

Descripción de la muestra del banco de ADN de recién nacidos con malformaciones congénitas

IGNACIO ZARANTE¹
ANA MARÍA PALACIOS¹
JUANITA HENAO¹
PAOLA AYALA¹
MARLENY SALAZAR²
JOHANNA ACOSTA¹
GISEL GORDILLO¹
CATALINA LÓPEZ¹
PAOLA CADENA¹

Resumen

Objetivos. Este artículo describe una muestra de recién nacidos con malformaciones congénitas a quienes se les tomó muestra de mucosa oral mediante la técnica de hisopado bucal. Se hizo lo anterior con el fin de generar un banco de ADN, de manera que exista la posibilidad de acceder al material genético para investigaciones moleculares de malformaciones congénitas.

Métodos. Siguiendo la metodología del Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC), se examinaron los recién nacidos de dos hospitales de Bogotá, el Hospital Universitario San Ignacio y la Fundación Clínica Emmanuel, durante el periodo comprendido entre el 1° de agosto de 2007 y el 31 de julio de 2008. Para la extracción del ADN, se tomaron muestras de mucosa oral mediante la técnica de hisopado bucal y el ADN se almacenó a -20°C en el Instituto de Genética Humana de la Pontificia Universidad Javeriana.

Resultados. Se registraron 6.219 nacimientos, de los cuales, 213 niños nacieron con alguna malformación congénita; de éstos, a 125 se les tomó muestra de hisopado bucal. En la población general, la mayoría de nacimientos registrados fueron de sexo masculino (51,6%). Sin embargo, la muestra presentó una mayor tendencia hacia pacientes femeninos (53,6%).

1 Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia.

2 Candidata a doctorado en la Pontificia Universidad Javeriana-Universidad del Quindío, Bogotá, D.C., Colombia.

Se registraron dos casos de mortinatos en la muestra (1,6%). La mortalidad de los pacientes con malformaciones se aumentó a 7 casos (5,6%) al momento del alta. No se encontró una diferencia importante en la edad materna al momento de la gestación, entre la población general y la muestra (promedio de 26,89 años y 27,06 años, respectivamente).

La malformación que se observó con mayor frecuencia fueron las deformidades congénitas del pie (16,8%), seguida de la cardiopatía (6,4% del total de las malformaciones) y la polidactilia (5,6%).

Conclusión. La toma de la muestra de la mucosa oral con escobillones representa un método fácil de realizar y no invasivo para la recolección de muestras de ADN y para la formación del banco, con el fin de crear una reserva de material genético para el estudio molecular de las malformaciones congénitas.

Palabras clave: malformaciones congénitas, banco de ADN, hisopado bucal, ECLAMC (Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas).

Title

Description of the DNA sample bank about congenital malformations

Abstract

Objective: To describe a sample of newborns with congenital malformations that were part of a surveillance program. DNA samples were taken from this patient's oral mucosa using buccal swabs with the purpose of creating a DNA bank for the future molecular investigation of congenital anomalies.

Methods: Following the methodology of the Latin American Collaborative Study of Congenital Malformations (ECLAMC), we evaluated all newborns from August 1, 2007 to July 31, 2008 that were born in two hospitals in Bogotá-Colombia: Hospital Universitario San Ignacio and Fundación Clínica Emmanuel. For the extraction of

DNA, samples were taken from the newborn's oral mucosa using buccal swabs and they were stored at a -20°C temperature at the Human Genetic Institute of the Pontificia Universidad Javeriana.

Results: From August 1, 2007 to July 31, 2008, 6219 births were registered; 213 of which had a congenital malformation. Samples of DNA were taken from 125 malformed newborns, using buccal swabs. 51% of the infants were males, and 48% were females, but in the sampled babies, females predominated (53,6%). Two cases of stillbirths were registered (1,6%).

We found no difference when comparing the general population's maternal age at the moment of birth with the sample's maternal age at the moment of birth (average, 26, 89 and 27, 09 years, respectively).

The most frequent anomalies observed were: Malformations of the feet (16,8%), cardiopathies (6.4%) and polydactyly (5,6%).

Conclusions: Samples taken from oral mucosa using buccal swabs represent an easy and non-invasive method for the extraction of DNA and the creation of a DNA bank that will contribute for the future molecular research of congenital anomalies.

Key words: Congenital anomalies, DNA bank, buccal swab, ECLAMC (Latin American Collaborative study of Congenital Malformations).

