



## Caso clínico

## Diagnóstico prenatal molecular en un feto portador del alelo para distrofia muscular de Duchenne mediante biopsia de vellosidades coriónicas. Reporte de un caso y revisión bibliográfica

Miguel Ángel Alcántara Ortigoza,\* Mónica Aguinaga Ríos,\*\* Ariadna González del Ángel,\* María de Jesús Zavaleta Abreu,\*\* Sandra Acevedo Gallegos,\*\*\* Dora Gilda Mayén Molina,\*\* Victoria del Castillo Ruíz\*\*\*\*

### RESUMEN

**Antecedentes:** la distrofia muscular de Duchenne es la alteración neuromuscular hereditaria y mortal más frecuente en el humano. El diagnóstico prenatal molecular por amniocentesis es una opción real de prevención reproductiva en México, aunque no se cuenta con experiencia para obtener la biopsia de vellosidades coriónicas. Se realizó el primer diagnóstico prenatal en una mujer portadora obligada de distrofia muscular de Duchenne, en México, mediante biopsia de vellosidades coriónicas.

**Caso clínico:** mujer de 33 años de edad de quien se obtuvo una biopsia de vellosidades coriónicas, y en la que no se identificaron pérdidas parciales intragénicas, pero se detectó el haplotipo de riesgo para la alteración. Se realizó el análisis citogenético con bandas GTG y la obtención del ADN genómico mediante una fracción de la biopsia sin cultivar. La asignación prenatal del sexo por ultrasonografía a las 12 semanas de gestación se comprobó con la amplificación por PCR de dos loci del cromosoma Y (SRY y DYS389I/II). La detección del haplotipo de riesgo, en el feto, se realizó con el análisis de marcadores intragénicos pERT87.8/TaqI y pERT87.15/XmnI. La asignación prenatal del sexo indicó un feto femenino. El análisis de ligamiento reveló que heredó el haplotipo de riesgo. No se encontró contaminación con ADN materno. Todos los resultados moleculares se confirmaron con ADN de mucosa oral al nacimiento. El diagnóstico prenatal molecular por biopsia de vellosidades coriales es una opción de prevención reproductiva temprana en mujeres portadoras de distrofia muscular de Duchenne o Becker en México.

**Palabras clave:** distrofias musculares de Duchenne, diagnóstico prenatal molecular, biopsia de vellosidades coriales

### ABSTRACT

**Background:** Duchenne muscular dystrophy (DMD) is the most frequent inherited and lethal neuromuscular disorder in humans. Molecular prenatal diagnosis of DMD through amniocentesis is a real preventive reproductive option in our country, although experience with chorionic villus sampling is still limited (CVS).

**Objective:** Perform the first prenatal diagnosis in an obligate DMD carrier woman in Mexico by CVS.

**Material and method:** CVS was performed in an obligate DMD carrier woman in which no partial intragenic deletions were present but a haplotype at-risk was identified. Cytogenetic analysis with GTG banding was performed and genomic DNA extraction from CVS sample was done without culture. Fetal gender assignment was achieved by ultrasonography at 12 weeks of gestation and confirmed by PCR amplification of two Y chromosome-linked loci (SRY and DYS389I/II). Identification of the *DMD* haplotype at-risk in the fetus was done through analysis of the intragenic markers pERT87.8/TaqI and pERT87.15/XmnI.

**Results:** Absence of PCR products corresponding to Y chromosome-linked loci in DNA CVS sample was compatible with a female fetus; it was confirmed later by cytogenetic study and prenatal ultrasound follow-up. Linkage analysis reveals that the female fetus inherited the *DMD* haplotype at-risk. We did not identify any maternal DNA contamination in CVS molecular analysis and these results were postnatally confirmed in DNA obtained from buccal cells.

**Conclusion:** Molecular prenatal diagnosis through chorionic villus sampling could be an early reproductive prevention strategy applicable to Duchenne/Becker muscular dystrophy carrier women in our country.

**Keywords:** Duchenne and Becker muscular dystrophies, Prenatal and molecular diagnosis, chorionic villus sampling.

### RÉSUMÉ

**Antécédents :** la dystrophie musculaire de Duchenne est l'altération neuromusculaire héréditaire et mortelle la plus fréquente chez l'être humain. Le diagnostic prénatal moléculaire par amniocentèse est un choix réel pour la prévention reproductive au Mexique, même si l'on ne compte pas sur l'expérience afin d'obtenir la biopsie des villosités choriales. On a fait le premier diagnostic prénatal chez une femme porteuse obligatoire de dystrophie musculaire de Duchenne, au Mexique, au moyen d'une biopsie des villosités choriales. Cas clinique : femme de 33 ans à qui l'on a pratiqué une biopsie des villosités choriales et dont on n'a pas identifié des délétions partielles intra géniques, mais dont on a détecté l'allotype de risque pour l'altération. On a fait l'analyse cytogénétique avec bandes GTG et l'obtention de l'ADN

