

MESAS REDONDAS ACADEMICAS

DIAGNOSTICO PRENATAL DE ENFERMEDADES HEREDITARIAS *

I INTRODUCCION

RUBÉN LISKER ‡

El temor de tener un hijo malformado o con retraso mental, lo tienen la mayoría de las mujeres en algún momento del embarazo. Esta inquietud es habitualmente controlada con facilidad por el obstetra; sin embargo, cuando hay antecedentes de anomalías, es difícil lograr dicha tranquilidad y se recurre, cada vez con mayor frecuencia, al genetista para que éste proporcione su consejo. Hasta hace poco, lo que se hacía era dar el riesgo teórico de recurrencia de la anomalía en cuestión; si el riesgo era bajo, la noticia era muy bien recibida, pero si la cifra era elevada, algunas personas solicitaban la interrupción del embarazo y otras sufrían

a lo largo del mismo esperando el resultado. Esta situación se ha mejorado considerablemente desde que se practica la amniocentesis transabdominal temprana (semanas 12 a 20) con fines de diagnóstico prenatal de las enfermedades hereditarias,¹ que permite asegurar si un producto está o no afectado, en lugar de dar cifras de probabilidad.

Los estudios que actualmente se realizan en el líquido amniótico, permiten diagnosticar todas las alteraciones cromosómicas y varios errores congénitos del metabolismo.²⁻⁴ Para conocer el sexo y la presencia de anomalías cromosómicas, se realizan estudios directos de cromatina sexual, se aplican las nuevas técnicas de fluorescencia que identifican al cromosoma Y,⁵ y se hace cultivo de las células fetales para estudios de cariotipo.

* Mesa redonda presentada en la sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, celebrada el 9 de febrero de 1972.

‡ Académico numerario. Instituto Nacional de la Nutrición.

En relación a los errores congénitos del metabolismo, es posible diagnosticarlos, utilizando datos aportados por estudio del sobrenadante del líquido amniótico o de las células fetales presentes en el mismo, ya sea en forma directa o mediante su cultivo.

Como se hará evidente en el curso de esta serie de artículos, son muchas las situaciones donde el estudio del líquido amniótico tiene utilidad diagnóstica. Sin embargo, es más importante señalar que la información obtenida tiene utilidad terapéutica, ya que con la seguridad de un diagnóstico y siempre y cuando los padres lo soliciten, puede inducirse el aborto. Este es el objeto principal del procedimiento y ello plantea problemas no sólo de orden estrictamente médico, sino que entra al terreno de la ética y de la ley.

Podría pensarse que ya que en nuestro país no es legal el aborto, no existiría ningún problema al respecto, ya que tal medida estaría automáticamente excluida. Sin embargo, esta idea es equivocada, porque la cantidad de abortos criminales en México es impresionante; constituye la causa más importante de mortalidad materna⁶ y en la experiencia de los genetistas, las solicitudes de aborto terapéutico por motivos genéticos no son raras.

Para discutir en forma inteligente el problema conviene enfatizar algunos hechos:

1. Los propósitos de terminar el embarazo no son eutanásicos, ya que no entra en la consideración el eliminar sufrimientos al producto anormal, sino más bien se trata de evitar los problemas que su nacimiento pueda ocasionar dentro del seno familiar, que suelen ser muy graves. Por otra parte, existen ciertas ventajas eugenéticas y, además, tiene méritos sociales,

ya que los sujetos con defectos genéticos serios, son con frecuencia una carga importante para la comunidad.

2. La decisión de realizar el aborto debe ser de los padres y no del médico. El médico puede opinar sobre los problemas técnicos del mismo, pero no sobre la moralidad del procedimiento, ya que no debe constituirse en conciencia y juez de ninguna comunidad.⁷ El médico está en su perfecto derecho de no realizar un aborto si su propia ética se lo impide, pero no puede decidir sobre si el procedimiento es para otros, bueno o malo desde el punto de vista moral.

3. La práctica ha mostrado que el diagnóstico prenatal de las enfermedades hereditarias, permite que un buen número de parejas tengan hijos, cuando, de no haber contado con este procedimiento, quizá no se hubieran arriesgado a tener más descendencia.⁸

A pesar de que en México es nula o muy escasa la experiencia con este procedimiento, se decidió revisar la experiencia mundial al respecto, debido no sólo a su trascendencia médica, sino también a que, como ya se señalaba, plantea problemas de orden ético y legal que es necesario afrontar y resolver después de adecuada meditación y discusión.

REFERENCIAS

1. Gertner, M.; Hsu, L.; Martin, J., y Hirshhorn, K.: *The use of amniocentesis for prenatal genetic counseling*. Bull. N. Y. Acad. Med. 46: 916, 1970.
2. Nadler, H., y Gerbie, A.: *Role of amniocentesis in the intrauterine detection of genetic disorders*. New Eng. J. Med. 282:596, 1970.
3. Milunsky, A.; Littlefield, J.; Kanfer, J.; Kolodny, E.; Shih, V., y Atkins, L.: *Prenatal genetic diagnosis*. New Eng. J. Med. 283:1370, 1441 y 1498, 1970.
4. Bergsma, D. (Ed.): *Symposium on intrauterine diagnosis*. Birth Defects. Original Article Series 3:5 y 10, 1971.
5. Pearson, P.; Bobrow, M., y Vosa, C.: *Tech-*

- nique for identifying Y chromosomes in human interphase nuclei.* Nature 226:78, 1970.
6. Puffer, R., y Griffith, W.: *Características de la mortalidad urbana.* Publicación científica No. 151, O.M.S. Ginebra, 1968.

7. Linton, E., y Brame, R.: *Abortion. Should the physician be the conscience of society?* Obst. Gynec. 35:465, 1970.
8. MacIntyre, M. N.: *Prenatal chromosome analysis. A lifesaving procedure.* South. Med. J. 64:85, 1971.

II RIESGOS E INDICACIONES

SALVADOR ARMENDARES *

La amniocentesis se ha practicado desde hace algunos años para determinar las condiciones del feto en las madres sensibilizadas al factor Rh, para administrar transfusiones intrauterinas y para llevar a cabo amniografías. Recientemente ha aumentado el interés en el estudio del líquido amniótico y las células que éste contiene, como un medio de diagnóstico *in utero* de las enfermedades hereditarias.

La posibilidad de diagnosticar, antes del nacimiento, un trastorno hereditario, tiene importancia, ya que si existe tratamiento efectivo para la enfermedad, éste puede iniciarse inmediatamente después del nacimiento, lo que puede representar la salvación de una vida como en el caso del síndrome de hiperplasia suprarrenal congénita de la variedad perdedora de sal y evitar o reducir el grado de deficiencia mental en ciertos errores congénitos del metabolismo. También tiene gran valor como ayuda en decidir, la conducta a seguir en las familias en que existe un "alto riesgo" de que un hijo sufra de algún proceso patológico hereditario ya que se establece la posibilidad de asegurar el nacimiento de un niño sano mediante el aborto selectivo de los fetos anormales con lo que sería posible reducir la frecuencia

de muchos procesos hereditarios y algunos podrían prácticamente erradicarse de la población.¹

También es posible la determinación del grupo sanguíneo ABO en el feto a partir del estudio de las células del líquido amniótico lo cual puede tener importantes utilidades prácticas. Por último, el estudio cuanti y cualitativo de las enzimas en el cultivo de tejido de las células del líquido amniótico significa un avance reciente con implicaciones muy interesantes.

Hay otros procedimientos como el estudio radiológico²⁻⁴ y electrocardiográfico⁵ del feto, que pueden utilizarse para el diagnóstico *in utero* de ciertas anomalías hereditarias, pero estas técnicas tienen aplicación muy limitada en el diagnóstico prenatal ya que sólo son útiles en el embarazo muy avanzado.

Para el diagnóstico prenatal de las enfermedades hereditarias el procedimiento más utilizado y prometedor es el estudio del líquido amniótico y de las células contenidas en él.

Para obtener el material de estudio se han intentado varios procedimientos como la inserción de una aguja especial a través del fórnix vaginal o del canal cervical, para tener una biopsia de las membranas fetales,⁶ y las biopsias de placenta por punción transabdominal,⁷ pero la técnica utilizada por la mayor parte de los inves-

* Académico numerario. Departamento de Investigación Científica. Instituto Mexicano del Seguro Social.

tigadores es la aspiración del líquido amniótico por punción transabdominal bajo anestesia local.

El tiempo en el cual debe efectuarse la punción transabdominal tiene importancia, ya que cuanto más avanzado está el embarazo más fácil es la técnica, y hay más líquido y por tanto mayor posibilidad de obtener una cantidad adecuada para el estudio. Pero la aspiración del líquido amniótico debe hacerse en una fase temprana del embarazo para que sea factible la terminación del mismo si ello está indicado, teniendo en cuenta que puede llevarse varias semanas el cultivo de las células antes de obtener resultados. La mayor parte de los laboratorios hacen la punción entre la duodécima y la vigésima semanas de embarazo.

Riesgos de la amniocentesis

Los riesgos que entraña la amniocentesis efectuada en el embarazo temprano pueden dividirse en aquellos que afectan al feto y los que afectan a la madre.

Los riesgos mayores para la madre incluyen la hemorragia, la infección, la sensibilización a grupo sanguíneo y la perforación de vísceras. Algunas publicaciones recientes indican que estas complicaciones son extremadamente raras. En uno de los trabajos de Emery y colaboradores,⁸ cuando la amniocentesis transabdominal se efectuó antes de la vigésima semana de gestación no se observaron complicaciones en 34 casos. Nadler⁸ revisó este problema y en una serie de más de 200 casos no encontró uno solo de complicación materna, aunque en la mayoría de ellos la amniocentesis se efectuó inmediatamente antes de la terminación del embarazo. Teóricamente existe el riesgo de iniciar o agravar una sensibilización a

grupo sanguíneo en la madre.^{9, 10} Este es un aspecto que ha suscitado controversia aunque existen evidencias recientes que indican que este peligro inmunológico de la amniocentesis no es mayor que el del embarazo por sí mismo.^{11, 12} Por otra parte este riesgo podría disminuirse si antes de efectuar la amniocentesis transabdominal se hiciera la localización ultrasónica de la placenta.

Las complicaciones que pueda sufrir el feto son más frecuentes e incluyen traumatismo, infección y aborto espontáneo. Creasman y colaboradores¹³ revisaron las complicaciones fetales que se habían presentado en los casos en que se había efectuado amniocentesis por motivo de estados de incompatibilidad Rh, es decir, en los estadios tardíos del embarazo. Sólo encontraron complicaciones fetales en 37 casos después de más de 2 000 punciones, lo que representa menos del 2 por ciento y algunas de estas complicaciones se presentaron durante la ejecución de una amniografía o de una transfusión intrauterina, procedimientos que representan peligros adicionales para el feto e independientes de la amniocentesis por sí misma. Cuando la amniocentesis se efectuó antes de la vigésima semana con propósitos de diagnóstico prenatal, decidiéndose posteriormente que el embarazo debía continuar hasta el término, en una serie de 11 casos¹⁴ hubo tres abortos y un producto que nació muerto, pero estas complicaciones correspondieron a los casos en que la amniocentesis se hizo por vía vaginal. No se observaron complicaciones fetales en los casos en que la amniocentesis se hizo por punción transabdominal.¹⁵ Esta misma experiencia la tienen todos los autores que han estudiado el efecto de la amniocentesis transabdominal cuando ésta

se ha efectuado en los estadios tempranos del embarazo para fines diagnósticos y en los que el embarazo se ha dejado seguir hasta el término.⁸ Todo parece indicar que la amniocentesis transabdominal, efectuada en los primeros estadios del embarazo, rara vez produce complicaciones en la madre y que las complicaciones fetales son poco frecuentes. En el futuro estas complicaciones quizá todavía puedan reducirse con la localización previa de la placenta mediante sonoplacentografía.

Existen otros riesgos que han merecido menos atención en los estudios realizados hasta ahora y que indudablemente deben tenerse en cuenta. Miller¹⁰ ha sugerido que pueden existir riesgos potenciales a largo plazo para los niños que durante la vida fetal fueron sujetos a amniocentesis. No existe hasta el momento información de estudios a largo plazo y longitudinales en estos niños. Un ejemplo puede hacer más clara esta posición de Miller. Supongamos que la amniocentesis y la extracción de una cantidad importante de líquido amniótico en la decimocuarta o decimosexta semana de embarazo produzca una caída promedio de 25 puntos en el coeficiente intelectual. Los estudios efectuados hasta el momento en relación con los riesgos de la amniocentesis para el producto, no permiten obtener resultados en ese sentido.

