

Nuevas perspectivas en diagnóstico prenatal

Verónica Tangarife Castaño¹, John Fredy Castro Álvarez²,
Juan Guillermo Maldonado Estrada³

Resumen: las anomalías fetales afectan alrededor del 1% de los recién nacidos en todo el mundo y están asociadas con cerca del 20% de la mortalidad infantil durante el primer año de vida. El diagnóstico prenatal permite la detección temprana tanto de enfermedades del feto como de la madre, con el fin de brindar una mejor manera de afrontar la situación o iniciar medidas terapéuticas durante el embarazo o después del nacimiento, incluso en algunos países se permite cuestionar la continuación del embarazo. Este diagnóstico se realiza mediante análisis citológicos y genéticos con métodos invasivos y no invasivos. Los métodos invasivos, que incluyen amniocentesis, cordocentesis y biopsia de vellosidades coriónicas, permiten extraer el material para el análisis, pero generan en la madre ruptura de membranas, propiciando complicaciones como hemorragias, infecciones y abortos. Frente a esto, se ha venido proponiendo el uso de métodos no invasivos, entre ellos el estudio de células fetales como linfocitos, eritroblastos y trofoblastos, y ácidos nucleicos fetales (ADN y ARNm) que circulan en la sangre periférica de la madre, con el fin de evitar lesiones del feto o de la madre. En el presente artículo se pretende realizar una revisión de los métodos de diagnóstico prenatal, su aplicación y su desarrollo potencial.

Palabras clave: Diagnóstico prenatal, métodos no invasivos, células fetales, trofoblasto, eritroblasto, linfocito fetal, ácidos nucleicos fetales, ADN fetal, ARNm fetal.

Tangarife-Castaño V, Castro-Álvarez JF, Maldonado-Estrada JG. Nuevas perspectivas en diagnóstico prenatal. *Medicina & Laboratorio* 2010; 16: 561-570.

Módulo 27 (La clínica y el laboratorio), número 2. Editora Médica Colombiana S.A., 2010®.

Recibido el 6 de octubre, 2010; aceptado el 20 de octubre, 2010.

El diagnóstico prenatal comprende todos aquellos procedimientos para identificar algún tipo de anomalía en el feto durante el embarazo. Puede entenderse por anomalía defectos congénitos, alteraciones cromosómicas, alteraciones del metabolismo o cualquier perturbación del desarrollo fetal [1]. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) alrededor del 1% de los niños en el mundo presentan una anomalía congénita [2], y cerca del 8% de los recién nacidos (niños menores de 5 años) mueren a causa de estas alteraciones [3-4]. En América, este porcentaje representa hasta un 16% de estas muertes, de las cuales para América Latina corresponden al 13% [4], siendo la segunda causa de muerte en neonatos en estos países [5].

¹ Estudiante de Microbiología. Grupo Reproducción, Sede de Investigación Universitaria (SIU). Semillero de Investigación Simbiosis, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. E-mail: verotanga@gmail.com/reproduccion@medicina.udea.edu.co

² Microbiólogo y Bioanalista, MSc. Grupo Reproducción, Sede de Investigación Universitaria (SIU). Semillero de Investigación Simbiosis, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. E-mail: reproduccion@medicina.udea.edu.co

³ Médico Veterinario, MSc, PhD. Grupo Reproducción, Grupo Centauro, Sede de Investigación Universitaria (SIU), Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. E-mail: reproduccion@medicina.udea.edu.co

En algunas ocasiones, conocer la existencia de un desorden genético o una malformación en el feto permite iniciar medidas terapéuticas aplicables durante el embarazo y después del nacimiento, y en algunos países, brinda a los padres la posibilidad de elegir la continuación del embarazo. El diagnóstico prenatal se puede realizar mediante el uso de métodos invasivos y no invasivos. Los métodos invasivos irrumpen en el interior de la madre y el feto para extraer material para el análisis; sin embargo, generan graves consecuencias. Debido a esto y a la necesidad de realizar diagnóstico prenatal, se ha venido proponiendo el estudio de las alteraciones fetales mediante métodos no invasivos a partir de células y ácidos nucleicos fetales que circulan en la sangre periférica materna.

Esta revisión pretende describir los procedimientos de diagnóstico prenatal y los avances que se han alcanzado en el uso de material fetal presente en la sangre materna, demostrando la posibilidad de establecer un modelo de estudio en la identificación de enfermedades fetales o maternas durante el embarazo y desarrollar protocolos diagnósticos basados en el aislamiento de células y ácidos nucleicos fetales que contribuyan a la disminución de la mortalidad perinatal a través de la identificación oportuna de estas enfermedades.

Métodos de diagnóstico prenatal

El diagnóstico prenatal se realiza a partir de análisis citológicos y genéticos a través de métodos invasivos y no invasivos. Los métodos invasivos son procedimientos quirúrgicos que irrumpen en el interior de la madre y penetran en el espacio en el que se encuentra el feto o los tejidos a su alrededor, como son la placenta, el útero y el cordón umbilical, con el fin de extraer diferentes tipos de material según el análisis requerido. Los métodos no invasivos, por su parte, no causan daño al tejido materno ni alteran las condiciones normales del feto.

Métodos invasivos

Entre los métodos invasivos se incluyen la amniocentesis, la biopsia de vellosidades coriónicas y la cordocentesis [6]; en la **figura 1** se muestra un esquema de los dos procedimientos empleados más frecuentemente.

