

ANENCEFALIA. DIAGNOSTICO PRENATAL

Auramarina Villalobos de Roldán* y Lía Angarita**

RESUMEN

Se estudiaron 200 muestras de líquido amniótico tomadas por amniocentesis transabdominal, en mujeres de 16 a 40 y más semanas de gestación, donde se determinó la presencia de alfa-1-fetoproteína (AFP), con la finalidad de investigar la presencia de malformaciones del sistema nervioso central (SNC) en el producto de esos embarazos.

La determinación se hizo mediante la técnica de inmunodifusión, modificada por Hernández y cols., y la cuantificación se hizo por el método de inmunodifusión radial.

Se pudo comprobar que el método cuantitativo utilizado permitió detectar esta proteína aún en casos donde las cantidades de ella estaban por debajo de 1 mg/100 ml. Además, la determinación y cuantificación de AFP en líquido amniótico permitió predecir en forma fidedigna, el 85-90% de los casos de malformaciones severas del SNC, como es la anencefalia. En nuestro trabajo fue posible detectar tres casos de anencefalia en gestantes de 20-27 semanas.

* Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

** Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Sostenemos que la amniocentesis es una de las indicaciones más importantes en el diagnóstico prenatal de malformaciones congénitas del SNC, y recomendamos la determinación y cuantificación de AFP cada vez que ésta se practique, sobre todo cuando se hace en el segundo trimestre del embarazo.

INTRODUCCION

Las malformaciones resultantes de un defecto en el cierre de las estructuras óseas que contienen al sistema nervioso central, o conducto craneoneural, pueden ser divididas en las craneosquisis, con defecto de los huesos del cráneo, y en las raquisquisis, con defectos vertebrales. Dentro de las craneosquisis, se encuentran las anencefalias, con marcada hipoplasia o ausencia de la calota craneana (acranea) y del cerebro (anencefalia); y los cefalocelos, que son protusiones del cerebro (encefalomeningocele), o solo de las meninges (meningoceles cefálicos), a través de defectos óseos craneales (8).

Para la anencefalia y el mielomeningocele, el proceso dismorfogenético es semejante, y consiste fundamentalmente, en una falla de cierre del tubo neural que se produce en el neuroporo anterior o rostral en el caso del mielomeningocele. En ambos casos, el defecto de fusión de las crestas de la placa neural, condiciona un crecimiento exagerado local de la placa que, secundariamente, interfiere con el desarrollo de las estructuras que la rodean: meninges dorsales, cráneo, arco neural vertebral. De tal modo, el cerebro y la médula quedan expuestos a un medio anómalo, por ser extraembrionario, lo cual produce la degeneración secundaria del tejido nervioso (8).

Siendo la falla en el cierre del tubo neural la anomalía primaria para anencefalia y mielomeningocele, el agente etiológico responsable debe actuar antes del final de la cuarta semana de gestación, es decir, antes del momento del cierre de los neuroporos (Warkany J, citado por Castilla y Villalobos (8)).

El diagnóstico prenatal de ciertas malformaciones congénitas, sobre todo el de anencefalia, ha abierto un nuevo campo de investigación de indudable valor. Aunque estas afecciones se observan rara vez en la práctica, no por ello dejan de ejercer un gran impacto sobre el ejercicio de la medicina y sobre la sociedad, sin olvidar el bienestar de millares de niños y sus padres. De ello se desprende que los métodos de diagnóstico prenatal deberían aplicarse con mayor frecuencia, sobre todo en aquellos embara-

zos considerados como de alto riesgo, especialmente cuando la edad de la madre sobrepasa los 37 años, o si previamente ésta ha tenido un niño anormal.

En la actualidad se emplean diversas técnicas para el diagnóstico prenatal, pero la que goza de mayor aceptación es la amniocentesis transabdominal. Dicho procedimiento permite el examen del líquido amniótico y de las células que en él se encuentran, cuyo cultivo resulta indispensable para el análisis cromosómico y las determinaciones enzimáticas y bioquímicas.

La amniocentesis nos permite determinar el sexo del feto, todas las aberraciones cromosómicas, algunas enfermedades metabólicas, y por último vemos que hoy en día se han logrado grandes progresos en el diagnóstico prenatal de ciertas malformaciones como atresia esofágica, atresia duodenal, nefrosis congénita; así como también de malformaciones del sistema nervioso central (SNC), como anencefalia, mielomeningocele, espina bífida, hidrocefalia, y otras, gracias a la determinación de la alfa-1-fetoproteína (AFP) en el líquido amniótico (1-7, 9-11, 14-30).

El paso de la AFP al líquido amniótico es particularmente importante en los casos de malformaciones del SNC abiertas. Por eso, en algunos casos de malformaciones cerradas, esta proteína no aumenta en el líquido amniótico. Su determinación es de mucha ayuda y quizás constituye un procedimiento rutinario en estos casos.

Por esta razón consideramos que el diagnóstico prenatal de las malformaciones del SNC es una de las indicaciones más importantes de la amniocentesis, y que la dosificación de AFP debería ser sistemática al practicarse la misma, especialmente en el segundo trimestre del embarazo; sobre todo si tomamos en cuenta que la prueba es sumamente sencilla y fácil de realizar, y que ésta, sumada a la amniografía y a la sonografía, podrían llevarnos a un diagnóstico definitivo de malformaciones graves como es la anencefalia.

MATERIAL Y METODOS

Se determinó la presencia de AFP en 200 muestras de líquido amniótico, obtenidas de pacientes con edad gestacional comprendida entre 16 y 40 o más semanas de gestación. Las pacientes provenían tanto de la consulta hospitalaria como de clínicas privadas. Estas muestras fueron obtenidas por amniocentesis transabdominal. Se centrifugaron durante 5 min a

2000 rpm y el sobrenadante claro fué guardado a -20°C hasta el momento de ser procesados.

La presencia de AFP se determinó mediante la técnica de inmunodifusión, modificada por Hernández y cols. (12, 13), utilizando láminas porta-objetos de vidrio recubiertas con 3 ml de agarosa al 1,25% en amortiguador barbital 0,1 M, pH 8,6. La muestra problema se colocó en tres hoyos con capacidad de 5, 30 y 50 μl , y a 3 mm de separación de cada uno de ellos se colocó antisuero comercial (Behringwerke, AG, K-Batch N° 2942D) (Fig. 1). Luego las láminas fueron incubadas en cámara húmeda a temperatura ambiente, observándose posteriormente la presencia o nó de bandas de precipitación, las cuales pueden aparecer a partir de las 6 horas, hasta las 24-48 horas.

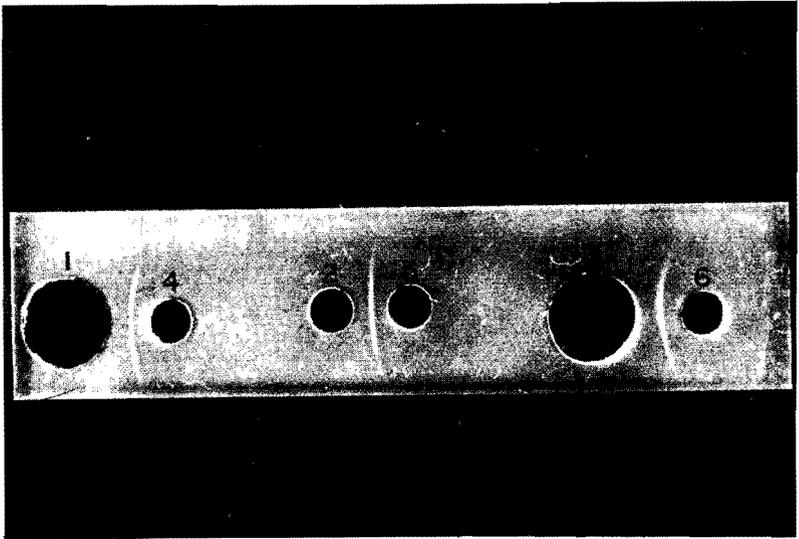


Fig. 1.— Prueba de inmunodifusión simple modificada por Hernández y cols. Los hoyos 1, 2 y 3 corresponden a muestras de líquido amniótico en cantidades de 30, 5 y 50 μl respectivamente. Los hoyos 4, 5 y 6 corresponden a 5 μl de antisuero anti alfa-1-fetoproteína.

La cuantificación de la AFP se hizo por el método de inmunodifusión radial, empleando placas M "Partigen" (Behringwerke, AG, K-Batch N° 0605) (Fig. 2). Por este método la concentración de AFP en el líquido

amniótico es comparado con soluciones de concentraciones conocidas y los resultados son expresados en mg/100 ml.

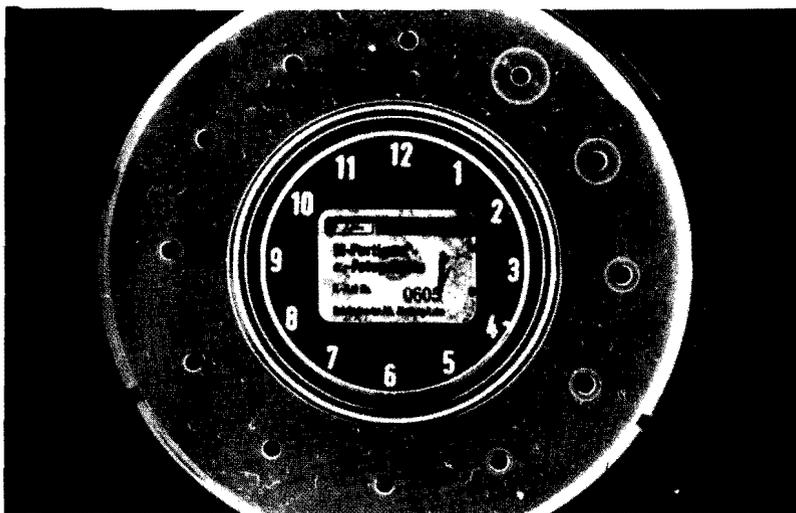


Fig. 2.— Prueba de inmunodifusión radial. Los hoyos 1, 2 y 3 corresponden al estándar de alfa-1-fetoproteína a diferentes diluciones. Los hoyos restantes corresponden a halos de precipitación que dieron las muestras de líquido amniótico estudiadas.

RESULTADOS

En la figura 3 presentamos el límite superior normal (mediana + 2 log DS) de AFP en líquido amniótico, de acuerdo a la edad gestacional. Como vemos estos valores van decreciendo a medida que aumenta la edad gestacional (28).

La agrupación de las muestras estudiadas de acuerdo a los antecedentes obstétricos de la madre, se presentan en la tabla I. Podemos observar el número de casos por cada grupo y el porcentaje de los mismos; el grupo más numeroso correspondió al de embarazos normales.

El número de muestras procesadas se agruparon por grupos de edad gestacional, para facilitar el análisis de distribución, lo cual se presenta en la tabla II. En la misma se observa el número de muestras estudiadas por edad gestacional y el porcentaje de las mismas, observándose que el número de muestras aumentó en relación directa con la edad gestacional; encontrándose el mayor número de casos en los grupos de 36-39 semanas y en el de 40-43, es decir en los grupos que corresponden a un embarazo a término.

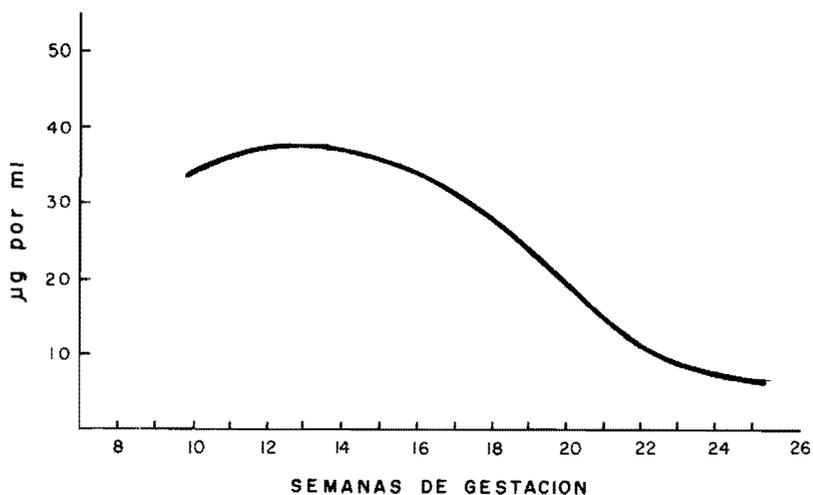


Fig. 3.— Límite superior normal (mediana + 2 logs DS) de alfa-1-fetoproteína en líquido amniótico, de acuerdo a la edad gestacional.

Los resultados de la determinación y cuantificación de AFP en el líquido amniótico de 3 casos de malformación del SNC (anencefalia), son presentados en la tabla III. Como podemos observar, en todos los tres casos donde se encontró esta malformación, la prueba cualitativa fué positiva, y al hacer la cuantificación pudimos demostrar que en 2 de ellos los valores de AFP fueron considerablemente elevados, mientras que en el otro caso los valores encontrados cayeron dentro del rango de los valores normales.

TABLA I

ANTECEDENTES OBSTETRICOS DE LA MADRE

Grupo	Antecedentes	Número de casos	Porcentaje
I	Malformaciones del sistema nervioso central	8	4,0
II	Isoinmunización	4	2,0
III	Embarazos normales	188	94,0
TOTAL		200	100,0

TABLA II**MUESTRAS DE LIQUIDO AMNIOTICO
SEGUN EDAD DE GESTACION**

Semanas de gestación	Número de muestras	Porcentaje
16-19	1	0,5
20-23	7	3,5
24-27	8	4,0
28-31	12	6,0
32-35	22	11,0
36-39	107	53,5
40-43	43	21,5
TOTAL	200	100,0

TABLA III**DETERMINACION CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE
ALFAPETOPROTEINA EN TRES CASOS DE ANENCEFALIA**

Malformación encontrada	Determinación cualitativa	Concentración (mg/100 ml)
Anencefalia	+	4,95
Anencefalia	+	4,80
Anencefalia	+	1,10

En la figura 4 se presentan los valores en mg/100 ml de AFP en 113 de las muestras estudiadas. Solamente aquellos líquidos con más de 1,1 mg/100 ml de esta proteína, dieron halos de precipitación en la inmunodifusión radial. Además, se observa que la mayoría de las muestras cuantificadas están por debajo de 1 mg/100 ml, incluyendo uno de los casos de anencefalia encontrados.

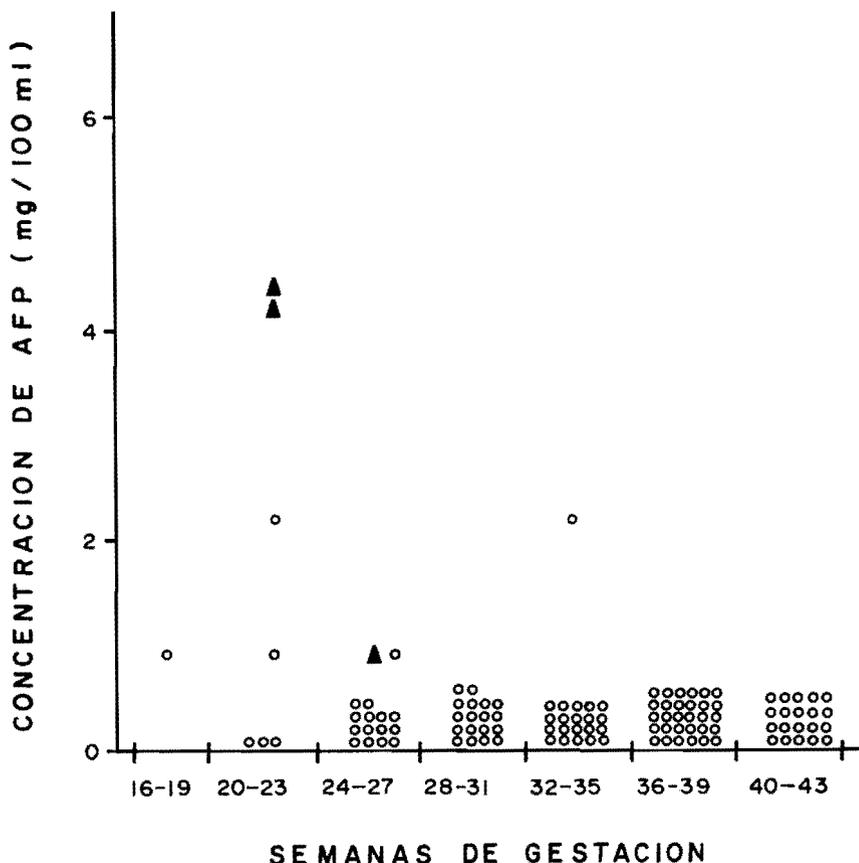


Fig. 4.— Concentración (mg/100 ml) de alfa-1-fetoproteína en muestras de líquido amniótico. ▲ - Anencefalia. ○ - Normales.

DISCUSION

Recientemente han aparecido en la literatura médica numerosos trabajos que hablan del aumento de la AFP en el líquido amniótico en casos de ciertas malformaciones como anencefalia, mielomeningocele, espina bífida, hidrocefalia, síndrome nefrótico congénito, atresia esofágica, atresia duodenal, onfalocele, y otros (1-7, 9-11, 14-30). En estos casos se dice que si el defecto es abierto, la presencia de esta proteína en el líquido amniótico es debida a la transferencia de esta proteína al líquido cefalorraquídeo, y que quizás por esta razón esta proteína no se detecta en las lesiones cerradas. La aparición de títulos elevados de esta proteína en el suero materno y en líquido amniótico en casos de muerte intrauterina, resulta de la trasudación de esta proteína del feto y a trastornos placentarios.

En el estudio cualitativo encontramos un 4% de positividad y de éste, solo en un 1,5% se pudo comprobar la presencia de malformación (anencefalia); mientras que en el 2,5% restante, los productos de esos embarazos fueron aparentemente normales en el momento del nacimiento.

En el 2,5% de los casos positivos, la muestra de líquido amniótico fué obtenida con sangre, y la positividad de la prueba la explicamos diciendo que la sangre contaminante muy probablemente era fetal, ya que muestras posteriores de esas pacientes fueron negativas. Campbell y cols. (6) han reportado un caso con marcada elevación de los niveles de AFP en el líquido amniótico, y una vez practicado el aborto se comprobó que el feto era completamente normal. La muestra en este caso, al igual que en algunos de los nuestros, fué reportada como contaminada con sangre.

Cuando cuantificamos esas muestras pudimos comprobar que los valores de AFP eran iguales a nuestro grupo testigo, por lo que concluimos que posiblemente la positividad era debida a contaminación con sangre fetal. Estos hallazgos son similares a los encontrados por Ward y cols. (28), quienes dicen que esa positividad es debida a una transfusión fetomaterna significativa, por lo que ellos aconsejan que en todos estos casos, en las muestras de líquido amniótico debe investigarse la presencia de eritrocitos fetales y, además, debe tomarse nueva muestra para repetir la prueba; si aún continúa positiva, se debe ayudar en el diagnóstico definitivo con la sonografía o la amniografía, antes de tomar una decisión electiva de interrupción del embarazo.

En los tres casos de anencefalia encontrados, nos llamó la atención la aparición temprana (6-8 horas) de bandas de precipitación, por lo que alertamos al obstetra, quien indicó sonografía; demostrándose con esta última la presencia de anencefalia, por lo que se decidió interrumpir el embarazo.

Al cuantificar la AFP en los tres casos de anencefalia, pudimos observar que en dos de ellos los niveles de AFP eran elevados: 4,95 y 4,80 mg/100 ml, respectivamente; lo cual coincide con lo observado por otros autores (1-7, 9-11, 14-30); mientras que en el otro caso, los niveles cayeron dentro del rango encontrado en nuestro grupo testigo, es decir, por debajo de 2,5 mg/100 ml (1,1 mg/100 ml); lo cual también ha sido observado por otros autores (30), quienes han utilizado técnicas cuantitativas más sensibles que la empleada por nosotros.

La determinación y cuantificación de AFP en el líquido amniótico permite predecir en forma fidedigna el 85-90% de los casos de anencefalia, sobre todo en el segundo trimestre del embarazo; transcurrido ese

período resulta más difícil formular un diagnóstico exacto porque la cantidad de AFP disminuye (19).

Nadler (19) preconiza que la mejor manera de vigilar los embarazos que presentan riesgos de malformaciones del SNC, consiste en la asociación de la ultrasonografía, de la amniocentesis, y de las determinaciones de la AFP en el líquido amniótico; dosificación que debería ser sistemática al practicarse una amniocentesis en el segundo trimestre del embarazo.

De allí que el diagnóstico prenatal de las malformaciones congénitas del SNC es una de las indicaciones más importantes de la amniocentesis. La sonografía también es una prueba obligatoria cuando se sospecha de malformaciones del SNC, por dos razones: primero, localiza la posición de la placenta y partes fetales, facilitando en gran medida la amniocentesis; así se podría evitar la contaminación con sangre materna o fetal y, además, puede también detectar malformaciones severas como la anencefalia.

Consideramos que el método cualitativo empleado en nuestro estudio nos permitió detectar esta proteína aún en casos donde las cantidades de ella estaban por debajo de 1 mg/100 ml, ya que la modificación que hicieran Hernández y cols. (12, 13) a la técnica ha demostrado que, al variar las proporciones de combinación entre antígeno y anticuerpo, hay mayores posibilidades de detectar bandas de precipitación, y en tal sentido nos permitimos recomendarla para este tipo de investigaciones.

ABSTRACT

Anencephaly. Prenatal diagnostic. *Villalobos-Roldán A. (Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela), Angarita L. Invest Clín 19(2): 49-61, 1978.* — Presence of alpha-1-fetoprotein (AFP) was studied in 200 samples of amniotic fluid taken by transabdominal amniocenteses in pregnant women between 16 and 43 weeks of gestation, in order to determine any central nervous system (CNS) malformations. The immunodiffusion method, modified by Hernandez y cols. was used. Quantification was done by radial diffusion. Results showed that the quantitative method was able to detect the protein even when the levels were under 1 mg/100 ml. The AFP quantification detected three cases of anencephaly in women between 20-27 weeks of gestation. We recommend the amniocenteses for prenatal diagnostic of CNS malformations, and AFP determination every time it is done, mostly if it is taken in the second trimester of pregnancy.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1-- ALLAN L, FERGUSON-SMITH M, DONALD I, SWEET E, GIBSON A: Amniotic fluid alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of spina bifida. *Lancet* 2: 522-525, 1973.
- 2-- BROCK D, SUTCLIFFE R: Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 2: 197-199, 1972.
- 3-- BROCK D, BOLTO A, MONAGHAN J: Prenatal diagnosis of anencephaly through maternal serum alpha-fetoprotein measurement. *Lancet* 2: 923-924, 1973.
- 4-- BROCK D, SCRIMGEOUS J: Early prenatal diagnosis of anencephaly. *Lancet* 2: 1252-1253, 1972.
- 5-- BROCK D, SCRIMGEOUS J: Alpha-fetoprotein diagnosis of CNS malformations. *Lancet* 1: 569, 1974.
- 6-- CAMPBELL S, PRYSE-DAVIS J, COLTART T, et al: Ultrasound in the diagnosis of spina bifida. *Lancet* 1: 1065-1067, 1975.
- 7-- CARTER C, ROBERTS J: The risk of recurrence after two children with central nervous system malformations. *Lancet* 1: 306-308, 1967.
- 8-- CASTILLA E, VILLALOBOS H: El recién nacido polimorfo: estudio de malformaciones asociadas. pp 217-218. Unidad de Genética Médica, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. 1977.
- 9-- DE BRUIJN H, HUISJES H: Omphalocele and raised alpha-fetoprotein in amniotic fluid. *Lancet* 1: 525-526, 1975.
- 10-- FIELD B, MIRCHELL G, GARRET W, KERR C: Amniotic alpha-fetoprotein levels and anencephaly. *Lancet* 2: 797, 1973.
- 11-- HARRIS R, JENNISON R, BARSON A, LAWRENCE K, ROUSLAHTI E, SEPPALA M: Comparison of amniotic-fluid and maternal serum alpha-fetoprotein levels in the early antenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly. *Lancet* 1: 429-433, 1974.
- 12-- HERNANDEZ M, VILLALOBOS-ROLDAN A, RODRIGUEZ F, GARCIA F, KUMATE J: Alfa-1-fetoproteína en el suero de niños con hepatitis viral. En: Memorias de las Octavas Jornadas Nacionales de Microbiología. Mérida, Venezuela. p 8, 1976.