Introducción

La formación de un ser humano a partir de un óvulo fecundado depende de complejos procesos e interacciones entre el contenido genético intrínseco y los agentes ambientales. Las malformaciones congénitas se describen como cualquier anomalía al momento del nacimiento que

afecte la estructura o el funcionamiento de algún órgano o sistema. En general, la frecuencia de los defectos congénitos de etiología genética tiene una distribución homogénea a escala mundial; se ha calculado que 1,5% a 2,0% de los recién nacidos presentan alguna malformación mayor[1].

En nuestro país, las malformaciones congénitas constituyen la segunda causa de muerte en menores de un año[2]; sin embargo, se ha estimado que la mitad de ellas serían prevenibles si se conoce su causa y se identifican los grupos de alto riesgo. Por lo anterior, la investigación en esta área ha venido ganando valor, puesto que es vital la importancia de la prevención o de un tratamiento oportuno en pacientes malformados o potencialmente malformados.

El Instituto de Genética Humana, en conjunto con la Pontificia Universidad Javeriana, han sido instituciones pioneras en Colombia y Latinoamérica, y han producido valiosos aportes y oportunidades de investigación. El proyecto del banco de ADN de recién nacidos con malformaciones congénitas es un proyecto vanguardista y será de gran ayuda en investigaciones actuales y venideras, aportando información valiosa sobre la causa de las enfermedades genéticas y enfermedades multifactoriales, en las que la predisposición genética contribuye de manera importante.

Materiales y métodos

Población

El estudio se llevó a cabo en los servicios de maternidad de dos hospitales de Bogotá, el Hospital Universitario San Ignacio y la Fundación Clínica Emmanuel, entre el 1° de agosto de 2007 y el 31 de julio de 2008.

Siguiendo la metodología del Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC), se incluyeron como casos todos los recién nacidos vivos de cualquier peso con malformaciones congénitas y los mortinatos malformados con pesos mayores de 500 g. Se tomó como control el siguiente nacido vivo del mismo sexo que no presentara malformaciones.

La información se recolectó mensualmente de todos los nacimientos de cada servicio de maternidad, teniendo en cuenta las variables: edad materna, edad de gestación, número de gestaciones de la madre, peso, talla y sexo del recién nacido, y estado del recién nacido al momento del nacimiento (vivo o muerto) y al ser dado de alta.

En caso de encontrarse alguna malformación, se llenaba una ficha en la que se describía la alteración según los términos del manual del ECLAMC y se adicionaban datos sobre el estatus socioeconómico de la madre y el pa-

dre, antecedentes durante el embarazo y controles prenatales[1].

Toma de muestras de mucosa oral y extracción de ADN

Para la toma de las muestras de la mucosa oral, se utilizó un hisopo o cepillo, el cual se introdujo en la boca y se raspó el interior de la mejilla suavemente, más o menos, 10 veces. Los palillos del hisopo se almacenaron a temperatura ambiente hasta la extracción de ADN.

Para la extracción de ADN bucal, los palillos de los hisopos se cortaron y se introdujo únicamente la parte que contenía la muestra en un tubo con tapa de rosca (Axygen®) previamente marcado. Se utilizó el kit comercial *Puregene Buccal Cell Kit* (Gentra Systems®)[3].

Resultados

Se registraron 6.219 nacimientos en las dos instituciones del estudio,

durante el período comprendido entre el 1° de agosto de 2007 y el 31 de julio de 2008. Se tomaron muestras a 125 pacientes con malformaciones congénitas, lo que equivale a 2% del total de la población observada.

En la tabla 1 se describen algunas de las características demográficas de las madres y los recién nacidos de la muestra analizada.

En la población general, 48,44% de los nacidos vivos fueron del sexo femenino y el 51,56%, del sexo masculino. Con respecto a los pacientes a quienes se les tomó muestra, 53,6% eran del sexo femenino y 46,4% del masculino.

En la tabla 2 se describe el estado de los recién nacidos al momento de nacer, comparado con el estado al ser dados de alta de las instituciones.

La distribución de la frecuencia de las anomalías encontradas se encuentra detallada en la tabla 3.

