## **ACADEMIA Y CLINICA**

## DIAGNOSTICO PRENATAL

G.J. Trujillo B. \*

PALABRAS CLAVES: Prenatal, Diagnóstico, Etica, Técnicas

## RESUMEN

Presentación amplia del actual desarrollo del conocimiento en la genética y su aplicación en el importante campo del diagnóstico prenatal. Se describen las técnicas utilizadas en el diagnóstico prenatal, se analiza su utilidad y se justifica su empleo en este campo.

En igual forma, el artículo aborda los aspectos éticos del diagnóstico prenatal y las perspectivas en el futuro en este campo.

### SUMMARY

This is a wide presentation of the development and practical knowledge in the prenatal diagnostic field. It describes the techniques analyze usefulness and justify their use.

Also, it discusses ethical aspects of prenatal diagnosis and future trends.

## INTRODUCCION

Los últimos 25 años han sido testigos de una explosión en el desarrollo tecnológico de las ciencias biomédicas. Tal vez el área en la que se han registrado los más dramáticos avances, ha sido en la de genética. Desde 1953, cuando la estructura de la doble hélice del ADN fue establecida, los conocimientos relacionados con la bioquímica, la citogenética y los aspectos moleculares de la biología han sido fenomenales. Las aplicaciones de este nuevo saber han expandido ampliamente la habilidad de las ciencias médicas para caracterizar y diagnosticar (tratar en algunas ocasiones) y manejar muchas enfermedades de naturaleza genética. Es en este contexto en el que el diagnóstico prenatal de enfermedades hereditarias, y de las malformaciones congénitas se ha desarrollado. Este conocimiento y las técnicas utilizadas para lograrlo, han repercutido favorablemente en el diagnóstico de condiciones no genéticas, como el de algunas infecciones durante el embarazo y en el efecto de los teratógenos sobre el feto.

## RAZON PARA EL DIAGNOSTICO PRENATAL

Además de las obvias ventajas que aporta para la consejería genética, el diagnóstico prenatal fetal de los embarazos que corren riesgo, también establece el manejo racional básico, que debe tener el feto como paciente.

Es importante recalcar, que el diagnóstico prenatal no debe ser entendido sólo como algo que ha de terminar en un aborto. Un diagnóstico exacto es el fundamento en el cual toda intervención médica sobre el feto debe basarse (1).

 <sup>\*</sup> Dr. Carlos José Trujillo B.
Médico Genetista
Profesor Asistente
Instituto de Ciencias de la Salud CES
Medellín - Colombia

El diagnóstico intrauterino fetal, seguido por una terapia efectiva es algo actual, que en un futuro se indicará cada vez más. Estrategias nutricionales, farmacológicas, endocrinológicas y aun quirúrgicas, han sido ya aplicadas para el tratamiento efectivo de anormalidades fetales, metabólicas o anatómicas. Muy seguramente este tipo de intervenciones es sólo el comienzo de avances terapéuticos que se presentarán en el futuro.

Es claro entonces, que para administrarle una terapéutica racional al feto, se debe poseer un diagnóstico preciso.

Los avances en genética molecular, y la extensa aplicación de la tecnología del ADN recombinante (al menos en países desarrollados) presentan una gran capacidad para el diagnóstico prenatal. Estos excitantes desarrollos, tienen implicaciones no sólo para el mejoramiento del diagnóstico de la enfermedad genética en la vida fetal temprana, sino que incuestionablemente, tendrán aplicaciones potenciales en la terapia y posiblemente en la cura de estas condiciones en el futuro.

# TECNICAS UTILIZADAS EN EL DIAGNOSTICO PRENATAL

Hace 30 años las únicas técnicas disponibles en obstetricia para el diagnóstico prenatal, eran la palpación bimanual y la radiología. Hace 20 años, ya se habían establecido la amniocentesis del segundo trimestre, junto con la evaluación del cariotipo fetal y algunas pruebas bioquímicas. En los últimos 10 años, una gran variedad de técnicas se ha implementado, y una información bastante amplia pero obviamente incompleta, puede obtenerse del feto.

Debo hacer énfasis en que el diagnóstico prenatal no debe ser realizado a menos que haya claras indicaciones; que el paciente, o mejor la pareja, sean adecuadamente informados y que los interesados estén dispuestos a aceptar el procedimiento, el que tiene que ser realizado por expertos.

A continuación habiaremos de las técnicas y de algunos métodos diagnósticos;

#### Amniocentosis!

La amniocentesis fue introducida en 1880 en Alemania como tratamiento para el polihidramnios. El uso que tiene en la actualidad deriva de investigaciones hechas en la década del cincuenta, primero para medir niveles de bilirrubinas en casos de isoinmunización Rh: después para determinar la gromatina sexual y luego a mediados de la década del sesenta, para establecer el cariotipo fetal.

La indicación más común es la detección de anormalidades cromosómicas. Tradicionalmente se ha ofrecido a las mujeres mayores de 35 años, grupo etáreo en el cual el riesgo de la anormalidad es mayor que el riesgo de procedimiento (el riesgo se considera que es de 1 en 275). Desde 1984 se ha descrito una serie de marcadores bioquímicos y ecográficos que indican la posibilidad de tener un feto afectado por anormalidades cromosómicas (2, 6). Ejemplos de lo anterior son: los valores bajos de alfafetoproteína en suero materno, los valores bajos de estriol sérico materno y los valores altos de la subunidad beta libre de la hormona gonadotrofina coriónica humana; este último se ha convertido hoy en día en la indicación más común de amniocentesis. Se ha ofrecido después de la semana 15 de gestación, pero nuevos trabajos, como el reportado por nosotros en el American Journal of Medical Genetics, han demostrado que se puede ofrecer con la misma seguridad y la misma eficacia desde la semana 9a. de gestación (3).