La amniocentesis consiste en la punción del amnios, membrana más interna de la placenta que rodea el feto, para extraer líquido amniótico; es decir, el líquido en el cual flota el feto suspendido al cordón umbilical [7-8]. Este tipo de procedimien-

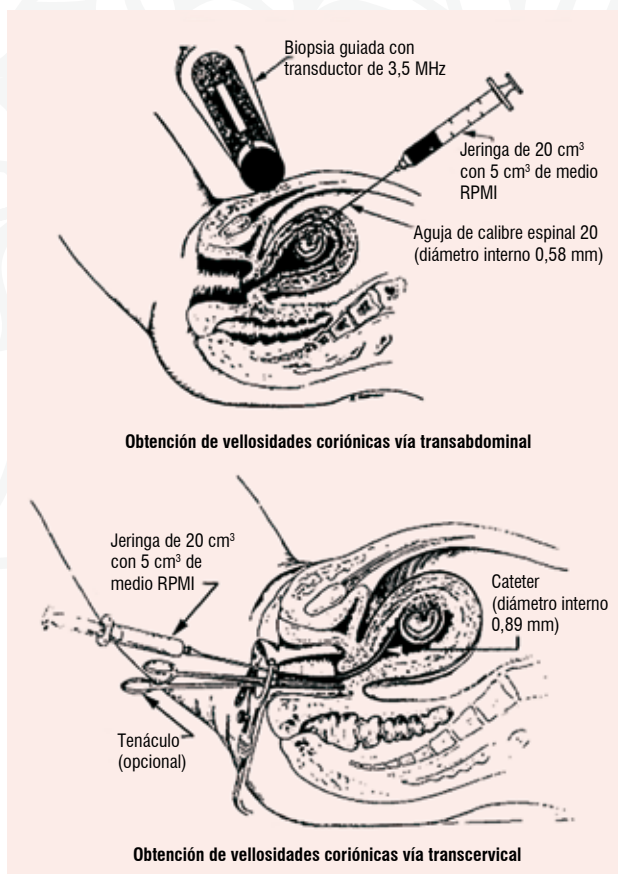


Figura 1. Representación esquemática de la obtención de muestras de vellosidades coriónicas vía transabdominal y transcervical.

to se realiza alrededor de la semana 15, con el fin de obtener células fetales útiles para el análisis [9].

La biopsia de vellosidades coriónicas consiste en la obtención de material coriónico; es decir, células del trofoblasto. Este procedimiento permite obtener muestras entre las semanas 10 y 12, pero representa más riesgos para la madre y el feto [9]. Igualmente, en ocasiones, las células embrionarias obtenidas pueden encontrarse contaminadas con las células maternas, lo que impide la efectividad del examen. Por su parte, la cordocentesis se realiza a través de una punción percutánea hasta el cordón umbilical, para extraer sangre fetal entre las semanas 18 y 22.

Los métodos invasivos, a pesar de brindar el material necesario para el análisis, sólo se sugiere deben ser utilizados en mujeres mayores de 35 años, debido a que en 1 de cada 200 mujeres embarazadas en este rango de edad se desarrollan fetos con anomalías cromosómicas [10]; de manera similar, también se recomienda en las mujeres con historia de hijos afectados o anomalías genéticas en los padres, por el alto riesgo que proporcionan para el feto y la madre.

Adicionalmente, estos métodos producen en la mayoría de los casos, ruptura de membranas, hemorragias, infecciones y abortos [6-7], los cuales se encuentran entre las causas más frecuentes de mortalidad materna y que, junto con los trastornos hipertensivos, representan el 65% de las muertes directas en el contexto internacional [4, 11]. Igualmente, representan una de las mayores causas de mortalidad perinatal tanto de fetos sanos como de fetos con algún tipo de anomalía, y limitados a mujeres mayores de 35 años y con condiciones socioeconómicas favorables [10].

Métodos no invasivos

Por todas las causas anteriormente mencionadas, se vienen proponiendo los métodos no invasivos a partir de ácidos nucleicos y células fetales presentes en sangre periférica materna, como una alternativa para realizar el diagnóstico prenatal [12-13].

Ácidos nucleicos fetales

Tanto el ADN como el ARN fetal se encuentran en sangre materna en vesículas de membrana libres de células como producto de la apoptosis (muerte celular programada) o en algunos casos necrosis de las células fetales. Hahn y colaboradores, describieron un mecanismo para explicar el proceso de liberación de los ácidos nucleicos fetales en sangre materna, denominado aponecrosis, el cual se explica como una ejecución incompleta de la apoptosis, seguida de una desintegración necrótica de la célula [14]. En la **figura 2** se describe dicho mecanismo.

ADN fetal

El ADN libre de células circulando en plasma materno fue descrito por Lo y colaboradores en 1997, como un producto de las células fetales que son destruidas por lisis celular, procesos inmunológicos o por procesos de apoptosis regulada [15]. El ADN es protegido dentro de cuerpos apoptóticos o por unión a los nucleosomas, favoreciendo su presencia en sangre periférica [16] a partir del primer trimestre y aumentando con la edad gestacional. El porcentaje de ADN es 100 veces mayor que el número de células fetales en sangre materna y se conserva estable hasta 24 horas después de la obtención de la muestra [17].