Tabla 1
Variables analizadas en la muestra

Variable	Promedio	Desviación estándar
Edad materna (años)	27,06	6,72
Edad de gestación (semanas)	38,01	1,79
Gestaciones (n)	1,99	1,16
Peso del recién nacido (g)	2.841,9	526,62
Talla del recién nacido (cm)	48,2	2,81

Tabla 2
Estado de los niños al nacer

Nacido	Casos	Porcentaje
Muerto	2	1,6
Vivo	123	98,4
Total	125	100

Tabla 3
Frecuencia de las anomalías congénitas en la muestra

Malformaciones	N	Porcentaje
Talipes	21	16,8
Cardiopatía	8	6,4
Polidactilia	7	5,6
Microtia	6	4,8
Craneosinostosis	6	4,8
Apéndices preauriculares	6	4,8
Polimalformación	6	4,8
Labio y paladar hendidos	5	4,0
Anomalías cromosómicas	5	4,0
Hemangioma	4	3,2
Cardiopatía	4	3,2
Hidrocefalia	3	2,4
Microcefalia	3	2,4
Quistes	3	2,4
Foseta sacra	3	2,4
Laterorrinia	2	1,6
Coloboma del iris	2	1,6
Arteria umbilical única	2	1,6
Hidronefrosis	2	1,6
Anomalía por reducción de miembro	2	1,6
Criptorquidia	2	1,6
Dilatación de la pelvis renal	2	1,6

Continuación

Malformaciones	N	Porcentaje
Pielectasia del riñón derecho	1	0,8
Luxación de la cadera	1	0,8
Anomalías de los genitales	1	0,8
Foseta preauricular	1	0,8
Atresia intestinal	1	0,8
Apéndice en cuello	1	0,8
Espina bífida	1	0,8
Apéndices nasales	1	0,8
Atresia de coana izquierda	1	0,8
Hernia diafragmática	1	0,8
Atresia esofágica	1	0,8
Catarata congénita	1	0,8
Parálisis facial	1	0,8
Anomalías de implantación de las orejas	1	0,8
Agenesia renal	1	0,8
Hipospadias	1	0,8
Implantación anómala de dedo del pie	1	0,8
Anencefalia	1	0,8
Retrognatia	1	0,8
Dilatación renal	1	0,8
Enfermedad adenomatoide quística	1	0,8
Total	125	100

Muestras de ADN

Las muestras de ADN se encuentran almacenadas a -20°C en el Instituto de Genética Humana de la Pontificia Universidad Javeriana, marcadas con el nombre de la madre del paciente y la fecha de recolección de la muestra. La extracción del ADN se

realizó mediante el kit *Puregene Buccal Cell Kit* (Gentra).

Discusión

Durante el periodo analizado, se estudiaron 6.219 nacimientos en los servicios de maternidad de dos hospitales de la ciudad de Bogotá, la Clíni-

ca Emmanuel y el Hospital Universitario San Ignacio. El 2% de los pacientes presentaron malformaciones congénitas, dato similar a estudios anteriores de población[1, 4].

Con respecto a la edad materna en el momento de la gestación, no se encontró mayor diferencia entre la población general, cuyo promedio de edad fue de 26,89 años con una desviación estándar (DE) de 7,1 años, y las madres de niños malformados, cuyo promedio fue de 27,06 años (DE=6,7 años).

El promedio del número de gestaciones en la población general y en la muestra fue de 1,8 hijos. El promedio del peso de la muestra fue de 2.841 g (adecuado para la edad de gestación), con una DE de 526. No se tienen datos completos de la población general, por lo cual no se realizó la comparación.

Al comparar los casos con la población general, la mayoría de nacimientos registrados fueron de sexo masculino (51,6%), datos parecidos a estudios realizados anteriormente, en los cuales se encontró que la mayoría de los nacidos eran masculinos, con un promedio de 51,4%[4].

Al momento del nacimiento, se presentaron dos casos de mortinatos, el 1,6% del total de la muestra. De éstos, uno era masculino y presentaba defor-

midades congénitas del pie y el otro era femenino con hidrocefalia. Sin embargo, al momento del alta, la mortalidad de los pacientes con malformaciones aumentó a 7 casos (5,6% del total de la muestra y 1,2% si se compara con la población).

Se evidenció que en septiembre de 2007, en el Hospital San Ignacio fue el de mayor prevalencia de malformaciones, en comparación con los otros meses estudiados de dicho año.

La malformación que se observó con mayor frecuencia fue el de deformidades congénitas del pie, con 16,8% del total de las malformaciones, dato similar observado en el ECLAMC. La cardiopatía ocupó el segundo lugar, con 6,4% del total de las malformaciones, y la polidactilia ocupó el tercer lugar de las malformaciones, con 5,6%. Estas tres malformaciones ocupan los primeros lugares en estudios que se han hecho con anterioridad [1,4]. Sin embargo, en el ECLAMC[1], se observó que la frecuencia de cardiopatía y polidactilia es mayor que la que observamos en el estudio, datos que se podrían explicar por el tamaño de la muestra usada.

