

REPORTE DE CASO

Amniocentesis para diagnóstico prenatal: 6 años de experiencia en Paraguay

Amniocentesis for prenatal diagnosis: 6 years of experience in Paraguay

Ascurra M^I, Rodríguez S^I, Ayala A^I, Bataglia R^{II}, Atobe O^{III}

^IDepartamento de Genética, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción

^{II}Centro de Ecografía y Diagnóstico Prenatal (CEDIP), Asunción, Paraguay

^{III}Centro de Estudios Especializados y Ultrasonográficos (CEEU), Asunción, Paraguay

RESUMEN

El diagnóstico prenatal supone la suma de todas aquellas acciones diagnósticas encaminadas a detectar alteraciones congénitas en el feto. La obtención de líquido amniótico, o amniocentesis, es la técnica más comúnmente utilizada en diagnóstico prenatal y una de sus finalidades es la detección de alteraciones cromosómicas en un feto de riesgo, ya sea por edad materna o por la presencia de marcadores ecográficos. Se realiza un estudio retrospectivo de 300 fichas de pacientes que concurren al Departamento de Genética del IICS y al Primer Centro de Genética Humana para su análisis, en un periodo de 6 años. En los 300 casos se analizaron los datos de frecuencia de las diferentes cromosopatías y de éxito del cultivo. En 132 casos, se analizaron la edad materna media, la edad gestacional media, indicaciones del estudio citogenético prenatal, hallazgos ecográficos previos a la realización del mismo y evolución posterior de la gestación. Las muestras de líquido amniótico se obtuvieron por punción transabdominal en el 100% de los casos, bajo pantalla ecográfica y con total asepsia. Las células de líquido amniótico se cultivaron en AmnioMax Medium en estufa húmeda a 37°C y atmósfera de CO₂ al 5% durante 10 a 12 días. Los cromosomas se analizaron con técnicas de Bandas G y C, entregándose el resultado dentro de los 15 días de extraída la muestra. De los 300 cultivos realizados, se obtuvo un cariotipo fetal en el 98,7% de las muestras y en el 4% de éstas se observó una anomalía cromosómica. La edad materna media fue 37 años (rango 21 a 45 años) y la edad gestacional media, según la fecha de la última menstruación, fue 16 semanas (rango 14 a 33 semanas). Las indicaciones más frecuentes del estudio fueron la edad materna mayor a 35 años, seguida de hallazgos ecográficos anormales o un estudio alterado de riesgo fetal en sangre materna. Aún cuando el número de muestras analizadas en este estudio no es muy elevado, los datos obtenidos concuerdan con lo publicado anteriormente por otros autores.

Palabras claves: Diagnóstico prenatal, Amniocentesis, Anomalías cromosómicas.

ABSTRACT

Prenatal diagnosis includes all diagnosis actions used to detect congenital alterations in the fetus. The obtainment of amniotic liquid or amniocentesis is the most common technique used in prenatal diagnosis. One of its aims is to detect chromosomal alterations in a fetus at risk because of the mother age or the presence of echographic markers. In this study, 300 medical records of patients who attended the Department of Genetics of the IICS and the First Center of Human Genetics in a period of 6 years were analyzed retrospectively. In the 300 cases, the data of frequency of the different chromosomopathies and culture success were analyzed. In 132 cases, mean mother age,

*Autor Correspondiente: **Dra. Marta Ascurra**, Departamento de Genética
Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Río de la Plata y Lagerenza. Asunción-Paraguay
Email: genetica@iics.una.py

mean gestational age, indications of prenatal cytogenetic study, echographic findings before the study and posterior evaluation of pregnancy were also studied. All samples of amniotic liquid were obtained by transabdominal puncture, under echographic screen and total asepsis. The cells of amniotic liquid were cultured in AmnioMax medium in a wet oven at 37°C and 5% CO₂ atmosphere during 10 to 12 days. Chromosomes were then analyzed by techniques of G and C bandings and results were delivered within 15 days of sample collection. A fetal karyotype was obtained in 98.7% of the cultures and a chromosomal anomaly was found in 4.0% of these samples. The mean maternal age was 37 years (range: 21 to 45 years) and the mean gestational age, according to the date of the last menstruation, was 16 weeks (range 14 to 33 weeks). The most frequent indication was maternal age higher than 35 years followed by abnormal echographic findings or an altered study of fetal risk made in maternal blood. Though the number of samples analyzed was not very high, these data agree with previous reports of other authors.

Keywords: Prenatal diagnosis, Amniocentesis, Chromosomal anomalies

INTRODUCCION

Hace más de 31 años que Steele y Breg demostraron la viabilidad de las células fetales para entrar en división, dado que solo las células fetales en mitosis presentan el material hereditario en forma de cromosomas permitiendo la realización del cariotipo fetal (1). Desde entonces, la amniocentesis como técnica de diagnóstico del cariotipo fetal se ha extendido debido a sus buenos resultados, sencillez y relativa seguridad (2, 3). Tradicionalmente se realiza entre las semanas 16 y 18 pero la existencia de equipos ultrasonográficos más sofisticados y la mejora de las técnicas de cultivo citogenético, han permitido adelantar cada vez más la edad gestacional en la que se realiza la toma de muestra (amniocentesis precoz y ultraprecoz) (4). Los motivos por los que se lleva a cabo el estudio son edad materna avanzada, padres portadores de aberraciones cromosómicas estructurales equilibradas, hijo anterior con cromosomopatía, exposición a agentes químicos, físicos o biológicos o haber sido identificadas después de la detección de alteraciones morfológicas durante el examen ultrasonográfico (1). La mayor parte de las veces, el diagnóstico prenatal está relacionado con la búsqueda de anomalías cromosómicas, las cuales se presentan en el 5-7% de las gestaciones del primer trimestre. Luego, este porcentaje desciende a un 1-1,5% en el segundo trimestre. En los nacidos vivos, la frecuencia de las anomalías cromosómicas es del 0,5 a 0,6% (5) siendo la prevalencia una por cada 500 recién nacidos.

MATERIALES Y METODOS

Entre los años 1994 y 2000, se evaluaron 300 muestras de líquido amniótico en el Departamento de Genética del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud y el Primer Centro de Genética Humana. Todas se obtuvieron por punción transabdominal. Antes de cada procedimiento, se explicó a las pacientes las ventajas y limitaciones de la prueba y se precisó el tiempo medio de obtención del resultado en función de la técnica. Se tomaron los datos personales y ecográficos y se consignaron en una ficha. Todas las amniocentesis se practicaron siguiendo la sistemática convencional, con un estudio ecográfico previo a la punción, comprobándose la viabilidad fetal, la concordancia entre la edad gestacional según la fecha de la última menstruación y la obtenida ecográficamente de la medición de la longitud craneo caudal, el número de fetos, la localización placentaria y la cantidad de líquido amniótico presente. Bajo control ecográfico directo y continuo, en condiciones estériles y con anestesia local cuando la paciente lo solicitaba, se procedió a la extracción del líquido según la técnica de punción lumbar del calibre 22, extrayéndose, mediante aspiración, 1 ml de líquido por cada semana de gestación en los casos que tenían menos de 16 semanas y 20 ml para los de más de 16 semanas o pacientes portadoras de polihidramnios. Los amniocitos se cultivaron en un principio en frascos y

luego se utilizó la técnica de cultivo en placas de Petri, llevándose a cabo la cosecha de las células cuando la actividad mitótica era evidente, lo cual puede observarse en un tiempo medio de cultivo de 8 a 12 días. La técnica de análisis que se usó fue la coloración convencional con Giemsa y Bandas G y C (6).

RESULTADOS

El 100% de las muestras se obtuvo por punción transabdominal. De los 300 líquidos amnióticos, se obtuvo un diagnóstico citogenético en el 98,7%. De los 284 cariotipos normales obtenidos, el 55,6% era femenino y el 45,4% masculino. En las 296 muestras con diagnóstico citogenético se tuvo discrepancia entre el resultado y el producto fetal en un caso 0,3%. El seguimiento de todos los casos de anomalías no fue posible pero se sabe de la interrupción voluntaria en los casos de trisomía 18, 13, triploidía y en un caso de monosomía para el cromosoma X. El embarazo llegó a termino en el caso de anomalía por la presencia de un marcador, en una monosomía para el cromosoma X y en una de las trisomías del cromosoma 21 (Tabla 1). Se detectaron anomalías cromosómicas en el 4,0% (Figura 1). El 59,8% de las madres tenía entre 36 y 40 años, siendo la edad materna media de 37 años con un rango entre (21 y 45 años) (Figura 2). El 80% tenía 16 semanas de gestación según la fecha de la última menstruación, con un rango que iba de 14 a 33 semanas. La indicación más frecuente del estudio fue la edad materna mayor a 35 años en 74,2% de los casos, seguida de hallazgos ecográficos anormales en un 15,2%, estudio alterado de riesgo fetal en sangre materna en un 8,3% y por un hijo previo con anomalía cromosómica en un 2,3%. En los casos en que hubo más de una indicación, se consideró solo la más importante desde el punto de vista clínico, como en el caso de una madre cuya indicación decía añosidad, muerte perinatal anterior sin datos y estudio alterado en sangre materna, siendo considerada solo la última. El estudio cromosómico arrojó un resultado normal, naciendo una niña que falleció a los 3 días, a causa de una probable metabolopatía no identificada. También se pudo cultivar un material de líquido ascítico y uno de higroma quístico que se procesaron según la técnica estándar utilizada para sangre periférica, obteniéndose el cariotipo en ambos casos dentro de las 72 hs. de iniciado el cultivo. De los 132 estudios realizados por presentar una o más anomalías ecográficas, el 60% presentó una anomalía cromosómica. En la Tabla 2 se describen los hallazgos ecográficos. En el 84,8% no se describió anomalía durante el estudio ecográfico previo a la punción.

