que es correspon amb el tercer trimestre.

Durant molts anys s'ha descrit la utilitat dels estudis de pèrdues gestacionals i de l'anàlisi de les causes de la mort i el seu impacte en la reproducció de la parella. Les dades de les pèrdues gestacionals a vegades són confuses per la manca del seu registre, per les variacions que hi ha en les definicions o per la interpretació de les definicions de les morts avantpart, per la inclusió de les morts intrauterines amb morts postnatsals i per la manca d'estudis necròpsics i/o placentaris. Hi ha estudis que mostren que al voltant del 50% de les autòpsies fetals estan per sota dels estàndards de qualitat requerits. És per això que els patòlegs pediàtrics mantenen la idea de que tota pèrdua fetal requereix d'una autòpsia i aquesta és significativament diferent de la que es practica a un adult. La proposta d'aquests estudis deuria estar d'acord amb el concepte de "unitat materno-feto-placentària" que proporciona l'evolució del creixement i desenvolupament fetal, i inclou un examen detallat de la placenta, que ajuda a establir la causa de la mort i proporciona una guia pel maneig en futures gestacions (Magee, 2001). En avortaments de primer trimestre amb una anomalia cromosòmica s'ha descrit una histologia placentària anòmala. També s'ha descrit una apoptosi cel·lular augmentada en el villi de pèrdues gestacionals (Kokawa, i col·ls, 1998). Qumsiyeh i col·ls (2000) van realitzar un estudi en pèrdues gestacionals que inclou l'estudi cromosòmic en placenta, pell i cordó umbilical i estudis de proliferació cel·lular per mitja d'immunohistoquímica i apoptosi, i troben una disminució de la proliferació en l'estroma del villi i cordó umbilical i un augment de l'apoptosi en l'estroma del villi en aquells fetus amb anomalies cromosòmiques en

comparar amb fetus amb cariotip normal.

Hefler i col·ls, (2001) van investigar el interès de l'autòpsia postnatal i de l'examen de la consulta genètica clínica en una sèrie de 139 fetus morts de més de 20 setmanes de gestació en un hospital universitari. L'interès estriba en que són escasses les dades existents i varien segons els hospitals i els diferents programes i protocols de morts fetals. L'estudi va mostrar que la necròpsia es duia a terme en el 96% dels casos, una taxa molt més alta que altres sèries publicades i per contra només un 12% van demanar visita a la unitat genètica. La única característica demogràfica que troben aquests autors relacionada amb la sol·licitud de consulta genètica és l'edat de la mare (30 anys vs 25anys). Malgrat hi ha poques dades publicades sobre la utilització del serveis de genètica en aquests casos, és molt important l'anàlisi del pedigrí, la detecció de petites anomalies i oferir un consell genètic.

L'estudi etiològic de les pèrdues gestacionals es classifiquen en les següents categories:

- Fetus de qualsevol edat gestacional en els que es sospiti d'una malformació externa o interna.
- Fetus amb retard de creixement intrauterí.
- Fetus macerats (degeneració dels teixits fetals).
- Fetus en els que hi ha història materna d'altres pèrdues gestacionals.
- Fetus amb hidrops no immune o amb seqüència d'oligoamnies.
- Fetus sense causa aparent de la mort.

Els estudis fetals rutinaris haurien d'incloure: anàlisi de l'història obstètrica i materna, examen físic, fotografies, un estudi necròpsic complet que inclogui l'estudi de la placenta, estudi cromosòmic, cultius bacterians i vírics, radiografies esquelètiques, i altres estudis, com per exemple els metabòlics, quan es donen determinades circumstàncies (Curry i Honoré, 1990). El col·legi americà d'obstetres i ginecòlegs (ACOG, 2007, 2009) ha editat una guia on es descriu el protocol a seguir en cas d'una mort avantpart i postpart, on s'inclou l'estudi citogenètic, de manera que cada hospital utilitzi aquesta guia per constituir un equip professional de referència i un protocol de maneig i avaluació de la mort fetal. Per poder establir la correlació clínica-patològica, la causa de la mort i proveir d'un consell apropiat a la família, es recomana un equip de obstetres, patòlegs, pediatres, neonatòlegs i genetistes. Aquesta guia suggereix una primera avaluació de la mort fetal per un genetista, neonatòleg o patòleg ja que pot ajudar a tot l'equip a coordinar tant l'avaluació com el seguiment.

Les principals causes de la mort de les pèrdues gestacionals són: mecàniques/disruptives, infeccions, DC, anomalies placentàries, immunològiques, neoplàsiques i metabòliques (Petersson i col·ls, 2002).

### 1.2.2.1 Incidència

#### 1.2.2.1.1 Avortament espontani

Avortament espontani: És la interrupció de l'embaràs abans de la vintena setmana de gestació o quan el fetus presenta un pes inferior a 500g de pes.

Aproximadament un 50-60% dels avortament espontanis presenten anomalies cromosòmiques (Creasy, 1988; Eiben i col·ls, 1990; Minelli i col·ls, 1993; Salafia i col·ls, 1993; Galan i col·ls, 1994; Griffin i col·ls, 1997; Gardner i Sutherland, 2004; Morales i col·ls, 2008). Aquesta xifra varia atenent a l'edat gestacional en la que te lloc la pèrdua, essent superior en els estadis inicials dels desenvolupament i va disminuint a mida que augmenta l'edat gestacional. Així entre la segona i setena setmana de gestació la freqüència d'anomalies cromosòmiques és del 66% i entre la setmana 8 i 12 del 23% (Boué i Boué, 1985).

Un 95% de les anomalies cromosòmiques són numèriques, entre un 10% són estructurals, i altres anomalies com mutacions en un gen i el mosaïcisme son els responsables del 8% dels avortaments de primer trimestre (Goddijn i Leschot, 2000). L'anomalia cromosòmica més freqüent és la trisomia, al voltant del 50%, i dins d'aquesta la trisomia del cromosoma 16 correspon a una tercera part, un 20% a una monosomia X i un 20% són triploïdies (Morales i col·ls, 2008).

La tècnica de CGH en metafases ha representat una alternativa a la citogenètica convencional per a la detecció de desequilibris cromosòmics sobre tot quan no s'obtenen metafases. Daniely i col·ls (1998 i 1999) i Bell i col·ls (2001) utilitzen la CGH en metafase en avortaments i comparen el resultat amb l'obtingut per citogenètica convencional, obtenint una correlació en el 75% i 100% respectivament. Fritz i col·ls (2001) apliquen CGH en avortaments d'entre 7 i 12 setmanes de gestació en els que no s'havia obtingut un cariotip, diagnosticant-se un 65% d'anomalies citogenètiques i sols en un 5% dels casos no es va obtenir el resultat degut a una mala hibridació.

Darrerament s'ha descrit que l'aplicació de l'array-CGH en avortaments de primer trimestre ha permès detectar aneuploïdies i desequilibris en el genoma. Schaeffer i col·ls (2004) estudiant 41 pèrdues gestacionals de edat gestacional  $\leq 20$  setmanes identifica un 41,5% de casos amb anomalies i a més detecta alteracions que no van ser detectades pel cariotip en un 9.8% dels casos. Benkhalifa i col·ls (2005) estudiant 26 mostres de avortaments de primer trimestre troben un 57.7% de casos amb anomalies, un 20% de les quals corresponen a anomalies estructurals. L'estudi en 20 avortaments entre 5 i les 12 setmanes de gestació amb cariotip normal només detecta un 10% de desequilibris genòmics (Shimokawa i col·ls 2006).



### 1.2.2.1.2 Mort fetal intrauterina i mort fetal postpart

Mort fetal intrauterina: És la mort fetal després de la setmana 20 de gestació, o quan el fetus presenta un pes superior a 500g i es produeix en el 1% de les gestacions. En anglès correspon al terme *stillbirth*.

Mort fetal postpart: És la mort d'un fetus després de la setmana 20 de gestació que neix viu.

Són poques les sèries que estudien sobre les anomalies cromosòmiques en pèrdues gestacionals a partir de les 20 setmanes de la gestació (Machin i Crolla, 1974; Kuleshov, 1976; Alberman i Creasy, 1977; Sutherland i col·ls, 1978; Boué i Boué, 1985; Khare i col·ls, 2005; Li i col·ls, 2006; Kortweg i col·ls, 2008). La freqüència d'anomalies cromosòmiques és al voltant del 6%. Aquesta incidència augmenta en aquells fetus macerats o amb malformacions arribant al 13%. Les anomalies cromosòmiques més freqüents són les trisomies 13, 18, i 21 i la monosomia X. Encara que es coneixen les dificultats de creixement cel·lular en aquests tipus de mostres tots els autors assenyalen la importància d'incloure els estudis citogenètics de les pèrdues gestacionals per la seva transcendència en les successives gestacions (Pauli, 2010).

Christiaens i col·ls (2000) apliquen CGH en metafase en un grup de 16 pèrdues gestacionals en els que ja es coneixia el cariotip fetal, troben una concordança en el 93% dels casos, no es va confirmar un cas d'una deleció a 18p11. La CGH té la limitació de no detectar triploidies, una anomalia cromosòmica que habitualment es diagnostica dintre de les morts fetals, però és una alternativa quan no s'obté creixement en l'estudi citogenètic convencional. Tabet i col·ls (2001) apliquen CGH a una sèrie de nou casos d'avortaments de primer trimestre, tres morts fetals i vuit IVEs de fetus malformats obtenen una taxa de concordança del 85.7% amb el cariotip. Goemaere i col·ls (2010) apliquen CGH retrospectivament en nounats morts avantpart malformats a partir de teixits parafinats obtenen resultat en el 90% dels casos.

Le Caignec i col·ls (2005) utilitzant array-CGH en nou casos malformats de morts fetals intrauterines amb cariotip prenatal normal, detecten un cas (11%) amb una duplicació 10qtel en un fetus amb atrèsia esofàgica, agenèsia unilateral de ronyó i polisplènia. L'utilització de l'array-CGH en fetus morts avantpart amb múltiples DC i amb cariotip normal o sense cariotip va mostrar un 13% d'anomalies genòmiques (Raca i col·ls, 2009, Warren i col·ls, 2009).

Khare i col·ls (2005) proposen a aquelles gestants amb un diagnòstic de mort fetal intrauterina realitzar una tècnica invasiva per l'estudi del cariotip fetal, mitjançant amniocentesi o biòpsia de còrion, abans de realitzar la inducció del part i la presa d'una biòpsia de pell. Aquests autors aconseguen una taxa d'èxit de cultiu del 90% per les amniocentesi, 100% per la biòpsia de còrion i del 13.5% per la biòpsia de pell. Amb aquest protocol s'aconsegueix una taxa d'èxit de cultiu superior a les descrites a altres sèries on es cultiven teixits fetals o

placenta. Aquest estudi proposa l' utilització d'aquest procediment encara que l'ús de tècniques invasives davant d'un diagnòstic de mort fetal podria ser qüestionat donat que requereix de més recursos humans, però alhora podrien ser compensats per l'augment del percentatge de casos amb resultat. Per aquells casos en els que no es pugui realitzar una tècnica invasiva la millor opció serà l'elecció d'una biòpsia de placenta de la cara fetal. Bryant Borders i col·ls (2009) comparen els resultats citogenètics utilitzant teixits fetals i amniocentesi obtenint una taxa d'èxit de cultiu del 77.8% i del 100% respectivament.

### 1.2.2.1.3 Interrupció voluntària de l'embaràs (IVE)

Interrupció voluntària de l'embaràs: És la interrupció de l'embaràs induïda per medicaments en aquells casos amb una detecció prenatal d'una o més malformacions, d'un cariotip anòmal o per causes maternes. En anglès correspon al terme *induced abortion* (IA) o *termination of pregnancy* (TOP).

Les anomalies cromosòmiques presents en les IVEs estan relacionades amb aquelles anomalies observades en el diagnòstic citogenètic prenatal de primer i de segon trimestre fins a les 22 setmanes de gestació. Rodgers i col·ls (1996) van observar un 48% d'anomalies cromosòmiques.

S'ha descrit una associació entre el mètode obstètric per finalitzar la gestació i la taxa d'èxit de cultiu citogenètic. Winsor i col·ls (2005) analitzen el mètode per a la finalització de la gestació entre la setmana 15-24 de gestació i amb diagnòstic fetal de DC per mitjà de l'ecografia prenatal o amb un cariotip fetal anòmal i que el fetus estigui viu a l'hora de la interrupció. Els mètodes han estat: injecció intraamniòtica de prostaglandines, misoprostol vaginal, o misoprostol oral. L'estudi citogenètic es va realitzar a partir d'una mostra de cordó umbilical. Aquests autors troben una taxa d'èxit de cultiu del 52.8% quan la finalització de la gestació és amb prostaglandines, d'un 83% quan s'utilitza misoprostol oral i del 90% amb misoprostol vaginal. Es conclou que l'exposició de determinades drogues que s'utilitzen per a la finalització de la gestació són un factor molt important que influeix en la taxa d'èxit de cultiu citogenètic, en especial l'ús de prostaglandines que podrien tenir un efecte advers en el cultiu cel·lular. La utilització de misoprostol seria un factor favorable molt més important per aconseguir el cultiu citogenètic que no pas el tipus de mostra utilitzada o el temps transcorregut en arribar la mostra al laboratori.

Le Caignec i col·ls (2005) utilitzant array-CGH en 41 IVEs de fetus malformats amb cariotip prenatal normal mostra 17% casos amb desequilibris genòmics: quatre delecions (del(22)(q11.2), del(15)(qtel), del(6)(qtel), del(16)(q23)) i tres duplicacions (2 casos de dup(10)(qtel), dup(18)(q)). Aquest estudi és el primer en aplicar aquesta tecnologia en mostres congelades de fetus malformats procedents d'IVEs i morts fetals intrauterines. Mes recentment

s'ha publicat un estudi de 39 fetus amb malformacions procedents d'IVEs (Vialard i col·ls, 2009), on apliquen un array-CGH que inclou 387 loci humans amb seqüències telomèriques i seqüències de gens relacionats amb microdeleccions. En tots els casos excepte dos el cariotip va ser normal. En el grup de 37 fetus amb cariotip normal troben un 11% d'anomalies i les dues anomalies van ser caracteritzades amb l'array com 46,X,der(Y)t(Y;20)(q12;q11) i 46,XX,der(9)t(9,11)(p22;p15), identificant en total un 15.4% d'anomalies.

### 1.2.3 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES RARES

Es defineix anomalia cromosòmica rara aquella que és poc freqüent i es disposa d'una informació clínica limitada en la literatura. S'exclouen les trisomies autosòmiques 13, 18 i 21, les aneuploidies dels cromosomes sexuals, les translocacions recíproques i robertsonianes (Al-Kouatly i col·ls, 2002).

Quan es diagnostica una anomalia cromosòmica freqüent, com la trisomia 21, 18 ó 13 que s'assignen a un fenotip conegut en el nadó, els pares compten amb una informació del fenotip específica relacionada amb l'anomalia detectada (Benacerraf, 1996). Pel contrari quan es detecta una anomalia rara resulta difícil poder oferir un consell genètic acurat a la parella. La freqüència de les aneuploidies rares i de les anomalies cromosòmiques estructurals *de novo*, encara que individualment són poc freqüents, tenen una contribució significativa en el global de les anomalies cromosòmiques detectades en diagnòstic prenatal. Grati i col·ls (2010) en un estudi conclouen que aproximadament el 50% dels cariotips anòmals amb un fenotip clínic rellevant no son detectats mitjançant els programes de cribatge prenatal no invasiu.

S'ha correlacionat les troballes ecogràfiques prenatales i les anomalies cromosòmiques rares (Al-Kouatly i col·ls, 2002; Dighe i col·ls,2009), reportant-se l'associació dels defectes de tub neural i les anomalies cromosòmiques estructurals (deleccions i duplicacions) (Chen CP (2007).

Hume i col·ls (1995) descriuen que un 34% dels diagnòstics citogenètics prenatales corresponen a trisomies rares, cromosomes marcadors i reorganitzacions estructurals i heretades. Aquests autors conclouen que les anomalies ecogràfiques prenatales detectades són més freqüents en aquest grup d'anomalies que en les anomalies més freqüents, indicant la seva importància clínica. Un altre estudi va mostrar que del total de les anomalies diagnosticades un 20% corresponien a cromosomopaties rares, no obstant alguna d'elles podria considerar-se com a anomalia cromosòmica freqüent donat que corresponen a mosaïcismes de Síndrome de Turner i Down. D'altra banda l'avaluació del diagnòstic prenatal en el registre de DC d'Atlanta va mostrar una freqüència mes baixa (7,1%) d'anomalies cromosòmiques rares (Cragan i Gilboa, 2009). Quan es diagnostica una anomalia cromosòmica rara el pronòstic probablement serà advers tant si es diagnostica una malformació ecogràfica prenatal com si el fetus és aparentment normal, no obstant poder predir el pronòstic a llarg termina continua essent difícil (Silver i col·ls, 1999).

Clementi i col·ls (2006) suggereixen que les parelles que opten a una tècnica invasiva haurien de rebre una consulta informativa prèvia sobre la possibilitat de la detecció i de les conseqüències clíniques d'aquestes anomalies rares tot i que és difícil ja que no hi ha suficients genetistes clínics.

L'aplicació de l'array-CGH en diagnòstic prenatal permet detectar noves anomalies poc freqüents i a més les alteracions diagnosticades en fetus amb malformacions són diferents a les alteracions que es detecten en les sèries de casos malformats postnats (Tyreman i col·ls, 2009; Valduga i col·ls, 2010). Només un 40% de les CNVs patogèniques identificades en fetus que presentaven defectes cardíacs greus inclouen síndromes per microdeleció prèviament descrits (Tyreman i col·ls, 2009). És necessari dur a terme estudis addicionals en fetus malformats amb la finalitat de facilitar la implementació d'un array més sensible (Valduga i col·ls, 2010).

### 1.2.4 LA SÍNDROME DE TURNER

La Síndrome de Turner (ST) és una anomalia cromosòmica freqüent causada per la pèrdua completa o parcial del cromosoma X en totes les cèl·lules o en mosaic. La ST va ser descrita per primera vegada a l'any 1938, afecta a les dones presentant-se en 1/2500 de les nenes en néixer (Hsu, 1998). Un 15% dels avortaments espontanis i un 3% de morts fetals presenten un cariotip de 45,X. S'ha estimat que únicament el 1% dels embrions amb un cariotip 45,X naixen (Cockwell i col·ls, 1991). La taxa de mort fetal entre la 12 i 40 setmana de gestació en els fetus amb ST és del 80% (Nicolaidis, 2004). En les sèries de diagnòstic prenatal la freqüència de ST en vellositat corial és 0.4% i en líquid amniòtic del 0.18% (Gravholt i col·ls, 1996). La prevalença de ST és de 1/1500 a les 12 setmanes de gestació, 1/3000 a les 20 setmanes i de 1/4000 a les 40 setmanes.

L'espèctre clínic de la ST és molt ampli, des de greus cardiopaties fins a defectes menors. Alguns individus amb la ST presenten poques característiques clíniques mentre que d'altres en presenten bastants. Pràcticament tots els casos afectes amb ST presenten baixa estatura i disgenèsia gonadal entre altres anomalies de diferents sistemes (Taula 1.7). La incidència dels diferents tipus de malformacions varia segons les diferents sèries. També poden desenvolupar diabetis tipus 2 amb un risc dues vegades superior a la població general (Gravholt, 1998 i 1998). Holl i col·ls, (1994) observen que d'un total de 300 pacients estudiats un 32% presentaven resistència a la insulina. La síndrome plurimetabòlica de les pacients amb ST inclou resistència a la insulina, dislipèmia i hipertensió. Bondy i col·ls (2007) han elaborat una guia per a l'avaluació i el tractament de les nenes i dones amb Síndrome de Turner.

Sistema	Anomalia	Incidència
<i>Esquelètic</i>	Baixa estatura	100%
	Escoliosi/cifosi	~40%
	Osteoporosi	50%
	Cubitus valgus	45%
<i>Reproductiu</i>	Disgenèsia gonadal	95%
	Infertilitat	98%
	Gonadoblastoma	3%
<i>Cardiovascular</i>	Coartació d'aorta	5%
	Vàlvula aòrtica bicúspide	15%
	Hipertensió	25-40%
<i>Renal</i>	Ronyó ferradura	35%
<i>Neurològic</i>	Visió espacial	70-80%
	Comportament	70-80%
	Sordesa	30%
<i>Endocrí</i>	Hipotiroidisme	35%
	Intolerància a carbohidrats	35-40%

Taula 1.7. Trets clínics de la Síndrome de Turner.

La primera causa de mortalitat (41% dels casos) en la Síndrome de Turner són les malalties del sistema circulatori, essent els més freqüents l'aneurisma d'aorta, vàlvula aòrtica i els defectes cardíacs (Schoemaker i col·ls, 2008). Poprawski i col·ls (2009) no troben cap correlació entre les malalties cardiovasculars i els diferents tipus de cariotip excepte en els casos de mosaïcismes on troben sobrepès, tendència a la hipertensió i septe interventricular.

Hi ha algunes correlacions entre cariotip i fenotip. En general, la pèrdua de Xp dona lloc al fenotip complet. Els nadons amb un cariotip 45,X són més propensos a tenir limfedema congènit. Les pacients amb un cariotip 45,X/46,XX o 45,X/47,XXX són les més propenses a tenir menarquia espontània i fertilitat (Sybert, 2002). Com a grup, les dones amb un mosaïcisme 45,X/46,XX són lleugerament més altes que el de dones amb 45,X. La presència d'un isocromosoma Xq suggereix un major risc per l'hipotiroidisme i la malaltia inflamatòria intestinal (Elsheikh i col·ls, 2001). El interval entre Xp21.1 i Xp11.4 podrien contenir gens que predisposen a l'hipotiroidisme (Lachlan i col·ls, 2006). La presència d'un cromosoma en anell o un marcador cromosòmic confereix un major risc de retard mental i trets fenotípics atípics. No obstant això, la predicció fenotípica que es basa en el cariotip no es fiable en pacients amb síndrome de Turner. Algunes dones amb un 45,X han concebut, i les dones amb un 45, X/46, XX amb majoria de cèl·lules 46,XX poden patir tots aquests trastorns (Sybert i McCauley, 2004).

La síndrome de Turner també s'associa amb un perfil neurocognitiu determinat. El fenotip cognitiu de la Síndrome de Turner inclou el quocient intel·lectual verbal relativament bo, però s'observen dèficits de la percepció visuoespacial i de la memòria, habilitats motores i de processos d'atenció. Tot i que la competència social no està exageradament alterada, s'han

identificat dèficits específics en els aspectes socials. Les nenes amb ST tendeixen a tenir menys amics, a participar en menys activitats socials, tenir més dificultats d'atenció i socials, que la població control (Siegel i col·ls, 1998). Mazzocco i col·ls (2006) van estudiar una sèrie de adolescents amb ST detectant certs problemes com immaduresa, falta de concentració i relacions deficientes amb les seves parelles, tot i tenir les habilitats del llenguatge col·loquial normals. Les bromes sobre l'aspecte físic han demostrat ser el factor predictiu més important de la depressió superant a la de la influència de la forma del cos i la insatisfacció per l'alçada (Burnett i col·ls, 2010).

També s'han descrit dificultats d'aprenentatge en matemàtiques (Mazzocco, 2009). L'origen parental del cromosoma X també podria afectar el fenotip de la ST, donant suport a l'existència de loci imprintats en el cromosoma X (Skuse i col·ls, 1997; Bishop i col·ls col, 2000; Kesler i col·ls col, 2003). Un estudi molt citat a la literatura va demostrar que les dones amb ST que tenen el cromosoma X d'origen matern tendeixen a obtenir pitjors resultats quan es mesura aspectes cognitius social respecte les dones que tenen el cromosoma X d'origen patern (Skuse i col·ls 1997). No obstant encara existeix controvèrsia en aquest aspecte, essent prematur treure conclusions robustes de les dades publicades (Loesch i col·ls, 2005; Ross i col·ls, 2006). S'ha suggerit l'efecte en l'origen patern del cromosoma X en determinats perfils físics i cognitius i en la capacitat de resposta a l'hormona del creixement (Kochi i col·ls, 2007; Sagi i col·ls, 2007). Ko i col·ls, (2010) no van observar una incidència significativa valorant trets fenotípics en pacients amb 45,X amb un origen patern del cromosoma X i si s'observa un efecte d'imprinting matern en l'estatura en nenes amb 45,X. Weiss i col·ls (2007) van observar polimorfismes en el gen *EFHC2* localitzat a Xp11.4 associades al reconeixement facial de l'expressió de la por en les nenes amb ST, però posteriorment no han estat confirmades (Zinn i col·ls, 2008). S'ha descrit que les nenes amb ST tenen un risc 200 vegades més de presentar autisme que la població normal (Creswell i Skuse, 1999, Skuse DH, 2005).

No es coneix de forma precisa quines són les regions cromosòmiques i els gens responsables de les característiques físiques de la síndrome de Turner (Sybert i McCauley, 2004). S'ha hipotetitzat que les manifestacions físiques de la síndrome de Turner són degudes a l'absència dels dos cromosomes sexuals normals abans de la inactivació del cromosoma X o a l'haploinsuficiència de gens de les regions pseudoautosòmiques del cromosoma X o Y, així com a la pròpia aneuploidia (Haverkamp i col·ls 1999; Zinn col·ls, 2001). No obstant tant el braç curt com el llarg del cromosoma X contenen gens importants per a la funció ovàrica, i la monosomia pot donar lloc a una reducció en el nombre i la supervivència dels oòcits. La identificació dels gens involucrats en la disgenèsia gonadal han estat difícils de trobar, aquest fenotip s'ha observat associat a deleccions en els braços llarg i curt del cromosoma X i *USP9X* és un gen candidat per la disgenèsia gonadal associada a la ST i es troba mapat a Xp11.4, una regió que escapa a la inactivació. S'ha observat que *DIAPH2* és un gen localitzat a Xq i és necessari per a la funció ovàrica normal (Zinn i Ross, 2001). Aquest gen s'associa a la fallida ovàrica prematura

(POF) en individus amb cariotip normal. Això suggereix que els gens responsables de la funció ovàrica podrien estar en diferents clusters al llarg del cromosoma X similar als clusters descrits en la diferenciació testicular i als gens de l'espermatogènesi situats en el cromosoma Y (Bione i col·ls, 1998) (Fig.1.1).

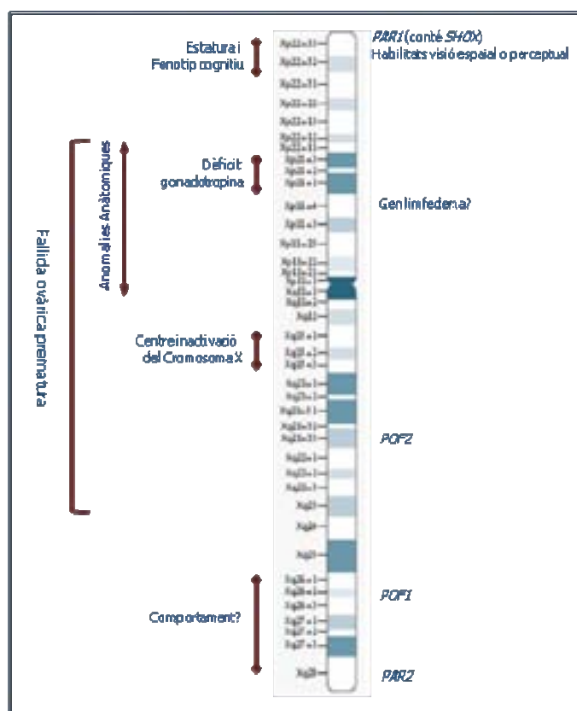


Fig. 1.1 Gens del cromosoma X associats a la síndrome Turner (Ross i col·ls, 2006).

La pèrdua intersticial o terminal de material de Xq pot donar lloc a baixa estatura i a fallida ovàrica primària o secundària (Prueitt i col·ls, 2000). Delecions distals a Xq21 semblen no tenir efecte en l'estatura. Delecions molt distals de Xp són compatibles amb, però no asseguren, la funció ovàrica normal (Ogata i col·ls, 2001; Zinn i col·ls, 2001). La baixa estatura i els canvis esquelètics típics estan associats a una haploinsuficiència de *SHOX*, localitzat a la regió pseudoautosòmica i que escapa de la inactivació (Rao i col·ls, 1997). El gen *SHOX* probablement no és l'únic gen responsable de les característiques esquelètiques. La monosomia per si mateixa pot contribuir a la manca de creixement (Haverkamp i col·ls, 1999). La pèrdua de la regió Xp22.3 sembla estar associada als problemes neurocognitius en la ST (Ross i col·ls, 2000). La pèrdua del factor testicular determinant (SRY) en el locus del braç curt del cromosoma Y també condueix al fenotip de la síndrome de Turner, fins i tot sense una línia 45,X. Per altra banda s'ha proposat una regió crítica per al desenvolupament de limfedema en Xp11.4 (Boucher i col·ls, 2001).

### Diagnòstic prenatal de la síndrome de Turner

La majoria de casos amb ST diagnosticats prenatalment es detecten en estudis citogenètics per indicacions molt variables. Les més freqüents són: a) l'edat materna avançada, tot i que no està associada amb un augment de la probabilitat de tenir una filla amb síndrome de

Turner, b) el diagnòstic ecogràfic d'un defecte congènit i c) un cribatge bioquímic de risc (Lorda-Sanchez i col·ls, 1992; Ranke i Saenger, 2001). A la taula 1.8 es mostra la taxa de detecció prenatal de ST tenint en compte el mètode diagnòstic durant el primer i segon trimestre.

	Primer trimestre	Segon trimestre
Detecció ecogràfica	87%	67%
Cribatge bioquímic sèrum matern	89%	53%
Edat materna avançada ( $\geq 35$ o $\geq 38$ anys)	35.4%	19.7%

Taula 1.8. Taxa detecció prenatal en els casos amb ST (Gravholt i col·ls, 1996; Ruiz i col·ls, 1999; Nicolaidis, 2004).

Pel cribatge prenatal de la ST el mètode més efectiu és l'ecografia. Hi ha certes malformacions detectades per ecografia que indiquen una alta probabilitat de que el fetus presenti la ST. L'hidrops, que és l'acúmul de líquid en les cavitats del cos, s'associa a ST amb una freqüència entre 30-80%, l'higroma quístic és l'anomalia ecogràfica prenatal que més s'associa a la ST (55%). La translucència nucal o plec nucal augmentat s'observa freqüentment en els fetus amb ST (13%), però també s'observa en fetus trisòmics. En relació al defectes cardíacs la coartació d'aorta i la vàlvula aòrtica bicúspide són els DC associats amb la ST que es diagnostiquen durant el segon trimestre de gestació. També s'ha descrit que els fetus amb ST durant l'ecografia de las 11 i 13<sup>+6</sup> setmanes mostren taquicàrdia. Altres troballes ecogràfiques que suggereixen un fetus amb ST són, defectes renals, poli i oligohidramnis, i retard de creixement (Ranke i Saenger, 2001; Saenger i col·ls, 2001).

El cribatge bioquímic en sèrum matern de risc també s'associa a ST, així nivells alts de  $\beta$ -hCG lliure i nivells baixos d'estriol a segon trimestre són indicatius de ST (Wenstrom i col·ls, 1998, Ruiz i col·ls, 1999). A primer trimestre la PAPP-A és baixa (0.49 MoM) i la  $\beta$ -hCG lliure és normal (1.11 MoM). El cribatge de casos amb ST tenint en compte la mesura de la translucència nucal i la bioquímica de  $\beta$ -hCG lliure i PAPP-A es podria identificar quasi un 96% de tots els casos amb una taxa de falsos positius de l'1% (Spencer i col·ls, 2000; Nicolaidis, 2004). No obstant la ST no és sistemàticament cribada utilitzant el cribatge bioquímic en sèrum matern (Ryall i col·ls, 2001). En tots els casos el diagnòstic definitiu s'ha de realitzar amb l'estudi del cariotip fetal. Es recomana que el cariotip fetal ha de ser reavaluat postnatalment per tal de confirmar el resultat prenatal i verificar que no es tracti d'un mosaic (Gravholt i col·ls, 1996).

El cariotip més freqüent en la ST prenatal és el 45,X que s'observa en un 64% dels casos i postnatalment en un 47%. La distribució dels diferents cariotips és variable en el període prenatal i en el període postnatal. A la taula 1.9 es relaciona els diferents cariotips i la seva freqüència en aquests dos períodes per la ST (Gravholt i col·ls, 2004).



Cariotip	Prenatal Nº (%)	Postnatal Nº (%)
45,X	134 (64%)	162 (47%)
45,X/46,XX	45 (22%)	59 (17%)
45,X/46,X,i(Xq); 46,X,i(Xq); 45X/46,X,i(Xq)/47,X,i(Xq),i(Xq),etc	9 (4%)	41 (12%)
45,X/46,X,del(X); 46,X,del(X)	15 (7%)	27 (8%)
45,X/46,XX/47,XXX; 45,X/47,XXX; 45,X/46,XX/47,XXX/48,XXX	5 (2%)	16 (5%)
45,X/46,X,r(X)	1 (<1%)	20 (6%)
45,X/46,XY	-	10 (3%)
Altres amb material cromosoma Y	-	11 (3%)
<b>TOTAL</b>	<b>209 (100%)</b>	<b>346 (100%)</b>

Taula 1.9. Distribució dels cariotips en els períodes prenatal i postnatal en la ST (Gravholt i col·ls, 2004).

Tot i que els mosaïcismes més comuns (45,X/46,XX i 45,X/46,X,i(Xq)) podrien suggerir un fenotip normal, el grau de mosaïcisme detectat prenatalment, en general no prediu la severitat del fenotip de ST en néixer (Koeberl i col·ls, 1995). És de destacar que les diferents sèries publicades a la literatura es caracteritzen per algun biaix, sobretot en els casos amb un cariotip 45,X/46,XY, associat a disgenèsia gonadal, i on les anomalies genitals presents són les que s'associen freqüentment a sèries de pacients diagnosticats postnatalment, mentre que en la majoria dels pacients diagnosticats prenatalment els genitals externs són normals (Chang i col·ls, 1990). Un estudi de Gunther i col·ls (2004) avalua les diferències en el fenotip i altres característiques clíniques entre pacients amb ST diagnosticats "accidentalment", per mitjà d'estudi citogenètic prenatal, no relacionades amb sospita clínica de ST, o "tradicionalment", diagnosticats prenatalment per presentar malformacions a l'estudi ecogràfic o postnatalment per les característiques clíniques de ST. Els diagnosticats "accidentalment" tenien significativament menys característiques clíniques o malformacions cardíques així com una major proporció de cariotips en mosaic comparat amb els pacients amb ST diagnosticats pels trets clínics. Aquests autors conclouen que les característiques clíniques de la ST són diferents en funció del moment en que es realitza el diagnòstic, i això té repercussions pel consell genètic prenatal.

Un 72% dels fetus diagnosticats prenatalment de ST finalitzen com avortaments terapèutics (Golbus, 1990; Gravholt i col·ls, 1996; Mansfield i col·ls, 1999). Per tal de poder oferir un consell genètic acurat és de vital importància pels genetistes el coneixement d'estudis que correlacionen genotip-fenotip (Koeberl i col·ls, 1995; Amiel i col·ls, 1996, Gunther i col·ls, 2004). Aquesta correlació és més difícil quan és diagnosticada un mosaic de 45,X/46,XX o 45,X/46,XY que podria presentar un fenotip normal i on és difícil predir si presentarà baixa estatura i/o infertilitat, el 90% d'aquests fetus són normals al naixement. Molts dels casos amb cariotip 45,X/46,XX tindran un desenvolupament puberal normal

espontani i seran fèrtils, però algunes podrien presentar una menopausa precoç i un increment en el nombre d'avortaments.

### 1.3 TÈCNIQUES PER L'ESTUDI PRENATAL

El **diagnòstic prenatal** és tota acció encaminada a detectar els DC durant la gestació, i actualment és multidisciplinari (obstetres, pediatres, genetistes, radiòlegs, patòlegs, cirurgians, etc).

#### 1.3.1 TÈCNIQUES NO INVASIVES

##### 1.3.1.1 Ecografia

L'ecografia obstètrica neix al 1958 amb la imatge bidimensional d'un fetus en l'úter realitzada per Donald, Mc Vicar i Brown. La majoria d'estudis amb ecografia de cribatge en la gestant, tractaven d'identificar l'edat gestacional amb precisió per a disminuir el nombre d'induccions de parts degudes a postmaturitat, reconeixement de gestacions múltiples, localització de la placenta i diagnòstic de morts intraúter. El 1984 els membres del Institut Nacional de Salut (NIH) de Desenvolupament van revisar la literatura per proporcionar una sèrie de recomanacions de l'ecografia obstètrica incloent-hi les indicacions, pel seu us rutinari i amb població seleccionada i la seguretat de l'ecografia (Garmel i D'Alton, 1993).

L'ecografia com eina per a la detecció prenatal dels DC constitueix en l'actualitat una part en la rutina de l'atenció prenatal de tota gestant. L'estudi europeu prospectiu Eurofetus sobre detecció prenatal de DC més llarg que s'ha realitzat fins l'actualitat i troben una taxa de detecció prenatal del 61,4% de DC (Grandjean i col·ls, 1998). Encara que la utilitat dels ultrasons en obstetrícia és inqüestionable, en l'actualitat el nombre d'exploracions i el moment en que s'han de fer és motiu de discussió. Tot i que la majoria de grups consideren òptim una mitjana de 4 ó 5 ecografies si el fetus és malformat i de tres pels fetus normal, una en cada trimestre (Hill i col·ls, 1985; Lys i col·ls, 1989; Luzzatto i col·ls, 1990). Levi (2002) descriu una sèrie de recomanacions en relació a l'ecografia de cribatge de malformacions de segon trimestre, entre elles es proposa que quantes més ecografies es practiquen a una gestant més probabilitat hi haurà de detectar una malformació durant la gestació. Els diferents tipus de malformacions es poden diagnosticar a diferents períodes gestacionals. Segons les dades del Registre de DC de la ciutat de Barcelona, que estudia població control, durant el període 1992-2002 la mitjana d'ecografies durant la gestació es situa a voltant de 5. També s'observa una clara tendència d'increment de la proporció de gestants que es sotmeten a més de 3 ecografies, al voltant del 75% (Salvador i col·ls, 2003).

Vanara i col·ls (2004) en un estudi realitzat a Itàlia valoren el cost-efectivitat de la detecció de malformacions per mitjà de l'ecografia. Aquest estudi compara la detecció de malformacions entre les setmanes 19-21 en un programa nacional de cribatge no protocol·litzat amb un programa protocol·litzat. Les conclusions de l'estudi són que un programa nacional organitzat de cribatge ecogràfic augmenta la detecció prenatal de malformacions en un 10.7%, i disminueix el cost total del programa en un 20.7%.

Actualment en alguns centres s'està realitzant l'ecografia obstètrica 3D-4D entre la setmana 25 i 32 de gestació que consisteix en una tècnica complementària. Per mitjà d'aquesta ecografia s'obté una imatge multiplanar que permet avaluar el punt de conjunció resultant dels tres plans ortogonals X, Y i Z. L'ecografia 3D en temps real (4D) visualitza l'activitat motora fetal: els moviments corporals i expressió facial. L'examen ecogràfic de la cara del fetus pot proveir d'informació a l'obstetra i pot donar pistes pel diagnòstic d'anomalies en altres òrgans fetals. Per tant l'estudi de la cara fetal representa una finestra diagnòstica de DC i síndromes en el fetus i la seva incorporació en la pràctica clínica ha resultat en un extraordinari progrés en la visualització i en l'examen anatòmic de la cara fetal (Kurjak i col·ls, 2007; Escalon, i col·ls, 2010 ). També s'ha avaluat l'aplicació de l'ecografia 3D i 4D en l'anàlisi de defectes cardíacs (Gindes i col·ls, 2009)

### 1.3.1.2 Ecocardiografia

Els DC cardíacs constitueixen un dels defectes més freqüents diagnosticats en néixer (66/10.000). La ecocardiografia es pot realitzar a partir de la setmana 16 de gestació (Leandro i Blandon, 1999) encara que per visualitzar les estructures cardíacques amb major precisió es practica al voltant de la setmana 20. Aquesta tècnica s'utilitza:

- a. en casos amb antecedents familiars: història familiar de cardiopaties, diabetis insulino-dependent, malalties del teixit connectiu, fenilcetonúria, síndromes associades a cardiopaties congènites (S. Noonan, S. Williams, S. Marfan, etc),
- b. durant la gestació: per confirmar diagnòstics ecogràfics de cardiopaties, quan es diagnostiquen malformacions extracardíacques, anomalies cromosòmiques, marcadors ecogràfics (RCIU, oligo/polihidramnis, plec nucal, etc), arítmia fetal, embaràs gemelar monocoriònic, infeccions fetals, exposició a mutàgens o teratògens (Small i Copel, 2004).

### 1.3.1.3 Ressonància magnètica fetal

La ressonància magnètica fetal constitueix una de les tècniques diagnòstiques per la imatge que ha revolucionat el diagnòstic prenatal de DC. S'utilitza com a tècnica complementària de l'ecografia rutinària per aquells casos en que es necessita una informació addicional (Martin i col·ls, 2004). La ressonància magnètica fetal és una tècnica molt útil sobre tot per al diagnòstic i

caracterització d'anomalies del sistema nerviós (Fig. 1.2).

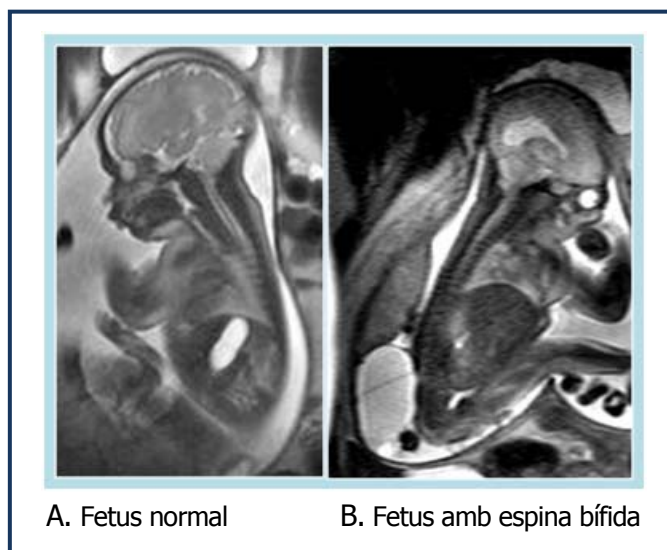


Fig.1.2 . Visualització de les estructures fetals.

La ressonància magnètica fetal és una tècnica que aporta un valor afegit en el diagnòstic prenatal i en el maneig dels DC. El diagnòstic per ressonància de malformacions del sistema nerviós central és més precís que per ecografia, sobre tot per malformacions del desenvolupament com l'agenèsia del cos callós, malformacions de la migració com la lissencefàlia i altres defectes com són els genitourinaris i gastrointestinals (Guibaud L, 2009). També és una tècnica que diagnostica amb major precisió les anomalies placentàries (Laifer-Narin i cols, 2007).

#### 1.3.1.4 Cribatge bioquímic en sèrum matern

Aquesta tècnica es basa en mesurar les concentracions d'alfafetoproteïna (AFP) i gonadotropina coriònica lliure ( $\beta$ hCG) en sèrum matern. Tenint en compte les concentracions d'aquestes proteïnes, l'edat materna i altres factors menors es calcula un risc per la Síndrome de Down, per la Síndrome d' Edwards i risc de defectes del tub neural. Aquesta anàlisi es realitza a partir de la setmana 14 de gestació. El càlcul de risc per a la Síndrome de Down fent servir la AFP i la  $\beta$ hCG pot arribar a una detecció del 60% dels casos amb una taxa de falsos positius del 5% (Nicolaidis, 2003).

Actualment s'efectua el cribatge bioquímic de primer trimestre de forma poblacional. Es realitza la determinació bioquímica de la  $\beta$ hCG lliure i la proteïna plasmàtica associada a l'embaràs (PAPP-A) a primer trimestre i amb la mesura de la translucència nugal (TN) es pot arribar a una detecció de 86% per a la Síndrome de Down amb una taxa de falsos positius del 5% (Nicolaidis, 2004). El càlcul de risc també és útil per a la detecció de trisomia 18 i trisomia

13. En embarassos amb trisomia 21, 18 ó 13 s'observen uns nivells baixos de  $\beta$ hCG i PAPP-A. En les anomalies dels cromosomes sexuals la  $\beta$ hCG lliure és normal i la PAPP-A està disminuïda. En la triploïdia d'origen patern la  $\beta$ hCG lliure està molt augmentada i la PAPP-A està lleugerament disminuïda, mentre que la triploïdia d'origen matern es caracteritza per nivells molt baixos de  $\beta$ hCG lliure i PAPP-A (Nicolaidis, 2004). Promogut per l' Institut Català de Salut (ICS) a totes les dones de Catalunya s'ha implementat el cribatge bioquímic de primer trimestre, ja que en cas d'un resultat d'alt risc permet realitzar l'estudi del cariotip fetal molt precoçment. S'ha demostrat que per una taxa de falsos positius del 5% tenen una taxa de detecció major per a la trisomia 21, podent arribar al 95% si s'afegeix la presència de l'os nasal i eliminar com a mètode de cribatge l'edat materna (Taula 1.10) (Nicolaidis, 2004).

Mètode de cribatge	Taxa de detecció cromosomopaties (%)
Edat materna (EM)	30
EM + cribatge bioquímic 2n trimestre	50-70
EM + TN a les 11-13 <sup>+6</sup> setmanes gestació	70-80
EM + TN+cribatge bioquímic 1er trimestre	85-90
EM + TN + Os nasal (HN) a les 11-13 <sup>+6</sup> setmanes gestació	90
EM + TN + HN + cribatge bioquímic 1er trimestre	95

Taula 1.10. Comparació de les taxes de detecció amb una taxa de falsos positius del 5%. (Nicolaidis, 2004)

A l'any 2001 (Cicero i col·l, 2001) van observar que en el 60-70% dels fetus amb trisomia 21, l'os nasal no era visible a l'ecografia de les 11-13<sup>+6</sup> setmanes. Aquest estudi va suggerir que podia augmentar la taxa de detecció fins un 95% de Síndrome de Down a 1er trimestre quan es mesurava la mes de la TN, la presència d'os nasal i el cribatge bioquímic (Fig. 1.3).

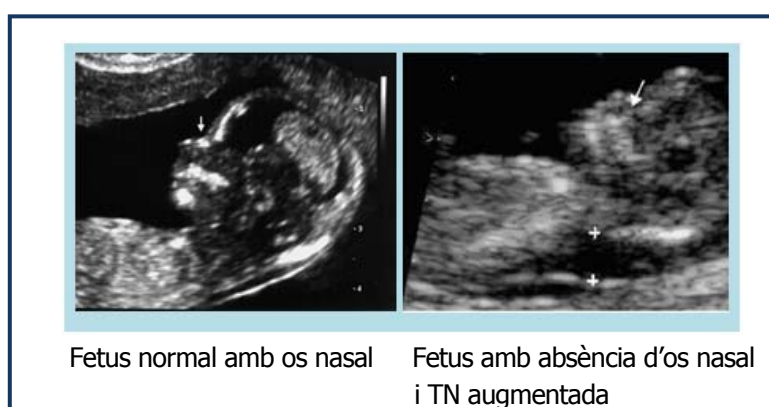


Fig. 1.3. Visualització de l'os nasal i translucència nucal

### 1.3.2 TÈCNiques INVASIVES

#### 1.3.2.1 Biòpsia de còrion

Els primers intents de cultiu de cèl·lules fetals a partir d'una biòpsia de còrion corresponen als anys 70 per part de Kullander i Sandahl (1973) i Hahnemann (1974). La introducció de la biòpsia de còrion com a tècnica en diagnòstic prenatal es deu a Simoni i col·ls (1983), i permet l'estudi del cariotip fetal per mitjà de l'anàlisi directa de les mitosis espontànies presents en les vellositats coriòniques.

Les cèl·lules del citotrofoblast de les vellositats es caracteritzen per tenir un índex mitòtic espontani molt elevat el que facilita tenir un resultat de cariotip al cap de les 24 hores. També es pot estudiar el cariotip després d'un cultiu llarg, en aquest cas són les cèl·lules mesodèrmiques de l'interior de les vellositats les que proliferen.

Les vellositats coriòniques s'obtenen realitzant una biòpsia de còrion per via vaginal o transabdominal sota control ecogràfic a partir de la setmana novena de gestació (Fig. 1.4). El risc de pèrdua fetal pot variar entre 0,5% i el 2% (Battagliarin i col·ls, 2009) i segons Nicolaidis (2004) es comptabilitza en un 1% quan es practica a partir de les 11 setmanes de gestació i el risc d'avortament és fins cinc dies després de la tècnica invasiva ([www.fetalmedicine.com](http://www.fetalmedicine.com)).

#### 1.3.2.2 Amniocentesi

Aquesta tècnica permet en l'estudi citogenètic de les cèl·lules fetals que existeixen en el líquid amniòtic i consisteix en l'extracció de líquid amniòtic mitjançant una punció de l'úter sota control ecogràfic (Fig.1.4).

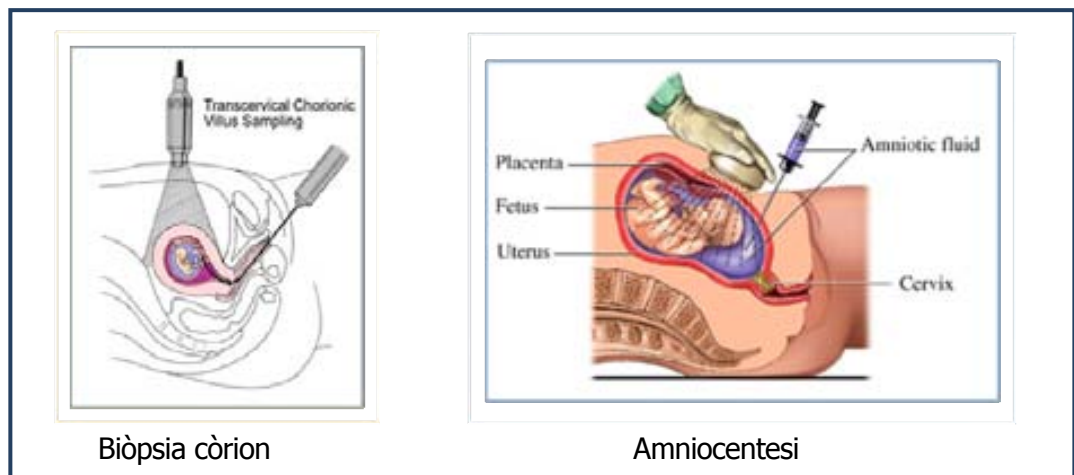


Fig 1.4. Tècniques invasives prenatales per a l'estudi cariotip fetal

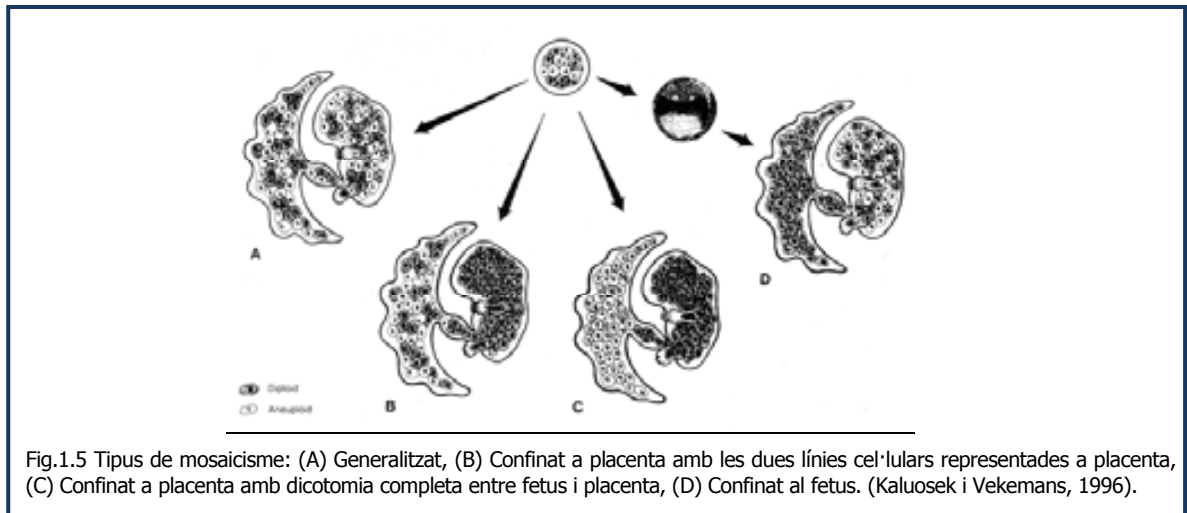
Generalment es realitza entre les 14 i 18 setmanes de gestació i s'obtenen de 15 a 20 mL de líquid. Es considera que en aquest període és quan hi ha la proporció de cèl·lules viables més gran. El cariotip fetal s'obté després d'un cultiu dels amniòcits amb medis de cultiu enriquits que afavoreixen l'adhesió i proliferació cel·lular i es pot obtenir un resultat als 15 dies després d'haver iniciat el cultiu. Aquesta tècnica comporta un risc d'avortament del 1% (www.fetalmedicine.com).