La técnica más apropiada consiste en usar una aguja de punción espinal 20 o 22 con estileta. La aguja debe ser observada mediante seguimiento ecográfico, evitando en lo posible la placenta y el feto; para cultivo de líquido amniótico, se obtiene un centímetro cúbico por cada semana de gestación.

Hay una gran evidencia acumulada que demuestra que la visualización ecográfica simultánea, disminuye el número de procedimientos fallidos, baja la incidencia de líquidos sanguinolentos y de hemorragia fetomaterna. (4)

También se ha demostrado, que la incidencia de complicaciones es menor, en aquellos centros en los cuales se practica rutinariamente el procedimiento, comparado con los consultorios obstétricos que los realizan sólo esporádicamente. (5)

En laboratorio con experiencia, (no los hay en nuestro madio) la tasa de fallas en al crecimiento de las células del líquido amniótico para obtener cariotipo, deben ser menores del 1% (8), sobre todo considerando que el procedimiento presenta un riesgo importante y que sería inadmisible tener que repetirlo. El cultivo en promedio se demora 14 días, en algunos casos un máximo de tres semanas; y no como se cree tradicionalmente que es de cuatro a seis semanas (8).

Otras indicaciones para la amniocentesis son la medición de alfafetoproteina y acetilcolinesterasa (en los casos en que se sospeche o exista un mayor riesgo de defectos del tubo neural) (6), en la medición de niveles enzimáticos como en la enfermedad de Tay-Sachs (7), y para la extracción de ADN de los amniocitos (células del líquido anmiótico).

#### Fetoscopia:

Este método fue primero usado en la práctica del diagnóstico prenatal en 1973 por Hobbins y otros investigadores de la Universidad de Yale (USA) (9).

La introducción de un endoscopio dentro de la cavidad uterina, ha permitido la visualización y la toma de muestras fetales. El uso del fetoscopio llegó a ser aplicable elínicamente cuando se desarrolló la técnica percutánea usando anestesia local. Se utilizó inicialmente para guiar la toma de sangre fetal y de biopsias fetales (10), visualizando exactamente el vaso y el tejido de los que se retirarán las muestras (11, 12). En la actualidad, la cordocentesis, para obtener sangre fetal, se realiza únicamente bajo visión ecográfica. Las biopsias fetales también se están haciendo con el mismo sistema.

La indicación inicial, la mejor visión de ciertas estructuras fetales, también ha desaparecido, pues en la actualidad se han desarrollado aparatos de ultrasonografía que permiten visualizar en detalle estas estructuras, sin la morbimortalidad fetal que conlleva este procedimiento.

Los abortos resultantes de este tipo de examen, fluctúan entre el 5 y el 10% por intervención, lo que es exagerado, razón por la cual ha entrado en desuso, y sólo persisten muy pocas indicaciones como la de tratar de diagnosticar ciertos síndromes asociados con sindactillas, las cuales son difíciles de corroborar ecográficamente. En la actualidad existen dos centros en donde se está realizando este procedimiento en el King College, Inglaterra, y la Universidad de Yale, USA. En Colombia esta modalidad nunca estuvo en uso.

#### Biopsia de Vellosidades Coriales:

Incialmente fue implementada esta técnica en la República Popular China finalizando la década del 60, con el fin de determinar precozmente el sexo fetal mediante el análisis de la cromatina sexual en las vellosidades coriales. La técnica desarrollada por los chinos estaba asociada a una gran cantidad de abortos resultantes del procedimiento, debido a que se hacía a ciegas. En Milán (Italia), Brambatti, Fraccaro y Simone perfeccionaron la técnica y empezaron a hacer uso del ultrasonido para guiar la cánula transvaginal, lo que redujo dramáticamente la cantidad de abortos (13).

El momento ideal para este recurso es entre las semanas 8 y 11 de gestación (14).

El número de abortos resultante del procedimiento se considera que es aproximadamente del 1%, después de haber corregido la tasa normal de abortos espontáneos que se pueden presentar en la época posterior al procedimiento. Estos datos son el reflejo de estudios hechos en colaboración con los centros que más han trabajado este método en los últimos años (Milán en Italia, Filadelfia, Chicago y San Francisco en USA).

Esta técnica ha surgido con gran vigor en los últimos años, debido a las ventajas que tiene sobre la amniocentesis. Algunas de ellas son:

- El tejido corial es de origen fetal y por lo tanto es genéticamente idéntico al feto.
- Se puede obtener en el primer trimestre por via transvaginal o por la via transabdominal.
- Puede realizarse sin perforar las membranas fetales
- 4 El cariotipo se puede obtener mediante preparaciones directas o por cultivos; las preparaciones directas ofrecerán resultados el mismo día de la toma de la muestra (15), a diferencia de los cultivos que se demoran una o varias semanas.
- Del tejido corial se puede extraer ADN, el cual se usa para analizar frecuencias específicas asociadas a enfermedades hereditarias, como en el caso de las hemoglobinopatias.

#### Cardocentesis:

La cordocentesis o toma de sangre del cordón fetal, es una técnica que se viene utilizando desde que el uso de la fetoscopia permitió tomar muestras de sangre fetal. Guando los aparatos de ultrasonido lograron un buen grado de perfección de la imagen, la cordocentesis empezó a realizarse bajo visión ecográfica, lo cual, obviamente, condujo a una marcada disminución de la morbilidad materna y de la morbimortalidad fetal. En la actualidad es un procedimiento que puede tener un riesgo alrededor del 1%. En nuestra limitada casuística no se han presentado complicaciones.

Las principales indicaciones para este procedimiento son las siguientes:

 Evaluación del cariotipo fetal en los casos en que se hayan detectado anormalidades fetales, mediante ecografía en etapas tardías del embarazo. En estas etapas, el crecimiento del líquido amniótico en cultivo, puede ser más lento, y en sangre fetal es posible obtener un cariotipo en 48 o en 72 horas. De esta manera se puede dirigir un manejo obstétrico adecuado, sin necesidad de maniobras heroicas, no justificables.