Otro tipo de riesgos de la amniocentesis son los relacionados con los errores imputables al procedimiento como en cualquier otra técnica diagnóstica, pero que en el caso del diagnóstico prenatal adquiere características especiales. En efecto, se sabe de algunos casos de diagnóstico incorrecto atribuible a contaminación de la muestra con sangre materna. Para reducir al máximo esta posibilidad de error

se recomienda:¹⁷ 1) que los primeros 2 ml. de líquido amniótico obtenido por amniocentesis se pongan en una jeringa por separado, para que sea eliminado o para que se cultive separadamente del resto de la muestra, y 2) que en cualquier caso en que el cariotipo obtenido de los cultivos de las células del líquido amniótico sea idéntico al de la madre, el diagnóstico final no debe darse hasta que sea confirmado por los resultados obtenidos de las preparaciones de las células de otros dos cultivos de la muestra total. Otra situación que representa un riesgo de diagnóstico equivocado es cuando se trata de un embarazo gemelar dicigótico ya que casi siempre existen dos sacos amnióticos. En estos casos es recomendable obtener líquido amniótico por separado de cada uno de los sacos amnióticos. Es posible que en el futuro se puedan identificar los embarazos múltiples en los estadios tempranos del embarazo, mediante el uso de técnicas ultrasónicas o de electrocardiografía fetal.

El análisis de los riesgos que entraña la amniocentesis transabdominal antes de la vigésima semana de gestación para fines de diagnóstico prenatal que se han mencionado en párrafos anteriores, así como otros riesgos que no han sido suficientemente evaluados hasta el momento, como los efectos a largo plazo de la amniocentesis y el impacto psicológico que pueda representar para los padres, por ejemplo, nos hace pensar, con muchos otros autores, que si bien el diagnóstico intrauterino parece ofrecer una considerable esperanza para el futuro, antes de que la aplicación del procedimiento se generalice, es necesario obtener mayor información sobre los riesgos conocidos y los hipotéticos y que antes de que un grupo de investiga-

dores o de que un departamento médico se aboque a efectuar diagnóstico intrauterino, se deben satisfacer los siguientes requisitos:¹⁸ 1) la amniocentesis debe efectuarla un obstetra con experiencia en la técnica; 2) el personal debe tener experiencia en las técnicas de cultivo de células procedentes del líquido amniótico; 3) el mismo debe poseer experiencia en las pruebas diagnósticas específicas, y 4) tener la posibilidad de resolver el problema de acuerdo con los resultados del estudio y los deseos de los progenitores.

Estos requerimientos son obvios y se explican por sí mismos, aunque el cuarto es más sutil, ya que el médico que se responsabiliza de la detección prenatal de un trastorno genético *debe comprometerse* a la solución del problema si los resultados indican alguna anomalía y los progenitores desean que el embarazo no llegue a término. Aunque el obstetra no tiene que ser necesariamente la persona que provoque el aborto, sí tiene la obligación de derivar a la familia con el médico que debe actuar. Esto introduce un nuevo problema en los países en que la ley no prevé esta posibilidad de indicación de un aborto.

Indicaciones

1. En las anomalías cromosómicas

En la actualidad el estudio del líquido amniótico puede proporcionar diagnóstico confiable en las anomalías cromosómicas. Es difícil definir cuáles son las personas en quienes el riesgo de producir un hijo con una aberración cromosómica justifica los riesgos que entraña la amniocentesis. Suponiendo que se llenen los requisitos establecidos previamente, se puede proponer con Nadler¹⁸ el siguiente esquema:

A. Grupo con "alto riesgo": este grupo lo forman los casos en los que un progenitor es portador de algún rearrreglo cromosómico como las translocaciones D/G, G/G y otras. Los embarazos en las mujeres que se sabe son portadoras de un gen recesivo ligado al cromosoma X responsable de algún trastorno genético deben incluirse en este grupo porque aunque en la mayor parte no pueda llegarse a un diagnóstico preciso, la determinación del sexo del producto aumenta la precisión del consejo genético.

B. Grupo con "riesgo moderado": lo forman las mujeres embarazadas mayores de 39 años. En estos casos el riesgo de tener un hijo con una anomalía cromosómica, como el síndrome de Down es mayor de uno por ciento.^{19, 20} Los riesgos de otras anomalías cromosómicas también aumentan en este grupo de edad materna. Nadler¹⁸ en 104 embarazos de mujeres mayores de 40 años, encontró 4 fetos con aberración cromosómica. En tres de estos casos se diagnosticó síndrome de Down y los embarazos fueron detenidos antes del término. El cuarto caso correspondía a un producto 47,YYY y éste es un trastorno cuya evolución y pronóstico son menos conocidos. Este tipo de problema se encontrará con frecuencia en este grupo de pacientes mayores de 40 años y el diagnóstico de una anomalía cromosómica inesperada puede introducir muchos problemas de tipo moral y legal.

C. Grupo con "bajo riesgo": lo forman fundamentalmente las mujeres que tienen 35 años o más y aquéllas que ya han tenido previamente un hijo con una anomalía cromosómica, por ejemplo, un niño con síndrome de Down. Este grupo que es aquél a que pertenece el mayor número de casos en términos de la de-

manda de asesoramiento genético, altera las perspectivas del diagnóstico intrauterino. La probabilidad de que estas mujeres tengan un hijo afectado es seguramente menor de uno por ciento, si se excluyen las madres en riesgo basándose solamente en la edad materna. En estas circunstancias la amniocentesis se hará esperando que en la mayoría de los casos el resultado sea normal y uno se pregunta si vale la pena someter a la madre y al feto al riesgo de la amniocentesis. Hasta el momento sólo se puede decir que se necesitan más estudios prospectivos al respecto para que se puedan definir los riesgos de recurrencia en este grupo de personas. Probablemente se pueda justificar el diagnóstico prenatal en estas pacientes con un síndrome de Down previo considerando que en todo caso se le pueda asegurar a la familia que ese niño en particular no tiene síndrome de Down.

2. En los trastornos bioquímicos

Las indicaciones para el diagnóstico intrauterino de los trastornos bioquímicos familiares son más difíciles de definir que en el caso de las anomalías cromosómicas. Cuando se trata de enfermedades que se transmiten de acuerdo a las leyes de Mendel y producidos por un par de alelos, el grupo de los pacientes que contribuyen el de "alto riesgo" es fácilmente definible. En efecto, cuando se sabe que el padre y la madre son heterocigotos para un gen autosómico recesivo, el riesgo para cada embarazo de tener un hijo afectado es de 25 por ciento para ambos sexos. Cuando se trata de una enfermedad producida por un gen recesivo ligado al cromosoma X y se sabe que la madre es portadora, el riesgo de tener un hijo varón afectado es de 50 por ciento y de tener

una hija portadora también de 50 por ciento. Pero la dificultad en establecer las indicaciones de la amniocentesis en las enfermedades bioquímicas es que en la mayor parte de los casos no estamos capacitados para hacer el diagnóstico prenatal. En efecto, actualmente sólo alrededor de 40 enfermedades genéticas pueden ser diagnosticadas durante la vida intrauterina mediante el estudio del líquido amniótico o de las células en él contenidas y además no todos los laboratorios tienen los elementos y experiencia para diagnosticar cada una de ellas.²¹

REFERENCIAS

1. Fraser, G. R., y Motulsky, A. G.: *Long-term effects of counseling on the gene pool*. En: *Counseling and prognosis in medical genetics*. Motulsky, A. G. (Ed.). Nueva York, Hoeber, 1969.
2. Noonan, C. D.: *Antenatal diagnosis of acro-dysplasia with comment on Denel's "halo" sign*. Amer. J. Obstet. Gynec. 101:929, 1968.
3. Russell, J. G. B.: *Radiology in the diagnosis of fetal abnormalities*. J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth. 76:345, 1969.
4. Birnbaum, S. J.: *Prenatal diagnosis of mongolism by X-ray*. Obstet. Gynec. 37:394, 1971.
5. Järvinen, P. A., y Österlund, K.: *A case of congenital heart block diagnosed antenatally by fetal electrocardiography*. Ann. Chir. Gynec. Fenn. 52:575, 1965.
6. Mohr, J.: *Foetal genetic diagnosis: development of techniques for early sampling of foetal cells*. Acta Path. Micro Scand. 73:73, 1968.
7. Alvarez, H.: *Diagnosis of hydatidiform mole by transabdominal placental biopsy*. Amer. J. Obstet. Gynec. 95:538, 1966.
8. Emery, A. E. H.: *Antenatal diagnosis of genetic disease*. En: *Modern trends in human genetics*. Londres, Butterworths, 1970, p. 267.
9. Queenan, J. T., y Adams, D. W.: *Amniocentesis: a possible immunizing hazard*. Obstet. Gynec. 24:530, 1964.
10. Walker, A. H. C., y Jennison, R. F.: *Antenatal prediction of hemolytic disease of newborn: comparison of liquor amnii and serological studies*. Brit. Med. J. 2:1152, 1962.
11. Cassidy, G.; Cailleteau, J.; Lockard, D., y Milstead, R.: *The hazard of fetal-maternal transfusion after transabdominal amniocentesis*. Amer. J. Obstet. Gynec. 99:284, 1967.

12. Aladjem, S.: *Morphopathology of the human placental villi and the fetal outcome*. J. Obstet. Brit. Cwlth. 75:1237, 1968.
13. Creasman, W. T.; Lawrence, R. A., y Thiede, H. A.: *Fetal complications of amniocentesis*. J.A.M.A. 204:949, 1968.
14. Riis, P., y Fuchs, F.: *Sex chromatin and antenatal sex diagnosis*. En: *The sex chromatin*. Moore, K. L. (Ed.). Filadelfia, W. B. Saunders, Co. 1966, p. 220.
15. Fuchs, F.: *Genetic information from amniotic fluid constituents*. Clin. Obstet. Gynec. 9: 565, 1966.
16. Miller, O. J.: *Discussion of symposium papers*. En: *Intrauterine diagnosis*, Birth Defects. Original Article Series. 7:33, 1971.
17. MacIntyre, M. N.: *Chromosomal problems of intrauterine diagnosis*. En: *Intrauterine diagnosis*. Birth Defects. Original Article Series. 7:10, 1971.
18. Nadler, L. H.: *Indications for amniocentesis in the early prenatal detection of genetic disorders*. En: *Intrauterine diagnosis*. Birth Defects. Original Article Series. 7:5, 1971.
19. Fabia, J.: *Illegitimacy and Down's syndrome*. Nature 221:1157, 1969.
20. Magenis, R. E.; Hecht, F., y Milham, S.: *Trisomy 13 (D₁) syndrome: studies on parental age, sex ratio and survival*. J. Pediat. 73: 222, 1968.
21. Friedmann, T.: *Prenatal diagnosis of genetic disease*. Scient. Amer. 225:34, 1971.

III ASPECTOS METODOLOGICOS

ANTONIO VELÁZQUEZ *

Actualmente es posible conocer en forma temprana el estado del feto, mediante el estudio del líquido amniótico, así como de las células en él suspendidas.¹ Estas células pueden estudiarse directamente, o bien pueden ser cultivadas en cultivo de tejidos. En esta forma se pueden estudiar características que, bien requieren de gran cantidad de material celular para su estudio, o bien sólo se ponen de manifiesto en poblaciones celulares en crecimiento. Además, algunos procedimientos, todavía en desarrollo, permitirán la toma directa de biopsias de tejido fetal. En este trabajo se revisarán brevemente los métodos existentes para obtener material fetal y para crecer *in vitro* células de este origen. En forma más detallada, se analizan los métodos actualmente existentes para el diagnóstico prenatal de padecimientos metabólicos hereditarios y los problemas que

existen para diagnosticarlos, y se describirán algunos de los esfuerzos que se están llevando a cabo, para solucionarlos.