Para el análisis del ADN, se han usado diferentes marcadores como algunas secuencias del cromosoma Y [13, 15, 18-22]. Se ha utilizado para el diagnóstico genético de enfermedades como beta talasemia mayor, hemoglobina E, acondroplasia, distrofia miotónica, fibrosis quística, enfermedad de Huntington e hiperplasia adrenal congénita [12, 21]. La identificación del

ADN se realiza con técnicas moleculares tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*), con sus diferentes variaciones: anidada, múltiple, cuantitativa fluorescente y en tiempo real.

Los análisis realizados no sólo se han centrado en la determinación de genes, sino también en cómo la cantidad del ADN en la sangre periférica puede ser indicativo de algunas enfermedades como aneuploidías en el feto y aquellas relacionadas con la placenta, incluyendo la preeclampsia, el parto pretérmino y la placentación invasiva [23-26]. De estas enfermedades, la más estudiada ha sido la preeclampsia, donde se ha descrito aumento en el material genético en mujeres embarazadas afectadas, respecto a mujeres embarazadas que no presentan la enfermedad [19, 22, 27-29]. Al tomar el ADN de plasma de sangre periférica, se demuestra un aumento significativo de éste en las mujeres embarazadas antes de desarrollar preeclampsia [19, 22, 27, 29-31]. Este aumento ha sido observado en dos periodos, uno entre las semanas 17 y 28, y otro aproximadamente tres semanas antes de la aparición de los síntomas [30].

Aunque no se conozca con exactitud las causas de dicho aumento, se atribuye al incremento de áreas apoptóticas o necróticas en la placenta, fallas en el proceso de depuración de ADN circulante en la sangre materna de mujeres con preeclampsia, y por procesos de destrucción de las células fetales circulantes [19, 27]. Esto permite considerar al ADN fetal en sangre periférica como un marcador predictivo de la enfermedad [31]. De manera similar, se ha encontrado un aumento en la concentración de ADN en sangre periférica de mujeres que portan fetos con aneuploidías, en especial, trisomía 21, lo que permite considerar este ADN como una herramienta para el diagnóstico de dicha trisomía [18, 26, 32].

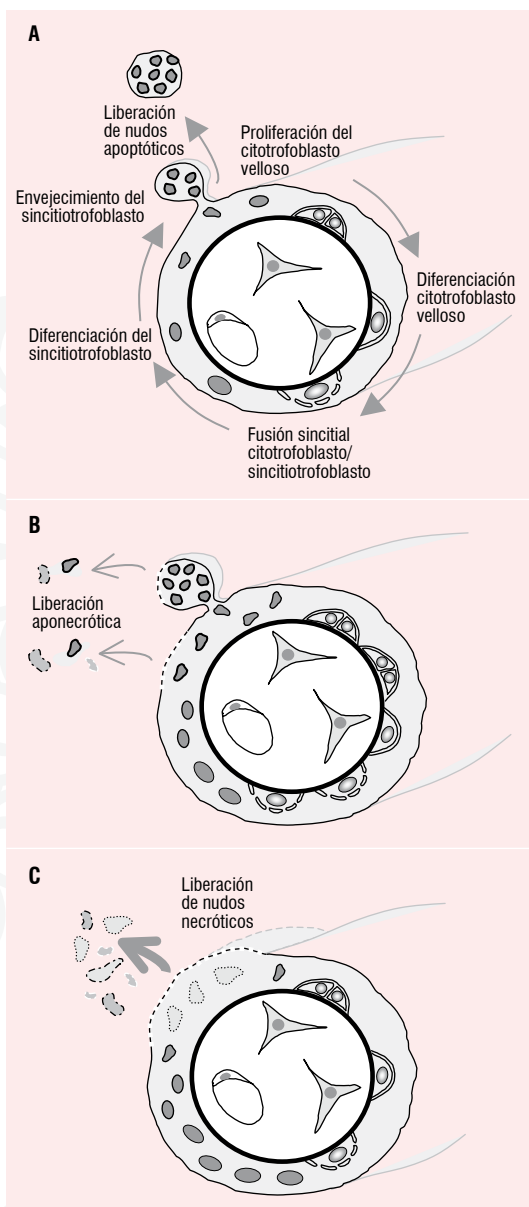


Figura 2. Formas de liberación del material sincitial a la circulación materna. (A) Liberación apoptótica normal. Durante la formación y crecimiento de la placenta y la autoregeneración placentaria, de manera permanente se dan los procesos de proliferación y diferenciación del citotrofoblasto vellosos hacia el sincitiotrofoblasto, el tejido sincitial se desgasta, envejece y libera nudos apoptóticos a la circulación materna. Este material está rodeado de membrana plasmática y está involucrado en procesos inmunomoduladores. (B) Liberación aponecrotica. Si la cascada apoptótica es alterada, el material apoptótico puede ser liberado por mecanismos propios de la necrosis, estos nudos aponecroticos pueden tener efectos proinflamatorios. (C) Liberación necrótica. Debido al rompimiento accidental o en caso que la apoptosis no ocurra, algunas partes del sincitiotrofoblasto pueden sufrir necrosis. Este material necrótico se considera inductor de la respuesta proinflamatoria en la madre.

