

DIAGNÒSTIC PRENATAL: HISTÒRIA, ESTAT ACTUAL I PERSPECTIVES.

M. DEL MAR PÉREZ,^{1,2} LUZ MÍGUEZ,^{1,3} ESTHER CUATRECASAS,^{1,4} ANA CARRIÓ,⁵
ANNA SOLER⁵

¹ *Departament de Biologia Cel·lular. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.* ² *Centre de Biopatologia. Laboratori Dr. Hernández. Sabadell.* ³ *Diagnòstic Prenatal. Barcelona.*
⁴ *Hospital de Nostra Senyora del Mar. Barcelona* ⁵ *Servei de Genètica. Unitat de Diagnòstic Prenatal. Hospital Clínic de Barcelona*

RESUM

Els estudis realitzats en els darrers anys sobre les malalties de tipus genètic indiquen una elevada freqüència de defectes congènits que constitueixen una incidència anual de 3.000 a 5.000 afectes a Catalunya i de 15.000 a 30.000 a Espanya. Per aconseguir una prevenció d'aquests defectes és necessària una bona informació a totes les gestants, principalment a les d'edat avançada; i també a tot el personal sanitari (prevenció primària). Com a prevenció secundària podem incloure el diagnòstic prenatal. El seu desenvolupament ha estat un dels avenços importants en la genètica humana.

SUMMARY

Studies made in recent years on genetics show a high frequency of congenital defects. The annual incidence is of 3,000 to 5,000 affected in Catalonia and 15,000 to 30,000 in Spain. For a prevention of congenital defects a good information to all pregnant women, mainly to more of advanced age; as well as to sanitary personnel (primary prevention), is necessary. As secondary prevention we can include prenatal diagnosis. The development of prenatal diagnosis represents an important advance in human genetics.

INTRODUCCIÓ

Des que les malalties de tipus ambiental, i també les nutricionals o infeccioses, han estat controlades, les malalties genètiques queden desemmascarades i adquireixen un major protagonisme. Aquest darrer grup de malalties són l'origen d'un terç dels ingressos en pediatria i impliquen una quarta part de les morts neonatals.

L'Organització Mundial de la Salut (OMS) el 1982 defineix, com a defecte congènit, tota anomalia del desenvolupament morfològic, estructural, funcional o molecular, present en néixer (malgrat que pugui manifestar-se més endavant), extena o interna, familiar o esporàdica, hederitària o no, única o múltiple.

Els estudis realitzats en els darrers anys sobre les malalties de tipus genètic indiquen una elevada freqüència (7 %) de defectes congènits (Egozcue, 1987) (4), que signifiquen una incidència anual de 3.000 a 5.000 afectes a Catalunya i de 15.000 a 30.000 a Espanya.

Aquesta elevada incidència comporta una forta càrrega psicològica i econòmica tant per a les famílies com per a la societat.

Per aconseguir una prevenció dels defectes congènits és necessària una bona informació a totes les gestants, principalment les d'edat avançada, i també, a tot el personal sanitari. A més, és necessària la identificació de famílies i poblacions d'alt risc, i la immunització de malalties infeccioses.

Com a prevenció secundària podríem incloure: el diagnòstic prenatal, l'acció terapèutica i la IVE. (interrupció voluntària de l'embaràs) permesa en el nostre país si és realitzada abans de les 22 setmanes de gestació.

De tots els avenços en genètica humana que s'han fet durant els darrers 35 anys, el de més impacte en l'aplicació clínica ha estat el desenvolupament del diagnòstic prenatal que

permet detectar *in utero* la presència d'un defecte congènit. Aquests avenços estan revolucionant l'enfocament que famílies, metges i genetistes estant donant als problemes reproductius.

Fent una mica d'història sobre l'origen del diagnòstic prenatal, ens remuntem al descobriment, per part de Barr i Bertram, de la cromatina sexual o massa X per poder distingir les cèl·lules de les femelles de les dels mascles (1). El 1955 Serr, Sachs i Danon varen descriure el mètode poc fiable de detectar el sexe abans de néixer mitjançant l'anàlisi de la massa X en cèl·lules de líquid amniòtic (26, 27).

Poc després, Riis i Fuchs (25), a Dinamarca, varen utilitzar aquesta mateixa tècnica per primera vegada per diagnosticar una malaltia genètica.

Després d'aquests primers intents, s'ha desenvolupat un nou i revolucionari camp d'estudi de la citogenètica fetal. Dins de la història del diagnòstic prenatal podem considerar aquesta primera etapa com l'etapa citogenètica (1956-1967). El 1966, Steele i Bregg (34) publicaren la seva famosa tècnica per a l'estudi del cariotip de cèl·lules fetals obtingudes per amniocentesi. L'any següent, Jacobson i Barter (15) varen descriure el diagnòstic prenatal cromosòmic de tres embarassos d'alt risc per anomalies cromosòmiques.

En estandarditzar-se l'amniocentesi per a diagnòstic citogenètic entrem en l'etapa genètico-bioquímica (1968-1975), en la qual es podia detectar la malaltia mitjançant l'anàlisi enzimàtica de cèl·lules de líquid amniòtic (LA). Nadler (1968), capdavanter d'aquests estudis, va publicar un recull de les primeres troballes (17, 18). És gairebé impossible de fer un llistat actualitzat de tots els errors innats del metabolisme, ja que s'hi afegeixen contínuament noves malalties.

La introducció de l'ecografia bidimensional en obstetrícia va significar per primera vegada la possibilitat d'estudiar no solament el cariotip fetal, sino també el seu fenotip (8, 13). A partir dels anys setanta, gràcies a la sofisticació dels aparells (tècnica digital, escala de grisos, biometria informatitzada, etc.), s'aconsegueix el diagnòstic prenatal d'un nombre important de malformacions (9, 11, 12).

Gràcies a l'introducció de la fetoscòpia (14, 22), no solament és possible veure directament el fetus, sinó també obtenir-ne biòpsies de pell (24, 36). Estem ja en la que es pot considerar en el diagnòstic prenatal com la quarta fase (1980-1985) o fase d'accés directe al fetus.

A partir de 1980, les tècniques modernes de biologia molecular han estat aplicades a les cèl·lules fetals. Amb aquests mètodes altament sensibles han estat determinades diverses formes de malalties de la sang i malalties lligades al cromosoma X. És clar que la purificació de sondes per a gens humans específics, i també el descobriment de polimorfismes per a aquests mateixos gens permetrà cobrir un ventall ampli per a la detecció de moltes malalties genètiques.