- Evaluación de proteínas sanguíneas tales como factores de la coagulación (16). En la medida en que estos genes sean mapeados (ubicados dentro el genoma), estos estudios también se podrán realizar en líquido amniótico o en las vellosidades coriales.
- 3. Análisis de la respuesta inmune del feto a las infecciones. Es posible evaluar si el feto está produciendo IgM específica contra determinadas infecciones, como la toxoplasmosis o la Rubéola, y de esta manera saber con exactitud si el feto sufrió realmente la infección, teniendo en cuenta que no siempre la madre la adquiere, igual cosa ocurre en el feto.
- Análisis de gases arteriales en fetos severamente comprometidos.
- Determinación de grupo sanguíneo y grado de anemía en fetos con isoinmunización. Además se puede y se debe hacer la transfusión a través de la aguja, en los casos en que esté indicada.

Este procedimiento se puede hacer en general después de la semana 18, exige técnica aséptica y una aguja número 20.

Se requiere personal entrenado y se puede realizar entre dos personas, una guiando el haz de ultrasonido y la otra la aguja; o una técnica bimanual en la cual una sola persona hace el procedimiento.

Se debe tener un equipo ecográfico de muy buena resolución, y si se posee Doppier a color, esto ayuda grandemente a localizar la posición exacta en la que se encuentra la inserción del cordón en la placenta. En los casos en que la placenta esté en localización anterior se hace transplacentaria, y cuando es posterior se atraviesa la cavidad amniótica y se punciona el cordón en su inserción placentaria. Sólo en casos muy raros se debe hacer la punción a la entrada del cordón al feto. Hay trabajos en los que descubren la toma de sangre del corazón fetal, con aparentes buenos resultados y tasas de complicaciones similares, pero ellos todayía no han sido plenamente aceptados.

## Ecografia fetal:

Ya he mencionado el desarrollo sorprendente en esta área durante los últimos 30 años. Esto ha hecho posible la identificación de múltiples anormalidades anatómicas fetales, algunas veces permitiendo un diagnóstico sindrómico de muchas entidades. También ha sido invaluable el aporte de la ecografía en la guía de procedimientos invasivos fetales, tales como la amniocentesis, biopsia de vellosidades coriales y la cordocentasis.

Es importante hacer claridad sobre los alcances y limitaciones de esta modalidad diagnóstica y para ello es bueno considerar este examen de acuerdo con los niveles de complejidad que se van a dar y que dependen de tres factores básicos, los que mencionaré en orden de importancia:

- 1. El entrenamiento o preparación del ecografista. Este factor es innegablemente el más importante, pero desafortunadamente es al que menos se le presta atención. Para hacer diagnóstico sindrómico y de múltiples malformaciones, se necesita una base sólida en dismorfología o sindromología. "Nadie ve lo que no conoce". No se puede pretender encontrar los diagnósticos. Para llegar a ellos, hay que saberlos buscar; obviamente esto es aplicable a muchas otras actividades médicas.
- El tiempo que se le dedica al examen es de vital importancia; no es posible pretender hacer ecografia especializada, cuando por razones de volumen, es necesario atender varios pacientes por hora, en estos casos sólo se podrá cumplir el objetivo de una ecografía nivel uno.
- El equipo usado es un factor importante, pues contribuye a la facilidad con que se pueda llegar a un diagnóstico específico; sin embargo no se debe creer que este simple factor es el más primordial, como desafortunadamente a veces sucede en nuestro medio.

En general se puede hablar de los siguientes niveles de ecografía:

Nivel 1: Este tiene como objetivo determinar la vitalidad fetal, la situación fetal, la cantidad de líquido amniótico y la madurez placentaria. También trata de establecer de una manera aproximada, bien sea la edad gestacional o el crecimiento fetal comparado con una edad gestacional conocida, haciendo uso de dos medidas antropométricas básicas, que son el diámetro biparietal y el diámetro occipitofrontal.

Nivel 2: Hace lo mismo que la anterior y además trata de observar la presencia de algunos órganos como cerebro, corazón, hígado, estómago y riñones.

Nivel 3: Lo mismo que el nivel 2 pero además, se observa en detalle algunos órganos o tejidos, como cerebelo, adrenales, y huesos largos en general; fuera de ésto se debe establecer un diagnóstico sindrómico en casos de anormalidades múltiples, lo cual indudable-

mente contribuye de gran manera al mejor manejo del feto como paciente y a establecer un pronéstico. Es importante anotar que este diagnóstico sindrómico se debe confirmar mediante el examen postnatal o la autopsia en caso de muerte fetal, a la cual nos referiremos más adelante.

La ecografía de nivel 3 está indicada en casos de antecedentes familiares de síndromes genéticos asociados a anormalidades anatómicas; o en casos de anormalidades únicas o múltiples en previos embarazos; en caso de ingesta de drogas o exposición a teratógenos, en períodos críticos del desarrollo; y en los casos en que se detecte una anormalidad fetal en una ecografía nivel 1 o nivel 2.

Ecocardiografia fetal: Este tipo de examen trata de evaluar en detalle la anatomía cardíaca fetal y, además, visualizar el funcionamiento normal, mediante el uso del modo M (18), el Doppler pulsado, el Doppler continuo y/o el Doppler a color (19), calculando las velocidades del flujo sanguíneo a través de las distintas cavidades cardíacas, y estableciendo de esta manera el gasto cardíaco.

Está indicado en casos en los que se detecten anormalidades mediante las ecografías anteriormente descritas, o en los que haya sospecha de ellas; en los que exista historia familiar de anormalidades cardíacas únicas, o asociadas a síndromes, o de síndromes genéticos que se puedan asociar a anormalidades cardíacas. También está indicado en los casos de exposición a cardioteratógenos como el litio, la difenilhidantoina, el alcohol, etc.