ARN fetal

Poon y colaboradores demostraron la presencia de ARNm fetal en plasma materno identificando un gen del cromosoma Y [33], además se han asociado otros genes que se encuentran en la placenta como el lactógeno placentario (hPL) [34], la subunidad beta de la gonadotropina coriónica humana (β -hCG) [35-36] y la hormona liberadora de corticotropina (CRH). La estabilidad del ARNm fetal en sangre periférica es mayor que la del ADN fetal, gracias a la asociación con partículas celulares, como producto del proceso de apoptosis de las células fetales [35, 37].

Ng y colaboradores evaluaron la presencia de ARNm de origen placentario en sangre periférica a través de una PCR en tiempo real, midiendo los niveles de hPL y β -hCG, en todas las muestras tomadas. Los autores demostraron que el ARNm placentar puede ser detectado del plasma de sangre materna. Igualmente, evaluaron la estabilidad de este ARNm, extrayéndolo y midiendo los niveles de hPL y β -hCG inmediatamente después de la recolección de la muestra y 24 horas después de ser recolectada y conservada a temperatura ambiente, sin observar diferencias significativas [38]. Este ARNm, a diferencia del ADN en plasma materno, brinda una manera de detectar los ácidos nucleicos fetales en plasma materno, independiente del género y de los polimorfismos presentes en el feto [35].

La cuantificación del ARNm también ha permitido la identificación de enfermedades fetales determinando genes del cromosoma 21 en aneuploidías [18], y enfermedades de la madre como la preeclampsia. Ng y colaboradores describieron un aumento de 10,5 veces en el ARNm del gen de la hormona liberadora de corticotropina en plasma de mujeres con preeclampsia, comparado con mujeres embarazadas que no presentaban los síntomas. Las causas de dicho aumento se le atribuyen al incremento de los procesos necróticos y apoptóticos, y a las fallas en la degradación del material genético en sangre periférica de las mujeres con preeclampsia [35]. Igualmente, estos estudios permiten considerar al ARNm de hormona liberadora de corticotropina en plasma materno, como un marcador molecular para la preeclampsia [35, 39].

Células fetales

Tres grupos de células fetales se pueden aislar de la sangre materna: linfocitos fetales, eritroblastos fetales y trofoblastos.

Los linfocitos fetales en sangre periférica fueron inicialmente descritos por Walknoska, y aislados satisfactoriamente mediante FACS por Hezenberg y colaboradores [40-41]. Los linfocitos fetales se encuentran en sangre materna a partir de la semana 7 a 8 de gestación, en una proporción de 1 por cada 800 a 60.000 linfocitos maternos [1]. Estas células tienen una vida media de 4 a 5 años, por lo que pueden quedar en sangre materna por mucho tiempo, y aquellos que sean aislados podrían ser de embarazos anteriores y alterar los resultados en caso de mujeres multigrávidas [12-13]. Su aislamiento a partir de sangre materna mediante anticuerpos monoclonales anti-HLA presenta dificultades, entre ellas el gran polimorfismo de los antígenos de HLA en su superficie, lo cual hace que la selección del anticuerpo sea especialmente difícil y que el procedimiento se vuelva largo y costoso [13].

Los eritroblastos fetales han sido aislados mediante técnicas como la citometría de flujo. Estas son células nucleadas e inmaduras, precursoras de la línea eritroide, que se encuentran en medula ósea [12]. Se estima que la proporción de eritroblastos fetales en la circulación materna es de 1 célula fetal por cada 50.000 células maternas. Los eritroblastos tienen una vida media de tres meses, así que aquellos que se aíslan de la circulación periférica materna durante el embarazo, muy probablemente habrán derivado de esa gestación [1, 13]. Los eritroblastos fetales, como células hematopoyéticas, se encuentran en los capilares fetales de las vellosidades coriónicas. La manera en la cual estas células pueden ser liberadas a sangre

materna, es por un daño accidental de las vellosidades o por condiciones que generen alteraciones en el endotelio fetal [14].

Por su parte, las células trofoblásticas se forman cuando el blastocisto se implanta en el endometrio y las células del trofoectodermo proliferan e invaden la decidua, formando las células del citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto, encargadas de formar la placenta y reemplazar el endotelio de las arterias espirales [42]. Estas células pueden salir hacia la circulación materna [13], a partir de la semana 4 ó 5, en una proporción de 1 por cada 10 leucocitos maternos, siendo la población celular fetal que entra en la circulación materna a menor edad gestacional y en mayor cantidad [1, 13].

Las células trofoblásticas se diferencian en varias poblaciones con propiedades y funciones específicas: el citotrofoblasto es representado por límites membranales bien definidos, y el sincitiotrofoblasto es caracterizado como una masa multinucleada producto de división rápida y continua del citotrofoblasto. En el espacio intervelloso se presentan dos clases de citotrofoblasto: el citotrofoblasto velloso y el citotrofoblasto de anclaje, cubiertos por una capa de sincitiotrofoblasto, los cuales en conjunto forman las vellosidades coriónicas. Por su parte, una subpoblación de citotrofoblasto llamado extravelloso, continúa la invasión a partir de dichas vellosidades dividiéndose en dos subpoblaciones: el citotrofoblasto intersticial el cual invade la decidua y la tercera parte del miometrio, y el citotrofoblasto endovascular que continúa hasta invadir las arteriolas espirales, reemplazando su endotelio (ver **figura 3**) [42].