Amb l'esperança d'evitar les conseqüències d'una interrupció tardana de l'embaràs, dos equips d'investigació, un d'anglès i un d'italià, han revisat un mètode desenvolupat a finals dels anys seixanta: la biòpsia de vellositats coriòniques (CV) (29). La idea bàsica d'aquesta tècnica és l'obtenció, per via vaginal o transabdominal, d'una mostra de vellositats del còrion. Aquesta obtenció es pot realitzar precoçment a partir de la vuitena/novena setmana de gestació.

A partir del còrion es poden realitzar tots els estudis citogenètics, enzimàtics i gènics que es feien en cèl·lules del líquid amniòtic.

El mateix any, Daffos i col·ls., varen demostrar que és possible l'obtenció de sang fetal sense fetoscòpia, mitjançant la punció directa guiada per ecografia dels vasos funiculars (6).

Així doncs, el diagnòstic prenatal ha entrat darrerament en una etapa multidisciplinària. Els recents avenços, tant tècnics com genètics, deixen entreveure les possibilitats d'una medicina fetal capaç de procedir a diagnòstics biològics que en un futur, més o menys proper, puguin arribar a possibilitar tractaments *in utero*.

En principi, tota embarassada té un risc potencial de portar un fetus amb un defecte congènit, però en realitat en la població existeix un diferent grau de risc en patologia fetal. Establir una classificació d'aquests grups permet fer una valoració predictiva de les malalties i aconseguir, un estalvi de recursos econòmics i humans.

Segons el tipus de defecte congènit, podem establir els diferents grups:

- alteracions cromosòmiques
- malalties autosòmiques dominants, recessives i lligades al cromosoma X.
- defectes del tub neural
- malformacions congènites en general (OMS, 1983).

TÈCNiques DE DIAGNÒSTIC PRENATAL

Tradicionalment s'ha parlat de dos grans grups de tècniques: invasives i no invasives. El primer grup inclou les tècniques d'obtenció de cèl·lules d'origen fetal: amniocentesi, biòpsia de vellositats coriòniques, punció de cordó umbilical i obtenció de teixits fetals per fetoscòpia o embrioscòpia. Totes elles comporten una metodologia obstètrica per obtenir la mostra, i les tècniques pròpiament de

laboratori per a la consecució del diagnòstic citogenètic, bioquímic i/o del DNA. El segon grup inclou la radiografia i, principalment, l'ecografia, la qual, a més de ser una tècnica de diagnòstic *per se*, és una eina auxiliar imprescindible per a la majoria de les tècniques invasives esmentades.

Tècniques no invasives

Radiografia: és poc utilitzada en diagnòstic prenatal, i permet detectar determinades malformacions esquelètiques.

Ecografia: permet la visualització del fetus per ultrasons, i no s'ha demostrat que perjudiqui el fetus ni la mare. Els aparells ecogràfics estan cada vegada més perfeccionats i donen una millor definició. Els anomenats de «temps real» permeten la visió dinàmica del fetus. El nombre de malformacions congènites diagnosticades per ecografia va augmentant, i depèn sobretot de l'experiència de l'ecografista i de la definició de l'aparell. Per a gestacions de primer trimestre, es tendeix a utilitzar aparells de sonda vaginal, tanmateix els més emprats són els de sonda transabdominal. Especialitzacions de l'ecografia són l'ecocardiografia (per al diagnòstic de malformacions cardíques) i l'ecografia d'efecte Doppler (per a l'estudi dels fluxos sanguinis fetals).

Tècniques invasives

Amniocentesi: consisteix en l'obtenció de líquid amniòtic per punció transabdominal, la qual es realitza amb l'ajut de l'ecografia; aquesta permet visualitzar el fetus, localitzar la placenta i decidir quin és el punt més idoni per realitzar la punció, ja que en alguns casos la placenta està situada en la cara abdominal anterior i s'ha de seleccionar la zona on la placenta és més prima per assegurar l'obtenció de líquid. (vegeu la fig. 1).

Entre les setmanes 16 i 18 de la gestació és l'època més adequada per practicar l'amniocentesi amb millors garanties d'èxit, perquè és quan la proporció de cèl·lules viables per a cultiu és més gran. També es pot fer entre les setmanes 12 i 15, però solen

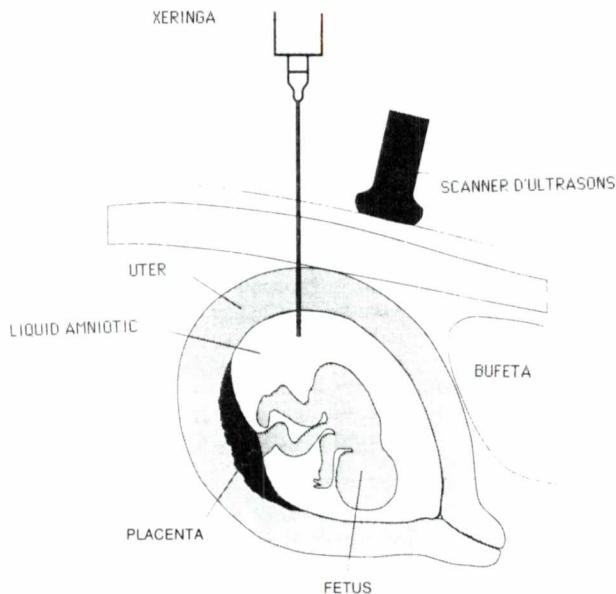


FIGURA 1. Esquema de l'obtenció de la mostra per amniocentesi

presentar-se més dificultats, tant en l'obtenció de la mostra com en el cultiu cel·lular.

De les tècniques invasives que s'utilitzen per al diagnòstic prenatal, l'amniocentesi és la de menys risc. Aproximadament un 2% de les gestants sotmeses a la prova pateixen contraccions, petites hemorràgies o pèrdues vaginals de líquid amniòtic que cessen espontàniament i no repercuteixen en l'evolució de la gestació. En un 0,5 %-1 % dels casos es produeix un avortament espontani. Molt rarament es produeixen infeccions com l'amnionitis (1/1.000) que pot provocar una mort fetal (35).

En aquells casos que cal realitzar un estudi citogenètic, i en algunes malalties en les quals cal diagnosticar un dèficit enzimàtic, és necessari cultivar els amniòcits presents en el líquid amniòtic.

El cultius de líquid amniòtic requereixen unes condicions generals d'esterilitat similars a les que calen per a altres tipus de cultius, i un ambient amb un 5 % de CO₂ i amb temperatura i humitat adequades.