En casos de arritmias cardíacas fetales, es de vital importancia descartar anormalidades del corazón mediante la ecocardiografía fetal.

#### Doppler fetal:

La evaluación de la velocimetría Doppler en el feto comenzó desde mediados de la década del setenta. Los primeros intentos de mediciones del flujo volumétrico, fueron desalentadores debido a que era bastante dificil corregir el ángulo con que se incidía del vaso sanguíneo, y era también complicado establecer con exactitud el diámetro de éstos. Después de los primeros intentos, fueron descritas algunas maneras de obviar el problema del ángulo, y del tamaño del vaso. De éstas, la más utilizada es la relación sístole/diástole (S/D) o A/B, la cual nos permite en cierta forma evaluar el grado de vasodilatación o vasoconstricción de una arteria determinada o de un lecho arterial. Sabiendo que el feto

responde ante la hipoxia produciendo vasodilatación a nivel coronario, adrenal y cerebral, y vasoconstricción en los otros órganos y tejidos, es posible evaluar la vasoconstricción o la vasodilatación en ellos y tener estimaciones del grado de hipoxia, las cuales podrían contribuir a las decisiones que se tomen en el período perinatal. La arteria más estudiada es la umbilical, en la que en condiciones normales, en el último trimestre, es normal encontrar una relación S/D menor de 3; en caso de ser mayor o en caso extremo de encontrarse ausencia de flujo en diástole en esta arteria, esto estaria reflejando una resistencia placentaria aumentada, la cual se puede asociar con hipoxia fetal. Otra arteria que estamos estudiando es la cerebral media fetal. En casos normales, se encuentra un componente diastólico pobre (contrario a lo que sucede en arteria umbilical), haciendo que esta relación sea normalmente mayor de 3. En casos de hipoxia fetal ya mencionamos que puede haber una vasodilatación cerebral, la que se refleja en un aumento del flujo diastólico a través de esta arteria y en una disminución de la relación S/D por debajo de 3.

El uso clínico de estas evaluaciones todavía no está lo suficientemente establecido, pero ya en algunos países su empleo rutinario es un hecho.

## Alfafetoproteina:

La asociación entre alfafetoproteína elevada en líquido amniótico y defectos del cierre del tubo neural, como la anencefalia y la espina bifida (término que incluye al meningocele, mielomeningocele, y las raquisquisis) fue descrita por Brock en el Reino Unido en 1972 (20). Posteriormente un estudio en Colaboración con el Reino Unido (21) confirmó la asociación entre valores elevados en suero materno y estos defectos.

Se ha recomendado su medición rutinaria entre las semanas 15 y 20 de gestación y se debe seguir un protocolo establecido en los casos en que se encuentren valores por encima de 2.5 múltiplos de la mediana para la edad gestacional (22), pues los valores altos, no son diagnósticos, sino que sugieren la posibilidad de anormalidad (23). Por lo anterior, es importante en caso de encontrarse valores altos, hacer una amniocentesis para establecer mediciones de alfafetoproteína y de acetilcolinesterasa (24) en líquido amniótico.

Los valores bajos de alfafetoproteína también se han asociado con algunas anormalidades, como las trisomías autosómicas, especialmente el síndrome de Down (2, 25). En estos casos se ha establecido la manera de recalcular el riesgo inherente a la edad materna, combinándolo con el resultado de alfafetoproteína en mujeres menores de 35 años. En caso de que el riesgo recalculado para estas mujeres sea mayor

de 1 en 275 se recomienda una amniocentesis para establecer cariotipo fetal.

Los valores altos y bajos de alfafetoproteína, que no se han explicado después de hacer el análisis anterior, se han encontrado asociados a embarazos con un riesgo especial de abortos, mortinatos y muertes perinatales, lo que hace que esta prueba permita detectar un grupo selecto de embarazos de alto riesgo, que previamente no se conocían,

#### ADN Recombinante:

La tecnología del ADN recombinante ofrece muchas posibilidades para el diagnóstico prenatal, pues entre 2.5 y 4% de los recién nacidos tienen problemas debido a un componente genético. En muchas enfermedades genéticas severas, el defecto específico a nivel molecular no es conocido, pero desde hace varios años se está trabajando en el desarrollo de mapas (intentos de ubicar fragmentos o genes a un cromosoma particular) de ligamento de fragmentos clonados de ADN, que demuestran fragmentos de restricción polimórfica ligados a algunas enfermedades (27), lo cual va a permitir el diagnóstico prenatal de fetos afectados, aún sin conocerse la etiología de la condición, aunque lógicamente después de encontrar el ligamento, se buscaria en forma más fácil el defecto a nivel molecular.

Cada célula diploide humana contiene 12 pg de ADN en el núcleo, lo cual representa 6.000 millones de kilobases. Alrededor de 5-10% de este ADN consta de secuencias cortas repetidas millones de veces, las que parecen codificar genes, y de las que se desconoce su función. Una segunda clase de secuencias se compone de genes que se repiten hasta 10.000 veces, como son los genes de las histonas y los genes del ARN ribosomal. El restante ABN (aproximadamente el 60%), corresponde a secuencias de copia simple o única; estas secuencias incluyen los genes clásicos que codifican para enzimas, proteínas estructurales, y otros polipéptidos. En el humano existe suficiente ADN de copia simple, como para codificar más de un millón de proteinas distintas; sin embargo se acepta en la actualidad que el número de genes que codifican proteínas, está entre 50,000 y 150.000; al resto probablemente tiene funciones regulatorias v estructurales

El análisis del ADN en el laboratorio, depende casi exclusivamente de dos desarrollos tecnológicos que se dicron en la década del setenta.

El primero de ellos es el descubrimiento de unas enzimas bacterianas conocidas como endonucleasas restrictivas, que en condiciones normales, le sirven a las bacterias para destruir el ADN invasor proveniente de bacteriófagos o de otras bacterias. Estas enzimas funcionan reconociendo secuencias específicas de ADN, que normalmente varían entre 4 y 6 nucleótidos, y que son palindrómicas, o sea que la secuencia en una cadena del ADN es una imagen en espejo de la otra. Si el ADN humano es puesto en contacto con una de estas enzimas de restricción, será cortado solamente donde ocurra la secuencia de reconocimiento y en ninguna otra parte. Este ADN se pude hacer migrar en un gel de agarosa por medio de una electrofóresis, del cátodo al ánodo y ocurrirá una separación de acuerdo con el tamaño de los fragmentos.

El segundo de estos avances, fue el desarrollo del método de transferencia del ADN que se encontraba en el gel de agarosa, previamente sometido a la electrofóresis, hacia una membrana de nitrocelulosa. Este método se conoce como Southern Blott, y fue desarrollado por Southern en 1975 (28).

A este ADN transferido a la membrana de nitrocelulosa, se le puede agregar una sonda marcada (con fósforo 32, o con fosfatasas alcalinas o con avidina), complementaria a una secuencia que se intente estudiar. Se incuba en las condiciones apropiadas y luego se pone en contacto con una película radiográfica por 72 horas, a menos de 70° centigrados; luego se revela la placa radiográfica y se observa si hay una mancha específica que corresponda a la sonda radioactiva hibridizada, y se observa en que posición quedo la mancha, lo que nos da una idea de si se hibridizó al fragmento normal, o a uno más grande, o más pequeño, o si la endonucleasa. restrictiva produjo más fragmentos, o menos fragmentos, por haber o no haber fragmentado el ADN en sitios fuera de lo normal, o por no haberlo fragmentado en donde la correspondía hacerlo.

La primera descripción de un diagnóstico prenatal, usando esta tecnología, fue hecha por Kan en 1976 (29) en un caso de Alfatalasemia. Después de esto, innumerables condiciones genéticas se han detectado, incluso aquellas que se manifiestan en la edad adulta, como la \*Gorea de Huntington (30), algunas formas de la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, la neurofibromatosis, etc., se están diagnosticando a nivel prenatal. Los avances que va se están dando en este campo, tienden a mejorar y hacer más sencillo el diagnóstico. Indudablemente, el que más ha impactado en los últimos años, es el del desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction o PCR), que ha permitido amplificar fragmentos de ADN e genes millones de veces. Esto ha permitido simplificar los procedimientos y ha reducido la necesidad de usar las enzimas restrictivas, la electrofóresis y el Southerna blott en muchas ocasiones. La reacción en cadena de la

polimerasa ha sido usada en conjunto con otra técnica llamada "dot blott" (31), lo que podría traducirse como "manchado en punto". En ésta el ADN total es transferido al papel de nitrocelulosa y la sonda marcada es puesta en contacto con este ADN. La presencia o ausencia del gen, será indicada por la presencia o ausencia de hibridización del ADN en el papel filtro.

El uso de oligonucleótidos, o sea de secuencias cortas de ADN (2º nucleótidos aproximadamente) como sondas da hibridización, ha permitido una mejor resolución para la técnica del "dot blott", debido a que el cambio de una sola base en la secuencia del oligonucleótido, permite detectar cambios de una sola base, como los que pueden ocurrir en mutaciones puntuales de muchas enfermedades hereditarias.

#### **AUTOPSIA FETAL**

Es de suprema importancia el que se haga el examen postmortem de todos los fetos, a menos que la causa de muerte fetal sea demasiado obvia. También es de gran importancia para confirmar el diagnóstico prenatal, y para detectar otras anormalidades no sospechadas. Esto contribuye a aumentar la capacidad diagnóstica, al servir de control de calidad para los diagnósticos establecidos. Y lo que es más importante: permitirá establecer un diagnóstico genético adecuado y de esta manera la pareja podrá ser informada adecuadamente sobre su futuro reproductivo, y sobre el riesgo de recurrencia de la condición encontrada.

Si no es posible recoger el feto el mismo día, éste se puede dejar refrigerando. No es necesario conservar el feto en solución salina, ya que el mismo no se secará en la misma forma en que un tejido pequeño lo hace; además la autólisis se verá incrementada aun refrigerado en solución salina, pues la tasa de enfriamiento del tejido será menor.

La fijación previa del feto no debe hacerse, a menos que sea hecha por una persona experta; de lo contrario esto sólo dificultará el examen, y hará muy dificil la evaluación de deformidades.

Lo primero que se debe hacer es un examen externo detallado, que incluye medidas completas de los perímetros; medidas craneofaciales, así como de las extremidades. Luego, en los casos necesarios se deben tomar fotografías y xerorradiografías, que permitan una evaluación completa del tejido esquelético.

Después de esto se debe tomar una muestra de sangre del cordón y otra por punción cardíaca, para estudios de cariotipo.

Se procede al examen anatómico interno, previa fijación adecuada al menos por 10 días. En fetos de menos de

24 semanas nosotros hacemos cortes transversales con un cuchillo eléctrico, y en los mayores de 24 semanas, hacemos la técnica de Rokitansky o incisión en "V". Cada órgano se examina con especial detalle, externa e internamente; se tema su peso y se dejan fragmentos en formaldehído al 10%, por si existe en el futuro la necesidad de extracción de ADN de estos órganos, o de estudios histológicos.

Se ordenan estudios de este tipo en algunos casos, pero se debe tener en cuenta siempre que es diferente el tejido fetal a través de las distintas fases de crecimiento, y esto puede traer más problemas que beneficios.

En general, el diagnóstico genético se puede decir que se hace sin ayuda del estudio histológico, y sólo en pocos casos éste será de ayuda. En donde sí puede tener una marcada importancia, es en los casos de abortos espontáneos, con anatomía normal (32).

La evaluación placentaria debe incluir el peso, la inspección del origen del cordón, la medida de su longitud, y contar el número de vasos. Examinar las membranas, los cotiledones, y en algunos casos tomar muestras para estudio histológico.

