

Diagnóstico genético prenatal por análisis de ADN fetal en sangre materna

Prenatal diagnosis by the presence of fetal DNA in maternal blood

El meticuloso e interesante artículo de Sesarini y colaboradores, publicado en este número de *Archivos*¹, provee por primera vez datos locales sobre el aislamiento de ADN fetal circulante en forma libre en sangre materna, y su análisis para determinar grupo RhD y sexo del feto. La presencia de ADN fetal en plasma y suero materno fue demostrada por vez primera en 1997² y confirmada luego en numerosos trabajos.^{3,4} El análisis de ADN fetal tiene el potencial de convertirse en el futuro en un método no invasivo y eficiente de diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas.

El diagnóstico de trastornos genéticos fetales comenzó hace más de 40 años con la factibilidad de obtener células del feto por amniocentesis y cultivarlas. Desde entonces, se utilizó en forma creciente para análisis cromosómicos, enzimáticos y, más recientemente, moleculares, a partir de las 14 semanas de gestación. La biopsia de vellosidades coriales en la década de los 80, agregó otra técnica para obtención de células fetales, con las mismas aplicaciones señaladas y con la ventaja de realizarse en el primer trimestre de gestación.⁵

Actualmente la principal indicación de diagnóstico prenatal surge de la pesquisa prenatal (por marcadores fetales ecográficos y bioquímicos en sangre materna) para estimar riesgo de aneuploidías y la inmensa mayoría de diagnósticos genéticos prenatales es para anomalías cromosómicas, siendo las enfermedades monogénicas una indicación menos frecuente. La población usuaria de estos servicios solicita el procedimiento mayormente para evitar tener hijos afectados con la enfermedad para la cual tiene un riesgo elevado de ocurrencia. Independientemente de cuán progresista o conservadora sea la legislación vigente en un país con respecto a la interrupción del embarazo, la mayoría de las parejas informadas de un diagnóstico prenatal de enfermedad genética fetal recurre voluntariamente a la interrupción del embarazo.⁵

La amniocentesis y la biopsia de vellosidades coriales son procedimientos invasivos y están asociados a un riesgo de pérdida del embarazo de 0,3% y 1-2%, respectivamente,⁵ dependiendo de varios factores. El gran interés despertado por el análisis de ADN fetal en circulación materna, radica en que abriría la puerta al diagnóstico genético prenatal no invasivo

Sin embargo, existen todavía varias dificultades técnicas que deben salvarse antes de aplicar esta metodología en la práctica clínica. En efecto, la fracción del ADN circulante en sangre materna que tiene origen fetal, es solo del 2 al 6% del total, y no es fácil discriminar entre ADN fetal y materno. Por ello, las primeras aplicaciones han sido para analizar marcadores genéticos que están presentes sólo en el feto y no en la madre: el grupo RhD positivo en gestantes RhD negativas, el sexo fetal masculino, y enfermedades génicas por mutaciones provenientes del padre.

Determinación del estado RhD del feto

El éxito de esta metodología ha sido tan rotundo que en países desarrollados ya empieza a utilizarse como rutina en el manejo de la gestante RhD negativa. Se calcula que al reemplazar la amniocentesis por esta metodología para determinar el grupo RhD fetal en embarazos de gestantes RhD negativas, se reducirá en un 40% el número de ellas que requerirán la administración de gama globulina anti RhD. Esto evitará la administración de un producto sanguíneo a mujeres que no lo necesitan y evitará las amniocentesis con sus riesgos (aborto inducido e isoimmunización).

A pesar de la robustez de esta metodología en casos de RhD, todavía subsisten problemas para identificar a los fetos RhD negativos (esta variante genética no da señal en PCR de tiempo real), así como para diferenciar el ADN fetal del materno en fetos femeninos. La solución depende de encontrar identificadores de ADN fetal en las muestras de plasma materno. Para los fetos masculinos, el gen SRY del cromosoma Y es el mejor marcador. Existen varias técnicas en desarrollo para fetos femeninos, basadas en el análisis de polimorfismos alélicos y en el grado de metilación del ADN (el ADN materno está hipermetilado, mientras que el ADN fetal está hipometilado) y se está evaluando su eficacia.^{3,4} Dada la complejidad de estos análisis, se recomienda que la implementación de análisis de ADN fetal para el control de la enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido siga las recomendaciones de la Red de Excelencia Europea SAFE (www.safenoe.org). Las dificultades y discrepancias que Sesarini y colaboradores encontraron en su excelente trabajo, demuestran que esta metodología todavía no está madura en nuestro país para aplicarse a la clínica.

*Ver artículo
relacionado
en la
página 405*

Determinación del sexo fetal

Esta es quizá la aplicación más sencilla de la tecnología de análisis de ADN fetal en sangre materna, tal como lo comprueban los resultados de Sesarini y colaboradores. La determinación de sexo masculino en gestaciones en riesgo de enfermedades recesivas ligadas al cromosoma X (hemofilia, distrofia muscular de Duchenne, síndrome de X frágil y muchas otras) permitirá identificar aquéllas que requieran diagnóstico prenatal para determinar presencia o ausencia de enfermedad en el feto masculino con 50% de riesgo.