El cultiu pot sembrar-se amb la mostra completa o amb el botó cel·lular, després d'una centrifugació. La sembra es realitza habitualment en flascons de cultiu o en càpsules de Petri amb cobreobjectes al fons (tècnica *in situ*). És important que se sembri la mostra al més aviat possible, ja que la viabilitat dels amniòcits és pràcticament nul·la al cap de 48 hores d'haver fet l'extracció. La tècnica *in situ* és ideal per a l'estudi citogenètic, ja que permet distingir els diferents clons cel·lulars, i per tant ajuda a diferenciar els falsos mosaics cel·lulars (pseudo mosaics) dels veritables, i les possibles (encara que rares) contaminacions amb cèl·lules maternes (2).

En algunes malalties genètiques caracteritzades per un defecte bioquímic, el diagnòstic es realitza habitualment en cultius d'amniòcits determinant l'absència de l'enzim o bé el producte acumulat, encara que en alguns casos

pot fer-se la determinació directa en el líquid amniòtic.

En els casos que requereixen un diagnòstic molecular, pot extreure's el DNA dels amniòcits directament o després de cultivar-los. Actualment, però, es tendeix a fer aquest tipus d'anàlisi en les mostres de vellositats de còrion, molt més riques en cèl·lules que el líquid amniòtic.

Per detectar defectes de tancament del tub neural, es fa la determinació de l'alfa-fetoproteïna i l'acetil-colinesterasa en el sobrenedant de la mostra centrifugada. El valor de l'alfa-fetoproteïna pot estar alterat en casos de defectes de tancament del tub neural i de la paret abdominal, en embarassos gemel·lars i en morts fetals, mentre que l'acetil-colinesterasa és un indicador específic dels defectes oberts del tub neural (5).

Biòpsia de còrion: Es coneix com a biòpsia de còrion l'obtenció d'una mostra de vellositats coriòniques, les quals tenen la mateixa constitució genètica que el fetus. Aquesta tècnica es va introduir per aconseguir el diagnòstic prenatal en el primer trimestre de la gestació, i s'efectua entre les 8 i les 13 setmanes d'embaràs. Actualment també es realitza, encara que amb molta menys freqüència, en el segon trimestre de gestació i fins i tot en el tercer. Les vies d'accés al còrion són la transcervical o via vaginal i la transabdominal. En les biòpsies del segon o del tercer trimestre només es fa servir l'última via. (vegeu la fig. 2).

Existeixen diversos mètodes d'obtenció de la mostra: per aspiració (amb cànules flexibles, semirígides o rígides) i per pinça o microfòrceps. La visualització del còrion es indispensable, i es realitza a través d'ecografia simultània en la

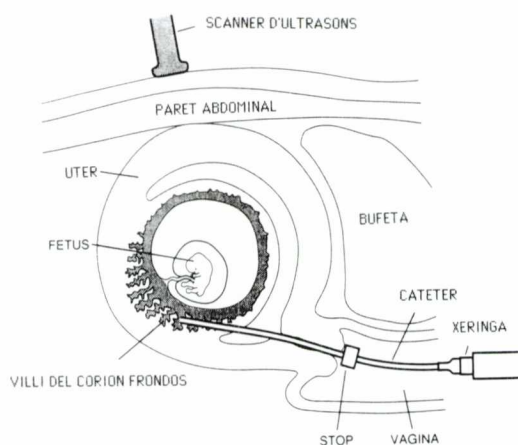


FIGURA 2. Esquema de l'obtenció de la mostra de vellositats coriòniques.

gran majoria dels casos, o a través d'un fetoscopi.

El risc de la tècnica és superior al de l'amniocentesi: en un 2-4 % dels casos es produeix un avortament a conseqüència de la prova. El risc d'infecció transcervical és molt baix (1-3/1.000) (32).

Una vegada arribada la mostra al laboratori, s'ha de seleccionar el material amb cura per separar les vellositats de les cèl·lules del teixit matern, i s'utilitzen les tècniques apropiades segons el tipus de diagnòstic que es vulgui realitzar.

Per obtenir cromosomes analitzables hi ha dos grups bàsics de tècniques: les directes o semidirectes i les de cultiu llarg. Amb les

primeres, al cap de poques hores o d'un o dos dies d'incubació poden obtenir-se metafases de les cèl·lules citotrofoblàtiques que estaven en divisió espontània. Amb les segones, és el teixit mesodèric interior de la vellositat el que creix, i d'ell provenen les metafases que s'obtenen al final del procés (vegeu la fig. 3). El primer grup té el gran avantatge de la rapidesa en el resultat i l'inconvenient que la qualitat de les metafases és, de vegades, poc satisfactòria. El segon grup augmenta la quantitat i la qualitat de les metafases analitzables, però en canvi té un petit risc d'error diagnòstic per contaminació de cèl·lules maternes. En molts laboratoris es combinen els dos mètodes. Un altre inconvenient d'aquestes tècniques és la possibilitat de falsos positius (en un 1 % dels casos) i de falsos negatius (0.1 %), deguts a l'existència de mosaics cromosòmics d'origen placentari (30).

El diagnòstic bioquímic pot fer-se directament sobre les vellositats coriòniques intactes o homogenats cel·lulars, o bé després de cultiu cel·lular. Cal conèixer, però, el defecte enzimàtic o el producte que s'acumula, i cal que s'expressi en les cèl·lules de les vellositats coriòniques. El nombre de malalties metabòliques amb diagnòstic possible mitjançant biòpsia de còrion es cada vegada més gran.

A partir de les vellositats coriòniques es pot extreure el DNA, i el diagnòstic molecular pot fer-se per identificació directa del gen defectuós quan es disposa de la sonda adequada, o per associació a marcadors polimòrfics propers. Amb la tècnica recent de la PCR (reacció en cadena de la polimerasa), la quantitat de DNA necessària per al diagnòstic és molt petita. L'anàlisi del DNA ofereix moltes possibilitats de futur en el camp del diagnòstic prenatal; el nombre de malalties diagnosticables està creixent d'una manera exponencial.

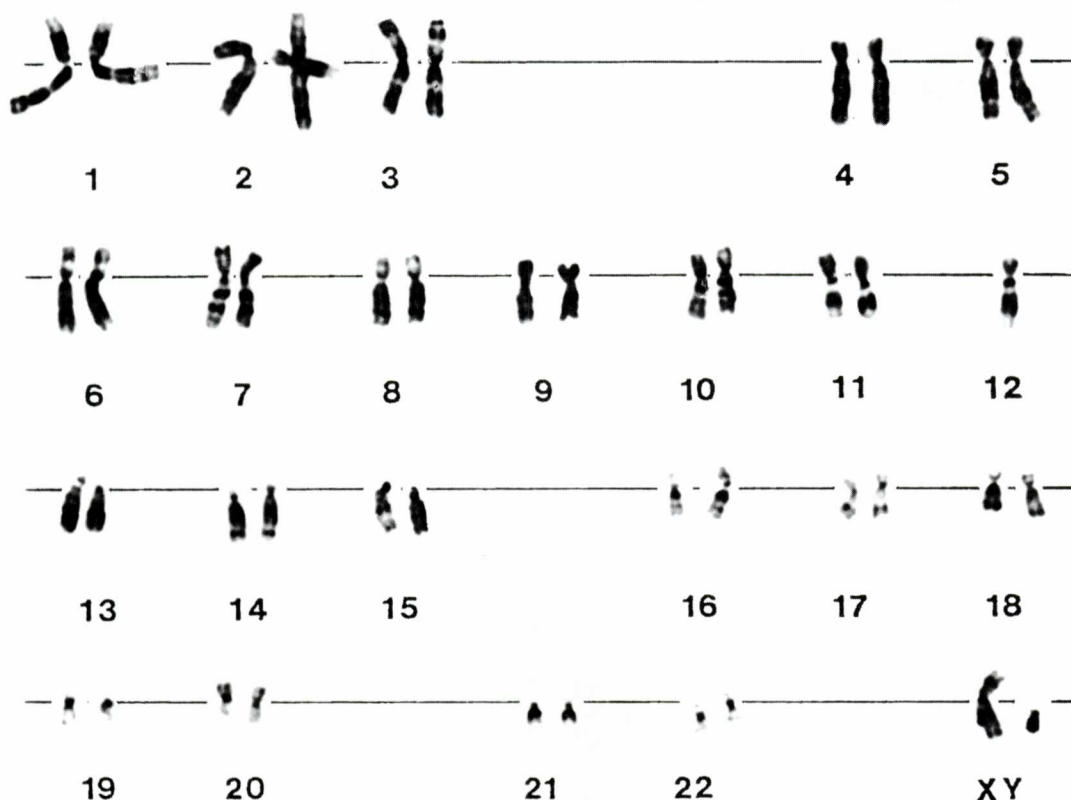


FIGURA 3. Cariotip amb bandes G (46,XY) realitzat en cèl·lules provinents de vellositats de còrion. Un cromosoma del parell dotze es troba entrecreuat amb un cromosoma del parell 2.

Obtenció de teixits fetal: En alguns casos, segons el tipus de defecte que es vol detectar, o per confirmar resultats dubtosos obtinguts amb les tècniques anteriors, és necessari obtenir una mostra de teixit directament del fetus.

La punció de cordó umbilical, cordocentesi o funiculocentesi. És una tècnica per obtenir sang fetal mitjançant la punció del cordó umbilical, normalment prop de la seva inserció placentària, a través de la paret abdominal anterior materna.

De les tècniques invasives emprades en el diagnòstic prenatal, aquesta és de les que comporta un risc més alt de pèrdua fetal (3-5 %) (19).

Es realitza a partir de la vintena setmana d'embaràs, en aquells casos en els que l'estudi citogenètic requereix d'una segona mostra per a donar el diagnòstic (falla de cultiu o resultat dubtós), o quan és massa tard per fer les altres proves, o quan cal estudiar infeccions fetals o malalties hematològiques. Abans de procedir a qualsevol tipus d'anàlisi cal confirmar l'origen fetal de la sang obtinguda.

També pot obtenir-se sang fetal per punció intrahepàtica o intracardíaca. Totes aquestes tècniques es fan sota control ecogràfic.

La fetoscòpia. És la visualització del fetus a través d'un endoscopi o fetoscopi. Els aparells

adaptats a les gestacions de primer trimestre s'anomenen *embrioscòpis*. Emprant aquests aparells poden obtenir-se mostres de sang fetal o biòpsies de pell i d'altres teixits (23).

Diagnòstic cromosòmic

Fins a l'any 1956 no es va determinar que el nombre de cromosomes de l'espècie humana era de $2n=46$, davant dels $2n=48$ cromosomes que es consideraven inicialment.

Gràcies als avenços de les tècniques citogenètiques, es van comptabilitzar i identificar cada un dels cromosomes de l'espècie

humana. Així, es van classificar els cromosomes en 23 parells, 22 dels quals són autosòmics i el parell 23 o parell sexual (XX per a les femelles i XY per als mascles).

Els cromosomes es classifiquen en 7 grups diferents segons el seu bandatge específic, la seva longitud, la posició del centròmer i la morfologia. Van del grup A al G (vegeu la fig 3)

Les alteracions cromosòmiques poden ser numèriques o estructurals. Segons en el cromosoma on es trobi es divideixen en *autosomopaties*, (alteracions dels autosomes) és a dir, dels parells de l'1 al 22, i *gonosomopaties*, dels cromosomes sexuals, X i Y (vegeu la taula I)

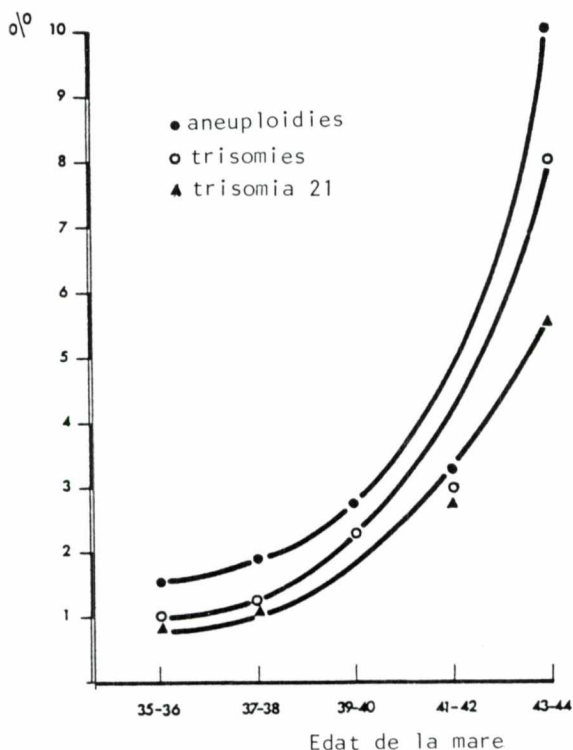


FIGURA 4. Corba de la distribució d'anèuploidies en funció de l'edat materna.

TAULA I

Anomalies cromosòmiques més freqüents

<i>Anomalies numèriques autosòmiques</i>	<i>Freqüència</i>
Síndrome de Down (trisomia 21)	1/900
Síndrome de Edwards (trisomia 18)	1/11.000
Síndrome de Patau (trisomia 13)	1/15.000
<i>Anomalies numèriques gonosòmiques</i>	<i>Freqüència</i>
Síndrome de Turner (45, X)	1/7.500
Síndrome de Klinefelter (47, XXY)	1/1.000
47, XXX	1/1.200
47, XYY	1/1.100
<i>Anomalies estructurals autosòmiques</i>	
Sd. Cri du Chat (5p-)	
Sd. Wolf (4p-)	
<i>Anomalies estructurals gonosòmiques</i>	
Xp-	
Xqi	
Xq-	
Yr	

Les anomalies de tipus numèric es produeixen com a conseqüència d'errors en la repartició o segregació dels cromosomes, o errors de fecundació, o durant la divisió. Les més freqüents són les trisomies, les monosomies, i les triploidies.

Les anomalies estructurals es produeixen en reparar-se anormalment les ruptures cromosòmiques. Les més freqüents són les delecions o deficiències, les inversions i les translocacions.

Les autosomopaties numèriques més freqüents són: la trisomia 21, la 18 i la 13, en aquest ordre. Les estructurals són: 4p-, 5p-.

Les gonosomopaties numèriques més comunes són la monosomia del X i el XXY. Les estructurals són: Xp-, Xqi, Xq-.

La incidència de cromosomopaties en avortaments, en general, és del 50 %, en perimplantatoris d'un 95 %, en nounats morts és del 5 % i en els vius és del 0,63 %. Les alteracions numèriques són molt més freqüents que les estructurals. Les trisomies són les cromosomopaties més comunes, en els avortaments i en els nascuts morts. En els nascuts vius, les aneuploidies sexuals són les més freqüents.

Les alteracions cromosòmiques, tant numèriques com estructurals, determinen una sèrie de caràcters fenotípics inespecífics, que s'associen en síndromes específiques. Moltes síndromes cromosòmiques produeixen un retard mental, i malformacions múltiples.

La incidència de les aneuploidies té una relació directa amb l'edat materna (vegeu la fig. 4). Com es pot observar, a partir dels trenta-cinc anys la relació entre edat materna i nounats amb aneuploidies és quasi exponencial. Un clar exemple és la trisomia 21 o síndrome de Down. En una dona de trenta-cinc anys la probabilitat de tenir un fill amb la síndrome és d'1 entre 365, en una dona de quaranta-nou anys és d'1 entre 12 (vegeu la taula II).

Existeixen d'altres indicacions per a realitzar un diagnòstic prenatal cromosòmic, a més de l'edat materna: quan un dels pares és portador d'una alteració cromosòmica estructural (translocació, inversió...), i quan ja s'ha tingut un fill afectat de cromosomopatia (20).

Diagnòstic molecular

Des de ja fa deu anys que la biologia molecular comença a aplicar-se en el diagnòstic prenatal, i així s'ha ajudat a l'avenç del diagnòstic, al tractament i a la prevenció.

Així doncs, els estudis del DNA recombinant han permès desenvolupar un mètode diferent per abordar la investigació de malalties de les quals es desconeix el defecte bioquímic.

És necessari, primerament, determinar l'herència de la malaltia del pacient per tal de saber quina serà l'estratègia a seguir (vegeu la taula III). Quan la malaltia és dominant el progenitor afectat transmet la malaltia al 50 % de la descendència, independentment del sexe. En les malalties recessives els heterozigots són portadors i tan sols els homozigots l'expressen: una parella de portadors té un risc del 25 % de tenir un fill afectat i un 50 % de fills portadors, independentment del sexe. Si el gen es troba

TAULA II

Freqüència de la síndrome de Down

Edat materna (anys)	Freqüència estimada
20	1/1.925
25	1/1.025
30	1/885
35	1/365
40	1/110
45	1/32
49	1/12

TAULA III

Exemples de malalties metabòliques

Autosòmiques dominants
 Hipercolesterolèmia familiar
 Corea de Huntington
 Osteogènesi imperfecta

Autosòmiques recessives
 Fibrosi quística
 Fenilcetonúria
 Mucopolisacaridosi

Recessives lligades al X
 Distròfia muscular de Duchenne
 Hemofília

en el cromosoma X (herència lligada al X) normalment tan sols els mascles són afectes i les femelles són portadores: si la mare és portadora, el 50 % de les filles seran portadores i el 50 % dels fills estarà afectat.

La biologia molecular aporta una sèrie de tècniques per determinar els errors en els gens. Això implica la possible utilització de qualsevol material fetal. Darrerament, el que més s'utilitza són les vellositats coriòniques a causa de la gran quantitat de DNA que se n'obté.

Les estratègies moleculars a seguir són dues: l'estudi directe o l'estudi indirecte. L'estudi directe s'aplica quan el gen afectat és conegut, i per tant es coneix el tipus de mutació que pateix: substitució d'un nucleòtid o deleció de material genètic. Per posar en evidència la lesió gènica s'utilitza una sonda específica. En aquest cas, l'estudi familiar no és del tot necessari. Entre les malalties que es poden determinar amb aquest mètode hi ha diverses hemoglobinopaties com les talassèmies, la distròfia muscular de Duchenne i la fibrosi quística.

L'altre mètode a seguir, l'indirecte, s'empra quan es desconeix la natura de la lesió gènica. L'estudi es fa quan no hi ha sondes específiques però sí que hi ha marcadors genètics suficientment propers al locus lesionat. En molts casos s'utilitzen els FRLP (fragments de restricció de longitud polimòrfica) obtinguts després de digerir amb enzims de restricció el DNA genòmic, i es fan estudis de lligament gènec. En aquest cas és necessari l'estudi familiar. Algunes de les malalties que es poden estudiar a partir d'aquesta tècnica són: la síndrome de la fragilitat del cromosoma X, el retinoblastoma familiar, el nefroblastoma familiar, la corea de Huntington, i formes poc freqüents de la distrofia muscular de Duchenne i de fibrosi quística.

Diagnòstic bioquímic

Una part important del diagnòstic prenatal és aquella que tracta dels errors congènits del metabolisme. Possiblement, la majoria de les malalties d'herència mendeliana podrien estar dins d'aquest grup, ja que les diferents mutacions comporten una alteració (generalment, absència o defecte) de productes gènics específics. No obstant això, per tradició i per raons pràctiques, s'atribueix a aquesta categoria les malalties en les quals s'ha identificat i aclarit la natura del producte gènec mutat (malalties metabòliques).

En la darrera edició del catàleg de malalties genètiques de Mc Kusick (1990) (16) es registren ja gairebé cinc mil trastorns que segueixen una herència mendeliana i són, per tant, deguts a una mutació en un gen. D'unes quantes d'aquestes malalties es coneixen les bases moleculars del defecte: el gen mutat porta a la manca o a la síntesi incorrecta d'una proteïna estructural, o més generalment, enzimàtica, i amb això s'interromp un pas d'una seqüència de reaccions bioquímiques.

Les freqüències de les metabolopaties són mal conegudes, amb algunes excepcions que han estat objecte de programes de detecció precoç neonatal. Els exemples més coneguts es mostren en la taula IV. En les famílies afectades, el risc de recurrència és molt alt, del 25-50 %, i per tant té considerable valor preventiu el diagnòstic precís i ràpid del cas, amb el qual es possibilita la detecció de portadors en la família i l'accés al diagnòstic prenatal.

Al contrari del que succeeix amb el diagnòstic de cromosomopaties, en les malalties metabòliques recessives (que són les més freqüents) les indicacions per realitzar un diagnòstic prenatal bioquímic es redueixen pràcticament a dues: fill anterior afectat i parella

diagnosticada prèviament com a heterozigots portadors. Aquesta segona indicació, que seria la situació preventiva ideal, en la pràctica és quasi exclusiva de la malaltia de Tay-Sachs, que, donada la seva elevada incidència en determinats grups de població (freqüència de portadors 1:30 en els jueus ashkenazi), ha motivat en diversos països campanyes de detecció de portadors.

A més, a diferència de les cromosomopaties les malalties metabòliques s'han de buscar una a una, amb metodologies específiques en cada cas i, a més, es necessita més quantitat de material fetal; per això la sol·licitud de diagnòstic prenatal s'ha de fer per un únic i concret defecte metabòlic.

Actualment, de les més de tres-centes malalties metabòliques amb diagnòstic bioquímic conegut, se'n poden arribar a diagnosticar prenatalment més d'un centenar (10,33). Un petit grup d'elles es poden diagnosticar demostrant directament en el líquid amniòtic la presència elevada d'un compost d'estructura molecular ben definida; aquest és el cas d'algunes acidèmies orgàniques. Però la majoria (75 %) es diagnostiquen demostrant el defecte enzimàtic en cèl·lules fetals cultivades (amniòcits o cèl·lules trofoblàstiques). Si el defecte enzimàtic no s'expressa en aquestes cèl·lules, s'ha d'obtenir un altre tipus de material fetal, per exemple, biòpsia hepàtica per a diagnòstic de la glucogènesi tipus I, o sang fetal en alguns trastorns hematològics.

Defectes del tub neural

El tancament del tub neural durant el desenvolupament embrionari es completa durant el primer mes després de la concepció. Comença per l'extrem cefàlic de l'embrió,

TAULA IV

Malalties metabòliques més freqüents

Hipotiroidisme congènit
Cistinúria
Defecte d' α -l-antitripsina
Fenilcetonúria
Histidinèmia
Iminoglicinúria
Malaltia de Hartnup
Hiperprolinèmia
Acidèmia metilmalònica
Galactosèmia-GALT transferasa
Galactosèmia-cinasa
Dèficit d'ADA
Malaltia de Hurler
Malaltia de Hurler-Scheie
Malaltia de Hunter
Homocistinúria
Malaltia de l'orina en xarop d'erable
Tirosinèmia
Hiperlglicinèmia
Argininosuccinúria
Hiperornitinèmia
Malaltia de Scheie

Carrera. J. M. *Diagnóstico prenatal*. (1987).

progressa en sentit caudal i es completa cap al dia 28 de la gestació. L'error de tancament al nivell de l'extrem cefàlic dona com a resultat una anencefàlia; si es produeix en la meitat o en l'extrem caudal dona lloc a un meningocele (espinabifida cística) amb hidrocefàlia o sense.

Els defectes del tub neural són la causa més corrent d'anomalies en el Regne Unit (vegeu la taula V). Els diferents riscos de recurrència dels defectes del tub neural es mostren en la taula VI.

El 1972, Brock i Sutcliffe (28) varen informar que, en presència d'un defecte del tub neural, el líquid amniòtic conté quantitats més elevades d'alfa-fetoproteïna (α -FP).

TAULA V

Freqüència dels defectes del tub neural

País	Freqüència
Estats Units, Canadà, Japó, Itàlia	1/1.000
Anglaterra sud-oriental	3/1.000
Escòcia occidental	5/1.000
Gal·les (sud)	7,6/1.000
Irlanda (nord)	8,6/1.000
Irlanda (Rep.)	10/1.000

Dallapicola, B. *Progresos en diagnóstico prenatal* (1989).

TAULA VI

Risc de recurrència dels defectes del tub neural

	(%)
Pares sans amb un fill afectat	1,5-5
Pares sans amb dos fills afectats	6-10
Un pare afectat (meningocele)	2-4
Consanguinis	
– de 2n grau de pacient afectat	1-2
– de 3r grau de pacient afectat	1-1
Síndrome de Meckel-Gruber	25

Dallapicola, B. *Progresos en diagnóstico prenatal* (1989).

Els fetus anencèfals tenen sempre un nivell elevat d' α -FP en el líquid amniòtic. Els espines bífides «obertes», que representen al voltant del 95 % de totes les espines bífides cístiques, tenen sempre també un nivell elevat d' α -FP amniòtica. El 5 % restant d'espines bífides cístiques, que consisteixen en mielomeningoceles i meningoceleles «tancats», coberts per la pell o per una membrana gruixuda, poden no tenir una elevació del nivell d' α -FP amniòtica, i per tant poden quedar sense detectar; però aquests solen estar associats a defectes neurològics menys greus i tenen un pronòstic relativament bo.