Hay dos métodos por los que puede actualmente obtenerse material fetal en el segundo trimestre del embarazo. El primero consiste en obtener líquido amniótico por punción transabdominal.^{2, 3} En el segundo, un endoscopio se introduce a través de la vagina y del cérvix, y se toma entonces una biopsia de las membranas fetales bajo visión directa.⁴ El primer método es técnicamente más simple y ofrece menos riesgos, tanto a la madre y al feto como al material mismo que se busca obtener. El procedimiento se lleva a cabo en forma prácticamente rutinaria en muchos centros hospitalarios, incluyendo varios en nuestro país, durante el manejo de isoimmunización Rh. En estos casos se practica en fases avanzadas del embarazo, durante el tercer trimestre. Para el diagnóstico prenatal de padecimientos here-

* Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México.

ditarios, sin embargo, es indispensable llevar a cabo el estudio, lo más tempranamente posible, ya que la información obtenida gracias al estudio se utilizará generalmente para decidir si el aborto se lleva o no a cabo. La fecha más temprana cuando la amniocentesis transabdominal se puede realizar con una alta frecuencia de éxito y un riesgo bajo es aproximadamente a partir de la 12a. semana del embarazo. En general no es recomendable hacerlo después de la 20a. a 22a. semanas, ya que después de ese tiempo aumentan considerablemente los problemas si se practica el aborto,⁵ y porque a partir de esa fecha, por razones aún no bien conocidas, las células fetales crecen *in vitro* con una frecuencia progresivamente menor.⁶

La toma de material fetal por vía transvaginal es un procedimiento aún en fase de investigación y su práctica se ha limitado casi exclusivamente a algunos países escandinavos.⁴ Se acompaña de riesgos más altos de precipitación del aborto y de infección a la madre y a la muestra que se desea obtener. Tiene, sin embargo, las ventajas de poder hacer la toma en etapas más tempranas, desde la octava semana, así como de obtenerla endoscópicamente, bajo visión directa, lo cual en el futuro quizá permita la toma de biopsias de tejido fetal.

La demostración de que desde la quinta o sexta semanas una pequeña proporción de linfocitos fetales circulan normalmente en la sangre materna, sugiere la posibilidad de tomar material fetal mediante una simple punción venosa a la madre, si en alguna forma fuese posible separar la población celular fetal de la materna, o si pudiera estimularse selectivamente el crecimiento de las células fe-

tales, o si pudieran destruirse en forma selectiva las células maternas. (O. J. Miller, comunicación personal.) Algunos de estos enfoques están siendo explorados actualmente en varios laboratorios. De tener éxito, será posible llevar a cabo este tipo de estudios en forma rutinaria en todos los embarazos, lo cual revolucionaría seguramente muchos aspectos de la práctica obstétrica actual.

En teoría, la amniocentesis transabdominal se facilitaría, y los diferentes riesgos se reducirían, si se localizara la placenta antes de practicar el procedimiento. El método más seguro y útil para este objeto es el de la placentografía por ultrasonido que emplea el mismo principio por el cual se mide la profundidad del fondo del mar mediante sonar.^{7, 8} La detección ultrasónica de la placenta puede llevarse a cabo aproximadamente desde la decimocuarta semana. Sin embargo, en un estudio en el cual la amniocentesis se practicó después de haber localizado en esta forma la placenta, no hubo una frecuencia menor de complicaciones, tales como obtención de líquido sanguinolento.⁹ Se necesitará contar con un número mayor de casos antes de poder evaluar la verdadera utilidad del procedimiento. Quizá donde resulte con el tiempo de mayor utilidad sea en la identificación temprana de embarazos múltiples. A este respecto, son también prometedores los estudios fetales electrocardiográficos.

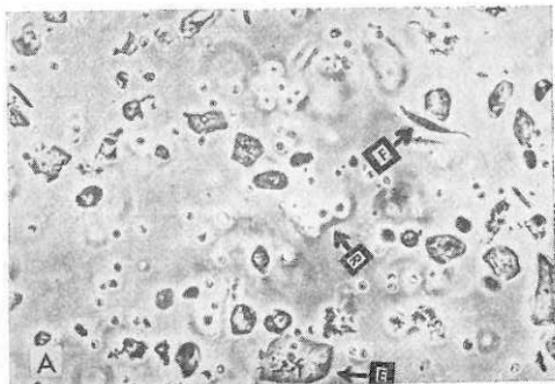
Se ha hecho ya mención a los distintos riesgos que tienen los procedimientos para el diagnóstico prenatal. Me voy a referir aquí exclusivamente a uno: el que las células estudiadas como fetales sean en realidad de origen materno.¹⁰ Dado que es posible diagnosticar el sexo de las células mediante el estudio de la cromatina se-

xual,^{11, 12} mediante la fluorescencia de un segmento del cromosoma Y en células masculinas en interfase tratadas con quinacrina,¹³ o por el estudio del cariotipo de las células en cultivo, si resultan de origen masculino no habrá, obviamente, ningún problema. Sin embargo, si el sexo de las células es femenino, cabrá la posibilidad de que su origen sea en realidad materno y no fetal. Dado que se ha demostrado que los antígenos de histocompatibilidad persisten en células en cultivo aún después de crecerlas *in vitro* por cientos de generaciones celulares,¹⁴ debe ser posible identificar su origen empleando anticuerpos contra los antígenos del padre, adicionando posteriormente antiglobulina gamma marcada con fluoresceína. Solamente las células fetales compartirán los determinantes antigénicos específicos al padre y serán las únicas que muestren fluorescencia. Un enfoque diferente, sugerido por Kirkman,¹⁵ sería el encontrar un antígeno o una isozima presentes exclusivamente en células fetales y no en adultas.

Diferentes autores recomiendan la toma de distintas cantidades de líquido amniótico, variando desde 2 hasta 55 ml., sin que se haya encontrado alguna relación entre esta cantidad y el porcentaje de estudios exitosos o los riesgos al feto, al menos inmediatamente aparentes; ¹² 10 a 20 ml. son las cantidades comúnmente obtenidas. No voy a detenerme en los métodos de análisis químico de líquido amniótico,⁶ ni en los procedimientos para el análisis del cariotipo. Para este último objeto la metodología requerida no es esencialmente diferente, cuando el estudio se hace en células fetales, de la utilizada para el estudio de células obtenidas de individuos después del nacimiento. En

cuanto a los procedimientos usados para obtener líneas de células fetales en cultivo, el método general consiste en poner las células obtenidas por centrifugación de líquido amniótico en frascos de cultivo con alguno de los diferentes medios empleados en cultivo de tejidos.¹⁶⁻¹⁸ Casi cada laboratorio que hace diagnóstico prenatal emplea una variante diferente de este método general, sin que realmente parezcan existir diferencias importantes en los resultados, que sean debidas a la variante metodológica usada. En la figura 1A se muestran las células provenientes de líquido amniótico, inmediatamente después de haber sido sembradas. Las células más grandes, epiteliales escamosas (E), son generalmente incapaces de crecer en cultivo. Las células pequeñas, redondeadas (R), derivadas probablemente tanto del feto como del amnion, son las que dan origen a las células que crecen *in vitro*. Puede observarse un fibroblasto (F). En 1 a 4 semanas se establece una línea celular que puede ser predominantemente fibroblástica, epiteloide o mixta. En la figura 1B se observa un cultivo mixto de células fibroblásticas y epitelioides. Existen diferencias en algunas características bioquímicas en estos dos tipos celulares.¹⁹

El estudio bioquímico de las células fetales en cultivo permite, en principio, diagnosticar errores congénitos del metabolismo del feto. Aunque la frecuencia individual de los distintos errores congénitos del metabolismo es muy baja, su contribución es, sin embargo, importante para algunos problemas médicos del país, especialmente el de retraso mental. Se estima que en alrededor de 5 por ciento de los retrasados mentales institucionalizados, la deficiencia intelectual se debe a alguno



1 A. Células obtenidas de líquido amniótico. Se observan grandes células epiteliales escamosas (E), células redondeadas pequeñas (R) y un fibroblasto (F). B. Cultivo mixto de células fibroblásticas y epitelioideas.

de estos padecimientos.²⁰ Los costos económicos, sociales y humanos de estos pacientes son desproporcionadamente más grandes que lo que su frecuencia en la población pudiese indicar a la primera intención.

Todo esto hace que los errores congénitos del metabolismo, lejos de constituir un grupo esotérico de padecimientos, constituyan un importante problema de salud pública. Además, en los últimos años se han desarrollado métodos terapéuticos eficaces para el tratamiento de un gran número de estas enfermedades, y de alrededor de 150 que ya se conocen, apro-

ximadamente en la mitad de ellas se cuenta ya con un tratamiento útil.²¹ En todos los casos, la eficacia del tratamiento depende, de manera primordial, de qué tan temprano se inicie éste. En la fenilcetonuria, por ejemplo, el niño tendrá un coeficiente intelectual superior si el tratamiento se inicia en la primera semana después del nacimiento que si se establece a partir de la tercera semana. Es posible, pues, que para un cierto número de estos padecimientos la iniciación del tratamiento en etapas anteriores al nacimiento mismo dé por resultado un individuo más cerca aún de la normalidad.

Para que un error congénito del metabolismo pueda ser directamente diagnosticado mediante el estudio de las células fetales en cultivo, es indispensable que el padecimiento afecte algún producto génico normalmente expresado por estas células.²² No es posible, por ejemplo, utilizarlas para el diagnóstico directo de alguna hemoglobinopatía, pues normalmente las células en cultivo no sintetizan hemoglobina. Sin embargo, la célula en cultivo ejecuta una gran variedad de actividades metabólicas, incluyendo síntesis de nucleótidos de purinas y pirimidinas, 7 de los 20 aminoácidos estructurales, ADN, ARN y proteínas, además de poder respirar tanto aeróbica como anaeróbicamente.²³ Cerca de la tercera parte de todos los errores congénitos del metabolismo conocidos afectan moléculas sintetizadas por células en cultivo.²⁴ El diagnóstico de estas enfermedades mediante el estudio bioquímico de las células tiene su antecedente en estudios similares hechos en el último

decenio en células de estos pacientes obtenidas postnatalmente, y en general a partir de una biopsia de piel. Estos estudios integran el área ahora conocida como genética de células somáticas.²⁵

El fenotipo de una célula es la apariencia que tiene una característica celular dada, y se debe a la interacción de factores genéticos con el medio ambiente en el que viven las células. La contribución de este medio ambiente puede disminuirse importantemente manipulando en el medio de cultivo características tales como composición química, pH, temperatura, etc. Aún así, mientras más directamente dependa la característica fenotípica en estudio, de la acción del gen en cuestión, más útil será para inferir de ella el genotipo del donador.

En el cuadro 1 hay una lista de algunas características fenotípicas que es posible reconocer y estudiar en células *in vitro*. Algunas de estas características permiten distinguir al heterocigoto y a cada uno de

Cuadro 1 Algunas características fenotípicas de células en cultivo que varían en individuos con genotipos diferentes

Fenotipo	Ejemplo	Referencia
A. Actividad enzimática		
1. En extracto de un cultivo	Acatalamia	26
2. Detección histoquímica <i>in situ</i>	Deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	27
3. Detección autorradiográfica <i>in situ</i>	Síndrome de Lesch-Nyhan	28
B. Movilidad electroforética	Deshidrogenasa del ácido 6-fosfogluconico	29
C. Antígenos de superficie	Sistema HL-A	30
D. Crecimiento en medio "mínimo"	Células citrulinémicas en medio en el que la arginina ha sido sustituida por citrulina	31
E. Resistencia a drogas	Resistencia a 8-azahipoxantina en síndrome de Lesch-Nyhan	32
F. Metacromasia celular	Homocigotos y heterocigotos para el síndrome de Hurler	33

los homocigotos entre sí, como en el caso de la medición de actividad enzimática en un extracto celular, la determinación de la movilidad electroforética de una enzima, y la presencia de antígenos de superficie. Otras, aunque permiten diferenciar al homocigoto mutante del heterocigoto, no difieren entre este último y el homocigoto normal. Aquí se encuentran, por ejemplo, la detección *in situ* de actividad enzimática mediante procedimientos histoquímicos o autorradiográficos, así como el crecimiento de las células en medio "mínimo", o en medio conteniendo algún antimetabolito. Sin embargo, la última característica fenotípica mencionada en el cuadro, la presencia o ausencia de gránulos metacromáticos en la célula, coloca al heterocigoto sano junto con el homocigoto mutante, fenotípicamente enfermo,³⁴ (*inter alia*). En este caso, la información proporcionada por el estudio conducirá al aborto no sólo de los individuos enfermos, sino también de los heterocigotos sanos que portan el gen anormal. El estudio de esta característica tiene también otras desventajas importantes; las células de un gran número de individuos normales, homocigotos para el gen normal, presentan el fenómeno de metacromasia celular.³⁵ El uso de esta prueba conduciría, por lo tanto, a su aborto en forma por demás innecesaria. Por estas razones es importante abandonar su uso en el diagnóstico prenatal.

En el diagnóstico bioquímico prenatal es importante tener en mente ciertas consideraciones. La normalidad del genotipo celular tiene por necesidad que definirse en relación a cierto genotipo al cual se ha acordado considerarlo como normal. Decidir los límites de la normalidad puede ser extremadamente complicado. Se cono-

ce muy poco sobre la bioquímica normal de las células fetales que crecen en cultivo, y no hay prácticamente nada de información sobre si existe normalmente variabilidad en las actividades metabólicas de estas células que dependa de la etapa de la vida intrauterina en la que se obtuvieron. Se sabe, por ejemplo, que en alguno de los órganos del feto varias enzimas cambian drásticamente su actividad específica en fases diferentes del desarrollo.³⁶ En algunos casos los fibroblastos fetales en cultivo son metabólicamente equivalentes a los fibroblastos obtenidos postnatalmente, y entonces estos últimos pueden servir como controles. Esto es así para algunas enzimas.³⁷ Otras, sin embargo, como la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, la cistationato sintetasa³⁸ y la cistationasa,³⁹ parecen tener mayor actividad específica en las células fetales. Otras enzimas, como la arilsulfatasa A,⁴⁰ la ornitotransaminasa⁴¹ y la argininosuccinasa,⁴² muestran una actividad específica menor en las células de origen fetal. La fase del cultivo en la que se cosechan las células para practicar los ensayos enzimáticos es también crítica para la actividad específica de muchas aunque no de todas las enzimas de las células en cultivo.⁴³ Finalmente, se debe de tomar en cuenta la posibilidad, más frecuente de lo que suele admitirse, de contaminación microbiana inadvertida, especialmente por *Mycoplasma* o PPLO.⁴⁴

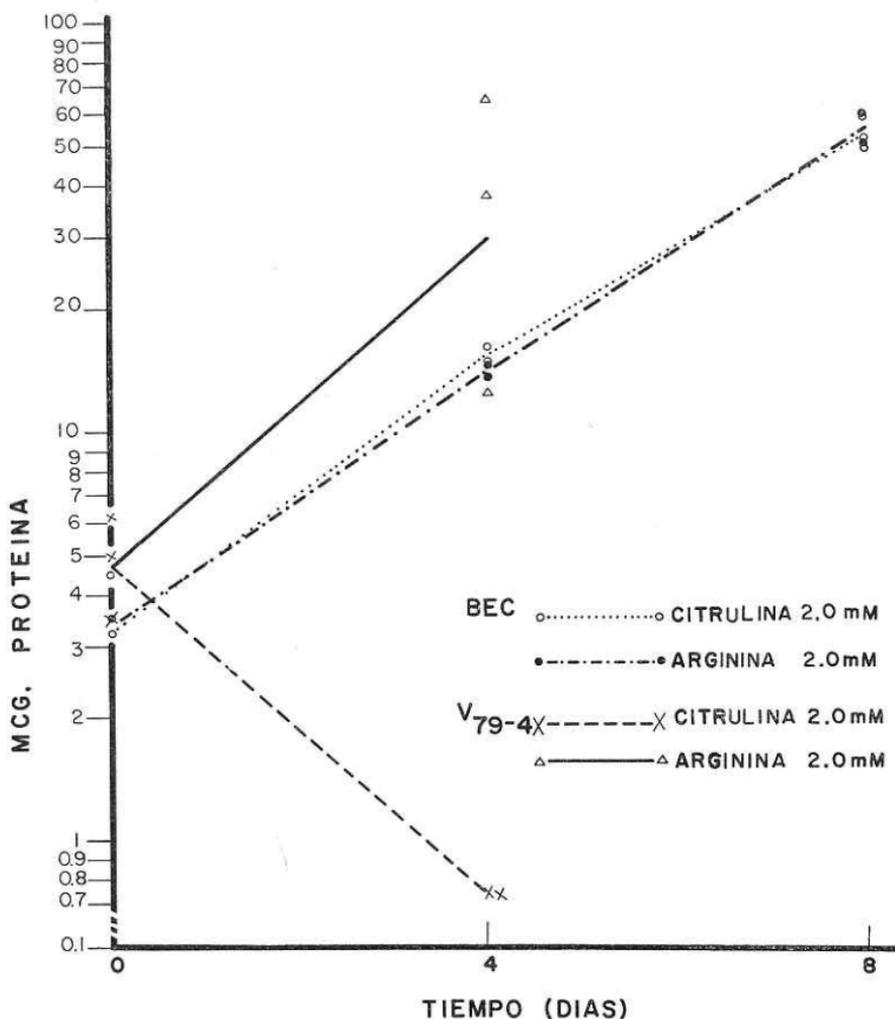
En el diagnóstico prenatal de errores congénitos del metabolismo hay un problema que reviste particular relevancia. Este es el tiempo, a veces desesperantemente largo, que se requiere para crecer un número suficiente de células y poder contar con cantidades adecuadas de proteína celular para hacer los ensayos enzi-

máticos. Si la toma de líquido amniótico difícilmente se puede practicar antes de la 14a. o 15a. semana, y el aborto debe de preferencia inducirse antes de la 20a. semana, se comprende la dificultad de trabajar con una población celular que se duplica apenas una vez cada 24 horas. Si por alguna razón el cultivo no logra establecerse, o se pierde, puede ser demasiado tarde para practicar una nueva punción. Todo esto está estimulando el desarrollo de micrométodos para ensayos enzimáticos utilizando, por ejemplo, radioisótopos o fluorimetría, que permiten practicar los estudios con menor cantidad de proteína celular y, consecuentemente, en plazos más breves después de la siembra de las células fetales.

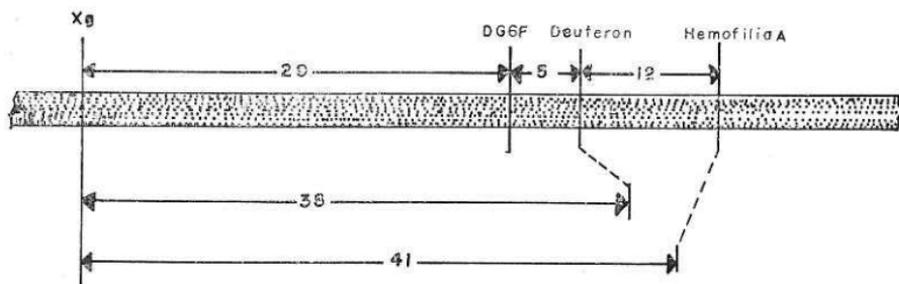
En nuestro laboratorio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad, estamos empezando a explorar otros enfoques que permitan identificar el fenotipo de las células en los primeros días de cultivo. El primer enfoque es propiamente microbiológico, y podría utilizarse para identificar células con una mutación que las inhabilite para crecer en un medio selectivo en el que las células normales sí son capaces de proliferar. Esto podría deberse a que las células no pueden sintetizar algún nutriente a partir de uno de sus precursores por el cual ha sido reemplazado. El método general fue sugerido originalmente por Krooth.⁴⁵ Por ejemplo, las células de un paciente citrulinémico, a diferencia de las células normales, son incapaces de crecer en un medio en el cual la arginina ha sido sustituida por citrulina.³¹ En la figura 2 se muestra el resultado de un experimento similar realizado en nuestro laboratorio. Estamos diseñando actualmente dos medios de cultivo, uno que denominamos "mínimo" y

otro, "completo", tales que si las células fetales tienen un error en la síntesis de algún nutriente requerido para que haya crecimiento celular, no podrán entonces crecer en el medio mínimo sino solamente en el completo. El segundo enfoque consiste en estudiar la composición química del medio de cultivo "usado"; esto es, un medio que ha estado en contacto durante cierto tiempo con una población de fibroblastos fetales en condiciones estandarizadas. Esto permitirá conocer qué tanto las células han utilizado los nutrientes presentes en el medio, así como si han excretado en forma normal productos de desecho, o bien algunas sustancias anormales.

Para terminar, hay un aspecto que quisiera mencionar brevemente. Se refiere a la posibilidad de diagnosticar prenatalmente defectos metabólicos hereditarios que no son expresados en células en cultivo, pero cuyos genes tienen una vecindad muy próxima, en el cromosoma, a algún gen que sí se expresa *in vitro*.⁴⁶ En la figura 3 se muestra un segmento del cromosoma X, indicándose la posición relativa de algunos genes localizados en él. El gen para hemofilia A está a una corta distancia, apenas a 17 unidades de mapeo, del de la deshidrogenasa de la glucosa 6-fosfato.⁴⁷ No es posible diagnosticar la hemofilia directamente en cultivo de tejidos. Sin embargo, si una mujer embarazada es heterocigota, portadora del gen para esta enfermedad y al mismo tiempo heterocigota para una variante electroforética de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, determinando el fenotipo electroforético de la enzima en las células fetales se podrá conocer cuál de los dos cromosomas X de la madre heredó el feto, y en esta forma saber si será hemofílico.



2 Crecimiento de líneas celulares en medio conteniendo arginina, o en medio en el cual la arginina ha sido sustituida por citrulina. *BEC* es una línea de fibroblastos diploides humanos provenientes de un sujeto normal. *V79-4* es una línea proveniente de un hamster chino. Las células fueron sembradas en frascos en réplica. Doce horas después se lavaron con medio sin arginina y se añadieron los diferentes medios experimentales, siendo este momento el tiempo cero. Posteriormente se determinó en los frascos, a diferentes intervalos, la cantidad de proteína celular, mediante el método de Lowry. El medio contenía suero bovino fetal no dializado en una proporción de 12 por ciento. Por ello, la concentración de arginina en el medio denominado "sin arginina" es de aproximadamente 0.01 mM. La concentración mínima requerida por las células para crecer es de aproximadamente 0.1 mM.



3 Mapa genético de un segmento del cromosoma X, mostrando la localización relativa de los genes para el grupo sanguíneo Xg, la deshidrogenasa de la glucosa-6-fosfato (DG6F), la ceguera al color verde (Deuteron) y la hemofilia A. Las distancias entre ellos están indicadas en unidades de *cross-over*.

Se cuenta pues, ya con un número de procedimientos que hacen posible el diagnóstico de una gran variedad de padecimientos genéticos en el segundo trimestre del embarazo. Hay también, para el futuro, oportunidades muy importantes de investigación en esta área. Es altamente deseable contar con técnicas eficaces y seguras para la obtención de material fetal en forma más temprana, de preferencia en el primer trimestre del embarazo, cuando son mínimos los problemas médicos y emocionales del aborto. Sería conveniente poder identificar los embarazos múltiples en los que haya multiplicidad de placentas, así como poder determinar inequívocamente el origen fetal o materno de las células en estudio. Quedan todavía por resolver importantes problemas para el diagnóstico bioquímico de errores congénitos del metabolismo del feto.⁴⁸ Finalmente, es probable que en un número creciente de estos padecimientos se pueda iniciar el tratamiento en etapa prenatal.

Quizá un día esta clase de estudios se lleven a cabo rutinariamente en todas las

mujeres embarazadas. Al fin y al cabo, si los seres humanos vamos a ir teniendo familias cada vez de menor tamaño, justo es que los hijos que decidamos tener vengan al mundo sanos.

Apéndice

Condiciones fetales que pueden constituir una indicación para la inducción del aborto:

- A. Padecimientos incompatibles con una vida independiente del organismo materno (trisomía D; ausencia completa de ornitino-carbamil transferasa).
- B. Padecimientos compatibles con una vida independiente del organismo materno, pero que conducen a una existencia subhumana, y para los que no hay actualmente ningún recurso terapéutico (trisomía 21; síndrome de Hurler).
- C. Padecimientos para los que existe un tratamiento útil.
 1. El alto costo y las dificultades para mantener el tratamiento lo hacen virtualmente inaccesible (aminoaciduria de cadena ramificada).

2. Terapéutica costosa y difícil de mantener, pero razonablemente factible (fenilcetonuria).
 3. Tratamiento barato y fácil de llevar a cabo (galactosemia).
- D. Condiciones no patológicas (sexo diferente al deseado).

Este trabajo fue subvencionado por donativos de investigación otorgados al autor por la Organización Mundial de la Salud y por la Research Corporation. Agradezco la excelente ayuda técnica de la Q. F. B. Emma Prieto Muñoz en la realización del experimento de crecimiento descrito en la figura 2.

REFERENCIAS

1. Milunsky, A.: *Prenatal genetic diagnosis*. New Eng. J. Med. 283:1370, 1441 y 1498, 1970.
2. Freda, V. J.: *The Rb problem in obstetrics and a new concept of its management using amniocentesis and spectrophotometric scanning of amniotic fluid*. Amer. J. Obst. Gynec. 92:341, 1965.
3. Queenan, J. T.: *Amniocentesis and transamniotic fetal transfusion for Rb disease*. Clin. Obst. Gynec. 9:491, 1966.
4. Hahnemann, N., y Mohr, J.: *Genetic diagnosis in the embryo by means of biopsy from extra embryonic membranes*. Bull. European Soc. Hum. Genet. 1968, p. 23.
5. Fuchs, F.: *Amniocentesis and abortion. Methods and risks*. Birth Defects. Original Article Series 7:18, 1971.
6. Nadler, H. L.: *Prenatal detection of genetic defects*. J. Pediat. 74:132, 1969.
7. Donald, I.: *Sonar as method of studying prenatal development*. J. Pediat. 75:326, 1969.
8. Gottesfeld, K. R.: *Ultrasonic placentalography. A new method for placental localization*. Amer. J. Obst. Gynec. 96:538, 1970.
9. Valenti, C.: Cit. en 34.
10. MacIntyre, M. N.: *Chromosomal problems of intrauterine diagnosis*. Birth Defects. Original Article Series 7:10, 1971.
11. Mukherjee, A. B.; Blattner, P. Y., y Nitowsky, H. M.: *Quinacrine mustard fluorescence of sex chromatin in human amniotic fluid cell cultures*. Nature 235:226, 1972.
12. Nadler, H. L.: *Indications for amniocentesis in the early prenatal detection of genetic disorders*. Birth Defects. Original Article Series 7:5, 1971.
13. Khudr, G., y Benirschke, K.: *Fluorescence of the Y chromosome: a rapid test to determine fetal sex*. Amer. J. Obst. Gynec. 110:1091, 1971.
14. Klein, D.; Merchant, D. J., y Shreffler, D. C.: *Persistence of H-2 and some non-H-2 antigens on long-term cultured mouse cell lines*. J. Nat. Cancer Inst. 44:1149, 1970.
15. Kirkman, H. N.: Cit. en 25.
16. Ham, R. G., y Puck, T. T.: *Quantitative colonial growth of isolated mammalian cells*. En: *Methods in Enzymology*. Colowick, S. P. y Kaplan, N. O. (Eds.). Nueva York, Academic Press. 1962, Vol. 5, p. 90.
17. Levintow, L., y Eagle, H.: *The technique of mammalian cell culture*. En: *Methods in Enzymology*. Colowick, S. P. y Kaplan, N. O. (Eds.). Nueva York, Academic Press. 1962, Vol. 5, p. 77.
18. Nadler, H. L., y Gerbie, A. B.: *Role of amniocentesis in the intrauterine detection of genetic disorders*. New Eng. J. Med. 282:569, 1970.
19. Melancon, S. B.; Lee, S. Y., y Nadler, H. L.: *Histidase activity in cultivated human amniotic fluid cells*. Science 173:627, 1971.
20. Organización Mundial de la Salud. *Investigación de las aberraciones congénitas del metabolismo*. Serie de Informes Técnicos No. 401. Ginebra, 1968.
21. Bondy, P. K., y Rosemberg, L. E.: En: *Duncan's Diseases of Metabolism*. 6a. ed. Filadelfia, W. B. Saunders, Co., 1969.
22. Krooth, R. S.: *The future of mammalian cell genetics*. Birth Defects. Original Article Series 1:21, 1965.
23. Levintow, L., y Eagle, H.: *Biochemistry of cultured mammalian cells*. Ann. Rev. Biochem. 30:605, 1961.
24. Krooth, R. S., y Sell, E. K.: *The action of Mendelian genes in human diploid cell strains*. J. Cell Physiol. 76:311, 1970.
25. Krooth, R. S.; Darlington, G. A., y Velázquez, A.: *The genetics of cultured mammalian cells*. Ann. Rev. Genet. 2:141, 1968.
26. Krooth, R. S.; Howell, R. F., y Hamilton, H. B.: *Properties of acatalasemic cells growing in vitro*. J. Exp. Med. 115:313, 1962.
27. Wajntal, A., y DeMars, R.: *A tetrazolium method for distinguishing between cultured human fibroblasts having either normal or deficient levels of glucose-6-phosphate dehydrogenase*. Biochem. Genet. 1:61, 1967.
28. Rosenbloom, F.: *Lyon hypobesidism and X-linked disease (Lesch-Nyhan syndrome)*. Lancet 2:305, 1967.
29. Davidson, R. G.; Glen-Bott, A. M., y Harris, H.: *Clonal study of three autosomal loci in heterozygotes*. Res. Reunión Anual de la Sociedad Americana de Genética Humana, 1965.
30. Jonasson, J.: *HL-A antigens and heteromorphic fluorescence characters of chromosomes in prenatal paternity investigation*. Nature 236:312, 1972.
31. Tedesco, T. A., y Mellman, W. J.: *Argininosuccinate synthetase activity and citrulline metabolism in cells from a citrullinemic subject*. Proc. Nat. Acad. Sci. 57:829, 1967.
32. Felix, J. S., y DeMars, R.: *Detection of females heterozygous for the Lesch-Nyhan mu-*

- tion by 8-azaguanine resistant growth of cultured fibroblasts. *J. Lab. Clin. Med.* 77: 596, 1971.
33. Danes, B. S., y Bearn, A. G.: *Hurler's syndrome: a genetic study in cell culture.* *J. Exp. Med.* 123:1, 1966.
 34. Danes, B. S., y Bearn, A. G.: *Cellular metachromasia. A genetic marker for studying the mucopolysaccharidoses.* *Lancet* 1:241, 1967.
 35. Taysi, K.: *Limitations of metachromasia as a diagnostic aid in pediatrics.* *New Eng. J. Med.* 281:1108, 1969.
 36. Loomis, W. F.: *Papers on regulation of gene activity during development.* Nueva York, Harper & Row Publ. 1970.
 37. Nadler, H. L.: *Patterns of enzyme development using cultivated human fetal cells derived from amniotic fluid.* *Biochem. Genet.* 2:119, 1968.
 38. Uhlenendorf, B. W., y Mudd, S. H.: *Cystathionine synthetase in tissue culture derived from human skin: enzyme defect in homocystinuria.* *Science* 160:1007, 1968.
 39. Mudd, S. H.: Cit. en 25.
 40. Kaback, M. N., y Howell, R. R.: *Infantile metachromatic leukodystrophy: heterozygote detection in skin fibroblasts and possible applications to intrauterine diagnosis.* *New Eng. J. Med.* 282:1336, 1970.
 41. Shih, V. E., y Schulman, J.: *Ornithine-ketoacid transaminase activity in human skin and amniotic fluid cell culture.* *Clin. Chim. Acta* 27:73, 1970.
 42. Shih, V. E., y Littlefield, J. W.: *Argininosuccinase activity in amniotic fluid cells.* *Lancet* 2:45, 1970.
 43. Pan, Y. L., y Krooth, R. S.: *The influence of progressive growth on the specific catalase activity of human diploid cell strains. I. Effect of cellular genotype: homozygous strains.* *J. Cell. Physiol.* 71:151, 1968.
 44. Stanbridge, E.: *Mycoplasmas and cell cultures.* *Bact. Rev.* 35:206, 1971.
 45. Krooth, R. S.: *Genetics of cultured somatic cells.* *Med. Clin. North Am.* 53:795, 1969.
 46. Weitkamp, L. R.: *Human autosomal linkage groups.* IV Congreso Internacional de Genética Humana, París. *Excerpta Medica Internat. Congr. Series.* No. 233.
 47. Boyer, S. H., y Graham, J. B.: *Linkage between the X chromosome loci for glucose-6-phosphate dehydrogenase; electrophoretic variation and hemophilia A.* *Amer. J. Hum. Genet.* 17:320, 1965.
 48. Littlefield, J. W.: *Problems in the use of cultured amniotic fluid cells for biochemical diagnoses.* *Birth Defects. Original Article Series* 7:15, 1971.

IV EVALUACION DE RESULTADOS EN ANOMALIAS CROMOSOMICAS

MARIO GONZÁLEZ-RAMOS *

A los que trabajamos personalmente en cultivo de tejidos, se nos pregunta con frecuencia, cuáles son las mejores técnicas y cuál es el medio de cultivo ideal para lograr con máxima eficacia la proliferación de un determinado tipo celular; la práctica nos ha enseñado que "el mejor método y el mejor medio de cultivo, son los que nos han permitido obtener en nuestro medio, resultados eficaces". Esta respuesta, a simple vista perogrullesca, no

* Académico numerario. Hospital Infantil de México.

es sino realidad en este importante capítulo de la biología.

Sucede a menudo que para escribir sobre determinada técnica y lo que es más, para obtener conclusiones respecto a ella, nos sentamos ante un cúmulo de fichas bibliográficas, a leer, a copiar, a emitir un juicio no sancionado por la práctica propia y sí influido por el prestigio e incluso la simpatía que despierta en nosotros tal o cual autor. En esta forma colaboramos con una publicación más sobre una técnica, que la mayoría de las veces hace

fracasar a quienes la ponen en práctica en su propio medio.

Las técnicas de cultivo de tejidos, son métodos de laboratorio y como tales están sujetas a múltiples variantes. Un ejemplo muy sencillo respecto a esto, lo encontramos en el clásico método de Somogyi¹ para dosificar la glucosuria por medio de la "caramelización" con carbonato de sodio; con dicho método los resultados cambiarían si la misma persona utiliza la técnica en St. Louis, Missouri, donde originalmente fue desarrollada, o si la emplea en la ciudad de México, donde el punto de ebullición del agua es inferior a 100° C. Habrá entonces necesidad, para que el método resulte útil, de entender esas variantes y de acuerdo con ellas, en el ejemplo que acabamos de citar, prolongar la estancia de los tubos de reacción en el "baño de María" hirviendo o utilizar en éste, en lugar de agua de la llave, una solución adecuada de cloruro de calcio para elevar a 100° C. el punto de ebullición.

Volviendo al cultivo de tejidos, habrá que recordar siempre lo que la práctica nos ha enseñado y es que para lograr buenos cultivos celulares es necesario actuar "límpicamente", esto es "tocar de oído" y no "por nota", porque en biología experimental las condiciones pueden cambiar de una muestra a otra. Conviene como ejemplo señalar las fallas frecuentes que en el cultivo de linfocitos, tienen los que en lugar de preparar sus propios medios, recurren al empleo de estuches comerciales, que resultan deteriorados en grado variable por el tránsito largo que nuestras aduanas se encargan de prolongar innecesariamente. Los *kits* no son malos, pero la estabilidad de su contenido, por lo menos en lo que a agentes mitógenos y a

glutamina, se refiere, es crítica. Su envejecimiento aun cuando sean conservados en el refrigerador, los deteriora irregularmente, haciendo aleatorios los resultados que con ellos se tiene en la práctica diaria. Quien no acepte esta verdad, es que nunca ha hecho personalmente cultivo de tejidos.

Esperamos que esta explicación introductoria, aclare el por qué nos basamos más en nuestra modesta casuística y sin querer sentar cátedra, tratemos sólo de orientar con nuestra experiencia. Hacerlo de otro modo equivaldría a abrumar a los interesados con resultados de otros autores; resultados que por otra parte están ampliamente difundidos en la literatura médica y a los que se podrá recurrir, recogiendo la enseñanza de la fuente original, sin las deformaciones que supone el paso de una pluma a otra.

Determinación del sexo fetal

Como lo hemos asentado en otras publicaciones,^{2, 3} creemos que la determinación de la cromatina sexual por lo que al cromosoma X se refiere, debe descartarse definitivamente en la determinación del sexo fetal, primero por falta de alcance de un método, que sexa equivocadamente a la mujer XO y al varón XXY; segundo, porque la técnica no es 100 por ciento exacta; a este respecto nos basta citar por elocuente el caso de Riis y Fuchs,⁴ en el que se indujo el aborto terapéutico de un feto en el que se había comunicado cromatina sexual negativa, el producto sacrificado era del sexo femenino.

Es oportuno señalar que es posible que las fallas que hasta ahora ha ofrecido esta sencilla técnica puedan resolverse con la determinación simultánea del corpúsculo

del cromosoma Y en los núcleos en interfase, por medio de la microscopia de fluorescencia; ⁵ nosotros apenas nos iniciamos en esta nueva técnica y no tenemos experiencia para emitir un juicio. Desconocemos por otra parte trabajos similares en este campo.

En cambio creemos que el sexo fetal puede ser determinado con 100 por ciento de exactitud si se recurre al estudio cromosómico por medio del cultivo de las células del líquido amniótico.

Evaluación de métodos de cultivo

Los autores por nosotros consultados ⁶⁻⁸ separan por centrifugación las celdillas suspendidas en la muestra del líquido amniótico y es probable que a ello se deban muchas de las fallas informadas para lograr el cultivo; Steel y Bregg ⁹ por ejemplo, de 56 muestras logran solamente el cultivo de 12 y Emery y colaboradores, ¹⁰ de 128 especímenes logran el cultivo en 66. Las cifras de otros autores varían en forma semejante.

Tomando en cuenta lo anterior elaboramos una técnica, en cuyo desarrollo tomamos en cuenta, primero, que el líquido amniótico es por sí mismo, un excelente medio de cultivo celular; segundo, que las células viables que están presentes en él lo "condicionan" gracias a su actividad metabólica. Actualmente no sólo por nosotros sino en muchos centros, se está experimentando en cultivo de tejidos con "medios condicionados", que no son sino los desechos que antes descartábamos hacia el vertedero y que ahora podemos aprovechar si los esterilizamos adecuadamente.

En nuestra técnica, tomando en cuenta los dos hechos acabados de señalar, no

hacemos sino repartir en frascos de cultivo, alícuotas de 3 ml. de líquido amniótico que completamos a 10 ml. con medio base enriquecido con suero fetal de ternera y glutamina.

Los frascos se incuban a 37° C. en atmósfera con 5 por ciento de CO₂. En 33 casos estudiados hemos observado que la fijación de las células se hace entre el quinto y noveno días; hasta ese momento agregamos nuevamente medio de cultivo y a partir de entonces, la frecuencia y cantidad que adicionamos de medio nuevo, depende del aspecto microscópico de las células en división. El paso a cubreobjetos para iniciar la cosecha se efectúa entre los 8 y 14 días de iniciada la multiplicación celular; 72 horas después, la cosecha termina.

En las 33 muestras con que hemos trabajado, el cultivo ha sido positivo; en 20 de ellas se hizo por triplicado; de tal manera que los cultivos logrados suman 73.

Evaluación de resultados

El año pasado, ¹¹ refiriéndonos al tema que hoy nos ocupa, dijimos que por medio del cultivo de las celdillas del líquido amniótico era posible determinar las diferentes aberraciones que condicionan los síndromes cromosómicos hasta hoy conocidos en niños vivos, a saber, las trisomías clásicas, las alteraciones de los cromosomas sexuales, las monosomías parciales, las translocaciones, etc. Posiblemente sólo las alteraciones cromosómicas que son exclusivas de celdillas de la estirpe hematopoyética, no pueden ser detectadas; es probable en cambio detectar las alteraciones cromosómicas letales, hecho que cobra enorme importancia en el campo de la ginecoobstetricia.

Para lograr tan prometedores resultados hace falta que la técnica que se use, proporcione un número adecuado de mitosis y que éstas sean de calidad satisfactoria para el análisis. En relación con esto, recordemos que Jacobson y Barter¹² sólo obtuvieron de 93 cultivos, 61 con mitosis satisfactorias en número y calidad. Valenti y Kehaty⁸ en cambio, de 35 especímenes lograron el cultivo en siete, pero en los siete las mitosis fueron satisfactorias. Steel y Bregg ya mencionados, de doce cultivos sólo obtuvieron dos que fueron útiles para el análisis mitótico.

En los 33 casos nuestros, tres fueron hechos teniendo como mira el diagnóstico prenatal; en todos ellos había el antecedente de un hijo previo con trisomía 21 regular; en los tres, las madres eran menores de 30 años, y en ellos se comunicaron dos cariotipos femeninos normales y un cariotipo normal masculino. El fenotipo de los niños fue concordante.

En los 30 restantes, se aprovechó el líquido amniótico que fue enviado para espectrofotometría. En todos, los cariotipos fueron normales: 18 del sexo masculino y 12 del sexo femenino. Sólo en 12 casos hemos tenido confirmación de nuestros hallazgos; y en ellos el fenotipo correspondió al cariotipo.

Causas de error

1. Que cultiven células maternas y se informe así el cariotipo femenino de la madre. Esta falla puede evitarse, primero, descartando todo cultivo "temprano", en que la multiplicación celular se inicie antes del cuarto día; segundo, haciendo la siembra por triplicado y observando si hay o no concordancia en los tres resultados obtenidos.

2. Que en un embarazo gemelar se obtenga la muestra de un solo saco amniótico; esto conduce a errores graves. Es probable que la sonoplacentografía, en un futuro próximo, evite este problema.

De todo lo dicho se puede deducir que en el diagnóstico prenatal, para obtener óptimos resultados en la detección de las anomalías cromosómicas, es necesario:

a) Que se disponga de una buena técnica para cultivo de celdillas de líquido amniótico que permita obtener un alto porcentaje de resultados positivos.

b) Que dicha técnica sea capaz de proporcionar suficiente número de mitosis satisfactorias para el análisis.

c) Que en este análisis, se utilicen todos aquellos parámetros que conduzcan a una mejor identificación cromosómica y que la persona que lo realice sea un experimentado citogeneticista.

d) Que la siembra del líquido amniótico se haga por triplicado, a fin de reducir al mínimo el riesgo de que se cultiven células maternas que conduzcan a resultados erróneos.

REFERENCIAS

1. Somogyi, M.: Comunicación personal, 1953.
2. González-Ramos, M.: *Diagnóstico prenatal de las alteraciones genéticas*. Ginec. Obstet. Méx. 31:184, 1972.
3. González-Ramos, M.: *Manual del consejo genético en clínica*. En prensa.
4. Riis, P., y Fuchs, F.: *Sex chromatin and antenatal sex diagnosis*. En: *The Sex Chromatin*. Moore, K. L. (Ed.). Filadelfia, W. B. Saunders, Co. 1966, p. 220.
5. Pearson, P. L.; Bobrow, M., y Vosa, C. G.: *Technique for identifying Y chromosome in human interphase nuclei*. Nature 226:78, 1970.
6. Nadler, H. L.: *Patterns of enzyme development utilizing cultivated human fetal cells derived from amniotic fluid*. Biochem. Genet. 2:119, 1968.
7. Valenti, C.; Schutta, E. J., y Kehaty, T.: *Prenatal diagnosis of Down's syndrome*. Lancet 2:220, 1968.
8. Valenti, C., y Kehaty, T.: *Culture of cells*

obtained by amnio-centesis. J. Lab. Clin. Med. 73:355, 1969.

9. Steele, M. W., y Bregg, W. R.: *Chromosome analysis of human amniotic fluid cells*. Lancet 1:383, 1966.
10. Emery, A. E. H.: *The electrophoretic pattern of lactic dehydrogenase in carriers and pa-*

tients with Duchenne muscular dystrophy. Nature 201:1044, 1964.

11. González-Ramos, M.: *Bases del consejo genético*. Por publicarse.
12. Jacobson, C. B., y Barter, R. H.: *Intrauterine diagnosis and management of genetic defects*. Amer. J. Obstet. Gynec. 99:796, 1967.

V RESULTADOS EN RELACION A ERRORES CONGENITOS DEL METABOLISMO

RUBÉN LISKER *

Para diagnosticar *in utero* la presencia de algunos errores congénitos del metabolismo, se acostumbra hacer la toma del líquido amniótico entre las semanas 12 a 20 del embarazo. Dependiendo de cada situación en particular, se estudia: a) el sobrenadante que queda después de centrifugar dicho líquido; b) las células fetales presentes en el sedimento del centrifugado, y c) las mismas células previo cultivo, lo que tarda de 1 a 4 semanas.

Como ya se ha mencionado, se realizan en forma genérica dos tipos de estudios: cromosómicos y enzimáticos. En el cuadro 1 se puede observar una relación de las enfermedades que se han diagnosticado *in utero*, la alteración bioquímica cuya demostración hace el diagnóstico, así como la fracción de líquido amniótico que es necesario investigar.^{1, 2} Quiero recalcar que en algunas situaciones no es posible aún diferenciar al homocigoto anormal del heterocigoto y en particular quiero referirme a la enfermedad fibroquística del páncreas. Esto es muy importante, ya que

únicamente los primeros tienen problema clínico, mientras que los segundos son sanos. Si se interrumpiera el embarazo en todos los casos en que se demostraran gránulos metacromáticos, ciertamente que se evitaría el nacimiento de los homocigotos anormales; sin embargo, debe señalarse que con la frecuencia génica que se observa en la población blanca de los Estados Unidos de América, por cada homocigoto hay 75 heterocigotos que, repito, son clínicamente sanos y capaces de llevar una vida normal. Obviamente la técnica empleada no puede considerarse como satisfactoria.

En el cuadro 2 se anota una lista de otros errores congénitos del metabolismo cuyo diagnóstico *in utero* aún no se ha realizado, pero que se considera muy factible, en vista de que se ha demostrado que obedecen a alguna deficiencia enzimática específica, demostrable en forma directa o mediante cultivo.³

En el cuadro 3 aparece una recopilación de resultados publicados en relación a este problema.^{1, 4-6} En el caso de las enfermedades recesivas ligadas al cromosoma

* Académico numerario, Instituto Nacional de la Nutrición.

Cuadro 1 Lista de enfermedades hereditarias diagnosticadas *in utero*^{1, 2}

	Padecimiento	Alteración
Líquido amniótico	Aciduria metilmalonica Enfermedad de Pompe Enfermedad de Tay-Sachs Mucopolisacaridosis Síndrome adrenogenital	Aumento de metilmalonato Deficiencia de α -1,4-glucosidasa Deficiencia de hexosaminidasa A Cambios cuali y cuantitativos de mucopolisacáridos Aumento de 17-cetosteroides y de pregnantriol
Células amnióticas sin cultivar	Enfermedad de Pompe Enfermedad de Tay-Sachs	Deficiencia de α -1,4-glucosidasa Deficiencia de hexosaminidasa A
Células amnióticas cultivadas	Deficiencia de fosfatasa ácida lisosomal Enfermedad de Fabry Enfermedad fibroquística del páncreas * Enfermedad de "orina de jarabe de arce" Enfermedad de Pompe Enfermedad de Niemann-Pick Enfermedad de Tay-Sachs Galactosemia Leucodistrofia metacromática Mucopolisacaridosis Síndrome de Lesch-Nyhan Síndrome de Marfan Xeroderma pigmentoso	Deficiencia de fosfatasa ácida lisosomal Deficiencia de una trihexosidasa Presencia de gránulos metacromáticos Deficiencia de una decarboxilasa Deficiencia de α -1,4-glucosidasa Deficiencia de esfingomielinasa Deficiencia de hexosaminidasa A Deficiencia de galactosa-1-fosfato uridil transferasa Deficiencia de aril-sulfatasa A Presencia de gránulos metacromáticos y anomalías en el manejo de $^{35}\text{SO}_4$ Deficiencia de fosforribosiltransferasa de la hipoxantina y guanina Gránulos metacromáticos Anormalidad en la reparación de ADN

* No hay diferencia entre el homocigoto y el heterocigoto.

X, cuando no es posible realizar un diagnóstico directo, se determina el sexo del producto, sabiéndose que las mujeres no pueden padecer la enfermedad y los varones tienen 50 por ciento de probabilidades de tenerla. Como se puede ver en el cuadro, hubo en este grupo 14 varones y únicamente en 9 los padres decidieron que se interrumpiera el embarazo. La situación es distinta en el grupo descrito bajo el rubro de "nacimiento previo de sujetos con errores congénitos del metabolismo", donde se decidió interrumpir el embarazo en los 8 casos en que se demostró la presencia de la enfermedad. Del total de 80 embarazos, en 63 se decidió que el producto naciera, y en todos los

casos fue sano. Conviene señalar que casi la totalidad de estas parejas no hubieran tenido hijos, de no contar con la oportunidad del diagnóstico prenatal.

Como es fácil observar por lo que acabo de presentar, a pesar de que se buscó compilar la experiencia mundial, únicamente se presentan 80 casos. Ello podría hacer pensar que todo el asunto no tiene mayor importancia y que no vale la pena ocuparse de él. Al respecto conviene hacer las siguientes reflexiones: a) el procedimiento está apenas saliendo de la fase inicial de estudio y se realiza en muy pocos centros; b) la posibilidad de que el diagnóstico prenatal tenga aplicación práctica, seguramente que estimulará la in-

Cuadro 2 Lista de padecimientos hereditarios cuyo diagnóstico *in utero* se considera muy probable^a

Enfermedad	Deficiencia enzimática demostrada directamente o en cultivo
<i>Trastornos de aminoácidos</i>	
Arginosuccinuria	Argininosuccinasa
Cistinosis	Desconocida
Citrulinemia	Sintetasa del ácido argininosuccínico
Deficiencia de la ornitino-alfa-cetoácido transaminasa	Ornitino-alfa-cetoácido transaminasa
Hiperamonemia tipo II	Ornitil-carbamil transferasa
Hiperglucemia con cetosis	Propionil-CoA-carboxilasa
Híperlisinemia	Lisina-cetoglutarato reductasa
Hipervalinemia	Valina transaminasa
Homocistinuria	Cistationina sintetasa
<i>Trastornos de carbohidratos</i>	
Atesoramiento de glucógeno tipo III	Amilo-1,6-glucosidasa
Atesoramiento de glucógeno tipo IV	Enzima ramificadora
Deficiencia de G-6-FD	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
Deficiencia de piruvato descarboxilasa	Piruvato descarboxilasa
Fucosidosis	Alfa-fucosidasa
Manosidosis	Alfa-manosidasa
<i>Trastornos de lípidos</i>	
Gangliosidosis generalizada	Beta-galactosidasa A, B y C
Gaucher	Glucocerebrosidasa
Refsum	Acido fitánico alfa-hidroxilasa
<i>Trastornos diversos</i>	
Acatalsemia	Catalasa
Aciduria orótica	Orotidil pirofosforilasa y descarboxilasa
Chediak-Higashi	Desconocida
Células I	Deficiencia de beta-glucuronidasa y aumento de fosfatasa ácida
Porfiria eritropoyética	Cosintetasa

investigación de estos problemas y cada vez será posible diagnosticar más enfermedades y, si la frecuencia individual es baja, el conjunto no lo es; c) la repercusión de estos enfermos en la sociedad es muy grande, en particular cuando sobreviven por varios años.⁷ Se ha calculado por ejemplo que en la Unión Americana la atención de cada enfermo con enfermedad fibroquística del páncreas cuesta alrededor de 80 000 dólares, mientras que el costo de evitar que nazca, una vez perfeccionada la técnica, sería del orden de 18 000

Cuadro 3 Recopilación de resultados obtenidos a la fecha.^{1, 4-6} El total se refiere a la suma de las dos primeras líneas, mientras que el resto es parte de los casos comprendidos en la segunda línea, o sea, de los 49 casos

Indicación	Resultado del embarazo			
	Embarazos	Productos anormales	Abortos	Nacimientos
Madre portadora de enfermedad recesiva ligada al cromosoma X	31	14 varones	9	22
Nacimiento previo de sujeto con error congénito del metabolismo	49	8	8	41
Nacimiento previo de:				
Enfermedad de Pompe	9	1	2*	7
Deficiencia fosfatasa ácida lisosomal	2	1	1	1
Mucopolisacaridosis	2	0	0	2
Orina de "miel de arce"	2	0	0	2
Tay Sachs	1	0	0	1
Leucodistrofia metacromática	1	1	1	0
Gangliosidosis generalizada	1	0	0	1
Total	80	22	17	63

* Uno fue aborto espontáneo.

dólares, y d) la trascendencia de estos padecimientos en las familias donde aparecen es muy importante, independientemente de su frecuencia en la población.

No quiero dejar la impresión de que el diagnóstico prenatal ha solucionado el problema de las enfermedades hereditarias. Su impacto en cuanto a reducción de estos padecimientos es muy variable y depende de la forma en que se transmiten las enfermedades.

En los padecimientos recesivos, los padres son heterocigotos y clínicamente sanos, enterándose de que son heterocigotos después del nacimiento de un hijo afectado. Si después de esto se inicia el programa de diagnóstico prenatal, en familias que aspiran a tener dos hijos sanos, se reduce el número de afectados entre el 12 y 34 por ciento. Para resolver el problema en estos casos se requiere de una intensa campaña premarital de identificación de los heterocigotos, que señale a los matrimonios con riesgo de tener hijos afectados y a ello siga el diagnóstico prenatal. En las enfermedades dominantes, por el contrario, el diagnóstico se hace antes de que un sujeto afectado se reproduzca y si hubiera forma de hacer el diagnóstico *in utero*, podría bajarse la frecuencia de la enfermedad en forma considerable. Desgraciadamente, no es posi-

ble en la actualidad identificar *in utero* ninguna de estas enfermedades.

Por último en relación a las enfermedades cromosómicas, el panorama actual es más alentador, ya que alrededor de 33 por ciento de sujetos con síndrome de Down, que es la más frecuente de las anomalías cromosómicas, nacen de mujeres mayores de 40 años que, como ya se mencionó constituye uno de los grupos que más se ha estudiado.

REFERENCIAS

1. Nadler, H.: *Indications for amniocentesis in the early prenatal detection of genetic disorders*. Birth Defects. Original Article Series 7: 5, 1971.
2. Regan, J.; Setlow, R.; Kaback, M.; Howell, R.; Klein, E., y Buergess, G.: *Xeroderma pigmentosum: A rapid sensitive method for prenatal diagnosis*. Science 174:147, 1971.
3. Milunsky, A.; Littlefield, J.; Kanfer, J.; Kolodny, E.; Shih, V., y Atkins, L.: *Prenatal genetic diagnosis*. New Eng. J. Med. 283:1370, 1441 y 1498, 1970.
4. Riis, P., y Fuchs, F.: *Antenatal determination of foetal sex in prevention of hereditary diseases*. Lancet 2:180, 1960.
5. Gertner, M.; Hsu, L.; Martin, J., y Hirshhorn, K.: *The use of amniocentesis for prenatal genetic counseling*. Bull. N. Y. Acad. Med. 46: 916, 1970.
6. Nadler, H., y Gerbic, A.: *Role of amniocentesis in the intrauterine detection of genetic disorders*. New Eng. J. Med. 282:596, 1970.
7. Motulsky, A.; Fraser, G., y Felsenstein, J.: *Public health and long term genetic implications of intrauterine diagnosis and selective abortion*. Birth Defects. Original Article Series 7:22, 1971.

VI CONSIDERACIONES EUGENICAS

A PROPOSITO DEL DIAGNOSTICO INTRAUTERINO

MARIO SALAZAR-MALLÉN *

Decía el Estagirita que el estudio de la filosofía, las ciencias como ahora diríamos, debía iniciarse con el de la medicina y que el médico completo debía ser también filósofo.

El tema que aquí se viene tratando hace vigentes ambas aseveraciones, pues ya que se ha hablado de las bases científicas del diagnóstico intrauterino, de las técnicas que se emplean y de sus resultados, procede insistir en otros aspectos no menos importantes que los anteriores y que son las consecuencias morales y sociales, filosóficas diríamos, de tan novedoso e interesante recurso médico.

Por costumbre pensamos en que la base de nuestra profesión está en la relación médico y paciente, aseveración que en la actualidad tiene sólo una validez restringida, pues cada día cobran mayor importancia la profilaxis en masa de las enfermedades y el contexto social como factor determinante de la salud.

La relación del médico con su paciente puede ser absolutamente personal y directa, ejemplificada por la consulta del enfermo adulto y mentalmente íntegro; más o menos indirecta, cuando se trata de menores o de enfermos mentales, o impersonal, aunque directa, si el diagnóstico o el tratamiento se buscan mediante cuestionarios o dirigiéndose a un grupo.

El diagnóstico intrauterino, bien se trate de conocer si hay o no sufrimiento fetal o si se busca descubrir la composición

genética del producto, supone una nueva relación, en la que juegan el papel de pacientes los padres y de un modo pasivo el hijo o los hijos por venir.

El consejo genético a los padres puede ser espontáneo, cuando éstos lo buscan, o provocado por el médico, conocedor de los antecedentes familiares y deseoso de informar a los progenitores de la posibilidad del riesgo hereditario. En uno y otro caso el proceder profesional no depende de pautas rígidas dictadas, digamos, por los conocimientos científicos del doctor, pues involucra factores culturales, como son los legales, los religiosos y los morales, y aun los emocionales, a los que no pueden ser ajenos los doctores y los progenitores.

Vamos a plantear y a discutir las más apremiantes posibilidades en casos siempre hipotéticos:

Imaginemos en primer lugar el caso de un matrimonio en el que los dos esposos son portadores de un gen patológico recesivo y reconocible en el fenotipo (fibrosis quística), cuyo diagnóstico *in utero* no fuera factible y en el que la concepción no hubiera tenido lugar, ¿cuál debe ser la conducta del doctor? En mi opinión, el caso es simple: conocidas las circunstancias, su papel como consejero debe consistir en dar a los interesados la mayor información posible acerca de las probabilidades y en su caso sobre la sintomatología y el manejo de los homocigotos, evitando sugerir el uso de anticonceptivos o, todavía peor, el de la practicabilidad, las ventajas y la bondad o no del aborto.

* Académico titular. Laboratorio de Investigaciones Inmunológicas. Secretaría de Salubridad y Asistencia.

Igual sería la situación de existir ya el producto, diagnosticado *in utero* (enfermedad de Tay-Sachs) pero aquí el doctor se encontrará con muy importantes factores emocionales y morales cuya presencia debe tomar en cuenta con la mayor seriedad, contestando como en el caso anterior lo que se le pregunte y sin ir más lejos, aun cuando su sentimiento de "omnipotencia" lo invite a convertirse en dueño y director de la situación; en suma, el consejero debe adoptar una posición de humildad pues de hecho no sabe todo, ni en lo tocante a la situación presente (posibilidad de un error de diagnóstico o de interpretación), ni menos en lo referente al futuro (posibilidad de corrección del padecimiento heredado mediante nuevos o diferentes procedimientos, como sucede en los casos de la oligofrenia fenilpirúvica, de la hemofilia A, del raquitismo ligado al sexo, tomados, insistimos, hipotéticamente, como ejemplos).

En una tercera situación un hijo ha nacido ya enfermo y el tipo de su padecimiento apunta hacia la mayor posibilidad de otros productos con la misma enfermedad (mongolismo). Creo que tampoco aquí el consejero debe modificar su actitud, pero ya que los progenitores tienen conciencia de las consecuencias del daño hereditario, debe hacerles saber (cuando ello sea factible) que el diagnóstico *in utero* tratándose de otros hijos será posible, es decir, que los padres pueden saber y en su caso, ejercer ese derecho, de acuerdo con sus principios y conveniencias.

En cualquiera de los ejemplos apuntados y aun en otros que hemos decidido no tocar (caracteres recesivos ligados al sexo o los dominantes autosómicos), existe, en fin, otro peligro caracterológico por parte del doctor y que es el de intentar im-

mir en los progenitores sus personales puntos de vista, religiosos o morales, o el de plegarse pasivamente a los de los padres.

Según mi punto de vista es tan inmoral profesionalmente ceder ante la insistencia de los pacientes cuyas expresiones de criterio muy liberal, muy humanitario o muy científico deben con toda paciencia escucharse, sin discutirse, como invocar ante los progenitores los principios morales o creencias que el doctor puede mantener, pero que no debe en la consulta intentar utilizar como instrumentos de persuasión o de disuasión.

Para resumir y tratándose de la relación médico y paciente y en el caso del consejo genético diré que debemos sostener por parte del médico consejero la obligación de saber y de informar, respetando íntegramente el derecho de los padres de conocer y decidir.

Pero existe otra formulación muy importante que no debemos soslayar y que trasciende al aspecto exclusivo de la consulta al genetista, y es el social o sea el de la eugenesia, en el presente caso negativa, es decir la preocupación social y moralmente justificada de lograr una humanidad con las menores desventajas en el genoma.

Aquí el contexto moral general resulta determinante para el análisis, subordinándose a su vez a la estructura social propiamente dicha o lo que es lo mismo, a la ideología que es el producto de esta última.

En Esparta, por ejemplo y muy de acuerdo con la estructura castrense del estado, era una costumbre moralmente irreprochable entregar a los recién nacidos a los ancianos, quienes decidían sobre su bondad física y que en caso de encontrar

manifestaciones desfavorables los "exponian" en lo hondo de una barranca del Taigeto, es decir, los condenaban a muerte; mientras que las mujeres contribuían a la selección de los débiles o epilépticos, sometiéndolos a la prueba del baño con vino (Plutarco).¹

En el juramento hipocrático² consta la obligación de no utilizar el pesario para provocar el aborto, pero existen también referencias no mal vistas tocantes al aborto provocado (la bailarina que salta sobre sus talones para abortar) y no hay duda de que si bien los juramentados cumplían con el precepto del maestro, existían abortadoras cuyo oficio era socialmente aceptado, ya que Platón se inclina por el control de la fertilidad (40 años como máximo para las mujeres y unos 55 para los hombres), tanto como del de la "explosión demográfica".

Con el advenimiento del cristianismo se planteó sobre nuevas bases el problema, y es así que Tertuliano se oponía a la destrucción intencionada del producto, llamándole homicidio. Pero como en los textos hipocráticos se sostenía que el producto *in utero* vivía una etapa informe hasta el día 40 y otra animada a partir de entonces, se suscitaron diversas opiniones que parecieron decidirse en 1553, cuando Carlos V aceptó por ley la precitada dualidad, pese a lo cual la confusión volvió a presentarse en el mundo cristiano debido a que unos decenios más tarde Fienus dedujo que el alma o espíritu racional llegaba al producto a partir del tercer día de ocurrida la concepción (Poynter).³

Los argumentos de los teólogos sobre este asunto continuaron *ad nauseam* sin que en ningún caso sirvieran para apoyar los motivos científicamente aceptables;

llama la atención la falta de referencias al Antiguo Testamento (Exodo, XXI, 22), en el que el aborto no se considera homicidio.

Pero sobre el particular estamos aún bien lejos de conseguir un acuerdo, pues recientemente⁴ en el periódico de la Asociación Médica Americana se publicó una encuesta tocante a la definición del principio de la vida, de la cual resultaron opiniones tan diversas como las que siguen: un abogado informó que aun teniendo derechos jurídicos el feto, su personalidad se iniciaba con el nacimiento; un doctor dijo que interrumpir el proceso de la fertilización equivalía a cortar el eslabón de la cadena de la vida; dos representantes de las iglesias cristianas se inclinaron por dar autonomía al huevo fecundado, opinando que la nidación era sólo un factor necesario para el desarrollo y un judío hizo ver cómo de acuerdo con los textos rabínicos el feto era sólo una parte de la madre, sin poder considerarse persona viva. Nuestro Código Penal, en fin, define al aborto como muerte del producto de la concepción en cualquier momento de la preñez y lo considera como criminal, salvo en el caso de que la madre se encuentre en peligro de muerte de no practicárselo.

Para tener algún punto de referencia puede ser útil que sepamos que en el humano el huevo fecundado evoluciona a mórula en unos cuantos días (Edwards),⁵ que el cerebro, asiento de la razón y de la volición presenta circunvoluciones hasta las últimas semanas del embarazo y que el producto antes del séptimo mes carece de individualidad, en el sentido de que su subsistencia está ineludiblemente ligada a la vida en el útero y que objetivamente hablando la vida del ser no procede por

saltos, sino evolutivamente: el material genético pluripotencial pero insuficiente de cada gameto se une, haciendo posible el desarrollo del huevo fecundado mediante multiplicación primero, y después mediante diferenciación; pasados algunos meses es evidente la actividad refleja del producto, pero el recién nacido que cuenta con una gran capacidad de recibir y de grabar impresiones del exterior no da manifestaciones de raciocinio, en el sentido de aptitud de selección consciente; el proceso intelectual toma en nuestra especie largos años y en verdad no termina sino con la muerte cerebral.

Las consideraciones anteriores u otras que no sé expresar, se han unido a los cambios sociales resultantes de los adelantos de la medicina, influyendo en la opinión pública de los países civilizados. La civilización nos ha enseñado cómo reducir la mortalidad, pero no ha resuelto el problema del control de la población y si la medicina considera que la vida es sagrada y que es un deber profesional hacerla mejor y mantenerla, debe también evitar que nazcan seres condenados a la pobreza, a la necesidad y a la frustración. La santidad de la vida demanda que la dignidad del hombre se mantenga y debemos reflexionar si podrán disfrutar de esta última los millones de niños que ahora vienen al mundo (cita de Poynter).

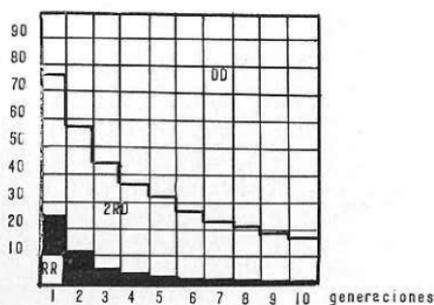
El aborto pues, en general, y el aborto selectivo en particular se han liberalizado en muchos países y procede entonces que examinemos las consecuencias eugénicas a la larga, del diagnóstico intrauterino llevado a su última consecuencia, o sea la eliminación de los productos genéticamente indeseables. Con Motulsky y colaboradores⁶ veamos algunos de los resultados del aborto profiláctico considerando en

primer término la unión de dos individuos portadores (sanos) de un carácter recesivo y patológico. Como resultado de esta unión el primer embarazo resultará en una cuarta parte de homocigotos recesivos y enfermos; esta misma proporción de parejas conocerá su calidad de portadora, sometiéndose en condiciones "ideales" a la amniocentesis para saber el destino de una segunda preñez y solicitando, en caso de ser la última positiva, el aborto terapéutico, con lo cual se reducirá el número de pacientes, pero quedarán disponibles para engendrar enfermos 75 por ciento de los portadores, cuyo primer hijo resultó sano, por lo cual los tres cuartos de la población continuarán con el riesgo de producir una cuarta parte de productos homocigotos y enfermos y así sucesivamente, según podrá verse en el cuadro 1, tomado de los precitados autores, quienes partieron de una supuesta población formada por

Cuadro 1 Aborto selectivo. Primer producto doble recesivo y enfermo; la meta es de dos hijos sanos

	Fetos	Normales	Enfermos	Diagnósticos	Abortos
1	480	360	120	—	—
2	360	270	90	120	30
3	240	180	—	240	60
4	60	45	—	60	15
5	15	11.25	—	15	3.75
6	3.75	2.81	—	3.75	0.94
Totales	1 280	960	210	440	110

Motulsky y col., 1971.



1 Disminución de un carácter recesivo si se eliminara a los enfermos (homocigotos "RR").

480 parejas que deseaban tener como ideal dos hijos sanos.

Los resultados serían sin discusión favorables, pues el aborto evitaría, aunque no eliminaría, la enfermedad en un buen número de casos y vistas así las cosas uno se inclinaría por buscar el uso generalizado del diagnóstico intrauterino mediante campañas educativas y el establecimiento de clínicas *ad hoc*; pero en la práctica debemos de tomar en cuenta que estos ejemplos "ideales" sólo pueden producirse en poblaciones "ideales" también y preguntarnos si en el mundo en el que vivimos será este tipo de esfuerzo, aunque moralmente justificado, factible, o si dando prioridad a otros problemas más ingentes y de dominio más al alcance de nuestras posibilidades no convendrá desde el punto de vista científico, moral y social procurar hacer más llevadera la vida de los enfermos y dar apoyo a las familias con niños afectados, restringiendo el problema de diagnóstico y de profilaxis al nivel tradicional de la relación médico y paciente.

Con mayor justificación podríamos hacer el planteamiento desde otro punto de vista buscando la erradicación, es decir,

la eliminación en lo absoluto de los genes recesivos y por consecuencia, las posibilidades para el futuro de productos enfermos. De Dahlberg⁷ tomamos los datos que ilustran este punto y que pueden normar nuestro juicio: sea una población en la que el 25 por ciento son portadores homocigotos del carácter patológico recesivo y cuya esterilización se logra (es impredecible el diagnóstico de todos los heterocigotos portadores y en aptitud de reproducirse); el gen tenderá ciertamente a desaparecer, pero aún así sólo hasta la cuarta generación se habrá llegado a una proporción del 4 por ciento, sin haberse podido evitar hasta la décima generación la presencia de casi 20 por ciento de portadores y transmisores sin síntomas (figura 1).

El panorama podría ser menos desalentador tratándose de un carácter dominante, es decir, expresado en los heterocigotos y partiendo de la esterilización de éstos. Teóricamente y tomando un caso "ideal" en el que el gen se expresara en el fenotipo oportunamente (acondroplasia) pensaríamos en la erradicación casi instantánea de la enfermedad lo cual, de acuerdo con los trabajos de Mørch⁸ no ocurre sin embargo, pues aun obteniéndose una disminución de enfermos la mutación espontánea que es del orden del 43 por millón mantiene la proporción esperada de unos 108 enfermos, por un millón de personas también.

Podríamos hacer semejantes reflexiones tocante a la hemofilia A, carácter ligado al cromosoma X y recesivo, y contemplar la posibilidad de erradicar el mal mediante la esterilización de los enfermos, el diagnóstico y el aborto selectivo de los hemocigotos portadores, pero infortunada, si bien no inesperadamente, la enfermedad

continuaría presentándose mediante mutación. Haldane⁹ ha ilustrado la situación en Inglaterra haciendo ver cómo la selección natural debería haber eliminado ya a esta enfermedad, salvo en el caso de que los actuales pacientes fueran descendientes de una población masculina en su totalidad hemofílica que hubiera ocupado el país durante la conquista de Guillermo I (1027-1087).

Terminaremos, en fin, esta exposición, insistiendo en la existencia de ciertos sutiles ajustes genéticos, cuya vigencia comenzamos apenas a descubrir. En 1940, en efecto, Ford¹⁰ describió la persistencia constante en la misma población de factores genéticamente condicionados (por ejemplo los de grupo sanguíneo), llamando polimorfismo transitorio al resultante de la acción de los genes benéficos o dañinos.

El hecho es que estamos aprendiendo que el término perjudicial o ventajoso no puede, en casos que ya son muchos, aplicarse de un modo absoluto: así acontece con el rasgo hematías falciformes, cuya presencia en doble dosis "SS" (o de otras hemoglobinas anormales) da lugar a crisis vasculares muchas veces mortales, pero el heterocigoto disfruta de una evidente ventaja, pues soporta muy bien ciertas formas graves de paludismo¹¹ (cuadro 2). Análogamente, la tendencia a la atopía o alergia de tipo inmediato, desfavorable desde el punto de vista de que da lugar a síntomas bien conocidos, puede resultar ventajosa en la medida (aún sujeta a comprobación) de que la inmunoglobulina IgE tenga un papel protector frente a las infecciones sinopulmonares.^{12, 13} Tratándose de la esquizofrenia, en fin, que Huxley y colaboradores consideran como un caso de polimorfismo no

Cuadro 2 Polimorfismo y adaptación (hemoglobina "S")

Genotipo	"NN"	"NA"	"AA"
Resistencia a:			
Malaria	No	Sí	Sí
Anemia	No	No	Sí
Frecuencia	u ²	2uv	v ²
Adaptación	I-S _N	I	I-S _A

(Mather, 1964).

transitorio, se ha afirmado la mayor resistencia de estos pacientes a las infecciones propias de la infancia¹⁴ y, por lo tanto, su relativa ventaja desde el punto de vista de la selección.

Lo anteriormente dicho puede resultar a la postre de una importancia geográficamente restringida y socialmente insignificante, pero nos enseña cómo antes de iniciar los intentos de eugenesia negativa al nivel social, tendremos que asegurarnos de la incontrovertible bondad de nuestro proceder.

El diagnóstico intrauterino es, sin duda, un importante adelanto para el diagnóstico y con muchas posibilidades para la profilaxis de ciertas enfermedades hereditarias, pero su utilización no desborda aún la relación médico y paciente. Es de esperarse que en un futuro, que se me antoja próximo, conozcamos mejor los errores metabólicos conducentes a las enfermedades hereditarias más comunes y que nos sea posible, mediante la manipulación química del desarrollo del individuo, la "eufenia" de Lederberg,¹⁵ encontrar procedimientos para corregirlos, reduciendo las necesidades teóricas del aborto selectivo a una práctica socialmente aceptable y moralmente inatacable.

REFERENCIAS

1. Plutarco: *Vidas paralelas. Licurgo*. Gil Editor, 1944. Vol. 1, p. 79.
2. Hipócrates: *The oath*. Heinemann, 1957. Vol. 1, p. 291.
3. Poynter, N.: *Medicine and man*. Watts, 1971, p. 63.
4. Editorial: *When does life begin?* J.A.M.A. 214:1893, 1970.
5. Edwards, R. G.: *Problems of artificial fertilization*. Nature 233:23, 1971.
6. Motulsky, A. G.; Fraser, G. R., y Felsenstein, J.: *Public health implications of intrauterine diagnosis and selective abortion*. Birth Defects. Original Article Series 7:22, 1971.
7. Dahlberg, G.: *Mathematical methods for population genetics*. Basilea, S. Karger. 1948, p. 38.
8. Mörch, E. T. Cit. en Mather, K.: *Human diversity*. Londres, Oliver & Boyd. 1964, p. 37.
9. Haldane, J. B. S.: *Heredité et politique*. Paris, Presses Universitaires de France. 1948, p. 33.
10. Ford, E. B. Cit. en Clarke, C. A.: *Selected topics in Medical Genetics*. Londres, Oxford University Press. 1969, p. 22.
11. Allison, A. C.: *Protection afforded by the sickle-cell trait against subtertian malarial infection*. Brit. Med. J. 1:290, 1954.
12. Cain, W. A.; Amman, A. J.; Hong, R.; Ishisaka, R., y Good, R. A.: *IgE deficiency associated with chronic pulmonary disease*. J. Clin. Invest. 48:12A, 1969.
13. Hong, R.; Amman, A. J.; Cain, W. A., y Good, R. A.: *The biological significance of IgE in chronic respiratory infections*. En: *The secretory immunologic system*. Washington, U. S. Government Printing Office. 1971, p. 433.
14. Huxley, J.; Mayr, E.; Osmond, H., y Hoffer, A.: *Schizophrenia as a genetic morphism*. Nature 204:220, 1964.
15. Lederberg, J.: *Man and his future*. Nueva York, Churchill. 1963, p. 265.