Diagnóstico de enfermedades génicas

Esta aplicación es una posibilidad real, aunque todavía deberán perfeccionarse las técnicas de diferenciación del ADN fetal del materno. En teoría, por ahora es posible detectar el gen anormal cuando proviene del padre, aunque probablemente en el futuro cercano, los obstáculos técnicos sean superados y se pueda expandir el método a las enfermedades génicas en general, independientemente de su transmisión hereditaria.

Detección de aneuploidías cromosómicas

No cabe duda que el "premio mayor" en el campo del análisis del ADN fetal en sangre materna, es la posibilidad de diagnosticar aneuploidías cromosómicas, que son motivo de cerca del 90% de los diagnósticos prenatales invasivos que se realizan en el mundo.⁵ Es predecible que cuando esto sea posible, muchas parejas que actualmente no recurren al diagnóstico genético prenatal por temor al riesgo del procedimiento, solicitarán el análisis. Éste deberá probar que existe un cromosoma extra en el feto, específicamente trisomía 21 o 18, que son las más comunes. Nuevamente, el problema radica en cómo diferenciar el ADN fetal del materno y, además, en determinar que aquél tiene 3 copias de un cromosoma 21 o 18.

Una de las técnicas en experimentación es la secuenciación de moléculas de ADN usando secuenciadores de nueva generación. Con esta técnica, Fan y colaboradores demostraron que el ADN proveniente, respectivamente, de cromosomas 21 y 18 de fetos con las trisomías correspondientes, es cuantitativamente diferente del resto de los cromosomas en muestras de plasma materno de gestaciones con las respectivas trisomías.⁶ Asimismo, el descubrimiento que el ARN fetal de origen placentario (fetal) también circula en plasma materno y se puede extraer y analizar,⁷ posibilitó el diagnóstico de trisomía 21 por análisis de ARN fetal en sangre materna analizando los polimorfismos SNP en un gen ubicado en el cromosoma 21 (llamado PLC-4).⁸ Sin embargo, la técnica es muy compleja y requiere que los polimorfismos SNP del gen analizado sean

diferentes entre el feto y la gestante, lo que limita su aplicación. Además, las frecuencias de los polimorfismos en PLC4 varían entre diferentes poblaciones y por ahora su uso masivo no está indicado.⁴

Predicción de complicaciones del embarazo

Como bien escriben Sesarini y colaboradores, existen indicios de que el ADN fetal se encuentra elevado en gestaciones que desarrollarán trastornos como preeclampsia, restricción de crecimiento intrauterino y prematuridad. Está por verse si estos estudios son replicados y qué utilidad emerge de los mismos para la prevención y el manejo de estos trastornos.

Del laboratorio de investigación a la práctica médica

Al emplear métodos exentos de riesgos para la gestación, el análisis del ADN fetal en plasma materno puede revolucionar el campo del diagnóstico genético prenatal. Sin embargo, se debe temperar el entusiasmo con los requisitos de seguridad y eficiencia que deben tener las aplicaciones prácticas y en gran escala de cualquier tecnología nueva. En este aspecto, preocupan los falsos negativos y falsos positivos encontrados en el excelente trabajo de Sesarini y colaboradores, que serían inaceptables en una aplicación clínica. Habrá que estimular y seguir de cerca el desarrollo de más investigaciones de este tipo, para ir adquiriendo experiencia y sensibilizar a los que en nuestro país se ocupan de la prevención de la enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido, y del diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas. Específicamente, es necesario conducir estudios de validez analítica, validez clínica y utilidad clínica de estas tecnologías antes de plantear su uso clínico. Y que sea en base a esos estudios, y en pleno conocimiento de sus costos/beneficios y sus riesgos/beneficios, que se defina su eventual aplicación en la práctica médica.

Aspectos éticos

Toda vez que se toca el tema del diagnóstico genético prenatal (por cualquier método) asoman los dilemas éticos que impregnan esta práctica, y que están relacionados con diferentes apreciaciones individuales y sociales sobre el valor moral del embrión y el feto y el significado de la discapacidad. La sola posibilidad que un niño nazca con una enfermedad genética aumenta en los futuros padres la natural ansiedad que rodea siempre al fenómeno reproductivo. Cuando esa probabilidad aumenta por la historia familiar o los resultados de la pesquisa prenatal, la consideración de recurrir al diagnóstico prenatal incrementa aún más los niveles de ansiedad y preocupación. Y cuando el diagnóstico prenatal convierte la probabilidad en certeza de feto afectado, la magnitud de la crisis es grandísima.