- 13- HERNANDEZ M, ZAPATA R, GUTIERREZ G, KUMATE J: Determinación de alfa-1-fetoproteína en el suero de niños con amibiasis invasora. En: Memorias del V Simposium sobre Amibiasis. México, México. 1974.
- 14- KJESSLER B, JOHANSSON A, SHERMAN M, GUSTAVSON K: Alpha-fetoprotein in antenatal congenital nephrosis. *Lancet* 22: 432-433, 1975.
- 15- LAWRENCE K: Natural history of spina bifida cystica and cranium bifidum cysticum. *Arch Dis Child* 46: 127-138, 1971.
- 16- LAWRENCE K, TURNBULL A, HARRIS R, JENNISON R, ROUSLAHTI E; SEPPALA M: Antenatal diagnosis of spina bifida. *Lancet* 1: 860, 1973.
- 17- LORBER J, STEWARD C, WARD A: Alpha-fetoprotein in antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 1: 1187, 1973.
- 18- MILUNSKY A, ALPERT E: The value of alpha-fetoprotein in the prenatal diagnosis of neural tube defects. *J Pediat* 84: 889-893, 1974.
- 19- NADLER H: Diagnóstico prenatal de las enfermedades hereditarias. *Consulta* 1: 9-17, 1977.
- 20- NEVIN N, NESBITT S, THOMPSON W: Myelocele and alpha-fetoprotein in amniotic fluid. *Lancet* 1: 1383, 1973.
- 21- ROLDAN A, ANGARITA L, GONZALEZ F: Alfa-1-fetoproteína en el diagnóstico prenatal de malformaciones congénitas. *Invest Clin* 19(1): 2-23, 1978.
- 22- SELLER M, SINGER J, COLTART T, CAMPBELL S: Maternal serum alpha-fetoprotein levels and prenatal diagnosis of neural-tube defects. *Lancet* 1: 428-429, 1974.
- 23- SELLER M, CAMPBELL S, COLTART T, SINGER J: Early termination of anencephaly pregnancy after detection by raised alpha-fetoprotein levels. *Lancet* 2: 73, 1973.
- 24- SEPPALA M: Increased alpha-fetoprotein in amniotic fluid associated with congenital eosophageal atresia. *Obst Gynecol* 42: 613-624, 1973.

- 25-- SEPPALA M, ROUSLAHTI E: Alpha-fetoprotein in maternal serum. A new marker for detection of fetal distress and intrauterine death. *Am J Obst Gynecol* 115: 48-52, 1973.
- 26-- SEPPALA M, ROUSLAHTI E: Alpha-fetoprotein in amniotic fluid: an index of gestational age. *Am J Obst Gynecol* 114: 595-598, 1972.
- 27-- SEPPALA M, UNNERUS H: Elevated amniotic fluid-fetoprotein in fetal hydrocephaly. *Am J Obst Gynecol* 119: 270-272, 1974.
- 28-- WARD A, STEWARD C: False positive results in antenatal diagnosis of neural tube disorders. *Lancet* 2: 345-346, 1974.
- 29-- WEIMBERG A, MILUNSKY A, HARROD M: Elevated amniotic fluid alpha-fetoprotein and duodenal atresia. *Lancet* 13: 496, 1975.
- 30-- WEISS R, JAMES G, MACRI N, ELLIGERS K, PRINCLER G, McINTIRE R, WALDMAN T: Amniotic fluid alpha-fetoprotein as a marker in prenatal diagnosis of neural tube defects. *Obst Gynecol* 47: 148-150, 1976.