Al voltant del 90 % dels defectes del tub neural apareixen en famílies de les quals no se sap que tenen aquest risc. Al principi de l'embaràs, poden detectar-se en el sèrum matern nivells baixos d'aquesta proteïna, però aquests nivells s'eleven durant el segon trimestre. Brock (3) va demostrar que, en presència d'una anencefàlia o una espina bífida oberta, els nivells d' α -FP també estan elevats en el sèrum matern. Aquesta elevació es veu per primera vegada després de la 13a setmana d'ame-

norrea, però és fa més evident a mesura que avança el segon trimestre. A causa d'aquest fet, en països on la incidència de defectes de tub neural és més alta (vegeu la taula V), existeixen programes de prevenció en les poblacions de risc. L'estudi es realitza amb l'anàlisi dels nivells d' α -FP en sèrum de totes les gestants, i amb la determinació en el líquid amniòtic en els casos de valors elevats en sèrum.

S'ha vist també l'existència de nivells elevats d' α -FP sèrica materna en embarassos múltiples, en avortaments diferits i amenaces d'avortament, i en gestants amb tumors hepàtics.

Arran dels estudis sistemàtics d' α -FP en sèrum matern es va trobar una possible relació entre valors molt baixos i fetus portadors de trisomies, especialment la trisomia 21. Això va portar a estudiar també altres marcadors en sèrum matern que estiguessin alterats en casos d'embarassos amb trisomia, com per exemple l'HCG (gonadotropina coriònica) o l'estriol.

Actualment diversos centres d'arreu del món estan incorporant programes de detecció d'embarassos amb risc elevat de trisomia, mitjançant els estudis de marcadors en sèrum matern de totes les embarassades.

Diagnòstic ecogràfic

El diagnòstic ecogràfic constitueix un dels elements principals del diagnòstic prenatal a causa del seu paper directe com a element diagnòstic d'un gran nombre de malformacions, i també com a element de suport per utilitzar diverses tècniques diagnòstiques.

El caràcter no agressiu de la tècnica, indolora, i els seus bons resultats, converteixen l'ecografia en un element imprescindible per al diagnòstic prenatal.

L'ecografia es basa en la utilització d'una ona ultrasònica consistent en l'agitació vibratòria successiva de molècules o un grup d'elles al llarg d'un eix de pressió longitudinal. Quan el feix travessa medis de diferent densitat, es produeix una reflexió de l'ona, i la resta continua la seva propagació. Aquesta ona reflectida o eco és l'observada, i és el fonament de la seva utilització diagnòstica.

Fins fa poc temps només es podien diagnosticar algunes alteracions fetals molt importants, com l'anencefàlia o la focomèlia. En el moment actual és possible diagnosticar més del 80 % dels defectes congènits amb manifestació morfològica (vegeu la taula VII).

Resulta difícil donar una llista de totes les malformacions diagnosticables per ecografia a causa del gran nombre que se'n coneixen. En la taula VIII es mostren les identificacions ecogràfiques més freqüents al llarg de l'embaràs.

PERSPECTIVES DE FUTUR EN EL DIAGNÒSTIC PRENATAL

El diagnòstic prenatal està en constant evolució, i es treballa en diverses línies per aconseguir que se'n pugui beneficiar el màxim de població.

Diagnòstic de més malalties: El nombre de malalties congènites i hereditàries amb possibilitat de diagnòstic prenatal anirà creixent progressivament gràcies als avenços tecnològics, tant d'aparells (ecògrafs...) com d'enginyeria genètica (amb el coneixement del genoma humà).

TAULA VII

Malformacions congènites més freqüents diagnosticades per ecografia

Sistema nerviós central: anencefàlia, espina bífida, hidrocefàlia, microcefàlia, encefalocele.

Extremitats: nanisme sever, polidactília, osteogènesi imperfecta severa, deformació i reducció d'extremitats.

Cor: malalties congènites severes del cor.

Ronyons: agenèsia renal, obstrucció de la bufeta, malaltia poliquística infantil.

Tracte gastro-intestinal: atrèsia duodenal, defectes de la paret abdominal anterior, hèrnia diafragmàtica.

TAULA VIII

Identificacions ecogràfiques durant l'embaràs*Ecografies de primer trimestre (10-14 setmanes)*

- Edat de gestació
- Embaràs múltiple
- Patologia de l'òcit (avortaments i moles)
- Patologia ginecològica associada
- Algunes malformacions fetals

Ecografies en el segon trimestre (20 setmanes)

- Localització placentària
- Creixement fetal retardat (tipus I)
- 50 % de malformacions fetals

Ecografies tercer trimestre

- Identificació del sexe fetal
- Creixement retardat (tipus II)
- Malformacions fetals de diagnòstic tardà
- Altres

Selecció de grups amb risc: En determinades malalties genètiques recessives i lligades al cromosoma X, la detecció de portadors asimptomàtics permetrà estendre el diagnòstic prenatal a la població amb risc. En el cas de les cromosomopaties, l'estudi de marcadors en sang materna permetrà seleccionar embarassades amb risc elevat, independentment del criteri fins ara establert de l'edat materna avançada.

Simplificació de les tècniques: Per a les anomalies més usals (com per exemple la síndrome de Down), la tecnologia del DNA permetrà la seva identificació en les cèl·lules en interfase, i s'eliminarà la necessitat dels cultius per obtenir cromosomes i s'escurçarà d'una manera evident el temps necessari per a l'obtenció del diagnòstic.

Innocuïtat de les tècniques: Es treballa també per reduir el risc (d'avortament posterior al procediment) de les tècniques de diagnòstic prenatal. Un exemple podria ser la identificació de cèl·lules fetals en la circulació materna. El seu aïllament i amplificació del DNA per les tècniques de la PCR poden facilitar el diagnòstic del fetus sense «agredir-lo».

Precocitat de les tècniques: L'anomenat *diagnòstic preimplantacional* seria el cas més espectacular, en casos de risc elevat de malaltia genètica.

Teràpia fetal: Actualment el diagnòstic prenatal està encaminat sobretot a evitar el naixement de nens amb greus defectes, però a la llarga alguns tipus de defecte podran ser tractats *in utero*, o bé quirúrgicament, o bé per mitjà de la genètica molecular, introduint en el fetus la rèplica normal del gen defectuós.