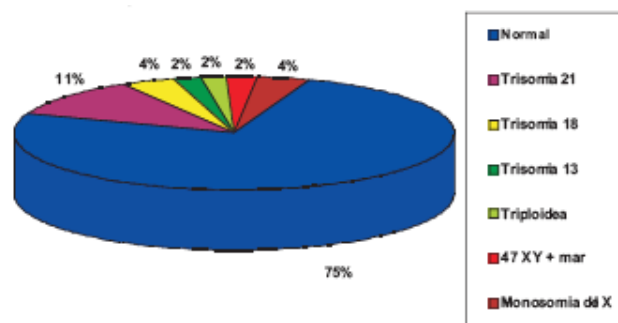


Figura 1. Anomalías cromosómicas detectadas

Tabla 1. Resultados citogenéticos

Diagnósticos obtenidos	98,7% (296/300)
Cariotipos femeninos normales	55,6% (158/296)
Cariotipos masculinos normales	45,4% (126/296)
Anomalías cromosómicas detectadas	4,0% (12/196)
Interrupción voluntaria del embarazo	57,1% (4/7)

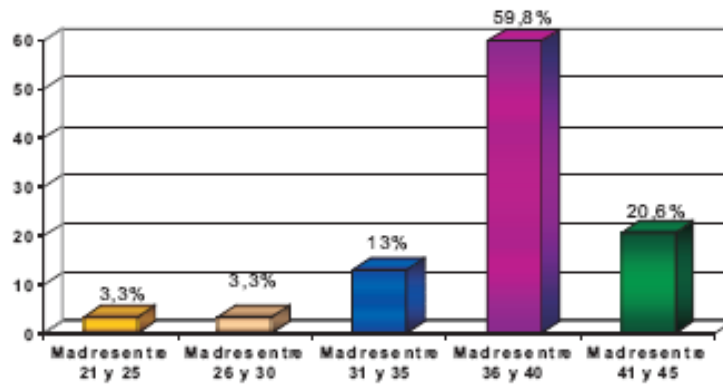


Figura 2. Edad materna en el momento de la toma de muestra

Tabla 2. Hallazgos ecográficos en presencia o no de una cromosomopatía

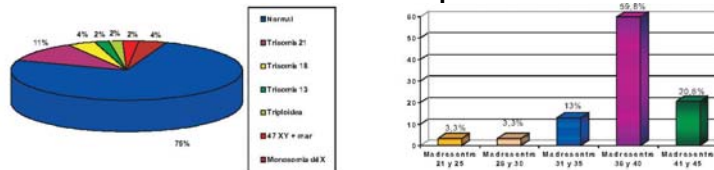


Tabla 1. Resultados citogenéticos

Diagnósticos obtenidos	98,7% (296/300)
Cariotipos femeninos normales	55,6% (158/296)
Cariotipos masculinos normales	45,4% (126/296)
Anomalías cromosómicas detectadas	4,0% (12/196)
Interrupción voluntaria del embarazo	57,1% (4/7)

Tabla Hallazgos ecográficos en presencia o no de una cromosomopatía

Hallazgos Ecográficos	Cariotipo
Quistes de plexus coroideos	47,XXX/21
Edema de la nuca	46,XX
Varicocele bilateral, testículos pequeños, retraso del crecimiento	45,XXX
Edema de la nuca, retraso del crecimiento	46,XX
Retardo del crecimiento, malformaciones cardíacas, arteria umbilical única, masa de ganancia	47,XX,+18
Cardiopatía, pliegue nasal aumentado	47,XY,+21
Retardo del crecimiento	46,XX
Quistes de plexus coroideos	46,XY
Hipoplasia nasal, posición anormal de los brazos de los cromosomas	47,XY,+13
Edema de la nuca	46,XX
Región genital	46,XX
Retardo del crecimiento	47,XX,+21
Displasia renal bilateral	46,XY
Región genital	46,XX
Cardiopatía	47,XY,+21
Edema de la nuca	46,XX
Edema de la nuca	46,XY,+21
Retardo del crecimiento, cardiopatía, masa de ganancia, pie bot.	47,XX,+18
Edema de la nuca	46,XX
Cardiopatías, ausencia de implantación baja, osteostenia	47,XY,+mar

