



Diagnóstico prenatal por amniocentesis. Experiencia clínica y citogenética en 1,500 casos

Patricia Grether-González,* Virginia Cámara-Polanco,** Verónica Ulloa-Avilés,*** Consuelo Salas-Labadía,*** Roberto Almanza-Márquez,**** Samuel Kogan-Frenk,**** Annie Kuttothara****

Nivel de evidencia: II-3

RESUMEN

Antecedentes: en México la amniocentesis genética se practica desde hace 25 años, pero existen escasas publicaciones al respecto.

Objetivo: analizar las características clínicas y citogenéticas en pacientes que tuvieron amniocentesis diagnóstica.

Material y método: se analizaron las características clínicas y los resultados citogenéticos de 1,500 casos consecutivos de amniocentesis genética.

Resultados: se detectaron 68 fetos (4.5%) con cromosomopatía, uno con síndrome de Niemann Pick y otro con mucopolisacaridosis VII. Las anomalías cromosómicas más frecuentes fueron: trisomía 21 (32 casos), trisomía 18 (10 casos), trisomía 13 (6 casos), 45,X (6 casos), 47,XXY (4 casos). La resolución del embarazo se conoce en 474 (32%) pacientes. La pérdida fetal fue de 1% (5 casos). De los 68 casos con cromosomopatía se conoce el desenlace en 45 pacientes, 29 (64%) interrumpieron el embarazo y 16 (35%) continuaron, 6 presentaron aborto espontáneo o muerte perinatal y 10 tuvieron un hijo vivo. En los casos con cariotipo normal o balanceado y ultrasonido normal, se observaron anomalías congénitas en 11 de 419 (2.6%) recién nacidos, de ellos, dos con patología relacionada con trastornos de la regulación epigenética (síndrome de Russell Silver y Angelman).

Conclusiones: la amniocentesis es un método diagnóstico confiable y de bajo riesgo. Los hallazgos citogenéticos son similares a lo descrito en la bibliografía. La mayoría de las pacientes con un feto enfermo decidieron interrumpir el embarazo. El hallazgo de dos casos relacionados con trastornos de la regulación epigenética sugiere que la magnitud de este riesgo aún está por definirse.

Palabras clave: amniocentesis, diagnóstico prenatal, aborto, enfermedad fetal, regulación epigenética.

ABSTRACT

Background: Genetic amniocentesis is performed in México 25 years ago but only few works have been published.

Objective: To analyze clinical and cytogenetic findings in consecutive patients submitted to genetic amniocentesis.

Material and method: An analysis was made of the clinical features, amniocentesis results and pregnancy outcome in 1500 consecutive cases of genetic amniocentesis.

Results: Sixty-eight fetuses with chromosomopathy (4.5%) were detected and two, with an inborn error of metabolism. The most frequent abnormalities were trisomy 21 (32 cases), trisomy 18 (10 cases), trisomy 13 (6 cases), 45,X (6 cases), 47,XXY (4 cases). Pregnancy outcome is known in 474 patients (32%). There were five fetal losses (1%). Of the 68 cases with chromosomopathy, the outcome is known in 45, of which, 29 (64%) decided to have an abortion while 16 (35%) continued the pregnancy, six had a spontaneous abortion or perinatal death and ten had an alive new born. Among fetuses with normal or balanced karyotype and normal ultrasound, 11 out of 419 (2.6%) had congenital anomalies. Two of them had a condition known to be related with epigenetic regulation, (Russell Silver and Angelman syndrome).

Conclusions: Amniocentesis is a reliable and low risk method. Cytogenetic findings in this series are similar to those reported in the literature. Most patients with fetal disease decided to have an abortion. The finding of two patients with a condition related with abnormal epigenetic regulation suggests that the magnitude of this risk remains to be defined.

Key words: amniocentesis, prenatal diagnosis, abortion, fetal disease, epigenetic regulation

RÉSUMÉ

Antécédents: au Mexique, l'amniocentèse génétique se pratique depuis 25 ans, mais il existe peu de publications au respect.

Objectif: faire l'analyse des caractéristiques cliniques et cytogénétiques chez des patientes qui ont eu amniocentèse diagnostique.

Matériel et méthode: on a fait l'analyse des caractéristiques cliniques et des résultats cytogénétiques de 1,500 cas consécutifs d'amniocentèse génétique.

Résultats: on a détecté 68 fœtus (4.5%) avec chromosomopathie, l'un avec syndrome de Niemann Pick et d'autres avec mucopolysaccharidose VII. Les anomalies chromosomiques les plus fréquentes ont été: trisomie 21 (32 cas), trisomie 18 (10 cas), trisomie 13 (6 cas),

45, X (6 cas), 47, XXY (4 cas). La résolution de la grossesse se connaît dans 474 (32%) patientes. La perte fœtale a été de 1% (5 cas). Parmi les 68 cas avec chromosomopathie, on connaît le terme dans 45 patientes, 29 (64%) ont interrompu la grossesse et 16 (35%) ont continué, 6 ont présenté avortement spontané ou mort périnatale et 10 ont eu un enfant vivant. Dans les cas avec caryotype normal ou balancé et ultrason normal, on a observé des anomalies congénitales en 11 de 419 (2.6%) nouveau-nés, parmi ceux-ci, deux avec pathologie liée avec des troubles de la régulation épigénétique (syndrome de Russell Silver et Angelman).

Conclusions: l'amniocentèse est une méthode diagnostique fiable et de bas risque. Les découvertes cytogénétiques sont pareilles à ce qui est rapporté dans la bibliographie. La plupart des patientes avec un fœtus malade a décidé d'interrompre la grossesse. La découverte de deux cas liés avec des troubles de la régulation épigénétique suggère que la magnitude de ce risque reste encore à définir.

Mots-clés: amniocentèse, diagnostic prénatal, avortement, maladie fœtale, régulation épigénétique.

RESUMO

Antecedentes: Em México, a amniocentese genética é praticada faz 25 anos, mas existem escassas publicações ao respeito.

Objetivo: Analisar as características clínica e citogénéticas em pacientes que tiveram amniocentese diagnosticada.

Material e método: Foram analisadas as características e os resultados citogenéticos de 1500 casos consecutivos de amniocenteses genética.

Resultados: Foram detectados 68 fetos (4,5%) com cromossomopatia, um com síndrome de Niemann Pick e outros com mucopolissacaridose VII. As anormalidades cromossômicas mais freqüentes foram: trissomia 21 (32 casos), trissomia 18 (10 casos), trissomia 13 (6 casos), 45, X (6 casos), 47, XXY (4 casos). A resolução da gestação foi de 474 (32%) pacientes. A perda fetal foi de 1% (5 casos). Dos 68 casos com cromossopatia 45 se conheceu o desenlace, 29 (64%) interromperam a gravidez e 15 (35%) continuaram, 6 tiveram aborto espontâneo ou morte perinatal e 10 tiveram um filho vivo. Nos casos com cariótipo normal ou balanceado e ultra-som normal, foram observados anomalias congênitas em 11 de 419 (2,6%) recém nascidos, dois com patologia relacionada com transtornos de regulação epigenética (síndrome de Russel Silver e Angelman).

Conclusões: A amniocentese é um método confiável e de baixo risco. Os citogenéticos encontrados são similar a do descrito na bibliografia. A maioria das pacientes com um feto doente decidiu interromper a gravidez. Dois casos relacionados com transtornos da regulação epigenética que foram encontrados sugere que a magnitude de este risco ainda está por definir.

Palavras-chave: Amniocentese, diagnóstico pré-natal, aborto, doença fetal, regulação epigenética.

La amniocentesis del segundo trimestre sigue siendo la forma más común de diagnóstico prenatal invasivo. Originalmente fue utilizada para el diagnóstico citogenético fetal en mujeres con edad materna avanzada, pero más adelante, dos condiciones hicieron que

su aplicación tuviera mayor difusión: en primer lugar, la aplicación del tamiz prenatal para la detección de riesgo de síndrome de Down y, en segundo lugar, el desarrollo de nuevas tecnologías que han ampliado el espectro de las enfermedades que pueden estudiarse.

En México, la demanda de la amniocentesis se ha incrementado progresivamente, pero a pesar de ello, existen pocas publicaciones que describan los hallazgos genéticos y el desenlace de los embarazos.^{1,2}

El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de 1500 pacientes a quienes se les realizó amniocentesis genética y describir los resultados obtenidos, las fallas, complicaciones, el desenlace de los embarazos y las decisiones maternas.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron todas las pacientes cuyas muestras de líquido amniótico fueron enviadas al laboratorio Diagen durante el periodo comprendido entre mayo de 1993 y mayo de 2009. Las muestras provenían del programa de Diagnóstico Prenatal del Centro Médico ABC así como de diversos centros hospitalarios, unidades de reproducción

* Directora del Laboratorio Diagen. Médica genetista del Centro Médico ABC.

** Cultivo de tejidos. Laboratorio Diagen.

*** Citogenetista. Laboratorio Diagen.

**** Médico ginecoobstetra. Centro Médico ABC, The American British Cowdry, México, DF.

Correspondencia: Dra. Patricia Grether González. Laboratorio Diagen. Centro Médico ABC, campus Santa Fe. Carlos Graef Fernández 154, segundo piso, México 05300, DF.

Correo electrónico: pgrether@diagen.com.mx

Recibido: diciembre, 2009. Aprobado: julio, 2010.

Este artículo debe citarse como: Grether-González P, Cámara-Polanco V, Ulloa-Avilés V, Salas-Labadía C y col. Diagnóstico prenatal por amniocentesis. Experiencia clínica y citogenética en 1,500 casos. Ginecol Obstet Mex 2010;78(9):493-503.

www.nietoeditores.com.mx

asistida y consultorios médicos del país, principalmente de la Ciudad de México.

Para conocer la evolución clínica y la resolución del embarazo, se buscó la información a través de los médicos tratantes o directamente con las pacientes. Cuando fue posible se revisó directamente al feto, recién nacido o infante.

Obtención de la muestra

La mayor parte de las muestras se tomaron con guía ultrasonográfica continua con aguja espinal calibre 22G. Se extrajeron, inicialmente, 1 a 3 mL de líquido amniótico que fueron desechados y posteriormente 20 mL en embarazos de 15 semanas de gestación o mayores.

En embarazos menores se tomó un mililitro por semana de edad gestacional cumplida. Se revisó el sitio de punción por ultrasonido después de extraer la aguja. A las pacientes Rh negativo se les aplicó una dosis intramuscular de 300 mg de inmunoglobulina humana anti-D, inmediatamente después de la punción. Las complicaciones registradas fueron: sangrado intrauterino, salida de líquido amniótico por vía transvaginal, corioamnitoitis y óbito fetal.

Muestras

Se incluyeron las muestras recibidas en el laboratorio, provenientes de embarazos únicos o múltiples, con fetos vivos. Se excluyeron todos los casos carentes de información clínica. Se sembraron de dos a cinco cultivos primarios, uno en botella de cultivo y el resto en cubre-objetos de 22 x 22 mm en cajas de Petri de 35 mm. Los cultivos de las cajas de Petri se cosecharon entre 7 y 10 días después de la siembra y se analizaron con técnica de bandas G (GTG o GTW).

Se analizaron 15 a 20 células de por lo menos dos cultivos primarios siguiendo los lineamientos internacionales para su interpretación y se armó el cariotipo de una metáfase representativa. Los frascos de cultivo se conservaron como respaldo hasta el final de cada estudio. En los casos que ameritaron estudios moleculares, se aisló ADN de las cajas de cultivo para las pruebas específicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se incluyeron 1,500 pacientes, 1,480 tuvieron un embarazo de feto único. Quince pacientes tuvieron un embarazo

doble de quienes se obtuvieron 27 muestras (una de una paciente con gemelos monoamnióticos y dos casos en los que sólo se estudió al gemelo aparentemente sano de un gemelar con un feto afectado, un caso de anencefalia y sano y otro caso de acárdico y sano).

En dos pacientes con embarazo triple se realizaron cuatro estudios (en una de ellas se obtuvieron tres muestras y en la segunda una muestra de uno de los fetos con TLN aumentada). Del total de 1,511 muestras, en cuatro no fue posible obtener el cariotipo, por lo que el análisis citogenético se basa en 1,507 estudios.

Obtención de la muestra

En 1,048 casos la muestra se obtuvo como se describe en la metodología; en el resto, se desconoce la técnica de obtención. La edad gestacional a la toma de la muestra se detalla en la Figura 1, en 81 casos se desconoce este dato. Se efectuaron 13 amniocentesis tempranas (de 11 a 13 semanas de gestación). En cuatro de ellas la indicación fue malformaciones fetales detectadas por ultrasonido.

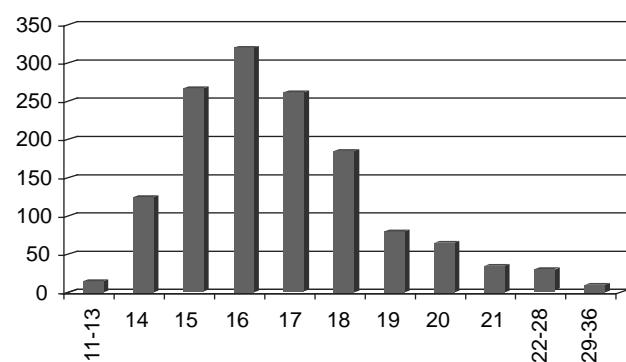


Figura 1. Edad gestacional a la toma de la muestra.

La amniocentesis temprana (menor de 14 semanas) dejó de realizarse de manera rutinaria a partir de 1998, cuando se demostró que presentaba un riesgo mayor de aborto y de talipes equinovaro, así como una posibilidad mayor de falla en el cultivo.³ En los 75 casos con edad gestacional mayor de 20 semanas la indicación más frecuente fue el hallazgo de anomalías ultrasonográficas, de ellos, 8 (10.7%) tuvieron alguna cromosomopatía.

La principal ventaja de conocer el diagnóstico citogenético en la segunda mitad del embarazo fue la definición de un manejo perinatal más específico.

Indicaciones

En el Cuadro 1 se observa que el grupo de edad materna avanzada (35 años o mayores), tuvo una frecuencia de cromosomopatías de 3.7% mientras que el grupo de tamiz positivo en mujeres menores de 35 años fue de 1.5%.

Al analizar a las mujeres con edad materna avanzada y tamiz positivo, se observó que la frecuencia de cromosomopatías era mayor que en cualquiera de los dos primeros (4.2%). Lo anterior apoya que el tamiz prenatal en mujeres con edad materna avanzada mejora la detección de algunas cromosomopatías.

Se compararon las frecuencias globales de cromosomopatías detectadas en mujeres menores de 35 años y en mujeres con edad materna avanzada y se observó que en ambos grupos la frecuencia fue de 4.6% (Cuadro 2), en

las mujeres con edad materna avanzada tuvo mayor peso la trisomía 21, mientras que en las mujeres jóvenes se observaron más anomalías de sexocromosomas y estructurales desbalanceadas.

El grupo de ultrasonido anormal lo integraron los casos con malformaciones congénitas o alteraciones en la cantidad de líquido amniótico, retardo en el crecimiento intrauterino, hidrops fetal o higroma quístico cervical, aumento de la translucencia o el pliegue nucal aislados.

En este grupo se detectaron 24 casos de enfermedad cromosómica y un caso de mucopolisacaridosis VII expresado clínicamente como hidrops fetal no inmune.

De los 24 fetos observados con higroma quístico cervical, aumento de la translucencia o del pliegue nucal aislados, 12 (50%) tuvieron alguna cromosomopatía,

Cuadro 1. Indicaciones y resultados por grupo

Indicaciones	Número	Cromosomopatía	%	ECM
Edad materna avanzada	841	31	3.7	-
Tamiz + en menores de 35	207	3	1.5	-
Tamiz + edad materna avanzada	143	6	4.2	-
Angustia materna	127	1	0.8	-
Ultrasonido anormal	79	24	30.4	1
Hijo con cromosomopatía	41	0	-	-
Sujetos con rearreglo cromosómico aparentemente balanceado	10	1	11	-
Hijo con malformaciones congénitas o síndrome específico	14	1	7.7	-
Individuos con errores congénitos del metabolismo	4	0	-	1
Distrofia muscular de Duchenne	3	0	-	-
Otras	31	0	-	-
Total de pacientes	1,500	68	4.5%	0.13%

ECM: errores congénitos del metabolismo.

Cuadro 2. Frecuencia de cromosomopatías por grupos de edad

Diagnóstico	< 35 años n = 453	≥ 35 años n = 1,018	Total n = 1,471
Trisomía 21	6 (1.3%)	26 (2.6%)	32
Trisomía 18	3 (0.7%)	6 (0.6%)	9
Trisomía 13	2 (0.4%)	4 (0.4%)	6
Numéricas de sexocromosomas	5 (1.1%)	8 (0.8%)	13
Estructurales desbalanceadas	4 (0.9%)	2 (0.2%)	6
Otros	1 (0.2%)	1 (0.1%)	2
Total	21 (4.6%)	47 (4.6%)	68

principalmente trisomía 21 (7 casos) y monosomía X (4 casos), lo que confirma la utilidad de este hallazgo en la detección de patología fetal.

Hallazgos citogenéticos

En las 1,507 muestras con resultado, se detectaron 68 casos (4.5%) con alteraciones cromosómicas desbalanceadas, 63 numéricas (Cuadro 3) y 5 estructurales (Cuadro 4). Estos hallazgos son semejantes a lo encontrado por Cerrillo y sus colaboradores en una población similar estudiada en México.¹

En 15 de las 1,507 muestras (1%) se detectaron translocaciones robertsonianas, recíprocas e inversiones aparentemente balanceadas que correspondieron a 14 familias (Cuadro 5). Únicamente 5 de las 14 familias sabían que eran portadoras y 9 familias fueron descubiertas por el estudio prenatal.

Cuadro 3. Anomalías numéricas

Diagnóstico	Número
Trisomía 21	
47,XY,+21 47,XX,+21	29
47,XY,t(12;14)(p13;q24),+21	1
46,XY,der(14;21)mat,+21	1
mos47,XY+21/46,XY	1
Trisomía 18	
47,XX,+18 47,XY,+18	9
47,XX,+inv(18)(p11.2q12.2)	1
Trisomía 13	
mos47,XY,+20/46,XY	1
45,X	
mos45,X/46,XX	1
47,XXX	
mos47,XXY/46,XY	2
47,XYY	2
47,XXX	1
mos92,XXXX/46,XX	1
Total	63

Cuadro 4. Anomalías estructurales desbalanceadas

Diagnóstico	Número
46,XY,der(12)t(6;12)(q22.3;p13.3)pat	1
46,XY,del(13)(q32-qter)	1
mos46,XY,i(20q)/46,XY	1
46,XX,add(21)(p13)	1
mos46,XX/47,XX+mar/48XX,+mar(x2)	1
Total	5

Cuadro 5. Rearreglos estructurales balanceados

Rearreglo	Indicación en familias que se sabían portadoras	Indicación en familias que no se sabían portadoras
45,XX,t(13;14)pat	Padre portador de translocación	Tamiz positivo
45,XY,t(13;14)pat	Madre portadora de translocación	EMA
45,XY,t(13;14)mat	Madre portadora de translocación	
45,XY,t(14;21)mat		Hijo con MC
45,XY,t(14;21)		Tamiz positivo y EMA
46,XY,t(1;17) (p36.3;q23)		Tamiz positivo
46,XY,t(2;3)(p13;q25) pat		EMA
46,XX,t(5;13)(q12q14)		
46,XX,t(7;16)(q32;q22) mat	Familiar con translocación 7;16	Tamiz positivo
46,XX,t(8;9)(p21;q23)		EMA
46,XY,t(17;20)(q21;q13)		DMD
46,X,inv(Y)(q11.2q12) pat		
46,XYqh- ,invY(p11.2q11.2)	Inversión del Y paterno y EMA	

Anomalías cromosómicas aparentemente balanceadas, detectadas originalmente en el estudio de líquido amniótico. Los casos en los que se pudo identificar el origen parental se señalan como pat o mat.

EMA: edad materna avanzada; MC: malformaciones congénitas; DMD: distrofia muscular de Duchenne.

En un estudio de colaboración realizado en Italia,⁴ que incluyó 269,371 estudios prenatales, se encontró aproximadamente un rearreglo *de novo* aparentemente balanceado por cada mil estudios (0.09%). En nuestra población no fue posible definir la prevalencia de rearreglos *de novo*, ya que de las 14 familias, 8 tuvieron un rearreglo heredado por alguno de los padres, pero 6 no pudieron ser estudiadas.

Los casos de translocaciones recíprocas aparentemente balanceadas fueron ocho, de los cuales dos fetos fueron anormales, uno por la presencia de uno de los derivativos y el otro por trisomía 21 y una translocación balanceada no relacionada 47,XY,t(12;14)(p13;q24),+21. En este caso, la trisomía 21 pudo haber ocurrido de manera independiente a la translocación; sin embargo, se ha visto que la prevalencia de translocaciones recíprocas en trisomía 21 regular excede a lo encontrado en la población general,

por lo que se ha sugerido que puede existir un efecto intercromosómico que favorecería la no disyunción en presencia de la translocación.⁵

Las variantes polimórficas registradas fueron la inversión pericéntrica inv(9)(p11q12) (9ph) y la inversión pericéntrica inv(2)(p11.2q13). En el primer caso se detectaron 18 fetos, uno de los cuales lo presentó 9ph en ambos miembros del par. De la inv(2) hubieron tres casos, uno de los portadores de este polimorfismo tuvo malformaciones congénitas múltiples, de los otros dos (pertenecientes a la misma familia) uno cursó con comunicación interventricular (CIV) y el otro fue sano. Se ha visto que la inv(2) (p11.2q13) no tiene consecuencias fenotípicas directas por lo que se considera una variante polimórfica; sin embargo, muestra cierta heterogeneidad en los sitios de rotura.⁶

En el caso familiar con dos hermanos portadores de una inversión de origen paterno, la inversión corresponde seguramente a la variante polimórfica descrita con frecuencia, pero en el caso del feto con malformaciones múltiples podría ser: *a)* un hallazgo coincidental o *b)* que la inv(2) sí tuviese relación porque los sitios de rotura fuesen distintos a nivel molecular, de los considerados en la variante polimórfica.