# ASPECTOS FUTUROS DEL DIAGNOSTICO PRENATAL

Alslamiento de células fetales en sangre materna:

El hallazgo de células fetales en la circulación materna ha sido objeto de numerosas investigaciones por muchos años (33, 34). Aunque se han detectado células trafablásticas en la circulación uterina y en al parénquima pulmonar materno, su presencia en la sangre periférica materna ha sido debatida, principalmente debido a la ausencia de técnicas eficientes para el aislamiento de estas células.

En el reciente VIII Congreso Internacional de Genética Humana realizado en el mes de Octubre de 1991, en la ciudad de Washington D.C., U.S.A., se informaron técnicas para aislar estas células mediante el uso de anticuerpos monoclonales de alta especificidad y afinidad contra las células humanas del sincitiotrofoblasto (35).

Esto, obviamente, abre la posibilidad de aislar células fetales desde finales del primer trimestre del embarazo en la sangre materna. Sorpresivamente se han detectado algunas células fetales que persisten en la circulación materna, hasta varios años después del embarazo, lo que ha hecho necesario tratar de aislar células con una sobrevida corta, para evitar que se aislen células de ambarazos anteriores. Una vez aisladas, será posible amplificar secuencias de ADN, mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa. También será

posible detectar casos de aneuploidias cromosómicas como las trisomías 13, 18 y 21, utilizando las técnicas de hibridización in situ, con sondas específicas para segmentos grandes de cromosomas; estas sondas son fluorescentes y por eso la técnica se conoce como "FISH" (Fluorescence In Situ Hybridization).

Cuando la aplicación clínica de este procedimiento exista, muy seguramente va a desaparecer la necesidad de procedimientos invasivos, como la amniocentesis y la biopsia de vellosidades coriales.

## Genética de Preimplantación:

En la actualidad mediante la biopsia de cuerpo polar del embrión de 8 células, o del blastómero, antes de que ocurra la implantación, se está realizando diagnóstico genético de algunas enfermedades de origen monogénico; es posible amplificar la secuencia de un gen conocido que se desee estudiar, mediante la reacción en cadena de la polimerasa. En el ya citado Congreso Internacional de Genética, Yuri Verlinsky del Hospital Masónico de Chicago, U.S.A., describió el éxito de esta técnica en el diagnóstico preimplantación de Hemofilia A y de Fibrosis Quística. La expansión de esta técnica será limitada porque, obviamente, depende de que la fertilización se dé in vitro.

Una de las posibles indicaciones que se presenten en un futuro, será la necesidad de un tratamiento fetal temprano, antes de que se produzcan daños irreparables en la organogénesis. (36).

### TERAPIA FETAL

El objetivo final del diagnóstico prenatal, será el de tener un diagnóstico etiológico para establecer una terapia racional (36). La terapia fetal puede dividirse en cuatro grandes grupos:

1. Preventiva: Como ejemplo de terapia preventiva tenemos el caso de los defectos del tubo neural. En estos casos, se ha intentado suplementar a las madres con historia previa de hijos afectados, con ácido fólico periconcepcional hasta la semana 8 de gestación. Algunos estudios han demostrado disminución del riesgo de recurrencia del 3% a menos del 1%; sin embargo, otros estudios no han podido comprobar estos hallazgos. Otro ejemplo de esto, ha sido el uso de dietas libres de galactosa (37), o de fenilalanina en madres que pueden tener hijos galactosémicos o en las fenilcetonúricas, a las que se les liberó la dieta en la adolescencia. También ha habido reportes de casos de hiperplasia suprarrenal congénita en fetos femeninos, en las

que se administró dexametasona a la madre desde la semana 7a. del embarazo, y se evitó que estos fetos se masculinizaran (38).

- Terapia farmacológica: ha sido más eficaz, indudablemente, en el manejo de arritmias supraventriculares fetales, logrando mejorías notorias y completas, administrando drogas como la digoxina a la madra. También lo ha sido en el manejo del hipotiroidismo fetal, administrando levotiroxina intramniótica (39).
- 3. Cirugía fetal: Se han realizado varias derivaciones de hidrocefalias y de vejigas fetales obstruidas por valvas posteriores, con relativo éxito. También se ha corregido, a la semana 22 de gestación, una hernia diafragmática con protrusión de contenido intestinal a tórax que producía hipoplasia pulmonar. El útero se volvió a cerrar y nació un feto prematuro a la semana 33, el que sobrevivió en buenas condiciones (40).
- 4. Terapia genética: Se han corregido ya algunas enfermedades hereditarias de depósito. La primera exitosa reportada en 1990, consistió en trasplantar células pluripotenciales de un aborto normal a un feto, que ya se sabía que había heredado la enfermedad de Hurler (41). El feto nació y se encuentra en buenas condiciones, sin manifestaciones de la enfermedad.

También se ha curado, al menos temporalmente, a un niño que padecía una inmunodeficiencia severa combinada, debido a la deficiencia del gen de la adenindeaminasa. Este gen fue introducido dentro de un retrovirus y luego expuesto a las células de la médula ósea del paciente, las que fueron infectadas por el retrovirus y empezaron a expresar el gen, curando la enfermedad, al menos hasta cuando sobrevivan las células (42).

Obviamente, existe una serie considerable de enfermedades que se caracterizan por un daño morfológico temprano, que deberán corregirse desde el punto de vista genético, antes de que ocurran períodos críticos del desarrollo (43). En este tipo de enfermedades se deberán emplear mecanismo similares a los usados en la tecnología para los animales transgénicos, en los que se inyectan los genes a los pronúcleos del óvulo fertilizado, y de esta manera se logra producir ratones transgénicos gigantes, a los que se les introdujo el gen de la hormona del crecimiento humano, y cabras que producen leche rica en factor IX de la coagulación humana. Esta misma tecnología se podrá usar para inyectar genes normales, en embriones que estén en riesgo de padecer debilitantes enfermedades genéticas.

#### ETICA DEL DIAGNOSTICO PRENATAL

Hay cuatro principios éticos muy esenciales en toda práctica clínica: Autonomía, beneficencia, confidencialidad y justicia.

El principio de autonomía está basado en el respeto por el derecho de la mujer o la pareja a conocer el estado de salud del feto en gestación, dado que éste va a tener un profundo efecto en sus vidas.

Hay dos condiciones que se desprenden de este principio de autonomía: libertad de decisión en favor o en contra del diagnóstico prenatal y entendimiento pleno de las implicaciones de éste. Todo médico dedicado al cuidado de mujeres en etapa reproductiva y que estén planeando o planeen un embarazo, tiene la responsabilidad u obligación de dar una información actualizada sobre las posibilidades de diagnóstico prenatal, aun en casos en que no se solicite este tipo de información, cuando se presume ignorancia del paciente, y el médico no acepte por convicción este tipo de diagnóstico. Si el paciente no desea conocer los resultados del examen, debe respetarse su decisión, siempre y cuando no afecte a terceros.

El principio de beneficencia es un principio fundamental en medicina (primum non nocere) y también tiene su aplicación importante al diagnóstico prenatal; los procedimientos utilizados no deben estar orientados a satisfacer primeramente el interés científico, sino, ante todo los intereses del paciente, incluyendo el feto como paciente. Algunos de los procedimientos utilizados como la cordocentesis y la amniocentesis, presentan un riesgo para el feto, el cual debe ser evaluado, estableciendo una clara escala de riesgo-beneficio, al igual que en todas las áreas de la medicina.

La confidencialidad, al igual que cualquiera etra actividad médica, es de vital importancia, y la información no debe ser revelada a terceras partes, o a familiares, salvo que puedan ser afectadas por las implicaciones del diagnóstico.

El principio de justicia le da al médico el derecho de negarse a realizar exámenes innecesarios, evitando así desperdiciar recursos de salud. No hay que complacer el deseo compulsivo de ciertos pacientes, como en el caso de ecografías innecesarias o amniocentesis no indicadas.

Es frecuentemente expresado en los medios de comunicación, especialmente por personal no médico, la poca importancia del diagnóstico prenatal, debido a que el aborto es ilegal. Dichas personas consideran que el único fin del diagnóstico prenatal es descubrir problemas fetales, y así tomar decisiones que lleven al aborto.

Estos conceptos denotan una clara ignorancia frente a este tema, o una manera simplista de ver las cosas. Por medio del diagnóstico prenatal ha sido posible el manejo racional de entidades de desarrollo progresivo, que dejadas al arbitrio de la naturaleza, inevitablemente progresarían a daños irreversibles peores de lo que podrían ser si se diagnosticaran a tiempo, v.g. eritroblastosis fetal, hidronefrosis, hidrocefalia, arritmias fetales, etc.

En casos de anormalidades fetales permite decidir un manejo mas adecuado sobre la via y el momento del parto.

En síntesis, el diagnóstico prenatal ayudado por los avances en la genética y la tecnología modernas, ha contribuido enormemente al manejo racional de las enfermedades fetales, y en buenas manos cumple con los cuatro principios éticos esenciales a toda práctica clínica.

#### REFERENCIAS

- (1) Trujillo Botero Carlos. Etica del Diagnóstico Prenatal (Editorial). Reyista GES Medicina. Vol 4 N. 2 79, 1990.
- (2) Trujillo Botero Carlos. Diagnóstico Prenatal de Anormalidades Gromosómicas. Segundo Congreso de Medicina Fetal. Revista CES Medicina. (En imprenta).
- (3) Elejalde R., de Elejalde MM., Acuña J., and Trujillo C. Prospective study of Amniocantasis Parformad Batwaan Waaka 0 and 16: Its Feasibility, Risks, Complications, and Use in Early Cenetic Prenatal Diagnosis. Am J Med Genet 35; 169-192, 1990.
- (4) Laviña S., Filly R and Golbus M. Ultrasonography for Guidance of Amniocentesis in Genetic Counselling, Clin Genet, 14: 133, 1970.
- (5) MRC Working Party, An Assessment of the Hazards of Amniocentesis, Brit J Obstet Gynecol, 85 (Supplement 2), 1978.
- (é) Trujillo Botero Carlos, El Uso de la Alfafetoproteína (AFP) en el Diagnóstico Prenatal. Revista CES Médicina. Vol. 3 N. 2 p. 115 1980.
- (7) O'Brien JS, Tay-Sachs Disease: From Enzyme to Prevention. Fed. Proc. 32: 191. 1973.

- (8) Gosden CM., Ross A and Eason PJ. Amniotic Fluid Cell Cytology and Cytogenetics. In: Amniotic Fluid and its Clinical Significance. Ed. M. Sandler, Marcel Dekker, New York and Basal 1981.
- (9) Hobbins JG., Mahoney MJ and Goldstein LA. New Method of Intrauterine Evaluation by the Combined Use of Fetoscopy and Ultrasound. Am J Obstet Gynecol. 118: 1069, 1074.
- (10) Rodeck GH and Gampbell S. Umbilical Cord Insertion as a Source of Pure Fetal Blood for Prenatal Diagnosis. Lancet 1: 1244, 1070.
- (11) Rodeck GH., Eady RAJ, and Gosden CM. Prenatal Diagnosis of Epidermolysis Bullosa Letalis. Lancat. I: 949, 1980.
- (12) Redeck CH., Patrick AD., Pemberey ME et al. Fetal Liver Biopsy for Prenatal Diagnosis of Ornithine Carbamyl Transferase Deficiency. Lancet. I: 207. 1082.
- (13) Rodeck GH., Morsman JM, Gosde CM., et al. Development of an Improved Technique for First Trimaster Microsampling of Cherion. Brit J Obstet Cynaecolo. 90: 1113, 1983.
- (14) Kazy Z., Rozovsky IS and Bakharev VA. Chorion Biopsy in Early Pragnancy: A Method of Early Prenatal Diagnosis for Inherited Disorders. Prenatal Diagnosis 2: 39, 1982.