DISCUSION

El Síndrome de Down o trisomía para el cromosoma 21 fue la cromosomopatía más frecuentemente diagnosticada, seguida de la trisomía 18 y la monosomía para el

cromosoma X. Los dos primeros hallazgos se pueden explicar porque estas anomalías se hallan en relación con la edad materna avanzada, cuya frecuencia fue de 74,2% (7). El hecho de que el 60% de los casos con anomalías ecográficas se correspondió con una anomalía cromosómica refuerza la necesidad de realizar una ecografía de alta resolución en todas las gestantes a las 20 semanas de gestación, con el fin de descartar fetos portadores de este tipo de patología (8). La monosomía para el cromosoma X, aún cuando no se halla en relación con la edad materna avanzada, tiene una alta frecuencia de aparición, haciendo necesaria la realización de un cariotipo fetal, en presencia de higroma quístico en un feto del sexo femenino. Las anomalías asociadas aparecen entre el final del primer trimestre de la gestación y el principio del segundo (7). Las muestras de líquido ascítico y de higroma contienen una buena concentración de linfocitos y se pueden utilizar en casos de oligoamnios u otros motivos, posibilitando la realización de un estudio cromosómico fetal rápido y confiable (9). Por último, aún cuando el número de muestras analizadas por nuestro grupo no es muy elevado, los datos obtenidos concuerdan con lo publicado anteriormente por otros autores (10, 11, 12).

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer a todos aquellos profesionales que, si bien no figuran como autores, han hecho posible el inicio, desarrollo e implementación de esta técnica en el país, a través del envío de pacientes y apoyo constante.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. Genética en Medicina. 4ta ed. Barcelona: Masson S.A.; 1996. p. 395-409.
2. Gabriel R, Harika G, Carré-Pigeon F, Quéreux C, Wahl P. Amniocentesis to study the fetal Karyotype before 16 weeks of amenorrhea. Prospective study comparing it with conventional amniocentesis. *J. Gynecol Obstet Biol Reprod.* 1993; 22(2):169-71.
3. Coronado PJ, Esteban R, Rodriguez R, Lautre S, Huertas C, Martinez Ten P, Montalvo J. Estudio de las alteraciones cromosómicas mediante amniocentesis. *Acta Ginecol.* 1995; 4:139-144.
4. Johnson JM, Wilson RD, Winsor EJ, Singer J, Dansereau J, Kalousek DK. The early amniocentesis study: a randomized clinical trial of early amniocentesis versus midtrimester amniocentesis. *Fetal Diagn. Ther.* 1996; 11(2):85-93.
5. Gallo Vallejo M, Carrera Macías JM. Diagnóstico de los Defectos Congénitos. En: Fabre Gonzalez E. (ed.). Manual de asistencia a la Patología Obstétrica. Zaragoza: INO; 1997. p.167.
6. Verma RS, Babu A. Human chromosomes. Manual of basic techniques. New York: Pergamon press, Inc.; 1989. p. 13-50.
7. Font G, Solari M. Marcadores ecográficos de cromosomopatías. *Prog Diag Pren.* 1998; 10-4, 170-175.
8. Gómez MJ, Moreno A, Plaza FJ, Bareiro E, Galindo A, Olaizola I. Diagnóstico prenatal del síndrome de Turner en líquido amniótico: importancia de los marcadores ecográficos. *Prog Diagn Pren.* 1996; 8-1, 31-35.
9. Ruoti AM. Obstetricia y Perinatología. 2da. Ed. EFACIN-EDUNA. 1999. p. 315-350.
10. Plaza J, Moreno A, Gómez MJ. Incidencia de cromosomopatías en 159 fetos diagnosticados ecográficamente de malformación congénita. *Prog Diagn Pren* 1994; 6(6):390-394.
11. Nicolaidis KH, Brizot ML, Patel F, Snijders R. Comparison of chorion villus sampling and early amniocentesis for Karyotyping in 1492 singleton pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 1996; 11: 9-15.
12. Mediano C, Plaja A, Fanan I, Sánchez Duran MA. Mejora en las técnicas de cultivo de amniocitos: nuestra experiencia. *Prog Diagn Pren* 1997; 9(6):345-353.