génomique à l'aide d'une fraction de la biopsie sans cultiver. L'assignation pré-natale du sexe par ultrason aux 12 semaines a été prouvée avec l'amplification par PCR de deux *loci* du chromosome Y (*SRY* et *DYS389I/II*). La détection de l'haplotype de risque, dans le fœtus, a été faite avec l'analyse des marqueurs intra-géniques pERT87.8/*TaqI* et pERT87.15/*XmnI*. L'assignation pré-natale du sexe a indiqué un fœtus féminin. L'analyse de jonction a révélé qu'il a hérité l'haplotype de risque. On n'a pas trouvé contamination avec ADN maternel. Tous les résultats moléculaires ont été confirmés avec ADN de muqueuse orale à la naissance. Le diagnostic pré-natal moléculaire par biopsie des villosités choriales est une option préalable de prévention reproductive chez des femmes porteuses de dystrophie musculaire de Duchenne ou Becker au Mexique.

**Mots-clés :** dystrophies musculaires de Duchenne, diagnostic pré-natal moléculaire, biopsie des villosités choriales.

## RESUMO

**Antecedentes:** A distrofia muscular de Duchenne é uma alteração neuromuscular hereditária e mortal mais frequente no ser humano. O diagnóstico pré-natal molecular por amniocenteses é uma opção real de prevenção reprodutiva em México, ainda que não se conte com a experiência pra obter a biopsia de lanosidade corial. Foi realizado em México o primeiro diagnóstico pré-natal em uma mulher portadora obrigada de distrofia muscular de Duchenne, mediante biopsia de lanosidade corial. Caso clínico: Mulher de 33 anos de idade de que se obteve uma biopsia de lanosidade corial, e a qual não se identificaram deleções intragênicas, mas se detectou o haplótipo de risco para a alteração. Foram realizadas análises cito genético com bandas GTG e a obtenção do DNA genômico mediante uma fração de biopsia sem cultivar. A atribuição pré-natal do sexo por ultra-som na 12<sup>a</sup> semana de gestação comprovou com a amplificação por PCR de dois *loci* do cromossomo Y (*SRY* e *DYS389I/II*). A deteção do haplótipo de risco no feto foi realizado com a análises de marcadores intragênicos pERT87.8/*TaqI* e pERT87.15/*XmnI*. A designação pré-natal do sexo indicou um feto feminino. As análises de ligamento revelaram que foi herdado o haplótipo de risco. Não foram encontradas contaminação com DNA materno. Todos os resultados moleculares foram confirmados com DNA de mucosa oral ao nascimento. O diagnóstico pré-natal molecular por biopsia de lanosidade corial é uma opção de prevenção reprodutiva precoce em mulheres portadoras de distrofia muscular de Duchenne ou Becker em México.

**Palavras-chave:** Distrofia muscular de Duchenne, diagnóstico pré-natal molecular, biopsia de lanosidade corial.

Las distrofias musculares de Duchenne (MIM #310200) o Becker (MIM #300376) son alteraciones alélicas que se caracterizan por la degeneración progresiva del músculo estriado que se heredan en forma

- Laboratorio de Biología Molecular. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Pediatría, México.
- Departamento de Genética.
- Departamento de Medicina Materno-Fetal. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, México.
- Departamento de Genética Humana. Instituto Nacional de Pediatría, México.

Correspondencia: Dr. Miguel Ángel Alcántara-Ortigoza. Laboratorio de biología molecular, departamento de genética humana, Instituto Nacional de Pediatría. Avenida Insurgentes Sur 3700-C, Coyoacán, CP 04530, México, DF. Correo electrónico: malcantaraortigoza@salud.gob.mx  
Recibido: septiembre, 2008. Aceptado: noviembre, 2008.