Respeto al método de toma de muestra, observamos que del hisopado se obtienen miles de células que se desprenden de la boca, lengua y mejilla, las cuales contienen la cantidad necesaria de ADN para las pruebas

moleculares, como la determinación de una filiación o identificación de un individuo, con el mismo grado de certeza que con el estudio sanguíneo.

Las ventajas y beneficios del hisopado bucal son: a) método no invasivo; b) fácil y simple; c) los hisopos no son sensibles al tiempo ni a la temperatura; d) se evitan contagios o roturas del material utilizado y, por consiguiente, la pérdida de la prueba; e) no tiene restricciones por la edad, y f) no altera los valores de alta seguridad para determinar la filiación[3].

Desde su creación en 1997, el comité del ECLAMC, propuso la creación de un banco de ADN de recién nacidos con malformaciones congénitas, para el estudio molecular de estas enfermedades. La toma de muestras de la mucosa oral con escobillones representa un método fácil de realizar y no invasivo para la recolección de muestras de ADN y la formación del banco, con lo que se busca generar una reserva de material genético de relevancia clínica, para el estudio molecular de las malformaciones congénitas que, como se mencionó anteriormente, representan una de las principales causas de mortalidad en nuestros niños.

Además, estos estudios moleculares han permitido la publicación de varios artículos, con lo cual se puede contribuir a que la comunidad cientí-

fica tenga un mejor conocimiento de estas enfermedades y pueda ofrecer a los familiares de los pacientes un diagnóstico preciso y una adecuada asesoría que permita, no sólo una mejor calidad de vida de los niños afectados, sino también, la prevención de nuevos casos[1].

Invitamos, entonces, a que se continúe con esta iniciativa, pues la genética molecular se encuentra a la cabeza de la investigación médica y los resultados que se deriven de estudios como éste pueden ayudar a la evolución del tratamiento de las enfermedades genéticas y ser de gran importancia para la reducción de la mortalidad infantil.

Bibliografía

1. Castilla EE, Orioli IM. ECLAMC: The Latin-American collaborative study of congenital malformations. *Community Genetics*. 2004;7:76-94.
2. DANE. *Defunciones por grupos de edad y sexo según 56 causas de muerte*. Biblioteca DANE. 1997.
3. García-Closas M, Egan KM, Abruzzo J, Newcomb PA, Titus-Ernstoff L, Franklin T, Collection of genomic DNA from adults in epidemiological studies by buccal cytobrush and mouthwash. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001;10:687-96.
4. Fernández N, Zarante IM. *Prevalencia y escala pronóstico para malformaciones congénitas en Colombia: la*

responsabilidad de pediatras y neonatólogos. Registro de 54.397 nacimientos. UCIN. 2007;7:28-32.

5. Bernal JE, Ortega G, Umaña A. The contribution of genetic disease to pediatric mortality in a university hospital in Bogotá. Clinical Genetics Unit and Department of Pathology, Hospital San Ignacio, Universidad Javeriana. *Journal of Biosocial Science*. Este si es el nombre de la revista, lo anterior son los departamentos que participaron en el estudio 1983;15:465-71.
6. CDC. *Infant mortality*. MMWR. 1992; 41:81-5.
7. CDC. *Economic costs of birth defects and cerebral palsy*. MMWR. 1995; 44:694-9.
8. Haddix A, Teutsch S, Shaffer P, Dunet D, Churchill E. *A practical guide to prevention effectiveness: decision and economic analysis*. Washington, D.C.: US Department of Health and Human Services, Public Health Service; 1994.
9. Hu T, Sandifer FH. *Synthesis of cost of illness methodology*. National Center for Health Services Research. Washington: Public Services Laboratory, Georgetown University; 1981.
10. López-Camelo JS, Orioli IM. Heterogeneous rates for birth defects in Latin America: hints on causality. *Genet Epidemiol*. 1996;13:469-81.
11. Organización Panamericana de la Salud. *Prevención y control de las enfermedades genéticas y los defectos congénitos*. Informe de un grupo de consulta. Washington D.C. OPS; 1984;460:23-24
12. Ramírez C, Giraldo A, Estupiñán D. Frequency and burden of genetic diseases in the Pediatrics Department of a second level general hospital in a developing country. *Am J Med Genet*. 1991; 49:320-1.
13. Gómez JC, Fernández N, Páez P, Zarante I. Detección de anomalías congénitas en 12.760 nacimientos de tres hospitales en la ciudad de Bogotá, Colombia 2004-2005, mediante ecografía prenatal. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*. 2007;58: 58-65.