### Mosaïcisme

El mosaïcisme cromosòmic es defineix com la presència de dues o més línies cel·lulars amb cariotip diferent en un mateix individu, els més freqüents presenten una línia aneuploide. El mosaïcisme s'origina com a resultat d'una no disjunció o d'un retard en l'anafase postzigòtica. Es classifiquen tenint en compte el seu origen meiótic o mitòtic. Els primers s'originen a partir d'un zigot trisòmic mentre que el mitòtic a partir d'un zigot diploide.

Es diferencien tres tipus de mosaïcisme (Henderson i cols, 1996) (Fig. 1.5):

1. Generalitzat o constitucional: s'origina abans de la formació del blastòcit i afecta al fetus i a les cobertes extraembrionàries. S'observa entre el 0.1-0.4% dels fetus de 16-20 setmanes.
2. Confinat a placenta: la línia cel·lular anòmala es localitza únicament en la placenta. Es diferencien tres tipus depenent de la ubicació de les cèl·lules alterades (Kalousek i Barrett, 1994): Tipus I: la línia alterada afecta al citotrofoblaste; tipus II: la línia alterada afecta al estroma; i tipus III la línia alterada afecta al citotrofoblaste i l'estroma. Les alteracions cromosòmiques més freqüents en els mosaïcismes confinats a placenta són les trisomies que afecten als cromosomes 2, 3, 7, 8, 16 i 22 (Wolstenholme, 1995). Les característiques clíniques poden variar des d'un retard de creixement intrauterí o la mort fetal fins el naixement d'un fetus normal. Entre un 16 i un 21% dels fetus amb mosaïcisme confinat a placenta mostren complicacions prenatales i perinatales degudes a una funció subòptima de la placenta que depenen del cromosoma implicat i de l'origen matern o patern (Breed i col, 1991). En els del tipus III la trisomia és generalment d'origen meiótic i existeix un risc elevat de complicacions durant l'embaràs. Els del tipus I i II presenten menor risc de complicacions (Kalousek i Vekemans, 1996).
3. Mosaïcisme confinat al fetus: Es aquell que es detecta únicament en teixits fetals.



### 1.3.2.3 Funiculocentesi

La funiculocentesi consisteix en l'obtenció de sang fetal del cordó umbilical mitjançant una punció sota control ecogràfic. Es realitza a partir de la setmana 18 de gestació i s'utilitza fonamentalment quan s'ha detectat ecogràficament una malformació o bé per confirmar un mosaicisme observat en amniocentesi. Abans d'iniciar el cultiu s'ha de comprovar que la sang sigui d'origen fetal i no matern, per mitjà del volum corpuscular mig que en el cas fetal es superior a 100. El resultat del cariotip amb la mateixa tècnica que la que s'utilitza pel cultiu en sang perifèrica s'obté a les 48 ó 72 h. El risc de pèrdua fetal és del 1-2% (Tongsong i col·ls, 2001).

### 1.3.2.4 Diagnòstic d'aneuploidies ràpid

- **Hibridació *in situ* fluorescent**

La introducció de l'hibridació *in situ* fluorescent (FISH) en diagnòstic prenatal va donar lloc a una plataforma que permet realitzar un diagnòstic amb un resultat més ràpid i sense cultiu (Klinger i col·ls, 1992; Baart i col·ls, 2004), ja que permet la detecció de les alteracions cromosòmiques més freqüents (trisomies 13, 18, 21, X i Y) a partir de nuclis interfàsics de cèl·lules fetals sense cultivar. Aquesta tècnica es basa en la unió d'ADN (sonda) marcat amb un fluorocrom amb l'ADN de la mostra fixat en un portaobjectes després d'una desnaturalització. Amb aquest mètode es pot tenir el resultat a les 24h. La FISH és una tècnica útil en aquells casos amb un risc de cromosomopatia elevat, però que no reemplaça el cariotip ja que no fa una anàlisi global del genoma. La FISH també permet la identificació d'anomalies cromosòmiques estructurals i de cromosomes marcadors (Liehr i col·ls, 2004).



- **PCR quantitativa fluorescent (QF-PCR)**

L'amplificació per PCR quantitativa fluorescent de seqüències d'ADN altament polimòrfiques, els microsatèl·lits (short tandem repeats, STR) permet obtenir un resultat al cap de 24 hores de la presència d'alteracions cromosòmiques més freqüents (trisomies 13, 18, 21, X i Y). Aquesta tècnica es basa en l'amplificació d'un producte que es directament proporcional a la quantitat d'ADN inicialment present en la mostra utilitzant un seqüenciador automàtic d'ADN. La incorporació d'una molècula fluorescent en la reacció d'amplificació permet mesurar la quantitat de producte amplificat. Es determina el nombre de còpies de cada cromosoma. En comparar amb la FISH la principal avantatge és el baix cost i que es necessita un volum més reduït de mostra, per aquests motius l'ha reemplaçat a la FISH. La sensibilitat d'aquesta tècnica és molt alta del 99.2%, no obstant s'han descrit alguns casos amb anomalies dels cromosomes sexuals en mosaic que no han estat detectades amb aquesta tècnica (Shaffer i Bui, 2007). La limitació és que no permet detectar mosaïcismes presents en un baix percentatge de cèl·lules. Un estudi en 43.000 mostres prenatales (Cirigliano i col·ls, 2009) on es compara els resultats de la QF-PCR amb els del cariotip convencional, la QF-PCR va detectar un 62.5% dels mosaïcismes que s'havien identificat pel cariotip. Pels mosaics 45,X/46,XX la QF-PCR és capaç de detectar la línia aneuploide quan es troba en un percentatge superior al 20%, mentre que els nivells baixos de mosaïcisme (inferior 10%) de trisomia 13, 18 i 21 no són detectables amb aquesta tècnica.

S'ha analitzat el risc residual d'anomalia cromosòmica després de realitzar una FISH o una QF-PCR essent del 0.9% per totes les indicacions de la tècnica invasiva (Shaffer i Bui, 2007).

- ***Multiplex Ligation-dependent probe (MLPA)***

La tècnica MLPA consisteix en el cribatge de determinades regions d'interès de l'ADN. En el MLPA les sondes afegides a les mostres són les que son amplificades i quantificades. L'amplificació de les sondes per PCR depèn de la presència d'uns cebadors comuns, un d'ells conté una seqüència elongadora de diferent tamany per cada sonda. Aquests oligonucleòtids hibriden en llocs adjacents a la seqüència diana. Un cop hibridats s'uneixen amb una lligasa i les sondes s'amplifiquen mitjançant una PCR simultània. L'electroforesi capil·lar permet la separació i la quantificació de fragments únics en relació a la seva longitud i a la intensitat de fluorescència. La quantitat relativa de cada producte de PCR és proporcional al nombre de còpies de la seqüència diana. S'identifiquen pèrdues o guanys de material genètic, atenent a la normalització de les àrees de cada pic dins d'una mateixa mostra i per una sonda determinada en diferents mostres ([www.mlpa.com](http://www.mlpa.com)). Aquesta tècnica permet detectar delecions i duplicacions de les regions on es troben les sondes.

És una tècnica adient i feta a mesura per aplicar a diferents protocols clínics donat la varietat de kits que existeixen. Comparada amb la FISH el MLPA és més barata. Comparant el MLPA amb la FISH o la QF-PCR, per a la detecció ràpida d'aneuploidies, el MLPA té la principal

avantatge de detectar més de 40 loci en el mateix experiment Comparada amb la QF-PCR evita els problemes de no informativitat d'alguns marcadors polimòrfics (Boormans i col·ls, 2010), però alhora es més costosa.

### 1.3.3 TÈCNIQUES EN DESENVOLUPAMENT

#### 1.3.3.1 Estudi de cèl·lules fetals en sang materna i estudi de cèl·lules trofoblàstiques de descamació

La utilització de tècniques moleculars (FISH i PCR) està ajudant al desenvolupament de noves tècniques de diagnòstic prenatal, com l'anàlisi de cèl·lules fetals en sang materna, que permet un diagnòstic prenatal no invasiu. Aquesta tècnica es basa en la identificació i aïllament de cèl·lules fetals que travessen la barrera placentària i circulen en sang materna, que principalment són eritròcits nucleats (Lamvu i Kuller, 1997).

Recentment s'ha descrit la presència d'ADN fetal lliure en el plasma de la gestant analitzant seqüències d'ADN per detectar el cromosoma Y en el plasma de gestants de fetus mascles. Aquest ADN circulat consisteix en petits fragments dels quals el 80% són menors de 200pb. Aquest ADN representa entre el 2-3% de l'ADN lliure que hi ha al plasma de la gestant i es pot detectar a partir d'un embrió de 18 dies, després d'haver estat transferit per tècniques de reproducció assistida. Les aplicacions clíniques potencials d'aquest ADN pot ser pel diagnòstic o exclusió de malalties genètiques o anomalies cromosòmiques fetals, per a la monitorització de malalties associades amb l'embaràs, com la preclampsia, etc (Lo i col·ls, 2007; Chiu i col·ls, 2008; Fan i col·ls, 2008).

També s'ha estudiat la possibilitat d'utilitzar cèl·lules trofoblàstiques de descamació obtingudes per via transcervical per a l'estudi cromosòmic fetal amb tècniques de FISH o QF-PCR (Cioni i col·ls, 2005).

#### 1.3.3.2 Diagnòstic preimplantacional

El diagnòstic genètic preimplantacional (DGP) es realitza en una o dos cèl·lules de l'embrió en l'estadi de 6 a 8 cèl·lules (blastòmer) i mitjançant PCR o FISH s'arriba a un diagnòstic sobre si l'embrió està afectat d'una malaltia genètica o si és sa. El DGP s'està implementant àmpliament per diagnosticar malalties monogèniques i també per a la detecció d'anomalies cromosòmiques en parelles que presenten un alt risc de concebre embrions aneuploides. Obradors i col·ls (2008 i 2009) han optimitzat un protocol de DGP que permet tant el diagnòstic citogenètic com l'anàlisi molecular de fibrosi quística i de la malaltia de Von Hippel-Lindau. Per a la detecció d'anomalies cromosòmiques apliquen la tècnica de hibridació

genòmica comparada després de la biòpsia del primer corpuscle polar de varis oòcits, i després de l'amplificació genòmica utilitzen la multiplex PCR i seqüenciació directa per a la detecció de cada mutació.

### 1.3.3.3 Array-CGH (hibridació genòmica comparada)

Aquesta tècnica es basa en comparar el nombre de còpies de dues seqüències d'ADN, una problema i un altre de referència. Els dos ADN marcats amb fluorocroms diferents, competeixen per hibridar sobre seqüències d'ADN d'un individu normal. El progressiu augment de resolució de la tècnica de la CGH ha anat lligat a la recerca generada pel projecte del genoma Humà. Les llibreries de BACs (cromosomes artificials de bacteri) utilitzades en la seqüenciació van fer possible el desenvolupament dels arrays de BACs i la tècnica de l'array-CGH. Els cromosomes en metafase de la CGH clàssica es van substituir per BACs que contenen seqüències d'ADN del genoma humà d'entre 80 i 200kb que es disposen de manera endreçada (array) sobre un portaobjectes de vidre anomenat microxip d'ADN o array. S'han desenvolupat i comercialitzat molts formats i tecnologies, així podem trobar els BAC-arrays, els arrays d'oligonucleotids (sondes sintètiques d'oligonucleòtids d'entre 25 i 85 bp) i els SNP-arrays. Le Caignec i col·ls (2006) han aplicat un array-CGH per a la detecció d'anomalies cromosòmiques a partir d'una sola cèl·lula (limfoblast o fibroblast o blastòmer) després d'una amplificació isotèrmica d'ADN demostrant la seva aplicació en DGP.

La tecnologia de microarrays ha permès descobrir i avançar en la identificació i descripció de les variants estructurals del genoma humà i actualment es coneix com la tercera era de la citogenètica (Friedman, 2009).

Mentre que l'aplicació d'aquesta tècnica és extensa en població pediàtrica (Bejjani i col·ls, 2005; Cheung i col·ls, 2005; Shaffer i col·ls, 2006; Stankiewicz i Beaudet, 2007; Lu i col·ls, 2008;) l'experiència del seu us en la pràctica clínica prenatal és encara escassa. Rickman i col·ls (2006) confirmen l'anomalia cromosòmica detectada prèviament amb el cariotip convencional en un 73% dels casos utilitzant un array amb BACs. El primer estudi de validació prospectiva es va realitzar en líquid amniòtic i biòpsia de còrion detectant un 5% de desequilibris clínicament significatius (Sahoo i col·ls, 2006). Altres estudis amb una mostra mes petita han investigat l'ús de l'array-CGH a partir d'ADN lliure del sobrenedant de líquid amniòtic (Larrabee i col·ls, 2004; Miura col·ls, 2006; Lapaire col·ls, 2007). Choe i col·ls (2007) avaluen la seva aplicació en 222 mostres prenatales i postnatales amb cariotip previ, obtenint una taxa de concordança del 99.5%, un cas de 47,XXX diagnosticat per citogenètica no és detectat per l'array, recomanant-se l'ús d'un ADN de referència 47,XXX per a la detecció d'anomalies dels cromosomes sexuals (Ballif i col·ls, 2006). Bi i col·ls (2008) han aplicat aquesta tècnica en mostres de líquid amniòtic sense cultivar. Shaffer i col·ls (2008) en un estudi on la principal indicació (73%) va ser la detecció ecogràfica d'un DC i cariotip normal,

troben dos casos (1.3%) d'anomalies cromosòmiques. Van den Veyver i col·ls (2009) apliquen un array amb BACs i un d'oligonucleòtids en 309 mostres de líquid amniòtic i biòpsia de còrion trobant un canvi en una CNV amb significació clínica en un 6%. Kleeman i col·ls (2009) troben en 50 fetus malformats amb un cariotip normal un 2% de desequilibri i Vialard col·ls (2009) en 39 fetus amb DC múltiples amb cariotip normal o amb reorganitzacions per caracteritzar detecten un 15,4% d'anomalies. Tyreman i col·ls (2009) i Valduga i col·ls (2010) troben un 9% i 10% de desequilibris genòmics respectivament, ambdós autors identifiquen alteracions genòmiques en fetus amb malformacions que són diferents a les alteracions detectades en les sèries postnatsals en casos malformats. Per tant determinades anomalies podrien passar desapercebudes amb arrays que estan dissenyats per estudis postnatsals. És necessari dur a terme estudis addicionals en fetus malformats amb la finalitat de facilitar la implementació d'un array dirigit més sensible (Valduga i col·ls, 2010). Coppinger i col·ls (2009) troben que l'array-CGH detecta una taxa de desequilibri genòmic clínicament significatiu similar ja sigui utilitzant un array dirigit o un de tot el genoma. El disseny d'un arrayCGH de BAC que conté només clons de regions conegudes amb significació clínica en 94 amniocentesis referides per diferents indicacions va mostrar un 21,3% d'anomalies genètiques (Park i col·ls, 2010). Hillman i col·ls (2010) fan una revisió de tots els treballs publicats sobre l'aplicació de l'array en prenatal conclouent que quan la indicació és la detecció ecogràfica d'un defecte congènit i cariotip normal es detecta un 5.2% d'anomalies.

No existeix cap barrera tècnica per la utilització de l'array-CGH com a test prenatal de desequilibris genòmics patogènics en el fetus (Rickman i col·ls, 2006; Sahoo i col·ls, 2006; Lapaire i col·ls, 2007) i fer-ho ofereix atractives avantatges. L'array-CGH pot ser automatitzat, la utilització d'ADN evita el cultiu de cèl·lules fetals i d'alguns problemes com el no creixement cel·lular, contaminació, creixements de cèl·lules maternes i mala qualitat cromosòmica. L'ús de l'array-CGH augmenta la sensibilitat i exactitud en la detecció d'anomalies genètiques respecte el clàssic cariotip disminuint el temps de resposta. L'array-CGH pot detectar fàcilment les aneuploidies i totes les síndromes relacionades amb discapacitat intel·lectual i DC múltiples que es diagnostiquen convencionalment amb les tècniques de FISH. A més l'array-CGH pot diagnosticar algunes altres CNVs patogèniques que han estat diagnosticades en nens amb discapacitat intel·lectual. No obstant aquesta tècnica no detecta translocacions recíproques, inversions, triploidies i mosaïcismes de baix nivell (inferior al 20%) (Vermeesch i col·ls, 2005).

El major problema de l'aplicació d'aquesta tècnica és el imputar un resultat patològic a qualsevol deleció o duplicació. Amb el desenvolupament de la CGH s'han detectat en el genoma humà CNVs i algunes d'elles són polimòrfiques. El CNV *consortium* ha identificat 1.447 regions variables que se solapen o són adjacents a guanys o pèrdues i que cobreixen 360 Mb (12% del genoma). Més de 8.000 CNVs s'han indexat, algunes CNVs inclouen gens que resulten en patrons d'expressió diferencial i CNVs que contribueixen a una proporció significativa de variacions fenotípiques normals (Vialard i col·ls, 2009). Actualment hi ha en el mercat arrays

amb més de 5.000 clons de BAC-PAC o un milió d'oligomers o quatre milions de SNPs. És probable que el nombre de clons augmenti en el futur mostrant-nos regions interessants del genoma pel diagnòstic de DC. No obstant un increment en el nombre de clons requerirà la identificació de CNV per evitar nombrosos controls (de Vries i col·ls, 2005). El disseny d'un array-CGH que diagnostiqui aneuploidies, síndromes microdelecionals coneguts i grans reorganitzacions cromosòmiques desequilibrades és una alternativa en diagnòstic prenatal (Rickman i col·ls, 2006). Són necessaris controls per millorar els resultats de l'array-CGH encara que la regió reorganitzada sigui coneguda i estigui relacionada en una síndrome citogenètica. D'altra banda es coneix molt poc sobre la història natural i el rang de la variabilitat clínica associada amb les CNVs patogèniques descrites recentment i no es té massa coneixement sobre les noves CNVs que han estat considerades patogèniques en base a la mida genòmica, el contingut genètic o en alguns casos l'associació amb DC fetals detectats amb l'ecografia prenatal (Darilek i col·ls, 2008).

Si l'array-CGH s'ofereix a nivell prenatal s'hauria d'extreure sang dels pares el mateix dia en que es realitza la tècnica invasiva ja que la utilització d'aquesta tècnica detecta variants que han de ser confirmades en els pares amb una freqüència molt major que per citogenètica convencional. Aquesta es una desavantatge doncs algunes CNVs poden ser de significat incert pel fetus, desconcertants per prendre una decisió i que a la vegada consumiran molt temps en l'anàlisi. El benefici potencial dels arrays-CGH que cobreixi tot el genoma en diagnòstic prenatal és molt més gran que amb un array-CGH que està dirigit a determinades regions del genoma relacionades amb malalties, però també el risc d'una troballa amb un resultat de significació clínica incerta (Friedman,2009). L'ús d'array-CGH per diagnòstic prenatal ara per ara es limita a cobrir regions conegudes, però alhora és una tècnica desafiant en l'actualitat, que porta a fer-nos la pregunta que es el que volem analitzar en el diagnòstic prenatal? i per què?.

Durant mes de 30 anys el diagnòstic prenatal invasiu ha estat enfocat fonamentalment al diagnòstic d'aquelles gestants amb un risc elevat de síndrome de Down bé per l'edat o pel cribatge bioquímic. Fins el moment no existeix cap evidència de que ni l'edat materna avançada ni el cribatge bioquímic en sèrum matern pugui augmentar el risc d'una CNV patogènica en el fetus. El risc de que una embarassada tingui un fill amb una CNV patogènica és més o menys constant amb l'edat (Fig.1.6). Això vol dir que la probabilitat de que l'array-CGH detectés un desequilibri cromosòmic que no hauria estat detectat per citogenètica convencional arribaria a ser menor que el risc global d'anomalia cromosòmica. D'altra banda l'anàlisi cost-benefici d'aplicar l'array-CGH, a més de la citogenètica convencional, en embarassos d'alt risc per Síndrome de Down es baix.

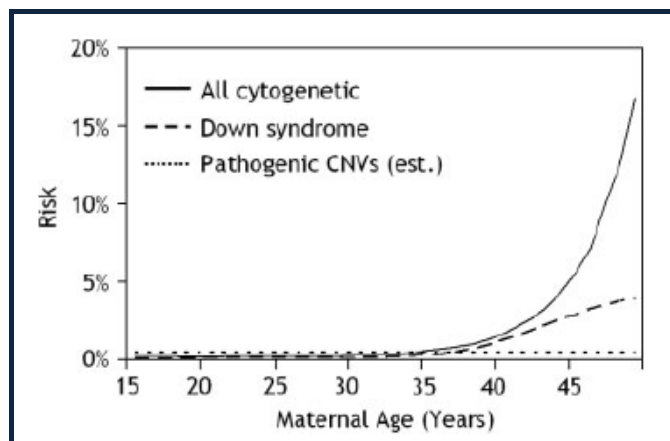


Fig.1.6 Risc de tenir un fill amb una anomalia cromosòmica segons l'edat materna (Friedman,2009)

Una important consideració que afavoreix l'ús d'array-CGH en diagnòstic prenatal és el principi d'autonomia del pacient. Algunes gestants desitgen que amb la major seguretat el seu fill no presenti ni DC ni discapacitat intel·lectual. El consell genètic en aquestes gestants és especialment important i se'ls hi hauria de recordar que molts DC o discapacitat intel·lectual no poden ser diagnosticats prenatalment ni per array-CGH ni per altres mètodes, ni la millor tecnologia pot garantir un nadó sà. Després del consell genètic el 85% de les parelles amb un risc augmentat d'aneuploidia, va accedir a realitzar una tècnica invasiva, i d'aquestes el 73% van accedir a que es realitzés un array, essent el motiu principal l'obtenció de més informació o fill anterior afecte de DC. Els motius al·legats en el grups que no van acceptar van ser l'ansietat mentre esperen el resultat i que els anomalies detectades per l'array són poc freqüents (Sahoo, i col·ls, 2006). L'*American College of Medical Genetics* ha publicat una guia per l'ús d'array-CGH en diagnòstic prenatal (ACOG,2009).

Segons l'opinió de Friedman (2009) les úniques indicacions de l'array-CGH en diagnòstic prenatal serien:

1. Quan la gestació té un risc elevat de tenir una CNV patològica.
2. L'array-CGH deuria ser oferida en un context d'un equip clínic.

Encara és massa prematur l'ús d'aquesta tècnica en el diagnòstic prenatal rutinari tot i que la seva aplicació ha estat demostrada (Sahoo i col·ls, 2006) i els resultats preliminars semblen ser molt interessants sobre tot pels defectes de la paret abdominal (Heinrich i col·ls, 2007) i per tant es creu que en un futur immediat l'estudi cromosòmic continuarà essent la primera eina de diagnòstic genètic en el laboratori (ACOG,2009; Fruhman i Van den Veyver, 2010).

## 1.4 DIAGNÒSTIC DE DEFECTES CONGÈNITS PER MITJÀ DE L'ECOGRAFIA

### 1.4.1 CRIBATGE ECOGRÀFIC DE DC DURANT EL SEGON I TERCER TRIMESTRE

En els darrers vint anys l'ecografia prenatal ha mostrat un gran avanç i s'està utilitzant a totes les gestants, incloses aquelles amb baix risc. La possibilitat de 'veure el fetus' és possible per mitjà de l'ecografia, especialment la de segon trimestre (19-22 setmanes de gestació) i que te la funció d'analitzar en detall l'anatomia fetal amb l'objectiu de fer un cribatge de DC. Cada vegada mes, amb les expectatives de les gestants i la possibilitat d'una interrupció de l'embaràs l'ecografia del segon trimestre ha esdevingut una eina molt rellevant (Verrotti i col·ls, 2007; Driscoll i Gross, 2009).

El cribatge ecogràfic rutinari respecta el principi d'autonomia de la gestant, i que és el principi central en ètica. No oferir un cribatge ecogràfic rutinari a les gestants crea una restricció a l'accés al diagnòstic prenatal de malformacions greus i per tant a l'elecció d'interrompre la gestació i d'altres decisions importants (Levi, 2002).

Hi ha determinats tipus de malformacions que no són fàcilment detectables en l'ecografia del segon trimestre degut al tipus de desenvolupament de la malformació, de la seva història natural i de la dificultat en avaluar certes estructures fetals durant el segon trimestre com per exemple alguns defectes del sistema nerviós central. També hi ha pocs estudis que hagin avaluat la sensibilitat en la detecció de DC de l'ecografia durant el tercer trimestre, la presència d'una noxa patògena en un període de la gestació més avançat que podria alterar el desenvolupament fetal normal

El rendiment de l'ecografia està basat en variables tècniques i organitzatives que inclouen el nombre d'exàmens realitzats, l'experiència de l'operador, el tipus d'equip utilitzat, la política sanitària i també en variables que estan relacionades amb els DC com és l'edat gestacional en que es realitza l'ecografia, el tipus de malformació i la severitat. Els resultats obtinguts són molt variables. Alguns dels més importants estan resumits a la taula 1.11, on es pot observar en primer lloc la variabilitat en la sensibilitat de l'ecografia en diagnosticar les malformacions fetals. S'evidencia els diferents tipus de centres segons el nivell I ó II, les diferents estratègies utilitzades (multicèntric, monocèntric, retrospectiu, prospectiu) i la diferent classificació i taxa de les malformacions en diferents poblacions. L'exactitud diagnòstica de l'ecografia fetal és més alta quan l'examen es realitza en gestants d'alt risc, quan es realitza en centres especialitzats i quan es consideren malformacions majors (VanDorsten i col·ls, 1998; Verrotti i col·ls, 2007).

Autor/any	País	Població examinada/ nºcasos	Nivell Hospital	Tipus estudi	Taxa malformació %	Sensibilitat
Anderson i col·ls, 1990	Finlàndia	Baix risc 4691	I i II	Monocèntric	0.99	77% 36%
Le Fevre i col·ls 1993	US	Baix risc 7812	I i II	Multicèntric	2.4	35% (II)* 13% (I)*
Grandjean i col·ls,1998	Europa	Baix risc 170800	II	Multicèntric	2.7	61%
Boyd i col·ls,1999	UK	Baix risc 33376	I	Multicèntric	2.1	42% (91-93) 68% (94-96)
Stoll i col·ls,2000	Europa	Baix risc 709030	I	Multicèntric retrospectiu	1.1	44%
Wong i col·ls,2004	Austràlia	Baix risc 12169	I	Multicèntric	1.4	72% <sup>1</sup>
Eurocat,2005	Europa	Baix risc 1198519	I	Multicèntric retrospectiu	0.3	64% <sup>2</sup>
Nakling i Backe, 2005	Noruega	Baix risc 18181	I	Multicèntric	1.5	39%

Taula 1.11. Sensibilitat en el diagnòstic de malformacions (Verrotti i col·ls, 2007).(1) DC majors, (2) s'ha considerat únicament 11 DC majors.

Es va analitzar propospectivament 170.800 fetus procedents de 14 països europeus on l'ecografia s'ha realitzat en centres de nivell II durant el segon i tercer trimestre de la gestació (Grandjean i col·ls, 1998). Aquest estudi mostra una sensibilitat del 44%, quan el cribatge es realitza abans de la setmana 24 de gestació i una sensibilitat global del 61% (73.3% per malformacions majors i 45.7% per malformacions menors). A l'analitzar el tipus d'anomalies detectades abans de la setmana 24 es pot observar l'alta sensibilitat en la detecció de DC del sistema nerviós central, urinari i esquelètic, en canvi s'observa una baixa sensibilitat per les malformacions cardíagues i gastrointestinals. L'ecografia de 2n trimestre també mostra sensibilitat variable per diverses tipus de malformacions d'òrgans diferents, per exemple l'anencefàlia i l'encefalocele es van diagnosticar amb una sensibilitat del 82% i 66% respectivament, mentre que el diagnòstic d'hydrocefàlia va mostrar una sensibilitat del 35%. Les malformacions renals diagnosticades amb més freqüència abans de la setmana 24 de gestació van ser ronyó multiquístic unilateral o bilateral, l'agenèsia bilateral de ronyó i l'extròfia de bufeta. En relació a l'edat gestacional s'ha analitzat la mitjana de detecció (25.8±7.5 setmanes) variant segons el tipus de malformacions i els diferent òrgans. Les malformacions cardíagues, gastrointestinals i malformacions menors renals mostren una mitjana de detecció de 28, 30 i 29 setmanes de gestació respectivament. En aquest estudi el 38.5% de les malformacions fetals van ser detectades després de la setmana 29 de gestació (Grandjean i col·ls, 1998).

L'estudi realitzat en una població australiana de 12.169 gestants on únicament avalua les malformacions majors, la sensibilitat global i la de cada tipus de malformació va ser molt més elevada comparada amb les obtingudes a l'estudi Eurofetus. La taxa de detecció



prenatal era del 92% per les malformacions del sistema nerviós central, d'un 54% per les gastrointestinals, d'un 87% per les renals i d'un 46% per les cardíques (Wong i col·ls, 2004).

L'estudi noruec multicèntric (Nakling i Backe, 2005) va demostrar una sensibilitat del 38.7% en una població de gestants de baix risc, en funció del tipus de malformació la sensibilitat oscil·lava des del 74.4% per les renals fins un 8.3% per les esquelètiques.

Un estudi multicèntric retrospectiu recent fet pel registre de DC EUROCAT avalua la sensibilitat de l'ecografia en la detecció de 11 malformacions majors (anencefàlia, encefalocele, espina bífida, hidrocefàlia, transposició de grans vasos, ventricle esquerre hipoplàsic, reducció d'extremitats, agenèsia bilateral de ronyons, hèrnia diafragmàtica, omfalocele i gastròsquisi). La sensibilitat total va ser del 64% (25-88% depenent dels registres) abans de la setmana 24 de gestació i del 68% al llarg de tot l'embaràs.

Tenint en compte aquests estudis és evident que hi ha diferents malformacions estructurals amb un debut més tardà que poden ser diagnosticades durant el tercer trimestre. L'ecografia del tercer trimestre a més de ser utilitzada per a la valoració del creixement fetal és una eina per a la detecció de malformacions d'expressió tardana com poden ser certes cardiopaties (Verrotti i col·ls, 2007). El seu diagnòstic prenatal pot proporcionar informació molt valuosa, per planificar el part en un centre especialitzat, pel moment i tipus de naixement i per una adequada assistència en el naixement i durant el període postnatal.

A la taula 1.12 es mostra els diferents tipus de DC i marcadors ecogràfics detectats per ecografia durant el segon trimestre. Es considera que un marcador ecogràfic es representatiu de determinat tipus d'aneuploïdia quan la seva prevalença es superior al 10% (Papp i col·ls, 2008).

Les avantatges del diagnòstic prenatal són evidents inclús sota el punt de vista legal encara que per alguns autors el diagnòstic durant el tercer trimestre no redueix la morbiditat ni la mortalitat fetal de forma evident. És important augmentar la detecció de certes malformacions que són difícils de diagnosticar en l'úter. La detecció prenatal de malformacions hauria de donar lloc a altres estudis extensius per tal de precisar el diagnòstic i el pronòstic, incloent l'estudi del cariotip i la recerca d'anomalies addicionals (Levi, 2002).

DC	Trisomia 21 (n=207)	Trisomia 18 (n=70)	Trisomia 13 (n=28)	45,X (n=69)
<b>Defectes cardíacs</b>	15.9%	47.1%	53.6%	13%
CIV	4.8%	27.1%	17.8%	2.9%
CIA	3.9%	-	-	-
Ventriple dret dilatat	3.4%	2.8%	14.3%	1.4%
Ventriple esquerre dilatat	1%	-	-	-
Tetralogia Fallot	1.9%	5.7%	-	2.9%
Coartació aorta	-	5.7%	7.1%	5.8%
Atrèsia tricúspide	1%	2.8%	7.1%	-
Ventriple esquerre hipoplàsic	-	2.8%	7.1%	-
Arteria umbilical única	-	1.4%	7.1%	-
<b>Defectes S. Nervios</b>	14.5%	35.7%	64.3%	4.3%
Ventriculomegàlia	11.6%	11.4%	39.3%	4.3%
Braquicefàlia	1.4%	-	-	-
Holoprosencefàlia	-	-	17.9%	-
Forma anòmala cap	-	12.9%	-	-
Quist fosa posterior	-	4.3%	-	-
4 <sup>art</sup> ventriple dilatat	1.4%	-	-	-
<b>Defectes facials</b>	1.4%	14.3%	64.3%	-
Defecte línia mitja	-	7.1%	42.9%	-
Cara plana	0.5%	-	-	-
Orelles petites o baixes	1%	4.3%	3.6%	-
Anomalies oculars	-	2.8%	17.9%	-
<b>Higroma quístic</b>	6.8%	11.4%	-	26.1%
<b>Hidrops/edema</b>	3.4%	35.7%	7.1%	11.6%
<b>Defectes renals</b>	0.5%	4.3%	14.3%	11.6%
Ronyons quístic	-	2.8%	10.7%	5.8%
Altres	0.5%	1.4%	3.5%	5.8%
<b>Defectes abdominals</b>	2.4%	10%	3.6%	-
Atrèsia duodenal	1.9%	2.8%	-	-
Omfalocele	0.5%	7.1%	3.6%	-
<b>Defectes extremitats</b>	1.4%	5.7%	7.1%	-
Clinodactília	0.5%	-	-	-
Sandal gap	1%	-	-	-
Mans tancades	-	2.8%	-	-
Peu bot	-	2.8%	-	-
Polidactília	-	-	7.1%	-
<b>RCIU</b>	-	11.4%	10.7%	-
<b>Polihidramnios</b>	-	11.4%	14.3%	-

Taula 1.12. Troballes ecogràfiques detectades en fetus aneuploides (Papp i col·ls, 2008). CIV: Comunicació interventricular, CIA: Comunicació interauricular, RCIU:retard creixement intrauterí

#### 1.4.2 CRIBATGE ECOGRÀFIC DE DC DURANT EL PRIMER TRIMESTRE

El desenvolupament de sondes ecogràfiques que fan possible examinar l'anatomia fetal, l'augment en el coneixement de l'història natural dels DC fetals i una millor visualització del fetus a etapes més precoces de la gestació ha donat lloc a un creixent interès en el cribatge de malformacions estructurals al final del primer trimestre de la gestació.

L'ecografia per la detecció d'anomalies fetals té beneficis potencials com és la detecció precoç de gestacions no evolutives (Pandya i col·ls, 1996), la detecció de la corionicitat dels embarassos múltiples (Sepulveda i col·ls, 1996) així com la detecció de malformacions (Chitty i Pandya, 1997). En relació a la taxa de detecció es va analitzar la utilitat de realitzar un examen ecogràfic detallat en el fetus durant el primer trimestre obtenint una detecció del 50% per les malformacions majors (la majoria són gastrointestinals) i d'un 75% pels defectes cardíacs arribant a una sensibilitat del 93% si s'afegeix la detecció de l'ecografia del segon trimestre (Souka i col·ls, 2006). S'ha avaluat l'eficiència de l'ecografia en la detecció de malformacions estructurals majors durant el període de les 11 a 14 setmanes de gestació obtenint una taxa de detecció del 70% en el primer trimestre i del 95% quan s'afegeix l'ecografia del segon trimestre (Dane i col·ls, 2007). Per altra banda la majoria dels DC detectats en aquest estudi i en el de Weiner i col·ls (2007) durant el primer trimestre foren defectes del tub neural, defectes del sistema nerviós central i de defectes cardíacs amb una taxa de detecció de només el 25%.

Bronshtein i col·ls, (2008) van analitzar la contribució de l'ecografia transvaginal d'alta resolució a primer trimestre en una sèrie de fetus amb translucència nucal (TN) augmentada on el 35% va presentar un DC sever, un 26% un DC no tan greu i un 39% van ser normals. L'ecografia de primer trimestre serveix com una exploració de l'anatomia fetal primerenca. La detecció d'altres DC proporciona als pares una informació sobre la continuació o no de la gestació, i en els casos de malformacions letals o molt greus la tècnica invasiva es podria realitzar a la finalització de la gestació.

Recentment s'ha descrit un marcador ecogràfic associat al diagnòstic d'espina bífida oberta en el primer trimestre. Aquest DC es pot sospitar quan es realitza l'ecografia en el mateix pla sagital que es mesura la TN, mesurant el que anomenen *translucència intracranial* (TI) en el quart ventricle cerebral. En alguns casos d'espina bifida oberta s'observaria un desplaçament caudal del cervell que resulta en la pèrdua de la mesura normal de TI. Aquest nou marcador està sota validació clínica per determinar quina proporció dels fetus afectes mostren una absència de TI (Chaoui i Nicolaides, 2010).

### 1.4.3 CRIBATGE D'ANEUPLOIDIES

Els programes de cribatge i diagnòstic per a detectar les trisomies autosòmiques més freqüents en els recents nascuts estan ben desenvolupats tot i que no és possible identificar totes les anomalies cromosòmiques. En la darrera dècada s'han desenvolupat nombrosos marcadors i estratègies per a la detecció de la Síndrome de Down que es considera el *gold standard* de la detecció d'aneuploidies per ecografia. S'han avaluat algorismes que combinen l'ecografia amb els marcadors bioquímics de primer i segon trimestre. A més, la pràctica que

utilitza l'edat materna com a *cutoff* per determinar quan a una gestant se li ha d'oferir un test diagnòstic invasiu o de criatge ha anat canviant en el temps. El col·legi americà d'obstetres i ginecòlegs especialitzats en genètica, juntament amb la societat de medicina materno-fetal ha editat una sèrie de recomanacions pel criatge d'anomalies cromosòmiques fetals (ACOG, 2007; Driscoll i Gross; 2009). Aquestes són les recomanacions proposades:

- El criatge bioquímic de primer trimestre i la mesura de la TN nucal son efectius per a la detecció de la Síndrome de Down en la població general.
- Aquelles gestants amb un risc augmentat d'aneuploidia en el criatge de primer trimestre se'ls hi oferirà consell genètic i l'opció a una tècnica invasiva, a primer trimestre la biòpsia de còrion i en segon trimestre una amniocentesi.
- Per tal d'obtenir una bona detecció del risc de Síndrome de Down és necessari, que els obstetres tinguin un entrenament específic, una estandardització, un equipament ecogràfic apropiat i una avaluació de la qualitat continua. És més, aquest procediment estarà restringit a determinats centres i professionals que compleixen aquest perfil.
- El criatge de defectes del tub neural amb l'AFP s'oferirà a aquelles gestants que hagin triat un criatge d'aneuploidies de primer trimestre.
- Els tests diagnòstics de criatge i invasius per a la detecció d'aneuploidies han d'estar disponibles a totes les gestants abans de la setmana 20 de gestació sense tenir en compte l'edat materna. Les gestants deurien ser aconsellades de les diferències entre els tests diagnòstics de criatge i els invasius.
- El criatge integrat de primer i segon trimestre és més sensible i té una taxa de falsos positius menor que el criatge de primer trimestre.
- El criatge integrat és una opció útil en aquelles gestacions en que la mesura de la TN no està disponible o no s'ha pogut obtenir.
- Les gestants amb fetus amb una mesura de  $TN \geq 3.5\text{mm}$  o més durant el primer trimestre, i malgrat un criatge bioquímic normal o cariotip normal, se'ls hauria d'oferir un examen ecogràfic dirigit, una ecocardiografia fetal o les dues coses.
- El criatge bioquímic tant de primer com de segon trimestre o la mesura de la TN en les gestacions múltiples és menys exacte i menys sensible que en les gestacions úniques.
- La detecció d'un DC durant l'examen ecogràfic de segon trimestre augmenta significativament el risc d'aneuploidia, oferint-se un test diagnòstic invasiu.

La majoria d'estudis sobre la detecció d'aneuploidies es basen en població d'alt risc o son sèries basades en centres hospitalaris d'alt nivell. Els registres de defectes congènits a nivell poblacional són un sistema de monitorització de DC que permeten avaluar la detecció prenatal dels DC.

L'avaluació de l'ecografia prenatal rutinària poblacional per a la detecció de DC i diagnòstic d'anomalies cromosòmiques en població general a partir de les dades del registre de DC francès durant el període 1980-1987, va mostrar que només un 21.5% dels casos va ser detectat per mitjà de l'ecografia prenatal i que un 62.3% dels casos amb anomalia cromosòmica presentaven algun defecte congènit que potencialment podia haver estat detectat per ultrasons. Les taxes de detecció prenatal per la trisomies 21, 18 i 13 foren 12.5%, 45.4% i 50% respectivament, 58.3% per la monosomia X i un 28.6% per altres anomalies cromosòmiques, i només un 12.6% dels casos es van diagnosticar abans de la setmana 24 de gestació (Stoll i col·ls, 1993). En el registre poblacional de DC d'Oxford durant 1991-1996 va mostrar que el 31.4% dels fetus amb trisomia 21 detectats prenatalment es van diagnosticar a través de l'ecografia (Boyd i col·ls, 1998). Un estudi posterior d'EUROCAT sobre la contribució de l'ecografia en la detecció de la trisomia 21 va trobar una detecció del 24% durant el període 1996-1998 (Wellesley i col·ls, 2004), percentatge similar al detectat en altres sèries (Nakling i Backe, 2005; Offerdal i col·ls (2008). Les dades del Registre de DC de la ciutat de Barcelona ([www.aspb.es/quefem/](http://www.aspb.es/quefem/)) de l'any 1992 fins a l'any 2002 mostren que les taxes de detecció prenatal per mitjà de l'ecografia van ser per la trisomia 21, 18 i 13 del 40%, 68% i 71% respectivament.

### Ecografia genètica

El terme d'ecografia genètica descriu l'aplicació d'una ecografia durant el segon trimestre de la gestació per tal ajustar el risc d'aneuploidia obtingut en el primer trimestre. El diagnòstic prenatal d'un DC estructural amb una reconeguda associació amb una trisomia autosòmica fa que probablement es dugui a terme un test diagnòstic invasiu, en canvi el diagnòstic d'un marcador ecogràfic requereix una correlació amb altres factors de risc com l'edat materna, l'història obstètrica i familiar o el resultat del criatge bioquímic prenatal. Davant el risc de pèrdua fetal associada a l'amniocentesi, l'ecografia genètica s'ha desenvolupat per proveir a una gestant amb un risc determinat una estimació del risc individualitzat i facilitar-li la decisió de realitzar un test diagnòstic invasiu.

S'han utilitzat el risc bioquímic del primer trimestre i la mesura de la translucència nucal juntament amb els marcadors ecogràfics de segon trimestre com a model de l'efectivitat de l'ecografia genètica de segon trimestre combinada amb el criatge bioquímic de primer trimestre (Krantz i col·ls, 2007). Un estudi americà anomenat FASTER (First and Second Trimester Evaluation of Risk) realitzat en 15 centres avalua el rendiment de l'ecografia del primer i segon trimestre per a la detecció d'aneuploidies que no són la trisomia 21 (Breathnach i col·ls, 2007). Durant el primer trimestre es poden detectar el 78% dels casos amb trisomia 13, 18, Síndrome de Turner i triploidies per contra durant el segon trimestre es detectarien només el 69%. Utilitzant un protocol seqüencial pas a pas (*step-wise-sequential-protocol*), troben que usant probabilitats individuals per un marcador per a modificar el risc a

primer trimestre per pacients amb risc per sota del cutoff, l'ecografia genètica afegeix un 6% de casos addicionals per una taxa de falsos positius de 1.2%. Aquesta ecografia és una alternativa viable al cribatge bioquímic de segon trimestre i deuria ser utilitzada només per a les gestants amb un risc en el cribatge bioquímic de primer trimestre entre 1/300 i 1/2500. La taxa de detecció addicional fou de 4.8% per una taxa de falsos positius del 0.7% (Flood i Malone, 2008). Per altra banda s'ha avaluat l'ecografia genètica combinada respecte al que s'anomena cribatge integrat, on el resultat del cribatge bioquímic de primer trimestre no s'informa a la pacient fins que el resultat del cribatge de segon trimestre esta disponible i el risc es basa en els marcadors de primer i de segon trimestre. Així van observar que si el risc de trisomia 21 s'ajustés basant-se en la presència de marcadors en l'ecografia genètica utilitzant la probabilitat de cada marcador, hi hauria una reducció en la taxa de falsos positius del test integrat del 2.5% al 1.8%. No obstant també hi hauria una reducció en la taxa de detecció de síndrome de Down del 83% al 75% (Weisz i col·ls, 2007). Pel contrari Wax i col·ls (2009) avaluen l'ecografia genètica després del cribatge bioquímic prenatal, i troben que millora la detecció de trisomia 21 a expenses d'augmentar la taxa de falsos positius.

No obstant s'ha posat en discussió la contribució de l'ecografia genètica, una avaluació prospectiva d'una sèrie de gestants va concloure que la seva eficàcia es menor del que s'havia dit i es proposa que no s'efectuï aquest examen ecogràfic juntament amb el cribatge bioquímic (Smith-Bindman i col·ls, 2007).

#### **1.4.4 MARCADORS ECOGRÀFICS D'ANEUPLOÏDIES DE PRIMER TRIMESTRE**

A l'any 1866 Down va descriure que els individus amb trisomia 21 el gruix de la pell era ample, el nas era petit i la cara plana. En la darrera dècada ha estat possible observar aquestes característiques durant el tercer mes de la vida intrauterina a través de l'examen ecogràfic. Aproximadament el 75% dels fetus amb trisomia 21 tenen augmentada la translucència nual (TN ) i un 70% dels fetus no tenen os nasal.

Cada dona té un risc de que el seu fetus tingui una anomalia cromosòmica. Per calcular el risc individual és necessari tenir en compte el risc a priori que depèn de l'edat materna i de l'edat gestacional en la que es faci la determinació, i es multiplica per una probabilitat que depèn dels resultats obtinguts de l'ecografia i/o el cribatge bioquímic que es realitzen al llarg de la gestació i que determinen el risc específic de la gestant (Snijders i col·ls, 1996).

A partir de la setmana 11 de gestació es pot visualitzar l'anatomia cardíaca, l'inserció del cordó umbilical, identificació i tamany de la bufeta, ossificació crani, etc (Sonek, 2007). En els darrers anys s'ha descrit l'associació entre anomalies cromosòmiques i marcadors ecogràfics durant el primer trimestre de la gestació (Spencer, 2007; Flood i Malone, 2008).

### ▪ Translucència nucal (TN)

Durant el primer trimestre el terme que s'utilitza és de translucència nucal, sense tenir en compte si l'acumul de fluid és septat i si està confinat al coll o envolta a tot el fetus (Nicolaidis i col·ls, 1992). L'edat gestacional òptima per la mesura de la TN és entre la setmana 11 de gestació fins a 13<sup>+6</sup> i la mínima longitud cranio-caudal (CRL) deuria ser de 45mm i la màxima 84mm. S'ha d'obtenir una bona secció sagital dels fetus, com a mesura de la CRL i la TN deu ser mesurada amb el fetus en posició neutral (Braithwaite i col·ls, 1996). La capacitat d'aconseguir una mesura de TN fiable depèn de l'entrenament i acompliment d'una tècnica estàndard per aconseguir una uniformitat de resultats dins dels diferents operadors.

Durant el segon i tercer trimestre de la gestació l'acumul anòmal de fluid en el coll del fetus es pot classificar com a higroma quístic o be com a edema nucal. Aproximadament el 75% del fetus amb higroma quístic tenen una anomalia cromosòmica i en un 95% del casos l'anomalia és la Síndrome de Turner (Azar i col·ls, 1991). L'edema nucal te causes diverses i les anomalies cromosòmiques es troben en un terç dels fetus, i en aproximadament en el 75% del casos l'anomalia cromosòmica és la trisomia 21 o 18 (Nicolaidis i col·ls, 1992; Souka i col·ls, 2001). La TN augmentada està associada amb defectes cardiovasculars i pulmonars, displàsies esquelètiques, infeccions congènites i malalties hematològiques i metabòliques, etc (Sonek, 2007). L'associació de la TN augmentada i aquesta heterogeneïtat de condicions suggereix que existeix més d'un mecanisme que provoca l'acumul de fluid en la pell del coll fetal. Els possibles mecanismes inclouen la fallida cardíaca en associació amb anomalies del cor i de les grans artèries, retràs o desenvolupament anòmal del sistema limfàtic, fallida del drenatge pel poc moviment fetal que es dona en desordres neuromusculars, anèmia o hipoproteïnemia, infecció fetal, etc (Nicolaidis, 2004).

En un fetus amb una TN augmentada el risc d'una finalització de la gestació adversa, que podria ser deguda a una anomalia cromosòmica i o bé altres anomalies, així com mort fetal augmenta des del 5% per una TN de 3.4mm, del 30% per una TN de 3.5-4.4mm, del 50% per TN de 4.5-5.4mm, i del 80% per TN $\geq$ 5.5mm (Souka i col·ls, 2001). El diagnòstic d'una TN augmentada comporta realitzar una sèrie d'estudis complementaris fetals que inclouen el cariotip, una ecografia detallada, ecocardiografia, cribatge d'infecció i altres tests genètics.

A la taula 1.13 es mostra l'associació entre TN i anomalies cromosòmiques, es pot observar que hi ha grans diferències entre les diverses sèries que van des del 11% fins el 88%, amb una incidència mitjana de 28.7%. S'observa que un 54% corresponen a trisomia 21, en un 19.3% a trisomia 18, en un 7.5% a trisomia 13, en un 9.7% a Síndrome de Turner, en un 2.4% a altres anomalies del cromosomes sexuals, en un 2.1% a triploidies, i en un 5% a altres

anomalies (translocacions desequilibrades, cromosomes marcadors, mosaics, duplicacions i delecions).

Estudi/any	Gruix TN (mm)	Nº casos	Anomalia cromosòmica					
			Total	Trisomia 21	Trisomia 18	Trisomia 13	45,X	Altres
Johson i col·ls/1993	≥2.0	68	41 (60.3%)	16	9	2	9	5
Hewit/1993	≥2.0	29	12 (41.4%)	5	3	1	2	1
Shulman i col·ls/1992	≥2.5	32	15 (46.9%)	4	4	3	4	-
Nicolaidides i col·ls/1992	≥3.0	88	33 (37.5%)	21	8	2	-	2
Ville i col·ls/1992	≥3.0	29	8 (27.6%)	4	3	1	-	-
Wilson i col·ls/1992	≥3.0	14	3 (21.4%)	-	-	-	1	2
Traufer i col·ls/1994	≥3.0	43	21 (48.8%)	9	4	1	4	3
Brambati i col·ls /1995	≥3.0	70	8 (11.4%)	¿	¿	¿	¿	¿
Comas i col·ls /1995	≥3.0	51	9 (17.6%)	4	4	-	-	1
Pandya i col·ls/1995	≥3.0	1015	194(19.1%)	101	51	13	14	15
Szabo i col·ls/1995	≥3.0	96	43 (44.8%)	28	10	-	2	3
Shulte i Schindler/1992	≥4.0	8	7 (87.5%)	7	-	-	-	-
Van Zalen i col·ls/ 1993	≥4.0	18	6 (33.3%)	3	1	-	1	1
Nadel i col·ls/1993	≥4.0	63	43 (68.3%)	15	15	1	10	2
Savoldelli i col·ls/ 1993	≥4.0	24	19 (79.2%)	15	2	1	1	-
Cullen i col·ls/1990	≥6.0	29	15 (51.7%)	6	2	-	4	3
Suchet i col·ls /1993	≥10.0	13	8 (61.5%)	-	-	-	7	1
<b>Total</b>	-	<b>1690</b>	<b>485(29%)</b>	<b>238</b>	<b>116</b>	<b>25</b>	<b>59</b>	<b>39</b>

Taula 1.13. Sèries sobre l'associació entre TN i anomalies cromosòmiques ordenats en funció de la mesura de la TN (Nicolaidides, 2004).