Este artículo debe citarse como: Alcántara OMA, Aguinaga RM, González AA, Zavaleta AMJ, y col. Diagnóstico prenatal molecular de un feto femenino portador del alelo de riesgo para distrofia muscular de Duchenne por biopsia de vellosidades coriónicas. Reporte de un caso y revisión bibliográfica Ginecol Obstet Mex 2009;77(2):103-109

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

recesiva ligada al cromosoma X.<sup>1</sup> La incidencia de distrofia muscular de Duchenne es de 1 por cada 3,500 varones nacidos vivos y su muerte ocurre entre los 20 años de edad. Se considera la enfermedad neuromuscular hereditaria mortal más frecuente en el humano.<sup>2</sup> Las distrofias musculares de Duchenne y Becker son ocasionadas por pérdidas parciales intragénicas (50 a 70%) que eliminan uno o más exones del gen *DMD* (Xp21.2), el cual codifica para la proteína distrofina (una molécula clave del citoesqueleto subsarcolémico).<sup>1</sup> La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple de 22 exones detecta más de 98% de las pérdidas responsables de la enfermedad;<sup>3</sup> sin embargo, cuando se desconoce el tipo de mutación (30 a 50% de los casos), la detección de portadoras o el diagnóstico prenatal ofrecido dentro del asesoramiento genético, se realiza la identificación indirecta del alelo de riesgo mediante análisis de ligamiento con marcadores polimórficos intragénicos.<sup>4,5</sup>

El carácter invalidante y mortal de la enfermedad, aunado al desciframiento de la secuencia del gen responsable, ha estimulado el desarrollo de abordajes de diagnóstico prenatal molecular en mujeres portadoras obligadas de distrofia muscular de Duchenne.<sup>6</sup> Los prime-

ros diagnósticos prenatales de la enfermedad se realizaron mediante análisis de ligamiento en amniocitos y biopsia de vellosidades coriónicas.<sup>5,6</sup> Nuestro grupo de trabajo reportó el primer caso de un feto con distrofia muscular de Duchenne, diagnosticado por estudio molecular (PCR múltiple de 22 exones) en amniocitos.<sup>7</sup> En la actualidad, esta técnica conforma una opción de prevención reproductiva en México; sin embargo, la obtención de la biopsia de vellosidades coriónicas es una alternativa de diagnóstico prenatal, aún más temprana, en mujeres portadoras obligadas a través del estudio molecular,<sup>5</sup> mismo que se realiza de forma rutinaria en el Instituto Nacional de Pediatría.

## CASO CLÍNICO

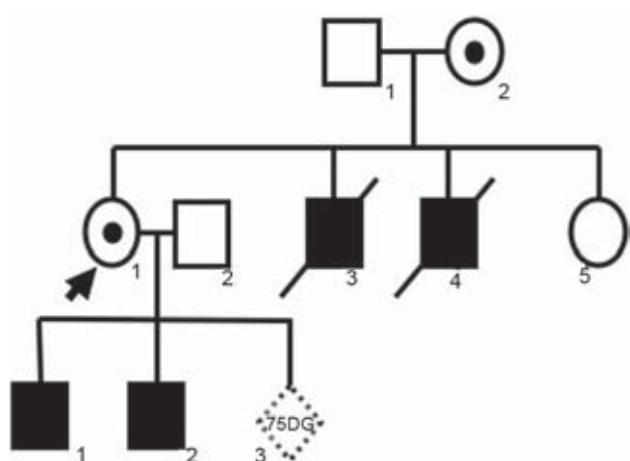
Mujer de 33 años de edad, portadora obligada de distrofia muscular de Duchenne (II-1), con dos hijos afectados (figura 1) y con un embarazo de siete semanas de gestación. Solicitó asesoramiento genético y opciones de diagnóstico prenatal. En ambos hijos (III-1 y III-2) el diagnóstico de distrofia muscular de Duchenne (DMD) se estableció con base en los criterios tradicionales: debilidad proximal de predominio pelvifemoral, pseudohipertrofia de gemelos, confinamiento en silla de ruedas a los 12 años de edad, concentración elevada de CPK y patrón miopático en el estudio electromiográfico. En ellos, el estudio de PCR

múltiple de 22 exones descartó pérdidas parciales intrágénicas del gen *DMD*, por lo que al desconocer el tipo de mutación se optó por el diagnóstico prenatal en III-3 mediante análisis de ligamiento. Con previo asesoramiento genético y según los resultados del estudio de ligamiento en II-1, II-2, III-1 y III-2, se realizó el diagnóstico prenatal en II-1.

Antes de obtener la biopsia de vellosidades coriónicas se realizó el ultrasonido de primer trimestre, el cual reportó traslucencia nucal (TN) de 1.5 mm, hueso nasal presente, conducto venoso normal y notch positivo bilateral, con lo que se otorgó un riesgo por TN de 1:3,219 para síndrome de Down, cuando el riesgo por edad materna era de 1:589. En la evaluación ultrasonográfica los genitales externos eran aparentemente femeninos. Se brindó asesoramiento genético respecto al sexo fetal (la ultrasonografía tiene certeza de 91.5% en la asignación del sexo a las 12 semanas de gestación),<sup>8</sup> pero la paciente solicitó el procedimiento invasor con la finalidad de proporcionarle un diagnóstico de mayor certeza. Previo a la obtención de la firma de consentimiento informado y bajo guía ultrasonográfica directa en tiempo real, se realizó la punción transabdominal para obtener la biopsia de vellosidades coriónicas.