Este material trofoblástico es liberado a la circulación materna por el desprendimiento de fragmentos de sincitiotrofoblasto, mediante un mecanismo normal de apoptosis en las vellosidades coriónicas, o por el desprendimiento de las células del citotrofoblasto endovascular en el proceso de invasión y reemplazo del endotelio de las arterias espirales, donde pueden ser arrastrados por la corriente sanguínea al espacio intervelloso llegando a las lagunas de sangre, y finalmente, por vena uterina salir a la circulación materna [14].

Algunos autores han afirmado que las concentraciones de eritroblastos y trofoblastos en sangre materna se incrementan cuando hay una anomalía genética en el feto o cuando se presentan patologías de la madre como la preeclampsia, aunque sólo recientemente se ha considerado como un evento anterior a la aparición de los síntomas [13-14, 43].

Holzgreve y Hahn, basados en las relaciones encontradas entre el aumento de la cantidad de células fetales y ADN libre de células circulante en sangre materna y la aparición de la preeclampsia, realizaron un estudio donde observaron que el tráfico de éstos en sangre periférica es elevado a la semana 20 de gestación en mujeres que posteriormente desarrollarían preeclampsia, lo que permite pensar que estos parámetros pueden ser aptos como marcadores predecibles de esta patología [43].

Por su parte, se ha descrito que la liberación de células trofoblásticas es elevada en mujeres con preeclampsia o eclampsia [43-48], siendo estas células detectadas en mayor concentración en muestras de sangre de vena uterina que en muestras de sangre periférica; sin embargo, se afirma que el trofoblasto en sangre periférica es más abundante en embarazos con preeclampsia que en los normales [14, 43-46, 48]. Este aumento se presenta por un incremento de la apoptosis del sincitiotrofoblasto o por problemas en la adhesión del citotrofoblasto endovascular al endotelio de las arterias espirales [14, 42]. Otros autores también han demostrado que los eritroblastos fetales son más frecuentes en sangre materna de mujeres con preeclampsia, comparadas con mujeres normales [47, 49-51]. En estudios para examinar si el incremento de eritroblastos fetales es un evento asociado con los defectos tempranos en la placentación o una consecuencia de las posteriores manifestaciones clínicas de la preeclampsia, se realizaron pruebas con mujeres embarazadas con anomalías en las arterias uterinas, las

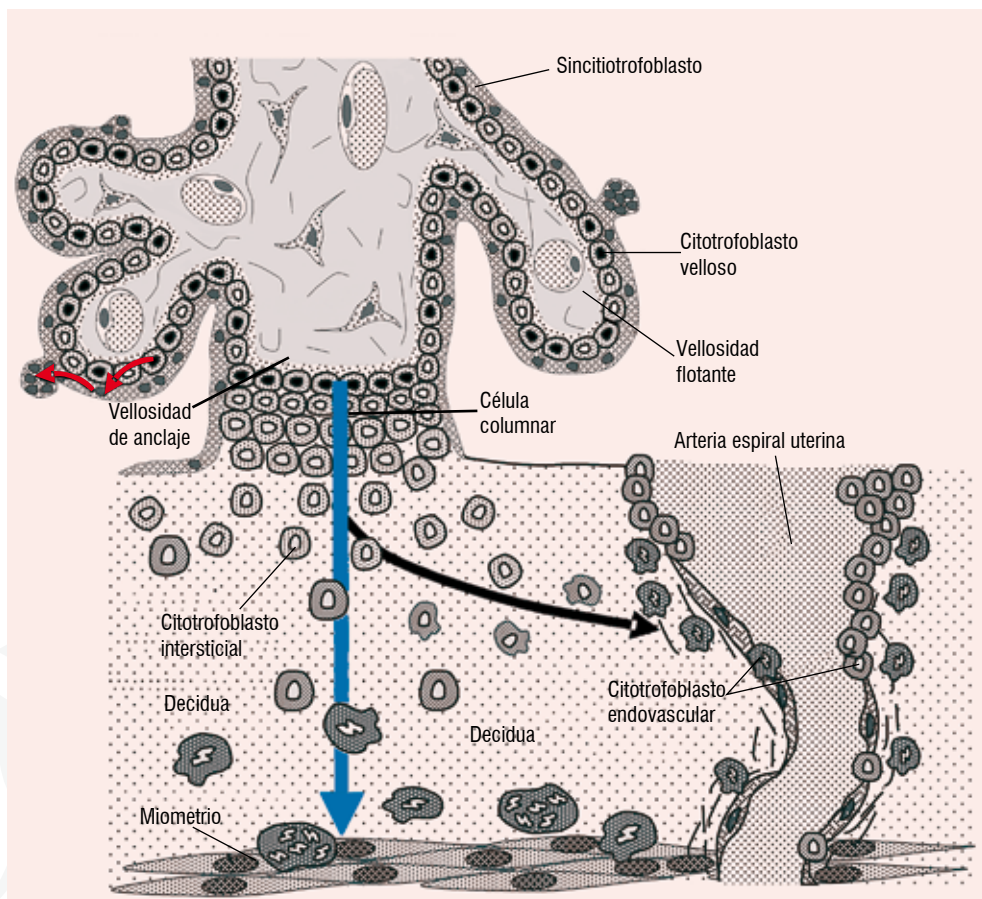


Figura 3. Representación esquemática del proceso de diferenciación trofoblástica. El citotrofoblasto veloso prolifera y puede fusionarse para formar la capa de sincitiotrofoblasto que recubre la velosidad o diferenciarse hacia la vía extravelosa invasiva. El sincitiotrofoblasto por procesos de desgaste y de envejecimiento celular forma nudos apoptóticos que son liberados a la circulación materna (flechas rojas). El citotrofoblasto veloso forma las células columnares extravelosas, células que posteriormente invaden la decidua o intersticio endometrial (citotrofoblasto intersticial) y llegan en ocasiones hasta el primer tercio del miometrio (flecha azul). La otra ruta invasiva (flecha negra) es la que permite la transformación de las arterias espirales uterinas maternas y es durante este proceso que se forma el citotrofoblasto endovascular, este es susceptible de ser transportado en sangre materna por desprendimiento del citotrofoblasto endovascular.

cuales están asociadas con riesgos de preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino. Este estudio indicó que el número de eritroblastos fue elevado en el primer trimestre de gestación en los embarazos que posteriormente desarrollarían preeclampsia [14, 52].

Por su parte, Johansen y colaboradores estudiaron la relación entre la invasión trofoblástica y el síndrome de la preeclampsia, encontrando un aumento en la concentración de factores de daño endotelial presentes en fragmentos de microvelosidades de sincitiotrofoblasto en mujeres con preeclampsia [45]. Igualmente, Goswami y colaboradores demostraron que micropartículas de sincitiotrofoblasto son liberadas a circulación materna en concentraciones más altas en mujeres con preeclampsia y que la expresión de moléculas adhesivas en su superficie puede estar relacionada con el daño de las células endoteliales característico de la patología [53].

Estos estudios sugieren que tanto las lesiones placentarias como otros mecanismos aún no descritos, conllevan a un incremento tanto de células como de ácidos nucleicos fetales en la sangre materna de pacientes que pueden desarrollar preeclampsia, lo que permite utilizarlos como marcadores presintomáticos de esta enfermedad.

Conclusión

Esta revisión presenta un panorama general sobre el diagnóstico prenatal y las herramientas utilizadas hasta el momento para el estudio de enfermedades fetales como las aneuploidias, y enfermedades de la madre como la preeclampsia, el parto pretérmino y la placenta invasiva. Igualmente, permite conocer las nuevas propuestas para el diagnóstico prenatal utilizando métodos no invasivos por medio del estudio de células y ácidos nucleicos fetales presentes en sangre periférica materna. Tanto el análisis de los ácidos nucleicos realizado mediante la utilización de algunas secuencias del cromosoma Y y de genes específicos de la placenta como lactógeno placentario (hPL), la subunidad beta de la gonadotropina coriónica humana (β -hCG) y la hormona liberadora de corticotropina (CRH), entre otras, y el uso de células fetales, en su mayoría eritroblastos y trofoblastos, permiten relacionar su concentración en sangre periférica materna con la presencia de anomalías en el feto o en la madre.

El uso de estos métodos, además del bajo costo que generan y la posibilidad de evitar los riesgos del uso de los métodos invasivos, como son la ruptura de membranas, las hemorragias, las infecciones y abortos, también permiten atender a una población mayor de mujeres embarazadas, pues es aplicable a cualquier edad y nivel socioeconómico, a la vez que permite realizar el diagnóstico a una edad gestacional temprana en la cual se pueden tomar medidas oportunas y así lograr disminuir la cantidad de muertes maternas y perinatales.

A pesar de los beneficios que ofrece la utilización de métodos no invasivos, su uso ha sido limitado a países desarrollados, dejando a las mujeres embarazadas de las poblaciones latinoamericanas sin la oportunidad de tener nuevas opciones diagnósticas ejecutables durante la gestación. Lo anterior debe generar en la comunidad científica de nuestros países, la necesidad de generar proyectos que conlleven a instaurar protocolos para la identificación de enfermedades fetales y maternas durante el embarazo, basados en el diagnóstico prenatal mediante la utilización de métodos no invasivos empleando células y ácidos nucleicos fetales presentes en sangre periférica materna.

Abstract: Fetal abnormalities affect 1% of the newborns worldwide and have been associated with 20% of infant mortality during the first year of life. Prenatal diagnosis allows early detection of fetal or maternal abnormalities, in order to provide a better way to deal with the situation or to initiate treatment during pregnancy or after birth, even in some countries the continuation of the pregnancy is an option. This diagnosis is made by cytological and genetic analysis using invasive and noninvasive methods. Invasive methods, including amniocentesis, cordocentesis and chorionic villus biopsy, allow the extraction of material for analysis, but they can result in rupture of membranes in the mother, leading to complications such as bleeding, infections and abortions. Against this, the use of noninvasive methods has been proposed, including the study of fetal cells such as lymphocytes, erythroblasts and trophoblasts, and fetal nucleic acids (DNA and mRNA) circulating in the peripheral blood of the mother, to avoid injury of the fetus or the mother. The present article aims to review the methods used for prenatal diagnosis, their application and their development potential.

Key words: Prenatal diagnosis, non invasive methods, fetal cells, trophoblast, erythroblast, fetal lymphocytes, fetal nucleic acids, fetal DNA, fetal mRNA.

Tangarife-Castaño V, Castro-Álvarez JF, Maldonado-Estrada JG. New perspectives for prenatal diagnosis. *Medicina & Laboratorio* 2010; 16: 561-570.

Module 27 (Clinic and laboratory), number 2. Editora Médica Colombiana S.A., 2010®.

Received on October 6, 2010; accepted on October 20, 2010.

Bibliografía

- Martínez M., Méndez C, Serra V, Cano F LJ, Ballesteros A, et al.** Estado actual del diagnóstico genético en células fetales aisladas de la circulación materna. In: Remohí J PA, Simón C, Navarro J, ed. *Reproducción Humana* (ed 2). Madrid, España; 1996: 613-617.
- OMS.** Neonatal and perinatal mortality: http://www.who.int/reproductive-health/docs/neonatal_mortality/index.html; 2006.
- Save-the-Children.** State of the world's mothers 2007. Saving the lives of mothers and newborns: <http://www.savethechildren.org/campaigns/state-of-the-worlds-report/2007/>; 2007.
- OMS.** Informe sobre la salud en el mundo. Arriesgarse a morir para dar vida: <http://www.who.int/whr/2005/chapter4/es/index1.html>; 2005.
- OPS.** Estadísticas de Salud de las Américas (ed 2006): <http://www.paho.org/spanish/dd/ais/hsa2006.htm>; 2006.
- Evans MI, Wapner RJ.** Invasive prenatal diagnostic procedures 2005. *Semin Perinatol* 2005; 29: 215-218.
- Eisenberg B, Wapner RJ.** Clinical procedures in prenatal diagnosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002; 16: 611-627.
- Júbiz A.** Amniocentesis. In: Botero J. Júbiz A. HG, ed. *Obstetricia y Ginecología* (ed 7). Medellín, Colombia; 2004: 80-83.
- Carrera J.M. AM, Salvador C.** Biopsia de corión. In: Carrera JM, ed. *Diagnóstico prenatal*. Barcelona, España: Salvat; 1987: 190-200.
- Hernandez-Andrade E, Guzman Huerta M, García Cavazos R, Ahued-Ahued JR.** [Prenatal diagnosis in the first trimester, whom and how?]. *Ginecol Obstet Mex* 2002; 70: 607-612.
- Rosales Aujang E, Felguerez Flores JA.** [Maternal mortality. A challenge of the new millennium]. *Ginecol Obstet Mex* 2002; 70: 502-509.
- Lo YM.** Recent advances in fetal nucleic acids in maternal plasma. *J Histochem Cytochem* 2005; 53: 293-296.
- Bianchi DW.** Prenatal diagnosis by analysis of fetal cells in maternal blood. *J Pediatr* 1995; 127: 847-856.
- Hahn S, Huppertz B, Holzgreve W.** Fetal cells and cell free fetal nucleic acids in maternal blood: new tools to study abnormal placentation? *Placenta* 2005; 26: 515-526.
- Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, et al.** Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997; 350: 485-487.
- Bischoff FZ, Lewis DE, Simpson JL.** Cell-free fetal DNA in maternal blood: kinetics, source and structure. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 59-67.
- Lo YM, Zhang J, Leung TN, Lau TK, Chang AM, Hjelm NM.** Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 218-224.
- Lo YM, Lau TK, Zhang J, Leung TN, Chang AM, Hjelm NM, et al.** Increased fetal DNA concentrations in the plasma of pregnant women carrying fetuses with trisomy 21. *Clin Chem* 1999; 45: 1747-1751.
- Leung TN, Zhang J, Lau TK, Chan LY, Lo YM.** Increased maternal plasma fetal DNA concentrations in women who eventually develop preeclampsia. *Clin Chem* 2001; 47: 137-139.
- Zolotukhina TV, Shilova NV, Voskoboeva EY.** Analysis of cell-free fetal DNA in plasma and serum of pregnant women. *J Histochem Cytochem* 2005; 53: 297-299.
- Gonzalez-Gonzalez C, Garcia-Hoyos M, Trujillo-Tiebas MJ, Lorda-Sanchez I, de Alba MR, Infantes F, et al.** Application of fetal DNA detection in maternal plasma: a prenatal diagnosis unit experience. *J Histochem Cytochem* 2005; 53: 307-314.
- Farina A, Sekizawa A, Sugito Y, Iwasaki M, Jimbo M, Saito H, et al.** Fetal DNA in maternal plasma as a screening variable for preeclampsia. A preliminary nonparametric analysis of detection rate in low-risk nonsymptomatic patients. *Prenat Diagn* 2004; 24: 83-86.
- Heimrath J, Krawczenko A, Kozlak J, Dus D.** Trophoblasts and soluble adhesion molecules in peripheral blood of women with pregnancy-induced hypertension. *Am J Reprod Immunol* 2004; 51: 152-155.
- Sekizawa A, Jimbo M, Saito H, Iwasaki M, Sugito Y, Yukimoto Y, et al.** Increased cell-free fetal DNA in plasma of two women with invasive placenta. *Clin Chem* 2002; 48: 353-354.
- Leung TN, Zhang J, Lau TK, Hjelm NM, Lo YM.** Maternal plasma fetal DNA as a marker for preterm labour. *Lancet* 1998; 352: 1904-1905.
- Zhong XY, Burk MR, Troeger C, Jackson LR, Holzgreve W, Hahn S.** Fetal DNA in maternal plasma is elevated in pregnancies with aneuploid fetuses. *Prenat Diagn* 2000; 20: 795-798.
- Lo YM, Leung TN, Tein MS, Sargent IL, Zhang J, Lau TK, et al.** Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia. *Clin Chem* 1999; 45: 184-188.

28. **Lau TW, Leung TN, Chan LY, Lau TK, Chan KC, Tam WH, et al.** Fetal DNA clearance from maternal plasma is impaired in preeclampsia. *Clin Chem* 2002; 48: 2141-2146.
29. **Zhong XY, Laivuori H, Livingston JC, Ylikorkala O, Sibai BM, Holzgreve W, et al.** Elevation of both maternal and fetal extracellular circulating deoxyribonucleic acid concentrations in the plasma of pregnant women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 414-419.
30. **Levine RJ, Qian C, Leshane ES, Yu KF, England LJ, Schisterman EF, et al.** Two-stage elevation of cell-free fetal DNA in maternal sera before onset of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190: 707-713.
31. **Byrne BM, Crowley A, Taulo F, Anthony J, O'Leary JJ, O'Herlihy C.** Fetal DNA quantitation in peripheral blood is not useful as a marker of disease severity in women with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2003; 22: 157-164.
32. **Lee T, LeShane ES, Messerlian GM, Canick JA, Farina A, Heber WW, et al.** Down syndrome and cell-free fetal DNA in archived maternal serum. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1217-1221.
33. **Poon LL, Leung TN, Lau TK, Lo YM.** Presence of fetal RNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2000; 46: 1832-1834.
34. **Barrera-Saldana HA.** Growth hormone and placental lactogen: biology, medicine and biotechnology. *Gene* 1998; 211: 11-18.
35. **Ng EK, Leung TN, Tsui NB, Lau TK, Panesar NS, Chiu RW, et al.** The concentration of circulating corticotropin-releasing hormone mRNA in maternal plasma is increased in preeclampsia. *Clin Chem* 2003; 49: 727-731.
36. **Reimer T, Koczan D, Briese V, Friese K, Richter D, Thiesen HJ, et al.** Absolute quantification of human chorionic gonadotropin-beta mRNA with TaqMan detection. 4. *Mol Biotechnol* 2000; 14: 47-57.
37. **Tsui NB, Chim SS, Chiu RW, Lau TK, Ng EK, Leung TN, et al.** Systematic micro-array based identification of placental mRNA in maternal plasma: towards non-invasive prenatal gene expression profiling. *J Med Genet* 2004; 41: 461-467.
38. **Ng EK, Tsui NB, Lau TK, Leung TN, Chiu RW, Panesar NS, et al.** mRNA of placental origin is readily detectable in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 4748-4753.
39. **Farina A, Chan CW, Chiu RW, Tsui NB, Carinci P, Concu M, et al.** Circulating corticotropin-releasing hormone mRNA in maternal plasma: relationship with gestational age and severity of preeclampsia. *Clin Chem* 2004; 50: 1851-1854.
40. **Goldberg JD.** Fetal cells in maternal circulation: progress in analysis of a rare event. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 806-809.
41. **Hahn S, Sant R, Holzgreve W.** Fetal cells in maternal blood: current and future perspectives. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 515-521.
42. **Bischof P, Irminger-Finger I.** The human cytotrophoblastic cell, a mononuclear chameleon. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 1-16.
43. **Hahn S, Holzgreve W.** Fetal cells and cell-free fetal DNA in maternal blood: new insights into pre-eclampsia. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 501-508.
44. **Chua S, Wilkins T, Sargent I, Redman C.** Trophoblast deportation in pre-eclamptic pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98: 973-979.
45. **Johansen M, Redman CW, Wilkins T, Sargent IL.** Trophoblast deportation in human pregnancy-its relevance for pre-eclampsia. *Placenta* 1999; 20: 531-539.
46. **Oudejans CB, Tjoa ML, Westerman BA, Mulders MA, Van Wijk IJ, Van Vugt JM.** Circulating trophoblast in maternal blood. *Prenat Diagn* 2003; 23: 111-116.
47. **Zhong XY, Holzgreve W, Hahn S.** Cell-free fetal DNA in the maternal circulation does not stem from the transplacental passage of fetal erythroblasts. *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 864-870.
48. **Heimrath J, Krawczenko A, Dus D.** PIH is associated with an increase of trophoblasts circulating in maternal blood. *Ginekol Pol* 2000; 71: 251-254.
49. **Holzgreve W, Ghezzi F, Di Naro E, Ganshirt D, Maymon E, Hahn S.** Disturbed feto-maternal cell traffic in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1998; 91: 669-672.
50. **Jansen MW, Korver-Hakkennes K, van Leeuwen D, Visser W, in 't Veld PA, de Groot CJ, et al.** Significantly higher number of fetal cells in the maternal circulation of women with preeclampsia. *Prenat Diagn* 2001; 21: 1022-1026.
51. **Al-Mufti R, Hambley H, Albaiges G, Lees C, Nicolaides KH.** Increased fetal erythroblasts in women who subsequently develop pre-eclampsia. *Hum Reprod* 2000; 15: 1624-1628.
52. **Holzgreve W, Li JJ, Steinborn A, Kulz T, Sohn C, Hodel M, et al.** Elevation in erythroblast count in maternal blood before the onset of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 165-168.
53. **Goswami D, Tannetta DS, Magee LA, Fuchisawa A, Redman CW, Sargent IL, et al.** Excess syncytiotrophoblast microparticle shedding is a feature of early-onset pre-eclampsia, but not normotensive intrauterine growth restriction. *Placenta* 2006; 27: 56-61.