En años recientes se ha difundido una nueva metodología denominada reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa (FQ-PCR), que permite identificar las principales aneuploidías en un lapso menor (1 a 3 días), y es considerablemente menos costosa que el cariotipo. Con la FQ-PCR se pueden identificar aneuploidías de los cromosomas 13, 18, 21, X y Y, que son las anomalías más frecuentes, pero no es posible identificar anomalías de otros cromosomas ni alteraciones estructurales.

En algunas poblaciones, la reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa se ha utilizado como prueba única en pacientes con tamiz prenatal positivo para síndrome de Down o edad materna avanzada,¹⁴ en donde se refiere que es posible identificar 95% de las anomalías detectables por cariotipo, lo que daría un riesgo residual de 5%. En nuestra población con la reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa en las indicaciones señaladas, se hubieran detectado 92.5% de los casos anormales y habría dejado 7.5% sin diagnosticar (riesgo residual). Además, habrían pasado inadvertidos 12 casos con translocaciones inesperadas.

La reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa como prueba única es útil en casos

individuales, particularmente cuando la edad gestacional es de 19 o 20 semanas; sin embargo, para poder definir criterios de su posible aplicación en políticas de salud pública, se requeriría estudiar una población mayor.

Errores innatos del metabolismo

Se detectaron dos casos de errores congénitos del metabolismo. Un feto con enfermedad de Niemann Pick de padres portadores y un feto estudiado por hidrops fetal grave no inmune, con cariotipo normal que falleció. En el estudio histopatológico se identificaron inclusiones citoplásmicas compatibles con una enfermedad por atesoramiento, que hizo sospechar un síndrome de Sly. El diagnóstico se confirmó por estudio enzimático. Este caso resalta el hecho de que los errores congénitos del metabolismo pueden tener diversas manifestaciones en la etapa prenatal (hidrops, malformaciones congénitas, etc.), por lo que deben tenerse en mente cuando se ha descartado una cromosomopatía.

Fallas de cultivo

En cuatro pacientes (0.27%) no se logró el desarrollo del cultivo. En dos fue posible utilizar las células libres de las cajas de cultivo para realizar el estudio de la reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa, ambos casos fueron normales por reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa y al nacimiento.

Uno de los casos en los que no se realizó la reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa quedó sin diagnóstico ya que no fue posible obtener una nueva muestra. El cuarto caso fue una paciente en tratamiento con ácido ursodeoxicólico. La primera muestra fue muy hemática y no hubo crecimiento celular, la segunda muestra de líquido, esta vez no hemático, tampoco creció por lo que no se obtuvo diagnóstico citogenético; el recién nacido fue sano.

Se investigaron los efectos del ácido ursodeoxicólico en el crecimiento celular y encontramos que esta sustancia puede suprimir el crecimiento celular y las señales mitogénicas,⁷ lo que sugiere que puede ser un agente antiproliferativo y, por tanto, es posible que su presencia en el líquido amniótico haya interferido con el desarrollo celular *in vitro*. De esta experiencia puede sugerirse que ante un cultivo que al quinto o sexto día no muestra células adheridas, habría que valorar realizar reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa a las células libres obtenidas en el primer cambio de medio.

Complicaciones mayores, pérdida fetal. En el grupo de fetos enfermos se observaron cuatro casos de óbito, uno con trisomía 21, uno con translocación desbalanceada y múltiples anomalías congénitas, otro con hidrops fetal no inmune grave y un feto con gemelo acárdico. Del total de la población en la que se conoce la resolución del embarazo hubo nueve pérdidas en 474 casos (1.9%).

Para estimar las pérdidas fetales posteriores al procedimiento se consideraron únicamente los fetos con cariotipo normal o balanceado y ultrasonido normal ($n = 406$) ya que la población de fetos enfermos tiene un riesgo alto de muerte fetal independiente del procedimiento. Se observaron cinco casos de pérdida fetal (1.3%).

En el primer caso, la paciente que tuvo salida de líquido amniótico persistente (se desconoce cantidad y manejo), una semana después acudió a otra institución donde le indujeron el parto con diagnóstico de rotura de membranas. El caso 2 es de una paciente con corioamniosis grave por *E. coli* que acudió a otra institución donde se le realizó histerectomía. En este caso es posible que una punción alta, en un útero pequeño, haya condicionado la contaminación bacteriana del útero por punción accidental del intestino.

En los casos 3, 4 y 5 se detectó óbito fetal 1, 5 y 7 semanas después del procedimiento. Si bien las causas de óbito fetal son múltiples, cuando el óbito ocurre en las cuatro semanas siguientes a la punción, se considera potencialmente relacionado con el procedimiento y se ha descrito en la bibliografía que puede estar en relación con una infección subyacente.

Giorlandino⁶ encontró 36 casos de muerte fetal (0.28%) en las cuatro semanas siguientes a la amniocentesis en 12,529 pacientes con indicaciones semejantes a las de nuestra población. Considerando el límite de las 4 semanas, en nuestro grupo encontramos una incidencia semejante (0.25%).

Hace poco se demostró la existencia de agentes infecciosos en las membranas o el líquido amniótico de mujeres asintomáticas a quienes se practicó amniocentesis. Giorlandino sugiere que el paso de la aguja puede reactivar una infección latente en las membranas causando inflamación local por activación de la cascada de citocinas-prostaglandinas, contracciones y edema local lo que podría condicionar: una rotura prematura del saco amniótico, curar espontáneamente o desencadenar parto pretérmino o muerte fetal.

El mismo autor encontró disminución de los casos de óbito fetal y de los de rotura prematura pretérmino de membranas con la administración profiláctica de azitromicina.⁸ Si bien Giorlandino muestra evidencia de la protección profiláctica de la azitromicina, en nuestro medio sería necesario identificar la proporción de embarazos con infección subclínica y llevar a cabo estudios prospectivos de casos y controles antes de adoptar la profilaxis con antibióticos como una medida de rutina en amniocentesis.

De los 48 casos anormales se conoce el seguimiento en 45 casos, de los cuales dos terminaron en óbito en las dos semanas siguientes al procedimiento. Es difícil establecer una relación causa-efecto en estos casos, ya que se sabe que los fetos con cromosomopatía tienen alto riesgo de muerte *in utero* por su padecimiento de base.

Complicaciones menores

Salida de líquido amniótico transvaginal. De los 877 casos con información, 8 (0.9%) tuvieron salida transvaginal de líquido amniótico. En seis casos se consideró una cantidad moderada durante uno a tres días después de la punción y no hubo complicaciones posteriores. Dos pacientes tuvieron salida de líquido amniótico durante una semana o más, una paciente (incluida en los casos de pérdida fetal y referida en párrafos anteriores) acudió a otra institución en donde se interrumpió el embarazo. La segunda paciente fue manejada con reposo y útero-inhibidores hasta que los síntomas desaparecieron y el embarazo continuó sin complicaciones.

En la bibliografía se refiere que la salida de líquido amniótico posterior al procedimiento puede ocurrir en 1 a 2% de los casos,⁹ lo cual es semejante a nuestros hallazgos. El manejo de los casos de pérdida de líquido amniótico debe ser conservador, con vigilancia estrecha.

Sangrado intrauterino al momento de la punción. Se tiene información de 877 casos de los que 25 (3%) presentaron sangrado hacia la cavidad amniótica durante o inmediatamente después de la punción. En 22 casos el sangrado duró de 1 a 4 minutos y en 3 hasta 10 minutos. De las 153 punciones transplacentarias, 17 (11%) tuvieron esta complicación que se considera menor. Ninguna de las pacientes con sangrado intrauterino tuvo complicaciones mayores. En la bibliografía se refiere que el sangrado intrauterino puede presentarse en 4 a 8% de las pacientes.¹⁰

SEGUIMIENTO

Se tiene información hasta el final del embarazo únicamente en 474 pacientes (32%) que se dividieron en tres grupos: *a)* fetos con cromosomopatía, *b)* fetos con ultrasonido anormal sin cromosomopatía y *c)* fetos con cariotipo normal, balanceado o falla y ultrasonido normal.

Grupo A. De los 68 casos con cromosomopatía (Cuadro 6) se conoce cómo terminó el embarazo de 45 pacientes, de las que 29 (64.5%) decidieron interrumpirlo, dos tuvieron un óbito (4.5%) y 14 (31%) continuaron el embarazo. De ellas, 4 tuvieron muerte perinatal y 10

un hijo vivo. La mayoría de las pacientes con un feto enfermo decidió interrumpir el embarazo. En su decisión influyeron, la gravedad de la enfermedad y la edad gestacional. Grupo B.

Hubo 10 casos de los que se excluyeron dos porque las malformaciones las tenían sus gemelos: un caso de gemelo acárdico y otro de gemelo con anencefalia, pero los fetos estudiados no tuvieron anomalías ultrasonográficas. Los ocho restantes tuvieron malformaciones aisladas o síndromes malformativos al nacimiento, uno de ellos con hidrops no inmune tuvo una mucopolisacaridosis VII o síndrome de Sly (Cuadro 7).

Cuadro 6. Terminación del embarazo de mujeres con fetos con cromosomopatías

Cariotipo	Núm.	Sin Información	Aborto inducido	Aborto espontáneo	Muerte neonatal	Recién nacido vivo
+21	31	10	15	1	1	3
mos+21	1				1	
+18	9	3	4		2	
47,XX,+inv(18)	1		1			
+13	6	2	4			
del(13)	1		1			
45,X	5	3	2			
mos45,X/46,XX	1	1				
47,XXY	2	2				1
mos47,XXY/46,XY	2	1				1
47,XYY	2		1			1
47,XXX	1					1
46,XX,add(21)(p13)	1	1				
der12,t(6;12)	1			1		
mos+20	1					1
mos+i(20q)	1					1
mos+mar	1					1
mos96,XXXX/46,XX	1		1			
Total	68	23	29	2	4	10

Cuadro 7. Anomalías congénitas o genéticas, o ambas, en el grupo de cariotipo normal o balanceado y ultrasonido anormal

Diagnóstico ultrasonográfico	Etiología	Terminación
Hidronefrosis bilateral	Valvas de la uretra posterior	Muerte neonatal
Dilatación de vías urinarias	Tabique uretro-vaginal corto	Recién nacido vivo
Pentalogía de Cantrell	Ligada al X dominante	Aborto inducido
Microgastria y anomalía en reducción de miembros	Probable mutación de novo autosómico dominante	Aborto inducido
Malformaciones múltiples	Desconocida, inv(2)(p11.2q13)	Aborto inducido
Hidrops fetal grave	Mucopolisacaridosis VII	Óbito
Meningocele occipital	Esporádico	Recién nacido vivo
Higroma quístico, agenesia renal y placenta previa	Esporádica	Aborto inducido

Grupo C. De los 419 casos considerados normales por cariotipo y ultrasonido, hubo cinco pérdidas fetales (1.2%) ya referidas en párrafos anteriores, además de un óbito por transfusión feto fetal con gemelo acárdico. En 413 casos se obtuvieron nacidos vivos.

Patología del recién nacido

De los 413 nacidos vivos, aparentemente sanos por el estudio prenatal, 11 (2.7 %) presentaron alguna condición genética o anomalía congénita (Cuadro 8). Un recién nacido tuvo mielomeningocele y otro una comunicación interventricular que no se detectaron durante el estudio ultrasonográfico.

Las restantes nueve pacientes tuvieron condiciones no detectadas prenatalmente, algunas de ellas graves, otras con poca repercusión para la función. En este grupo llaman la atención dos casos relacionados con trastornos de la regulación epigenética. Un caso con síndrome de Russell-Silver (OMIM #180860), condición genéticamente heterogénea causada por cambios epigenéticos de hipometilación en la región de control de impronta en 11p15 o por disomía uniparental materna (DUP)mat del cromosoma 7.

Otra paciente con embarazo espontáneo tuvo una hija con síndrome de Angelman (OMIM #105830), condición genéticamente heterogénea relacionada con trastornos en el mecanismo de impronta. En este caso, el origen fue una mutación en el gen UBE3A.

Se detectó un paciente con síndrome de Bardet Biedl (SBB) (OMIM#209900) con una translocación robertsoniana (13;14). El síndrome de Bardet Biedl es genéticamente heterogéneo y no se ha relacionado con trastornos de la regulación epigenética; sin embargo, uno de los genes que lo produce (BBS8), localizado en el cromosoma 14q32.11, se encuentra cercano a la región 14q32.2, donde existe una zona de impronta.¹¹ Las translocaciones robertsonianas pueden estar involucradas en aneuploidías y en una

Cuadro 8. Anomalías congénitas o genéticas, o ambas, en el grupo de cariotipo normal o balanceado y ultrasonido normal

Atresia de esófago	Síndrome de Angelman
Comunicación interventricular	Síndrome de Apert
Hidrocefalia grave	Síndrome de Bardet-Biedl
Mielomeningocele lumbosacro	Síndrome de Russell Silver
Malformación intestinal	Deficiencia de IgA
Sindactilia de la mano izquierda	

proporción de los casos con disomía uniparental (DUP). En este caso no fue posible realizar los estudios moleculares necesarios para definir si había correlación entre la translocación robertsoniana y la enfermedad.

Finalmente, 2.7% de los fetos considerados normales por cariotipo y ultrasonido tuvieron alguna anomalía al nacimiento lo que fue un hallazgo inesperado; sin embargo, debe tenerse en cuenta que, por un lado, se incluyeron algunos padecimientos de manifestación posterior al periodo neonatal y, por otro, la proporción de pacientes en la que se conoce el desenlace del embarazo es baja (31%).

Es posible también que la población de nacidos afectada haya sido reportada por los médicos o los pacientes con mayor frecuencia que los nacidos sanos y eso marcaría un sesgo en las frecuencias observadas. De cualquier manera, debe siempre tenerse en mente que obtener un ultrasonido y cariotipo fetal normales no significa que el feto esté sano, sino que se han descartado enfermedades cromosómicas y anomalías estructurales gruesas (por ultrasonido), pero persiste un riesgo de otros padecimientos congénitos que pueden ser graves.

Parto inmaduro y pretérmino

En los 411 nacidos vivos, aparentemente sanos, se observó un caso de parto inmaduro en una paciente estudiada a las 21 semanas de gestación que tuvo un cuádruple marcador (alfafetoproteína múltiples de la mediana MoM, estriol libre uE3, gonadotropina coriónica humana hGC) alterado, muy sugerente de preeclampsia (AFP = 2.22 (MoM), uE3 = 0.45 MoM, hCG total 20.96 MoM, inhibina A = 5.16 MoM). El cariotipo fetal y el ultrasonido fueron normales, sin datos de preeclampsia al momento de la amniocentesis. A las 26 semanas la paciente resultó con hipertensión arterial grave que ameritó interrupción del embarazo y se obtuvo una recién nacida viva, inmadura, aparentemente sana.

De los 411 casos, 74 (18%) terminaron en parto pretérmino (28-36 semanas de gestación¹¹). En 10 casos se identificó algún factor de riesgo: cuatro presentaron enfermedad hipertensiva aguda del embarazo, tres tuvieron desprendimiento prematuro de placenta normoinserta y tres fueron gemelares. El 82% de la población tuvo un parto de término.

Nuestra población tuvo una frecuencia de parto pretérmino mayor que lo calculado en un estudio de Estados Unidos en donde 1 de cada 8 recién nacidos (12.5%) se

ven afectados.¹³ Esta cifra, si bien sirve como referencia, no permite sostener que la amniocentesis aumentó la frecuencia de parto pretérmino, ya que las poblaciones no son comparables. Para poder definir este riesgo se requeriría realizar un estudio prospectivo que contase con una población control sin amniocentesis.

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

La frecuencia y proporción de anomalías cromosómicas encontradas en este estudio es semejante a lo detectado en otras poblaciones.^{1,2}

El tamiz prenatal en mujeres con edad materna avanzada mejora la detección de síndrome de Down y trisomía 18; sin embargo, otras anomalías pasarían inadvertidas (trisomía 13, anomalías de sexocromosomas y estructurales).

La amniocentesis permitió detectar familias con translocaciones balanceadas que desconocían su estado de portadoras.

La mayor preocupación relacionada con la amniocentesis y otros procedimientos invasivos es el riesgo de pérdida del embarazo que se calcula en aproximadamente 0.5 a 1%, aunque en algunos grupos experimentados se reporta tan bajo como 1/650.¹³

Estas cifras podrían variar mucho debido a que al difundirse el uso del ultrasonido e incrementarse la utilización de la prueba, hay más médicos que realizan pocos procedimientos de manera individual y esto ha generado que se ponga menor atención al impacto potencial en los índices de complicaciones.

No debe perderse de vista que la amniocentesis es un procedimiento con riesgo y que, de no hacerse con el profesionalismo de todos los involucrados, puede tener consecuencias muy graves. En nuestra población, el total de pérdidas fue de 1.23%. Si se tomara el riesgo base de 1.08% de pacientes sin amniocentesis¹⁵ podría considerarse que el exceso de pérdidas atribuibles al procedimiento fue de 0.15%. Sin embargo, a pesar de estar en porcentajes aceptables, consideramos que la experiencia del equipo podría disminuir esta cifra.

El hecho de contar con información hasta la terminación del embarazo únicamente en 474 pacientes (32%), representa una debilidad desde el punto de vista estadístico; sin embargo, ningún estudio nacional y pocos internacionales cuentan con esta información que consideramos valiosa,

lo que puede verse en diversos aspectos, como los que se describen a continuación.

La proporción de fetos con ultrasonido normal y cariotipo normal, en quienes se detectó alguna enfermedad genética o congénita después del nacimiento, fue de 11 en 415 (2.6%). Por ello, es importante hacer hincapié en las pacientes en quienes se realiza amniocentesis, porque aun cuando el ultrasonido y el cariotipo sean normales, existe riesgo de alguna enfermedad en el recién nacido, no detectada prenatalmente.

El hallazgo de padecimientos relacionados con trastornos de la regulación epigenética en una población relativamente pequeña, como la nuestra, sugiere que su frecuencia y factores de riesgo aún están por definirse.

Finalmente, las decisiones tomadas por las madres o las parejas al enfrentar el diagnóstico de enfermedad fetal fueron, en la mayoría de los casos, la interrupción voluntaria del embarazo. Para definir esta situación, cada paciente enfrentó los aspectos negativos al igual que los positivos de continuar o interrumpir el embarazo y, finalmente, cada una decidió lo que consideró mejor para el feto, para su núcleo familiar y para ella misma.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, los grupos o instituciones que proporcionen diagnóstico prenatal deben tener no sólo a los especialistas capaces de realizarlo, sino también la posibilidad y capacidad, médica y legal, para interrumpir el embarazo.

Agradecimientos

A la Dra. Alessandra Carnevale por la revisión crítica del manuscrito. A los médicos que colaboraron con el envío de muestras e información clínica, en particular a los doctores Alberto Kably Ambe y Carlos Navarro Martínez. Al apoyo constante del técnico en ultrasonido Teodoro Fernández, y a la labor incansable en la obtención de información de Tatiana Rojas Reyes. Al Dr. Rafael Elejalde por compartir conmigo su experiencia en amniocentesis.

REFERENCIAS

1. Cerrillo HM, Yerena MC, González PME, Godoy H, et al. Amniocentesis genética en población de alto riesgo. Experiencia en 3,081 casos. Ginecol Obstet Mex 2009;77(4):173-182.
2. Grether P, Zavaleta MJ, De la Luna E, Sánchez V, et al. Diagnóstico prenatal en 350 amniocentesis. Ginecol Obstet Mex 1991;59:317-322.

3. The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. Randomized trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. *Lancet* 1998;351:242-247.
4. Giardino D, Corti C, Ballarati L, Colombo D, et al. De novo balanced chromosome rearrangements in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 2009;29:257-265.
5. Feldman R, Martinez JD. Growth suppression by ursodeoxycholic acid involves caveolin-1 enhanced degradation of EGFR. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793(8):1387-1394.
6. Giorlandino C, Cignini P, Cini M, Brizzi C, et al. Antibiotic prophylaxis before second-trimester genetic amniocentesis (APGA): a single-centre open randomised controlled trial. *Prenat Diagn* 2009;29(6):606-612.
7. Invasive prenatal testing for aneuploidy. American College of Obstetricians and Gynecologists ACOG Practice Bulletin No. 88. *Obstet Gynecol* 2007;110(6):1459-1467.
8. Athanasiadis AP, Pantazis K, Goulis DG, Chatzigeorgiou K, et al. Comparison between 20G and 22G needle for second trimester amniocentesis in terms of technical aspects and short-term complications. *Prenat Diagn* 2009;29(8):761-765.
9. Kagami M, Sekita Y, Nishimura G, Irie M, et al. Deletions and epimutations affecting the human 14q32.2 imprinted region in individuals with paternal and maternal upd(14)-like phenotypes. *Nat Genet* 2008;40(2):237-242.
10. Fickelscher I, Liehr T, Watts K, Bryant V, et al. The variant inv(2)(p11.2q13) is a genuinely recurrent rearrangement but displays some breakpoint heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2007;81(4):847-856.
11. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993, Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido.
12. Cirigliano V, Voglino G, Ordoñez E, Marongiu A, et al. Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR, results of 9 years of clinical experience. *Prenat Diagn* 2009;29(1):40-49.
13. Evans MI, Wapner RJ. Invasive Prenatal Diagnostic Procedures 2005. *Semin Perinatol* 2005;29:215-218.
14. Lindenbaum RH, Hultén M, McDermott A, Seabright M. The prevalence of translocations in parents of children with regular trisomy 21: a possible interchromosomal effect? *J Med Genet* 1985;22(1):24-28.
15. Green NS, Damus K, Simpson JL, Iams J, et al. Research agenda for preterm birth, March Of Dimes Scientific Advisory Committee On Prematurity: recommendations from the March of Dimes. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193(3 Pt 1):626-635.