

## Artículos Originales

(<http://www.siicsalud.com/main/expinv.htm>)

Las normas de divulgación biomédica acotan las posibilidades de comunicación de los investigadores o los someten a rígidos esquemas editoriales que, en oportunidades, limitan la redacción y, en consecuencia, la posterior comprensión de los lectores. SIIC propone escribir sin ataduras a renombrados médicos del mundo.

Las estrictas supervisiones científicas y literarias a que son sometidos los Artículos Originales aseguran documentación de calidad, en temas de importancia estratégica.

# A - El Ultrasonido Tridimensional Doppler en la Medición de los Vasos Sanguíneos Placentarios



**Ratko Matjevic\***

Columnista Experto

Sociedad Iberoamericana de Información Científica

**Función que desempeña:** Consultor en Obstetricia y Ginecología, Especialista en Medicina Materno-Fetal, Universidad de Zagreb, Zagreb, Croacia

**Otro trabajo de su autoría:** Matijevic R, Ward S, Bajoria R. Non invasive method of evaluation of trophoblast invasion

of spiral arteries in monochorionic twins with discordant birthweight, Placenta 23:93-99, 2002

\* En colaboración con Asim Kurjak (MD, PhD), University Department of Obstetrics and Gynecology, Sveti Duh Hospital, Zagreb, Croatia

La tecnología Doppler combinada con la ecografía tridimensional (3D) provee una excelente herramienta diagnóstica para evaluar la red vascular placentaria en un embarazo en curso. Estos dos nuevos descubrimientos en la tecnología del ultrasonido difieren de la "clásica" técnica bidimensional (2D) convencional Doppler color con mejor sensibilidad para detectar velocidades de flujo sanguíneo más bajas.<sup>1</sup> La capacidad de la ecografía 3D, sola o en combinación con la tecnología Doppler, se encuentra bien establecida en la evaluación de la anatomía y morfología fetal, así como en la práctica ginecológica, especialmente en el campo de la oncología.<sup>2-5</sup> La ecografía 3D se ha utilizado en la medición del volumen de la placenta humana a finales del primer trimestre.<sup>6</sup> Sobre la base de la ecografía 3D, se calcularon y correlacionaron los índices y factores funcionales placentarios que afectaban la placenta.<sup>7</sup> Sin embargo, sólo hay pocos informes sobre la valoración de la red vascular placentaria mediante ecografía 3D con tecnología Doppler.<sup>1,6,8,9</sup>

Este estudio se realizó para comparar el desempeño de la ecografía clásica 2D y la nueva 3D, ambas con tecnología Doppler, en la visualización de la red vascular placentaria durante el embarazo en curso.

### Pacientes y métodos

Dieciséis voluntarias embarazadas fueron examinadas luego de obtener su consentimiento informado. El estudio tuvo la aprobación del comité de ética del hospital.

Se utilizó un equipo convencional Kretz Voluson 530 y Kretz 9900 (Kretz, Austria) con un transductor de múltiples frecuencias (3-9 MHz) y software Kretz incorporado. La medición de los vasos placentarios se realizó de la siguiente manera. Primero se determinó el sitio placentario por medio de ecografía en tiempo real con un transductor a 3.5 MHz. Se eligió un plano de visualización paralelo al área de fijación placentaria y se identificó la inserción del cordón umbilical. A continuación se aplicó la técnica Doppler.