La implementació d'un programa de cribatge de TN en la rutina diària ha estat avaluat per molts estudis. En alguns casos el grup de cribatge positiu es defineix per un cut-off en la TN fetal o pel risc combinat de l'edat materna i la desviació de la TN respecte a una mitjana en la població normal per un determinat CRL fetal (Nicolaidides, 2004).

- **Flux del Ductus venós**

El ductus venós (DV) és el vas sanguini més petit que porta sang oxigenada des de la placenta fins al cor fetal i l'avaluació del seu flux s'ha utilitzat com a indicador d'acidèmia



fetal. Entre les 11 i les 13<sup>+6</sup> setmanes de gestació, els fetus amb TN augmentada també mostraven un flux del DV de sang anòmal i estaven associats a aneuploïda. La disfunció cardíaca a estadis primerencs de la gestació, indicada per un flux anòmal del DV, es va suggerir com la causa subjacent que provoca la TN augmentada. Les taxes de detecció d'aneuploïdies amb la utilització del flux del DV varien entre el 59 al 93% amb una taxa de falsos positius entre un 2% a un 21%. En fetus amb el cariotip normal, un patró de flux del DV anormal indica la possible presència de defectes cardíacs o resultat perinatal advers (Borrell, 2004). Així mateix un patró de doppler anòmal del ductus venós ha estat associat amb un risc augmentat de trisomia 21. No obstant, a l'igual que l'os nasal, la dificultat de la mesura del flux del ductus venós limita la seva utilització en la pràctica clínica (Holmgren i col·ls, 2008). Maiz i col·ls, (2009) van descriure que la inclusió del flux del DV a totes les gestants i juntament amb la mesura de la TN i el cribatge bioquímic es podrien detectar el 96% de les trisomies 21, 92% trisomies 18, 100% trisomies 13 i el 100% dels 45,X amb una taxa de falsos positius del 3%.

- **Absència d'os nasal**

Un estudi radiològic realitzat en 105 avortaments de 12 a 25 setmanes de gestació amb trisomia 21 va mostrar que en el 32.4% del casos hi havia una absència de l'ossificació de l'os nasal i en un 21.4% hipoplàsia nasal (Larose i col·ls, 2003). Estudis ecogràfics en fetus de 15 a 24 setmanes de gestació mostraren que aproximadament el 65% del fetus amb trisomia 21 l'os nasal estava absent o era petit (Rosen i col·ls, 2007). La visualització de l'os nasal fetal és possible per ecografia des de les 11 setmanes de gestació fins a 13<sup>+6</sup>. Per a la seva identificació és necessari que el cap i mig tòrax siguin les úniques parts que es visualitzin durant l'examen ecogràfic (Fig.1.7), i que hi hagi una vista mig sagital del perfil fetal i que el transductor ecogràfic estigui paral·lel al angle longitudinal de l'os nasal (Sonek, 2007).



Fig.1.7 Visualització os nasal

A la taula 1.14 es mostra el rendiment en la visualització de l'os nasal. En un 94.3% de les gestants es va poder veure i que en el 65% de les gestacions amb trisomia 21 l'os nasal no era present. Aquest valor probablement estigui sobreestimat ja que aquesta mesura l'han fet

professionals especialitzats de centres de referència i no a nivell poblacional. La visualització d'aquest marcador ecogràfic és més difícil que la mesura de la TN (Rosen i col·ls, 2007).

Estudi/any	Visualització Os nasal	Euploide	Trisomia 21
Otano i col·ls/2002	183/194 (94.3%)	1/175 (0.6%)	3/5 (60%)
Viora i col·ls/2003	1752/1906 (91.9%)	24/1733 (1.4%)	8/10 (80%)
Senat i col·ls/2003	956/1040 (91.9%)	4/944 (0.4%)	3/4 (75%)
Wong i col·ls/2003	119/143 (83.2%)	1/114 (0.9%)	2/3 (66.7%)
Cicero i col·ls/2004	5851/5818 (98.9%)	129/5223 (2.5%)	229/333 (68.8%)
Kelekci i col·ls/2004	600/642 (93.5%)	9/594 (1.5%)	1/2 (50%)
Malone i col·ls/2004	4801/6324 (76%)	21/6311 (0.3%)	0/11 (0%)
Orlandi i col·ls/2005	2411/2411 (100%)	9/2396 (0.4%)	8/15 (53.3%)
Monni i col·ls /2005	16641/16654 (99.9%)	76/16558 (0.5%)	56/96 (58.3%)
<b>Total</b>	<b>33314/35132 (94.3%)</b>	<b>274/34048 (0.8%)</b>	<b>310/479 (65%)</b>

Taula 1.14 Rendiment del cribatge de l'os nasal a primer trimestre (Rosen i col·ls, 2007).

Hi ha estudis que han demostrat l'associació entre absència d'os nasal de les 11 a les 13<sup>+6</sup> setmanes de gestació i altres anomalies cromosòmiques a més de la trisomia 21 (Cicero i col·ls, 2004; Kagan i col·ls, 2009) (Taula 1.15).

Anomalia cromosòmica	Cicero i col·ls %	Kagan i col·ls %
Trisomia 21	68,8	59,8
Trisomia 18	54,8	52,8
Trisomia 13	34,2	45
Triploidia	0	-
45,X	10,9	0
47,XXY, 47,XXX, 47,XYY	5	-
Altres	16,7	-
Total	51,6	-

Taula 1.15. Incidència de l'absència d'os nasal de les 11 a les 13<sup>+6</sup> setmanes de gestació i anomalies cromosòmiques.

La incidència d'absència d'os nasal disminueix amb CRL, augmenta amb el gruix de la TN i és més alta en població de gestants afrocaribenyes que en gestants blanques (Kagan i col·ls, 2009). Aquests factors de confusió s'han de tenir en compte si s'utilitza aquest marcador ecogràfic pel càlcul de probabilitat en el cribatge de trisomia 21.

- **Flux de la vàlvula tricúspide**

La presència de regurgitació tricúspide durant les 11 i les 13<sup>+6</sup> setmanes de gestació determinada per doppler està associada a fetus amb trisomia 21 (Huggon i col·ls, 2003 i Faiola i col·ls, 2005). Per tal d'incloure aquest marcador en la rutina del cribatge d'aneuploidies durant el primer trimestre, Falcon i col·ls (2006) van avaluar la seva reproductibilitat comparant el % de concordança en el seu diagnòstic pels obstetres i pels cardíologs, i van trobar un 88% de concordança. La regurgitació de la tricúspide es troba en menys del 5% del fetus euploides i en el 68% ó 55,7% dels fetus amb trisomia 21, 33% en els fetus amb trisomia 18,30% en els fetus amb trisomia 13 i en el 37,5% dels 45,X (Flood i Malone, 2008; Kagan i col·ls, (2009). En un programa de cribatge tenint en compte l'edat materna, la TN, el cribatge bioquímic prenatal i la regurgitació de la tricúspide es poden assolir taxes de detecció del 91% per la trisomia 21 i del 100% per la trisomia 18 i 13 amb una taxa de falsos positius del 3%.

Una revisió sobre els possibles errors en la interpretació dels marcadors ecogràfics de primer trimestre, mostra que es necessari un cert nivell d'especialització per a una correcta avaluació i també han sorgit algunes dubtes sobre la seva aplicació clínica. La dades que apareixen publicades sobre taxes de detecció provenen de grups amb una alta experiència en aquest camp, i estan representant el límit superior de detecció de cada marcador. Els errors podrien ser deguts a l'incapacitat per a examinar el fetus, en l'apreciació errònia i a una interpretació dels resultats incorrecta. Les variacions en les taxes de detecció són el resultat de les diferències en l'habilitat de l'ecografista, l'equip utilitzat i del moment de la gestació en el que es fa l'examen (Borrell A, 2009).

#### **1.4.5 MARCADORS ECOGRÀFICS D'ANEUPLOÏDIES DE SEGON I TERCER TRIMESTRE**

La detecció de malformacions estructurals, marcadors ecogràfics i retard de creixement intrauterí (RCIU) permet la detecció d'aneuploidies fetals durant el segon i tercer trimestre.

- **Quists de plexes coroides (QPC)**

El plexe coroide és una estructura intracranial que produeix líquid cerebroespinal (Fig.1.8, A) i es una de les estructures que s'observen amb major freqüència durant l'ecografia de segon trimestre associant-se a aneuploidies. L'aneuploidia a la que més s'associa és la trisomia 18, aproximadament un terç dels fetus amb trisomia 18 presenten quist de plexes coroides. L'anàlisi de 748 fetus amb QPC aïllat van mostrar que el risc de trisomia 18 fou de 1 de cada 374 amb un valor predictiu positiu de 1/390, essent aïllat en el 86% dels casos (Gross i col·ls, 1995; Nyberg i col·ls, 1993; Sickler i col·ls, 1997; Morcos i col·ls, 1998). Només es va trobar una anomalia cromosòmica dels autosomes en un cas que tenia QPC aïllat. Un marcador ecogràfic d'aneuploidia és d'utilitat quan es detecta en combinació amb altres anomalies ecogràfiques. Es

per això que la relació entre QPC aïllat i la seva relació entre anomalies cromosòmiques ha estat subjecte de debat continu. Per tant en absència d'altres marcadors ecogràfics o d'un cribatge bioquímic en sèrum matern normal la presència de QPC aïllat no deuria induir a la pràctica d'un test invasiu per l'estudi del cariotip (Holmgren i col·ls, 2008).

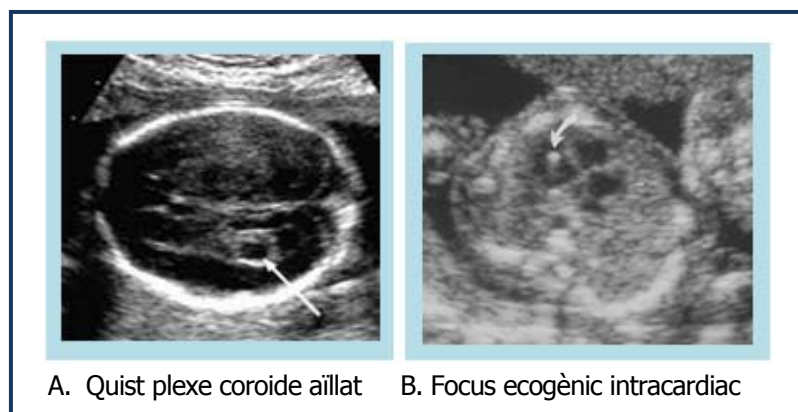


Fig.1.8. Visualització de marcadors ecogràfics

- **Focus ecogènic intracardiàc**

Els DC cardíacs són les malformacions estructurals greus més freqüents al naixement amb una incidència del 8/1000. L'associació amb fetus amb aneuploidies és del 33 al 42%. A diferència d'un defecte cardíac estructural un marcador ecogràfic relativament comú, del 5 al 10%, és el focus intracardiàc. Es defineix com a la calcificació del múscul papil·lar o de les cordes tendínies del cor fetal (Fig.1.8, B) i poden estar localitzats en el ventricle esquerre o dret. En els fetus cromosòmicament normals no hi ha relació evident entre aquest marcador i defectes cardíacs en aquests casos, no es necessària una valoració neonatal en aquests casos (Holmgren i col·ls, 2008). L'associació d'aquest marcador amb aneuploidies es del 39% del avortaments amb trisomia 13 i el 16% amb trisomia 21. Aquest marcador no es considera ni sensible ni específic ja que es troba amb una alta freqüència en fetus normals. És per això que quan aquesta anomalia es presenta de forma aïllada no estaria recomanat una tècnica invasiva (Roberts i Genest, 1992).

- **Intestí hiperecogènic**

L'intestí hiperecogènic s'observa en l'intestí prim, i apareix amb una ecogenicitat igual a la d'un os quan es detecta en el segon trimestre (Fig 1.9.A). A l'hora es produeix una pèrdua de l'imatge fetal i de la ecogenicitat essent un marcador molt subjectiu i mostra una gran dificultat de ser diferenciat de la normalitat. Aquest marcador s'ha relacionat amb altres tipus de DC com ili meconial, peritonitis i malrotació o obstrucció intestinal, i digestió de sang intramniòtica. També s'ha relacionat amb fibrosi quística, infeccions per citomegalovirus, RCIU i aneuploidies (Shipp i col·ls, 2000). S'ha descrit una associació d'aquest marcador ecogràfic i aneuploidies en el

21.8% dels casos (Sepulveda i Sebire, 2000). Davant el seu diagnòstic prenatal s'aconsella incloure una detallada història de sagnat, trauma, història familiar de fibrosi quística i d'una avaluació d'infeccions maternes. S'aconsella realitzar estudis de fibrosi quística, de citomegalovirus i un cariotip fetal (Holmgren i col·ls, 2008).

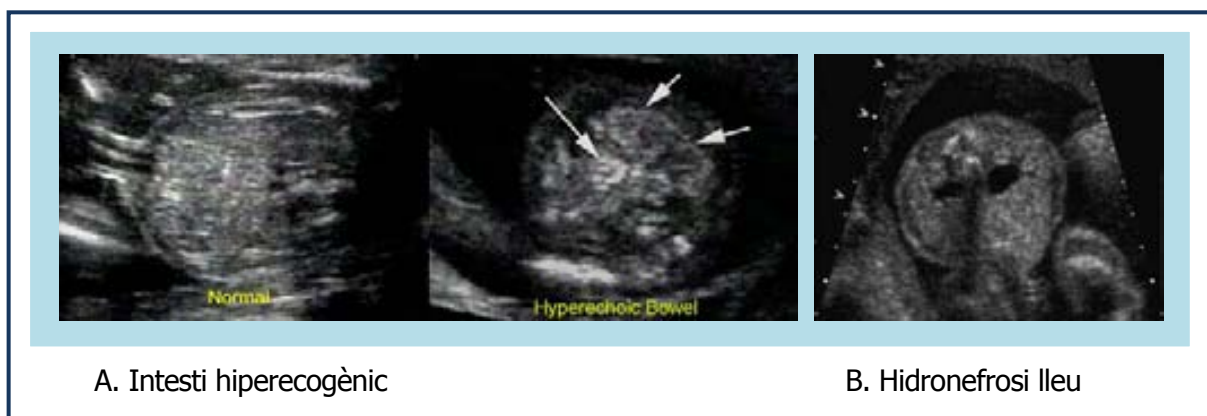


Fig.1.9. Visualització de marcadors ecogràfics

- **Hidronefrosi lleu**

Les troballes ecogràfiques renals estan associades amb les aneuploidies. No obstant les hidronefrosis lleus, també anomenades pielectàsies o ectàsia pièlica, es una troballa freqüent durant l'ecografia del segon trimestre, que s'associa amb la trisomia 21 (Wickstrom i col·ls, 1996). Entre el 17% al 25% dels fetus amb trisomia 21 presenten hidronefrosi lleus prenatalment, comparat amb el 2-3% dels fetus amb cariotip normal. Es defineix hidronefrosi quan es veu un espai esfèric o el·líptic i hipoecoic dins de la pelvis renal d'una mida  $\geq 4\text{mm}$  (DeVore, 2001) i es mesura en el pla antero-posterior quan els ronyons es visualitzen en un pla transversal en l'abdomen (Fig.1.9.B). A l'igual que altres marcadors ecogràfics prenatals la sensibilitat i especificitat com a troballa ecogràfica aïllada no son bones i per tant aïlladament no s'utilitza com a marcador d'aneuploidies (Holmgren i col·ls, 2008).

- **Angle frontomaxil·lar**

L'angle frontomaxil·lar anòmal ha estat avaluat en un intent d'incorporar les característiques fenotípiques de la trisomia 21 com és el perfil pla dins els protocols diagnòstics. Es va observar que en la majoria de fetus amb trisomia 21 aquest angle estava augmentat en relació al fetus euploides (Sonek i col·ls, 2007; Molina i col·ls, 2008). Per altra banda la combinació de l'angle frontomaxil·lar i l'os nasal a segon trimestre ha mostrat que augmenta mínimament la detecció de trisomia 21 (Odibo i col·ls (2009).



## 1.5 OBJECTIUS

L' **objectiu general** és avaluar les alteracions cromosòmiques en una sèrie pèrdues gestacionals (nounats morts avantpart, postpart i interrupcions voluntàries de l'embaràs) i de diagnòstic prenatal i les seves repercussions fenotípiques.

### Objectius concrets:

1. En la sèrie de pèrdues gestacionals:
  - 1.1 Posada en marxa i optimització de la tècnica de cultiu cel·lular.
  - 1.2 Establir la freqüència de les alteracions cromosòmiques.
  - 1.3 Valorar la concordança entre el cariotip prenatal i postnatal.
  
2. A partir de la sèrie de diagnòstic prenatal de 19 registres de DC poblacionals europeus:
  - 2.1 Determinar la taxa de detecció de DC en les aneuploidies més freqüents mitjançant el cribatge per l'ecografia.
  - 2.2 Estudi de les anomalies autosòmiques rares i correlació entre anomalia cromosòmica i troballa ecogràfica.
  - 2.3 Valorar les característiques clínico-genètiques prenatales d'una sèrie de síndrome de Turner.





## 2. MATERIAL I MÈTODE



## 2.1. ESTUDI CITOGENÈTIC DE PÈRDUES GESTACIONALS

### 2.1.1 Material biològic

S'han analitzat un total de 237 pèrdues gestacionals provinents del Consorci Hospitalari del Parc Taulí i del Hospital de Terrassa. Les edats gestacionals del fetus foren entre la 16 i la 40 setmana de gestació.

#### Definicions:

Avortament espontani: És la interrupció de l'embaràs abans de la vintena setmana de gestació o quan el fetus presenta un pes inferior a 500g de pes.

Mort fetal intrauterina: És la mort fetal després de la setmana 20 de gestació o quan el fetus presenta un pes superior a 500g de pes. En anglès correspon al terme stillbirth.

Mort fetal postpart: És la mort fetal després de la setmana 20 de gestació d'un fetus que neix viu.

Interrupció voluntària de l'embaràs: És la interrupció de l'embaràs provocada medicament en aquells casos deguts a la detecció prenatal d'una o més malformacions, d'un cariotip anòmal o per causes maternes. En anglès correspon al terme induced abortion (IA) o termination of pregnancy (TOP).

**Pèrdua gestacional:** Inclou l'avortament espontani, mort fetal intrauterina, mort fetal postpart i IVE.

Les pèrdues gestacionals s'han classificat en diferents tipus segon quan es produïa la interrupció:

- 130 Obits fetals
- 97 IVEs
- 10 Morts postnatales

En tots els casos es va cultivar teixit cartilaginós provinent de la unió condrocòstica i teixit de placenta de la cara fetal. La mostra de placenta era recollida en un pot estèril amb sèrum fisiològic immediatament després de la seva evacuació i era transmesa al laboratori de Citogenètica. El cartílag fetal s'obtenia en el moment en que el patòleg iniciava l'estudi necròpsic fetal en un tub estèril amb medi MEM amb les màximes condicions d'esterilitat.

Quan a les IVEs es va realitzar l'estudi citogenètic en aquells casos on el motiu d'interrupció fou per una malformació fetal o per anomalia citogenètica detectades prenatalment.

### 2.1.2. Material de laboratori

Aparells	Material fungible
Agitador (Heidolph)	Agulla bisturí
Balança de precisió (Cobos)	Agulles i xeringa de 1 mL i 10mL estèrils
Bany a 37° C (Grant)	Flascó de cultiu de 25cm <sup>2</sup> (Corning)
Cambra flux laminar vertical (Telstar)	Guants de làtex estèrils
Centrífuga (MLw)	Plaques de Petri estèrils de 35x10mm (Corning)
Congelador (Zanussi)	Portaobjectes
Estufa (Haeraeus)	Pipetes Pasteur
Incubador CO <sub>2</sub> (Forma Scientific)	Tubs de 10mL fons cònic estèrils
Lupa binocular (Zeiss)	
Microscopi invertit (Zeiss)	
Microscopi òptic (Zeiss)	
Nevera (Comersa)	

### 2.1.3 Productes i solucions

#### Medi de transport i neteja de la mostra

- MEM (Gibco)
- Penicil·lina/Streptomicina (Gibco) al 1%

#### Medis i solucions utilitzats en el processament de la mostra

- Àcid acètic glacial (Merck)
- Amniomax (Gibco)
- Buffer Sørensen
- Col·lagenasa tipus IV (Sigma)
- Colcemid (Gibco)
- Colorant Wright (Sigma)
- HBSS (Gibco)
- KCl (Merck)
- Metanol (Merck)
- Penicil·lina/Streptomicina (Gibco)
- Tripsina-EDTA (Gibco)
- RPMI (Gibco)

- Sèrum fetal boví (Gibco)
- DMSO

## 2.1.4. Metodologia

### 2.1.4.1. Processament i cultiu de placenta

1. Sota la cambra de flux laminar i amb l'ajuda de dues agulles de xeringa estèrils s'agafen uns 15mg de placenta i es col·loquen en una càpsula de Petri amb medi MEM i amb unes 3-4 gotes d'antibiòtic.
2. Seguidament es passa a fer l'observació a la lupa binocular per separar els coalls de sang i les restes de material matern.
3. Es fan 2-3 rentats amb MEM i antibiòtic per intentar evitar contaminacions posteriors. En el darrer rentat es dissecciona la placenta fent-ne bocinets el més petit possible amb les agulles.
4. Una mostra de placenta es congela a  $-80^{\circ}\text{C}$ , en un medi de cultiu que conté 8mL RPMI, 1mL DMSO, 1mL sèrum fetal boví, 0.1mL P/S, per a l'obtenció de DNA i poder realitzar estudis genètics.
5. Amb una pipeta Pasteur estèril s'agafen els fragments de placenta i es situen a la superfície del flascó de cultiu. Es dipositen entre 12-15 esplants. S'afegeix 3 mL de medi Amniomax complementat amb penicil·lina-estreptomicina al 1%. Es col·loca a l'estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  al 5%  $\text{CO}_2$  i es deixa durant 3 hores en posició vertical. Transcorregut aquest temps els esplants ja s'han adherit a la superfície del flascó i acuradament es situa en posició horitzontal.
6. Al cinquè dia es comprova, al microscopi invertit, si hi ha fibroblastes al voltant dels esplants. Si s'observa creixement cel·lular es canvia el medi de cultiu tres cops per setmana per estimular el creixement.
7. Quan s'observa un nombre de cèl·lules en divisió suficient en 3-4 esplants es realitzen subcultius a partir d'aquest cultiu primari.

### Subcultius

- Es treu el medi de cultiu i es posa en un tub de 10mL estèril.
- Es renta la superfície on estan enganxades les cèl·lules amb solució salina HBSS lliure de magnesi i calci. Es deixa uns 20 segons i es llença.
- Es col·loca 2mL de tripsina-EDTA a 37°C i es deixa actuar durant 10' a 37°C.
- Passat aquest temps s'observa, sota el microscopi invertit, si les cèl·lules s'han desenganxat de la base del flascó.
- S'aboca el medi de cultiu guardat en el tub de 10mL per aturar l'acció enzimàtica de la tripsina.
- Depenent de la quantitat de cèl·lules que hi hagi, es sembra en el mateix flascó o es reparteix en dos flascons, en el cas de que hagin moltes cèl·lules.

#### **2.1.4.2. Processament i cultiu de cartílag**

1. Un cop es rep la mostra de teixit cartilaginós fetal es diposita la mostra en una càpsula de Petri estèril i s'afegeix medi MEM amb 3-4 gotes d'antibiòtic. Amb l'ajut d'una agulla de bisturí estèril es treu el teixit connectiu que l'envolta.
2. Es fan bocinets el més petits possible amb l'agulla de bisturí i realitzem 3-4 rentats amb medi MEM afegint unes 4-5 gotes d'antibiòtic.
3. Es traspassen els bocinets de cartílag a un tub estèril cònic de 10mL i s'afegeix 2mL de tripsina-EDTA (1X). S'incuba a 37°C i al 5% CO<sub>2</sub> durant 45'. Durant aquest temps s'agita la mostra amb els dits 2-3 vegades. Passat aquest temps es centrifuga a 1500rpm durant 10'.
4. S'elimina el sobrenedant i s'afegeix 2mL de col·lagenasa a una concentració de 4mg/mL. S'incuba la mostra durant 2 hores a 37°C i al 5% CO<sub>2</sub>. Transcorregut aquest temps es centrifuga a 1500rpm durant 10'. S'elimina el sobrenedant i es resupen el pellet amb 6mL d'amniomax complementat al 1% amb antibiòtic. Es pipeteja per homogeneïtzar la suspensió cel·lular i es reparteix en dos flascons de cultiu.
5. Entre el tercer i el cinquè dia es comprova al microscopi invertit si hi ha fibroblastes adherits a la superfície. Si s'observa creixement cel·lular es canvia el medi de cultiu tres cops per setmana per estimular el creixement.

6. Quan s'observa un nombre de mitosis suficients al llarg de la superfície del flascó es procedirà a l'extracció del cultiu.

#### 2.1.4.3. Extracció del cultiu i obtenció de preparacions cromosòmiques

- Generalment es procedeix a l'extracció del cultiu entre 7-15 dies des del inici del cultiu.
- El dia abans de treure el cultiu es canvia el medi de cultiu per estimular la divisió cel·lular.
- S'afegeix 0,3mL de colcemid (10µg/mL) i es deixa actuar durant 3-4 hores.
- Es procedeix a desenganxar les cèl·lules de la superfície del flascó de la mateixa manera que la descrita a l'apartat 2.2.4.1 en el paràgraf del subcultiu.
- Després d'observar al microscopi invertit que les cèl·lules estan desenganxades i inactives amb el medi es traspasa la suspensió cel·lular a un tub de 10mL i es centrifuga a 1500rpm durant 10'.
- S'aspira el sobrenedant i s'afegeix l'hipòtonic KCL 0.075M gota a gota fins un volum de 7 mL. Es pipeteja i es deixa actuar durant 35' a un bany a 37°C . S'agita cada 5-10' amb pipeta Pasteur.
- Passat aquest temps es centrifuga a 1500rpm durant 10'. S'afegeix fixador Carnoy (metanol:a.acètic 3:1) gota a gota fins un volum de 7 mL. Es reparteix aquest pas dos vegades més.
- S'eixuguen uns portaobjectes desengrasats i guardats a -20°C amb paper de cel·lulosa. Es fa una extensió deixant caure 3-4 gotes de la suspensió cel·lular a una alçada de 0,5m. Es deixa assecar a l'aire.
- Es comprova la concentració cel·lular així com l'aspecte de les metafases al microscopi invertit. Si hi ha poc material es concentra centrifugant de nou o bé es tira més gotes en el portaobjectes. Si hi ha molt material s'afegeix una mica de fixador per diluir.
- Es fan unes 5-7 preparacions de cada cas.
- S'envelleixen les preparacions a 65 °C durant 24h.
- S'aplica la tècnica de Bandes G, incubant el portaobjecte en 2xSSC a 65 °C durant 3'. Es renta amb aigua de l'aixeta i s'asseca amb paper de filtre. Es tenyeix amb colorant Wright (Buffer Sörensen:Wright, 3:1) durant 3'. Es renta amb aigua de l'aixeta. S'asseca amb paper de filtre.

#### **2.1.4.4. Anàlisi de les preparacions cromosòmiques**

L'anàlisi de les preparacions es fa al microscopi òptic. S'estudien un total de 20 metafases, i la fórmula cromosòmica s'escriu d'acord a les normes descrites a International System for Human Genetic Nomenclature (ISCN, 1995).

Es defineix clona quan almenys dues metafases mostren la mateixa anomalia estructural o quan dues o més metafases mostren la mateixa anomalia numèrica (tres cèl·lules per una monosomia i dues cèl·lules per una trisomia).

S'ha realitzat l'estudi citogenètic del pares quan s'ha detectat una anomalia estructural per tal d'oferir un consell genètic més acurat.

Es defineix errada de cultiu quan no s'observa creixement cel·lular per realitzar el cariotip després que s'hagi mantingut el cultiu durant 4 setmanes.



## **2.2 CRIBATGE PER ECOGRAFIA PER A LA DETECCIÓ D'ALTERACIONS CROMOSÒMIQUES.**

### **2.2.1 Grup d'estudi EUROSCAN**

L'estudi EUROSCAN va sorgir a partir d'un projecte BIOMED titulat "Evaluation of prenatal diagnosis of congenital anomalies by fetal ultrasonographic examination" (BIOMED 2 Concerted action BM H4-CT96-0539). Aquest grup es va crear per dur a terme un estudi de 19 registres de defectes congènits d'Europa amb la finalitat d'avaluar la utilitat de l'ecografia prenatal per al cribatge de defectes congènits en població general.

#### **2.2.1.1 Població d'estudi**

EUROSCAN compren 19 registres de defectes congènits de 11 països europeus, setze dels quals pertanyen al registre europeu EUROCAT i fan servir la metodologia d'EUROCAT (Clementi i Stoll, 2001). Tots el registres són de base poblacional. La interrupció voluntària de l'embaràs (IVE) després d'un diagnòstic prenatal de defecte congènit és possible durant el segon trimestre (22-24 setmanes de gestació) en tots els registres excepte a França i Alemanya on es poden realitzar durant tota la gestació. El diagnòstic prenatal ecogràfic de defectes congènits es dona de forma rutinària a tots els països amb l'excepció de Dinamarca i Holanda.

La població d'estudi compren tots el recent nascuts vius i morts i IVEs diagnosticats amb un DC durant el període comprès entre 1-7-1996 fins 31-12-1998. La població inclou un total de 664.340 naixements d'aquests 7.758 casos presentaven algun defecte congènit i 1.738 una anomalia cromosòmica.

#### **2.2.1.2 Definició de cas**

Aquest estudi inclou tots els recents nascuts vius o morts i IVEs amb al menys un defecte congènit definit com aquella malformació estructural detectable per ecografia prenatal i diagnosticada prenatalment o fins el setè primers dies de vida.

### **2.2.2. Recollida de les dades**

#### **2.2.2.1 Qüestionari**

La recollida d'informació en el qüestionari està estructurada en cinc nivells diferents (Fig.2.1):

- En la primera part les variables seleccionades fan referència a la identificació del cas, edat gestacional, edat materna, pes i sexe.
- La segona part està constituïda per preguntes que fan referència al diagnòstic prenatal per ecografia.
- A la tercera i quarta part del qüestionari es recull la informació referent a la sospita i confirmació diagnòstica de la malformació.
- En la cinquena part del qüestionari es recull totes les anomalies diagnosticades a la finalització de l'embaràs (recent nascut viu o mort, IVE i mort intraúter) i informació relacionada amb el cas com el cariotip, estudi necròptic o altres tipus d'estudis.

### **2.2.3. Elaboració de les dades i anàlisi estadístic**

#### **2.2.3.1 Codificació**

Un cop obtingudes les enquestes, els defectes congènits són codificats tenint en compte l'International Classification of Diseases (ICD-9).

Aquestes dades s'introdueixen a l'ordinador, utilitzant el programa de bases de dades ACCESS 97 (microsoft Corporation, Redmon, WA, USA), en una base de dades prèviament dissenyada. La privacitat de les dades està garantida utilitzant un únic identificador (ID) per a cada centre participant i per a cada cas.

Un cop introduïdes les dades, s'envien al centre coordinador a Pàdova on s'analitzen i atenent a l'òrgan/tipus de malformació s'establiren subgrups de treball. Cada subgrup treballa independentment amb les seves malformacions, síndromes o cromosomopaties.

No ha estat possible calcular la proporció de falsos positius donat que els registres participants només tenien els casos amb malformació i no es feia un seguiment dels casos amb malformació diagnosticats prenatalment i que finalitzaven la gestació com a nadons normals.

#### **2.2.3.2 Anàlisi estadística**

Per analitzar les dades s'ha utilitzat un ordinador PC del Consorci Hospitalari del Parc Taulí. El software utilitzat per l'elaboració dels resultats ha estat el programa SPSS/PC+.

A les dades obtingudes se'ls ha aplicat la prova estadística de  $X^2$ . S'ha calculat el

coeficient de regressió amb intervals de confiança per conèixer si existeixen diferències significatives.

**ULTRASOUND EXAMINATION FORM**  
(one form has to be filled in for each child with-by ultrasound detectable-malformation)

**I) REGISTRY:** \_\_\_\_\_

Local ID number: \_\_\_\_\_

Multiple birth: yes  No  If yes DZ  MZ  Not known (Nk)

Male  Female  Maternal age \_\_\_\_\_

Date of L.M.P. \_\_\_\_\_

Planned date of delivery \_\_\_\_\_

IUGR: yes  No  Nk

Gest. age at birth (weeks): \_\_\_\_\_

Birth weight (grams): \_\_\_\_\_

Sex: M  F  NK

Monozygotic twins: Yes  No  Nk

**II) PRENATAL DIAGNOSIS BY ULTRASOUND** Yes  No  If No, please go to last page

Number of ultrasound examination without abnormal findings: \_\_\_\_\_

Total nb of US Routine US: Yes  No

Examinations, no abnormal findings

Date _____	GA _____
Date _____	GA _____
Date _____	GA _____
Date _____	GA _____
Date _____	GA _____
Date _____	GA _____

**III) FIRST SUSPICION OF ANOMALY**

Date of ultrasound examination: \_\_\_\_\_

Gest. age (weeks): \_\_\_\_\_

Transabdominal ultrasound  Vaginal ultrasound  Both types

Level of diagnosis Setting: ambulatory  referral unit

Echographer: non-specialised  specialised

Equipment: basic  high resolution

Findings	EUROCAT coding
1 _____	_____
2 _____	_____
3 _____	_____
4 _____	_____
5 _____	_____
6 _____	_____

Fig.2.1. Qüestionari recollida dades.

**IV) 1.- FIRST CONFIRMATION OF ANOMALY**

Date of ultrasound examination: \_\_\_\_\_ Gest. age (weeks): \_\_\_\_\_

Transabdominal ultrasound  Vaginal ultrasound  Both types

Level of diagnosis Setting: ambulatory  referral unit

Echographer: non-specialised  specialised

Equipment: basic  high resolution

Findings

1 \_\_\_\_\_

2 \_\_\_\_\_

3 \_\_\_\_\_

4 \_\_\_\_\_

5 \_\_\_\_\_

6 \_\_\_\_\_

Identical diagnosis: yes  No  Nk

Amniotic fluid: normal  oligohydramnios  polyhydramnios  Nk

Placental structure: normal  pathological  Nk

**2.- MEASUREMENTS:** Yes  No

Head circumference (cm): \_\_\_\_\_

Abdominal circumference (cm): \_\_\_\_\_

Femur length (cm): \_\_\_\_\_

Tibia length (cm): \_\_\_\_\_

**3.- DIAGNOSIS BASED ON US FINDINGS LEADS TO TERMINATION OF PREGNANCY:** Yes  No  Gest age of termination \_\_\_\_\_

Findings

1 \_\_\_\_\_

2 \_\_\_\_\_

3 \_\_\_\_\_

4 \_\_\_\_\_

5 \_\_\_\_\_

6 \_\_\_\_\_

Identical diagnosis: yes  No  Nk

**V) ANOMALIES AT TOP/LIVEBIRTH/STILLBIRT/NEONATAL DEATH**

1 \_\_\_\_\_

2 \_\_\_\_\_

3 \_\_\_\_\_

4 \_\_\_\_\_

5 \_\_\_\_\_

6 \_\_\_\_\_

Physical examination yes  No  Nk

Pathological examination yes  No  Nk

Other (specify) \_\_\_\_\_

Karyotype yes  No  Result \_\_\_\_\_

Fig.2.1. Qüestionari recollida dades (continuació).

<b>VISUALISE</b>	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	Nk <input type="checkbox"/>			
Skull shape				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Intracranial anatomy (ventricles, cerebellum)				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Spine (longitudinal and transverse views)				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Four chamber view of heart				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Thorax (heart-lung-ration, positions)				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Diaphragm				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Stomach bubble				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Anterior abdominal wall and cord insertion				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Kidneys and bladder				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Four limbs				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Facial profile				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Cystic hygrome				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>
Sacrococcygeal regions				normal <input type="checkbox"/>	pathological <input type="checkbox"/>	not done <input type="checkbox"/>

Fig.2.1. Qüestionari recollida dades (continuació).



### 3. RESULTATS

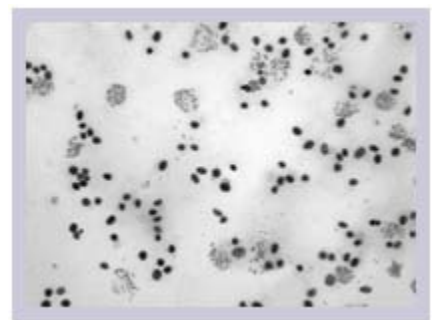




### 3.1 ARTICLE N°1

**Títol:** Fetal and placenta chromosome constitution in 237 pregnancy losses.

**Revista:** Ann Genet 2001,44: 83-88.



## Fetal and placenta chromosome constitution in 237 pregnancy losses

Neus Baena<sup>a\*</sup>, Miriam Guitart<sup>a</sup>, Joan Carles Ferreres<sup>b</sup>, Elisabet Gabau<sup>c</sup>, Manuel Corona<sup>d</sup>,  
Francisco Mellado<sup>d</sup>, Josep Egozcue<sup>c</sup>, Maria Rosa Caballín<sup>f</sup>

<sup>a</sup> Service of Genetics' Laboratory, Corporació Sanitària Parc Taulí, Laboratori Genètica, Parc Taulí, s/n, 08208 Sabadell, Spain

<sup>b</sup> Service of Pathology, Corporació Sanitària Parc Taulí, Laboratori Genètica, Parc Taulí, s/n, 08208 Sabadell, Spain

<sup>c</sup> Service of Pediatrics, Corporació Sanitària Parc Taulí, Laboratori Genètica, Parc Taulí, s/n, 08208 Sabadell, Spain

<sup>d</sup> Service of Obstetrics and Gynecology, Corporació Sanitària Parc Taulí, Laboratori Genètica, Parc Taulí, s/n, 08208 Sabadell, Spain

<sup>e</sup> Department of Biologia Cel·lular i Fisiologia, Edifici C, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain

<sup>f</sup> Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain

Received 27 November 2000; accepted 7 March 2001

**Abstract** – The aim of the study was to carry out cytogenetic analyses in pregnancy losses. Samples of cartilage and placenta tissue were obtained prospectively from 237 pregnancy losses of more than 16 weeks of gestation (130 stillbirths, 97 induced abortions and 10 early neonatal deaths). Cartilage culture was performed in 222 samples and placental culture was initiated in 224. The overall culture success rate was 83.5%, 72.3% in stillbirths, 97% in induced abortions and 100% in early neonatal death. An abnormal karyotype was detected in 52 cases: 6.9% in stillbirths, 43.6% in induced abortions and 20% in early neonatal deaths. The rate of discrepancy between the prenatal cytogenetic results in amniotic fluid and the post-termination karyotype was 3%. The tissue of choice for cytogenetic analysis was cartilage in induced abortions and early neonatal death, and placenta in stillbirth. The majority of cases had a chromosome abnormality: multiple congenital anomalies in 74.6%, and a single major anomaly in 9.7%. © 2001 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

stillbirth / induced abortion / neonatal death / cartilage and placenta cell culture / genetic counselling

### 1. Introduction

It has been estimated that between 30% and 60% of all human conceptions fail to complete their intrauterine development [1–3], and that over 60% are cytogenetically abnormal [4–8]. In stillbirths and early neonatal deaths, chromosome abnormalities are present in 6% of cases; this incidence increases when macerated and multiple malformed stillbirths are selected [9–12]. Cytogenetic investigation of spontaneous pregnancy losses provides the basic information for accurate genetic counselling.

Karyotype success rate for specimen types has been reported to be 41% in stillbirths, but 87% in neonatal deaths [13], and chromosome results are low in macerated stillbirths. A high failure rate of postmortem karyotyping (27%) has been described in abortions induced due to fetal abnormalities [14].

Placenta and fetal membranes are an useful source of viable fetal cells for culture, because these cells

may survive for days or weeks after fetal death [15]. However confined placental mosaicism cannot be excluded if only these extraembryonic tissues are analyzed. Samples of skin, lung, kidney, or muscle tend to be the preferred culture sources. Human cartilage has also been used for cytogenetic studies in stillbirths, fetuses and dead infants [16].

The present study describes the results of cytogenetic analyses of cartilage and placental cultures in a series of 237 pregnancy losses.

### 2. Material and methods

From January 1993 through May 1999, a total of 237 consecutive samples obtained from pregnancy losses (130 stillbirths from 16 to 40 weeks of gestation, 97 induced abortions and 10 early neonatal deaths) were collected from the Registry of Birth Defects in the Vallès area (Barcelona) for chromosomal study.

\* Correspondence and reprints.  
E-mail address: nbaena@cspit.es (N. Baena).

**Table I.** Indications for induced abortions.

Indications of induced abortions	N° of cases
Abnormal karyotype	39
Ultrasound detection of one malformation	39
Ultrasound detection of two or more malformation	19
Total	97

To define our terms, a stillbirth was a fetus that died after 16 weeks of gestation, early neonatal death referred to a baby dying within 8 days of birth, and induced abortions were due to an abnormal karyotype and ultrasound detection of one or more malformations (*table I*). Pregnancy loss thus comprised stillbirths, early neonatal deaths and induced abortions.

Samples included placenta and cartilage. Placental samples (224 cases) in saline solution were sent to the cytogenetic laboratory immediately after pregnancy termination. Prior to autopsy, cartilage samples (222 cases) from the chondrocostal junction were obtained in aseptic conditions and transferred to sterile tubes containing MEM medium. Cartilage could not be obtained in 15 cases because the fetuses had been frozen, fixed in formol, or were very small. Placental samples were not obtained in the 10 early neonatal deaths, two stillbirths and one induced abortion.

Placenta was cut into small fragments and explants were set up in flasks. Cultures of placental villus mesodermal core cells were performed. Subculturing and harvesting were carried out using standard methods. A sample of placenta was frozen at -80 °C for future investigations such as DNA analysis and Comparative Genomic Hybridization on uncultured materials.

The procedure for cartilage culture was as follows. The tissue sample was rinsed in 3–4 changes of MEM (Gibco, UK) supplemented with 1% penicillin and streptomycin (Gibco,UK) and was cut into small pieces. The pieces were then transferred to a sterile tube containing 2ml trypsin-EDTA (1X) (Gibco,UK)

and incubated in 5% CO<sub>2</sub> for 40 minutes at 37 °C. The suspension was shaken 2–3 times by placing it vertically. The cell suspension was centrifuged at 1500 rpm for 10 minutes. The supernatant was removed and cells were suspended in 2 ml of a type II collagenase solution (4mg/ml) (Sigma, USA) and incubated for 2 hours at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub>. It was then centrifuged at 1500 rpm for 10 minutes. The supernatant was resuspended in Amniomax (Gibco,UK) or Chang medium (Irvine Scientific, USA). The suspension was transferred into two culture flasks and incubated at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. Harvesting was performed in the standard way. Metaphases were analyzed routinely with G-banding. Twenty metaphases were karyotyped and described according to the International System for Human Genetic Nomenclature. A clone was considered when at least two metaphases showed the same structural abnormality, or when three or more showed the same numerical abnormality. Prenatal karyotypes were performed when a structural abnormality was detected, for the purpose of genetic counselling. Culture failure was defined as no cell growth or insufficient cell growth for karyotyping after cultures were maintained for four weeks.

### 3. Results

From the total 237 pregnancy losses, the overall karyotype success rate was 83.5% (198 cases). Cartilage culture was performed in 222 samples and the karyotype success rate was 59% (131 cases). The highest success rates were obtained in early neonatal deaths (100%) and in induced abortions (93.7%) (*table II*). In stillbirths, 72.3% of cases were karyotyped. Placental culture was performed in 224 samples with a karyotype success rate of 73.7% (165 cases). In induced abortions similar success rates were obtained in placenta and cartilage (84.4% vs 93.7%). In stillbirths, a higher success rate was obtained in placenta (65.6% vs 27.3% in cartilage) (*table I*). In the 43% of stillbirths (49 of 114) in which cartilage did

**Table II.** Cartilage and placental karyotype success culture rates by type of pregnancy loss.

Type of pregnancy loss	Cartilage			Placenta			Total		
	N°	Success	(%)	N°	Success	(%)	N°	Success	(%)
Stillbirth	117	32	(27.3)	128	84	(65.6)	130	94	(72.3)
Induced abortion	95	89	(93.7)	96	81	(84.4)	97	94	(97)
Early neonatal death	10	10	(100)	0	-	-	10	10	(100)
Total	222	131	(59)	224	165	(73.7)	237	198	(83.5)

**Table III.** Karyotype and necropsy results.

Karyotype	Number of cases			Necropsy results
	Cartilage (%)	Placenta (%)	Total (%)	
Normal				
46, XY	44	50	71	N/S <sup>1</sup> /MCA <sup>2</sup>
46, XX	48	72	75	N/S <sup>1</sup> /MCA <sup>4</sup>
Subtotal	92 (70.2)	122 (74)	146 (73.7)	
Abnormal				
- Trisomies				
47, XY,+21	4	3	5	MCA
47, XX,+21	9	10	11	MCA
47, XY,+18	1	1	2	MCA
47, XX,+18	4	3	4	MCA
47, XY,+13	2	-	2	MCA
47, XX,+13	1	1	1	MCA
46, XX/47, XX,+21	1	1	1	MCA
46, XY/47, XY,+13	1	1	1	MCA
46, XX/47, XX,+8	1	-	1	S
- Monosomy				
46, XY/45, XY,-21	1	1	1	MCA
- Structural anomalies				
46, XX,der(9)t(9:13)(p22;q22)mat	1	1	1	MCA
46, XX,t(14:21)(q10;q10),+21mat	1	1	1	MCA
46, XY,inv(12)(p11q23)pat	1	1	1	MCA
46, XY,del(11)(q13q21) de novo	1	1	1	MCA
46, XY,t(5;20)(q35;p13) <sup>6</sup>	1	1	1	MCA
- Polyploidies	2	8	8	MCA
- Gonosomal aneuploidies				
45, X	2	4	5	N/S <sup>3</sup>
47, XXX	1	1	1	S
47, YYY	1	1	1	N
46, XX/47, XXX	1	1	1	N
47, XXY	1	1	1	N
46, XY/47, XXY	1	1	1	N
Subtotal	39 (29.8)	43 (26)	52 (26.3)	
Total	131	165	198	

N : morphologically normal fetus, S : single malformation, MCA : multiple congenital abnormalities affecting at least two different system. (1) A single malformation was detected in 14 cases. (2) 9 cases were multiple abnormalities. (3) A single malformation was present in 24 cases. (4) 5 cases were multiple abnormalities. (5) A single malformation was present in 2 cases. (6) Parental karyotype not performed.

not grow, the karyotype was obtained from placenta. In 56.2% of macerated stillbirths (grades III-IV; 18/32) both cartilage and placental cultures failed. Karyotype was obtained in only seven macerated stillbirths (grades III-IV), in four cases from placenta, in two cases from placenta and cartilage and in one case from cartilage.

With the cartilage culture method, the mean time from culture to harvesting was 6 days. The mitotic index was high (4-7 metaphases/field), mainly in the cases with a short culture time; well-spread mitoses were frequently observed. In placenta the mean time from culture to harvesting was 2-3 weeks. No discrepancies were observed in karyotypes obtained from placenta and cartilage (185 cases).

Of the 198 samples successfully karyotyped, 52 cases (26.3%) had chromosome abnormalities: 28 autosomal trisomies, one autosomal monosomy, five autosomal structural reorganizations (3 unbalanced and 2 apparently balanced), eight polyploidies and 10 cases of sex chromosome aneuploidies (table III).

In 130 stillbirths, nine (6.9%) chromosome abnormalities were found: three cases of 45,X, five triploidies, and one Down syndrome. These cases were only diagnosed in placental tissue, either because the cartilage did not grow or because of the absence of a fetus (four cases of diandric triploidy).

In all induced abortions an abnormal karyotype was detected in 43.6% (41 out 94). In abortions induced because of ultrasonographic detection of malforma-

tions and without previous karyotype, seven chromosomal abnormalities were detected: 47,XXX in an anencephalic fetus, 47,XX,+21 in a fetus with hydrops fetalis, 46,XY/47,XY,+13 in a fetus with multiple abnormalities, 45,X in a fetus with hydrops fetalis, 46,XY/92,XXYY in a case of oligoamnios, 46,XX/47,XX,+8 in a fetus with congenital heart defect 46,XY/45,XY,-21 in a fetus with multiple renal defects.

The karyotype were confirmed in all abortions induced as a result of the detection of an abnormal karyotype or ultrasound detection of malformation, but three discrepancies (3%) were detected: one case of mosaicism 46,XX/47,XXX diagnosed as 47,XXX in amniotic fluid, and a 46,XX/47,XX,+8 and a 46,XY/45,XY,-21 with normal prenatal karyotypes.

In early neonatal deaths (10 cases) two chromosomal abnormalities (20%) were observed: one 47,XY,+13 and one 47,XX,+18. In these cases, ambulatory prenatal ultrasound failed to detect malformations.

Necropsy was performed in all cases. The correlation between karyotype and phenotype is shown in table III. Among 41 cases with a single malformation, four (9.7%) had chromosomal abnormalities (one 47,XXX, two 45,X and one 46,XX/47,XX,+8). A chromosomal abnormality was found in 42 out of 55 cases of multiple abnormalities cases (76.4%).

#### 4. Discussion

The results of the study provide evidence of the usefulness and feasibility of the combined cartilage and placental culture method for karyotyping pregnancy losses. As expected, more technical difficulties were found in stillbirths than in early neonatal deaths or induced abortions (table II). To obtain cytogenetic results from macerated stillbirths is particularly difficult. In our study, the karyotype was obtained in 49 of these cases (43%) from placental cultures only, because the cartilage culture failed. The tissue of choice in stillbirths is the placenta, because it is often a highly successful source of viable fetal cells surviving for days or weeks after fetal death [15, 17]. Even though confined placental mosaicism was described, no discrepancies were observed in karyotypes obtained from cartilage and placenta.

Cartilage cultures have not been widely used for cytogenetics studies. A cartilage culture method using explants was described by Chen [18], and other authors [16, 19] modified this procedure using a cartilage dissociation method with collagenase. These

**Table IV.** Comparison of culture success rates in different fetal tissues and by type of specimen.

Reference	Type specimen	% Success
Machin (1974)	SB,ND (n = 726)	69
Kuleshov (1976)	SB (n = 363)	62.7
Songster et al (1992)	SA,SB (n = 168)	87.5
Urioste (1993)	SB,ND (n = 23)	87
Pauli (1994)	SB (n = 696)	42.5
Gelman-Kohan et al (1996)	SA,SB,IA (n = 20)	85
Fisher et al (1996)	SB,IA,ND (n = 30)	88
Rodgers et al (1996)	SA,SB,IA,ND (n = 1361)	63
Present study (1998)	SB,IA,ND (n = 237)	83.5

SA: Spontaneous abortion, SB: Stillbirth, IA: Induced abortion, ND: Early neonatal death.

surveys show higher culture success rates than others that used other fetal tissues such as gonads, skin or kidney (table III), although the proportion of stillbirths, induced abortions and early neonatal deaths differed in each series [10, 16–22]. Using cartilage and placental tissues, and taking into account the fact that the number of stillbirths is substantial, we obtained a higher overall success culture rate (83.5%) than in other large series (table IV).

An abnormal karyotype was detected in 26.3% of pregnancy losses, 6.9% of stillbirths, 43.6% of induced abortions and 20% of early neonatal deaths; these results are in agreement with other reports in the literature [23]. Autosomal trisomies 21,18, 13 and polyploidies were the most common chromosomal abnormalities found in pregnancy losses, because the remaining autosomal trisomies are thought to be generally incompatible with survival through the first trimester, as different authors have shown [9, 15]. Of the 198 cases successfully karyotyped, a chromosome abnormality was found in 76.4% of cases with multiple abnormalities and in 9.7% of cases with a single major malformation (anencephaly, cystic hygroma and congenital heart defect) (table IV).

The frequency of chromosome abnormality in stillbirths was 6.9%, a figure similar to that found in other series [17, 20, 24]. Monosomy X is the most common cytogenetic abnormality in stillbirths, and the second most common group of chromosome defects in stillbirths are autosomal trisomies 21,18 and 13 [2]. The range of chromosome abnormalities found among stillbirths is related to the spectrum of anomalies diagnosed in the newborn population, the only difference being that we found five triploidies, usually seen in early spontaneous abortions [2, 4].

Among 58 abortions induced for ultrasonographic malformations, seven (12%) chromosome abnormali-

ties were detected. An unusual triplo X was found in an anencephalic fetus. Anencephalia is almost always associated with a normal karyotype [13, 25]; there are some reports of fetuses with anencephaly and abnormal non-specified karyotypes [26–27] but none with a triplo X, which was probably found as a random association.

There were three discrepancies (3%) from prenatal cytogenetic results in amniotic fluid and post-termination karyotype. As in our case of trisomy 8 mosaicism, five other cases in which amniocentesis failed to detect trisomy 8 have been described [28], suggesting that amniotic fluid may not be the best sample to reveal trisomy 8 mosaicism. Individuals with trisomy 8 present multiple features that include congenital heart disease [29]. Monosomy 21 mosaicism is a rare condition, and the abnormal cell line was missed at prenatal cytogenetic analysis. As described by Hsu [30], monosomy mosaicism is a potential pitfall in prenatal diagnosis. Autopsy findings in the fetus with monosomy 21 mosaicism showed a male with micrognathia, agenesis of right kidney, multicystic left kidney and hypertrophic heart; these malformations have been described in individuals with monosomy of chromosome 21 [31]. A mosaicism with a normal cell line was found in a karyotype 47,XXX detected prenatally because of advanced maternal age. These false-negative results in amniotic fluid stress the general problem of mosaicism in prenatal diagnosis.

The chromosome abnormalities detected in stillbirths, in abortions induced for ultrasonographic malformations and for abnormal karyotype indicate the need to include chromosome studies in all protocols of pregnancy losses for accurate genetic counselling and for quality control of the tests used.

### Acknowledgments

This study was supported by grants from "Fondo de Investigaciones Sanitarias" (98/1525), and "Fundació Parc Taulí de Sabadell".

### References

[1] Opitz J.M., FitzGerald J.M., Reynolds J.F., Lewin S.O., Daniel A., Ekblom L.S., Phillips S., The Montana fetal genetic pathology program and a review of prenatal death in humans, *Am. J. Med. Genet.* 3 (1987) 93–112.

[2] Tyson R.W., Kalousek D.K., Chromosomal abnormalities in stillborn and newborn infants: Development pathology of the

embryo and fetus, in: Dimmick J.E., Kalousek D.K. (Eds.), Lippincott JB company, Philadelphia, 1992, pp. 83–110.

[3] Wilcox A.J., Weinberg C.R., O'Connor J.F., Baird D.D., Schlatterer J.P., Canfield R.E., Armstrong E.G., Nisula B.C., Incidence of early loss of pregnancy, *N. Engl. J. Med.* 319 (1988) 189–194.

[4] Boué J., Boué A., Anomalies chromosomiques dans les avortements spontanés: Development pathology of the embryo and fetus: Les accidents chromosomiques de la reproduction, in: Boué A., Thibault C. (Eds.), INSERM, Paris, 1973, pp. 29–56.

[5] Hassold D.J., Natsuyama A., Alberman E., A cytogenetic study of spontaneous abortions in Hawaii, *Ann. Hum. Genet.* 41 (1978) 443–454.

[6] Kajii T., Niikawa N., Takahara H., Ohama K., Avirachan S., Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortions, *Hum. Genet.* 55 (1980) 87–98.

[7] Lauritsen J.G., Aetiology of spontaneous abortions. A cytogenetic and epidemiological study of 288 abortions and their parents, *Acta Obstet. Scand. Suppl.* 52 (1976) 1–29.

[8] Takahara H., Ohama K., Jujiwara A., Cytogenetic study in early spontaneous abortion, *Hiroshima, J. Med. Sci.* 26 (4) (1977) 291–296.

[9] Boué A., Boué J., Gropp A., Cytogenetics of pregnancy wastage: Advances in human genetics, Harris H.Hirschhorn K, Vol. 14, NOMPUB, New York, 1985, pp. 1–57.

[10] Kuleshov N., Chromosome anomalies in infants dying during the perinatal period and premature newborn, *Hum. Genet.* 31 (1976) 151–160.

[11] Machin G.A., Crolla J.A., Chromosome constitution of 500 infants dying during the perinatal period, *Hum Genet* 23 (1974) 183–198.

[12] Sutherland G.R., Carter R.F., Baud R., Smith J.J., Bain A.D., Chromosome studies at the pediatric necropsy, *Ann. Hum. Genet.* 42 (1978) 173–181.

[13] Rodgers C.S., Creasy M.R., Fitchett M., Maliszewska C.T., Pratt N.R., Waters J.J., Solid tissue culture for cytogenetic analysis: a collaborative survey for the Association of Clinical Cytogenetics, *J. Clin. Pathol.* 49 (1996) 638–641.

[14] Kyle P.M., Sepulveda W., Blunt S., Davies G., Cox P.M., Fisk N.M., High failure rate of postmortem karyotyping after termination for fetal abnormality, *Obstet. Gynecol.* 88 (1996) 859–862.

[15] Curry C.J.R., Pregnancy loss, stillbirth, and neonatal death. A guide for the pediatrician, *Pediatr. Clin. N. Am.* 39 (1992) 157–191.

[16] Urioste M., Chromosome cultures from human cartilage, *Am. J. Med. Genet.* 46 (1993) 123–125.

[17] Pauli R.M., Reiser C.A., Lebovitz T.M., Kirkpatrick S.J., Wisconsin Stillbirth Service Program: I. Establishment and assessment of a community-based program for etiologic of intrauterine deaths, *Am. J. Med. Genet.* 50 (1994) 116–134.

[18] Chen H., Yu C.W., Mulhern R., Fowler M., Saadi A.A., Letter to editor: Chromosome preparations of chondrocytes cultured from human cartilages, *Am. J. Med. Genet.* 6 (1980) 179–181.

[19] Gelman-Kohan Z., Rosensaftm J., Ben-Hur H., Haber A., Chemke J., Cytogenetic analysis of fetal chondrocytes: a comparative study, *Prenat. Diagn.* 16 (1996) 165–168.

[20] Machin G.A., Chromosome abnormality and perinatal death, *Lancet* 30 (1974) 549–551.

- [21] Songster G., Sun L., Chang S.C., Cheung S.W., Chromosome analysis in spontaneous pregnancy loss: Use of placental villus mesodermal core cell cultures, *Am. J. Med. Genet.* 42 (1992) 785–788.
- [22] Fisher A.M., Cockwell A.E., Moore K.J., Gregson N.M., Campbell P.L., Campbell C.M., Herbert A., Barber J.C.K., Crolla J.A., Rapid in situ harvesting and cytogenetic analysis of perinatal tissue samples, *Am. J. Med. Genet.* 16 (1996) 615–621.
- [23] Sutherland G.R., Carter R.F., Cytogenetic studies: an essential part of the paediatric necropsy, *J. Clin. Pathol.* 36 (1983) 140–142.
- [24] Bauld R.B., Sutherland G.R., Bain A.D., Chromosome studies in investigation of stillbirths and neonatal deaths, *Arch. Dis. Child.* 49 (1974) 782–788.
- [25] Machin G.A., A perinatal mortality survey in South-East London-73: The pathological finding in 726 necropsies, *J. Clin. Pathol.* 28 (1975) 428–434.
- [26] Byrne J., Warburton D., Neural tube defects in spontaneous abortions, *Am. J. Med. Genet.* 25 (1986) 327–333.
- [27] Plaja A., Vendrell T., Sarret E., Toran N., Mediano C., Terminal deletion of Xp in a dysmorphic anencephalic fetus, *Prenat. Diagn.* 14 (1994) 410–412.
- [28] Southgate W.M., Wagner C.L., Shields S.M., Cantu E.S., Pai G.S., Mosaic trisomy 8: A cautionary regarding missed antenatal diagnosis, *J. Perinatol.* 18 (1998) 78–80.
- [29] Digilio M.C., Giannotti A., Florida G., Uccellatore F., Mingarelli R., Danesino C., Dallapiccola B., Zuffardi O., Trisomy 8 syndrome owing to isodicentric 8p chromosomes: regional assignment of presumptive gene involved in corpus callosum development, *J. Med. Genet.* 31 (1994) 238–241.
- [30] Hsu L.Y.F., Perlis T.E., United States survey on chromosome mosaicism and pseudomosaicism in prenatal diagnosis, *Prenat. Diagn.* 4 (1984) 97–130.
- [31] Curry C.J.R., Chromosome 21, monosomy 21; Birth Defects encyclopedia, in: Buyse M.L. (Ed.), Blackwell Scientific, Cambridge, Massachusetts, 1990, p. 390.

El grup EUROSCAN va ser creat per emprendre un estudi al llarg d'Europa sobre la viabilitat de l'ecografia rutinària en el cribatge de defectes congènits i per avaluar la taxa de detecció prenatal dels defectes congènits en una població no seleccionada utilitzant les dades recollides en 20 registres de defectes congènits d'Europa.

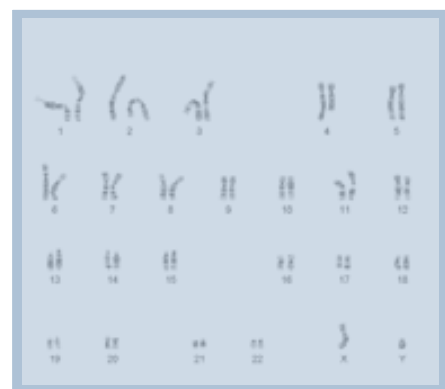
El projecte titulat: "Evaluation of prenatal diagnosis of congenital anomalies by fetal ultrasonographic examination" va ser sotmès a la quarta Framework Programme, BIOMED 2 obtenint-se financiació de la DG XII Science, Research and Development per l'estudi durant 36 mesos. Durant el període d'estudi es va diagnosticar 8.126 casos amb defectes congènits dels quals 1.738 corresponien a anomalies cromosòmiques.



### 3.3 ARTICLE N°2

**Títol:** Prenatal detection of rare chromosomal autosomal abnormalities in Europe.

**Revista:** Am J Med Genet 2003, 1;118A(4):319-27.



## Prenatal Detection of Rare Chromosomal Autosomal Abnormalities in Europe

N. Baena,<sup>1,\*</sup> C. De Vigan,<sup>2</sup> E. Cariatì,<sup>3</sup> M. Clementi,<sup>4</sup> C. Stoll,<sup>5</sup> M.R. Caballin,<sup>6</sup> M. Guitart,<sup>1</sup> and The EUROSCAN Working Group

<sup>1</sup>Genetic Laboratory, Corporació Parc Taulí, Sadabell, Spain

<sup>2</sup>Paris Registry of Congenital Anomalies and INSERM U149, Villejuif, France

<sup>3</sup>Prenatal Diagnosis Service, Istituto di Gynecologia e Obstetria, Firenze, Italy

<sup>4</sup>Genetica Clinica e Epidemiologica, Padova, Italy

<sup>5</sup>Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

<sup>6</sup>Department de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain

The aim of the present study was to evaluate the prenatal detection of rare chromosomal autosomal abnormalities by ultrasound (US) examination. Data were obtained from 19 congenital malformation registries from 11 European countries, between 01/07/96 and 31/12/98. A total of 664,340 births were covered and 7,758 cases with congenital malformations were recorded. Rare autosomal abnormalities were diagnosed in 114 cases (6.6%) from a total of 1,738 chromosome abnormalities. There were a wide variety of autosomal abnormalities: the most common were deletions (33 cases), duplications (32 cases), trisomies of chromosomes 8, 9, 10, 14, 15, and 16 (23 cases), and unbalanced rearrangements (19 cases). Out of these cases,

45.6% were detected prenatally by US examination due to the presence of congenital anomaly. As for the types of chromosomal anomaly, unbalanced rearrangements and deletions were the most frequently detected by US. A high percentage of cases with balanced rearrangements were associated with severe congenital anomalies. The most frequent congenital anomalies detected by US were cystic hygroma (20.6%), central nervous system defects (17.6%), cardiac defects (13.2%), and diaphragm defects (10.3%). This large series offers useful information about prenatal diagnosis by US of congenital defects associated with rare autosomal abnormalities and it provides a valuable knowledge about outcome. Fetal anomalies detected by US that were associated with rare autosomal abnormalities were significantly more frequent than those associated with common chromosomal abnormalities (45.6 vs. 34.7%). This study indicates the need to increase the detection of congenital anomalies by US. © 2003 Wiley-Liss, Inc.

**KEY WORDS:** prenatal diagnosis; ultrasound; rare chromosomal autosomal abnormalities; congenital anomaly; congenital malformation

Participants and Registries of Congenital Malformation contributing to the Euroscan Study of Prenatal Diagnosis of Congenital anomalies by Fetal Ultrasonographic Examination: Austria (Styria) M. Haasler; Croatia (Zagreb) I. Barisic, R. Matejic; Denmark (Odense) E. Garne; France (Paris) C. De Vigan, V. Vodovar; (Strasbourg) C. Stoll, Y. Alembik, B. Dott; Germany (Leipzig) U.G. Froster; (Mainz) A. Queisser-Luft, A. Wiese; Italy (NE Italy) R. Tenconi, M. Clementi, F. Benedicenti; (Sicily) S. Bianca, G. Ettore; (Tuscany) E. Cariatì, F. Bianchi; V. Lithuania Kukinskas, A. Utkus; Netherlands (Northern Netherlands) H.E.K. De Walle; (Southwestern Netherlands) G.R.J. Zandwijken; Spain (Basque Country) S. Garcia-Minaur, G. Aranguren; (El Valle) N.I. Baena; UK (Oxford) P.A. Boyd; (Wessex) D.G. Welleley.

Grant sponsor: The European Union BIOMED2 Concerted Action; Grant sponsor: The Fondo de Investigaciones Sanitarias; Grant number: 98/1525.

\*Correspondence to: Neus Baena, Corporació Parc Taulí Laboratori Genètica Parc Taulí, s/n 08208 Sabadell, Spain. E-mail: nbaena@crpt.es

Received 22 April 2002; Accepted 23 September 2002

DOI 10.1002/ajmg.a.10104

© 2003 Wiley-Liss, Inc.

### INTRODUCTION

There has been significant progress in the field of perinatal sonography during the last few years. Prenatal ultrasonographic examination during pregnancy is now routine practice in most European countries. Its ability to detect major malformations has been demonstrated, and its success has led to improved perinatal care in cases of correctable malformation, or to the possibility of termination of pregnancy (TOP) in cases of

320 Baena et al.

lethal or severely disabling anomalies. Technological progress and the skill of ultrasound (US) examiners have led to the increased detection of fetal malformations [Chitty, 1995; Grandjean et al., 1998].

The association between structural defects and chromosomal abnormalities is well established [Nicolaidis et al., 1992; Stoll et al., 1993; Wladimiroff et al., 1995; Gross, 1998]. Most of these defects can be detected with the second-trimester (morphological) scan, or sometimes earlier.

Few studies have assessed the ability of routine US examination to detect chromosomal abnormalities in unselected populations. Rare aneuploidies and chromosomal structural abnormalities are individually uncommon, but they may make up a significant proportion of the cytogenetic abnormalities detected in prenatal diagnostic practice [Hume et al., 1995]. The significance of rare chromosomal autosomal abnormalities identified prenatally has not been conclusively determined, because of the lack of cases [Hsu et al., 1997].

This study analyzed data from 19 European congenital malformation registries for the period 1996–1998 in order to evaluate the prenatal detection of rare autosomal abnormalities by US examination. A report on the most common chromosomal abnormalities and del(22)(q11) and Prader–Willi syndrome has been published [De Vigan et al., 2001].

#### MATERIALS AND METHODS

Data were provided by 19 congenital malformation registries from 11 European countries. Sixteen of them participate in the EUROCAT program [1994], and all use the methodology described in EUROCAT report 7, published in 1997. All but two (Austria and Leipzig) were population-based. The registries were based on multiple sources of information so as to ensure complete, accurate information [Clementi and Stoll, 2001].

Routine prenatal (US) screening for congenital malformations was performed in all registry areas except Denmark and the Netherlands. Termination of pregnancy (TOP) after prenatal diagnosis of major congeni-

tal malformations was allowed in all registry areas. The differences in local policies are shown in Table I.

All livebirths (LB), stillbirths (SB) of 20 weeks, and TOPs with rare autosomal abnormality diagnosed prenatally or within 7 days of life were included in the study. The study lasted from 01/07/96 to 31/12/98, but four registries did not cover the whole time period. A total of 664,340 births were included, 7,758 cases with congenital malformation, and 1,738 chromosome abnormalities were recorded.

The registration form was completed by a member of the medical staff, and contained information regarding the mother (age, parity), the infant/fetus (gestational age at birth, sex), US scans (scan yes or no, first suspicion, confirmation, type of scan), and the outcome of pregnancy, including postnatal confirmation and postmortem examination.

The coding system used for diagnosis by all participating registries was the ICD/BPA [British Paediatrics Association Classification of Diseases, 1979]. All forms including a diagnosis coded as a rare autosomal abnormality (75,830–75,838, 75,850–75,859) were recorded in a database (MS Access, Windows environment) for this analysis. Diagnoses were validated in both local and central databases. The protection of privacy was ensured.

US markers were nuchal translucency, intrauterine growth retardation, polyhydramnios, short femur, choroid plexus, echogenic bowel, and hydronephrosis. Multiple congenital anomalies (MCA) are considered when a case has at least two congenital anomalies that affect two different systems.

In cytogenetic studies, chorion villi, amniotic fluid, cord blood, or peripheral blood samples were analyzed. G or R banding were used and karyotypes were described according to the International System for Human Cytogenetic Nomenclature [ISCN, 1995]. A minimum of 20 metaphases from at least two cultures were analyzed. Mosaicism was considered when the same chromosome abnormality is seen in more than one cell and in two different cultures. We considered all autosomal abnormalities to be "rare" except trisomies 13, 18, 21, polyploidies, 22q11 deletion, and Prader–Willi

TABLE I. Differences in Policies for Congenital Anomalies Screening and for Termination of Pregnancy

Ultrasonographic examination	
No routine scan	DK (Odense), NL (Groningen, Rotterdam)
1 scan	UK (Oxford, Wessex): 20 weeks
2 scans	A (Styria): 20, 30 weeks, CH (Lausanne): 10, 20 weeks, LT (Lithuania): 16, 20 weeks
3 scans	CR (Zagreb), D (Leipzig, Mainz), F (Paris, Strasbourg), I (Firenze, NE Italy, Sicily), SP (Barcelona, Basque Country, El Valle): 10, 20, 30 weeks
Triple test for Down syndrome screening	
No	A (Styria), CR (Zagreb), DK (Odense), LT (Lithuania), NL (Groningen, Rotterdam), SP (Barcelona, Basque Country, El Valle)
Yes	CH (Lausanne), D <sup>a</sup> (Leipzig, Mainz), F <sup>b</sup> (Paris, Strasbourg), I (Firenze, NE Italy, Sicily), UK (Oxford, Wessex)
Termination of pregnancy	
No upper limit	D (Leipzig, Mainz), F (Paris, Strasbourg)
≤22–24 weeks	A (Styria), CH (Lausanne), CR (Zagreb), DK (Odense), I (Firenze, NE Italy, Sicily), LT (Lithuania), NL (Groningen, Rotterdam), SP (Barcelona, Basque Country, El Valle), UK <sup>b</sup> (Oxford, Wessex)

<sup>a</sup>Policy began during study.

<sup>b</sup>Rarely > 24 weeks.

syndrome. Cases were divided into the following categories: trisomy, monosomy, duplication, deletion, unbalanced rearrangements, and extra marker chromosome. Balanced rearrangements were analyzed separately.

Comparison were performed using 95% confidence intervals (CIs) and Chi-square test.

### RESULTS

In a total of 1,738 chromosome abnormalities collected from 19 registries, rare autosomal abnormalities were diagnosed in 114 cases (6.6%). The most common chromosome abnormalities were deletions (33 cases), duplications (32 cases), trisomies (23 cases), and unbalanced rearrangements (19 cases) (Table II). Among these cases, 45.6% (52/114) were detected prenatally by US examination due to the presence of congenital anomalies, 22.8% were diagnosed prenatally by cytogenetic analysis mainly due to advanced maternal age and positive triple test, and 31.6% were detected at birth.

The most frequent types of rare autosomal abnormalities detected by US were unbalanced rearrangements (63.2%), followed by deletions (51.5%). More than half rare trisomies (60.9%) and duplications (65.6%) were not detected by US.

The detection rate by US varied according to the different policies for congenital anomalies screening in countries. We found that 25% of cases were detected when no routine scan is performed, 41.6% when one scan, 43.7% when two scan, and 50% when three scan is performed. Mean gestational age of detection of congenital defects by US was 22 weeks (range 10–40 weeks). The mean maternal age was 31 years (range 18–44 years).

The outcome of the 114 cases with rare autosomal abnormalities are shown in Table III, classified according to the detection or non-detection of congenital anomalies by fetal US. A 78.8% of cases diagnosed by US had a poor outcome (TOP, stillbirth, and neonatal deaths). Among the cases not detected by US there were no SB or neonatal deaths. In this group, there were 26 cases (42%) with congenital anomalies diagnosed at birth or after TOP.

Congenital anomalies detected during pregnancy are shown in Table IV. The most frequent were cystic hygroma (20.6%), central nervous system defects (17.6%), cardiac defects (13.2%), and diaphragm defects (10.3%). US markers were recorded in only 11 registries and were

### Prenatal Rare Autosomal Abnormalities 321

observed in 14 cases: seven with oligo/polyhydramnios, five with nuchal translucency, and two with IUGR. One congenital anomaly was present in 59.6% of cases, two congenital anomalies in 23%, and more than two in 17.3%.

Table V lists the 52 cases detected by US. The rare autosomal abnormalities were (in order of frequency) deletions (17 cases), unbalanced rearrangements (15 cases), trisomies (9 cases), partial trisomies (8 cases), and extra marker chromosomes (3 cases).

Table VI shows the 62 cases not detected by US. The rare autosomal abnormalities were (in order of frequency) partial trisomies (21 cases), deletions (16 cases), trisomies (14 cases), unbalanced rearrangements (7 cases) extra marker chromosomes (3 cases), and one case of monosomy.

Apparently balanced rearrangements were detected in 14 cases, 11 reciprocal translocations and three inversions; ten of them were detected by US (Table VII).

### DISCUSSION

The frequency of rare autosomal abnormalities in this sample of 1,738 chromosome abnormalities was 6.6% (114 cases). This overall rate is lower than those reported [Nicolaidis et al., 1992; Hume et al., 1995; Hanna et al., 1996]—10.4, 16.4, and 13.4% respectively—and higher than the figure of 4.4% reported by Wladimiroff et al. [1995]. Our percentage could be more accurate because this series is the largest and is the only one based in unselected populations.

Fetal defects in cases with rare autosomal abnormalities were detected by US examination in 45.6% (52 cases). This percentage is very similar to that reported by Hume et al. [1995] (45%) and Al-Kouatly et al. [2002] (42.8%). The US detection rate of fetal defects associated with rare autosomal abnormalities was significantly higher (45.76%) compared with the US detection rate of fetal defects associated with common abnormalities (34.7%) ( $P = 0.018$ ). This difference suggests the clinical significance of congenital defects in rare autosomal abnormalities. When an anomaly or an US marker are detected, both targeted US examination and cytogenetic study must be performed in order to know the association between fetal phenotype and rare autosomal abnormalities. Also, such studies may offer some information about prognosis and may be helpful in genetic counseling to the parents.

TABLE II. Cases With Rare Autosomal Abnormalities Detected and not Detected by US

	Cases detected by US		Cases NOT detected by US		Total
	N <sup>a</sup>	%	N <sup>a</sup>	%	
Deletions	17	51.5	16	48.5	33
Duplications	11	34.4	21	65.6	32
Trisomies	9	39.1	14	60.9	23
Unbalanced rearrangements	12	63.2	7	36.8	19
Monosomy	—	—	1	100	1
Extra marker chromosome	3	50	3	50	6
Total	52	45.6	62	54.4	114

TABLE III. Outcome of Rare Autosomal Abnormalities

	TOP	SB	ND	LB	Total
Detected by US	32 (61.5%)	5 (9.6%)	4 (7.7%)	11 (21.1%)	52
Not detected by US	26 (42%)	—	—	36 (58%)	62
Total	58 (50.8%)	5 (4.4%)	4 (3.5%)	47 (41.2%)	114

Balanced rearrangements are not included. TOP, termination of pregnancy; LB, livebirth; SB, stillbirth; ND, neonatal death.

US detection rate varied from registries according to local policies. In registries with a policy of three routine US examinations (50%) it is two times higher than in countries where routine scans were not performed (25%).

The mean gestational age of detection of defects by US was 22 weeks; in 82.7% of cases (43/52) defects were detected before 24 weeks and pregnancy was terminated in 84% cases. The identification of a rare autosomal abnormality may affect the management of labor and delivery when diagnosed after the legal limit of TOP. In our series, 78.8% of cases detected by US showed a poor outcome in agreement with Al-Kouatly et al. [2002].

Among the 62 cases of rare abnormalities not diagnosed by US, there were 26 cases (42%) with congenital defects diagnosed at birth or after TOP. A high percentage of cases (84.6%) in which pregnancy was terminated did not show any congenital defect in the postmortem examination. A thorough study of fetal pathology in cases of TOP is necessary in order to identify major congenital malformations or minor anomalies and to confirm prenatally diagnosed fetal abnormalities.

Usually, rare autosomal abnormalities were associated with congenital anomalies in this series. More than half of the cases showed by US a single congenital anomaly (59.6%). The most frequent congenital anomalies detected by US were cystic hygroma, central nervous system defects, diaphragm defects, cardiac defects, and urinary defects. These results are in agreement with those reported previously [Wladimiroff et al., 1995; Milunsky, 1996]. Prenatal detection of cystic hygroma is frequently associated with Down and Turner syndromes; it is interesting to note that cystic hygroma is found in 21% of rare autosomal abnormalities in this series.

TABLE IV. Type of Fetal Congenital Anomaly Detected by US

Type of congenital anomaly	Number of cases	%
Cystic hygroma	14	20.6
Central nervous system defects	12	17.6
Cardiac defects	9	13.2
Pulmonary defects	2	3
Cleft lip with or without palate	4	5.6
Digestive defects	2	3
Renal defects	6	8.8
Diaphragm defects	7	10.3
Abdominal wall defects	1	1.5
Musculoskeletal defects	5	7.4
Hydrops	5	7.4
Other defect	1	1.5
Total	68	

Balanced rearrangements are not included.

When the type of congenital anomaly and the type of chromosome abnormality was correlated, we observed that congenital heart defects, central nervous system defects, and IUGR were more frequently associated with chromosome deletions. Cystic hygroma, hydrops, and nuchal translucency were more frequently associated with trisomies or duplications.

### Deletions

Thirty-three cases of deletions were recorded and 17 cases were diagnosed by US. Deletions involved chromosomes 1, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, and 18. Monosomy 4p is responsible for the Wolf-Hirschhorn syndrome, associated IUGR, and craniofacial dysmorphism. Prenatal diagnosis is difficult, principally because major malformations are often absent [Tachdjian et al., 1992]. In our series, two cases of Wolf-Hirschhorn syndrome were detected by US, both of which presented with IUGR. Additionally, one had a congenital heart defect and the other a cleft lip. In the present study, we found one case with 7q deletion showing caudal deficiency sequence at birth. Sacral agenesis has been previously related with 7q36 deletion [Wang et al., 1999] but this congenital anomaly is difficult to detect using US. A significant association was found between hypoplastic left heart and del(11q23) [Milunsky, 1998; van Karnebeek and Hennekam, 1999]; one of our two cases with del(11q) presented this anomaly. Del(13q) shows a wide spectrum of phenotypes; deletions limited to proximal q13-q31 have been associated with IUGR but not with major malformations, whereas deletions involving at least part of band q32 are associated with major malformations [Brown et al., 1993]. One del(13q) out of three cases in our series detected by US showed MCA, other with del(13)(q34qter) showed microcephaly at birth. Clinical findings in patients with deletion of the short arm of chromosome 18 are highly variable but are characterized by facial anomalies, mental and growth retardation, and skeletal malformations. We have detected two cases of del(18p), one of which presented holoprosencephaly, that has been observed in 10% of cases with del 18p [Digilio et al., 2000]. A chromosome map of autosomal deletions presenting highly significant associations with specific congenital anomalies was constructed [Brewer et al., 1998] and this map should facilitate identification of genes in specific malformations.

### Unusual Trisomies

Twenty-three cases of this category are recorded but only nine cases were detected by US. Five out seven cases with trisomy 9 were not diagnosed prenatally by US. Two cases showed MCA at birth, but the defects

TABLE V. Rare Autosomal Abnormality Detected by US

	Maternal age	Gestational age of detection	Congenital anomalies detected by US	Outcome	Congenital anomalies at end
<b>Deletions</b>					
del(1p)	34	30	CHD and agenesis corpus callosum	TOP	CHD
del(3)(p11p14)	35	36	IUGR	ND	MCA
del(3)(q12q21)	25	23	Omphalocele	SB	Comelia Lange S.
del(3q)	29	31	Hydrocephaly	TOP	Hydrocephaly
del(4p)	37	17	IUGR, CHD, and ecog bowel	TOP	Wolf S., MCA
del(4)(p16)	22	36	IUGR and cleft lip	LB	Wolf S., MCA
del(5q)	27	33	Diaphragmatic hernia	LB	MCA
del(7q)	28	34	IUGR and cleft lip and palate	LB	Caudal regression S.
r(7)(p21q32)	22	40	Microcephaly and agenesis corpus callosum	LB	MCA
del(9)	28	16	Cystic hygroma, hydrocephaly, and short femur	TOP	MCA
del(11q)	29	20	Diaphragmatic hernia	TOP	Diaphragmatic h.
del(11q)	28	20	Left heart syndrome	ND	Left heart syndrome
del(13q)	33	23	MCA	TOP	MCA
del(13)(q34)	26	38	IUGR and hydrothorax	LB	Microcephaly
del(13q)	32	14	Cystic hygroma	TOP	NR
del(18p)	40	17	Cystic hygroma	TOP	Cystic hygroma
del(18p)	35	14	Holoprosencephaly, omphaloceel, and nuchal transl.	TOP	MCA
<b>Trisomies</b>					
48,XX/47,XX,+8	35	22	Common A-V canal	TOP	Complex CHD
47,XX,+9	27	23	MCA	TOP	MCA
46,XX/47,XX,+9	42	14	Nuchal translucency	SB	NR
47,+10	39	15	Cystic hygroma	TOP	NR
47,XX,+14	32	33	Hydrocephaly	LB	Hydrocephaly
47,XX,+15	NR	19	Cystic hygroma and hydrops	TOP	NR
47,XX,+15	44	15	Cystic hygroma	TOP	Cystic hygroma
47,XX,+16	27	14	Hydronephrosis and megabladder	SB	Omphalocele
47,XX,+22	30	16	Cystic hygroma	TOP	Cystic hygroma
<b>Duplications</b>					
add3q	37	12	Hydrops and intestinal caeci.	TOP	Hydrops
add3q	35	12	Cystic hygroma	TOP	Cystic hygroma
+4p	33	17	Nuchal transl	TOP	Nuchal transl and polydactyly
+8p	32	24	Cyst in cerebellum	TOP	Abn. in cerebellum
add10q	27	14	Hydrops and cystic hygroma	TOP	Hydrops
add(15)(q26)	30	36	Cleft lip and palate, omphalocele, and CHD	ND	MCA
tetra 12p	27	16	Diaphragmatic hernia, club foot, and abn. cerebellum	TOP	MCA
+der(22)	35	19	MCA	TOP	MCA
+der(22)	30	32	Diaphragmatic hernia and polyhydramnios	LB	MCA
+der(22)	32	26	IUGR	LB	MCA
+der(14)	36	23	Nuchal translucency	TOP	NR
<b>Unbalanced rearrangements</b>					
der(8)	25	19	Ascitic, pericardial effusion	SB	Complex CHD
der(1)t(1;17)(p25;p12)	28	36	IUGR and dilated stomach	TOP	IUGR
der(13)t(10;13)(p10;q10)	27	18	Cleft lip and nuchal translucency	TOP	Cleft lip and corpus callosum hypoplasia

(Continued)

TABLE V. (Continued)

	Maternal age	Gestational age of detection	Congenital anomalies detected by US	Outcome	Congenital anomalies at end
der(4)t(3;4)(q23;p15)	29	10	Nuchal translucency	SB	MCA
der(1)t(1;14)	29	19	CHD, nuchal translucency, and ambiguous genitalia	TOP	MCA
der(9)t(2;9)	32	22	Polydactyly and cystic hygroma	TOP	Polydactyly and cystic hygroma
2q+,3p-	24	16	Anencephaly	TOP	Anencephaly
9p-,20p+	18	19	Unilateral agenesis kidney and multicystic renal dysplasia	LB	MCA
13q-,12p+	27	34	Pleural effusion	LB	MCA
16p+,22p-	25	22	Meckel-Grubber S.	TOP	MCA
t(3;5)unb	32	19	Cleft palate	ND	Cleft lip and palate
t(3;11)unb	25	20	CHD	TOP	Complex CHD
Extra marker chromosome					
47,XX,+mar	29	28	Cleft lip and palate	LB	Cleft lip and palate
47,XY,+mar	34	12	Hydrops	TOP	Hydrops
47,XY,+mar	33	18	Nuchal translucency, CHD	TOP	MCA

Outcome: TOP, termination of pregnancy; LB, livebirth; SB, stillbirth; ND, neonatal death. Congenital anomalies: CHD, congenital heart defect; MCA, multiple congenital anomalies; IUGR, intrauterine growth retardation; NR, not reported. Unb, unbalanced.

(Fallot tetralogy, microphthalmia, extra ribs, hydrocephaly) could be not detectable by US. However, the prenatal detection of trisomy 9, mosaic or non-mosaic, suggests a high risk of an abnormal phenotype including MCA [Hsu et al., 1997]. Trisomy 10 was detected prenatally in a fetus presenting cystic hygroma. This chromosome abnormality has been associated with MCA including cystic hygroma [Farell et al., 1994; Knoblauch et al., 1999; Schwarzler et al., 1999].

The finding of hydrocephaly associated with trisomy 14 observed in one case, was reported previously by Hsu et al. [1997] and is also compatible with the clinical features of maternal UPD 14 [Healey et al., 1994]. Trisomy 15 is observed in spontaneous abortions and is very rare in LB. Non-mosaic trisomy 15 has been reported only twice. The two infants died of MCA before 4 days of age [Coldwell et al., 1981; Kuller and Laifer, 1991]. In our series, trisomy 15 was observed in four cases, cystic hygroma was present in the two cases detected by US. The two cases not detected by US were mosaic: one of them presented arhinencephaly at TOP, a congenital anomaly previously described in trisomy 15 [Hsu et al., 1997]. Trisomy 16 is one of the most common chromosome abnormalities found in first-trimester spontaneous abortions but our case that presented hydronephrosis and megabladder ended as stillbirth. Trisomy 22 is the second most common autosomal trisomy found in first-trimester spontaneous abortions. The major clinical features associated with trisomy 22 are IUGR, microcephaly, congenital heart defect, and long fingers; however, in the five cases detected in our study only one presenting cystic hygroma was detected by US.

#### Duplications

Of the 32 cases of duplications, 11 were diagnosed by US. All reported cases not detected by US showed

congenital anomalies at birth that could have been detected prenatally.

#### Unbalanced Rearrangements

Of the 19 unbalanced rearrangements 12 cases of unbalanced translocation were detected prenatally by US. The risk of unbalanced rearrangement being associated with a MCA is high; however, US examination failed to detect some congenital anomalies. Reciprocal translocations have a risk of unbalanced progeny or fetal loss for couples [Warburton, 1984] and the threshold of viability varies according to the mode of translocation and the sex of the carrier [Cohen et al., 1994].

#### Extra Marker Chromosomes

Six out of 114 (5.3%) rare autosomal abnormalities were extra marker chromosomes; half of them were detected prenatally by US. Prenatal identification of marker chromosomes raises serious concerns regarding the phenotypic consequences for the fetus. Molecular characterization of prenatal marker chromosomes is important for the clinical follow up [Li et al., 2000].

#### Balanced Rearrangements

Little information is available on the phenotype of features diagnosed prenatally as presenting an apparently balanced rearrangement. Cases with balanced rearrangements are often clinically normal but congenital anomalies cannot be ruled out. Bugge et al. [2000] reported an association between balanced chromosomal rearrangement and clinical features in 216 cases and the clinical finding most frequently associated was mental retardation with or without congenital malformations. A high percentage of cases with balanced

TABLE VI. Rare Autosomal Abnormalities not Detected by US

	Maternal age	Gestational age of detection	Congenital anomalies detected by US	Outcome	Congenital anomalies at end
<b>Deletions</b>					
del(1)(p)	NR	40	—	LB	NR
del(2)(q37.2)	33	42	—	LB	MCA
del(3)(q)	26	40	—	LB	Microcephaly and dwarfism
5p-	29	15	—	TOP	NR
5p-	30	39	—	LB	NR
del(7)(q21q22)	23	38	—	LB	CHD
del(11)(q)	30	37	—	LB	Cleft lip and palate and coloboma
del(17)(q)	21	32	—	LB	Complex CHD
del(18)(q)	29	21	—	TOP	CHD and thyroid anomaly
del(18)(q)	41	16	—	TOP	NR
del(20)(p12.1p12.3)	34	38	—	LB	CHD
r(2)	25	40	—	LB	NR
r(8)	35	22	—	TOP	Cleft palate and foot anomaly
r(16)mos	29	39	—	LB	NR
r(18)	25	40	—	LB	Cleft palate and club foot
r(22)mos	39	40	—	LB	NR
<b>Trisomies</b>					
46,XY/47,XY,+9	36	23	—	TOP	NR
46,XX/47,XX,+9	38	39	—	LB	MCA
46,XX/47,XX,+9	26	33	—	TOP	NR
46,XX/47,XX,+9	29	34	—	LB	MCA
47,XY+9	43	17	—	TOP	NR
47,XX+14	25	20	—	TOP	NR
46,XX/47,XX+15	31	21	—	TOP	NR
46,XX/47,XX+15	41	22	—	TOP	Arhinencephaly
47,XX+19	29	36	—	LB	NR
47,XX+20	38	22	—	TOP	NR
47,XX+22	44	17	—	TOP	NR
47,+22	NR	21	—	TOP	NR
47,XX+22	31	20	—	TOP	NR
47,XX+22	37	19	—	TOP	NR
<b>Duplications</b>					
+1q	28	38	—	LB	NR
+3partial	34	39	—	LB	MCA
+4partial	30	23	—	TOP	NR
+5p	27	27	—	TOP	NR
+8partial	30	42	—	LB	MCA
+9p	39	19	—	TOP	NR
+9p	21	39	—	LB	Scoliosis and diaphragmatic hernia
+10q	31	37	—	LB	MCA
+18 partial	31	37	—	LB	Dislocation of hip
+20 partial	38	39	—	LB	NR
dup(13)(q)(q21q32)	35	36	—	LB	Minor anomalies
dup(13)(p)	41	22	—	TOP	Unilateral renal agenesis
dup(15)(q)	35	41	—	LB	Pierre Robin S.
dup(16)(q)	32	40	—	LB	Cleft palate and anterior anus
ins(2;2)	23	40	—	LB	MCA
add(18q) mos	NR	40	—	LB	NR
tetra 12p	40	19	—	TOP	NR
tetra 12p	41	14	—	TOP	NR
+der(8)mos	39	40	—	LB	NR
+der(15)	35	22	—	TOP	NR
+der(15)	39	17	—	TOP	NR
<b>Unbalanced rearrangements</b>					
20p-,22q+	27	40	—	LB	NR
13q-,18q+	27	13	—	TOP	NR
t(4q;11q)mat unb	28	40	—	LB	NR
16+,22-	36	37	—	LB	MCA
t(2;6)unb	31	36	—	LB	CHD
der(8)	29	36	—	LB	Pierre Robin S. and MCA
i(18)(p)	31	16	—	TOP	NR
<b>Monosomy</b>					
-21	35	17	—	TOP	NR

(Continued)



TABLE VI. (Continued)

	Maternal age	Gestational age of detection	Congenital anomalies detected by US	Outcome	Congenital anomalies at end
Extra marker chromosome					
47,XY,+mar	26	40	—	LB	Unilateral renal agenesis and urethral valves
47,XY,+mar	41	40	—	LB	NR
47,XY,+mar	31	37	—	LB	Hydronephrosis

Outcome: TOP, termination of pregnancy; LB, livebirth; SB, stillbirth; ND, neonatal death. Congenital anomalies: CHD, congenital heart defect; MCA, multiple congenital anomalies; IUGR, intrauterine growth retardation; NR, not reported. Mos, mosaicism. Unb, unbalanced.

TABLE VII. Balanced Rearrangements

	Maternal age	Gestational age of detection	Congenital anomalies detected by US	Outcome	Congenital anomalies at end
Detected by US					
inv(1)	37	35	Hydronephrosis	LB	Hydronephrosis, megaloureter, and vesicoureteral reflux
inv(4)	34	36	Duodenal stenosis	LB	Duodenal stenosis and anular pancreas
inv(12)(p11q23)	28	20	Hydrocephal and club foot	TOP	MCA
t(11;15)(q14;q26)	34	20	Hydrocephaly and vermis agenesis	TOP	Hydrocephaly and vermis agenesis
t(1;15)	31	20	Limb reduction	TOP	Limb reduction
t(10;11)	41	36	CHD and accessory kidney	LB	MCA
t(6;11)(q12;q21)	34	29	Intestinal Obstruction and megacolon	LB	Ileum atresia
t(2;4)(q23;q31)	33	18	Multicystic renal dysplasia	TOP	Potter sequence
t(5;9)	29	20	Cystic hygroma and hydronephrosis	LB	Hydronephrosis
t(5;14)(p13;q13)	39	18	VACTERL	TOP	VACTERL
Not detected by US					
t(10;13)	34	18	—	TOP	NR
t(12;4)(p12.3;q12)	38	18	—	TOP	NR
t(4;6)(p15.1;p15)	38	38	—	LB	MCA
t(10;20)mat	33	36	—	LB	Cleft lip and palate

Outcome: TOP, termination of pregnancy; LB, livebirth; SB, stillbirth; ND, neonatal death. Congenital anomalies: CHD, congenital heart defect; MCA, multiple congenital anomalies; IUGR, intrauterine growth retardation; NR, not reported.

rearrangements found in this study were associated with severe congenital anomalies detected by US. When a balanced rearrangement is diagnosed prenatally a high resolution US examination and a follow-up should be performed in the fetus.

Despite the fact that this study may have the limitation of lack of information of the chromosome breakpoints on many patients, it is the largest series that offers useful information about prenatal diagnosis by US of congenital defects associated with rare autosomal abnormalities and it provides a valuable knowledge about outcome.

In conclusion, rare autosomal abnormalities constitute a significant proportion (6.6%) of the cytogenetic abnormalities detected in prenatal diagnostic practice. Of note, fetal anomalies associated with rare autosomal abnormalities are more frequently detected by US than those associated with the common chromosomal abnormalities (45.6 vs. 34.7%), suggesting that these anomalies are of clinical significance. This study indicates the need to increase the detection of congenital anomalies by US.

## ACKNOWLEDGMENTS

The Euroscan Study has received support from the European Union BIOMED2 Concerted Action and partial support from the Fondo de Investigaciones Sanitarias (98/1525).

## REFERENCES

- Al-Kouatly HB, Chasen ST, Gilbert F, Ahner R, Alonso LM, Chervenak FA. 2002. Correlation between rare chromosomal abnormalities and prenatal ultrasound findings. *Am J Med Genet* 107:197–200.
- Brewer C, Holloway S, Zawalski P, Schinzel A, FitzPatrick D. 1998. A chromosomal deletion map of human malformations. *Am J Hum Genet* 63:1153–1159.
- British Paediatrics Association. 1979. British Paediatric Association classification of diseases. London: The British Paediatrics Association. p 1–220.
- Brown S, Gersen S, Anyane-Yeboa K, Warburton D. 1993. Preliminary definition of a "critical region" of chromosome 13 in q32: Report of 14 cases with 13q deletions and review of the literature. *Am J Med Genet* 45:52–59.
- Bugge M, Bruun-Petersen G, Brødum-Nielsen K, Friedrich U, Jan H, Jensen G, Ensen PKA, Kristoffersson U, Lundsteen C, Niebuhr E, Rasmussen KR, Rasmussen K, Tommerup N. 2000. Disease associated balanced chromosome rearrangements: A resource for large

- scale genotype-phenotype delineation in man. *J Med Genet* 37(11): 858-865.
- Chitty LS. 1995. Ultrasound screening for fetal abnormalities. *Prenat Diagn* 15:1241-1257.
- Clementi M, Stoll C. 2001. The Euroscan study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 18:297-300.
- Cohen O, Cans C, Mermet MA, Demongot J, Jalbert P. 1994. Viability thresholds for duplications and monosomies. A study of 1,159 viable unbalanced reciprocal translocations. *Hum Genet* 93: 188-194.
- Coldwell S, Fitzgerald B, Semmens JM, Ede R, Bateman C. 1981. A case of trisomy of chromosome 15. *J Med Genet* 18:146-148.
- De Vigan C, Baena N, Cariati E, Clementi M, Stoll C, and The EUROSCAN Working Group. 2001. Contribution of ultrasonographic examination to the prenatal detection of chromosomal abnormalities in 19 centres across Europe. *Ann Genet* 44(4):209-217.
- Digilio MC, Marino B, Giannotti A, Di Donato A, Dallapiccola B. 2000. Heterotaxy with left atrial isomerism in a patient with deletion 18p. *Am J Med Genet* 94:198-200.
- EUROCAT Report 7: 15 years of surveillance of congenital anomalies in Europe 1980-1994. 1997. Ed: A EUROCAT Working Group-Scientific Institute of Public Health-Louis Pasteur, Brussels.
- Farell SA, Sue-Chue-Lam A, Miskin M, Fan YS. 1994. Fetal nuchal edema and antenatal diagnosis of trisomy 10. *Prenat Diagn* 14:463-437.
- Grandjean H, Larroque D, Levi S. 1998. Detection of chromosomal abnormalities, an outcome of ultrasound screening. The Eurofetus Team. *Ann NY Acad Sci* 18:136-140.
- Gross SJ. 1998. Screening for the aneuploid fetus. *Obstet Gynecol Clin North Am* 25:573-595.
- Hanna JS, Neu RL, Lockwood DH. 1996. Prenatal cytogenetic results from cases referred for 44 different types of abnormal ultrasound findings. *Prenat Diagn* 16:109-115.
- Healey S, Powell F, Battersby M, Chenevix-Trench G, McGill J. 1994. Distinct phenotype in maternal uniparental disomy of chromosome 14. *Am J Med Genet* 51:147-149.
- Hsu Iy, Yu MT, Neu RL, Van Dyke DL, Benn PA, Bradshaw CL, Shaffer LG, Higgins RR, Khodr GS, Morton CC, Wang H, Brothman AR, Chadwick D, Distcheck CM, Jenkins LS, Kalousek DK, Pantzar TJ, Wyatt P. 1997. Rare trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes involving an autosome other than chromosomes 13, 18, 20, and 21: Karyotype/phenotype correlations. *Prenat Diagn* 17:201-242.
- Hume RP, Kilmer-Ernst P, Ebraim AAD, Treadwell MC, Johnson MP, Evans ML. 1995. Prenatal cytogenetic abnormalities: Correlations of structural rearrangements and ultrasonographically detected fetal anomalies. *Am J Obstet Gynecol* 173:1334-1338.
- ISCN. 1995. An international system for human cytogenetic nomenclature. In: Mitelman F, editor. Basel: Karger S.
- Knoblauch H, Semmer D, Zimmer C, Tennstedt C, Heling K, Bollmann R, Bommer C, Tinschert S, Korner H. 1999. Fetal trisomy 10 mosaicism: Ultrasound, cytogenetic, and morphologic findings in early pregnancy. *Prenat Diagn* 19:379-382.
- Kuller JA, Laifer SA. 1991. Trisomy 15 associated with non-immune hydrops. *Am J Perinat* 8:39-40.
- Li MM, Howard-Peebles PN, Killos LD, Falloon L, Listgarten E, Stanley WS. 2000. Characterization and clinical implications of marker chromosomes identified at prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 20:138-143.
- Milunsky A. 1998. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In: Milunsky A, editor. Genetic disorders and the fetus. Baltimore: Johns Hopkins University Press. pp 179-248.
- Nicolaides KH, Snijders RJM, Gosden CM, Berry C, Campbell S. 1992. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet* 340:704-707.
- Schwarzler P, Mocosco G, Bernard JP, Hill L, Senat MV, Ville Y. 1999. Trisomy 10: First-trimester features on ultrasound, fetoscopy, and postmortem of a case associated with increased nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 13:67-70.
- Stoll C, Dott B, Alembik Y, Roth MP. 1993. Evaluation of routine prenatal ultrasound examination in detecting fetal chromosomal abnormalities in a low risk population. *Hum Genet* 91:37-41.
- Tachdjian G, Fondacci C, Tapia S, Hutten Y, Blot P, Nessmann C. 1992. The Wolf-Hirschhorn syndrome in fetuses. *Clin Genet* 42:281-287.
- van Karnebeek CDM, Hennekam RCM. 1999. Associations between chromosomal anomalies and congenital heart defects. *Am J Med Genet* 84:158-166.
- Wang J, Spitz L, Hayward R, Kiely E, Hall CM, O'Donoghue DP, Palmer R, Goodman FR, Scambler PJ, Winter RM, Reardon W. 1999. Sacral diagenesis associated with terminal deletion of chromosome 7q: A report of two families. *Eur J Pediatr* 158(11):902-905.
- Warburton D. 1984. Outcome of cases of the novo structural rearrangements diagnosed at amniocentesis. *Prenat Diagn (Special Issue)* 4: 69-80.
- Wislimiroff JW, Bhaggoe WR, Kristelijn M, Cohen-Overbeek TE, Den Hollander NS, Brandeburg H, Los FJ. 1995. Sonographically determined anomalies and outcome in 170 chromosomally abnormal fetuses. *Prenat Diagn* 15:431-438.

### 3.4 ARTICLE N°3

**Títol:** Turner Syndrome: Evaluation of Prenatal Diagnosis in 19 European Registries.

**Revista:** Am J Med Genet 2004 129(A) 16-20.



## Turner Syndrome: Evaluation of Prenatal Diagnosis in 19 European Registries

Neus Baena,<sup>1,6\*</sup> C. De Vigan,<sup>2</sup> E. Cariatì,<sup>3</sup> M. Clementi,<sup>4</sup> C. Stoll,<sup>5</sup> M.R. Caballín,<sup>6</sup> M. Guitart<sup>1</sup>, and The Euroscan working group

<sup>1</sup>Genetics Laboratory, Corporació Sanitària Parc Taulí, Institut Universitari Parc Taulí-UAB, Sabadell, Spain

<sup>2</sup>Paris Registry of Congenital Anomalies and INSERM U149, Villejuif, France

<sup>3</sup>Prenatal Diagnosis Service, Istituto di Gynecologia e Obstetria, Firenze, Italy

<sup>4</sup>Genetica Clinica e Epidemiologica, Padova, Italy

<sup>5</sup>Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

<sup>6</sup>Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain

This study evaluated the prenatal diagnosis of Turner syndrome by ultrasound examination in an unselected population from all over Europe. Data from 19 congenital malformation registries from 11 European countries were analyzed. Turner syndrome was diagnosed in 125 cases (7.2%) in a total of 1,738 chromosome abnormalities. Sixty-seven percent of cases were detected prenatally by ultrasound examination due to the presence of congenital defects. The most frequent anomalies were cystic hygroma (59.5%) and hydrops fetalis (19%). The most frequent karyotype was 45,X (81.6%) followed by different types of mosaicism (16.8%). Significant differences in congenital defects ( $P=0.0003$ ) were observed between 45,X karyotypes and 45,X mosaicism cases. Prenatal counseling for 45,X mosaicism should take into account the expectation of a milder phenotype. In 78.6% of cases diagnosed by ultrasound examination due to congenital anomalies, the pregnancy was terminated. Prenatal detection of Turner syndrome by ultrasound examination was high in this unselected population.

© 2004 Wiley-Liss, Inc.

**KEY WORDS:** prenatal diagnosis; Turner syndrome; ultrasound; congenital anomalies; congenital malformations

### INTRODUCTION

Turner syndrome, first described in 1938, is the commonest sex chromosome abnormality in females, affecting an estimated 3% of all females conceived. The frequency among liveborn females is 1/2,500 [Hsu, 1998], and as many as 15% of spontaneous miscarriages have a 45,X karyotype [Hook, 1978]. It has been estimated that only 1 in 100 embryos with a 45,X karyotype survive to term [Cockwell et al., 1991].

The syndrome is typically associated with the absence of one sex chromosome (45,X), although mosaicism or structural abnormality in one sex chromosome may also be responsible for the condition.

Turner syndrome covers a broad spectrum of features, from major heart defects to minor cosmetic issues. Some individuals with Turner syndrome present with only a few features, while others have many. Almost all affected individuals with Turner syndrome sufferers have short stature and ovarian failure. Short stature has been associated with haplo-insufficiency of a critical chromosomal region (distal to Xp22.2), which escapes inactivation, and in which the short-stature-homeobox (*SHOX*) gene resides [Rao et al., 1997]. *USP9X* is a candidate gene for the gonadal dysgenesis associated with Turner syndrome; it maps to Xp11.4, a region that escapes X inactivation. The *DIAPH2* gene located at Xq is required for normal ovarian function [Zinn and Ross, 2000].

Most prenatally detected cases of Turner syndrome are discovered in cytogenetic studies performed for advanced maternal age, congenital anomalies, or biochemical screening. Multiple marker screening such as high hCG levels and low estriol levels also identify Turner syndrome [Saller et al., 1992]. Using alphafetoprotein, free hCG- $\beta$  and inhibin A, Wenstrom et al. [1998] obtained a detection rate of 53% for Turner syndrome, taking into account a cutoff of 1/270.

Advanced maternal age is not associated with an increased incidence of the condition. The parental origin of the single X in individuals with a 45,X karyotype was maternal in 77.8% of cases [Lorda-Sánchez et al., 1992].

The most useful tool in prenatal diagnosis is ultrasonography. Typical findings in Turner syndrome are increased nuchal translucency, cystic hygroma, and renal and cardiac defects [Ranke and Saenger, 2001].

This study describes prenatal detection by ultrasound examination of 125 cases of Turner syndrome from 19 European congenital malformation registries for the period 1996–1998.

Participants and Registries of Congenital Malformation contributing to the Euroscan Study of Prenatal Diagnosis of Congenital anomalies by Fetal Ultrasonographic Examination: **Austria** (Styria) M. Haeusler; **Croatia** (Zagreb) I. Barisic, R. Matejic; **Denmark** (Odense) E. Garne; **France** (Paris) C. De Vigan, V. Vodovar; (Strasbourg) C. Stoll, Y. Alembik, B. Dott; **Germany** (Leipzig) U.G. Froster; (Mainz) A. Queisser-Luft, A. Wiesel; **Italy** (NE Italy) R. Tenconi, M. Clementi, F. Benedicenti; (Sicily) S. Bianca, G. Ettore; (Tuscany) E. Cariatì, F. Bianchi; **Lithuania** V. Kukinskas, A. Utkus; **Netherlands** (Northern Netherlands) H.E.K. De Walle; (Souwestern Netherlands) G.R.J. Zandwijken; **Spain** (Basque Country) S. Garcia-Minaur, G. Aranguren; (El Valles) N. Baena; **UK** (Oxford) P.A. Boyd; (Wessex) D.G. Wellesley.

Grant sponsor: European Union BIOMED2 Concerted Action; Grant number: CEE BMH4 CT 96-0539; Grant sponsor: Fondo de Investigaciones Sanitarias; Grant number: 98/1525.

\*Correspondence to: Neus Baena, Corporació Parc Taulí, Laboratori Genètica, Parc Taulí, s/n, 08208 Sabadell, Spain. E-mail: nbaena@cspt.es

Received 23 April 2003; Accepted 30 December 2003

DOI 10.1002/ajmg.a.30092

© 2004 Wiley-Liss, Inc.

## MATERIALS AND METHODS

Nineteen congenital malformation registries from 11 European countries provided the data. Sixteen of these registries participate in the EUROCAT program. All of them use the methodology described in EUROCAT Report 7 [1997], published in 1997, and all but two (Austria and Leipzig) were population-based. The registries were all based on multiple sources so as to ensure complete and accurate information [Clementi and Stoll, 2001].

Routine prenatal ultrasound screening (US) for congenital malformations was performed in all registry areas except Denmark and the Netherlands. Termination of pregnancy (TOP) after prenatal diagnosis of congenital defects was allowed in all registry areas. The differences in local policies are shown in Table I.

All livebirths (LB), stillbirths (SB)  $\geq 15$  weeks, and TOPs with karyotype confirmation of Turner syndrome diagnosed prenatally or in the first 7 days of life were included in the study. The study lasted from 01/07/96 to 31/12/98. Four registries did not cover the whole time period. A total of 664,340 births were included and 1,738 chromosome abnormalities were recorded.

The registration form was completed by a member of the medical staff, and contained information regarding the mother (age, parity), the infant/fetus (gestational age at birth, sex), ultrasound scans (scan yes or no, first suspicion, confirmation, type of scan), and outcome of pregnancy, including postnatal examination and confirmation.

The coding system used for diagnosis by all participating registries was the ICD/BPA [British Paediatrics Associations, 1979]. All forms with a diagnosis of Turner syndrome (75,860–75,869) were recorded in a database (MS Access, Windows environment) for this analysis. Diagnoses were validated in both local and central databases. The protection of privacy was ensured.

In cytogenetic studies, chorionic villi, amniotic fluid, cord blood or peripheral blood samples were analyzed. G or R banding was used and karyotypes were described according to the International System for Human Cytogenetic Nomenclature [ISCN, 1995]. A minimum of 20 metaphases from at least two cultures were analyzed. Mosaicism was considered when the same chromosome abnormality was seen in more than one cell and in two different cultures.

For data analysis we used the statistical package for the social sciences (SPSS) version 11.0.

## RESULTS

Turner syndrome was present in 125 cases (7.2%) in a total of 1,738 chromosome abnormalities collected from 19 registries. Eighty-four cases (67.2%) were detected prenatally by US examination due to the presence of congenital anomalies. The highest detection rate by US in Turner syndrome cases was observed in the following registries: Paris (91%), Basque Country (82%), Strasbourg (80%), Lausanne (78%), and Wessex (77%).

Table II shows karyotypes found in cases with Turner syndrome. The most frequent karyotype was 45,X (81.6%), followed by mosaicism (16.8%). 45,X karyotype was found in 90.4% of cases detected by US and in 63.4% of those not detected by US. Mosaicism was found in 9.5% of cases detected by US and in 31.6% of cases not detected by US. The detection rate by US in cases with a 45,X karyotype was significantly greater than in cases with 45,X mosaicism ( $P = 0.001$ ).

Congenital anomalies detected during US examination are shown in Table III. The most frequent were cystic hygroma (59.5%), hydrops fetalis (19%), and congenital heart defect (7.8%), the most frequent being aortic coarctation. One congenital anomaly was present in 69.1% of cases and two or more in 30.9%. Only eight cases of Turner syndrome not detected by US showed congenital anomalies at the end of pregnancy; among these, the most frequent was congenital heart defect. Out of all cases, 63.7% (65/102) with a 45,X karyotype and 38.1% (8/21) with 45,X mosaicism showed congenital defects. Significant differences were observed between these groups ( $P = 0.003$ ).

Mean gestational age of detection by US was 19 weeks (range 11–40 weeks). 90.5% were detected before 24 weeks of gestation (the legal limit for TOP in the majority of European countries), 17.8% were diagnosed during the first trimester and 72.6% during the second. Cystic hygroma, the most frequent congenital anomaly, was detected in 21.7% of cases during the first trimester and in 71.1% during the second trimester.

In cases detected by US examination, mean maternal age was 29 years (range 18–40 years), and 84.1% of these cases were from women younger than 35 years. In cases not detected by US and without congenital anomalies 54.8% were from women below 35.

The outcome of the 125 cases of Turner syndrome is shown in Table IV. In 78.6% of cases diagnosed by US examination, the pregnancy was terminated. The percentage of SB was higher in the cases diagnosed by US (84.6%, 11/13).

TABLE I. Differences in Policies for Congenital Anomalies Screening and for Termination of Pregnancy

Ultrasonographic examination	
No routine scan	<b>DK</b> (Odense), <b>NL</b> (Groningen, Rotterdam)
1 scan	<b>UK</b> (Oxford, Wessex): 20 wks
2 scans	<b>A</b> (Styria): 20, 30 wks <b>CH</b> (Lausanne): 10, 20 wks <b>LT</b> (Lithuania): 16, 20 wks
3 scans	<b>CR</b> (Zagreb), <b>D</b> (Leipzig, Mainz), <b>F</b> (Paris, Strasbourg), <b>I</b> (Firenze, NE Italy, Sicily), <b>SP</b> (Barcelona, Basque Country, El Valles): 10, 20, 30 wks
Triple test for Down's screening	
No	<b>A</b> (Styria), <b>CR</b> (Zagreb), <b>DK</b> (Odense), <b>LT</b> (Lithuania), <b>NL</b> (Groningen, Rotterdam), <b>SP</b> (Barcelona, Basque Country, El Valles)
Yes	<b>CH</b> (Lausanne), <b>D*</b> (Leipzig, Mainz), <b>F*</b> (Paris, Strasbourg), <b>I</b> (Firenze, NE Italy, Sicily), <b>UK</b> (Oxford, Wessex)
Termination of pregnancy	
No upper limit	<b>D</b> (Leipzig, Mainz), <b>F</b> (Paris, Strasbourg)
$\leq 22-24$ wks	<b>A</b> (Styria), <b>CH</b> (Lausanne), <b>CR</b> (Zagreb), <b>DK</b> (Odense), <b>I</b> (Firenze, NE Italy, Sicily), <b>LT</b> (Lithuania), <b>NL</b> (Groningen, Rotterdam), <b>SP</b> (Barcelona, Basque Country, El Valles), <b>UK**</b> (Oxford, Wessex)

\*Policy began during study.

\*\*Rarely  $> 24$  wks.

TABLE II. Karyotypes of Turner Syndrome Cases

Karyotype	Detected by US		Not detected by US		Total	
	No. cases	%	No. cases	%	No. cases	%
	45,X	76	90.4	26	63.4	102
45,X/46,XX	5	5.9	8	19.5	13	10.4
45,X/47,XXX	1	1.2	3	7.3	4	3.2
45,X/46,XY	1	1.2	1	2.4	2	1.6
45,X/46,XX/47,XXX	1	1.2	—	—	1	0.8
45,X/46,X,del(X)(q23)	—	—	1	2.4	1	0.8
46,X,del(X)(q21)	—	—	1	2.4	1	0.8
46,X,i(X)(q)	—	—	1	2.4	1	0.8
Total	84		41		125	

DISCUSSION

Turner syndrome was diagnosed in 125 cases (7.2%) out of a total of 1,738 chromosomal abnormalities. The frequency of the syndrome in this series is lower than those reported by Nicolaides et al. [1992, 12.6%], Hume et al. [1995, 12.2%], Hanna et al. [1996, 19.8%], and Farina et al. [1999, 18%]. The difference may be due to the fact that those studies were based on pregnant women referred to prenatal diagnosis units, whereas our study is the largest series based on unselected populations and routine screening.

Fetal congenital anomalies in Turner syndrome cases were detected by US examination in 67.2% of cases. Turner syndrome was the most frequent syndrome detected prenatally by US [De Vigan et al., 2001] whereas in other series the most frequent was trisomy 18 [Nicolaides et al., 1992; Wladimiroff et al., 1995]. However, many LB with Turner syndrome go unnoticed during the neonatal period and are only diagnosed later. About 90% of all postnatal diagnoses of Turner syndrome were made in the first 15 years of life [Gravholt et al., 1996].

The most frequent karyotype in Turner syndrome was 45,X. The incidence reported in this study (81.6%) was considerably higher than the average of 50% found in other studies [Hook and Warburton, 1983; Hassold et al., 1988, 1992; Hook et al., 1989; Saenger, 1996]. Previous reports have demonstrated that as many as 80% of 45,X infants have an undetected, additional normal cell line [Hook and Warburton, 1983]. The additional cell line is probably not detected in cases without

TABLE III. Fetal Congenital Anomalies in Turner Syndrome Cases

Type of congenital anomaly	Detected by US		Not detected by US	
	No. cases	%	No. cases	%
	Cystic hygroma	69	59.5	1
Central nervous system	2	1.7	2	18.2
Congenital heart defect	9	7.8	4	36.4
Pulmonary defect	4	3.5	—	—
Renal defect	3	2.6	2	18.2
Abdominal wall defect	1	0.9	—	—
Hydrops fetalis	22	19	2	18.2
Nuchal thickening	4	3.5	—	—
Short femur	2	1.7	—	—
Total	116	—	11	—

TABLE IV. Outcome of Turner Syndrome Cases

	TOP	SB	LB	Total
Detected by US	66 (78.6%)	11 (13.1%)	7 (8.3%)	84
Not detected by US	17 (41.5%)	2 (4.9%)	22 (53.7%)	41
Total	83 (66.4%)	13 (10.4%)	29 (23.2%)	125

TOP, termination of pregnancy; LB, Livebirth; SB, Stillbirth.

congenital anomalies [Amiel et al., 1996]. The detection of chromosomal mosaicism depends on several factors, including the number of cells examined [Hook, 1977], the number and types of tissues studied, the culture technique used, and whether in vivo or in vitro selection against one of the cell lines occurs [Procter et al., 1984].

In agreement with Amiel et al. [1996], we found that the presence of congenital defects was statistically higher ( $P = 0.003$ ) in 45,X cases (63.7%) than in 45,X mosaicism (38.1%). Furthermore, Hsu [1998] found that the percentage of abnormal outcome in 45,X mosaicism is low (12.4%) in a series of 265 cases.

Robinson et al. [1995] found that 45,X mosaicism almost always results from the loss of a chromosome from a normal disomic fertilization. Prevalence of 45,X mosaicism is greater in LB than in abortuses, suggesting that the prevalence of a second line could increase the chances of survival. X monosomy is compatible with survival in most fetal tissues; however, two sex chromosomes may be essential for early fetal development or for fetal placental function [Held et al., 1992]. Thus, a monosomy X conception may be unlikely to survive long enough to be "rescued" by duplication of one chromosome [Robinson et al., 1995].

Most chromosomal abnormalities, (trisomy 18 and 21), were diagnosed in referrals beyond 20 weeks of gestation, during the late second and early third trimesters of pregnancy [Nicolaides et al., 1992; Wladimiroff et al., 1995]. Nevertheless, fetuses with Turner syndrome were diagnosed earlier in pregnancy. In the present study, 90.5% of cases detected by US examination were diagnosed before 24 weeks of gestation, and 72.6% of them were detected in the second trimester, a rate close to those reported by Nicolaides et al. [1992] and Wladimiroff et al. [1995] (97 and 76%, respectively).

Turner syndrome is specifically associated with cystic hygroma and hydrops fetalis [Azar et al., 1991; Nicolaides et al., 1992; Wladimiroff et al., 1995; Hanna et al., 1996]. In our study these two conditions were present in 78.5% of cases. A finding of cystic hygroma in the first trimester carries an increased risk for fetal aneuploidy of autosomes (21, 18, and 13), but cystic hygroma detected in the second trimester is strongly associated with 45,X [Johnson et al., 1993; Hsu, 1998]. In the present study, 71.1% of cases with Turner syndrome associated with cystic hygroma were diagnosed in the second trimester, a rate similar to the 60% described by Johnson et al. [1993]. Cystic hygroma in Turner syndrome and other aneuploidies may be produced by subtly different mechanisms. This theory is supported by the finding that 45,X fetuses have generalized edema and differ from other aneuploidies by having preductal aortic coarctation and a decrease in the number of lymphatic vessels [Johnson et al., 1993].

An increased risk of congenital heart defect is associated with Turner syndrome. Its incidence varied between 20 and 40% of cases [Pilu, 1992; Saenger, 1996], but in our series congenital heart defect was present only in 10.4% of cases. Unexpectedly, we found four cases with Turner syndrome associated with central nervous system defects and four other cases with pulmonary defects.

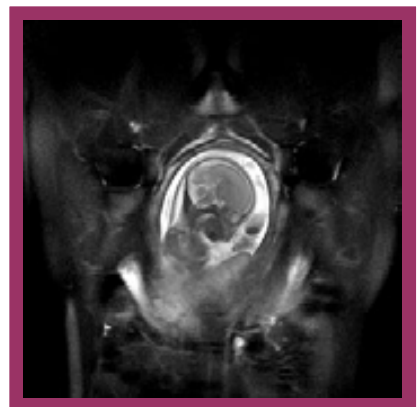
## 20 Baena et al.

- Ranke MB, Rosenthal A, Ogata T, Rappold GA. 1997. Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat Genet* 16:54–63.
- Robinson W, Binkert F, Bernasconi F, Lorda-Sánchez I, Werder EA, Schinzel AA. 1995. Molecular studies of chromosomal mosaicism: Relative frequency of chromosome gain or loss and possible role of cell selection. *Am J Hum Genet* 56:444–451.
- Saenger P. 1996. Turner's syndrome. *N Engl J Med* 335(23):1749–1754.
- Sagi M, Meiner V, Reshef N, Dagan J, Zlotogora J. 2001. Prenatal diagnosis of sex chromosome aneuploidy: Possible reasons for high rates of pregnancy termination. *Prenat Diagn* 21:461–465.
- Saller DN, Canick JA, Schwartz S, Blitzer MG. 1992. Multiple marker screening in pregnancies with hydropic and non hydropic Turner syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 167:1021–1024.
- Wenstrom KD, Chu DC, Owen J, Boots L. 1998. Maternal serum  $\alpha$ -fetoprotein and dimeric inhibin A detect aneuploidies other than Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 179:966–970.
- Wladimiroff JW, Bhaggoe WR, Kristelijn M, Cohen-Overbeek TE, Den Hollander NS, Brandeburg H, Los FJ. 1995. Sonographically determined anomalies and outcome in 170 chromosomally abnormal fetuses. *Prenat Diagn* 15:431–438.
- Zinn AR, Ross JL. 2000. Critical regions for Turner syndrome phenotypes on the X chromosome. In: Saenger P, Pasquino AM, editors. *Optimizing health care for Turner patients in the 21st century*. Elsevier. p 19–28.

### 3.4 ARTICLE N°4

**Títol:** Contribution of ultrasonographic examination to the prenatal detection of chromosomal abnormalities in 19 centres across Europe.

**Revista:** *Ann Genet* 2001, 44:209-217.





## Contribution of ultrasonographic examination to the prenatal detection of chromosomal abnormalities in 19 centres across Europe

C. De Vigan<sup>a</sup>, N. Baena<sup>b</sup>, E. Cariat<sup>c</sup>, M. Clementi<sup>d</sup>, C. Stoll<sup>e\*</sup>,  
 and the EUROSCAN working group<sup>#</sup>

<sup>a</sup> Paris Registry of Congenital Anomalies, INSERM U149, Villejuif, France

<sup>b</sup> Genetic Laboratory, Corporacio Sanitaria Parc Tauli, Sadabell, Spain

<sup>c</sup> Prenatal Diagnosis Service, Istituto di Gynecologia e Obstetria, Firenze, Italy

<sup>d</sup> Genetica Clinica e Epidemiologica, Padova, Italy

<sup>e</sup> Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Avenue Molière, 67098 Strasbourg Cedex, France

Received 26 October 2001; accepted 21 November 2001

**Abstract** – The objective of this study was to evaluate the prenatal detection of chromosomal abnormalities by fetal ultrasonographic examination in a large database provided by 19 Registries of Congenital Anomalies from 11 European countries. This study included 1738 cases of chromosomal abnormalities, liveborn, stillborn or termination of pregnancy regardless of maternal age from a population of 664,340 births during the period 1996 – 1998. The most frequent chromosomal anomalies were Down syndrome (n=1050), trisomy 18 (n=191), Turner syndrome (n=125), trisomy 13 (n=86), and triploidy (n=56). Fetal ultrasonographic examination resulted in the prenatal detection of 37.7% of the chromosomal abnormalities, thereby resulting in a reduction of 28.6% in their prevalence at birth due to terminations of pregnancy. The detection rate by ultrasound examination varied according to local policies of prenatal diagnosis: it was lower in countries where routine scan were not performed and higher in countries in which at least one routine anomaly scan during the second trimester of pregnancy was performed. The ultrasound detection varied according to the specific chromosomal anomaly and was lowest for Klinefelter syndrome (5.7%) and highest for triploidy (78.6%). For Down syndrome it was 26.4%. Termination of pregnancy was performed in 75.9% of the cases. Among the 655 cases detected by ultrasound, the most frequent ultrasound signs by category of chromosomal abnormalities were analysed. This study shows that ultrasound screening is an important tool in the prenatal detection of chromosomal abnormalities in Europe, leading to a significant reduction in the prevalence of livebirth children with chromosomal anomalies. © 2001 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

**Prenatal diagnosis / Prenatal ultrasound / Ultrasonography / Chromosomal abnormalities / Pregnancy outcome / Europe**

### 1. Introduction

Ultrasonographic examination during pregnancy is now a routine part of prenatal care in most European countries and contributes substantially to the prenatal detection of major malformations. This leads to a better perinatal care in the case of correctable malformations and to the possibility of termination of

pregnancy (TOP) in the case of lethal or severely handicapping anomalies.

The association between structural defects and chromosomal abnormalities is well known [8, 10, 21]. Most of these structural defects can be detected by the second-trimester scan, the morphological or anomaly scan. More recently some minor ultrasonographic markers called “soft” markers associated with a chro

\* Correspondence and reprints.

E-mail address: Claude.Stoll@chru-strasbourg.fr (C. Stoll).

<sup>#</sup> Participants and Registries of Congenital Malformation contributing to the Euroscan Study of Prenatal Diagnosis of Congenital Anomalies by Fetal Ultrasonographic Examination: **Austria** (Styria) Haeusler M; **Croatia** (Zagreb) Barisic I, Matejic R; **Denmark** (Odense) Game E; **France** (Paris) De Vigan C, Vodovar V; (Strasbourg) Stoll C, Alembik Y, Dott B; **Germany** (Leipzig) Froster UG; (Mainz) Queisser-Luft A, Wiesel A; **Italy** (NE Italy) Tenconi R, Clementi M, Benedicenti F; (Sicily) Bianca S, Ettore G; (Tuscany) Cariat E, Bianchi F; **Lithuania** Kucinskis V, Utkus A; **Netherlands** (Northern Netherlands) De Walle HEK; (Southwestern Netherlands) Zandwijken GRJ; **Spain** (Barcelona) Salvador J, Lladonosa A; (Basque Country) Garcia-Minaur S, Aranguren G; (El Valles) Baena N, Guitart M; **Switzerland** (Lausanne) Ador MC, Poscia G; **UK** (Oxford) Boyd PA; (Wessex) Wellesley DG

mosomal abnormality i.e. nuchal thickness and trisomy 21 have been identified [10, 14].

Few recent studies, however, have reported on the effectiveness of routine ultrasound examination for the prenatal detection of chromosomal abnormalities in unselected populations [2, 3, 16].

The objectives of this study, which uses data from 19 European registers of congenital malformation for the period 1996–98, were 1/ to evaluate the prenatal detection of chromosomal abnormalities by fetal ultrasonographic examination, according to local ultrasound policies and to the category of chromosomal abnormality; and 2/ to analyse the ultrasound signs by category of chromosomal abnormality in the set of cases detected by ultrasonographic examination. This study focused on the detection of major malformations in chromosomal abnormalities, because not all registries recorded soft markers.

## 2. Material and methods

Data were provided by 19 Registries of Congenital Malformations from 11 European countries. Sixteen of them collaborate in the EUROCAT programme, use the same epidemiological methodologies and their general characteristics have been previously described [6]. For this study the remaining registries also used this methodology.

Routine prenatal ultrasound screening for congenital malformations was performed in all registry areas except in the Danish registry and in the Netherlands. In countries with more than one ultrasound scan offered (*table 1*), the scan performed in first and/or third trimester of pregnancy was mainly for biometric

purposes and not for studying soft markers or for measuring nuchal thickness. This was done in a few cases only. Trained operators performed the ultrasound scan. The policy was for referring for confirmation to a specialised ultrasound center all malformations prenatally suspected in a district hospital.

Termination of pregnancy (TOP) after prenatal diagnosis of major congenital malformations was allowed in all registry areas. Maternal serum markers screening was not performed routinely at the period of this study.

The registries were all based on multiple sources of information for complete and accurate notification. All live-births, stillbirths and TOP's with a chromosomal abnormality with or without a major malformation defined as a structural abnormality detectable by ultrasound, diagnosed prenatally or within the first seven days of life were included in this study. Cases without complete information on the results of fetal ultrasound examination were excluded as well as the cases without ultrasound examination. Therefore this study is not a study on the prevalence of chromosomal abnormalities. Fetal deaths less than 20 weeks were excluded except for the few spontaneous miscarriages after prenatal diagnosis (n=16). An abnormal ultrasound finding was confirmed by karyotyping and TOP was performed after having obtained the results of the fetal karyotype.

The registration form was completed by a member of the medical staff and contains information regarding time of diagnosis, the suspected and confirmed prenatal diagnosis, the mother, the pregnancy and the pregnancy outcome.

The coding system used by all participating registries for diagnosis was ICD/BPA9 [1]. All forms

**Table 1.** Differences in policies for ultrasound screening and for termination of pregnancies.

<i>Ultrasonographic Examination (gestational age at scan)</i>	
No routine scan	DK (Odense), NL (Groningen, Rotterdam)
1 scan	UK (Oxford, Wessex): 20 wks
2 scans	A (Styria): 20, 30 wks CH (Lausanne): 10, 20 wks LT (Lithuania): 16, 20 wks
3 scans	CR (Zagreb), D (Leipzig, Mainz), F (Paris, Strasbourg), I (Firenze, NE Italy, Sicily), SP (Barcelona, Basque Country, El Valles): 10, 20, 30 wks
<i>Termination of Pregnancy</i>	
No upper limit	D (Leipzig, Mainz), F (Paris, Strasbourg)
<=22 to 24 wks	A (Styria), CH (Lausanne), CR (Zagreb), DK (Odense), I (Firenze, NE Italy, Sicily), LT (Lithuania), NL (Groningen, Rotterdam), SP (Barcelona, Basque Country, El Valles), UK* (Oxford, Wessex)

\* rarely > 24 wks

including a diagnosis on the list of inclusion for the study were transferred to a database (MS Access, Windows environment) for the analysis. The validation was performed at local and at central database level. The protection of privacy was assured, therefore confidentiality was preserved. Diagnosis for inclusion in the chromosomal subgroup were the ICD/BPA coding numbers 758.00 to 758.99.

The study period was 01.07.96 to 31.12.98 but not all registries covered the whole time period. Total number of births in the registry areas were 664 269. The list of participating registries with the ultrasound and termination of pregnancy policies are on *table I*.

The statistical analysis was made using SAS package, after conversion of the data from Access.

### 3. Results

#### 3.1. Global results

The 19 registries collected a total of 1738 cases of chromosomal abnormalities. *table II* lists the registries and summarises the number of cases and the pregnancy outcomes collected by each registry. TOP was the most frequent outcome: 53.6% of the pregnancies were terminated, with the rate varying according to registry from 3.2% in Lithuania to 80.2% in

Paris. When we looked at the impact of ultra-sound (US), we examined Lithuania and Croatia separately, because of their low rates of TOP, despite a routine scanning policy.

The impact of ultrasound examination according to the US policy is shown in *table III*. The ultrasound detection rate and the rate of TOP were quite similar in the countries where 1, 2 or 3 US examinations were routinely performed. Both rates were significantly lower when there was no routine ultrasound, or even when 2 or 3 scans were performed, in Croatia and Lithuania. Globally, 37.7% of the chromosomal abnormalities were detected by ultrasound. The TOPs that followed the ultrasound findings led to a reduction of 28.6% in the prevalence of chromosomal abnormalities at birth.

The impact of US was slightly greater when we considered only the 896 mothers who, because they were younger than 35 years of age, would not have undergone routine amniocentesis because of their age: the detection rate was 43.5% and the termination rate was 31.5%.

The principal categories of chromosomal abnormalities were trisomy 21 ( $n=1050$ ), trisomy 18 ( $n=191$ ), Turner syndrome ( $n=125$ ), trisomy 13 ( $n=86$ ) and polyploidy ( $n=56$ ) (*table IV*). The total termination rate was highest in triploidy (82.1%),

**Table II.** Number of cases of chromosomal abnormalities by registry, with pregnancy outcomes.

	Number of births covered	Total number of cases			
		N	Live-births	Still-births	TOP*
Styria (A)	29 026	25	11 (44.0)	1 (4.0)	13 (52.0)
Lausanne (CH)	18 907	92	28 (30.4)	3 (3.3)	61 (66.3)
Croatia (CR)	10 718	19	14 (73.7)	1 (5.3)	4 (21.0)
Leipzig (D)	8 745	8	1 (12.5)	2 (25.0)	5 (62.5)
Mainz (D)	9 535	34	16 (47.1)	4 (11.8)	14 (41.2)
Odense (DK)	8 788	24	11 (45.8)	2 (8.3)	11 (45.8)
Paris (F)	27 550	177	32 (18.1)	3 (1.7)	142 (80.2)
Strasbourg (F)	33 155	136	39 (28.7)	6 (4.4)	91 (66.9)
Firenze (I)	67 120	181	53 (29.3)	2 (1.1)	126 (69.6)
NE Italy (I)	111 719	188	71 (37.8)	0	117 (62.2)
Sicilia (I)	25 339	53	41 (77.4)	0	12 (22.6)
Lithuania (LT)	95 469	125	212 (96.8)	0	4 (3.2)
Groningen (NL)	34 085	82	54 (65.8)	6 (7.3)	22 (26.8)
Rotterdam (NL)	47 895	39	29 (74.4)	4 (10.3)	6 (15.4)
Barcelona (SP)	19 357	56	14 (25.0)	1 (1.8)	41 (73.2)
Basque Countr (SP)	32 429	157	63 (40.1)	1 (0.6)	93 (59.2)
El Valles (SP)	5 737	24	8 (33.3)	0	16 (66.7)
Oxford (UK)	13 136	66	16 (24.2)	6 (9.1)	44 (66.7)
Wessex (UK)	65 559	252	116 (46.0)	26 (10.3)	110 (43.7)
Total	664 269	1738	738 (42.5)	68 (3.9)	932 (53.6)

\* TOP = termination of pregnancy

**Table III.** Impact of ultrasound (US) according to local screening policy.

Ultrasound policy	Nb cases		Detection by US		TOP*	
	N	n	%	n	% (n/N)	
No routine ultrasound : Denmark, The Netherlands	145	23	15.9	9	6.2	
1 US examination: United Kingdom	318	143	45.0	109	34.3	
2 US examinations: Austria, Switzerland	117	51	43.6	39	33.3	
2 or 3 US examinations: Croatia, Lithuania	144	16	11.1	8	5.6	
3 US examinations: Germany, France, Italy, Spain	1014	422	41.6	344	33.9	
Total	1738	655	37.7	497	28.6	

\* TOP = termination of pregnancy

**Table IV.** Categories of chromosomal abnormalities and pregnancy outcomes.

	Nb cases		Terminations of pregnancy (TOP)		TOP after ultrasound anomaly and karyotype	
	N	n	% (n/N)	n	% (n/N)	
<i>Autosomal abnormalities</i>						
Trisomy 21	1050	518	49.3	207	19.7	
Trisomy 18	191	129	67.5	93	48.7	
Trisomy 13	86	56	65.1	45	52.3	
Other trisomies	40	22	55.0	8	20.0	
Autosomal deletions	68	22	32.3	16	23.5	
Unbalanced translocations	33	16	48.5	13	39.4	
Other autosomal abnormalities	21	12	57.1	7	33.3	
<i>Sex chromosome abnormalities</i>						
Turner syndrome	125	83	66.4	66	52.8	
Klinefelter syndrome	35	21	60.0	1	2.9	
Other sex chromosome abnormalities	35	7	20.0	3	8.6	
<i>Triploidy</i>	56	46	82.1	38	67.9	
Total number	1738	932	53.6	497	28.6	

followed by trisomy 18, trisomy 13 and Turner syndrome (between 65 and 67%). Although, globally, more than half the terminations followed ultrasound findings, confirmed by karyotyping, this percentage varied substantially according to the chromosomal anomalies: the percentage of TOP after an ultrasound anomaly was detected and karyotype performed was highest for triploidy (67.9%), followed by trisomy 13, trisomy 18 and Turner syndrome, and lowest for Klinefelter syndrome and other sex chromosome abnormalities (less than 10%).

### 3.2. Detection rate by category of chromosomal abnormality

To assess the rate of prenatal US detection for each category of chromosomal abnormality without underestimating the detection rate, we considered only the 1683 cases with confirmed information on gestational age at US examination. The global detection rate was then 38.9%. *table V* reports the rate of prenatal US detection according to anomaly, as well as the percentage of cases diagnosed before 14 (1st trimester)

**Table V.** Prenatal detection with ultrasound by category and gestational period.

	Nb of cases N	Prenatal detection by ultrasound					
		< 14 weeks of gestation		< 24 weeks of gestation		All gestational periods	
		n	%	n	%	n	%
<i>Autosomal abnormalities</i>							
Trisomy 21	999	95	9.5	224	22.5	264	26.4
Trisomy 18	190	35	18.6	95	50.5	120	63.2
Trisomy 13	85	16	19.0	46	54.8	58	68.2
Other trisomies	39	3	7.7	10	25.6	12	30.8
Autosomal deletions	68	3	4.4	22	32.3	30	44.1
Unbalanced translocations	32	3	9.4	17	53.1	24	75.0
Other autosomal abnormalities	21	4	20.0	8	40.0	10	47.6
<i>Sex chromosome abnormalities</i>							
Turner syndrome	125	29	23.2	82	65.6	84	67.2
Klinefelter syndrome	35	1	2.9	2	5.7	2	5.7
Other sex chromosome abnormalities	35	1	3.0	5	15.2	7	20.0
<i>Triploidy</i>	56	8	14.3	42	75.0	44	78.6
<b>Total</b>	<b>1683</b>	<b>198</b>	<b>11.8</b>	<b>553</b>	<b>33.1</b>	<b>655</b>	<b>38.9</b>

and 24 (limit for TOP) weeks. The detection rate was high (more than 60%) in trisomy 13, trisomy 18, unbalanced translocations, and Turner syndrome; the highest rate (78.6%) was observed for triploidy. The rates were low for Klinefelter syndrome and other sex chromosome abnormalities. US detected more than one quarter of the cases of trisomy 21. Nearly all detected cases of Turner syndrome and triploidy were found before 24 weeks.

For the group of mothers younger than 35 years, the moderate increase in the US detection rate that we observed crossed all categories of chromosomal abnormalities. For example, 27.8% of the trisomy 21 cases were detected instead of 26.4% in the mothers older than 35 years.

Of the 655 pregnancies with chromosomal abnormalities detected after ultrasound anomaly finding and karyotype, 497 (75.9%) were terminated.

### 3.3. Ultrasound signs by type of chromosomal abnormality

The most frequent ultrasound signs observed among the 655 cases of chromosomal abnormalities detected with US are shown in *table VI*, which also reports the percentage of cases detected before 14 and 24 weeks. Among the morphological anomalies, cystic hygroma was observed in 32% of the diagnosed cases, followed by cardiac anomalies, then urinary anomalies, and hydrops fetalis. The most frequent

signs detected before 14 weeks were cystic hygroma and minor ultrasound anomalies (especially nuchal thickening), abdominal wall anomalies, hydrops and holoprosencephaly. Most of the signs were detected before 24 weeks. The lowest detection rates were observed for digestive (50%) and diaphragmatic (60%) anomalies.

*Table VII* shows the most frequent ultrasound signs for the principal categories of chromosomal abnormalities. Among the 264 cases of trisomy 21 detected by ultrasound, 32.6% had cystic hygroma and 41.7% had minor ultrasound anomalies, mainly nuchal thickening. The ultrasound signs for trisomies 13 and 18 varied; we note, nonetheless, that cystic hygroma (21.7% of cases) and minor ultrasound anomalies (30.8%, mainly nuchal thickening) were relatively common in trisomy 18. Out of the 84 cases of Turner syndrome, 82.1% had cystic hygroma and 25.0% had hydrops fetalis. The most frequent US signs in the 44 cases of triploidy were IUGR (40.9%) and hydrocephaly (27.3%).

The leading cause of cystic hygroma, therefore, was trisomy 21 (86 cases), followed by Turner syndrome (69 cases). Together they represented 74% of all cystic hygromas. Morphological anomalies appeared in various types of syndromes; neurological anomalies were more often specific: hydrocephaly was most often observed in triploidy and trisomy 21, holoprosencephaly in trisomy 13, and other neurologi

**Table VI.** The most frequent ultrasound signs in chromosomal abnormalities.

Ultrasound signs	N	Gestational age at diagnosis				
		Frequency	<14 weeks of gestation		<24 weeks of gestation	
			%	n	% (n/N)	n
Cystic hygroma	210	32.1	104	49.5	210	100
Hydrocephaly	35	5.3	1	2.9	29	82.9
Holoprosencephaly	20	3.1	6	30.0	19	95.0
Other neurological	30	4.6	2	6.7	22	73.3
Cardiac	106	16.2	7	6.9	76	74.5
Pulmonary	16	2.4	0	-	11	68.8
Cleft	26	4.0	1	4.0	18	72.0
Digestive	22	3.4	1	4.6	11	50.0
Urinary	54	8.2	5	9.4	42	79.2
Diaphragm	10	1.5	0	-	6	60.0
Abdominal wall	29	4.4	10	37.0	26	96.3
Other musculoskeletal	47	7.2	2	4.3	37	80.4
Hydrops	54	8.2	18	33.3	53	98.1
Various or unspecified	30	4.6	3	10.3	23	79.3
Other ultrasound signs*	206	31.5	77	38.3	180	89.6
Total number of cases	655		198		553	

\* nuchal thickness, intra-uterine growth retardation, choroid plexus, etc....

**Table VII.** Frequency of the most frequent ultrasound signs by category of chromosomal abnormality.

Echographic signs	Trisomy 21		Trisomy 18		Trisomy 13		Turner syndr		Triploidy		Other chromosomal anomalies	
	N=264		N=120		N=58		N=84		N=44		N=111	
	n	%*	n	%*	n	%	n	%*	n	%*	n	%*
Cystic hygroma	86	32.6	26	21.7	9	15.5	69	82.1	4	9.1	16	14.4
Hydrocephaly	9	3.4	6	5.0	3	5.2			12	27.3	5	4.5
Holoprosencephaly			2	1.7	15	25.9			2	4.5	1	0.9
Other CNS			8	6.7	9	15.5	2	2.4	3	6.8	8	7.2
Cardiac	33	12.5	23	19.2	17	29.3	8	9.5	6	13.6	19	17.1
Pulmonary	7	2.7	2	1.7			4	4.8	1	2.3	2	1.8
Cleft	1	0.4	4	3.3	15	25.9			1	2.3	5	4.5
Digestive	18	6.8	1	0.8							3	2.7
Urinary	19	7.2	8	6.7	12	20.7	3	3.6	4	9.1	8	7.2
Diaphragm			5	4.2							5	4.5
Abdominal wall	2	0.8	17	14.2	3	5.2	1	1.2	2	4.5	4	3.6
Musculoskeletal	9	3.4	17	14.2	8	13.8			6	13.6	7	6.3
Hydrops	14	5.3	8	6.7	4	6.9	21	25.0	2	4.5	5	4.5
Various or unspecified	7	2.7	6	5.0	2	3.4	2	2.4	8	18.2	5	4.5
Other ultrasound signs**	110	41.7	37	30.8	11	19.0	5	6.0	18	40.9	25	22.5

\* Percentage are referred to the total number of detected cases. One case can have more than one ultrasound sign

\*\* nuchal thickness, intra-uterine growth retardation, choroid plexus, etc.... were not recorded in all registries

cal anomalies in trisomy 13 and trisomy 18. The leading causes of hydrops fetalis were Turner syndrome (38.9%) and trisomy 21 (25.9%).

The minor ultrasound anomalies were examined in a separate analysis because they were not recorded by all the registries. In the 11 registries that did record

them (*table VIII*), they led to the detection of the chromosomal abnormality in 131 cases (9.7% of the total cases) and was found in association with major malformations in 60 more cases (4.4%). Accordingly, without these minor ultrasound anomalies, the US detection rate would have been 33.9% rather than

**Table VIII.** Ultrasonographic detection due to minor ultrasound anomalies in 11 registries.

11 registries: A (Styria), CH (Lausanne), F (Paris, Strasbourg), I (Firenze, NE Italy), SP (Barcelona, El Valles, Basque Country), UK (Oxford, Wessex)

Portion of ultrasound detection due to minor ultrasound anomalies		
	n / N	%
Total US detection rate	590 / 1354	43.6
Due to major US anomalies	399 / 1354	29.5
Major US anomalies + minor US anomalies	60 / 1354	4.4
Ultrasound anomalies alone	131 / 1354	9.7
Frequency of categories of minor ultrasound anomalies among the 590 detected cases		
Nuchal thickening	111 / 590	18.8%
IUGR	41 / 590	7.0%
Polyhydramnios	14 / 590	2.4%
Short femurs	11 / 590	1.9%
Choroid plexus	17 / 590	2.9%
Echogenic bowel	8 / 590	1.4%

US, ultrasound; IUGR, intra uterine growth retardation

43.6% in these 11 registries. Among the 590 cases detected by US in these registries, the most frequent sign was nuchal thickening in 111 cases (18.8% of detected cases); the other US anomalies (intra-uterine growth retardation, polyhydramnios, short femurs, anomalies of choroid plexus and echogenic bowel) were less frequent and varied substantially between registries. For example, most cases of short femurs were recorded in Paris, of choroid plexus in Oxford and Firenze and of echogenic bowel in Oxford.

#### 4. Discussion

This study shows that ultrasonography is an important tool for the prenatal detection of chromosomal abnormalities: in this large database of 1738 cases of chromosomal abnormalities (all maternal ages included) from 19 European registries for the period 1996–98, ultrasonography led to the prenatal detection of 37.7% of all cases of chromosomal abnormalities, thereby resulting in a 28.6% reduction in their prevalence at birth, due to TOP after the ultrasound findings and fetal karyotyping.

In this study, prenatal ultrasound diagnosis was evaluated in specific geographic areas covered by registries of congenital anomalies. The ultrasound detection rate varied from country to country according to local policies: it was lower in countries where routine scans were not performed (Denmark and The

Netherlands), as well as in Croatia and Lithuania. It was higher in Western countries with a policy of at least one routine ultrasound examination during the second trimester. The total number of scans did not really matter, because the first and third trimester scans are performed primarily for biometric purposes, and because minor ultrasound anomalies were not recorded in all registries and nuchal translucency was not routinely measured.

The large region of variation in the prenatal detection rate of chromosomal anomalies by fetal ultrasound examination has several reasons. Some variations by centre were observed in the prevalence rate; they may be due to differences in the distribution of maternal age or to ascertainment bias in registries with relatively few cases. In the 2 registries from UK scanning was performed mainly by radiographers whereas in the other countries most of the scans were performed by obstetricians and midwives. The quality of the equipment was not the same for the various centres; equipment quality was low in Lithuania and Croatia where the detection rate was lower than in the other centres. Moreover diverse studies of routine scanning of fetal malformations are not strictly comparable because of population differences, methods and timing of scans. Detection rate is higher when the screening test is carried out in one ultrasound unit and lower when results come from multicentre studies [18] as in the present investigations. These variations of detection rate may explain the variations of TOPs in various countries. Another reason at the origin of variation in TOP rate between centres is due to differences in the policy of TOP. For example in all countries participating to this study but France, Germany and UK for some chromosomal anomalies as trisomies 18, 13 and triploidy there is an upper limit to TOP, between 22 and 24 weeks of gestation. However cultural factor have also to be taken into consideration as for example the TOP rate is higher in France than in Germany although the detection rate is the same in both countries.

It is well recognised that up to 40% of pregnancies identified with Down syndrome at 10 to 14 weeks of gestation will result in intrauterine demise [13]. However the registries of congenital anomalies participating to this study did not have information on spontaneous fetal losses. Therefore the true prevalence of Down syndrome can not be obtained by this study.

In recent studies concerning chromosomal abnormality detection by prenatal ultrasound in unselected populations [2, 3, 7, 9, 16], the global US detection rate has varied from 21.5% to 55.6%. Our rate of

37.7% (38.9% for the cases with at least one US) is similar to that observed from 1990–95 in one French county [2]. It is lower than the rate of 55.6% observed by Grandjean [7] in the largest previous European study, which included 378 cases of chromosomal abnormalities from centres participating in the Eurofetus study during 1990–93; but our study includes women excluded from that study, those undergoing amniocentesis for maternal age or other reasons, for whom the initial scan might have detected some ultrasound sign. When we considered only women under 35 years of age, the detection rate was 43.5%. Moreover, our study was designed to record all cases of chromosomal abnormalities in the 19 areas covered by these congenital anomaly registries, that is, in a general population where follow-up is heterogeneous. This latter factor could explain why our rate was lower than that from a prospective study with referral centres.

Measurement of nuchal translucency has been studied often. Few studies, however, have focused on first trimester prenatal detection of chromosomal anomalies, with both ultrasound minor anomalies and structural anomalies [5, 17, 20] most of these studies were from one centre and had a high detection rate of a small number of anomalies. Our first-trimester detection rate was 11.8%, but nuchal translucency was not systematically measured. Since nuchal thickness measurement being introduced the performance of ultrasound at 20 weeks may be less good in the future than at the time of this study [19].

Our US detection rate varied according to the type of chromosomal abnormality. The highest rate was observed in triploidy (79%), then Turner syndrome, trisomy 13, and trisomy 18 (between 63 and 68%). The rate was 26.4% for trisomy 21. These rates, except for trisomy 13, were lower than those observed in the Eurofetus study [7]. They were also lower than those observed in studies of one specific abnormality: 49.4% of the cases of trisomy 21 were detected by US in women younger than 38 years old (no amniocentesis for maternal age) [4], 72% of the cases of trisomy 13 during the first trimester [15], and 83% of the cases of trisomy 18 during the first trimester [12]. Our rates, however, were observed in a large unselected population.

The association between chromosomal abnormalities and structural defects is well known [2, 10, 21] and the association with minor ultrasound anomalies has been well studied. Only a few population studies, however, have looked at structural anomalies by category of chromosomal abnormality [7, 10]. The

importance of structural abnormalities together with ultrasound soft markers is also highlighted in smaller series about first-trimester detection [5, 11, 20]. Because not all registries recorded minor ultrasound anomalies, these signs could be evaluated only in 11 registries. This assessment found that 10% of all cases were detected with minor ultrasound anomalies alone. These are promising techniques that necessitate further evaluation in unselected populations.

There are some more limitations of this study. Only chromosomal abnormalities diagnosed in the first 7 days of live were included, therefore the majority of sex chromosomes anomalies were not detected and those with malformations are over represented. The impact of ultrasound scanning was greater in the women under 35 years old because the older women had an amniocentesis at 15–16 weeks of gestation and so had a termination of pregnancy and no scan around 20 weeks of gestation. The study was on routine scanning. When detailed scanning is undertaken the performance will be better than is these data obtained by routine scanning. Moreover maternal serum markers were not used routinely at the time of this study.

In conclusion, this study shows that in non aged mothers, ultrasound screening is an important tool in the prenatal detection of chromosomal abnormalities in Europe and has led to a significant reduction in their prevalence among live-births. However routine US as a screening approach cannot be recommended without an appropriate training of the ultrasonographers, clear guidelines based on the predictive value of each type of abnormality, and a good equipment.

#### Acknowledgments

The Euroscan Study has received support from the European Union BIOMED2 Concerted Action.

#### References

- [1] British Paediatrics Association Classification of Diseases, The British Paediatrics Association, London, 1979, pp. 1–220.
- [2] Cans C., Amblard F., Devillard F., Pison H., Jalbert P., Joak P.S., Population screening for aneuploidy using maternal age and ultrasound, *Prenat. Diagn.* 18 (1998) 683–692.
- [3] Chitty L.S., Ultrasound screening for fetal abnormalities, *Prenat. Diagn.* 15 (1995) 1241–1257.
- [4] De Vigan C., Vodovar V., Vêrité V., Dehé S., Goujard J., Current French practices for prenatal diagnosis of trisomy 21: a population-based study in Paris, 1992–97, *Prenat. Diagn.* 19 (1999) 1113–1118.
- [5] Economides D.L., Whitlow B.J., Kadir R., Lazakanis M., Verdin S.M., First trimester sonographic detection of chromosomal



abnormalities in an unselected population, *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 105 (1998) 58–62.

[6] EUROCAT Report 7, 15 years of surveillance of congenital anomalies in Europe 1980-1994, A EUROCAT Working Group - Scientific Institute of Public Health - Louis Pasteur, Brussels (1997) 1–181.

[7] Grandjean H., Larroque D., Levi S., Detection of chromosomal abnormalities, an outcome of ultrasound screening. The Eurofetus Team, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 18 (1998) 136–140.

[8] Gross S.J., Screening for the aneuploid fetus, *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* 25 (1998) 573–595.

[9] Levi S., Schaaps J.P., De Haway P., Coulon R., Defoort P., End-result of routine ultrasound screening for congenital anomalies: The Belgian Multicentric Study-92, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 5 (1995) 366–371.

[10] Nicolaides K.H., Snijders R.J.M., Gosden C.M., Berry C., Campbell S., Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities, *Lancet* 340 (1992) 704–707.

[11] Nicolaides K.H., Azar G., Byrne D., Mansur C., Marks K., Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy, *BMJ* 304 (1992) 967–969.

[12] Sherod C., Sebire J., Soares W., Snijders R.J.M., Nicolaides K.H., Prenatal diagnosis of trisomy 18 at the week ultrasound scan, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 10 (1997) 387–390.

[13] Snijders R.J.M., Sebire N., Nicolaides K.H., Maternal age and gestational age specific risk for chromosomal defects, *Fetal. Diagn. Ther.* 10 (1995) 356–367.

[14] Snijders R.J.M., Noble P., Sebire N., Souka A., Nicolaides K.H., for the Fetal medicine Foundation First Trimester

Screening Group, UK multicenter project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation, *Lancet* 352 (1998) 343–346.

[15] Snijders R.J.M., Sebire N.J., Nayar R., Souka A., Nicolaides K.H., Increased nuchal translucency in trisomy 13 fetuses at 10-14 weeks of gestation, *Am. J. Med. Genet.* 86 (1999) 205–207.

[16] Stoll C., Dott B., Alembik Y., Roth M.P., Evaluation of routine prenatal ultrasound examination in detecting fetal chromosomal abnormalities in a low risk population, *Hum. Genet.* 91 (1993) 37–41.

[17] Taipale P., Hilesmaa V., Ultrasonographic screening for fetal chromosomal abnormalities in early pregnancy, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 78 (1999) 563–572.

[18] Todros T., Faggiano F., Chiappa E., Gaglioti P., Mitola B., Sciarone A., Accuracy of routine ultrasonography in screening heart disease prenatally, *Prenat. Diagn.* 17 (1999) 901–907.

[19] Verdin S.M., Whitlow B.J., Lazanakis M., Kadir R.A., Chatzipapas I., Economides D.L., Ultrasonographic markers for chromosomal abnormalities in women with negative nuchal translucency and second trimester maternal serum biochemistry, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 16 (2000) 402–406.

[20] Whitlow B.J., Chatzipapas I.K., Lanazakis M.L., Kadir R.A., Economides D.L., The value of sonography in early pregnancy for the detection of fetal abnormalities in an unselected population, *Br. J. Obstet. Gynecol.* 106 (1999) 929–936.

[21] Wladimiroff J.W., Bhaggoe W.R., Kristelijn M., Cohen-Overbeek T.E., Den Hollander N.S., Brandeburg H., Los F.J., Sonographically determined anomalies and outcome in 170 chromosomally abnormal fetuses, *Prenat. Diagn.* 15 (1995) 431–438.



## 4. DISCUSSIÓ



## 4.1 ANÀLISI CITOGENÈTICA EN PÈRDUES GESTACIONALS

### 4.1.1 TÈCNICA D'ESTUDI

En les pèrdues fetals de segon o tercer trimestre és necessari arribar a un diagnòstic per tal poder oferir un consell genètic pel pròxim embaràs. Per l'estudi de les pèrdues gestacionals, el teixit cartilaginós es el que va ser utilitzat inicialment fent servir el mètode de cultiu d'explants (Chen i col·ls, 1980); posteriorment es va modificar emprant mètodes de disgregació enzimàtica amb col·lagenasa (Urioste, 1993; Gelman-Kohan i col·ls, 1996). En aquests treballs es va mostrar una taxa de creixement cel·lular que oscil·la entre 85% i 87%, essent més alta pel teixit cartilaginós respecte altres teixits fetals com les gònades, la pell o el ronyó. En el nostre estudi els cultius del teixit cartilaginós i de placenta han mostrat una elevada taxa de casos amb resultat (83,5%) comparat amb la d'altres sèries, que utilitzaven diversos teixits, en les que la taxa oscil·la entre el 42,5% i el 87,5% (Machin, 1974; Kuleshov, 1976; Songster i col·ls, 1992; Pauli i col·ls, 1994; Rodgers i col·ls, 1996). La taxa de creixement cel·lular també varia segons els tipus de pèrdua gestacional, i és més baixa en les morts fetals intraúter (72,3%), sobretot en aquells casos amb un grau de maceració gran que en les IVEs (97%) (Rodgers i col·ls, 1996; Baena i col·ls, 2001). En les morts fetals intraúter el teixit d'elecció serà la placenta doncs la taxa de creixement és més elevada (65,6%) que en el cartílag (27,3%). Això podria ser degut a que les cèl·lules de placenta sobreviuen alguns dies després de la mort fetal (Curry, 1992; Pauli i col·ls, 1994). No obstant, per tal de millorar la taxa d'èxit de cultiu, s'ha proposat realitzar una amniocentesi o una biòpsia de còrion abans de la inducció del part. En una sèrie de 230 morts fetals intraúter es va observar una diferència estadísticament significativa ( $p < 0,0001$ ) en la taxa d'èxit de cultiu entre les tècniques invasives (90% per l'amniocentesi, 100% per la biòpsia de còrion) i la biòpsia de pell (13,5%) (Howarth i col·ls, 2002; Khare i col·ls, 2005; Li i col·ls, 2006).

### 4.1.2 FREQUÈNCIA D'ANOMALIES CROMOSÒMIQUES

La taxa global d'anomalies cromosòmiques en les pèrdues gestacionals ha estat d'un 26,3%: 6,9% en les morts fetals intraúter, 43,6% en les IVEs i d'un 20% en les morts postnatal. Aquestes freqüències estan d'acord amb les descrites a la literatura (Sutherland, 1983; Faye-Petersen i col·ls, 1999; Wapner i Lewis, 2002; Silver col·ls, 2007).

Les anomalies cromosòmiques més freqüents van ser la monosomia X seguida de les trisomies 13, 18, 21; i són les que també es diagnostiquen amb més freqüència durant el període neonatal, fet esperat donat que la resta de trisomies tenen una supervivència reduïda a partir del primer trimestre (Machin, 1974; Bauld i col·ls, 1974; Boué, 1985; Curry, 1992; Pauli i col·ls, 1994; Khare i col·ls, 2005; Silver col·ls, 2007).

En relació a les anomalies cromosòmiques detectades en les IVEs es va observar que un 12% corresponien a fetus amb malformacions detectades per mitjà de l'ecografia, i aquest percentatge és molt similar a l'observat en un estudi poblacional (Staebler i col·ls, 2005).

La probabilitat de que un fetus presenti una anomalia cromosòmica augmenta amb la presència d'un únic o múltiples DC per ecografia (Nicolaidis i col·ls, 1992; Snijders i col·ls, 1996, Daniel i col·ls, 2003; Silver col·ls, 2007). En els casos amb múltiples defectes la troballa d'una anomalia cromosòmica va ser d'un 76,4% mentre que un 9,7% presentaven un únic defecte. En una sèrie poblacional es van observar anomalies cromosòmiques en un 9,3% dels casos amb un sol defecte i en un 18,8% amb múltiples defectes, aquestes diferències podrien ser degudes al tipus de defecte congènit considerat (Staebler i col·ls, 2005).

Les anomalies cromosòmiques tenen un paper important en l'etiologia de les pèrdues fetals però la seva contribució probablement està infraestimada ja que hi ha una proporció significativa d'alteracions submicroscòpiques (Silver col·ls, 2007; Warren i Silver, 2008). L'aplicació de noves tecnologies com l'array-CGH en fetus malformats amb cariotip prenatal normal, ha permès detectar una taxa d'alteracions genètiques desequilibrades que oscil·la entre el 11% i 13% en les morts fetals intraúter i del 13% al 17% en les IVEs (Le Caignec i col·ls, 2005; Vialard i col·ls, 2009; Raca i col·ls, 2009; Goemaere i col·ls, 2010). Aquests resultats mostren la utilitat d'aquesta tecnologia en la identificació de la causa de les pèrdues fetals (Michalski i col·ls, 2002), i també permet definir regions crítiques i gens candidats de les anomalies específiques del desenvolupament i identificar regions cromosòmiques candidates relacionades amb la supervivència intrauterina en períodes gestacionals tardans.

#### **4.1.3 DISCREPÀNCIES EN ELS RESULTATS CITOGENÈTICS PRENATAL I POSTFINALITZACIÓ DE L'EMBARÀS EN LES IVE.**

La confirmació del cariotip fetal observat prenatalment després de la interrupció de l'embaràs o del naixement ens ha permès detectar tres casos amb discrepàncies entre el cariotip prenatal i postnatal. Un cas amb trisomia 8 en mosaic en la IVE, no va ser diagnosticat en el líquid amniòtic, aquesta trisomia sovint no s'observa en les cèl·lules fetals de líquid amniòtic (Southgate i col·ls, 1998) i està associada a múltiples defectes congènits, però el cas del present treball, únicament presentava un canal atrioventricular complet, un arc aòrtic i aurícula esquerra hipoplàsiques. Un altre cas va ser una monosomia 21 en mosaic observada en la IVE, que presentava una agenèsia renal unilateral, i que no es va detectar en l'estudi prenatal. Es una anomalia cromosòmica poc freqüent i està associada a defectes del sistema nerviós, esquelètics, cardíacs i agenèsia renal unilateral (Mori i col·ls, 2004). Un cas amb 47,XXX va ser diagnosticat prenatalment per edat materna avançada i en l'estudi del cariotip fetal després de la IVE es va trobar una línia 46,XX en el 50% de les cèl·lules. Aquestes discrepàncies corroboren el problema de la possible no detecció de mosaïcisme en diagnòstic prenatal. En un estudi posterior al nostre

laboratori, ampliant la mostra (318 IVEs) durant el període 1993 a 2007 (Taula 4.1) es va detectar una taxa de discrepància en relació al cariotip prenatal del 2,5%; 6,7% per la biòpsia de còrion i 1,7% per l'amniocentesi (Baena i col.ls, aedp2008).

Cariotip prenatal	Cariotip fetal després IVE
<b>47, XXX (LA)</b>	46,XX[10]/47,XXX[10] (C,P)
<b>46,XX (LA)</b>	46,XX[6]/47,XX,+8[5] (C)
<b>46,XY (LA)</b>	46,XY[63]/45,XY,-21[4](C,P)
<b>45,X[7]/46,XX[33] (LA)</b>	46,XX [50] (C,P)
<b>47,XY,+18 (BC)</b>	47,XY,+18[3]/46,XY[17] (C)
<b>46,XX (BC)</b>	46,XX,del(7)(p13p15.1) (C)
<b>46,XX (BC)</b>	46,XY,del(6)(p11.2p21.1) (C)

Taula 4.1. Cariotip prenatal, tipus de mostra analitzada (LA: líquid amniòtic, BC: biòpsia de còrion), cariotip fetal després IVE i tipus de mostra analitzada (C: cartílag, P:placenta)

Els ràpids avenços dels array-CGH permetran la detecció de petits desequilibris cromosòmics, que poden causar trastorns del desenvolupament neurològic o predisposar a altres malalties. Probablement en un futur formaran part de la pràctica clínica en diagnòstic prenatal, però s'ha de tenir precaució amb les dades que s'obtenen dels arrays en relació a la identificació de mosaics críptics tant d'anomalies numèriques com de desequilibris estructurals, i de disomia uniparental. Per tant s'ha de tenir present que l'elecció del tipus de mostra sigui vellositats coriòniques (derivat dels teixits extraembrionaris) o líquid amniòtic (derivat de les cèl·lules fetals) reflectiran un estat genètic del fetus. L'estudi d'arrays amb CNVs en teixits d'individus normals apunten que el mosaïcisme somàtic està infraestimat, suggerint que els humans podríem ser un mosaic de CNV.

S'ha observat que els cromosomes d'embrions presenten una taxa d'instabilitat mes elevada del que es pensava (Ledbetter i col.ls, 2009). S'han analitzat embrions procedents de cicles de fertilització *in vitro* en parelles amb fertilitat normal i s'ha trobat una taxa elevada d'aneuploidies en mosaic, disomies uniparentals, delecions, duplicacions i amplificacions. (Vanneste i col.ls, 2009).

## 4.2 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES EN EL CRIBATGE ECOGRÀFIC PRENATAL DE DEFECTES CONGÈNITS.

### 4.2.1 FREQUÈNCIA GLOBAL

En la sèrie de 1.738 cromosomopaties diagnosticades en 19 registres poblacionals europeus s'ha obtingut una taxa global de casos amb anomalies cromosòmiques detectades prenatalment mitjançant cribatge per ecografia del 37,7%, mostrant que l'ecografia prenatal es útil en el cribatge d'anomalies cromosòmiques. La taxa de detecció varia en funció de les diferents característiques de cada registre, així en Dinamarca i Holanda on no està protocol·litzada l'ecografia rutinària la taxa de detecció és inferior. Les diferències observades entre els diferents registres podrien ser degudes a la distribució de l'edat materna o bé al biaix degut als registres amb un baix nombre de casos. Altres factors que poden influir són, els diferents tipus de professionals que realitzen l'anàlisi ecogràfica, que poden ser obstetres, llevadores o radiòlegs, del tipus d'equipament i del moment de l'embaràs en que es realitza l'examen (Driscoll i Gross, 2009). La taxa de detecció és més alta quan l'ecografia es realitza en una unitat prenatal especialitzada, respecte a estudis multicèntrics (VanDorsten i col·ls., 1998; Clementi i Stoll, 2001). Les taxes de detecció prenatal són més altes en els països europeus del nord-oest, on es realitzen al menys una ecografia rutinària en el segon trimestre per a la detecció de DC ([www.eurocat.ulster.ac.uk](http://www.eurocat.ulster.ac.uk)). A la taula 4.2 es comparen les taxes de detecció ecogràfica prenatal globals en diferents estudis.

Estudi	País	Taxa detecció prenatal
<b>Stoll i col·ls (1993)<sup>1</sup></b>	França	21,5%
<b>Chitty i col·ls (1995)<sup>1</sup></b>	Anglaterra	24,4%
<b>Nakling i Backe i col·ls (2005)<sup>1</sup></b>	Noruega	26,3%
<b>Salvador i col·ls (2002)<sup>1</sup></b>	Espanya	44%
<b>Cans i col·ls (1998)<sup>1</sup></b>	França	61%
<b>Gradjean i col·ls (1998)<sup>2</sup></b>	Europa	55,6%
<b>Present estudi<sup>1</sup></b>	Europa	37,7%

Taula 4.2 Comparació de taxes de detecció d'anomalies cromosòmiques en el cribatge ecogràfic. 1. Base poblacional, 2. Base hospitalària

La taxa de detecció abans de la 24 setmana de gestació al nostre estudi es del 33%, mes baixa que en l'estudi Eurofetus (68%) (Gradjean i col·ls.,1998) probablement degut a que aquest últim inclou hospitals de referència.



## 4.2.2 ANEUPLOIDIES AUTOSÒMIQUES FREQUENTS

### 4.2.2.1 TAXA DE DETECCIÓ I DEFECTES CONGÈNITS

En el present treball les síndromes de Down, Edwards i Patau han mostrat unes taxes de detecció prenatal mitjançant cribatge per ecografia del 26,4%, 63,2% i 68,2% respectivament. A la taula 4.3 es mostren les diferents taxes de detecció ecogràfica i el defecte congènit més freqüentment detectat a diferents sèries (Nicolaidis i col·ls;1993; Stoll i col·ls, 1993; Chitty, 1995; Boyd i col·ls, 1998; Cans i col·ls, 1998; Gradjean i col·ls, 1998; Nakling i Backe, 2005). Es pot observar que les taxes globals més elevades corresponen a aquells estudis de base hospitalària on s'inclouen hospitals de nivell d'especialització més alt o en registres poblacionals com el de la ciutat de Barcelona (www.aspb.es).

Per les trisomies 21 i 18 els DC diagnosticats per ecografia més freqüents van ser l'higroma quístic en un 32,6% i 21,7%, seguit dels defectes cardíacs en un 12,5% i 19,2% dels casos respectivament. Per la trisomia 13 els DC més freqüents van ser els cardíacs en un 29,3% i la holoprosencefàlia en un 25,9% dels casos. En general, els estudis poblacionals que es mostren a la taula 4.3 presenten unes freqüències de DC bastant similars. Nicolaidis i col·ls (1992) per la trisomia 21 inclou la clinodactília i *sandal gap*, en canvi en el nostre estudi no s'han considerat com a defecte congènit.

Referència	Trisomia 21		Trisomia 18		Trisomia 13	
	Taxa global	DC freqüent	Taxa global	DC freqüent	Taxa global	DC freqüent
Stoll i col·ls (1993) <sup>1</sup>	18,5%	Cardíacs	50%	SNC	45,4%	SNC
Chitty i col·ls (1995) <sup>1</sup>	16,6%	-	100%	-	50%	-
Boyd i col·ls (1998) <sup>1</sup>	31,4%	TN	-	-	-	-
Cans i col·ls (1998) <sup>1</sup>	23,7%	Cardíacs	70,6%	-	85,7%	-
Nakling i Backe (2005) <sup>1</sup>	8,7%	-	70%	-	-	-
Salvador (2002) <sup>1</sup>	40%	TN	68%	TN	71%	SNC
Nicolaidis i col·ls (1992) <sup>2</sup>	-	Clinodactília/ Sandal gap	-	Cardíacs	-	SNC
Gradjean i col·ls (1998) <sup>2</sup>	34,5%	Cardíacs	79%	Musculo- esquelètic	58,1%	Musculo- esquelètic
Papp i col·ls (2008) <sup>2</sup>	-	Cardíacs	-	Cardíacs	89,3%	SNC i facials
Papageorghiou i col·ls (2006) <sup>2</sup>	-	-	-	-	90% <sup>3</sup>	TN,SNC
Offerdal i col·ls (2008) <sup>2</sup>	29,5%	HQ/TN cardíacs	-	-	-	-
Watson i col·ls (2007/2008) <sup>2</sup>	-	-	97%	Cardíacs	90,7%	Cardíacs
Present estudi <sup>1</sup>	26,4%	HQ/TN	63,2%	HQ	68,2%	Cardíacs

Taula 4.3. Comparació taxes de detecció ecogràfica per la trisomia 21, 18 i 13 entre les diferents sèries.

1. Base poblacional, 2. Base hospitalària, 3. Ecografia 1er trimestre. TN: translucència nucal, HQ: higroma quístic, SNC: sistema nerviós central

Amb la creixent utilització de l'ecografia de primer trimestre, la millora de les imatges, de la tècnica ecogràfica i d'especialització del personal, la majoria dels defectes associats a aquestes anomalies cromosòmiques podrien ser cercats i detectats en un estadi primerenc de la gestació

(Driscoll i Gross, 2009).

La detecció de la trisomia 21 és un dels objectius fonamentals de les proves prenatales i de l'ecografia de cribatge. En l'última dècada, les estratègies de cribatge de la síndrome de Down i d'altres anomalies cromosòmiques han sofert importants modificacions. La introducció de noves proves permet realitzar un diagnòstic durant el primer trimestre el que augmenta la detecció de marcadors com la translucència nugal, absència o hipoplàsia de l'os nasal, regurgitació tricúspide, angles frontomaxil·lar i maxil·lar de la mandíbula anòmals, associats a anomalies cromosòmiques. Alguns estan sota validació, la seva implementació permet en centres especialitzats arribar a sensibilitats del 96%, 92%, 100% i 100% per les trisomies 21, 18, 13 i síndrome de Turner respectivament, malgrat que encara no s'utilitzen en els algoritmes diagnòstics habituals (Driscoll i Gross, 2009; Fang i col·ls, 2009; Kagan i col·ls, 2009a; Kagan i col·ls, 2009b; Maiz i col·ls, 2009; Odibo i col·ls, 2009). D'altra banda la utilització de l'ecografia 3D/4D ofereix avantatges diagnòstiques per alguns defectes, com per exemple pels defectes de la cara i extremitats en la trisomia 18 (Zheng i col·ls, 2008).

La proporció de casos amb trisomia 21, 18 i 13 que es diagnostiquen abans de la setmana 24 de gestació i el percentatge d'IVEs en les diferents sèries varien en funció de les polítiques sanitàries dels diferents països tal i com es mostra a la taula 4.4.

Referència	Trisomia 21		Trisomia 18		Trisomia 13	
	< 24 set	IVE	< 24 set	IVE	< 24 set	IVE
Nicolaides i col·ls (1992) <sup>2</sup>	58%	-	54%	-	71%	-
Stoll i col·ls (1993) <sup>1</sup>	25%	-	31%	-	0%	-
Cans i col·ls (1998) <sup>1</sup>	22%	-	16%	-	4%	-
Nakling i Backe (2005) <sup>1</sup>	100%	100%	100%	100%	-	-
Gradjean i col·ls (1998) <sup>2</sup>	-	54%	-	42%	-	56%
Papp i col·ls (2008) <sup>2</sup>	28,5%	-	-	-	89,3%	-
Present estudi <sup>1</sup>	85%	93%	50%	50%	54,8%	65,1%

Taula 4.4. Comparació del percentatge de casos diagnosticats abans de la 24 setmana de gestació i percentatge de gestants que van decidir fer una IVE en les diferents sèries. 1. Base poblacional, 2. Base hospitalària

Una de les conseqüències del diagnòstic prenatal és la disminució de la prevalença dels DC en el naixement. Les dades del registre europeu EUROCAT durant el període 2000-2007 mostren que la prevalença de la síndrome de Down, la síndrome d'Edwards i la síndrome de Patau en el naixement s'han reduït en un 54,5%, 75% i 76,4% respectivament. La decisió d'interrompre la gestació pot variar entre d'altres factors, amb l'edat materna i la població, així en el registre de DC d'Atlanta per la trisomia 21 la taxa d'IVE per dones menors de 35 anys és superior a la de dones majors de 35 anys (Siffel i col·ls, 2004).

## 4.2.3 SÍNDROME DE TURNER

### 4.2.3.1 TAXA DE DETECCIÓ

En la sèrie de 1.738 cromosomopaties diagnosticades en 19 registres poblacionals europeus s'han detectat 125 casos amb síndrome de Turner, essent la més llarga publicada fins el moment. La taxa de detecció prenatal mitjançant ecografia va ser del 67,2% (Baena i col·ls, 2004), similar a la de Papp i col·ls (2006) i Vaknin i col·ls (2008) i superior al 47,8% (Alpman i col·ls, 2009) i inferior al 89,7% (Gradjean i col·ls, 1998).

La proporció de casos diagnosticats abans de la setmana 24 de gestació a les diferents sèries mostren taxes similars a la nostra (Taula 4.5). Per altra banda mitjançant el criatge per ecografia de primer trimestre la taxa arriba fins un 89% (Surerus i col·ls, 2003).

Estudi	Detecció <24 setmanes
Nicolaidis i col·ls (1992)	97%
Wladimiroff i col·ls (1995)	76%
Cans i col·ls (1998)	64,3%
Gradjean i col·ls (1998)	100%
Papp i col·ls (2008)	100%
Alpman i col·ls (2009)	90,5%
Present estudi	97,6%

Taula 4.5. Detecció prenatal de casos amb síndrome de Turner abans de les 24 setmanes

Molts dels casos que no mostren alteracions ecogràfiques durant el període prenatal són els que no es diagnostiquen fins l'adolescència. Sävendahl i Davenport (2000) van analitzar el moment del diagnòstic de nenes amb síndrome de Turner i únicament un 11% es diagnosticaven prenatalment, un 40% es diagnosticaven fins a l'any de vida, un 30% d'un a 12 anys i un 19% en l'adolescència. El diagnòstic precoç és molt útil per prevenir morbiditats associades a la síndrome de Turner, com per exemple els tractaments amb hormona de creixement que s'utilitza per augmentar l'estatura i ajudar al desenvolupament puberal.

Com a conseqüència del diagnòstic prenatal i segons les dades del registre europeu EUROCAT durant el període 2000-2007 la prevalença de síndrome de la Turner en el naixement s'ha reduït en un 71,2%.

#### 4.2.3.2 DEFECTES CONGÈNITS

Els defectes congènits de la síndrome de Turner detectats més freqüentment en les diferents sèries per ecografia prenatal van ser l' hígroma quístic i l' hidrops tal i com s'observa a la taula 4.6.

Referències	Hígroma quístic	Hidrops	Def. cardíacs	Def. renals	Marcadors ecogràfics 1er i 2n trimestre
Nicolaides i col·ls (1992)	87%	5,3%	42%	21%	60%
Stoll i col·ls (1993)	58,3%	0	0	0	0
Wladimiroff i col·ls (1995)	76,7%	73,3%	30%	10%	0
Grandjean i col·ls (1998)	0	74%	29,6%	3,7%	0
Salvador i col·ls (2005)	60% <sup>1</sup>	-	30%	0	40%
Papp i col·ls (2008)	26,1%	11%	13%	11,6%	40,4%
Alpman i col·ls (2009)	100%	0	0	0	0
Present estudi	59,5%	19%	7,8%	3,5%	5,2%

Taula 4.6. Distribució del defectes congènits en la síndrome de Turner. 1.Hígroma quístic mes hidrops

La síndrome de Turner està associada molt específicament a l'hígroma quístic i a l'hidrops (Azar i col·ls,1991; Nicolaides i col·ls,1992; Wladimiroff i col·ls, 1995; Hanna i col·ls, 1997; Gradjean i col·ls ,1998; Papp i col·ls, 2006), i al nostre estudi aquests dos defectes van representar el 78.5%. Es postula que el mecanisme que condueix a l'augment del líquid en la zona nugal en la síndrome de Turner és diferent als dels fetus amb trisomies 21, 18 i 13, essent en aquests últims semblant a la dels fetus amb cariotip normal. Els possibles mecanismes de l'augment de la translucència inclouen la dilatació dels sacs limfàtics jugulars, a causa del retard durant la connexió amb el sistema venós, o una dilatació anòmala dels sacs limfàtics o una proliferació primària dels canals limfàtics interferint amb el flux normal entre els sistemes limfàtic i venós. La distribució anòmala dels vasos limfàtics podria ser a causa d'un drenatge anòmal del líquid intersticial i per la congestió dels grans vasos en les unions dermis/subcutis que explicarien l'aparença quística de l'hígroma en els fetus amb síndrome de Turner (von Kaisenberg i col·ls, 1999). Un estudi recent sobre la distribució i desenvolupament dels capil·lars limfàtics ha mostrat una distribució homogènia en els fetus normals i trisòmics i en els fetus amb síndrome de Turner s'observa una hipoplàsia d'aquests capil·lars (von Kaisenberg i col·ls, 2010).

Els defectes cardíacs son freqüents en la síndrome de Turner. La incidència varia entre el 13% i el 42% dels casos (Nicolaides i col·ls, 1992; Saenger 1996; Gradjean i col·ls; 1998; Papp i col·ls 2006; www.aspb.es/quefem/). En el nostre estudi es va diagnosticar en el 10.3% dels casos. En un estudi retrospectiu de 53 casos amb síndrome de Turner, un 62.3% va mostrar una cardiopatia amb l'ecocardiografia al primer trimestre de la gestació, malgrat

que només el 20% dels casos diagnosticats postnatalment mostraven cardiopatia (Surerus i col·ls, 2003). Al nostre estudi el 36.4% dels casos que no es van diagnosticar prenatalment per ecografia presentava un defecte cardíac. Una explicació podria ser que la vàlvula aòrtica bicúspide és una cardiopatia molt difícil de ser diagnosticada en el període prenatal (Mazzanti i col·ls, 1998 i Prandstraller i col·ls, 1999).

Els defectes pulmonars i del sistema nerviós (ventriculomegàlia, hidrocefàlia, agenèsia de cos callós, malformació de Dandy-Walker associada a polimicrogiria) no són característics de la síndrome de Turner (Papp i col·ls, 2006; Kalpatthi i col·ls, 2003; Lee i col·ls, 2008; Baxi i Walsh, 2009), no obstant es van diagnosticar durant el període fetal un 3.5% dels casos amb defectes pulmonars i un 1.7% amb defectes del sistema nerviós central. En canvi en el període neonatal es van observar un 18.2% dels casos amb defectes del sistema nerviós.

Els marcadors ecogràfics s'han desenvolupat pel criatge de les trisomies autosòmiques, fonamentalment la trisomia 21. En la nostra sèrie un 3.5% dels fetus van presentar translucència nucal augmentada i un 1.7% un fèmur curt. Papp i col·ls (2006) van observar que un 23.2% dels fetus mostraven un marcador ecogràfic. Aquesta taxa és molt superior a la observada a la nostra sèrie, això podria ser degut a que l'estudi es va realitzar en un hospital universitari i la nostra sèrie és de base poblacional i en el moment de l'estudi no estava implementada l'ecografia de primer trimestre pel criatge de la translucència nucal.

Bronshtein i col·ls (2003) han proposat una sèrie d'anomalies ecogràfiques de primer trimestre indicadores de la síndrome de Turner: higroma quístic, hidrops, edema subcutani, fèmur curt i arc aòrtic estret.

#### **4.2.3.3 CORRELACIÓ ENTRE CARIOTIP I DEFECTES CONGÈNITS**

El cariotip més freqüent va ser 45,X i es va observar en el 90.4% dels casos diagnosticats prenatalment per ecografia durant el segon trimestre, d'acord amb l'observada per Surerus i col·ls (2003) (92.4%) a primer trimestre, la resta corresponen a mosaics, proporció similar a l'observada per Huang i col·ls (2002) (Taula 4.7) i els casos amb 45,X van mostrar mes DC. En els casos no detectats per ecografia, la proporció de 45,X en mosaic és superior en la sèrie de Huang col·ls (2002) que a la nostra sèrie. La distribució de cariotips observats prenatalment és diferent a la postnatal. Una possible explicació es que els fetus amb 45,X tenen una mortalitat intraúter elevada i molts no arribarien a segon trimestre.

	Huang i col·ls (2002) (n=98 casos)		Present estudi (n=125 casos)	
	45,X	45,X mosaic	45,X	45,X mosaic
<b>% de CASOS:</b>				
<b>Detectats per ecografia</b>	98.5%	1.5%	90.4%	9.6%
<b>No detectats per ecografia</b>	20.7%	79.3%	63,4%	36.6%

Taula 4.7 Percentatge de casos amb síndrome de Turner detectats per ecografia.

S'ha observat que aproximadament el 70-80% dels síndromes de Turner tenen una línia cel·lular normal addicional no detectada (Hook i Warburton, 1983; Held i col·ls, 1992; Fernández-García i col·ls, 2000) i que estaria present en els casos sense DC (Amiel i col·ls, 1996). La detecció d'un mosaicisme depèn de factors, com el nombre de metafases analitzades, el nombre i tipus de teixits estudiats, la tècnica de cultiu utilitzada, o la selecció *in vivo* o *in vitro* d'una línia cel·lular (Hook, 1977; Procter i col·ls, 1984).

Aplicant FISH en els casos amb cariotip 45,X i s'ha trobat que entre un 14% i un 58% del casos presentaven un mosaicisme amb una línia 46,XX (Nazarenko i col·ls, 1999; Park i col·ls, 1999; Wiktor i Van Dyke, 2005). Wolff i col·ls (2010) han suggerit una sèrie de recomanacions metodològiques pel diagnòstic de síndrome de Turner: a) incrementar el nombre de metafases estudiades quan es sospita d'un mosaicisme, b) aplicar FISH amb les sondes centromèriques del cromosoma X i Y quan es detecta un cromosoma marcador, i c) estudiar el gen *XIST* quan es detecta un cromosoma en anell o un marcador de mida petita, ja que s'associa a un fenotip més sever que inclou retard mental. Postnatalment a més de les anteriors s'inclou l'estudi de FISH en nuclis interfàsics de teixits de diferents línies embrionàries.

La variabilitat fenotípica de la síndrome de Turner probablement resulta de l'ample ventall de cariotips que presenten. En el present estudi la presència de DC va ser superior i estadísticament significativa ( $P=0.003$ ) en el casos amb cariotip 45,X (63.7%) respecte als casos de 45,X en mosaic (38.1%). En les sèries de Papp i col·ls (2006) i Alpmann i col·ls (2009) es va observar que un 91.7% i un 50% dels 45,X presentaven DC respectivament, comparat amb el 55.6% i el 43% dels 45,X en mosaic.

En relació a les cardiopaties de les sèries de casos que es van detectar postnatalment, s'ha vist que hi ha una correlació entre la severitat de la cardiopatia i el tipus de cariotip. Els fetus amb 45,X tenen una major probabilitat de presentar una cardiopatia, com la coartació d'aorta que els mosaics, (29-30% versus 16,6-24,3%) (Mazzanti i Cacciari, 1998; Prandstraller i col·ls (1999). D'altra banda les anomalies estructurals en el cromosoma X estan associades a anomalies cardíaques no tan severes tal com la vàlvula aòrtica bicúspide i la disfunció cardíaca (Mazzanti i Cacciari, 1998). En canvi, Poprawski i col·ls (2009) no troben diferències estadísticament significatives entre el tipus de defecte cardíac en els casos amb 45,X,

mosaics, o amb anomalies estructurals del cromosoma X, probablement degut al petit nombre de casos amb cariotips poc freqüents.

En el present estudi el 78,6% dels casos amb síndrome de Turner diagnosticats per mitjà de l'ecografia van ser IVE i un 13,1% van ser òbits, es a dir només van arribar a terme un 8,3% de les gestacions. Aquesta taxa d'IVE és similar a les descrites en altres sèries (Grandjean i col·ls, 1998; Mansfield i col·ls, 1999; Christian i col·ls, 2000; Surerus i col·ls, 2003; Brun i col·ls 2004, [www.aspb.es/quefem/](http://www.aspb.es/quefem/), Shaffer i col·ls, 2006). En canvi en l'estudi realitzat a Hawaii Forrester i Merz (2003) s'observa una taxa d'IVE del 50%.

#### 4.2.3.4 CONSELL GENÈTIC

Quan un fetus es diagnosticat de síndrome de Turner els pares s'enfronten a la difícil decisió de continuar la gestació o interrompre-la. El consell genètic deuria incloure una explicació de la gran variabilitat de les anomalies associades i de l'alta probabilitat de talla baixa i de fallida ovàrica. Les nenes i dones amb la síndrome de Turner tot i que mostren una intel·ligència normal presenten dèficits en la capacitat visual i espacial, funció motora, memòria no verbal, funció executiva, capacitat d'atenció, dificultats del llenguatge i en l'aprenentatge matemàtic (Zinn i col·ls, 2007; Hong i col·ls, 2009; Mazzocco, 2009). Els factors genètics i hormonals poden influenciar en el desenvolupament cognitiu. Hi ha dades que suggereixen que l'haploinsuficiència d'un o més gens (*PAR1*, *STS* i *NLGN4X*) localitzats a Xp22.3 podrien ser responsables del fenotip neurocognitiu (Zinn i col·ls, 2007).

A l'hora d'oferir un consell genètic és de destacar els següents punts (Huang i col·ls, 2002):

1. Els casos amb cariotip 45,X tenen un pronòstic diferent als casos amb cariotip 45,X en mosaic. En els casos amb 45,X en mosaic i amb absència de DC s'hauria de tenir en compte l'expectativa d'un fenotip més lleu.
2. En els casos amb cariotip 45,X i sense defectes congènits s'haurien de:
  - Repetir l'examen ecogràfic.
  - Augmentar el nombre de metafases analitzades per citogenètica convencional per detectar nivells baixos de mosaicisme.
  - Estudi molecular per a la detecció del cromosoma Y.
3. En els casos amb 45,X en mosaic amb una línia que contingui material del cromosoma Y:
  - La majoria corresponen a barons fenotípicament normals.
  - La resta poden presentar genitals ambigus o genitals femenins amb fenotip de la síndrome de Turner.
  - S'hauria de repetir l'ecografia per confirmar el sexe fetal.
  - El risc de gonadoblastoma es d'aproximadament del 15-20%.

Malgrat que alguns defectes com la baixa estatura, la fallida ovàrica i algunes altres anomalies somàtiques tenen tractament, en general la taxa d'interrupció de la gestació són elevades (Saenger i col·ls, 2001). Bondy i col·ls (2007) han elaborat una guia per a l'avaluació i el tractament de les nenes i dones amb síndrome de Turner.

#### **4.2.4 TRIPLOIDIA**

En la sèrie de 1.738 cromosomopaties diagnosticades en 19 registres poblacionals europeus s'han detectat 56 casos amb triploidia, el 78.6% es va diagnosticar prenatalment gràcies al cribatge per ecografia. Cans i col·ls (1998) detecten el 100% en una mostra de mida petita (n=9), i en el registre de DC de la ciutat de Barcelona el 70%.

Les principals característiques clíniques de la triploidia són un retard de creixement asimètric i precoç, ventriculomegàlia, sindactília, i també és característic una placenta molar. En la nostre sèrie els defectes mes freqüents amb l'examen ultrasonogràfic van ser la hidrocefàlia (27,3%), els defectes cardíacs (13,6%) i els musculoesquelètics (13,6%). Un 41% van presentar marcadors ecogràfics. Aquestes freqüències són similars a les d'altres sèries (Wladimiroff i col·ls, 1995; [www.aspb.es](http://www.aspb.es)) i diferents a altres sèries (Philipp i col·ls, 2004; Bekdache i col·ls, 2009) on els defectes facials com els de línia mitja o dismorfies facials són els mes freqüents. Mc Fadden i Kalousek (1991) van definir dos fenotips fetals depenent de l'origen de la dotació cromosòmica extra. Tipus I quan la dotació haploide extra és d'origen patern, inclou un creixement fetal normal, crani proporcionat o amb microcefàlia i placenta quística i, i tipus II quan la dotació haploide extra és d'origen matern presenta un RCIU sever, macrocefàlia, placenta fibròtica i mostren una major supervivència intraúter.

D'acord amb Nicolaidis i col·ls (1992) el diagnòstic ecogràfic es va realitzar en la majoria dels casos (75%) abans de la setmana 24 de gestació.

Un 82.1% de les gestants amb fetus amb triploidia va finalitzar l'embaràs com a IVE similar al en el registre de DC de la ciutat de Barcelona (85,7%).

#### **4.2.5 ANOMALIES DELS CROMOSOMES SEXUALS EXCLOENT LA SÍNDROME DE TURNER**

Existeixen poques dades referents al diagnòstic prenatal de les anomalies dels cromosomes sexuals exceptuant la síndrome de Turner. La indicació dels estudis citogenètics són generalment l'edat materna avançada o be de la detecció de marcadors ecogràfics durant l'examen ultrasonogràfic prenatal tals com oligohidramnis, hidrops, masses intraorals, artèria umbilical única, focus ecogènica intracardíac, i ronyons displàsics (Spear i Porto, 1988; Hoang i



col·ls, 1999; Kim i Gross, 1999; Khoury-Collado i col·ls, 2005). Una revisió de la literatura recent de casos amb 47,XXX mostra que l'únic tipus de malformacions són els defectes urogenitals i proposen que quan es realitzi una ecografia dirigida per diagnosticar aquestes malformacions (Otter i col·ls, 2010).

A la nostra sèrie la taxa de detecció prenatal amb el cribatge per ecografia va ser per la síndrome de Klinefelter del 5,7%, per la 47,XXX del 20% i pel 47,XYY del 20% fet esperat ja que aquestes anomalies cromosòmiques o bé tenen poques o no presenten manifestacions clíniques i la majoria de vegades es diagnostiquen a l'atzar per la detecció de marcadors ecogràfics (Taula 4.8). Una TN augmentada, l'higroma quístic i l'hidrops han estat associats a aquestes gonosomopaties (Vaknin i col·ls, 2008).

	Taxa detecció	IVE
<b>47,XXX</b>		
Registre Barcelona	8%	24%
Present estudi	20%	20%
<b>47,XXY</b>		
Registre Barcelona	8%	92,3%
Present estudi	5,7%	60%
<b>47,XYY</b>		
Registre Barcelona	8%	24%
Present estudi	20%	20%

Taula 4.8. Taxa de detecció i d'interrupció voluntària de l'embaràs en les anomalies dels cromosomes sexuals excloent la síndrome de Turner

La taxa d'interrupció de l'embaràs és molt variable en les diferents sèries, entre el 12,7% i el 87,5% pel 47,XXY i entre el 12,7% i el 67% pel 47,XXX (Meschede i col·ls, 1998; Christian i col·ls, 2000; Sagi i col·ls, 2001; Forrester i Merz 2003; Brun i col·ls, 2004; Shaffer i col·ls, 2006).

En els estudis més recents la taxa d'IVE és menor possiblement com a conseqüència de que les gestants reben un consell genètic més acurat. Existeixen altres factors que poden influir en la taxa d'interrupció com poden ser factors culturals, religiosos, característiques poblacionals, edat de la mare i paritat (Shaffer i col·ls, 2006). Entre els factors que influencien als pares a l'hora de decidir continuar la gestació el més important és l'especialitat del professional que ofereix el consell genètic després el tipus d'anomalia cromosòmica i seguit del nivell educacional i socioeconòmic del pares (Yilmaz, 2008).

## 4.2.6 ANOMALIES CROMOSÒMIQUES AUTOSÒMIQUES POC FREQUENTS

### 4.2.6.1 TAXA DE DETECCIÓ I DEFECTES CONGÈNITS

En la sèrie de 1.738 cromosomopaties diagnosticades en 19 registres poblacionals europeus es van diagnosticar un total de 114 casos (6,6%) d'anomalies poc freqüents. Aquesta taxa és lleugerament més baixa que la descrita en altres sèries que oscil·la entre el 10.4% i el 16.4% (Nicolaidis i col·ls., 1992; Hume i col·ls., 1995; Hanna i col·ls., 1996) i superior a la sèrie de Wladimiroff i col·l. (1995) i Al-kouatly i col·ls. (2002) del 4,4% i 0,2% respectivament. La nostra sèrie basada en població general és la més extensa, i probablement s'acosta a la taxa real i a més és similar a les dades del registre poblacional de DC d'Atlanta on es van observar un 7% d'anomalies poc freqüents (Cragan i Gilboa, 2009).

Mitjançant cribatge per ecografia prenatal es va detectar un 45.6% dels casos similar al descrit en altres sèries (Hume i col·ls., 1995; Al-kouatly i col·ls., 2002). La freqüència de detecció de DC per mitjà del cribatge ecogràfic és significativament més alta (45.6%) en les anomalies autosòmiques rares que en les cromosomopaties comunes (34.7%) ( $p=0.018$ ), indicant que hi ha un major percentatge de DC en anomalies cromosòmiques rares.

En el present estudi la mitjana d'edat gestacional de detecció de les anomalies cromosòmiques pocs freqüents fou de 22 setmanes, el 82.7% dels casos es van detectar abans de les 24 setmanes de gestació i d'aquests el 84% van finalitzar la gestació. En la nostra sèrie la finalització de la gestació va ser adversa en el 78.8% dels casos, un 61,5% van ser IVEs i un 17,3% nounats morts similar a l'observat per Al-Kouatly i col·l (2002). D'altra banda, tot i que l'ecografia sigui aparentment normal el fetus podria presentar DC. Quan es diagnostica una anomalia cromosòmica poc freqüent i l'ecografia mostra DC, augmenta la probabilitat de que finalitzi la gestació en IVE o nounat mort i afecta al maneig de la gestació i del part quan es diagnostica abans del límit legal de la interrupció.

En la present sèrie el 59.6% de les anomalies cromosòmiques autosòmiques rares varen mostrar un DC, un 23% dos, i un 17,3% mes de dos defectes. Els DC més freqüents van ser l'higroma quístic, defectes del sistema nerviós central, del diafragma, cardíacs i renals, coincidint amb els DC reportats (Wladimiroff i col·ls., 1995; Milunsky, 1998). La detecció prenatal de l'higroma quístic freqüentment s'associa a les síndromes de Turner i de Down, i es va observar en un 21% dels casos amb una anomalia autosòmica rara. Quan es correlaciona el tipus d'anomalia cromosòmica amb el tipus de defecte congènit, s'ha observat que els defectes cardíacs i el retard de creixement intrauterí estan associats amb més freqüència amb les delecions cromosòmiques mentre que l'higroma quístic, hidrops i translucència nucal estan associats a les trisomies o duplicacions.

Les bases de dades ECARUCA i UNIQUE, son de gran utilitat pel consell genètic ja que

proporcionen informació sobre el pronòstic de les alteracions cromosòmiques poc freqüents.

#### 4.2.6.2 TIPUS D'ANOMALIES CROMOSÒMIQUES POC FREQUENTS

- **Trisomies**

En la sèrie de 1.738 cromosomopaties diagnosticades en 19 registres poblacionals europeus es van diagnosticar vint-i-dos casos amb trisomies autosòmiques excloent les freqüents. En el cribatge per ecografia només un 41% van mostrar alguna malformació. La trisomia 9, que es caracteritza per presentar múltiples malformacions (Hsu i col·ls., 1997; Dighe i col·ls., 2009; Schwendemann i col·ls., 2009), es va detectar en set casos, i únicament dos van mostrar defectes en l'ecografia i la resta van mostrar en néixer malformacions difícils de diagnosticar per ecografia (Tetralogia de Fallot, microftalmia, hidrocefàlia). La trisomia 10 es va diagnosticar en un fetus que presentava un higroma quístic, però també s'associa a altres malformacions (Farell i col·l., 1994; Knoblauch i col·l., 1999; Schwärzler i col·l., 1999; Dighe i col·ls., 2009). S'ha observat un cas amb trisomia 14 i hidrocefàlia, essent compatible amb les característiques clíniques de disomia uniparental del cromosoma 14 d'origen matern (Healey i col·ls., 1994; Hsu i col·ls., 1997; Falk i col·ls., 2005). La trisomia 15 s'ha descrit associada a avortaments espontanis i molt rarament en recent nascuts, i ha estat reportada en dos recent nascuts polimalformats que van morir abans del quatre dies de vida (Coldwell i col·l., 1981; Kuller i Laifer, 1991). En el present treball aquesta trisomia es va diagnosticar en quatre casos i dos d'ells presentaven higroma quístic. Aquests dos casos foren mosaicismes, un d'ells presentava a l'estudi necròptic arinencefàlia, malformació descrita prèviament (Hsu i col·l., 1997). La trisomia 16 és una de les anomalies cromosòmiques més freqüent en avortaments de primer trimestre, en aquest estudi es va detectar un nounat mort que presentava hidronefrosi, megabufeta i omfalocel, malformacions ja descrites per aquesta trisomia (Digue i col·ls., 2009). La trisomia 22 és la segona anomalia cromosòmica més freqüent en avortaments de primer trimestre. Les anomalies associades són retard de creixement intrauterí, microcefàlia, cardiopaties i dits llargs. En el nostre estudi es va observar un cas que només presentava higroma quístic, les troballes ecogràfiques més freqüents reportades són oligoamnies, el retard de creixement intrauterí i la translucència nucal augmentada (Schwendemann i col·ls., 2009; Digue i col·ls., 2009).

- **Delecions, duplicacions i reorganitzacions desequilibrades**

Les delecions autosòmiques detectables per citogenètica convencional tenen una incidència en néixer 1/5000 per les delecions terminals i de 1/4000 per les intersticials (Shaffer i Lupski, 2000). Les delecions autosòmiques han estat utilitzades en el mapatge de gens per identificar gens associats a DC. En principi qualsevol regió del genoma podria estar subjecte a una alteració estructural, però certes parts del genoma són més susceptibles que d'altres, així ho

demostra el fet que certes delecions o duplicacions no s'han observat mai. Aquestes regions podrien contenir gens crítics sensibles a dosi en la que la delecio o duplicacio seria letal (Shaffer i Lupski, 2000).

Els fenotips associats a les delecions són mes severs que els associats a les duplicacions amb una tolerància de grandària màxima del genoma del 3% per les delecions i del 10% per les duplicacions (Hecht i Hecht, 1987). Està acceptat que les delecions autosòmiques produeixen efectes fenotípics inespecífics com el retard de creixement intrauterí i el retard mental. No obstant el reconeixement de DC específics en les delecions recolzen la hipòtesi que l'haploinsuficiència d'alguns gens delecionats tenen un efecte directe en processos específics del desenvolupament (Brewer i col·ls, 1998). Aproximadament la meitat dels gens que presenten CNVs es troben representats en la base de dades OMIM, que recull informació sobre gens associats a malalties mendelianes, genòmiques i complexes (de Smith i col·ls, 2008). Les primeres evidències de què les alteracions en les CNVs podien influir en el fenotip, provenen de malalties esporàdiques originades per variants estructurals *de novo* en contraposició a les malalties genètiques clàssiques en què el fenotip anòmal és atribuïble a mutacions puntuals (Lupski, 2006). La majoria de delecions es diagnostiquen en els recent nascuts (81,7%), i el 70% són *de novo*, afecten mes al sexe femení i estan associats a DC (Forrester i Merz, 2007). Segons dades del registre de DC de Hawaii les delecions cromosòmiques no afecten per igual a tots els cromosomes, essent els cromosomes 4, 5 i 22 els mes freqüents.

En aquest treball es van detectar 33 casos amb delecions de les quals 17 (51,5%) es van diagnosticar gràcies al cribatge per ecografia. Els cromosomes implicats van ser: 1, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13 i 18. La del(1p) està associada a defectes cardíacs, paladar alt i arquejat, implantació proximal del polzes (Yang i col·ls., 2004), el nostre cas presentava un defecte cardíac. La delecio del braç llarg del cromosoma 3 està associada a agenèsia de cos callós, peus contracturats, limfedema, i cara dismòrfica (Genuardi i col·ls., 1994) i també estan associades a defectes del tub neural (Chen, 2007), els nostres casos van mostrar omfalocel i hidrocefàlia. Es van diagnosticar dos casos de monosomia 4p, responsable de la síndrome de Wolf-Hirschhorn, que és difícil el diagnòstic prenatal perquè normalment no presenten malformacions majors. Els dos casos presentaven retard de creixement intrauterí, un d'ells presentava una cardiopatia i l'altre un llavi leporí que està d'acord amb el reportat (Casaccia i col·ls., 2006; Basgul i col·ls., 2006; Sepulveda, 2007). Un cas presentava del(7q) i mostrava una regressio caudal en néixer, defecte de difícil deteccio prenatal ecogràfica però que s'ha descrit (Wang i col·ls., 1999). En un dels dos casos amb del(11)(q23) es va detectar prenatalment el cor esquerre hipoplàsic, defecte estretament associat a aquesta delecio (Milunsky, 1998; van Karnebeek i Hennekam, 1999). Les del(13q) mostren un ampli espectre fenotípic, les que es troben a nivell proximal (bandes q13-q31) s'associen a retard de creixement intrauterí sense malformacions estructurals majors, mentre que les delecions que involucren al menys part de la banda q32 s'associen a malformacions estructurals majors (Brown i col·l., 1993). De les tres delecions 13q, una va

mostrar múltiples malformacions, un altre higroma quístic i un altre retard creixement intrauterí i hidrotorax. El fenotip associat a la del(18p) és molt variable però està caracteritzat per anomalies facials, retard mental i de creixement i per malformacions esquelètiques. En aquest treball es van diagnosticar dos casos, un presentava holoprosencefàlia que està descrit en el 10% del casos (Digilio i col·ls, 2000; Turleau, 2008). Es coneix que el locus *HPE* type 4 localitzat a 18p11 està associat a l'holoprosencefàlia (Brewer i col·l., 1998).

En relació a la identificació de duplicacions de regions del genoma associades a DC ha estat analitzat per Brewer i col·ls. (1999) i troben 21 regions que contenen al menys una banda amb una alta significació estadística. En la nostra sèrie es van analitzar 32 casos amb duplicacions, 11 de les quals van ser diagnosticades gràcies al criatge per ecografia i involucren als cromosomes 3, 4, 8, 10, 15, 12 i 22. En un 45,5% dels casos, l'ecografia va diagnosticar una translucència nucal, higroma quístic o hidrops.

Pel que fa a les reorganitzacions desequilibrades un 63,2% (12 de 19) dels casos van ser detectades gràcies al criatge per ecografia. La presència d'alteracions desequilibrades usualment està associada a malformacions múltiples, no obstant l'examen ecogràfic durant la gestació no va permetre detectar algunes malformacions.

#### ▪ **Cromosoma marcador extra**

Es va observar 6 casos (0,34%) amb un cromosoma marcador extra, la meitat dels quals van presentar DC en el criatge per ecografia. La freqüència de cromosomes marcadors en diagnòstic prenatal és del 0,075%, i del 0,2% quan la indicació és el diagnòstic ecogràfic d'un defecte congènit (Liehr i col·ls, 2009). Els DC detectats en els fetus amb cromosoma marcador van ser, fenedura palatina, omfalocele, artèria umbilical única, anomalies renals, i altres DC menors com micrognàtia, i orelles d'implantació baixa.

El risc d'un fenotip anòmal quan es detecta un cromosoma marcador prenatalment i és *de novo* oscil·la entre un 7,1% a un 31% segons les diferents sèries i la morfologia del cromosoma (Taula 4.9). Determinar la seva rellevància clínica pot ser difícil ja que alguns estan associats a fenotips molt severos i altres són clínicament insignificants. La majoria dels cromosomes marcadors descrits provenen de sèries postnatsals de pacients amb malformacions i retard mental, per tant amb aquest biaix es fa difícil la correlació genotip-fenotip (Gruchy i col·ls, 2008). El seu pronòstic es basa en si són *de novo*, la seva morfologia, el contingut d'eucromatina i en la detecció ecogràfica de DC.

	Marcador acrocèntric	Marcador no acrocèntric
<b>Warburton (1991)</b>	10.9%	14.7%
<b>Crolla (1998)</b>	7.1%	28.6%
<b>Huang i col·ls (2006)</b>	0%	17.4%
<b>Graf i col·ls (2006)</b>	18%	31%

Taula 4.9. Risc de defectes congènits per un cromosoma marcador extra *de novo*.

La caracterització dels cromosomes marcadors diagnosticats prenatalment per mitjà de tècniques citomoleculares proporciona una gran ajuda per establir una correlació genotip-fenotip, però les sèries prenatales publicades encara són escasses (Gruchy i col·ls, 2008). És important la caracterització del cromosoma marcador amb citogenètica convencional i determinar el seu contingut d'euromatina, així com l'estudi del cariotip en els progenitors. Aquest primer anàlisi permetrà diferenciar si és bisatel·litzat, isocromosoma o d'altre tipus. L'aplicació de tècniques de FISH permet la classificació d'aquests cromosomes (Li i col·ls, 2000; Guanciali-Franchi, i col·ls, 2004). La tècnica de l'array-CGH permet la caracterització molecular dels cromosomes marcadors i per tant possibilita una correlació precisa entre genotip i fenotip (Gruchy i col·ls, 2008).

▪ **Reorganitzacions equilibrades**

Es van detectar 14 reorganitzacions equilibrades, i en el 71,4% es va detectar un DC o marcador per ecografia. Aquest percentatge és molt superior al descrit i probablement estigui esbiaixat per una manca de registre de totes les reorganitzacions equilibrades. La detecció d'una anomalia cromosòmica equilibrada habitualment està associada a un fenotip normal tot i que no es pot descartar la presència de DC. Hi ha descrites algunes sèries sobre reorganitzacions estructurals *de novo* en diagnòstic prenatal, on el risc de fenotip anòmal varia entre el 3,66% i el 10% (Taula 4.10).

	Risc de fenotip anòmal en reorganitzacions equilibrades <i>de novo</i>
Warburton (1991)	6,1%
Peng i col·ls (2006)	<10%
Giardino i col·ls (2009)	3,66%

Taula 4.10. Risc fenotip anòmal a diferents sèries.

Es va reportar l'associació entre reorganitzacions cromosòmiques equilibrades i les

característiques clíniques de 216 casos amb malformacions, trets dismòrfics, autisme i discapacitat intel·lectual trobant un 24% d'alteracions, la discapacitat intel·lectual estava present en el 50% del casos (Bugge i col·ls, 2000). Actualment amb la tècnica d'array s'ha trobat un 42% de desequilibris genòmics en una sèrie de casos amb retard mental i portadors de reorganitzacions equilibrades heretades o *de novo* (Schluth-Bolard i col·ls, 2009).

Es va descriure el primer cas de diagnòstic prenatal d'una translocació recíproca aparentment equilibrada entre els cromosomes 2 i 9 que després d'aplicar un array-CGH va mostrar una microdeleció a 9q34.3 (Simovich i col·ls, 2007). La interpretació de reorganitzacions equilibrades *de novo* per citogenètica després d'una troballa d'un defecte congènit prenatal està canviant degut a l'aplicació d'arrays.

El fenotip anòmal en una translocació recíproca aparentment equilibrada probablement es degut a que a nivell molecular hi ha una duplicació o deleció críptica en un o més punts de trencament, o bé que en els punts de trencament hi ha gens amb expressió interrompuda o que existeix una altre anomalia genòmica independent de la translocació (Wirth i col·ls, 1999; Astbury i col·ls, 2004; Gribble i col·ls, 2005). Avui dia el consell genètic dels casos prenatals amb reorganitzacions equilibrades *de novo* poden beneficiar-se de l'array-CGH que permet la detecció d'alteracions críptiques. S'han publicat diferents sèries aplicant aquesta tecnologia en casos amb reorganitzacions equilibrades heretades o *de novo*, amb fenotip normal o amb malformacions obtenint una taxa d'alteracions desequilibrades que arriba fins el 40% (De Gregori i col·ls, 2007; Baptista i col·ls, 2008; Sismani i col·ls, 2008). La caracterització precisa molecular es essencial pel posterior maneig clínic prenatal i postnatal i pressa de decisions.

### 4.3 DISCUSSIÓ GLOBAL

Els resultats de l'estudi citogenètic de pèrdues gestacionals (mort fetal intrauter, IVE, mort postnatal) de segon trimestre ha mostrat que els cultius dels teixits cartilaginós i de placenta han presentat una elevada taxa de creixement comparat amb les d'altres sèries. En les morts fetals intraúter es proposa que el teixit d'elecció sigui la placenta ja que aquestes cèl·lules han mostrat una major supervivència.

La freqüència d'anomalies cromosòmiques en pèrdues gestacionals observada està d'acord amb la descrita a la bibliografia, essent les mes freqüents la trisomia 21, les triploidies, la trisomia 18, la monosomia X i la trisomia 13. És molt important confirmar el cariotip fetal observat prenatalment després de la IVE o en el naixement, donat que s'ha trobat un 3% dels casos amb discrepància entre el cariotip prenatal i el realitzat després de la finalització de la gestació. Aquestes discrepàncies corroboren el problema de la no detecció de mosaïcisme en el diagnòstic prenatal.

L'existència dels registres de DC permeten avaluar de manera sistemàtica i rigorosa els programes i les estratègies regionals de diagnòstic prenatal aportant informació sobre la planificació i avaluació dels serveis de salut, incloent estratègies de prevenció primària, secundària i terciària. Els registres poblacionals són una eina especialment robusta per a l'avaluació dels serveis de salut, ja que representen l'experiència dels professionals dels hospitals, a diferència dels resultats de les unitats especialitzades a les que accedeixen un grup seleccionat de gestants. Els registres de DC proporciona dades sobre sensibilitat i especificitat de les tècniques de diagnòstic prenatal pels diferents tipus de DC, la proporció de casos que interrompeixen l'embaràs, i informació sobre l'eficàcia dels mètodes de cribatge prenatal utilitzats mostrant com varien les prevalences en el naixement de les síndromes mes comunes.

La col·laboració europea dels registres de DC permet la posada en comú i comparació de dades de coneixements i un enfoc conjunt de qüestions de salut pública europea. EUROCAT és una plataforma de col·laboració pels registres de DC. La col·laboració dels registres inclosos en EUROCAT ha contribuït a mantenir i enriquir els objectius dels registres locals i és estrictament necessària en el camp de les malalties rares com son els DC, facilitant la integració d'equips multidisciplinaris que enriqueixen als professionals de cada registre. Gràcies a la col·laboració amb EUROCAT s'ha estudiat l'impacte que té l'ecografia prenatal en la detecció d'anomalies cromosòmiques. La taxa global de detecció va ser del 37,7%, variant des del 26,4% per la trisomia 21 fins quasi el 70% per la trisomia 13 i la síndrome de Turner. Així mateix el 42,8% dels fetus amb una alteració cromosòmica poc freqüent mostraven alteracions per ecografia. A més a més quan les tècniques invasives detecten una anomalia rara, l'ecografia aporta informació addicional i ajuda a predir el fenotip.



L'ecografia com a exploració rutinària de la possible existència d'alteracions cromosòmiques en el fetus es eficaç, encara que les taxes de detecció observades són menors que les trobades en altres estudis en poblacions seleccionades. Les variacions en les taxes de detecció també són el resultat de les diferències en l'especialització de l'ecografista, l'equip utilitzat i del moment de la gestació en el que es fa l'examen. La creixent utilització de l'ecografia de primer trimestre, la millora de les imatges, de la tècnica ecogràfica i d'especialització del personal, la majoria dels defectes associats a anomalies cromosòmiques podrien ser cercats i detectats en un estadi primerenc de la gestació (Driscoll i Gross, 2009).

El diagnòstic per ecografia i el cribatge bioquímic prenatal en un futur proper portarà menys tècniques invasives per a la detecció d'anomalies cromosòmiques i una major sensibilitat i especificitat del diagnòstic de DC. És fonamental invertir en la vigilància epidemiològica dels DC a tota Europa per tal de dirigir i seguir progressant en aquestes àrees.



## 5. CONCLUSIONS



## 5 CONCLUSIONS

1. La implementació de l'estudi citogenètic de pèrdues gestacionals ha permès concloure que:
  - 1.1. Els cultius dels teixits cartilaginós i de placenta mostren una taxa de casos amb resultat més elevada (83,5%) que altres estudis que han utilitzat altres teixits.
  - 1.2. En els casos de mort fetal intraúter el teixit d'elecció serà la placenta ja que la taxa de creixement és significativament més elevada degut a que les cèl·lules sobreviuen alguns dies després de la mort.
  - 1.3. La taxa global (26,3%) i els tipus d'anomalies cromosòmiques detectades estan d'acord amb les descrites a la literatura.
  - 1.4. En els protocols d'estudi de pèrdues gestacionals es recomana incloure els estudis citogenètics per tal oferir un consell genètic més acurat i com a control de qualitat dels estudis citogenètics prenatals.
  
2. La contribució del diagnòstic prenatal mitjançant el cribatge per ecografia en una sèrie de 1.738 cromosomopaties analitzades en 19 registres de defectes congènits europeus ha permès concloure que:
  - 2.1. La contribució del cribatge ecogràfic prenatal en la detecció d'alteracions cromosòmiques és eficaç i permet diagnosticar gairebé mes d'una tercera part dels casos.
  - 2.2. La síndrome de Turner ha estat l'anomalia cromosòmica diagnosticada prenatalment més freqüent amb el cribatge per ecografia (67,2%).
  - 2.3. Les trisomies autosòmiques freqüents mostren unes taxes de detecció prenatal mitjançant el cribatge per ecografia (26,4% per la trisomia 21, 63,2% per la trisomia 18 i 68,2% per la trisomia 13) similars a les d'altres estudis poblacionals.
  - 2.4. El defecte congènit més freqüent ha estat l'higroma quístic que s'associa a la trisomia 21 i trisomia 18, i l'higroma quístic junt amb l'hidrops en la síndrome de Turner.
  - 2.5. Els casos de Síndrome de Turner en mosaic presenten estadísticament ( $p=0,003$ ) menys defectes congènits (38,1%), i un millor pronòstic respecte als casos 45,X (63,7%).

- 2.6. El diagnòstic ecogràfic es eficaç en la detecció d'anomalies autosòmiques rares. La taxa de defectes congènits es significativament més alta (45,6%) que la observada en les cromosomopaties comunes (34,7%) ( $p=0,018$ ).
- 2.7. Els defectes cardíacs i el retard de creixement intrauterí estan associats amb més freqüència a les delecions cromosòmiques mentre que l'higroma quístic, hidrops i translucència nugal estan associats a les trisomies i duplicacions.
- 2.8. Els registres de defectes congènits han permès determinar l'impacte del diagnòstic prenatal en la disminució de la prevalença dels defectes congènits al naixement, que depèn dels tipus d'anomalia cromosòmica.

## 6. BIBLIOGRAFIA





## 6 BIBLIOGRAFIA

### A

- **Ahn JW, Mann K, Walsh S, Shehab M, Hoang S, Docherty Z, Mohammed S, Mackie Ogilvie C.** Validation and implementation of array comparative genomic hybridisation as a first line test in place of postnatal karyotyping for genome imbalance. *Mol Cytogenet.* 2010;15:3-9.
- **Alberman ED, Creasy MR.** Frequency of chromosomal abnormalities in miscarriages and perinatal deaths. *J Med Genet.* 1977;14(5):313-315.
- **Al-Kouatly HB, Chasen ST, Gilbert F, Ahner R, Alonso LM, Chervenak FA.** Correlation between rare chromosomal abnormalities and prenatal ultrasound findings. *Am J Med Genet.* 2002;107(3):197-200.
- **Alpman A, Cogulu O, Akgul M, Arikan EA, Durmaz B, Karaca E, Sağol S, Ozkinay C, Ozkinay F.** Prenatally diagnosed Turner syndrome and cystic hygroma: incidence and reasons for referrals. *Fetal Diagn Ther.* 2009;25(1):58-61.
- **American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Practice Bulletins-Obstetrics.** Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists. Prenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol.* 2001; 97(5 Pt 1):suppl 1-12 2001; 27: 1-11.
- **American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Practice Bulletins-Obstetrics.** Invasive prenatal testing for aneuploidy. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2007; 110(6): 1459-1467.
- **American College of Obstetricians and Gynecologists Committee.** Evaluation of stillbirths and neonatal deaths. Committee on Genetics. *Obstet Gynecol.* 2007;110(4):963-966.
- **American College of Obstetricians and Gynecologists Committee.** Management of stillbirth. *Obstet Gynecol.* 2009; 113(3):748-761.
- **American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Practice Bulletins-Obstetrics.** Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol.* 2009; 114(5):1161-1163.
- **Amiel A, Kidron D, Kedar I, Gaber E, Reish O, Fejgin MD.** Are all phenotypically-normal Turner syndrome fetuses mosaics? *Prenat Diagn.* 1996; 16(9): 791-795.
- **Al-Kouatly HB, Chasen ST, Gilbert F, Ahner R, Alonso LM, Chervenak FA.** Correlation between rare chromosomal abnormalities and prenatal ultrasound findings. *Am J Med Genet.* 2002; 107(3): 197-200.
- **Astbury C, Christ LA, Aughton DJ, Cassidy SB, Kumar A, Eichler EE, Schwartz S.** Detection of deletions in de novo "balanced" chromosome rearrangements: further evidence for their role in phenotypic abnormalities. *Genet Med.* 2004; 6(2): 81-89.
- **Aston E, Whitby H, Maxwell T, Glaus N, Cowley B, Lowry D, Zhu XL, Issa B, South ST, Brothman AR.** Comparison of targeted and whole genome analysis of postnatal specimens using a commercially available array based comparative genomic hybridisation (aCGH) microarray platform. *J Med Genet.* 2008; 45(5):268-274.
- **Ayad VJ, Gilbert CL, McGoff SA, Matthews EL, Wathes DC.** Actions of oxytocin and vasopressin on oestrogen-induced electromyographic activity recorded from the uterus and oviduct of anoestrous ewes. *Reprod Fertil Dev.* 1994; 6(2): 203-209.

- **Azar GB, Snijders RJ, Gosden C, Nicolaides KH.** Fetal nuchal cystic hygromata: associated malformations and chromosomal defects. *Fetal Diagn Ther.* 1991; 6(1-2): 46-57.

## B

- **Baart EB, Martini E, Van Opstal D.** Screening for aneuploidies of ten different chromosomes in two rounds of FISH: a short and reliable protocol. *Prenat Diagn.* 2004; 24(12):955-961.
- **Ballif BC, Kashork CD, Saleki R, Rorem E, Sundin K, Bejjani BA, Shaffer LG.** Detecting sex chromosome anomalies and common triploidies in products of conception by array-based comparative genomic hybridization. *Prenat Diagn.* 2006; 26(4):333-339.
- **Baptista J, Mercer C, Prigmore E, Gribble SM, Carter NP, Maloney V, Thomas NS, Jacobs PA, Crolla JA.** Breakpoint mapping and array CGH in translocations: comparison of a phenotypically normal and an abnormal cohort. *Am J Hum Genet.* 2008; 82(4):927-936.
- **Bauld R, Sutherland GR, Bain AD.** Chromosome studies in investigation of stillbirths and neonatal deaths. *Arch Dis Child.* 1974; 49(10): 782-788.
- **Bartsch O, Loitzsch A, Kozlowski P, Mazauric ML, Hickmann G.** Forty-two supernumerary marker chromosomes (SMCs) in 43,273 prenatal samples: chromosomal distribution, clinical findings, and UPD studies. *Eur J Hum Genet.* 2005; 13(11): 1192-1204.
- **Basgul A, Kavak ZN, Akman I, Basgul A, Gokaslan H, Elcioglu N.** Prenatal diagnosis of Wolf-Hirschhorn syndrome (4p-) in association with congenital diaphragmatic hernia, cystic hygroma and IUGR. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2006;33(2):105-106.
- **Battagliarin G, Lanna M, Coviello D, Tassis B, Quarenghi A, Nicolini U.** A randomized study to assess two different techniques of aspiration while performing transabdominal chorionic villus sampling. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 33(2):169-172.
- **Baxi LV, Walsh CA.** Cerebral venous sinus thrombosis, Dandy-Walker malformation and polymicrogyria in Turner syndrome: an unreported association. *Prenat Diagn.* 2009; 29(9):899-900.
- **Bejjani BA, Saleki R, Ballif BC, Rorem EA, Sundin K, Theisen A, Kashork CD, Shaffer LG.** Use of targeted array-based CGH for the clinical diagnosis of chromosomal imbalance: is less more? *Am J Med Genet A.* 2005; 134(3):259-267.
- **Bekdache GN, Begam M, Al Safi W, Mirghani H.** Prenatal diagnosis of triploidy associated with holoprosencephaly: a case report and review of the literature. *Am J Perinatol.* 2009; 26(7):479-483.
- **Bell KA, Van Deerlin PG, Feinberg RF, du Manoir S, Haddad BR.** Diagnosis of aneuploidy in archival, paraffin-embedded pregnancy-loss tissues by comparative genomic hybridization. *Fertil Steril.* 2001; 75(2):374-379.
- **Benacerraf BR.** The second-trimester fetus with Down syndrome: detection using sonographic features. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1996; 7(2):147-155.
- **Benacerraf BR.** Should sonographic screening for fetal Down syndrome be applied to low risk women? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;15(6): 451-455.
- **Bendavid C, Dupé V, Rochard L, Gicquel I, Dubourg C, David V.** Holoprosencephaly: An update on cytogenetic abnormalities. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2010; 154C(1):86-92.

- **Benkhalifa M, Kasakyan S, Clement P, Baldi M, Tachdjian G, Demirool A, Gurgan T, Fiorentino F, Mohammed M, Qumsiyeh MB.** Array comparative genomic hybridization profiling of first-trimester spontaneous abortions that fail to grow in vitro. *Prenat Diagn.* 2005; 25(10):894-900.
- **Bi W, Breman AM, Venable SF, Eng PA, Sahoo T, Lu XY, Patel A, Beaudet AL, Cheung SW, White LD.** Rapid prenatal diagnosis using uncultured amniocytes and oligonucleotide array CGH. *Prenat Diagn.* 2008; 28(10):943-949.
- **Bianchi DW, Simpson JL, Jackson LG, Elias S, Holzgreve W, Evans MI, Dukes KA, Sullivan LM, Klinger KW, Bischoff FZ, Hahn S, Johnson KL, Lewis D, Wapner RJ, de la Cruz F.** Fetal gender and aneuploidy detection using fetal cells in maternal blood: analysis of NIFTY I data. National Institute of Child Health and Development Fetal Cell Isolation Study. *Prenat Diagn.* 2002; 22(7):609-615.
- **Bione S, Sala C, Manzini C, Arrigo G, Zuffardi O, Banfi S, Borsani G, Jonveaux P, Philippe C, Zuccotti M, Ballabio A, Toniolo D.** A human homologue of the *Drosophila melanogaster* diaphanous gene is disrupted in a patient with premature ovarian failure: evidence for conserved function in oogenesis and implications for human sterility. *Am J Hum Genet.* 1998; 62(3):533-541.
- **Bishop DV, Canning E, Elgar K, Morris E, Jacobs PA, Skuse DH.** Distinctive patterns of memory function in subgroups of females with Turner syndrome: evidence for imprinted loci on the X-chromosome affecting neurodevelopment. *Neuropsychologia.* 2000;38(5):712-721.
- **Bondy CA; Turner Syndrome Study Group.** Care of girls and women with Turner syndrome: A guideline of the Turner Syndrome Study Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(1):10-25.
- **Boormans EM, Birnie E, Oepkes D, Galjaard RJ, Schuring-Blom GH, van Lith JM; MLP and Karyotyping Evaluation (M.A.K.E.) Study Group.** Comparison of multiplex ligation-dependent probe amplification and karyotyping in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol.* 2010; 115(2):297-303.
- **Borrell A.** The ductus venosus in early pregnancy and congenital anomalies. *Prenat Diagn.* 2004; 24(9):688-692.
- **Borrell A.** Promises and pitfalls of first trimester sonographic markers in the detection of fetal aneuploidy. *Prenat Diagn.* 2009; 29(1):62-68.
- **Boucher CA, Sargent CA, Ogata T, Affara NA.** Breakpoint analysis of Turner patients with partial Xp deletions: implications for the lymphoedema gene location. *Med Genet.* 2001; 38(9):591-598.
- **Boué A, Boué J, Gropp A.** Cytogenetics of pregnancy wastage. *Adv Hum Genet.* 1985; 14: 1-57.
- **Boyd PA, Anthony MY, Manning N, Rodriguez CL, Wellesley DG, Chamberlain P.** Antenatal diagnosis of cystic hygroma or nuchal pad-report of 92 cases with follow-up of survivors. *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* 1996; 74: F38-F42.
- **Boyd PA, Devigan C, Khoshnood B, Loane M, Garne E, Dolk H; EUROCAT Working Group.** Survey of prenatal screening policies in Europe for structural malformations and chromosome anomalies, and their impact on detection and termination rates for neural tube defects and Down's syndrome. *BJOG.* 2008;115(6): 689-696.
- **Braithwaite JM, Morris RW, Economides DL.** Nuchal translucency measurements: frequency distribution and changes with gestation in a general population. *Br J Obstet Gynaecol.* 1996; 103(12):1201-1204.
- **Breathnach FM, Malone FD, Lambert-Messerlian G, Cuckle HS, Porter TF, Nyberg DA, Comstock CH, Saade GR, Berkowitz RL, Klugman S, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Tripp T, Bianchi DW, D'Alton ME; First and Second Trimester Evaluation of Risk (FASTER)**

- Research Consortium.** First- and second-trimester screening: detection of aneuploidies other than Down syndrome. *Obstet Gynecol.* 2007; 110(3):651-657.
- **Breed AS, Mantingh A, Vosters R, Beekhuis JR, Van Lith JM, Anders GJ.** Follow-up and pregnancy outcome after a diagnosis of mosaicism in CVS. *Prenat Diagn.* 1991; 11(8):577-580.
  - **Brewer C, Holloway S, Zawalnyski P, Schinzel A, FitzPatrick D.** A chromosomal deletion map of human malformations. *Am J Hum Genet.* 1998; 63(4): 1153-1159.
  - **Bryant Borders AE, Greenberg J, Plaga S, Shepard-Hinton M, Yates C, Elias S, Shulman LP.** Value of amniocentesis versus fetal tissue for cytogenetic analysis in cases of fetal demise. *Fetal Diagn Ther.* 2009;26(2):81-84.
  - **Bronshtein M, Zimmer EZ, Blazer S.** A characteristic cluster of fetal sonographic markers that are predictive of fetal Turner syndrome in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 188(4): 1016-1020.
  - **Bronshtein M, Zimmer EZ, Blazer S.** The utility of detailed first trimester ultrasound examination in abnormal fetal nuchal translucency. *Prenat Diagn.* 2008; 28(11):1037-1041.
  - **Brown S, Gersen S, Anyane-Yeboah K, Warburton D.** Preliminary definition of a "critical region" of chromosome 13 in q32: report of 14 cases with 13q deletions and review of the literature. *Am J Med Genet.* 1993; 45(1): 52-59.
  - **Brun JL, Gangbo F, Wen ZQ, Galant K, Taine L, Maugey-Laulom B, Roux D, Mangione R, Horovitz J, Saura R.** Prenatal diagnosis and management of sex chromosome aneuploidy: a report on 98 cases. *Prenat Diagn.* 2004; 24(3): 213-218.
  - **Bruno DL, Ganesamoorthy D, Schoumans J, Bankier A, Coman D, Delatycki M, Gardner RJ, Hunter M, James PA, Kannu P, McGillivray G, Pachter N, Peters H, Rieubland C, Savarirayan R, Scheffer IE, Sheffield L, Tan T, White SM, Yeung A, Bowman Z, Ngo C, Choy KW, Cacheux V, Wong L, Amor DJ, Slater HR.** Detection of cryptic pathogenic copy number variations and constitutional loss of heterozygosity using high resolution SNP microarray analysis in 117 patients referred for cytogenetic analysis and impact on clinical practice. *J Med Genet.* 2009; 46(2):123-131.
  - **Bugge M, Bruun-Petersen G, Brøndum-Nielsen K, Friedrich U, Hansen J, Jensen G, Jensen PK, Kristoffersson U, Lundsteen C, Niebuhr E, Rasmussen KR, Rasmussen K, Tommerup N.** Disease associated balanced chromosome rearrangements: a resource for large scale genotype-phenotype delineation in man. *J Med Genet.* 2000; 37(11): 858-865.
  - **Burnett AC, Reutens DC, Wood AG.** Social cognition in Turner's Syndrome. *J Clin Neurosci.* 2010; 17(3):283-286.

## C

- **Cans C, Amblard F, Devillard F, Pison H, Jalbert P, Jouk PS.** Population screening for aneuploidy using maternal age and ultrasound. *Prenat Diagn.* 1998; 18(7): 683-692.
- **Caron L, Tihy F, Dallaire L.** Frequencies of chromosomal abnormalities at amniocentesis: over 20 years of cytogenetic analyses in one laboratory. *Am J Med Genet.* 1999; 82(2):149-154.
- **Casaccia G, Mobili L, Braguglia A, Santoro F, Bagolan P.** Distal 4p microdeletion in a case of Wolf-Hirschhorn syndrome with congenital diaphragmatic hernia. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2006; 76(3):210-213.
- **Cemat group.** Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and

- midtrimester amniocentesis. The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. *Lancet*. 1998; 351(9098):242-247
- **Chang HJ, Clark RD, Bachman H.** The phenotype of 45,X/46,XY mosaicism: an analysis of 92 prenatally diagnosed cases. *Am J Hum Genet*. 1990; 46(1):156-167.
  - **Chaoui R, Nicolaides KH.** From nuchal translucency to intracranial translucency: towards the early detection of spina bifida. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010; 35(2):133-138.
  - **Chen H, Yu CW, Mulhern R, Fowler M, Al Saadi A.** Chromosome preparations of chondrocytes cultured from human cartilages. *Am J Med Genet*. 1980; 6(2): 179-181.
  - **Chen CP.** Chromosomal abnormalities associated with neural tube defects (II): partial aneuploidy. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2007; 46(4):336-351.
  - **Cheung SW, Shaw CA, Yu W, Li J, Ou Z, Patel A, Yatsenko SA, Cooper ML, Furman P, Stankiewicz P, Lupski JR, Chinault AC, Beaudet AL.** Development and validation of a CGH microarray for clinical cytogenetic diagnosis. *Genet Med*. 2005; 7(6):422-432.
  - **Chitty LS.** Ultrasound screening for fetal abnormalities *Prenat Diagn*. 1995; 15(13): 1241-1257.
  - **Chitty LS, Pandya PP.** Ultrasound screening for fetal abnormalities in the first trimester. *Prenat Diagn*. 1997; 17(13):1269-1281.
  - **Chiu RW, Chan KC, Gao Y, Lau VY, Zheng W, Leung TY, Foo CH, Xie B, Tsui NB, Lun FM, Zee BC, Lau TK, Cantor CR, Lo YM.** Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(51):20458-20463.
  - **Choe J, Kang JK, Bae CJ, Lee DS, Hwang D, Kim KC, Park WY, Lee JH, Seo JS.** Identification of origin of unknown derivative chromosomes by array-based comparative genomic hybridization using pre- and postnatal clinical samples. *J Hum Genet*. 2007;52(11):934-942.
  - **Christian SM, Koehn D, Pillay R, MacDougall A, Wilson RD.** Parental decisions following prenatal diagnosis of sex chromosome aneuploidy: a trend over time. *Prenat Diagn*. 2000;20:37-40.
  - **Christiaens GC, Vissers J, Poddighe PJ, de Pater JM.** Comparative genomic hybridization for cytogenetic evaluation of stillbirth. *Obstet Gynecol*. 2000; 96(2):281-286.
  - **Cicero S, Curcio P, Papageorghiou A, Sonek J, Nicolaides K.** Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet*. 2001; 358(9294):1665-1667.
  - **Cicero S, Rembouskos G, Vandecruys H, Hogg M, Nicolaides KH.** Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with absent nasal bone at the 11-14-week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004; 23(3):218-223.
  - **Cioni R, Bussani C, Bucciantini S, Scarselli G.** Fetal cells in a transcervical cell sample collected at 5 weeks of gestation. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2005; 18(4):271-273.
  - **Cirigliano V, Voglino G, Ordoñez E, Marongiu A, Paz Cañadas M, Ejarque M, Rueda L, Lloveras E, Fuster C, Adinolfi M.** Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR, results of 9 years of clinical experience. *Prenat Diagn*. 2009; 29(1):40-49.
  - **Clementi M, Stoll C.** The Euroscan study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001; 18(4):297-300.
  - **Clur SA, Mathijssen IB, Pajkrt E, Cook A, Laurini RN, Ottenkamp J, Bilardo M.** Structural heart defects associated with an increased nuchal translucency: 9 years experience in a referral centre. *Prenat Diagn*. 2008; 28(4):347-354.

- **Cockwell A, MacKenzie M, Youings S, Jacobs P.** A cytogenetic and molecular study of a series of 45,X fetuses and their parents. *J Med Genet.* 1991; 28(3):151-5.
- **Cohen O, Cans C, Mermet MA, Demongeot J, Jalbert P.** Viability thresholds for partial trisomies and monosomies. A study of 1,159 viable unbalanced reciprocal translocations. *Hum Genet.* 1994; 93(2):188-194.
- **Coldwell S, Fitzgerald B, Semmens JM, Ede R, Bateman C.** A case of trisomy of chromosome 15. *J Med Genet.* 1981; 18(2):146-148.
- **Coppinger J, Alliman S, Lamb AN, Torchia BS, Bejjani BA, Shaffer LG.** Whole-genome microarray analysis in prenatal specimens identifies clinically significant chromosome alterations without increase in results of unclear significance compared to targeted microarray. *Prenat Diagn.* 2009; 29(12):1156-1166.
- **Cragan JD, Gilboa SM.** Including prenatal diagnoses in birth defects monitoring: Experience of the Metropolitan Atlanta Congenital Defects Program. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2009; 85(1):20-29.
- **Creasy MR.** The cytogenetic of spontaneous abortion in humans. Genetic causes of early pregnancy failure. In: *Early pregnancy loss. Mechanisms and treatment.* Ed. R.W. Beard and F. Sharp. Springer-Verlag. 1988. pp293-305.
- **Creswell CS i Skuse DH.** Autism in association with Turner syndrome: genetic implications for male vulnerability to pervasive development disorders. *Neurocase.* 1999; 5:511-518.
- **Crolla JA.** Cytogenetics 40 years on. *J Clin Pathol.* 1996; 49(8):619.
- **Crolla JA.** FISH and molecular studies of autosomal supernumerary marker chromosomes excluding those derived from chromosome 15: II. Review of the literature. *Am J Med Genet.* 1998; 75(4):367-381.
- **Curry CJ.** Pregnancy loss, stillbirth, and neonatal death. A guide for the pediatrician. *Pediatr Clin North Am.* 1992; 39(1):157-192.
- **Curry CJ, Honoré LH.** A protocol for the investigation of pregnancy loss. *Clin Perinatol.* 1990; 17(3):723-742.

## D

- **Dane B, Dane C, Sivri D, Kiray M, Cetin A, Yayla M.** Ultrasound screening for fetal major abnormalities at 11-14 weeks. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2007;86(6):666-670
- **Daniel A, Athayde N, Ogle R, George AM, Michael J, Pertile MD, Bryan J, Jammu V, Trudinger BJ.** Prospective ranking of the sonographic markers for aneuploidy: data of 2143 prenatal cytogenetic diagnoses referred for abnormalities on ultrasound. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2003; 43(1):16-26.
- **Daniely M, Aviram-Goldring A, Barkai G, Goldman B.** Detection of chromosomal aberration in fetuses arising from recurrent spontaneous abortion by comparative genomic hybridization. *Hum Reprod.* 1998; 13(4):805-809.
- **Daniely M, Barkai G, Goldman B, Aviram-Goldring A.** Detection of numerical chromosome aberrations by comparative genomic hybridization. *Prenat Diagn.* 1999; 19(2):100-104.
- **Darilek S, Ward P, Pursley A, Plunkett K, Furman P, Magoulas P, Patel A, Cheung SW, Eng CM.** Pre- and postnatal genetic testing by array-comparative genomic hybridization: genetic counseling perspectives. *Genet Med.* 2008; 10(1):13-18.
- **De Galan-Roosen AE, Kuijpers JC, Meershoek AP, van Velzen D.** Contribution of congenital malformations to perinatal mortality. A 10 years prospective regional study in The Netherlands. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1998; 80(1):55-61.

- **De Gregori M, Ciccone R, Magini P, Pramparo T, Gimelli S, Messa J, Novara F, Vetro A, Rossi E, Maraschio P, Bonaglia MC, Anichini C, Ferrero GB, Silengo M, Fazzi E, Zatterale A, Fischetto R, Previderé C, Belli S, Turci A, Calabrese G, Bernardi F, Meneghelli E, Riegel M, Rocchi M, Gueneri S, Lalatta F, Zelante L, Romano C, Fichera M, Mattina T, Arrigo G, Zollino M, Giglio S, Lonardo F, Bonfante A, Ferlini A, Cifuentes F, Van Esch H, Backx L, Schinzel A, Vermeesch JR, Zuffardi O.** Cryptic deletions are a common finding in "balanced" reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients. *J Med Genet.* 2007; 44(12): 750-762.
- **de Smith AJ, Walters RG, Froguel P, Blakemore AI.** Human genes involved in copy number variation: mechanisms of origin, functional effects and implications for disease. *Cytogenet Genome Res.* 2008;123(1-4):17-26.
- **DeVore GR, Alfi O.** The use of color Doppler ultrasound to identify fetuses at increased risk for trisomy 21: an alternative for high-risk patients who decline genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol.* 1995; 85(3):378-386.
- **DeVore GR.** Trisomy 21: 91% detection rate using second-trimester ultrasound markers. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;16(2):133-141.
- **DeVore GR.** The genetic sonogram: its use in the detection of chromosomal abnormalities in fetuses of women of advanced maternal age. *Prenat Diagn.* 2001; 21(1):40-45.
- **de Vries BB, Pfundt R, Leisink M, Koolen DA, Vissers LE, Janssen IM, Reijmersdal S, Nillesen WM, Huys EH, Leeuw N, Smeets D, Sistermans EA, Feuth T, van Ravenswaaij-Arts CM, van Kessel AG, Schoenmakers EF, Brunner HG, Veltman JA.** Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2005; 77(4):606-616.
- **Dexeus S.** El riesgo de nacer: el desafío del diagnóstico prenatal. Barcelona: Ed. Labor, 1989.
- **Donald I, MacVicar J, Brown TG.** Investigation of abdominal masses by pulsed ultrasound. *Lancet* 1958; 1:1188-1195.
- **Dighe M, Cheng E, Dubinsky T.** Ultrasound manifestations of unusual trisomies-excluding trisomy 13, 18, and 21: a literature review. *Ultrasound Q.* 2009; 25(1):15-24.
- **Digilio MC, Marino B, Giannotti A, Di Donato R, Dallapiccola B.** Heterotaxy with left atrial isomerism in a patient with deletion 18p. *Am J Med Genet.* 2000; 94(3): 198-200.
- **Driscoll DA, Gross S.** Clinical practice. Prenatal screening for aneuploidy. *N Engl J Med.* 2009; 360(24):2556-2562.

## E

- **Economides DL, Whitlow BJ, Kadir R, Lazanakis M, Verdin SM.** First trimester sonographic detection of chromosomal abnormalities in an unselected population. *Br J Obstet Gynaecol.* 1998; 105(1): 58-62.
- **Eiben B, Bartels I, Bähr-Porsch S, Borgmann S, Gatz G, Gellert G, Goebel R, Hammans W, Hentemann M, Osmers R.** Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct-preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet.* 1990; 47(4):656-663
- **Elsheikh M, Wass JA, Conway GS.** Autoimmune thyroid syndrome in women with Turner's syndrome-the association with karyotype. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001; 55(2):223-226.

- **Escalon J, Huissoud C, Bisch C, Gonnaud F, Fichez A, Rudigoz RC.** Parental impact of 3D/4D ultrasonography in fetal cleft lip and palate. *Gynecol Obstet Fertil.* 2010; 38(2):101-104.

## F

- **Faiola S, Tsoi E, Huggon IC, Allan LD, Nicolaides KH.** Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with tricuspid regurgitation at the 11 to 13 + 6-week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005; 26(1):22-27.
- **Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR.** Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105(42):16266-16271.
- **Falk MJ, Curtis CA, Bass NE, Zinn AB, Schwartz S.** Maternal uniparental disomy chromosome 14: case report and literature review. *Pediatr Neurol.* 2005; 32(2):116-120.
- **Farell Sa, Sue-Chue-Lam A, Miskin M, Fan YS.** Fetal nuchal oedema and antenatal diagnosis of trisomy 10. *Prenat Diagn.* 1994; 14:463-467.
- **Faye-Petersen OM, Guinn DA, Wenstrom KD.** Value of perinatal autopsy. *Obstet Gynecol.* 1999; 94(6):915-920.
- **Fechner PY, Davenport ML, Qualy RL, Ross JL, Gunther DF, Eugster EA, Huseman C, Zagar AJ, Quigley CA; Toddler Turner Study Group.** Differences in follicle-stimulating hormone secretion between 45,X monosomy Turner syndrome and 45,X/46,XX mosaicism are evident at an early age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(12):4896-9402.
- **Fernández-García R, García-Doval S, Costoya S, Pásaro E.** Analysis of sex chromosome aneuploidy in 41 patients with Turner syndrome: a study of 'hidden' mosaicism. *Clin Genet.* 2000; 58(3):201-208
- **Fisher AM, Cockwell AE, Moore KJ, Gregson NM, Campbell PL, Campbell CM, Herbert A, Barber JC, Crolla JA.** Rapid in situ harvesting and cytogenetic analysis of perinatal tissue samples. *Prenat Diagn.* 1996; 16(7):615-21.
- **Flood K, Malone FD.** Screening for fetal abnormalities with ultrasound. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008; 20(2):139-145.
- **Forrester MB, Merz RD.** Pregnancy outcome and prenatal diagnosis of sex chromosome abnormalities in Hawaii, 1986-1999. *Am J Med Genet.* 2003; 119A:305-310.
- **Forrester MB, Merz RD.** Patterns of chromosomal deletions identified by a birth defects registry, Hawaii, 1986-2003. *Congenit Anom (Kyoto).* 2007 Jun; 47(2):58-62.
- **Friedman JM.** High-resolution array genomic hybridization in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2009; 29(1):20-28.
- **Fritz B, Hallermann C, Olert J, Fuchs B, Bruns M, Aslan M, Schmidt S, Coerdts W, Müntefering H, Rehder H.** Cytogenetic analyses of culture failures by comparative genomic hybridisation (CGH)-Re-evaluation of chromosome aberration rates in early spontaneous abortions. *Eur J Hum Genet.* 2001; 9(7):539-547
- **Fruhman G, Van den Veyver IB.** Applications of array comparative genomic hybridization in obstetrics. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2010; 37(1):71-85.

## G

- **Gagnon A, Wilson RD, Allen VM, Audibert F, Blight C, Brock JA, Désilets VA, Johnson JA, Langlois S, Murphy-Kaulbeck L, Wyatt P; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada.** Evaluation of prenatally diagnosed structural



- congenital anomalies. *J Obstet Gynaecol Can.* 2009; 31(9):875-881.
- **Gala F, Aguilar MS, Ferrer E, Moya M.** Estudio citogenético en abortos espontáneos. *Clin Inves Gin Obst.* 1994; 21:444-447.
  - **Ganapathy R, Guven M, Sethna F, Vivekananda U, Thilaganathan B.** Natural history and outcome of prenatally diagnosed cystic hygroma. *Prenat Diagn.* 2004; 24(12): 965-968.
  - **Gardner MR i Sutherland GR.** 2004. Cytogenetics of spontaneous abortions and later pregnancy loss. In Gardner MR. Sutherland GR, editors. *Chromosome abnormalities and genetic counseling.* 3rd edition. New York: Oxford University Press; p. 343-345.
  - **Garmel SH, D'Alton ME.** Fetal ultrasonography. *West J Med.* 1993; 159(3):273-285.
  - **Gelman-Kohan Z, Rosensaft J, Ben-Hur H, Haber A, Chemke J.** Cytogenetic analysis of fetal chondrocytes: a comparative study. *Prenat Diagn.* 1996;16(2):165-168.
  - **Genuardi M, Calvieri F, Tozzi C, Coslovi R, Neri G.** A new case of interstitial deletion of chromosome 3q, del(3q)(q13.12q21.3), with agenesis of the corpus callosum. *Clin Dysmorphol.* 1994; 3(4):292-296.
  - **Giardino D, Corti C, Ballarati L, Colombo D, Sala E, Villa N, Piombo G, Pierluigi M, Faravelli F, Gueneri S, Coviello D, Lalatta F, Cavallari U, Bellotti D, Barlati S, Croci G, Franchi F, Savin E, Nocera G, Amico FP, Granata P, Casalone R, Nutini L, Lisi E, Torricelli F, Giussani U, Facchinetti B, Guanti G, Di Giacomo M, Susca FP, Pecile V, Romitti L, Cardarelli L, Racalbutto E, Police MA, Chiodo F, Rodeschini O, Falcone P, Donti E, Grimoldi MG, Martinoli E, Stioui S, Caufin D, Lauricella SA, Tanzariello SA, Voglino G, Lenzini E, Besozzi M, Larizza L, Dalprà L.** De novo balanced chromosome rearrangements in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2009; 29(3):257-265.
  - **Gignac J, Danis K, Tihy F, Lemyre E.** Prenatal detection of subtelomeric rearrangements by multi-subtelomere FISH in a cohort of fetuses with major malformations. *Am J Med Genet A.* 2006; 140(24):2768-2775.
  - **Gindes L, Hegesh J, Weisz B, Gilboa Y, Achiron R.** Three and four dimensional ultrasound: a novel method for evaluating fetal cardiac anomalies. *Prenat Diagn.* 2009; 29(7):645-653.
  - **Globus MS.** Prenatal diagnosis and fetal loss. In: R.G. Rosenfeld, M.M. Grumbach , editors. *Turner syndrome.* New York: Marcell Dekker, 1990. p. 101-108.
  - **Goemaere N, Douben H, Van Opstal D, Wouters C, Tibboel D, de Krijger R, de Klein A.** The use of comparative genomic hybridization and fluorescent in situ hybridization in postmortem pathology investigation of congenital malformations. *Pediatr Dev Pathol.* 2010; 13(2):85-94.
  - **Goddijn M, Leschot NJ.** Genetic aspects of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000; 14(5):855-865.
  - **Graf MD, Christ L, Mascarello JT, Mowrey P, Pettenati M, Stetten G, Storto P, Surti U, Van Dyke DL, Vance GH, Wolff D, Schwartz S.** Redefining the risks of prenatally ascertained supernumerary marker chromosomes: a collaborative study. *J Med Genet.* 2006; 43(8):660-664.
  - **Grandjean H, Larroque D, Levi S.** Detection of chromosomal abnormalities, an outcome of ultrasound screening. The Eurofetus Team. *Ann N Y Acad Sci.* 1998; 18; 847:136-140.
  - **Grandjean H, Larroque D, Levi S.** Sensitivity of routine ultrasound screening of pregnancies in the Eurofetus database. The Eurofetus Team. *Ann N Y Acad Sci.* 1998; 847:118-124.
  - **Grati FR, Barlocco A, Grimi B, Milani S, Frascoli G, Di Meco AM, Liuti R, Trotta A, Chinetti S, Dulcetti F, Ruggeri AM, De Toffol S, Clementi M, Maggi F, Simoni G.** Chromosome abnormalities investigated by non-invasive prenatal

- testing account for approximately 50% of fetal unbalances associated with relevant clinical phenotypes. *Am J Med Genet A*. 2010; 152A(6):1434-1442
- **Gravholt CH, Juul S, Naeraa RW, Hansen J**. Prenatal and postnatal prevalence of Turner's syndrome: a registry study. *BMJ*. 1996; 312(7022): 16-21.
  - **Gravholt CH**. Epidemiological, endocrine and metabolic features in Turner syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2004, 151:657-687.
  - **Green RF, Moore C**. Incorporating genetic analyses into birth defects cluster investigations: strategies for identifying candidate genes. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2006; 76(11):798-810.
  - **Gribble SM, Prigmore E, Burford DC, Porter KM, Ng BL, Douglas EJ, Fiegler H, Carr P, Kalaitzopoulos D, Clegg S, Sandstrom R, Temple IK, Youings SA, Thomas NS, Dennis NR, Jacobs PA, Crolla JA, Carter NP**. The complex nature of constitutional de novo apparently balanced translocations in patients presenting with abnormal phenotypes. *J Med Genet*. 2005; 42(1):8-16.
  - **Griffin DK, Millie EA, Redline RW, Hassold TJ, Zaragoza MV**. Cytogenetic analysis of spontaneous abortions: comparison of techniques and assessment of the incidence of confined placental mosaicism. *Am J Med Genet*. 1997; 72(3):297-301.
  - **Gross SJ, Shulman LP, Tolley EA, Emerson DS, Felker RE, Simpson JL, Elias S**. Isolated fetal choroid plexus cysts and trisomy 18: a review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 1995; 172(1):83-87.
  - **Gruchy N, Lebrun M, Herlicoviez M, Alliet J, Gourdier D, Kottler ML, Mittre H, Leporrier N**. Supernumerary marker chromosomes management in prenatal diagnosis. *Am J Med Genet A*. 2008; 146A(21):2770-2776.
  - **Guanciali-Franchi P, Calabrese G, Morizio E, Fantasia D, Colosimo A, Rinaldi MM, Cristini L, Simonelli A, Lonardo F, Turci A, Zatterale A, Laganà C, Stuppia L, Sabatino G, Palka G**. Identification of 14 rare marker chromosomes and derivatives by spectral karyotyping in prenatal and postnatal diagnosis. *Am J Med Genet A*. 2004; 127A(2):144-148.
  - **Guibaud L**. Contribution of fetal cerebral MRI for diagnosis of structural anomalies. *Prenat Diagn*. 2009; 29(4):420-433.
  - **Gunther DF, Eugster E, Zagar AJ, Bryant CG, Davenport ML, Quigley CA**. Ascertainment bias in Turner syndrome: new insights from girls who were diagnosed incidentally in prenatal life. *Pediatrics*. 2004; 114(3):640-644.

## H

- **Hahnemann N**. Early prenatal diagnosis; a study of biopsy techniques and cell culturing from extraembryonic membranes. *Clin Genet*. 1974;6(4):294-306.
- **Hall JG, Gilchrist DM**. Turner syndrome and its variants. *Pediatr Clin North Am* 1990; 37:1421-1436.
- **Halliday J, Lumley J, Bankier A**. Karyotype abnormalities in fetuses diagnosed as abnormal on ultrasound before 20 weeks gestational age. *Prenat Diagn* 1994; 14: 689-697.
- **Hamelin CE, Anglin G, Quigley CA, Deal CL**. Genomic imprinting in Turner syndrome: effects on response to growth hormone and on risk of sensorineural hearing loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(8):3002-3010.
- **Han SH, An JW, Jeong GY, Yoon HR, Lee A, Yang YH, Lee KP, Lee KR**. Clinical and cytogenetic findings on 31,615 mid-trimester amniocenteses. *Korean J Lab Med*. 2008; 28(5):378-385.
- **Hanna JS, Neu RL, Lockwood DH**. Prenatal cytogenetic results from cases referred for 44 different types of abnormal ultrasound findings. *Prenat Diagn* 1996;

- 16:109-115.
- **Harris J, Robert E, Källén B.** Epidemiology of choanal atresia with special reference to the CHARGE association. *Pediatrics*. 1997; 99(3):363-367.
  - **Hassold T, Benham F, Leppert M.** Cytogenetic and molecular analysis of sex-chromosome monosomy. *Am J Hum Genet*. 1988; 42(4):534-541.
  - **Haverkamp F, Wölfle J, Zerres K, Butenandt O, Amendt P, Hauffa BP, Weimann E, Bettendorf M, Keller E, Mühlenberg R, Partsch CJ, Sippell WG, Hoppe C.** Growth retardation in Turner syndrome: aneuploidy, rather than specific gene loss, may explain growth failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84(12):4578-4582.
  - **Healey S, Powell F, Battersby M, Chenevix-Trench G, McGill J.** Distinct phenotype in maternal uniparental disomy of chromosome 14. *Am J Med Genet*. 1994; 51(2):147-149.
  - **Hecht F, Hecht BK.** Environmental chromosome damage. *Am J Med Genet*. 1987; 27(2):399-400.
  - **Hefler LA, Hersh DR, Moore PJ, Gregg AR.** Clinical value of postnatal autopsy and genetics consultation in fetal death. *Am J Med Genet*. 2001; 104(2):165-168.
  - **Heinrich JK, Machado IN, Vivas L, Bianchi MO, Cursino Andrade K, Sbragia L, Barini R.** Prenatal genomic profiling of abdominal wall defects through comparative genomic hybridization: perspectives for a new diagnostic tool. *Fetal Diagn Ther*. 2007;22(5):361-364.
  - **Held KR, Kerber S, Kaminsky E, Singh S, Goetz P, Seemanova E, Goedde HW.** Mosaicism in 45,X Turner syndrome: does survival in early pregnancy depend on the presence of two sex chromosomes? *Hum Genet*. 1992; 88(3):288-294.
  - **Henderson KG, Shaw TE, Barrett IJ, Telenius AH, Wilson RD, Kalousek DK.** Distribution of mosaicism in human placentae. *Hum Genet*. 1996; 97(5):650-654.
  - **Hill LM, Breckle R, Gehrking WC, O'Brien PC.** Use of femur length in estimation of fetal weight. *Am J Obstet Gynecol*. 1985; 152(7 Pt 1):847-852.
  - **Hillman SC, Pretlove S, Coomarasamy A, McMullan DJ, Davison EV, Maher ER, Kilby MD.** Additional information from array Comparative Genomic Hybridisation (array CGH) technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis - a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010 (en premsa).
  - **Hoang MP, Wilson KS, Schneider NR, Timmons CF.** Case report of a 22-week fetus with 47,XXX karyotype and multiple lower mesodermal defects. *Pediatr Dev Pathol*. 1999; 2(1):58-61.
  - **Holl RW, Kunze D, Etzrodt H, Teller W, Heinze E.** Turner syndrome: final height, glucose tolerance, bone density and psychosocial status in 25 adult patients. *Eur J Pediatr*. 1994; 153(1):11-16.
  - **Holmgren C, Lacoursiere DY.** The use of prenatal ultrasound for the detection of fetal aneuploidy. *Clin Obstet Gynecol*. 2008 Mar;51(1):48-61.
  - **Hong D, Scaletta Kent J, Kesler S.** Cognitive profile of Turner syndrome. *Dev Disabil Res Rev*. 2009;15(4):270-278.
  - **Hook EB.** Exclusion of chromosomal mosaicism: tables of 90%, 95% and 99% confidence limits and comments on use. *Am J Hum Genet*. 1977; 29(1):94-97.
  - **Hook EB and Warburton D.** The distribution of chromosomal genotypes associated with Turner's syndrome: livebirth prevalence rates and evidence for diminished fetal mortality and severity in genotypes associated with structural X abnormalities or mosaicism. *Hum Genet*. 1983; 64:24-27.
  - **Hook EB, Topol BB, Cross PK.** The natural history of cytogenetically abnormal fetuses detected at midtrimester amniocentesis which are not terminated electively: new data and estimates of the excess and relative risk of late fetal death associated

- with 47,+21 and some other abnormal karyotypes. *Am J Hum Genet.* 1989; 45(6): 855-861.
- **Howarth ES, Konje JC, Healey KA, Duckett DP, Scudamore IW, Taylor DJ.** Invasive testing for the karyotyping of mid-trimester intrauterine fetal death (IUFD): a pilot study. *Prenat Diagn.* 2002;22(6):453-455.
  - **Howarth ES, Draper ES, Budd JLS, Konje JC, Clarke M, Kurinczuk JJ.** Population-bases study of the outcome following the prenatal diagnosis of cystic hygroma. *Prenat Genet* 2005; 25:286-291.
  - **Hsu LY, Yu MT, Neu RL, Van Dyke DL, Benn PA, Bradshaw CL, Shaffer LG, Higgins RR, Khodr GS, Morton CC, Wang H, Brothman AR, Chadwick D, Disteche CM, Jenkins LS, Kalousek DK, Pantzar TJ, Wyatt P.** Rare trisomy mosaicism diagnosed in amniocytes, involving an autosome other than chromosomes 13, 18, 20, and 21: karyotype/phenotype correlations. *Prenat Diagn.* 1997; 17(3): 201-242.
  - **Hsu LYF.** Prenatal Diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In: A. Milunsky, editor. *Genetic Disorders and the fetus.* Baltimore: Johns Hopkins University Press. 1998. p. 179-248.
  - **<http://iier.isciii.es/er/html/erciac.htm>**
  - **Huang B, Thangavelu M, Bhatt S, Sandlin C, Wang S.** Prenatal diagnosis of 45,X and 45,X mosaicism: the need for thorough cytogenetic and clinical evaluations. *Prenat Diagn.* 2002; 22(2):105-110.
  - **Huang B, Solomon S, Thangavelu M, Peters K, Bhatt S.** Supernumerary marker chromosomes detected in 100,000 prenatal diagnoses: molecular cytogenetic studies and clinical significance. *Prenat Diagn.* 2006; 26(12):1142-1150.
  - **Huggon IC, DeFigueiredo DB, Allan LD.** Tricuspid regurgitation in the diagnosis of chromosomal anomalies in the fetus at 11-14 weeks of gestation. *Heart.* 2003; 89(9):1071-1073.
  - **Hume RF Jr, Kilmer-Ernst P, Wolfe HM, Ebrahim SA, Treadwell MC, Johnson MP, Evans MI.** Prenatal cytogenetic abnormalities: correlations of structural rearrangements and ultrasonographically detected fetal anomalies. *Am J Obstet Gynecol.* 1995; 173(4):1334-1336.

## J

- **Jacobs PA, Browne C, Gregson N, Joyce C, White H.** Estimates of the frequency of chromosome abnormalities detectable in unselected newborns using moderate levels of banding. *J Med Genet.* 1992; 29(2):103-108.
- **Jacobs PA, Hassold TJ.** The origin of numerical chromosome abnormalities. *Adv Genet* 1995; 33:101-313.
- **Johnson MP, Johnson A, Holzgreve W, Isada NB, Wapner RJ, Treadwell MC, Heeger S, Evans MI.** First-trimester simple hygroma: cause and outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1993; 168:156-161.
- **Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL.** *Clinical Genetics and Genetic Counseling.* In: J Malley, editor. *Medical Genetics.* Mosby: Elsevier. 2003. p. 305-325.

## K

- **Kagan KO, Avgidou K, Molina FS, Gajewska K, Nicolaides KH.** Relation between increased fetal nuchal translucency thickness and chromosomal defects. *Obstet Gynecol.* 2006; 107(1):6-10.

- **Kagan KO, Cicero S, Staboulidou I, Wright D, Nicolaides KH.** Fetal nasal bone in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 33(3):259-264.
- **Kagan KO, Valencia C, Livanos P, Wright D, Nicolaides KH.** Tricuspid regurgitation in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11+0 to 13+6 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 33(1):18-22.
- **Kalousek DK, Barrett I.** Confined placental mosaicism and stillbirth. *Pediatr Pathol.* 1994; 14(1):151-159.
- **Kalousek DK, Vekemans M.** Confined placental mosaicism. *J Med Genet.* 1996; 33(7):529-533.
- **Kalpatthi R, Lieber E, Rajegowda B, Sharma J.** Hydrocephalus in a hydropic fetus with Turner syndrome: a rare association. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003; 14(2):136-138.
- **Källén B, Tornqvist K.** The epidemiology of anophthalmia and microphthalmia in Sweden. *Eur J Epidemiol.* 2005;20(4):345-350
- **Kesler SR, Blasey CM, Brown WE, Yankowitz J, Zeng SM, Bender BG, Reiss AL.** Effects of X-monosomy and X-linked imprinting on superior temporal gyrus morphology in Turner syndrome. *Biol Psychiatry.* 2003; 54(6):636-646.
- **Khare M, Howarth E, Sadler J, Healey K, Konje JC.** A comparison of prenatal versus postnatal karyotyping for the investigation of intrauterine fetal death after the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn.* 2005;25(13):1192-1195.
- **Kharrat R, Yamamoto M, Roume J, Couderc S, Vialard F, Hillion Y, Ville Y.** Karyotype and outcome of fetuses diagnosed with cystic hygroma in the first trimester in relation to nuchal translucency thickness. *Prenat Diagn.* 2006; 26(4): 369-372.
- **Khoury-Collado F, Wehbeh AN, Fisher AJ, Bombard AT, Weiner Z.** Prenatal diagnosis of 47,XXX. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(5):1469-1471.
- **Kim ES, Gross TL.** Prenatal ultrasound detection of a congenital epulis in a triple X female fetus: a case report. *Prenat Diagn.* 1999; 19(8):774-776.
- **Kleeman L, Bianchi DW, Shaffer LG, Rorem E, Cowan J, Craigo SD, Tighiouart H, Wilkins-Haug LE.** Use of array comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic anomalies and normal metaphase karyotype. *Prenat Diagn.* 2009; 29(13):1213-1217.
- **Klinger K, Landes G, Shook D, Harvey R, Lopez L, Locke P, Lerner T, Osathanondh R, Leverone B, Houseal T, et al.** Rapid detection of chromosome aneuploidies in uncultured amniocytes by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Am J Hum Genet.* 1992; 51(1):55-65.
- **Knoblauch H, Sommer D, Zimmer C, Tennstedt C, Heling K, Bollmann R, Bommer C, Tinschert S, Körner H.** Fetal trisomy 10 mosaicism: ultrasound, cytogenetic and morphologic findings in early pregnancy. *Prenat Diagn.* 1999; 19(4): 379-382.
- **Ko JM, Kim JM, Kim GH, Lee BH, Yoo HW.** Influence of parental origin of the X-chromosome on physical phenotypes and growth hormone responsiveness of patients with Turner syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010 (en premsa).
- **Kochi C, Longui CA, Lemos-Marini SH, Guerra-Junior G, Melo MB, Calliari LE, Monte O.** The influence of parental origin of X chromosome genes on the stature of patients with 45 X Turner syndrome. *Genet Mol Res.* 2007; 6(1):1-7.
- **Koeberl DD, McGillivray B, Sybert VP.** Prenatal diagnosis of 45,X/46,XX mosaicism and 45,X: implications for postnatal outcome. *Am J Hum Genet.* 1995; 57(3):661-666.
- **Kokawa K, Shikone T, Nakano R.** Apoptosis in human chorionic villi and decidua during normal embryonic development and spontaneous abortion in the first

- trimester. *Placenta*. 1998; 19(1):21-26.
- **Korteweg FJ, Bouman K, Erwich JJ, Timmer A, Veeger NJ, Ravisé JM, Nijman TH, Holm JP.** Cytogenetic analysis after evaluation of 750 fetal deaths: proposal for diagnostic workup. *Obstet Gynecol*. 2008; 111(4):865-874.
  - **Krantz DA, Hallahan TW, Macri VJ, Macri JN.** Genetic sonography after first-trimester Down syndrome screening. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007; 29(6):666-670.
  - **Kuleshov NP.** Chromosome anomalies of infants dying during the perinatal period and premature newborn. *Hum Genet*. 1976; 29;31(2):151-160.
  - **Kullander S, Sandahl B.** Fetal chromosome analysis after transcervical placental biopsies during early pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1973;52(4):355-359.
  - **Kuller JA, Laifer SA.** Trisomy 15 associated with nonimmune hydrops. *Am J Perinatol*. 1991; 8(1):39-40.
  - **Kurjak A, Miskovic B, Andonotopo W, Stanojevic M, Azumendi G, Vrcic H.** How useful is 3D and 4D ultrasound in perinatal medicine? *J Perinat Med*. 2007;35(1):10-27.

## L

- **Lachlan KL, Youings S, Costa T, Jacobs PA, Thomas NS.** A clinical and molecular study of 26 females with Xp deletions with special emphasis on inherited deletions. *Hum Genet*. 2006; 118(5):640-651.
- **Laifer-Narin S, Budorick NE, Simpson LL, Platt LD.** Fetal magnetic resonance imaging: a review. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2007; 19(2):151-6.
- **Lamvu G, Kuller JA.** Prenatal diagnosis using fetal cells from the maternal circulation. *Obstet Gynecol Surv*. 1997; 52(7):433-437.
- **Lapaire O, Lu XY, Johnson KL, Jarrah Z, Stroh H, Cowan JM, Tantravahi U, Bianchi DW.** Array-CGH analysis of cell-free fetal DNA in 10 mL of amniotic fluid supernatant. *Prenat Diagn*. 2007; 27(7):616-621.
- **Larose C, Massoc P, Hillion Y, Bernard JP, Ville Y.** Comparison of fetal nasal bone assessment by ultrasound at 11-14 weeks and by postmortem X-ray in trisomy 21: a prospective observational study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003; 22(1):27-30.
- **Larrabee PB, Johnson KL, Pestova E, Lucas M, Wilber K, LeShane ES, Tantravahi U, Cowan JM, Bianchi DW.** Microarray analysis of cell-free fetal DNA in amniotic fluid: a prenatal molecular karyotype. *Am J Hum Genet*. 2004; 75(3):485-491.
- **Leandro IM, Blandón R.** Prenatal diagnosis of congenital cardiopathy. *Rev Med Panama*. 199; 24(1):34-38.
- **Le Caignec C, Boceno M, Saugier-Veber P, Jacquemont S, Joubert M, David A, Frebourg T, Rival JM.** Detection of genomic imbalances by array based comparative genomic hybridisation in fetuses with multiple malformations. *J Med Genet*. 2005; 42(2):121-128.
- **Le Caignec C, Spits C, Sermon K, De Rycke M, Thienpont B, Debrock S, Staessen C, Moreau Y, Fryns JP, Van Steirteghem A, Liebaers I, Vermeesch JR.** Single-cell chromosomal imbalances detection by array CGH. *Nucleic Acids Res*. 2006; 34(9):e68.
- **Ledbetter DH.** Chaos in the embryo. *Nat Med*. 2009; 15(5):490-491
- **Lee S, Kasif S, Weng Z, Cantor CR.** Quantitative analysis of single nucleotide polymorphisms within copy number variation. *PLoS One*. 2008;3(12):e3906.

- **Lee YY, Hung J, Chang TY, Huang CC.** Agenesis of the corpus callosum in Turner's syndrome: report of a case and review of the literature. *Acta Neurol Taiwan.* 2008; 17(3):194-198.
- **Levi S, Schaaps JP, De Havay P, Coulon R, Defoort P.** End-result of routine ultrasound screening for congenital anomalies: the Belgian Multicentric Study 1984-92. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995; 5(6):366-371.
- **Levi S.** Ultrasound in prenatal diagnosis: polemics around routine ultrasound screening for second trimester fetal malformations. *Prenat Diagn.* 2002; 22(4):285-295.
- **Li D, Liao C, Yi C, Pan M.** Amniocentesis for karyotyping prior to induction of abortion at second trimester. *Prenat Diagn.* 2006; 26(2):192.
- **Li MM, Howard-Peebles PN, Killos LD, Fallon L, Listgarten E, Stanley WS.** Characterization and clinical implications of marker chromosomes identified at prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2000; 20(2):138-413.
- **Liehr T, Ewers E, Kosyakova N, Klaschka V, Rietz F, Wagner R, Weise A.** Handling small supernumerary marker chromosomes in prenatal diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2009; 9(4):317-324.
- **Lippe B.** Turner syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1991; 20:121-151.
- **Lo YM, Tsui NB, Chiu RW, Lau TK, Leung TN, Heung MM, Gerovassili A, Jin Y, Nicolaides KH, Cantor CR, Ding C.** Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection. *Nat Med.* 2007; 13(2):218-223.
- **Loesch DZ, Bui QM, Kelso W, Huggins RM, Slater H, Warne G, Bergman PB, Rodda C, Mitchell RJ, Prior M.** Effect of Turner's syndrome and X-linked imprinting on cognitive status: analysis based on pedigree data. *Brain Dev.* 2005; 27(7):494-503.
- **Lorda-Sanchez I, Binkert F, Maechler M, Schinzel A.** Molecular study of 45,X conceptuses: correlation with clinical findings. *Am J Med Genet.* 1992; 15;42(4):487-490.
- **Lu XY, Phung MT, Shaw CA, Pham K, Neil SE, Patel A, Sahoo T, Bacino CA, Stankiewicz P, Kang SH, Lalani S, Chinault AC, Lupski JR, Cheung SW, Beaudet AL.** Genomic imbalances in neonates with birth defects: high detection rates by using chromosomal microarray analysis. *Pediatrics.* 2008; 122(6):1310-1318.
- **Lupski JR.** Genome structural variation and sporadic disease traits. *Nat Genet.* 2006; 38(9):974-976.
- **Luzzatto C, Delantone M, Lo Prete F, Guglielmi M.** The value of prenatal sonography in the diagnosis of congenital malformations. *Minerva Ginecol.* 1990; 42(9):347-349.
- **Lys F, De Wals P, Borlee-Grimee I, Billiet A, Vincotte-Mols M, Levi S.** Evaluation of routine ultrasound examination for the prenatal diagnosis of malformation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1989; 30(2):101-109.

## M

- **Machin GA.** Chromosome abnormality and perinatal death. *Lancet.* 1974; 30;1(7857):549-551.
- **Maiz N, Valencia C, Kagan KO, Wright D, Nicolaides KH.** Ductus venosus Doppler in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 33(5):512-517.
- **Magee JF.** Investigation of stillbirth. *Pediatr Dev Pathol.* 2001; 4(1):1-22.

- **Malone FD, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Saade GR, Berkowitz RL, Gross SJ, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Dukes K, Canick JA, Bianchi DW, D'Alton ME; FASTER Trial Research Consortium.** First-trimester septated cystic hygroma: prevalence, natural history, and pediatric outcome. *Obstet Gynecol.* 2005; 106(2):288-294.
- **Mansfield C, Hopfer S, Marteau TM.** Termination rates after prenatal diagnosis of Down syndrome, spina bifida, anencephaly, and Turner and Klinefelter syndromes: a systematic literature review. *European Concerted Action: DADA (Decision-making After the Diagnosis of a fetal Abnormality).* *Prenat Diagn.* 1999; 19(9):808-812.
- **Martín C, Darnell A, Durán C, Bermúdez P, Mellado F, Rigol S.** Magnetic resonance imaging of the intrauterine fetal genitourinary tract: normal anatomy and pathology. *Abdom Imaging.* 2004; 29(3):286-302.
- **Mazzanti L, Cacciari E.** Congenital heart disease in patients with Turner's syndrome. *Italian Study Group for Turner Syndrome (ISGTS).* *J Pediatr.* 1998; 133(5):688-692.
- **Mazzocco MM, Singh Bhatia N, Lesniak-Karpiak K.** Visuospatial skills and their association with math performance in girls with fragile X or Turner syndrome. *Child Neuropsychol.* 2006; 12(2):87-110.
- **Mazzocco MM.** Mathematical learning disability in girls with Turner syndrome: a challenge to defining MLD and its subtypes. *Dev Disabil Res Rev.* 2009;15(1):35-44.
- **McFadden DE, Kalousek DK.** Two different phenotypes of fetuses with chromosomal triploidy: correlation with parental origin of the extra haploid set. *Am J Med Genet.* 1991; 38(4):535-538.
- **Meschede D, Louwen F, Nippert I, Holzgreve W, Miny P, Horst J.** Low rates of pregnancy termination for prenatally diagnosed Klinefelter syndrome and other sex chromosome polysomies. *Am J Med Genet.* 1998; 4;80(4):330-334.
- **Michalski ST, Porter J, Pauli RM.** Costs and consequences of comprehensive stillbirth assessment. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 186(5):1027-1034.
- **Milunsky A.** Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In: Milunsky editor. *Genetic disorders and the fetus.* Baltimore: Johns Hopkins University Press. p 179-248.
- **Minelli E, Buchi C, Granata P, Meroni E, Righi R, Portentoso P, Giudici A, Ercoli A, Sartor MG, Rossi A, et al.** Cytogenetic findings in echographically defined blighted ovum abortions. *Ann Genet.* 1993;36(2):107-110.
- **Miura S, Miura K, Masuzaki H, Miyake N, Yoshiura K, Sosonkina N, Harada N, Shimokawa O, Nakayama D, Yoshimura S, Matsumoto N, Niikawa N, Ishimaru T.** Microarray comparative genomic hybridization (CGH)-based prenatal diagnosis for chromosome abnormalities using cell-free fetal DNA in amniotic fluid. *J Hum Genet.* 2006;51(5):412-417.
- **Molina F, Persico N, Borenstein M, Sonek J, Nicolaides KH.** Frontomaxillary facial angle in trisomy 21 fetuses at 16-24 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008; 31(4):384-387.
- **Morales C, Sánchez A, Bruguera J, Margarit E, Borrell A, Borobio V, Soler A.** Cytogenetic study of spontaneous abortions using semi-direct analysis of chorionic villi samples detects the broadest spectrum of chromosome abnormalities. *Am J Med Genet A.* 2008; 146A(1):66-70.
- **Morcos CL, Platt LD, Carlson DE, Gregory KD, Greene NH, Korst LM.** The isolated choroid plexus cyst. *Obstet Gynecol.* 1998; 92(2):232-236.
- **Mori MA, Lapunzina P, Delicado A, Núñez G, Rodríguez JI, de Torres ML, Herrero F, Valverde E, López-Pajares I.** A prenatally diagnosed patient with full monosomy 21: ultrasound, cytogenetic, clinical, molecular, and necropsy findings. *Am J Med Genet A.* 2004; 127A(1):69-73.



- **Mosquera C, Riaño I, Rodríguez C, Fernandez J, Moro C, Rodríguez A, Suarez ME, García E, ariza F.** Frecuencia y tendencia temporal de los defectos congénitos en Asturias. La necesidad de la vigilancia clinicoepidemiológica. *Gac Sanit* 2009; 23(4):300-305.

## N

- **Nadel AS, Bromley B, Frigoletto FD Jr, Benacerraf BR.** Can the presumed risk of autosomal trisomy be decreased in fetuses of older women following a normal sonogram? *J Ultrasound Med.* 1995; 14(4):297-302.
- **Nakling J, Backe B.** Routine ultrasound screening and detection of congenital anomalies outside a university setting. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005; 84(11):1042-1048.
- **Nazarenko SA, Timoshevsky VA, Sukhanova NN.** High frequency of tissue-specific mosaicism in Turner syndrome patients. *Clin Genet.* 1999; 56(1):59-65.
- **Nicolaides KH, Snijders RJM, Gosden CM, Berry C, Campbell S.** Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet.* 1992; 340:704-717.
- **Nicolaides KH.** Screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21(4):313-321.
- **Nicolaides KH.** Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(1):45-67.
- **Nicolaides KH.** The 11-13<sup>+6</sup> week scan. Editor K.H. Nicolaides. Fetal Medicine Foundation, London 2004.
- **Nyberg DA, Kramer D, Resta RG, Kapur R, Mahony BS, Luthy DA, Hickok D.** Prenatal sonographic findings of trisomy 18: review of 47 cases. *J Ultrasound Med.* 1993; 12(2):103-113.
- **Nyberg DA, Luthy DA, Cheng EY, Sheley RC, Resta RG, Williams MA.** Role of prenatal ultrasonography in women with positive screen for Down syndrome on the basis of maternal serum markers. *Am J Obstet Gynecol.* 199; 173(4):1030-1035.

## O

- **Odibo AO, Schoenborn JA, Haas K, Macones GA.** Does the combination of fronto-maxillary facial angle and nasal bone evaluation improve the detection of Down syndrome in the second trimester? *Prenat Diagn.* 2009; 29(10):947-951.
- **Obradors A, Fernández E, Rius M, Oliver-Bonet M, Martínez-Fresno M, Benet J, Navarro J.** Outcome of twin babies free of Von Hippel-Lindau disease after a double-factor preimplantation genetic diagnosis: monogenetic mutation analysis and comprehensive aneuploidy screening. *Fertil Steril.* 2009; 91(3):933.e1-7.
- **Obradors A, Fernández E, Oliver-Bonet M, Rius M, de la Fuente A, Wells D, Benet J, Navarro J.** Birth of a healthy boy after a double factor PGD in a couple carrying a genetic disease and at risk for aneuploidy: case report. *Hum Reprod.* 2008; 23(8):1949-1956.
- **Odibo AO, Schoenborn JA, Haas K, Macones GA.** Does the combination of fronto-maxillary facial angle and nasal bone evaluation improve the detection of Down syndrome in the second trimester? *Prenat Diagn.* 2009; 29(10):947-951.
- **Offerdal K, Blaas HG, Eik-Nes SH.** Prenatal detection of trisomy 21 by second-trimester ultrasound examination and maternal age in a non-selected population of 49 314 births in Norway. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008; 32(4):493-500.
- **Ogata T, Muroya K, Matsuo N, Shinohara O, Yorifuji T, Nishi Y, Hasegawa Y,**

- Horikawa R, Tachibana K.** Turner syndrome and Xp deletions: clinical and molecular studies in 47 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(11):5498-5508.
- **Otter M, Schrandner-Stumpel CT, Curfs LM.** Triple X syndrome: a review of the literature. *Eur J Hum Genet.* 2010; 18(3):265-271.
  - **Oyelese Y, Vintzileos AM.** Is second-trimester genetic amniocentesis for trisomy 18 ever indicated in the presence of a normal genetic sonogram?. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005; 26(7): 691-694.

## P

- **Pandya PP, Snijders RJ, Psara N, Hilbert L, Nicolaides KH.** The prevalence of non-viable pregnancy at 10-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1996; 7(3):170-173.
- **Papageorghiou AT, Avgidou K, Spencer K, Nix B, Nicolaides KH.** Sonographic screening for trisomy 13 at 11 to 13(+6) weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2006; 194(2):397-401.
- **Papp C, Beke A, Mezei G, Szigeti Z, Bán Z, Papp Z.** Prenatal diagnosis of Turner syndrome: report on 69 cases. *J Ultrasound Med.* 2006; 25(6):711-717.
- **Papp C, Szigeti Z, Tóth-Pál E, Hajdú J, Joó JG, Papp Z.** Ultrasonographic findings of fetal aneuploidies in the second trimester-our experiences. *Fetal Diagn Ther.* 2008;23(2):105-113.
- **Park JP, Brothman AR, Butler MG, Cooley LD, Dewald GW, Lundquist KF, Palmer CG, Patil SR, Rao KW, Saikewych IA, Schneider NR, Vance GH.** Extensive analysis of mosaicism in a case of Turner syndrome: the experience of 287 cytogenetic laboratories. College of American Pathologists/American College of Medical Genetics Cytogenetics Resource Committee. *Arch Pathol Lab Med.* 1999; 123(5):381-385.
- **Park JH, Woo JH, Shim SH, Yang SJ, Choi YM, Yang KS, Cha DH.** Application of a target array Comparative Genomic Hybridization to prenatal diagnosis. *BMC Med Genet.* 2010; 11(1):102.
- **Pattenden S, Casson K, Cook S, Dolk H.** Geographical variation in infant mortality, stillbirth and low birth weight in Northern Ireland, 1992-2002. *J Epidemiol Community Health.* 2010 (en premsa).
- **Pauli RM, Reiser CA.** Wisconsin Stillbirth Service Program: II. Analysis of diagnoses and diagnostic categories in the first 1,000 referrals. *Am J Med Genet.* 1994; 50(2): 135-153.
- **Pauli RM.** Stillbirth: fetal disorders. *Clin Obstet Gynecol.* 2010; 53(3):646-655.
- **Peng HH, Chao AS, Wang TH, Chang YL, Chang SD.** Prenatally diagnosed balanced chromosome rearrangements: eight years' experience. *J Reprod Med.* 2006; 51(9):699-703.
- **Petersson K, Bremme K, Bottinga R, Hofsjö A, Hulthén-Varli I, Kublickas M, Norman M, Papadogiannakis N, Wånggren K, Wolff K.** Diagnostic evaluation of intrauterine fetal deaths in Stockholm 1998-99. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2002; 81(4):284-292.
- **Philipp T, Grillenberger K, Separovic ER, Philipp K, Kalousek DK.** Effects of triploidy on early human development. *Prenat Diagn.* 2004; 24(4):276-821.
- **Poprawski K, Michalski M, Ławniczak M, Łacka K.** Cardiovascular abnormalities in patients with Turner syndrome according to karyotype: own experience and literature review. *Pol Arch Med Wewn.* 2009; 119(7-8):453-460.
- **Portillo I.** Boletín epidemiológico d la Comunidad Autónoma del País Vasco.2005. [www.osanet.euskadi.net](http://www.osanet.euskadi.net)

- **Prandstraller D, Mazzanti L, Picchio FM, Magnani C, Bergamaschi R, Perri A, Tsingos E, Cacciari E.** Turner's syndrome: cardiologic profile according to the different chromosomal patterns and long-term clinical follow-Up of 136 nonpreselected patients. *Pediatr Cardiol.* 1999; 20(2): 108-112.
- **Procter SE, Watt JL, Lloyd DJ, Duffy P.** Problems of detecting mosaicism in skin. A case of trisomy 8 mosaicism illustrating the advantages of in situ tissue culture. *Clin Genet.* 1984; 25(3): 273-277.
- **Prueitt RL, Ross JL, Zinn AR.** Physical mapping of nine Xq translocation breakpoints and identification of XPNPEP2 as a premature ovarian failure candidate gene. *Cytogenet Cell Genet.* 2000;89(1-2):44-50.

## Q

- **Qumsiyeh MB, Kim KR, Ahmed MN, Bradford W.** Cytogenetics and mechanisms of spontaneous abortions: increased apoptosis and decreased cell proliferation in chromosomally abnormal villi. *Cytogenet Cell Genet.* 2000;88(3-4):230-235.

## R

- **Raca G, Artzer A, Thorson L, Huber S, Modaff P, Laffin J, Pauli RM.** Array-based comparative genomic hybridization (aCGH) in the genetic evaluation of stillbirth. *Am J Med Genet A.* 2009; 149A(11):2437-2443.
- **Ranke MB, Saenger P.** Turner's syndrome. *Lancet.* 2001; 358(9278):309-314.
- **Rao E, Weiss B, Fukami M, Rump A, Niesler B, Mertz A, Muroya K, Binder G, Kirsch S, Winkelmann M, Nordsiek G, Heinrich U, Breuning MH, Ranke MB, Rosenthal A, Ogata T, Rappold GA.** Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat Genet.* 1997; 16(1):54-63.
- **Rickman L, Fiegler H, Shaw-Smith C, Nash R, Cirigliano V, Voglino G, Ng BL, Scott C, Whittaker J, Adinolfi M, Carter NP, Bobrow M.** Prenatal detection of unbalanced chromosomal rearrangements by array CGH. *J Med Genet.* 2006; 43(4):353-361.
- **Rizzo N, Pittalis MC, Pitu G, Perolo A, Banzi C, Visentin A, Bovicelli L.** Distribution of abnormal karyotypes among malformed fetuses detected by ultrasound throughout gestation. *Prenat Diagn* 1996; 16:159-163.
- **Roberts DJ, Genest D.** Cardiac histologic pathology characteristic of trisomies 13 and 21. *Hum Pathol.* 1992; 23(10):1130-1140.
- **Rodgers CS, Creasy MR, Fitchett M, Maliszewska CT, Pratt NR, Waters JJ.** Solid tissue culture for cytogenetic analysis: a collaborative survey for the Association of Clinical Cytogeneticists. *J Clin Pathol.* 1996; 49(8):638-641.
- **Rodríguez L, Martínez-Fernández ML, Mansilla E, Mendioroz J, Arteaga RM, Toral JF, Guardia NM, García A, Centeno F, Pantoja J, Jovani C, Martínez-Frías ML.** Screening for subtelomeric chromosome alteration in a consecutive series of newborns with congenital defects. *Clin Dysmorphol.* 2008; 17(1):5-12.
- **Rosen T, D'Alton ME, Platt LD, Wapner R;** Nuchal Translucency Oversight Committee, Maternal Fetal Medicine Foundation. First-trimester ultrasound assessment of the nasal bone to screen for aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2007; 110(2):399-404.
- **Ross JL, Roeltgen D, Kushner H, Wei F, Zinn AR.** The Turner syndrome-associated neurocognitive phenotype maps to distal Xp. *Am J Hum Genet.* 2000; 67(3):672-681.

- **Ross J, Roeltgen D, Zinn A.** Cognition and the sex chromosomes: studies in Turner syndrome. *Horm Res.* 2006;65(1):47-56.
- **Ruiz C, F. Lamm, Hart PZ.** Turner syndrome and multiple-marker screening. *Clin Chem.* 1999; 45(12):2259-2261.
- **Ryall RG, Callen D, Cocciolone R, Esca R, Frantzis N, Gjerde EM, Haan EA, Hocking T, Sutherland G, Thomas DW, Webb F.** Karyotypes found in the population declared at increased risk of Down syndrome following maternal serum screening. *Prenat Diagn.* 2001; 21:461-465.

## S

- **Sagi L, Zuckerman-Levin N, Gawlik A, Ghizzoni L, Buyukgebiz A, Rakover Y, Bistrizter T, Admoni O, Vottero A, Baruch O, Fares F, Malecka-Tendera E, Hochberg Z.** Clinical significance of the parental origin of the X chromosome in turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(3):846-852.
- **Saenger P.** Turner's syndrome. *N Engl J Med.* 1996; 335(23):1749-1754.
- **Saenger P, Wikland KA, Conway GS, Davenport M, Gravholt CH, Hintz R, Hovatta O, Hultcrantz M, Landin-Wilhelmsen K, Lin A, Lippe B, Pasquino AM, Ranke MB, Rosenfeld R, Silberbach M; Fifth International Symposium on Turner Syndrome.** Recommendations for the diagnosis and management of Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(7):3061-3069.
- **Sagi M, Meiner V, Reshef N, Dagan J, Zlotogora J.** Prenatal diagnosis of sex chromosome aneuploidy: possible reason for high rates of pregnancy termination. *Prenat Diagn.* 2001; 21:461-465.
- **Sahoo T, Cheung SW, Ward P, Darilek S, Patel A, del Gaudio D, Kang SH, Lalani SR, Li J, McAdoo S, Burke A, Shaw CA, Stankiewicz P, Chinault AC, Van den Veyver IB, Roa BB, Beaudet AL, Eng CM.** Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities using array-based comparative genomic hybridization. *Genet Med.* 2006; 8(11):719-727.
- **Salafia C, Maier D, Vogel C, Pezzullo J, Burns J, Silberman L.** Placental and decidual histology in spontaneous abortion: detailed description and correlations with chromosome number. *Obstet Gynecol.* 1993; 82(2):295-303.
- **Salvador J.** Informe anual 2008 (periode 1992-2007). [www.aspb/quefem/](http://www.aspb/quefem/).
- **Salvador J, García-Miñaur S, Caballin MR, Mosquera C, Baena N, Garcia E, Castro V, Guitart M, Gabu E, Plasència A.** Registros poblacionales de defectos congénitos en Espanya. *An Esp pediatri* 1998; 48:575-582
- **Sävendahl L, Davenport ML.** Delayed diagnoses of Turner's syndrome: proposed guidelines for change. *J Pediatr.* 2000; 137(4):455-459.
- **Schluth-Bolard C, Delobel B, Sanlaville D, Boute O, Cuisset JM, Sukno S, Labalme A, Duban-Bedu B, Plessis G, Jaillard S, Dubourg C, Henry C, Lucas J, Odent S, Pasquier L, Copin H, Latour P, Cordier MP, Nadeau G, Till M, Ederly P, Andrieux J.** Cryptic genomic imbalances in de novo and inherited apparently balanced chromosomal rearrangements: array CGH study of 47 unrelated cases. *Eur J Med Genet.* 2009; 52(5):291-296.
- **Schaeffer AJ, Chung J, Heretis K, Wong A, Ledbetter DH, Lese Martin C.** Comparative genomic hybridization-array analysis enhances the detection of aneuploidies and submicroscopic imbalances in spontaneous miscarriages. *Am J Hum Genet.* 2004; 74(6):1168-1174.
- **Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Higgins CD, Wright AF, Jacobs PA; United Kingdom Clinical Cytogenetics Group.** Mortality in women with turner syndrome

- in Great Britain: a national cohort study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(12):4735-4742.
- **Schwärzler P, Moscoso G, Bernard JP, Hill L, Senat MV, Ville Y.** Trisomy 10: first-trimester features on ultrasound, fetoscopy and postmortem of a case associated with increased nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999; 13(1):67-70.
  - **Schwendemann WD, Contag SA, Wax JR, Miller RC, Polzin WJ, Koty PP, Watson WJ.** Sonographic findings in trisomy 9. *J Ultrasound Med.* 2009; 28(1):39-42.
  - **Sebire NJ, Snijders RJ, Brown R, Southall T, Nicolaides KH.** Detection of sex chromosome abnormalities by nuchal translucency screening at 10-14 weeks. *Prenat Diagn.* 1998; 18(6):581-584.
  - **Sepulveda W, Sebire NJ, Odibo A, Psarra A, Nicolaides KH.** Prenatal determination of chorionicity in triplet pregnancy by ultrasonographic examination of the ipsilon zone. *Obstet Gynecol.* 1996; 88(5):855-858.
  - **Sepulveda W.** Prenatal 3-dimensional sonographic depiction of the Wolf-Hirschhorn phenotype: the "Greek warrior helmet" and "tulip" signs. *J Ultrasound Med.* 2007; 26(3):407-410.
  - **Shaffer LG, Lupski JR.** Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annu Rev Genet.* 2000;34:297-329.
  - **Shaffer BL, Caughey AB, Norton ME.** Variation in the decision to terminate pregnancy in the setting of fetal aneuploidy. *Prenat Diagn.* 2006; 26(8):667-671.
  - **Shaffer LG, Bejjani BA.** Medical applications of array CGH and the transformation of clinical cytogenetics. *Cytogenet Genome Res.* 2006;115(3-4):303-309.
  - **Shaffer LG, Bui TH.** Molecular cytogenetic and rapid aneuploidy detection methods in prenatal diagnosis. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2007; 145C(1):87-98.
  - **Shaffer LG, Coppinger J, Alliman S, Torchia BA, Theisen A, Ballif BC, Bejjani BA.** Comparison of microarray-based detection rates for cytogenetic abnormalities in prenatal and neonatal specimens. *Prenat Diagn.* 2008; 28(9):789-795.
  - **Shimokawa O, Harada N, Miyake N, Satoh K, Mizuguchi T, Niikawa N, Matsumoto N.** Array comparative genomic hybridization analysis in first-trimester spontaneous abortions with 'normal' karyotypes. *Am J Med Genet A.* 2006; 140(18):1931-1935.
  - **Shipp TD, Bromley B, Lieberman E, Benacerraf BR.** The frequency of the detection of fetal echogenic intracardiac foci with respect to maternal race. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000; 15(6):460-462.
  - **Sickler GK, Nyberg DA, Sohaey R, Luthy DA.** Polyhydramnios and fetal intrauterine growth restriction: ominous combination. *J Ultrasound Med.* 1997; 16(9):609-614.
  - **Siegel PT, Clopper R, Stabler B.** The psychological consequences of Turner syndrome and review of the National Cooperative Growth Study psychological substudy. *Pediatrics.* 1998; 102(2):488-491.
  - **Siffel C, Correa A, Cragan J, Alverson CJ.** Prenatal diagnosis, pregnancy terminations and prevalence of Down syndrome in Atlanta. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2004 ;70(9):565-571.
  - **Silver RK, Blum K, Geibel LJ, Beaird JA, Salafsky I, MacGregor SN.** Clinical implications of atypical chromosome abnormalities diagnosed prenatally. *Obstet Gynecol.* 1999; 94(6):925-928.
  - **Silver RM, Varner MW, Reddy U, Goldenberg R, Pinar H, Conway D, Bukowski R, Carpenter M, Hogue C, Willinger M, Dudley D, Saade G, Stoll B.** Work-up of stillbirth: a review of the evidence. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 196(5):433-444.

- **Simoni G, Brambati B, Danesino C, Rossella F, Terzoli GL, Ferrari M, Fraccaro M.** Efficient direct chromosome analyses and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum Genet.* 1983;63(4):349-357.
- **Simovich MJ, Yatsenko SA, Kang SH, Cheung SW, Dudek ME, Pursley A, Ward PA, Patel A, Lupski JR.** Prenatal diagnosis of a 9q34.3 microdeletion by array-CGH in a fetus with an apparently balanced translocation. *Prenat Diagn.* 2007; 27(12):1112-1117.
- **Sismani C, Kitsiou-Tzeli S, Ioannides M, Christodoulou C, Anastasiadou V, Stylianidou G, Papadopoulou E, Kanavakis E, Kosmaidou-Aravidou Z, Patsalis PC.** Cryptic genomic imbalances in patients with de novo or familial apparently balanced translocations and abnormal phenotype. *Mol Cytogenet.* 2008; 1:15.
- **Skuse DH, James RS, Bishop DV, Coppin B, Dalton P, Aamodt-Leeper G, Bacarese-Hamilton M, Creswell C, McGurk R, Jacobs PA.** Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. *Nature.* 1997; 387(6634):705-708.
- **Skuse DH.** X-linked genes and mental functioning. *Hum Mol Genet.* 2005; 14(1): R27-R32.
- **Small M, Copel JA.** Indications for fetal echocardiography. *Pediatr Cardiol.* 2004; 25(3):210-222.
- **Smith-Bindman R, Chu P, Goldberg JD.** Second trimester prenatal ultrasound for the detection of pregnancies at increased risk of Down syndrome. *Prenat Diagn.* 2007; 27(6):535-544.
- **Snijders RJ, Johnson S, Sebire NJ, Noble PL, Nicolaides KH.** First-trimester ultrasound screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1996; 7(3):216-26.
- **Sonek J, Borenstein M, Downing C, McKenna D, Neiger R, Croom C, Genrich T, Nicolaides KH.** Frontomaxillary facial angles in screening for trisomy 21 at 14-23 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 197(2):160.e1-5.
- **Sonek J.** First trimester ultrasonography in screening and detection of fetal anomalies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2007; 145C(1):45-61.
- **Sonek J.** Nasal bone in screening for trisomy 21: defining hypoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 197(4):335-336.
- **Songster GS, Sun L, Chang SC, Cheung SW.** Chromosome analysis in spontaneous pregnancy loss: use of placental villus mesodermal core cell cultures. *Am J Med Genet.* 1992; 1;42(6):785-788.
- **Souka AP, Krampl E, Bakalis S, Heath V, Nicolaides KH.** Outcome of pregnancy in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001; 18(1):9-17.
- **Souka AP, Pilalis A, Kavalakis I, Antsaklis P, Papantoniou N, Mesogitis S, Antsaklis A.** Screening for major structural abnormalities at the 11- to 14-week ultrasound scan. *Am J Obstet Gynecol.* 2006; 194(2):393-396.
- **Southgate WM, Wagner CL, Shields SM, Cantú ES, Pai GS.** Mosaic trisomy 8: a cautionary note regarding missed antenatal diagnosis. *J Perinatol.* 1998; 18(1): 78-80.
- **Spear GS, Porto M.** 47,XXX chromosome constitution, ovarian dysgenesis, and genito-urinary malformation. *Am J Med Genet.* 1988; 29(3):511-515.
- **Spencer K, Tul N, Nicolaides KH.** Maternal serum free beta-hCG and PAPP-A in fetal sex chromosome defects in the first trimester. *Prenat Diagn.* 2000; 20(5):390-394.
- **Spencer K.** Aneuploidy screening in the first trimester. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2007; 145C(1):18-32.

- **Staebler M, Donner C, Van Regemorter N, Duprez L, De Maertelaer V, Devreker F, Avni F.** Should determination of the karyotype be systematic for all malformations detected by obstetrical ultrasound? *Prenat Diagn.* 2005; 25(7):567-573.
- **Stankiewicz P, Beaudet AL.** Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Curr Opin Genet Dev.* 2007; 17(3):182-192.
- **Stoll C, Dott B, Alembik Y, Roth MP.** Evaluation of routine prenatal ultrasound examination in detecting fetal chromosomal abnormalities in a low risk population. *Hum Genet.* 1993; 91(1):37-41.
- **Surerus E, Huggon IC, Allan LD.** Turner's syndrome in fetal life. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22(3):264-267.
- **Sutherland GR, Carter RF, Bauld R, Smith II, Bain AD.** Chromosome studies at the paediatric necropsy. *Ann Hum Genet.* 1978; 42(2):173-181.
- **Sutherland GR, Carter RF.** Cytogenetic studies: an essential part of the paediatric necropsy. *J Clin Pathol.* 1983; 36(2):140-142.
- **Sybert VP.** Phenotypic effects of mosaicism for a 47,XXX cell line in Turner syndrome. *J Med Genet.* 2002; 39(3):217-20.
- **Sybert VP, McCauley E.** Turner's syndrome. *N Engl J Med.* 2004; 351(12):1227-1238.

## T

- **Tabet AC, Aboura A, Dauge MC, Audibert F, Coulomb A, Batallan A, Couturier-Turpin MH, Feldmann G, Tachdjian G.** Cytogenetic analysis of trophoblasts by comparative genomic hybridization in embryo-fetal development anomalies. *Prenat Diagn.* 2001; 21(8):613-618.
- **Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, Obel EB, Norgaard-Pedersen B.** Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet.* 1986; 7;1(8493):1287-1293.
- **Todros T, Ferrazzi E, Arduini D, Bastonero S, Bezzeccheri V, Biolcati M, Bonazzi B, Gabrielli S, Pilu GL, Rizzo G, et al.** Performance of Doppler ultrasonography as a screening test in low risk pregnancies: results of a multicentric study. *J Ultrasound Med.* 1995; 14(5):343-348.
- **Tolarová MM, Cervenka J.** Classification and birth prevalence of orofacial clefts. *Am J Med Genet.* 1998; 75(2):126-137.
- **Tongsong T, Wanapirak C, Kunavikantikul C, Sirirchotiyakul S, Piyamongkol W, Chanprapaph P.** Fetal loss rate associated with cordocentesis at midgestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2001; 184(4):719-723.
- **Turnpenny P i Ellard S.** Anomalías congénitas y síndromes dismórficos. En: *Elementos de genética médica.* Ed. Elsevier España (2009) p. 239-254.
- **Turleau C.** Monosomy 18p. *Orphanet J Rare Dis.* 2008; 3:4.
- **Tyreman M, Abbott KM, Willatt LR, Nash R, Lees C, Whittaker J, Simonic I.** High resolution array analysis: diagnosing pregnancies with abnormal ultrasound findings. *J Med Genet.* 2009; 46(8):531-541.

## U

- **Urioste M.** Chromosome cultures from human cartilage. *Am J Med Genet.* 1993; 46(2):123-125.

## V

- **Vanara F, Bergeretti F, Gaglioti P, Todros T.** Economic evaluation of ultrasound screening options for structural fetal malformations. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004; 24(6):633-639.
- **Vaknin Z, Reish O, Ben-Ami I, Heyman E, Herman A, Maymon R.** Prenatal diagnosis of sex chromosome abnormalities: the 8-year experience of a single medical center. *Fetal Diagn Ther.* 2008; 23(1):76-81.
- **Valduga M, Philippe C, Bach Segura P, Thiebaugeorges O, Miton A, Beri M, Bonnet C, Nemos C, Foliguet B, Jonveaux P.** A retrospective study by oligonucleotide array-CGH analysis in 50 fetuses with multiple malformations. *Prenat Diagn.* 2010; 30(4):333-341.
- **Van den Veyver IB, Patel A, Shaw CA, Pursley AN, Kang SH, Simovich MJ, Ward PA, Darilek S, Johnson A, Neill SE, Bi W, White LD, Eng CM, Lupski JR, Cheung SW, Beaudet AL.** Clinical use of array comparative genomic hybridization (aCGH) for prenatal diagnosis in 300 cases. *Prenat Diagn.* 2009; 29(1):29-39
- **VanDorsten JP, Hulseley TC, Newman RB, Menard MK.** Fetal anomaly detection by second-trimester ultrasonography in a tertiary center. *Am J Obstet Gynecol.* 1998; 178(4):742-749.
- **Vanneste E, Voet T, Le Caignec C, Ampe M, Konings P, Melotte C, Debrock S, Amyere M, Vikkula M, Schuit F, Fryns JP, Verbeke G, D'Hooghe T, Moreau Y, Vermeesch JR.** Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos. *Nat Med.* 2009; 15(5):577-583.
- **van Karnebeek CD, Hennekam RC.** Associations between chromosomal anomalies and congenital heart defects: a database search. *Am J Med Genet.* 1999; 21;84(2):158-166.
- **Vermeesch JR, Melotte C, Froyen G, Van Vooren S, Dutta B, Maas N, Vermeulen S, Menten B, Speleman F, De Moor B, Van Hummelen P, Marynen P, Fryns JP, Devriendt K.** Molecular karyotyping: array CGH quality criteria for constitutional genetic diagnosis. *J Histochem Cytochem.* 2005; 53(3):413-422.
- **Verrotti C, Caforio E, Gramellini D, Nardelli GB.** Ultrasound screening in second and third trimester of pregnancy: an update. *Acta Biomed.* 2007; 78(3):229-232.
- **Vialard F, Molina Gomes D, Leroy B, Quarello E, Escalona A, Le Sciellour C, Serazin V, Roume J, Ville Y, de Mazancourt P, Selva J.** Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis: another experience. *Fetal Diagn Ther.* 2009;25(2):277-284.
- **Vintzileos AM, Egan JF.** Adjusting the risk for trisomy 21 on the basis of second-trimester ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol.* 1995; 172(3):837-844.
- **von Kaisenberg CS, Nicolaidis KH, Brand-Saberi B.** Lymphatic vessel hypoplasia in fetuses with Turner syndrome. *Hum Reprod.* 1999; 14(3):823-826.
- **von Kaisenberg CS, Wilting J, Dörk T, Nicolaidis KH, Meinhold-Heerlein I, Hillemanns P, Brand-Saberi B.** Lymphatic capillary hypoplasia in the skin of fetuses with increased nuchal translucency and turner's syndrome: comparison with trisomies and controls. *Mol Hum Reprod.* 2010 (en premsa).

## W

- **Wang J, Spitz L, Hayward R, Kiely E, Hall CM, O'Donoghue DP, Palmer R, Goodman FR, Scambler PJ, Winter RM, Reardon W.** Sacral dysgenesis



- associated with terminal deletion of chromosome 7q: a report of two families. *Eur J Pediatr*. 1999; 158(11):902-905.
- **Wapner RJ, Lewis D.** Genetics and metabolic causes of stillbirth. *Semin Perinatol*. 2002; 26(1):70-74.
  - **Warburton D.** Outcome of cases of de novo structural rearrangements diagnosed at amniocentesis. *Prenat Diagn*. 1984; 4:69-80.
  - **Warburton D.** De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints. *Am J Hum Genet*. 1991; 49(5):995-1013.
  - **Warren JE, Silver RM.** Genetics of pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol*. 2008; 51(1):84-95.
  - **Warren JE, Turok DK, Maxwell TM, Brothman AR, Silver RM.** Array comparative genomic hybridization for genetic evaluation of fetal loss between 10 and 20 weeks of gestation. *Obstet Gynecol*. 2009; 114(5):1093-1102.
  - **Watson WJ, Miller RC, Wax JR, Hansen WF, Yamamura Y, Polzin WJ.** Sonographic detection of trisomy 13 in the first and second trimesters of pregnancy. *J Ultrasound Med*. 2007; 26(9):1209-1124.
  - **Watson WJ, Miller RC, Wax JR, Hansen WF, Yamamura Y, Polzin WJ.** Sonographic findings of trisomy 18 in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med*. 2008; 27(7):1033-1038.
  - **Wax JR, Pinette MG, Cartin A, Blackstone J.** Second-trimester genetic sonography after first-trimester combined screening for trisomy 21. *J Ultrasound Med*. 2009; 28(3):321-325.
  - **Weiner Z, Goldstein I, Bombard A, Applewhite L, Itzkovits-Eldor J.** Screening for structural fetal anomalies during the nuchal translucency ultrasound examination. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 197(2):181.e1-5.
  - **Weiss LA, Purcell S, Waggoner S, Lawrence K, Spektor D, Daly MJ, Sklar P, Skuse D.** Identification of EFHC2 as a quantitative trait locus for fear recognition in Turner syndrome. *Hum Mol Genet*. 2007;16(1):107-113.
  - **Weisz B, Pandya PP, David AL, Huttly W, Jones P, Rodeck CH.** Ultrasound findings after screening for Down syndrome using the integrated test. *Obstet Gynecol*. 2007; 109(5):1046-1052.
  - **Wenstrom KD, Chu DC, Owen J, Boots L.** Maternal serum alpha-fetoprotein and dimeric inhibin A detect aneuploidies other than Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1998; 179(4):966-970.
  - **Whitby H, Tsalenko A, Aston E, Tsang P, Mitchell S, Bayrak-Toydemir P, Hopkins C, Peters G, Bailey DK, Bruhn L, Brothman AR.** Benign copy number changes in clinical cytogenetic diagnostics by array CGH. *Cytogenet Genome Res*. 2008;123(1-4):94-101.
  - **Wickstrom E, Maizels M, Sabbagha RE, Tamura RK, Cohen LC, Pergament E.** Isolated fetal pyelectasis: assessment of risk for postnatal uropathy and Down syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1996; 8(4):236-240.
  - **Wiktor AE, Van Dyke DL.** Detection of low level sex chromosome mosaicism in Ullrich-Turner syndrome patients. *Am J Med Genet A*. 2005; 138A(3):259-261.
  - **Winsor EJ, Windrim R, Chitayat D, Ryan G, Seaward G, Akoury H.** Success rate for culture of fetal postmortem tissue is dependent on the method of pregnancy termination. *Fetal Diagn Ther*. 2005; 20(4):306-308.
  - **Wirth J, Nothwang HG, van der Maarel S, Menzel C, Borck G, Lopez-Pajares I, Brøndum-Nielsen K, Tommerup N, Bugge M, Ropers HH, Haaf T.** Systematic characterisation of disease associated balanced chromosome rearrangements by FISH: cytogenetically and genetically anchored YACs identify

- microdeletions and candidate regions for mental retardation genes. *J Med Genet.* 1999; 36(4):271-278.
- **Wladimiroff JW, Bhaggoe WR, Kristelijan M, Cohen-Overbeek TE, Den Hollander NS, Brandenburg H, Los FJ.** Sonographically determined anomalies and outcome in 170 chromosomally abnormal fetuses. *Prenat Diagn.* 1995; 15(5): 431-438.
  - **Wolff DJ, Van Dyke DL, Powell CM; Working Group of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee.** Laboratory guideline for Turner syndrome. *Genet Med.* 2010; 12(1):52-55.
  - **Wolstenholme J.** An audit of trisomy 16 in man. *Prenat Diagn.* 1995; 15(2):109-121.
  - **Wong SF, Welsh A, Chan FY.** Outcome of a routine ultrasound screening program in a tertiary center in Australia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2004; 87(2):153-154.
  - **www.aedprenatal.com.** Asociación española de diagnóstico prenatal.
  - **www.aspb.es.** Agència de Salut Pública de Barcelona.
  - **www.ecaruca.net.** European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations
  - **www.eurocat.ulster.ac.uk.**
  - **www.fetalmedicine.com.**
  - **www.icbdsr.org.**
  - **www.mlpa.com**
  - **www.rarechromo.org.**

## Y

- **Yaegashi N, Uehara S, Ogawa H, Hanew K, Igarashi A, Okamura K, Yajima A.** Association of intrauterine growth retardation with monosomy of the terminal segment of the short arm of the X chromosome in patients with Turner's syndrome. *Gynecol Obstet Invest.* 2000;50(4): 237-241.
- **Yang H, Lee CL, Young DC, Shortliffe M, Yu W, Wright JR.** A rare case of interstitial del(1)(p34.3p36.11) diagnosed prenatally. *Fetal Pediatr Pathol.* 2004; 23(4):251-255.
- **Yilmaz Z, Sahin FI, Bulakbasi T, Yüregir OO, Tarim E, Yanik F.** Ethical considerations regarding parental decisions for termination following prenatal diagnosis of sex chromosome abnormalities. *Genet Couns.* 2008;19(3):345-352.
- **Yu LC, Moore DH 2nd, Magrane G, Cronin J, Pinkel D, Lebo RV, Gray JW.** Objective aneuploidy detection for fetal and neonatal screening using comparative genomic hybridization (CGH). *Cytometry.* 1997; 28(3):191-197.

## Z

- **Zahir F, Friedman JM.** The impact of array genomic hybridization on mental retardation research: a review of current technologies and their clinical utility. *Clin Genet.* 2007;72(4):271-287.
- **Zheng Y, Zhou XD, Zhu YL, Wang XL, Qian YQ, Lei XY, Chen BL, Yu M, Xin XY.** Three- and 4-dimensional ultrasonography in the prenatal evaluation of fetal anomalies associated with trisomy 18. *J Ultrasound Med.* 2008; 27(7):1041-1051.
- **Zetterström R, Eriksson M.** Congenital malformations in Sweden. *An Esp Pediatr.* 1987; 26(6):415-421.
- **Zinn AR, Ross JL.** Turner syndrome and haploinsufficiency. *Curr Opin Genet Dev.* 1998; 8(3):322-327.

- 
- **Zinn AR, Ross JL.** Molecular analysis of genes on Xp controlling Turner syndrome and premature ovarian failure (POF). *Semin Reprod Med.* 2001; 19(2): 141-146.
  - **Zinn AR, Kushner H, Ross JL.** EFHC2 SNP rs7055196 is not associated with fear recognition in 45,X Turner syndrome. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008; 147B(4):507-509.