- (15) Simoni G, Brambati B, Danesino C, at al. Efficient Direct Chromosome Analyses and Enzyme Determinations From Chorionic Villi Samples in the First Trimester of Pregnancy. Hum Genet. 63: 349, 1083.
- (16) Mibashan RS, Rodeck CH Thumpston JK, et al. Plasma Assay of Fetal Factors VIII and IX for Prenatal Biagnosis of Haemophilia. Lancet I: 1309, 1979.
- (17) Daffos F, Capella-Paylosky M and Forestier F. A New Procedure For Pure Fetal Blood Sampling In Utero. Prenatal Diagnosis. 3: 271, 1683.
- (18) Trujillo Botero Carlos. Ecocardiografía Fetal Bidimensional de Tiempo Real y Modo M. Revista CES Medicina, Yol 3 N. 1, p37, 1989.
- (19) Martinez Urrea Humberto, Ecocardiografía Fetal Doppler y Color, Revista CES Medicina, Vol. 3 N. 1 p37, 1989.
- (20) Brock DJ and Sutcliffe RG. Alphafetoprotein in the Antenatal Diagnosis of Anencephaly and Spina Bifida. Lancet 2: 197. 1972.
- (21) Report of U.K. Collaborative Study on Alphafetoprotein in Relation to Neural Tube Defects. Maternal Serum Alpha-Fatoprotein Measurment in Antenatal Screening for Anencephaly and Spina Bifida in Early Pregnancy. Lancet 1; 1323, 1977.
- (22) Trujillo Botero Carlos. El Uso de la Alfafetoproteína (AFP) en el Diagnóstico Prenatal. Revista GES Medicina. Vol. 3 N. 2 p-115. 1080.
- (23) Milunsky A., Jick SS, Brucell CL, et al. Predictive Values, Relative Risks and Overall Benefits of High and Low Maternal Serum alphafetoprotein Screening in Singleton Pregnancies; New Epidemiologic Data. Am J Obstet Gynecol. August 1989.
- (24) Elejalde BR, Peck G and de Elejalde MM. Determination of Cholinesterase and Accylcholinesterase in Amniotic Fluid. Clinical Genetics, 29: 190, 1986.
- (25) Merketz IR, Nitowsky HM, Magri JM, et al. The Association Between Low Maternal Alphafetoprotein and Fetal Chromosomal Abnormalities. Am J Obst and Gynecol. Vol 148: 886, 1984.
- (26) Weatherall DJ The New Genetics and Clinical Practice. Nuffield Preyinglal Hespital Trust, 1993.
- (27) Botstein D., White RL, Skelnick M and Davis RW. Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphism. AM J Hum Genet. 32: 314, 1986.
- (28) Southern EM. Deletion of Specific Sequences Among DNA Fragments Separated by Gel Electropheresis J Mel Biel. 96; 503, 1975.
- (29) Kan YW, Golbus MS and Dozy AM. Prenatal Diagnosis of Alphathalassemia: Clinical Application of Molecular Hybridization. New England J Med. 295; 1195, 1979.

- (30) Gusella JF, Tamzo R, Anderson MA, et al. Linkage Analysis of Huntington's Disease Using RFLPs. International Workshop on Human Gene Mapping YII (Los Angeles). 1983.
- (51) Kafatos FC, Jones CW and Efstratiadis A. Betermination of Nucleic Acid Sequence Homologies by a Dot Hibridization Procedure. Nucl Acids Res. 7: 1541, 1983.
- (32) Keeling JW. Postmortem Examination of the Fetus. In: Prenatal Diagnosis. Proceedings of the Eleventh Study Group of the Royal College of Obstetricians an Gynaecologist, 1984.
- (33) Bouglas GW, Thomas L, Carr M, et al. Trophoblast in the Girculating Blood During Pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1050; 78: 060-060.
- (34) Attwood HD, Park WW: Embolism to the Lungs by Trophoblast Br J Obstat Gynacal 1961: 68: 611-617.
- (35) Muller UW, Hawes GS, Wright AE, et al. Isolation of Fetal Trophoblast Calls From Peripheral Blood of Pregnant Women. The Lancet 1990, 336: 197-200.
- (36) Simpson JL, Elias S, Golbus M. Society of Parinatal Obstatricians. 11th Annual Meeting, San Francisco, California. January 29, 1991.
- (37) Yalle D. Genetic Disease: an Overwiew of Current Therapy. Hospital Practice. p. 167. July 15, 1987.
- (38) Gaskey GT. Genetic Therapy: Somatic Gene Transplants. Haspital Practice. p. 181. August 15, 1987.
- (39) Eyans MI, Chrousos GP, Mann DL, et al. Pharmacologic Suppression of the Fetal Adrenal Gland in Utero. JAMA 253: 1015, 1085.
- (40) Klein AM, Kolzman IR, Austin EM. Fetal Tachycardia Prior to the Development of Hydrops. Attempted Pharmacological Cardioversion: Case Report. Am J Obstet Gynecol. 134: 347. 1979.
- (41) Harrison MR, Adzick NS, Longates MT, et al. Successful Repair in Utero of a Diaphragmatic Hernia After Removal of Herniated Viscera From Left Thorax. N Eng J Med. 322: 1582, 1990.
- (42) Palmiter RD and Brinster RL. Gene Transplants Into Germ Gells, Hospital Practice, p. 77. September 15, 1987
- (48) Trujillo Botero Carlos. Terapia Médica Fetal. En: Resúmenes-Segundo Congreso de Medicina Fetal. Revista CES Medicina. Vol. 5(2). p. 161. 1991.