Como expresé arriba, el diagnóstico genético prenatal se utiliza en todo el mundo para: a) ofrecer a los futuros padres conocimiento sobre la presencia o ausencia de un trastorno genético específico en el producto en gestación, y b) brindar opciones voluntarias para que esos padres potenciales puedan evitar tener hijos afectados con ese trastorno, si eso es lo que desean.⁹ Este segundo componente de la atención genética es esencial, pues si fuera solamente para brindar conocimiento, no se estarían realizando en todo el mundo centenares de miles de diagnósticos prenatales por año, ni se estaría invirtiendo en investigaciones para mejorar la eficiencia y disminuir el riesgo del procedimiento. Cuando se diagnostica una enfermedad genética en el feto, los padres potenciales deben considerar y responderse varios interrogantes: ¿qué discapacidades específicas están asociadas al trastorno en cuestión? ¿es la afección compatible con una vida plena? ¿en qué medida podrán lidiar con los problemas propios de ese trastorno en un hijo? ¿en qué medida su cosmovisión y sus valores personales pueden aceptar un hijo con discapacidad, o son compatibles con la interrupción del embarazo? La ética del diagnóstico prenatal, tal como se practica en casi todo el mundo, privilegia la voluntariedad y la autonomía de decisión de los pacientes. La responsabilidad ética del profesional es de informar y asesorar en forma lo más objetiva posible, orientar a la pareja en todas las opciones existentes para enfrentar un resultado anormal en el feto. Asimismo se debe estimular y respetar sin juzgar las decisiones autónomas que toman los futuros padres de acuerdo a su conciencia.

Los problemas humanos y éticos del diagnóstico prenatal son independientes de la técnica por la cual se llegó al diagnóstico. Una vez diagnosticado un trastorno en el feto, estos problemas incluyen, entre otros, el duelo por el hijo sano deseado, la decisión, siempre difícil, de proseguir o interrumpir el embarazo, las culpas que genera cualquier decisión y el estigma social de lo genéticamente "defectuoso". A medida que el diagnóstico prenatal no invasivo se extienda a la clínica, éste tendrá las mismas aristas éticas que tienen actualmente la amniocentesis y la biopsia de vellosidades coriales, excepto que habrá un reparo menos para recurrir al diagnóstico prenatal, pues el riesgo del procedimiento estará fuera de la ecuación. En este contexto, su posible advenimiento enfrentará por lo menos cuatro tipos de dilemas éticos. Un primer dilema es cómo hacer en nuestro país para que, como en la mayor parte del mundo, se respete la autonomía de decisión de las parejas que frente a un resultado fetal anormal prefieren no continuar con el embarazo. Si bien soy consciente de la complejidad de este dilema, considero éticamente

reprobable la actual práctica disociada del diagnóstico prenatal, donde los profesionales suelen desentenderse del segundo componente de la atención genética prenatal, y no brindan orientación a sus pacientes sobre las opciones disponibles para evitar tener un niño afectado luego de un diagnóstico fetal anormal. Un segundo dilema es cómo asegurar que haya adecuada regulación de tecnologías y prácticas por parte del Estado, de manera que sólo se implementen técnicas que hayan probado su seguridad, validez y eficiencia. Un tercer dilema es cómo hacer para que estas metodologías se ofrezcan también en el sector público con equidad y al alcance de la población de acuerdo a la necesidad, y no solo en el sector privado, como ocurre actualmente. Finalmente, un cuarto dilema está dado por la posibilidad que, al desaparecer el riesgo del procedimiento gracias a la metodología no invasiva, se desencadene un uso frívolo y descontrolado de esta tecnología sin indicaciones pertinentes, sobre todo en los sectores sociales de altos recursos económicos, muy proclives al consumo indiscriminado y fútil de tecnología. ■

Dr. Víctor B. Penchaszadeh
Escuela de Salud Pública,
Universidad de Columbia,
Nueva York
victorpenchas@gmail.com

REFERENCIAS

1. Sesarini C, Jiménez ML, Redal MA, et al. Diagnóstico genético prenatal no invasivo de factor Rh y sexo fetal a través del análisis de ADN fetal libre en sangre materna. *Arch Argent Pediatr* 2009;107(5):405-409.
2. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485-487.
3. Lo YM, Chiu RW. Prenatal diagnosis: progress through plasma nucleic acids. *Nat Rev Genet* 2007;8:71-77.
4. Avent ND, Madgett TE, Maddocks DG, et al. Cell-free fetal DNA in the maternal serum and plasma: current and evolving applications. *Curr Op Obstet Gynecol* 2009;21(2),175-179.
5. Simpson JL, Elias S. Genetics in obstetrics and gynecology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2003.
6. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, et al. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:16266-16271.
7. Ng EK, Tsui NB, Lau TK, et al. RNA of placental origin is readily detectable in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:4748-4753.
8. Lo YM, Tsui NB, Chiu RW, et al. Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection. *Nat Med* 2007;13:218-223.
9. American College of Obstetricians and Gynecologists. 2002. Ethics in obstetrics and gynecology. Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists.