

EL DIAGNÓSTICO PRENATAL DE TRASTORNOS GENÉTICOS

DRA. ISABEL CASTRO*
DR. LEONARDO MATA*

RESUMEN

El diagnóstico prenatal de trastornos genéticos, es una de las aplicaciones clínicas de la genética más importante en la actualidad. En los países desarrollados, se ha convertido en un eslabón fundamental de la atención prenatal adecuada. El diagnóstico prenatal ha alterado dramáticamente el "consejo genético" (genetic counseling) que se brinda a las parejas que tienen la posibilidad de tener un niño malformado o que son portadores de un desorden hereditario.

Mientras que en el pasado las decisiones para tener hijos se basaban solamente en factores de riesgo tales como la probabilidad de tener un niño afectado (3%, 25%, 50%) ahora el diagnóstico prenatal puede asegurar que esta posibilidad puede ser de 0% (sano) o 100% (afectado).

SUMMARY

This article is a brief review of the prenatal diagnosis of hereditary diseases present status. It is focused mainly in the fetal diagnosis of genetic disorders through second trimester amniocentesis and culture of desquamated viable fetal cells (genetic amniocentesis). This procedure enables the prenatal diagnosis of genetic diseases with cytogenetic manifestations such as chromosome aberrations and with biochemical and molecular alterations such as inborn errors of metabolism, hemoglobinopathies and other diseases resulting from abnormal gene structure.

Diagnostic accuracy and pregnancy outcome data collected over the decade and a half since its introduction in the late '60's, reveals this procedure as highly accurate with very low risks and sequelae.

Attempts to culture and karyotype fetal cells from amniotic fluid have been successful at INISA, for the first time in Central America. An investigation has been carried out in order to establish prenatal diagnosis as a safe and reliable procedure for the benefit of high risk pregnancies in our country.

INTRODUCCION

El diagnóstico prenatal se realiza mediante la determinación del sexo, del cariotipo y de ciertos rasgos fenotípicos* del feto, generalmente antes de la vigésima semana de gestación. El procedimiento es usado cuando hay alguna

razón para sospechar que el feto pueda tener una anomalía detectable.

Hacia fines de 1955 se desarrolló un método para la determinación prenatal del sexo fetal, por cuatro grupos de investigadores trabajando independientemente en diferentes partes del mundo, el primero de los cuales fue el de Serr, Sachs y Danon en Israel (29). En 1966, Steele y Breg cultivaron con éxito e hicieron el cariotipo de células del líquido amniótico, lo que condujo, en menos de dos años, al primer diagnóstico prenatal de aberraciones cromosómicas y al primer diagnóstico *in utero* de un trastorno metabólico (33).

* Instituto de Investigaciones en Salud (INISA). Universidad de Costa Rica.

* Fenotipo es la naturaleza física, bioquímica y fisiológica completa de un individuo, la cual está determinada por su genotipo en interacción con el medio en el que el organismo se ha desarrollado, en el caso del feto, el ambiente intrauterino.

En 1970, una serie de 152 amniocentesis realizadas por indicación genética, mostraron un alto grado de certeza en el diagnóstico así como un riesgo relativamente bajo del procedimiento; a partir de entonces la técnica se difundió aceleradamente. Un taller internacional de trabajo que se reunió en Quebec en 1980 (18) estimó que se habían realizado a la fecha más de 100.000 amniocentesis genéticas.

Utilizando diversos métodos, se ha diagnosticado *in utero* una larga lista de padecimientos tales como:

- aberraciones cromosómicas diversas (3)
- errores innatos del metabolismo (27)
- malformaciones del tubo neural-anencefalia, encefalocele y espina bífida (3,23)
- hemoglobinopatias, hemofilia y anemias hemolíticas (24, 25)
- desórdenes ligados al cromosoma X (30)
- síndromes con fragmentación de cromosomas-síndrome de Bloom, ataxiatelangiectasia, anemia de Fanconi (30)
- genodermatosis-ictiosis tipo arlequín, epidermolisis bulosa letal e hiperqueratosis epidermolítica (10)
- anomalías estructurales de todo tipo (4, 5, 9)
- inmunodeficiencias (22)

PROCEDIMIENTO

En este artículo solamente se hará referencia al diagnóstico prenatal mediante amniocentesis y cultivo de las células fetales del líquido amniótico, procedimiento comúnmente llamado amniocentesis genética. La amniocentesis consiste en extraer líquido amniótico a través de una punción transabdominal. A pesar de que el agua, los electrolitos y otros compuestos difusibles pueden originarse en la madre, la cavidad amniótica es un comportamiento fetal, rodeado por la placenta y las membranas. Los constituyentes del líquido amniótico, por lo tanto, reflejan en mucho la condición fetal. El líquido amniótico se compone de agua y una variedad de solutos en concentraciones similares a las del suero materno. Contiene además proteínas fetales como la α - feto proteína y células descamadas probablemente de la piel, tractos génito-urinario, gastrointestinal, respiratorio y amnion. Aunque el número de células aumenta conforme a la gestación, el porcentaje de células viables disminuye (12). Pequeñas cantidades del líquido extraído se utilizan para análisis bioquímicos, como puede ser la determinación de la cantidad de α - feto proteína presente. Del resto del líquido se extraen las células, las cuales se colocan en recipientes de cultivo y se incuban para que

se multipliquen. La razón para cultivarlas es que las células se deben detener en un período de la división celular en el cual los cromosomas se hallan condensados y se pueden analizar, para lo que se requiere gran cantidad de células, tanto con fines citogenéticos como bioquímicos. Las células tardan 2 a 4 semanas en multiplicarse hasta una cantidad adecuada para realizar el diagnóstico

Por varias razones técnicas, se recomienda iniciar la amniocentesis en la semana décimosexta de gestación por la fecha de la última menstruación. En esa semana el volumen del líquido amniótico es de aproximadamente 200 ml, y el feto pesa alrededor de 100 g y mide cerca de 16 cm de longitud. En esa fecha, el útero es accesible por vía transabdominal, dejando suficiente tiempo para completar el diagnóstico antes de que el feto sea viable extrauterinamente y el cociente de células viables contra no viables es el mayor alrededor de esta época (13,33).

Se recomienda que la amniocentesis se acompañe de un examen ultrasonográfico para estimar la edad gestacional fetal, localizar el "pool" de líquido amniótico y el mejor sitio de punción evitando la placenta, el cordón y el feto. El ultrasonido permite además detectar el embarazo múltiple, excluir la muerte fetal, detectar posibles anomalías estructurales del feto y evaluar eventuales complicaciones por anomalías uterinas.

La amniocentesis debe ser hecha por un médico con habilidad, y que tenga experiencia en un mínimo de 100 amniocentesis del segundo trimestre; la destreza se mantiene con un volumen de 100 amniocentesis del segundo trimestre de gestación por año (18).

El 5 a 20% de las amniocentesis resulta en aspiración de líquido sanguinolento, sangre casi siempre de origen materno. El fracaso en aspirar líquido varía entre < 1 y 10% de las veces, dependiendo de la experiencia del médico y de la calidad del ultrasonido. La frecuencia de fallas en el cultivo varía mucho, también entre < 1 y 10% incluso en buenos laboratorios.

La aspiración de líquido color café, en vez de amarillo paja, se asocia a un mal pronóstico e indica que probablemente ocurrió un sangrado intra amniótico previo, y consecuentemente, se han acumulado productos de degradación de la hemoglobina. Ocasionalmente puede tenerse un líquido verduzco, generalmente teñido de meconio, lo que aparentemente no tiene importancia (33).

En cuanto al riesgo de isoinmunización Rh a consecuencia del procedimiento, Golbus en 1982 (15) examinó retrospectivamente 8.000 amniocentesis y encontró que entre 615 casos sólo se sensibilizaron el 2,1% a consecuencia del procedimiento; 11 de los 13 casos ocurrieron en una etapa temprana del programa; el autor concluyó que la experiencia obstétrica yuxtapuesta al uso de ultrasonido, pa-

rece disminuir el riesgo de isoimmunización a un nivel similar al que se observa en testigos en la literatura.

Cuando se detectan gemelos, se aspira líquido amniótico del primer saco y se inyecta un colorante diluido (rojo congo o indigo carmín al 1:10) antes de retirar la aguja. Seguidamente se localiza el segundo saco mediante ultrasonido, se aspira líquido, el cual debe ser claro y no teñido para confirmar que se trata del segundo saco (21).

Un grupo internacional de expertos en diagnóstico prenatal reunido en Quebec en 1980 (18) revisó la información concerniente a más de 20.000, encontrando un alto grado de certeza. Así, se obtuvo un diagnóstico correcto en más del 99,5% de los casos de aberraciones cromosómicas. En cuanto a enfermedades hereditarias y defectos del tubo neural, también se puede hacer un diagnóstico muy certero. Con respecto a la madre, las complicaciones serias de la amniocentesis son muy raras. Puede haber molestias abdominales leves o "cólicos" después de la misma, mientras que la incidencia de amnionitis es de aproximadamente 1 en 1000. Sólo pudo identificarse un caso de muerte materna atribuible a complicaciones de la amniocentesis. El procedimiento no puede ser considerado exento de riesgo para el feto; el riesgo, sin embargo, es pequeño, de aborto como consecuencia del procedimiento, no mayor de 1%. No se pudo demostrar efectos adversos de la amniocentesis en la mayoría de las complicaciones fetales que se investigaron como prematuridad, bajo peso al nacer, malformaciones congénitas, la mayoría de las complicaciones neonatales, y crecimiento y desarrollo post-natal hasta la edad de un año (18). Cuadro 1.

INDICACIONES PARA EL DIAGNOSTICO PRENATAL

La amniocentesis y cultivo de células fetales (amniocentesis genética) clásicamente se ha utilizado para detectar aberraciones cromosómicas, errores innatos del metabolismo y defectos del tubo neural.

Las indicaciones cromosómicas de la amniocentesis genética son: (18)

- 1.— Edad materna elevada: la más alta prioridad la tienen las mujeres mayores de 40 años. En la mayoría de los centros de diagnóstico prenatal, se le ofrece la oportunidad de amniocentesis a las mujeres mayores de 35 años.
- 2.— Antecedente de un hijo con Síndrome de Down, especialmente si la madre es menor de 30 años, por su conocido riesgo de recurrencia. Si la madre tiene entre 30 y 36 años, ha tenido un niño con Síndrome de Down, y por esta razón, presenta ansiedad en un embarazo posterior, debe existir la opción de la amniocentesis.
- 3.— Antecedente de haber tenido un hijo con cualquier otro tipo de aberración cromosómica, o malformaciones congénitas que sugieran un síndrome cromosómico.
- 4.— Parejas en las cuales uno de los miembros porta una translocación ya balanceada de Robertson o ya recíproca, o una inversión, especialmente cuando la rees-

Cuadro 1

EFICIENCIA DE LA AMNIOCENTESIS GENETICA SEGUN SEIS ESTUDIOS

	Los Angeles (6)* N = 2 500	Australia (8) N = 3 000	Inglaterra (31) N = 2 036	Alemania Occidental (32) N = 6 481	Francia (20) N = 1 061	Iowa (7) N=923
Fracaso en el cultivo, %	2,20	2,90	2,80	—	—	—
Certeza diagnóstica citogenética, %	99,64	99,93	99,51	99,80	—	99,68
Tiempo promedio de cultivo, días	22-30	15,6±5,6	14,3±3,7	—	—	—
Muerte fetal hasta la semana 28	1,30	1,16	3,7**	3,5**	1,30	1,30

* En paréntesis, referencia; N = número de amniocentesis

** Incluye muerte fetal tardía e intraparto.

Cuadro 2

**INDICACIONES PARA LA AMNIOCENTESIS GENETICA Y FRECUENCIA DE CADA UNA
SEGUN SEIS ESTUDIOS**

	Los Angeles (6)* N = 2 500	Australia (8) N = 3 000	Inglaterra (31) N = 2 036	Alemania Occidental (32) N = 6 481	Francia (20) N = 1 061	Iowa (7) N=923
Edad materna \geq 35 años	75,48**	74,12	63,70	64,85	37,13	72,05
Antecedente de Síndrome de Down	4,44	2,26	4,62		23,28	6,72
Antecedente de otro tipo de aberración cromosómica	3,00	2,63	0,74		4,62	2,82
Reestructuración cromosómica de uno de los padres	0,64	1,83	0,78	1,51	6,03	—
Trastorno ligado al cromosoma X	0,72	2,73	0,39	0,80	3,11	1,95
Errores innatos del metabolismo	0,72	1,17	0,49	0,83	1,41	0,32
Antecedente de defecto del tubo neural	5,12	—	16,75	4,07	13,48	11,70

* En paréntesis, referencia; N = número de amniocentesis

** Porcentaje relativo

tructuración ha sido detectada en la pareja con motivo del nacimiento previo de un niño malformado.

Además, el procedimiento está indicado en:

1. Madre con alto riesgo de trastorno ligado al cromosoma X (*heterocigota*), cuando no se puede establecer diagnóstico definitivo de la enfermedad en el feto por otros medios, para diagnósticos de sexo fetal.
2. Indicación bioquímica de que ambos padres son portadores de un error congénito del metabolismo, de herencia autosómica recesiva, o de madre portadora de trastornos metabólicos ligados al cromosoma X, algunos de los cuales pueden ser identificados en células cultivadas del líquido amniótico.
3. Antecedente de un hijo con defecto del tubo neural, clásicamente basado en la determinación de α - feto proteína en el líquido amniótico. Actualmente se cree que la combinación de ultrasonido más fetoscopia lleva al diagnóstico certero (4).

4. Cuando se trata de hemoglobinopatías en que se analiza el ácido desoxirribonucléico de los fibroblastos amnióticos fetales (17). Cuadro 2.

ABERRACIONES CROMOSOMICAS

La razón de estas indicaciones, se basa en los factores de riesgo actualmente conocidos. En el presente, se considera que por razones morales, técnicas y económicas, la amniocentesis precoz no debe realizarse para el diagnóstico de aberraciones cromosómicas, a menos que el riesgo de anomalía cromosómica sea superior al 1%.

Actualmente, el riesgo de anomalías cromosómicas detectables en la decimosexta semana de gestación es de 1,6% para el grupo etario de 35 a 39 años a la fecha probable de parto, 3,8% para el grupo de 40 a 44 años y 6,8% para el *quinquenio* 45-49 años (11).

Cuando hay antecedentes de trisomía 21, donde los cariotipos paternos son normales, el riesgo de recurrencia de Síndrome de Down es de 1,5% y el riesgo de recurren-

cia de aberración cromosómica en conjunto es de 1,4%. Las madres que tienen el riesgo más alto, son las que tuvieron un hijo afectado a la edad de 29 años o menores (11).

Un tipo de aberración cromosómica que puede ser desastrosa para el feto puede ser el resultado de un cambio inocuo en los cromosomas de cualquiera de los padres. Este cambio o reestructuración podría ser del tipo translocación o desplazamiento de un cromosoma o parte del mismo a un segundo cromosoma. Este defecto puede existir en todas las células paternas, en cuyo caso el defecto existía en el huevo fertilizado del cual partieron todas las células. Por el contrario, el defecto puede existir en sólo algunas de las células paternas. Estas células anormales son las que se originaron de una célula en el embrión en la cual ocurrió la translocación por vez primera. Este individuo se llama mosaico, pues tiene al menos dos líneas celulares de diferente cariotipo, derivadas de un mismo cigoto. En cualquiera de los dos casos, la translocación no causa ni pérdida ni ganancia de material cromosómico en ninguna célula del cuerpo. Por lo tanto el progenitor no manifiesta el trastorno. Sin embargo, las células germinativas del padre o la madre, durante la meiosis, se dividen, pero sus cromosomas no se duplican sino que se dividen entre las células hijas, de modo que si un cromosoma se ha translocado, una célula germinativa puede recibir material cromosómico en exceso y otra muy poco. Ambas condiciones son graves, especialmente la última. Cuando uno de estos gametos defectuosos es fecundado, el producto algunas veces aborta espontáneamente y otras veces llega a término y nace con malformaciones severas. El riesgo teórico de que la translocación sea desbalanceada es de 33 %, no obstante, el riesgo observado es mucho menor; varía según el tipo de translocación, según los cromosomas involucrados y, en general, el riesgo es menor si el portador de la translocación es el padre. A cada tipo de reestructuración se asocia un riesgo particular, pero para fines prácticos, se puede deducir un cálculo aproximado, dependiendo de la manera en que la aberración fue detectada en la pareja: si ha sido a través del nacimiento de un niño malformado, el riesgo de recurrencia tiende a ser alto, de un 20%; si la reestructuración cromosómica se descubrió durante una investigación por aborto habitual, el riesgo de aberración desbalanceada en la amniocentesis es de menos de 5% (11).

Otro tipo de reestructuración cromosómica son las inversiones. Lo que ocurre es que hay un cambio en la secuencia pero no en el número de genes. Los individuos son inversiones son fenotípicamente normales pero pueden producir también gametos desbalanceados si durante la meiosis I hay recombinación que involucra el segmento invertido. Los gametos desequilibrados que resultan de esta recombinación, muestran duplicación de ciertos genes y deficiencia de otros. En este caso también, un indicador del riesgo es la manera en que se detectó el problema, 20% si fue a través de recién nacidos malformados y menos de 5% si fue a través de aborto habitual (11). Otra generalización útil es

que cuanto más largo el segmento invertido mayor la frecuencia de recombinación. De hecho, la mayoría de las inversiones con descendencia anormal, involucran el 50-75% del largo total del cromosoma.

HERENCIA LIGADA AL CROMOSOMA X

En el grupo de trastornos recesivos ligados al cromosoma X sólo los varones se ven afectados, en la gran mayoría de los casos. Este fue el grupo de enfermedades hereditarias que primero se diagnóstico prenatalmente por amniocentesis, en 1960. Son causadas por un gene defectuoso que es parte de un cromosoma X. En los hombres, la presencia de este defecto produce la manifestación del padecimiento porque la versión defectuosa del gene es la única copia en cada célula. En las mujeres, en cambio, un cromosoma X defectuoso es enmascarado por otro normal. La mujer no manifiesta la enfermedad pero es portadora, y transmitirá el gene defectuoso a la mitad de sus hijos. Como promedio, la mitad de sus hijos varones van a manifestar la enfermedad y la mitad de sus hijas serán portadoras también. Generalmente, la mujer sabe que tiene este riesgo pues por muchas generaciones, algunos de sus ancestros masculinos se han visto afectados. El examen de los cromosomas de las células del líquido amniótico revela el sexo del feto. La indicación de amniocentesis es muy fuerte puesto que el trastorno tiene una incidencia de 50% en el varón. Actualmente se hace esfuerzos para diagnosticar el problema tratando de correlacionarlo con otra característica del feto aparte del sexo. Esto ya se ha logrado para la hemofilia tipo A, en la que el test diagnóstico es la determinación de antígeno del factor VIII, y en otros trastornos. En el caso de la distrofia muscular de Duchenne y otros padecimientos severos ligados al cromosoma X, esto no ha sido posible, debido a que el defecto bioquímico de fondo es aún desconocido.

ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO

Los errores innatos del metabolismo, se heredan la mayoría de los casos en forma autosómica recesiva o recesiva ligada al sexo, por lo tanto, el riesgo para los padres de un niño afectado, que otro niño siguiente lo esté también, es de 25% (16).

DEFECTOS DEL TUBO NEURAL

Para los padres que han tenido un bebé con defecto del tubo neural, el riesgo de recidiva varía mucho en función de la prevalencia de este tipo de trastornos en la población; para los Estados Unidos es de alrededor de 2%, y para el Reino Unido, donde la prevalencia es mayor, es de aproximadamente 4,4% (14,31).

En los países desarrollados que cuentan con este servicio, una vez que se identifica a una mujer con riesgo elevado de estar gestando un feto anormal, cuyo defecto puede ser diagnosticado prenatalmente, se le informa de esta

HALLAZGOS CITOGENETICOS EN AMNIOCENTESIS GENETICA, SEGUN SEIS ESTUDIOS

	Los Angeles (6)* N = 2 500	Australia (8) N = 3 000	Inglaterra (31) N = 2 036	Alemania Occidental (32) N = 6 481	Francia (20) N = 1 061	Iowa (7) N=923
Fetos con aberraciones cromosómicas y con riesgo de enfermedad ligada a X	---	4,4	3,29	3,30	---	---
Fetos con aberraciones cromosómicas con repercusión fenotípica	1,56**	2,0	1,30	1,90	1,7	2,17
Aberraciones autosómicas:						
+21	0,76	0,97	0,78	1,03	---	1,41
+18	0,16	0,13	0	0,23	---	0,11
Reestructuración balanceada	1,12	1,10	1,90	0,96	---	0,65
Reestructuración desbalanceada	0,20	0,23	0,05	0,18	---	0,11
+13, + marcador, mosaicos, etc.	0,08	0,06	0	0,14	---	0,22
Aberraciones gonosómicas:						
XO, XXX, XYY	0,08	0,27	0,25	0,09	---	0,11*
XXY	0,20	0,17	0,15	0,18	---	0,22
Mosaicos, reestructuraciones, etc.	0,08	0,03	0,05	0,04	---	0

* En paréntesis, referencia; N= número de amniocentesis

** Porcentaje relativo

posibilidad y si accede a la amniocentesis se cita a la pareja para una sesión larga de consejo genético, mandatoria previa al procedimiento, para informarla de la razón de la amniocentesis, de las limitaciones diagnósticas, de los riesgos inherentes al procedimiento, de que pueden transcurrir 3-4 semanas antes de que se conozca el resultado, de los potenciales problemas técnicos que pueden hacer necesaria una segunda amniocentesis, o, aunque raro, de la imposibilidad de hacer diagnóstico alguno.

VENTAJAS DEL DIAGNOSTICO PRENATAL

El diagnóstico prenatal tiene muchas ventajas: entre las numerosas anomalías fetales que pueden ser ahora detectadas, muchas conducen a padecimientos incapacitantes y muchas causan la muerte a una edad temprana. Otras

causan retardo mental tan severo que imposibilitan una vida normal. (Cuadro 3). Para la mayoría no existe tratamiento aún, pero si pueden ser detectadas a una edad temprana, el embarazo se puede interrumpir. Incluso aquellos posibles padres que no consideren el aborto aceptable, pueden pensar que es importante conocer el diagnóstico, de modo que puedan prepararse para el nacimiento de un niño afectado. Más aún, una gran proporción de padres que saben que tienen el riesgo de procrear un hijo con un padecimiento genético, sin duda evitarían el embarazo, a menos que cuenten con diagnóstico prenatal, o escogerían el aborto automáticamente en caso de embarazo. Desde el punto de vista clínico, el manejo prenatal y del parto, puede variar según el feto sea normal o anormal. Por otra parte, la evidencia de los beneficios económicos de la prevención, para la pareja y la sociedad en general, es clara (28).

EL DIAGNOSTICO PRENATAL EN COSTA RICA

En Costa Rica, la desnutrición, diarrea y otras enfermedades infectocontagiosas, han dejado de ser causas importantes de morbi-mortalidad infantil, por razones de todos conocidas (26). Estos problemas han sido sustituidos por la patología propia de los países más desarrollados, como son las malformaciones congénitas, en que este problema causa el 25% más de la mortalidad perinatal (2). En efecto, en nuestro país, la segunda causa de muerte en el primer año de vida, son precisamente las malformaciones congénitas (Departamento de Estadística del Ministerio de Salud). Este es un problema de salud importante actual, cuya etiología es diversa y muchas veces oscura; sin embargo, se ha podido demostrar que alrededor del 6% de todas las malformaciones serias en niños recién nacidos vivos, se asocian con aberraciones cromosómicas groseras, y que esta cifra aumenta cuando se incluyen los hallazgos en mortinatos (19).

En vista de esta situación, durante el curso de 1984 se iniciaron actividades de laboratorio tendientes al cultivo de células del líquido amniótico, en los laboratorios del INISA, de acuerdo a un protocolo previamente aprobado. Así se han obtenido muestras de líquido amniótico recolectadas mediante amniocentesis bajo inspección de ultrasonido. A partir de varios casos en que se logró recolectar exitosamente el líquido amniótico, se realizaron por primera vez en Centro América los siguientes procedimientos:

- a. Cultivo *in vitro* de células descamadas por el feto en el líquido amniótico.
- b. Determinación de la constitución cromosómica fetal.
- c. Bando de cromosomas fetales con las técnicas G.T.G. y Q.F.Q. para análisis más fino de los cromosomas

BIBLIOGRAFIA

1. Aymé, S., Mattei, J.F., Mattei, M-G. & Giraud, F. Anomalies chromosomiques: facteurs de risque actuellement connus. *J. Génét. Hum* 1980, 28: 28: 155-178.
- 2.- Barrantes, R. Las malformaciones congénitas en Costa Rica I. Mortalidad, registro y vigilancia. *Act. Méd. Cost.* 1980, 23: 119-131.
- 3.- Brock, D.J.H. Amniotic fluid tests for fetal neural tube defects. *Br. Med. Bull.* 1983, 39: 373-377.
- 4.- Campbell, S. Diagnosis of fetal abnormalities by ultrasound. IN: Milunsky, A. (ed) *Genetic disorders and the fetus*. Plenum, New York, 1979, p. 421.
- 5.- Campbell, S. & Pearce, J.M. Ultrasound visualization of congenital malformations. *Br. Med. Bull.* 1983, 39: 322-331.
- 6.- Crandall, B.F., Lebherz, T.B., Rubinstein, L., Robertson, R.D., Sample, W.F., Sarti, D. & Howard, J. Chromosome findings in 2.500 second trimester amniocentesis. *Am. J. Med. Genet.* 1980, 5: 345-356.
- 7.- Cruikshank, D.P., Varner, M.W., Cruikshank, J.E., Grant, S.S. & Donnelly, E. Midtrimester amniocentesis. An analysis of 923 cases with neonatal follow-up. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1983, 146: 204-211.
- 8.- Daniel A, A., Stewart, L., Saville, T., Brookwell, R., Paull, H., Purvis-Smith, S. & Lam-Po-Tang, P.R.L.C. Prenatal diagnosis in 3.000 women for chromosome X-linked and metabolic disorders. *Am. J. Med. Genet.* 1982, 11: 61-75.
- 9.- De Vore, G.R. & Hobbins, J.C. Diagnosis of structural abnormalities in the fetus. *Clin. Perinat.* 1979, 6: 293-319.
10. Elias, S. & Esterly, N.B. Prenatal diagnosis for hereditary skin disorders. *Clin. Obstet., Gynecol.* 1981, 24: 1069-1087
- 11.- Ferguson-Smith, M.A. Prenatal chromosome analysis and its impact on the birth incidence of chromosome disorders. *Br. Med. Bull.* 1983, 39: 355-364.
- 12.- Fuchs, F. & Cederqvist, L.L. Use of amniotic fluid cells in prenatal diagnosis. In: Fairweather, D.V.I. & Eskes, T.K.A.B. (eds). *Amniotic fluid-research and clinical applications*. 2nd, revised ed. Excerpta Medica, 1978, p. 277.
- 13.- Gerbie, A.B., & Elias, S. Technique for midtrimester amniocentesis for prenatal diagnosis. *Seminars in Perinatology*. 1980, 4: 159-163.
- 14.- Golbus, M.S. & Stephens, J.D. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities and neural tube defects. *Clin. Perinat.* 1979, 6: 245-254.
- 15.- Golbus, M.S., Stephens, J.D., Cann, H.M., Mann, J. & Hensleigh, P.A. Rh isoimmunization following genetic amniocentesis. *Prenat. Diagn.* 1982, 2: 149-156.
16. Harper, P.S. Genetic counseling and prenatal diagnosis. *Br. Med. Bull.* 1983, 39: 302-309.
- 17.- Humphries, S.E. & Williamson, R. Application of recombinant D.N.A. technology to prenatal detection of inherited defects. *Br. Med. Bull.* 1983, 39: 343-347.
- 18.- International Workshop on Prenatal Diagnosis of Genetic Disease: "Prenatal diagnosis-Past, Present and Future". (November, 1979, Quebec, Canada). *Prenatal diagnosis. Special issue.* Wiley Med. Publ. J.L. Hamerton & N.E. Simpson (eds), 1980.
- 19.- Kalter, H. & Warkany, J. Congenital malformations, *New Engl. J. Med.* 1983, 308: 424-431 & 491-497.
20. Larget-Piet, L. & Larget-Piet, A. Diagnostic prenatal des affections génétiques. A propos de 1.061 amniocentèses précoces. *J. Génét. Hum.* 1980, 28: 233-238.
- 21.- Librach, C.L., Doran, T.A., Renzie, R.J. & Jones, J.M. Genetic amniocentesis in seventy twin pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1984, 148: 585-591.
- 22.- Lynch, D.C. Prenatal diagnosis of immunodeficiency disorders. *Br. Med. Bull.* 1983, 39: 399-404.

- 23.- Macri, J.N., Baker, D.A., & Baim, R.S. Diagnosis of neural tube defects by evaluation of amniotic fluid. Clin. Obstet. Gynecol. 1981, 24: 1089-1102.
- 24.- Mibashan, R.S. & Millar, D.S. Fetal haemophilia and allied bleeding disorders. Br. Med. Bull. 1983, 39: 392-398.
- 25.- Modell, B. Prevention of the haemoglobinopathies. Br. Med. Bull. 1983, 39: 386-391.
- 26.- Mohs, E. Infectious diseases and health in Costa Rica: the development of a new paradigm. Ped. Inf. Dis. 1982, 1:212-216.
- 27.- Patrick, A.D. Inherited metabolic disorders. Br. Med. Bull. 1983, 39: 378-385.
- 28.- Savodnick, A.D., & Baird, P.A. A cost-benefit analysis of prenatal detection of Down Syndrome and neural tube defects in older mothers. Am. J. Med. Genet. 1981, 10: 367-378.
- 29.- Serr, D.M., Sachs, L. & Danon, M. Diagnosis of sex before birth using cells from amniotic fluid. Bull. Res. Coun. Israel E., 5B., 1955, 137.
- 30.- Simpson, J.L. Antenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. Clin. Obstet. Gynecol. 1981, 24: 1023-1039.
- 31.- Squire, J.A., Nauth, L. Ridler, M.A.C., Sutton, S., & Timberlake, C. Prenatal diagnosis and outcome of pregnancy in 2,036 women investigated by amniocentesis Hum. Genet. 1982, 61: 215-222.
- 32.- Stengel-Rutkowski, S. Le diagnostic antenatal: Resultats et risques experience de Allemagne de Ovest. J. Génét. Hum. 1980, 28: 73-78.
- 33.- Verp, M.S. & Gerbie, A.B. Amniocentesis for prenatal diagnosis. Clin. Obstet. Gynecol. 1981. 24: 1007-1021.

Agradecimiento:

Los autores agradecen el financiamiento aportado por la Vicerrectoría de Docencia y el Centro para el Desarrollo Internacional a la Investigación del Canadá (IDRC). Se agradece la colaboración y consejo de la Lic. Patricia Cuenca y la revisión editorial del Dr. Ramiro Barrantes, ambos investigadores del INISA.