BIBLIOGRAFIA

1. BARR, M. L. i E. G. BERTRAN (1949). A morphological distinction, between neurones of the male and female, and the behavior of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. **Nature**. 163: 676-677.
2. BOUE, J., H. NICOLAS, F. BARICHARD i A. BOUE (1979). Le clonage des cellules du liquide amniotique aide dans l'interpretation des mosaïques chromosomiques en diagnostic prénatal. **Ann. Génét.** 22: 3-9
3. BROCK, D. J. H. (1976). Prenatal diagnosis- chemical methods. **Brit. Med. Bull.** 32: 16
4. CARRERA, J. M. (1987). **Diagnóstico prenatal**. Ed. Salvat Barcelona.
5. CASALS, E., M. T. PÉREZ, J. FUSTER, T. FARGUELL, J. CARARACH, A. SOLER, A. CARRIÓ, D. COSTA, E. MARGARIT, C. SALAMI, I. BALMES i A. FORTUNY (1989). Alfafetoproteína y acetilcolinesterasa específica en líquido amniótico. Estudio de 2836

- gestaciones. **Progresos en diagnóstico prenatal.** 1: 205-209.
6. DAFFOS, F., M. CAPELLA-PAVLOVSKY i F. FORESTIER (1983). A new procedure for fetal blood sampling in utero: Preliminary results of fifty-three cases. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 146: 985-987
 7. DALLAPICOLA, B. (1989). Diagnóstico prenatal bioquímico: etiología y epidemiología. **Progresos en diagnóstico prenatal.** 2: 58-62.
 8. DONALD, I. (1965). Ultrasonic echosounding in obstetrical and gynecological diagnosis. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 93: 935
 9. DUNNEM, G. i M. L. JOHNSON (1979). The ultrasonic demonstration of fetal anomalies in utero. **Reprod. Med.** 23: 195-206
 10. GALJAARD, H. (1980). **Genetic metabolic diseases. Early diagnosis and prenatal analysis.** Elsevier. North Holland, Amsterdam.
 11. GARRET, W. J., C. C. FISCHER i C. KOSSOF (1975). Hydrocephaly, microcephaly and anencephaly diagnosed in pregnancy by ultrasonic echography. **Med. J. Austr.** 2: 587-595
 12. GARRET, W. J. i C. KOSSOF (1978). The diagnosis of congenital anomalies of the urinary tract by grey-scale echography: **Recent advances on ultrasound diagnosis.** Kurjack, A. (ed.) Excerpta Medica, Amsterdam.
 13. HINSELMAN, M. (1969). Ultraschalldiagnostik in der Geburtshilfe. **Gynäkologie.** 2: 45-63
 14. HOBBS, J. C. i M. J. MAHONEY (1976). Fetoscopy and fetal blood sampling the present state of the method. **Clin. Obstet. Gynecol.** 19: 341.
 15. JACOBSON, C. i R. BARTER (1967). Intrauterine diagnosis and management of genetic defects. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 99: 796
 16. Mc KUSICK, V. A. (1990). **Mendelian Inheritance in man. Catalogs of autosomal dominant recessive and X-linked phenotypes.** Seventh Edition. The Johns Hopkins University Press. Baltimore. London.
 17. NADLER, H. L. (1968). Antenatal detection of hereditary disorders. **Pediatrics.** 42: 912-918
 18. NADLER, H. L. (1971). Indication for amniocentesis in early prenatal detection of genetic disorders. **Birth defects Original series.** V11: 5,5-9.
 19. NICOLAIDES, K. H., P. W. SOOTHILL, C. H. RODECK, i S. CAMPBELL (1986). Ultrasound-guided sampling of umbilical cord and placental blood to assess fetal wellbeing. **Lancet** i. p. 1065-1067
 20. PÉREZ, M. M., L. MÍGUEZ, E. CUATRECASAS i J. EGOZCUE (1991). Estudio citogenético de 537 biopsias de vellosidades coriales. **Progresos en Diagnóstico Prenatal.** 2: 95-97.
 21. ROBERT, O. (1985). El diagnóstico prenatal. **Mundo Científico.** 5: 812-822
 22. ROCKER, I. i K. M. LAWRENCE (1978). **Intrauterine fetal visualization and blood sampling. Prenatal Diagnosis.** Marken, J. D.; Stenge-Rutkowski, S. i Schiwinder, E. Ed. Ferdinand Enke, Stuttgart.
 23. RODECK, C. H. i S. CAMPBELL (1978). Sampling pure fetal blood by fetoscopy in the second trimester of pregnancy. **Br. Med. J.** ii: 728-730.
 24. RODECK, C. H., R. A. J. EADI i C. M. GOSDEN (1980). Prenatal diagnosis of epidermolysis bullosa letalis. **Lancet** 1: 949-952.
 25. RIIS, P. i F. FUCHS (1960). Antenatal determination of foetal sex in prevention of hereditary diseases. **Lancet** 2: 180-182.
 26. SACHS, L., D. M. SERR i M. DANON (1956). Analysis of amniotic fluid cells for diagnosis of foetal sex. **Brit. Med. J.** ii: 795-798
 27. SERR, D. M., L. SACHS i M. DANON (1955). Diagnosis of sex before birth using cells from the amniotic fluid. **Bull. Res. Council. Israel** 58: 137-138.
 28. SIGGER, D. C. (1979). **Diagnóstico Prenatal de las Enfermedades Genéticas.** Ed. Médica y Técnicas S A Barcelona.
 29. SIMONI, G., B. BRAMBATI, C. DANESINO, F. ROSSELA, G. L. TERZOLI, M. FERRARI i M. FRACCARO (1983). Efficient direct chromosome analysis and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. **Hum. Genet.** 63: 61-69.
 30. SIMONI, G., M. FRACCARO, G. GIMELLI, F. MAGGI i F. DAGNA BRICARELLI (1987). False-positive and false-negative findings on chorionic villus sampling. **Prenat. Diagn.** 7: 671-672.
 31. SIMPSON, J. L. (1983): **Genetics in Obstetrics and Gynecology.**
 32. SMIDT-JENSEN, S., i J. PHILIP (1991). Comparison of transabdominal and transcervical CVS and amniocentesis: sampling success and risk. **Prenat. Diagn.** 11: 529-537.
 33. STANBURY, J. B., J. B. WYNGAARDEN, D. S. FREDRICKSON, J. L. GOLDSTEIN i M. S. BROWN (1983). **The metabolic bases of inherited disease.** 5ª ed., McGraw Hill, Nova York.
 34. STEELE, M. W. i W. R. BREGG Jr. (1966). Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. **Lancet** 1: 383.
 35. TABOR, A., J. PHILIP, M. MADSEN, J. BANG, E. B. OBEL i B. NORGAAARD-PEDERSEN. (1986). Randomized controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. **Lancet.** i: 1287-1293.
 36. VALENTI C. (1972). Endoamniocopy and fetal biopsy: A new technique. **Am. J. Obstet. Gynecol.** 114: 561.