## Estudio citogenético de la biopsia de vellosidades coriónicas

La selección del tejido fetal y separación del tejido de origen materno se efectuó con microscopio estereoscópico. Las vellosidades coriónicas se procesaron para el estudio molecular y citogenético según el método modificado de Simoni y col.<sup>9</sup> Se obtuvieron 100 mg de tejido fetal, de los cuales 30 mg, en medio de cultivo completo (AmnioMAX®-II, Gibco Inc. Invitrogen® Grand Island, NY, USA) se destinaron para el estudio molecular (ver más delante) y los 70 mg restantes para el citogenético. El cultivo celular se realizó con el método de Jackson y col.<sup>10</sup> El tejido fetal se procesó por digestión enzimática con tripsina-EDTA JX (Gibco Inc. Invitrogen® Grand Island, NY, USA) y collagenasa tipo V (Sigma Aldrich Corp., ST. Louis Missouri, USA) (1mg/mL); con el botón celular se establecieron cinco cultivos primarios. Estos se revisaron periódicamente para evaluar la actividad mitótica, determinar la cosecha *in situ*, conseguir las preparaciones para someterlas a tripsina y Giemsa, y obtener el estudio citogenético con bandas GTG.



**Figura 1.** Árbol genealógico en el que se documenta el carácter de portadora obligada de distrofia muscular de Duchenne de la paciente de este estudio. Acudió para asesoramiento genético y diagnóstico prenatal con embarazo de siete semanas, determinado por la última fecha de menstruación.

### Estudio molecular del gen DMD en la familia

La purificación del ADN genómico se realizó con la técnica de precipitación salina (Puregene® Blood kit, Gentra Systems, Minneapolis, MN, USA), a partir de leucocitos totales de sangre periférica de los portadores II-1, II-2, III-1 y III-2. El ADN genómico se obtuvo de 10 mg de la biopsia de vellosidades coriónicas (III-3) sin cultivar, mediante digestión con proteinasa K y purificación por adsorción en columna de sílice, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (DNeasy Tissue Kit, Qiagen, [www.qiagen.com/PG/DNAclinical](http://www.qiagen.com/PG/DNAclinical)).

#### Análisis de ligamiento con los marcadores intragénicos pERT87.8/TaqI y pERT87.15/XmnI

El estudio se efectuó con dos marcadores intragénicos bialélicos tipo RFLP de la región 5' del gen *DMD* (pERT87.8/*TaqI* en intrón 13 y pERT87.15/*XmnI* en intrón 17), según las condiciones descritas.<sup>5,7</sup> Los alelos resultantes del marcador pERT87.8/*TaqI* se denominaron T1 (sin sitio de corte para la endonucleasa *TaqI*) y T2 (con sitio de corte), y los del marcador pERT87.15/*XmnI* se nombraron X1 (sin sitio de corte para la endonucleasa *XmnI*) y X2 (con sitio de corte). Despues de conocer la fase de ligamiento se integraron los haplotipos resultantes en la familia.

#### Determinación prenatal del sexo

La determinación preliminar del sexo prenatal se realizó en la muestra de ADN genómico de la biopsia de vellosidades coriónicas (III-3). Se utilizó PCR de secuencias representativas del cromosoma Y: gen *SRY* (Yp11) y el marcador microsatélite *DYS389I/II* (Yq11), según lo descrito (<http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/y20plex.htm>).<sup>11</sup> Se incluyeron como muestras control el ADN genómico de individuos masculino y femenino sanos, y un control negativo o blanco.

## RESULTADOS

Dado que los portadores III-1 y III-2 no mostraron pérdidas del gen *DMD* (descarta las mutaciones hasta 98% de los casos), se realizó el análisis de ligamiento con dos marcadores estrechamente ligados al locus de distrofia muscular de Duchenne. La madre o portadora II-1 resultó informativa (heterocigótica) con ambos marcadores y se detectó el haplotipo T2-X2 en los hijos afectados (III-1 y III-2), como aquel que cosegrega con la enfermedad

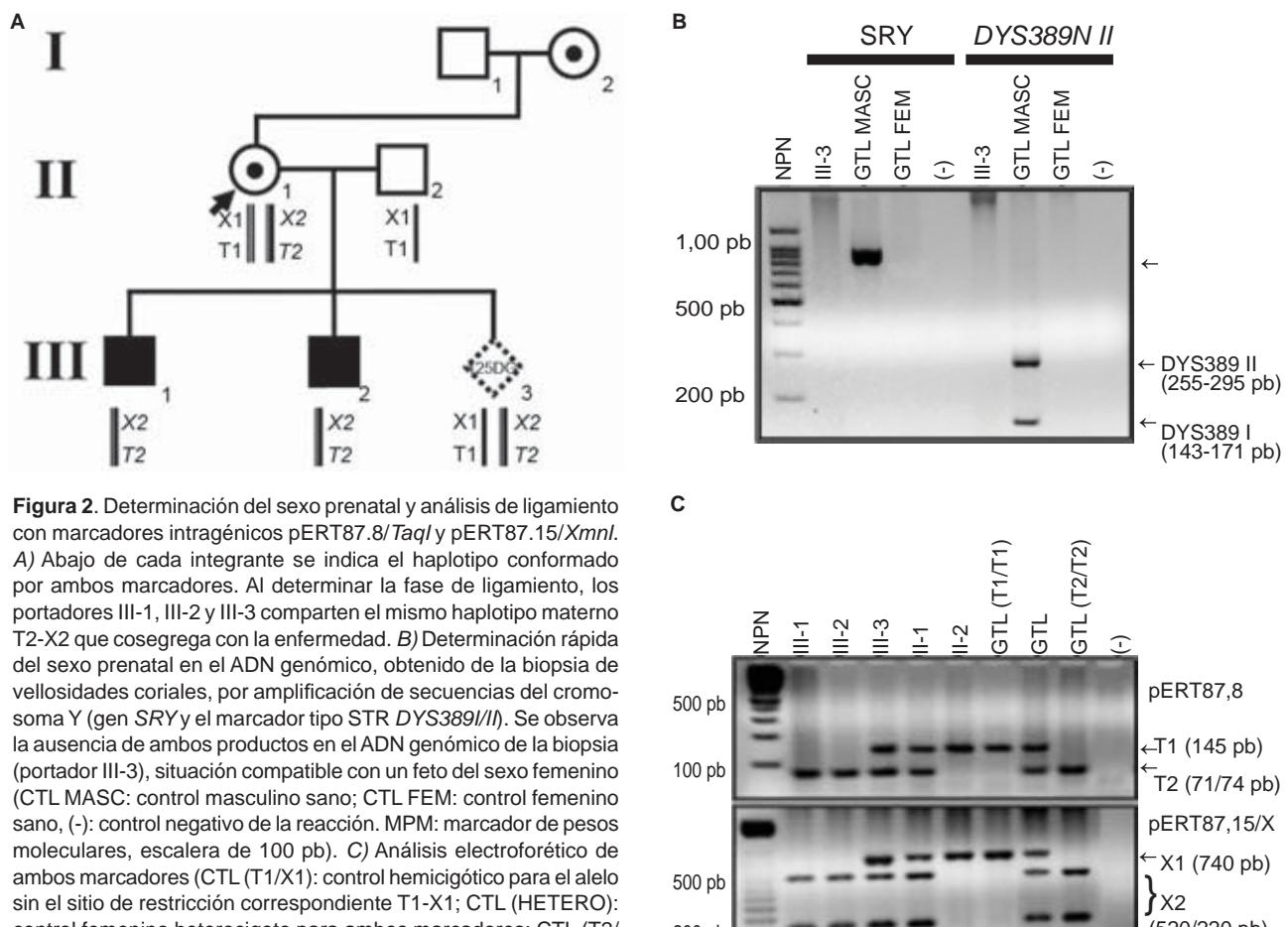
en la familia (figura 2). La caracterización del haplotipo de riesgo proporcionó en la portadora II-1 el diagnóstico prenatal mediante la biopsia de vellosidades coriónicas, todo ello con posibilidad de determinar el sexo y asignar o descartar el haplotipo de riesgo en el feto.

La identificación prenatal del sexo por PCR no reveló secuencias provenientes del cromosoma Y (figura 2). Este hallazgo sugirió un feto del género femenino, lo que coincide con lo observado a las 12 semanas de gestación por ultrasonido. Lo anterior se comprobó con el estudio ultrasonográfico y de cariotipo del tejido trofoblástico, reportado como 46, XX normal, con resolución de 500 a 550 bandas en 21 metafases de cinco cultivos primarios y seis de técnica directa. El análisis de ligamiento mostró el genotipo heterocigótico T2-X2/T1-X1 en la biopsia de vellosidades coriónicas, compatible con el diagnóstico de feto femenino portador del haplotipo materno de riesgo T2-X2 (el haplotipo de no riesgo T1-X1 es de origen paterno). Dada la distancia genética (5 a 12 cM) entre ambos marcadores y el locus *DMD*,<sup>5</sup> se estimó una certeza diagnóstica de 88 a 95% de que el feto femenino fuera portador del gen mutado. Los padres, al conocer estos resultados decidieron continuar con el embarazo. Los hallazgos obtenidos con los marcadores tipo RFLP y de ambos *loci* del cromosoma Y se comprobaron en el portador III-3 al nacimiento (ADN de la mucosa oral), pero no se encontró discrepancia con los referidos prenatalmente. El portador III-3 se consideró clínicamente sin alteración al nacimiento.

## COMENTARIO

El diagnóstico prenatal invasor, por amniocentesis o biopsia de vellosidades coriónicas, permite confirmar las alteraciones cromosómicas, mendelianas y metabólicas, ya que en dichas muestras, además de realizarse el análisis citogenético, pueden efectuarse estudios bioquímicos y moleculares.<sup>12</sup> En México existen diversos grupos experimentados en amniocentesis para el diagnóstico de alteraciones cromosómicas;<sup>13</sup> no obstante, la experiencia en la obtención de la biopsia de vellosidades coriónicas ha sido limitada. Recientemente se implantó esta técnica de diagnóstico temprano en las parejas con riesgo reproductivo de trastornos genéticos, como en la paciente de este estudio, que acuden al Instituto Nacional de Perinatología.

En el diagnóstico molecular de alteraciones mendelianas se prefiere detectar la mutación responsable del



**Figura 2.** Determinación del sexo prenatal y análisis de ligamiento con marcadores intragénicos pERT87.8/*TaqI* y pERT87.15/*XmnI*. A) Abajo de cada integrante se indica el haplotipo conformado por ambos marcadores. Al determinar la fase de ligamiento, los portadores III-1, III-2 y III-3 comparten el mismo haplotipo materno T2-X2 que cosegrega con la enfermedad. B) Determinación rápida del sexo prenatal en el ADN genómico, obtenido de la biopsia de vellosidades coriales, por amplificación de secuencias del cromosoma Y (gen *SRY* y el marcador tipo STR *DYS389N/II*). Se observa la ausencia de ambos productos en el ADN genómico de la biopsia (portador III-3), situación compatible con un feto del sexo femenino (CTL MASC: control masculino sano; CTL FEM: control femenino sano, (-): control negativo de la reacción. MPM: marcador de pesos moleculares, escalera de 100 pb). C) Análisis electroforético de ambos marcadores (CTL (T1/X1): control hemicigótico para el alelo sin el sitio de restricción correspondiente T1-X1; CTL (HETERO): control femenino heterocigoto para ambos marcadores; CTL (T2/X2): control femenino hemicigótico para el alelo con el sitio de restricción correspondiente T2-X2; (-): control blanco de la reacción. Carril MPM: Marcador de pesos moleculares (escaleras de 100 pb para *TaqI* y 50 pb para *XmnI*). El haplotipo T2-X2 de origen materno en el ADN genómico de la biopsia (portador III-3) y del haplotipo paterno obligado o de no riesgo T1-X1, aunado con la ausencia de secuencias derivadas del cromosoma Y, estableció el diagnóstico de feto femenino portador de distrofia muscular de Duchenne.

cuadro clínico (abordaje directo);<sup>6</sup> sin embargo, aunque la mutación que originó la distrofia muscular de Duchenne, en esta familia, no se trataba de una pérdida parcial intragénica (situación que se observa hasta en 35% de los casos con distrofinopatías),<sup>1</sup> se proporcionó el abordaje indirecto con el análisis de dos marcadores intragénicos tipo RFLP ubicados en la región 5' del gen *DMD*. Este estudio es el primero en reportar el diagnóstico prenatal molecular de tipo indirecto en una mujer portadora obligada de distrofia muscular de Duchenne, obtenida de la biopsia de vellosidades coriónicas en México.

El éxito del abordaje indirecto para determinar el genotipo de riesgo en el feto o portador III-3 se logró

por: a) el estado heterocigótico o informativo de ambos marcadores en el portador II-1; b) la identificación de la fase de ligamiento y del haplotipo de riesgo (T2-X2) en ambos hijos afectados (portadores III-1 y III-2); c) la ausencia de eventos de recombinación identificables, y d) la estructura familiar adecuada con madre portadora obligada (II-1) y disponibilidad del padre (portador II-2) para establecer el haplotipo de no riesgo. Éstas fueron situaciones favorables que no siempre se cumplen en el análisis de ligamiento.<sup>5-7</sup> Así, aunque se desconoce el tipo de mutación en la familia, la detección del haplotipo que cosegrega con la enfermedad familiar justificó su aplicación en el diagnóstico prenatal de distrofia muscular de

Duchenne mediante biopsia de vellosidades corionómicas. Algunas desventajas del abordaje indirecto se explicaron en el apartado correspondiente al asesoramiento genético de la familia; entre estos destaca la posibilidad de algún resultado falso positivo (5 a 12%) en la asignación de un feto femenino portador, ocasionados por eventos de recombinación intragénica no detectables cuando sólo se analizan marcadores de la región 5'.<sup>5,7</sup>

La determinación rápida del sexo prenatal es una prioridad en los pacientes con trastornos monogénicos recesivos ligados al cromosoma X.<sup>6</sup> Ésta se logra en menos de 24 horas, ya sea mediante el estudio de FISH en interfase con sondas específicas para los sexocromosomas,<sup>14</sup> o con estrategias de PCR que revelan o descartan las secuencias derivadas del cromosoma Y.<sup>6,7</sup> La bibliografía sugiere diferentes tipos de secuencias para determinar el sexo prenatal por PCR;<sup>15</sup> nosotros seleccionamos la amplificación de todo el gen *SRY* (Yp) y del marcador *DYS389I/II* (Yq), como secuencias que pronostican la coexistencia de algún cromosoma Y íntegro. Hace poco se señaló que la asignación del sexo fetal por ultrasonido, durante las semanas 12 a 13, evita la realización de exámenes invasores.<sup>8</sup> En este estudio la evaluación ultrasonográfica detectó genitales externos aparentemente femeninos y se comunicó a la paciente que la certeza de la técnica era de 91.5% entre la semana 12 y 15 de gestación;<sup>8</sup> sin embargo, los grupos que realizan el diagnóstico prenatal en México no han publicado su experiencia al respecto. Por lo anterior y debido al alto riesgo de recurrencia para distrofia muscular de Duchenne en la descendencia masculina de la paciente, se decidió continuar con el estudio invasor para obtener un resultado definitivo. Efrat y colaboradores<sup>8</sup> recomiendan que la determinación del sexo fetal por ultrasonografía del primer trimestre se establezca en el transcurso de la gestación, que en nuestro caso fue al documentar, en la biopsia de vellosidades corionómicas, la ausencia de secuencias del cromosoma Y, el patrón de restricción heterocigótico observado en ambos marcadores RFLP del cromosoma X y el complemento sexocromosómico, y el seguimiento ultrasonográfico.

La contaminación con ADN materno de origen decidual se ha reportado como causa potencial de resultados ambiguos, sobre todo cuando se utiliza el material de vellosidades corionómicas sin cultivar;<sup>16</sup> sin embargo, la disección y selección cuidadosa del tejido fetal (obtenido de la biopsia de vellosidades con microscopio estereoscópico) reduce dicha posibilidad.<sup>17</sup> En este estudio no hubo dife-

rencias entre los genotipos prenatales y posnatales (ADN de mucosa oral) del portador III-3, por lo que se descartó la contaminación con ADN de origen materno.

El progreso en genética molecular abrió la posibilidad de detectar el estado del portador en diversas alteraciones mendelianas; no obstante, aún se discute la detección del mismo en pacientes menores de edad, dado que el menor no autoriza la realización del estudio.<sup>18</sup> Los lineamientos de la Sociedad Americana de Genética Humana y del Colegio Americano de Genética Médica recomiendan que el diagnóstico molecular de portadores o de tipo presintomático de alteraciones monogénicas mortales se realice sólo en individuos con riesgo y que han cumplido la mayoría de edad, cuya solicitud es posterior al asesoramiento genético y a través de un consentimiento informado.<sup>19</sup> La distrofia muscular de Duchenne es un padecimiento invalidante (cuya muerte ocurre durante la segunda década de la vida), de la que no existe tratamiento curativo, por lo que se debate el sustento ético para realizar, a solicitud de los padres, la detección de mujeres portadoras en la etapa pediátrica, sin contar con el consentimiento informado de la menor en riesgo.<sup>18,20</sup> Se discute si la enfermedad condiciona algún efecto psicológico negativo y estigmatización en dichas mujeres dentro de su núcleo familiar y la sociedad; por tanto, se recomienda que los estudios moleculares para determinar el estado de portadora se realicen hasta que cumpla la mayoría de edad, si así lo solicita la consultante.<sup>19,20</sup> El estado de portadora en etapa prenatal y posnatal del presente caso se informó a los padres; sin embargo, éticamente consideramos que puede brindarse esta información a los progenitores, ya que se ha observado que hasta 80% de las mujeres portadoras de alguna distrofinopatía tienen cierto grado de afectación miocárdica.<sup>21</sup> El seguimiento cardiológico estrecho en ellas permite identificar oportunamente la complicación, con la posibilidad de establecer algún tratamiento que tenga efecto en su supervivencia. Esto se explicó a los padres del caso aquí tratado y se indicó seguimiento cardiológico en la portadora II-1, y en el futuro a la portadora III-3.

## CONCLUSIÓN

El diagnóstico molecular prenatal mediante biopsia de vellosidades corionómicas es una opción de prevención reproductiva temprana en mujeres portadoras de distrofia muscular de Duchenne o Becker en México.

## REFERENCIAS

1. Emery AE. The muscular dystrophies. *Lancet* 2002;359:687-95.
2. Mostacciulo ML, Miorin M. Reappraisal of the incidence rate of Duchenne and Becker muscular dystrophies on the basis of molecular diagnosis. *Neuroepidemiology* 1993;12:326-30.
3. Abbs S, Yau SC, Mathew CG, Bobrow M. A convenient multiplex PCR system for the detection of dystrophin gene deletions: a comparative analysis with cDNA hybridisation shows mistypings by both methods. *J Med Genet* 1991;28:304-11.
4. Kim UK, Chae JJ, Lee SH, Lee CC, Namkoong Y. Molecular diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy by polymerase chain reaction and microsatellite analysis. *Mol Cells* 2002;13:385-8.
5. Roberts R, Cole C, Hart K, Bobrow M. Rapid carrier and prenatal diagnosis of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Nucleic Acids Res* 1989;17:811-7.
6. Abbs S. Prenatal diagnosis of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Prenat Diagn* 1996;16:1187-98.
7. Alcantara M, Garcia-Cavazos R, Hernández UE, Gonzalez-del Angel A, et al. Carrier detection and prenatal molecular diagnosis in a Duchenne muscular dystrophy family without any affected relative available. *Ann Genet* 2001;44:149-53.
8. Efrat Z, Perri T, Ramati E, Tugendreich D, Meizner I. Fetal gender assignment by first-trimester ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;27:619-20.
9. Simoni G, Brambati B, Danesino C, Rossella F, et al. Efficient direct chromosomal analysis and enzyme determination from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum Genet* 1983;63:349-57.
10. Jackson L. Prenatal genetic diagnosis by chorionic villus sampling (CVS). *Sem Perinatol* 1985;9:209-18.
11. Jordan BK, Jain M, Natarajan S, Douglas Fraiser S, Vilain E. Familial mutation in the testis-determining gene SRY shared by an XY female and her normal father. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3428-32.
12. Desnick RJ, Schuette JL, Golbus MS, Jackson L, et al. First-trimester biochemical and molecular diagnoses using chorionic villi: high accuracy in the U.S. collaborative study. *Prenat Diagn* 1992; 12:357-372.
13. Grether P, Zavaleta MJ, de la Luna E, Sanchez-Solis V, et al. Diagnóstico perinatal en 350 amniocentesis. *Ginecol Obstet Mex* 1991;59:317-22.
14. Eiben B, Trawicki W, Hammans W, Goebel R, et al. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidies in uncultured amniocytes by fluorescence in situ hybridization. Evaluation of 3,000 cases. *Fetal Diagn Ther* 1999;14:193-7.
15. Hussey ND, Donggui H, Froiland DAH, et al. Analysis of five Duchenne muscular dystrophy exons and gender determination using conventional duplex polymerase chain reaction on single cells. *Mol Hum Reprod* 1999;5:1089-94.
16. Antoniadi T, Yapijakis C, Kaminopetros P, Makatsoris C, et al. A simple and effective approach for detecting maternal cell contamination in molecular prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 2002;22:425-9.
17. Wang BT, Peng W, Cheng KT, Chiu SF, et al. Chorionic villi sampling: laboratory experience with 4,000 consecutive cases. *Am J Med Genet* 1994;53:307-16.
18. Borry P, Fryns JP, Schotsmans P, Dierickx K. Attitudes towards carrier testing in minors: a systematic review. *Genet Couns* 2005; 16:341-52.
19. American Society of Human Genetics, American College of Medical Genetics (ASHG/ACMG). Points to consider: ethical, legal, and psychosocial implications of genetic testing in childhood and adolescents. *Am J Hum Genet* 1995;57:1233-41.
20. Borry P, Schotsmans P, Fryns JP, Dierickx K. Carrier testing in minors: a systematic review of guidelines and positions statements. *Eur J Hum Genet* 2006;14:133-8.
21. Politano L, Nigro V, Nigro G, Petretta VR, et al. Development of cardiomyopathy in female carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophies. *JAMA* 1996;275:1335-8.