Mediante la rotación del transductor en todas las direcciones alrededor del punto central identificado por la inserción del cordón umbilical, se localizaron los vasos placentarios y se siguieron lo más distalmente posible. El cordón umbilical, que

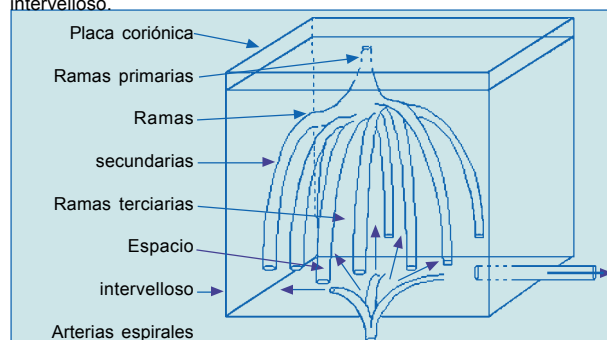
normalmente contiene dos arterias y una vena umbilical, se inserta en la placenta. Las arterias umbilicales dan nacimiento a la circulación fetal de la placenta por medio de vasos que se extienden a lo largo de la superficie placentaria. Estos vasos son llamados ramas primarias (Figura 1).

Ellos perforan la placa coriónica y dan nacimiento a la jerarquía de vasos intraplacentarios: de mayor a menor, ramas primarias, secundarias, terciarias, ramas cotiloideas y vellosas (Figura 1). En algunas nomenclaturas las ramas primarias fueron llamadas ramas principales, mientras que las ramas secundarias se llamaron solamente ramas. Se anotó el nivel más profundo de ramificación de vasos intraplacentarios: un vaso primario, luego de que el vaso superficial perforara la placa coriónica se identificó como una rama, un vaso secundario como dos y, finalmente, un vaso terciario como tres.

La misma área se analizó con la técnica Doppler. La "ventana" electrónica 3D para técnica Doppler y para la valoración 3D se ubicó de forma central a la inserción del cordón umbilical. El software del equipo realizó automáticamente las adquisiciones de volumen, y cada tiempo de adquisición fue de aproximadamente 10 segundos. Se realizaron varias adquisiciones y el procedimiento se repitió hasta obtener una imagen satisfactoria del largo total de la placenta y de las ramificaciones vasculares primarias dentro del tiempo determinado permitido para el examen. Se intentó registrar la mayor cantidad de placenta posible, incluyendo los vasos maternos y placentarios en todos los volúmenes. Las dificultades surgieron principalmente en condiciones de visualización subóptima debida a obesidad materna, y se relacionaron con los movimientos de respiración maternos y las pulsaciones transferidas originadas del contacto uterino con la aorta de la madre en los casos de placenta en posición posterior.

Los volúmenes escaneados, incluyendo la escala de grises y técnica Doppler, se adquirieron y grabaron en un medio de almacenamiento provisto por el equipo. Subsecuentemente, se

**Figura 1.** Vasos sanguíneos placentarios. Los vasos superficiales atraviesan la placa coriónica y se transforman en troncos primarios que originan ramas secundarias, terciarias y vasos cotiloideos y vellosos. Del lado opuesto existe una apertura de las arterias espiraladas al espacio intervellosos.



Placa basal

**Tabla 1.** Tasa de visualización de los vasos sanguíneos placentarios fetales y tasa de visualización de partes distales de la circulación uteroplacentaria usando power Doppler bidimensional (2D) y tridimensional (3D).

Vasos	2D power		3D power		P*
sanguíneos	Doppler		Doppler		1
Ramas primarias	15/15		15/15		0.03
Ramas secundarias	100%		100%		0.0008
Ramas terciarias	09/15	60%	14/15		1
Cotiloideos	01/15	6%	93%		1
Vellicosos	00/15	0%	11/15		1
Arterias espirales	00/15	0%	73%		1

Los resultados se expresan como números reales y porcentajes de visualización.

\* Prueba de  $\chi^2$

evaluaron para tener óptima cantidad de información y se analizaron en las imágenes originales planas bidimensionales, en imágenes planas tridimensionales y en volúmenes de reproducciones de volumen luego de la reconstrucción por 15/15 en todos los ejes (X, Y y Z). La meta de este estudio era ser 100% las ramificaciones de los vasos principales hasta donde fuera posible y valorar la tasa de visualización de los vasos maternos (arterias espiralada y radial) que alimentan el espacio intervelloso del área examinada.

La duración máxima de la ecografía se limitó a 15 minutos. Los resultados del estudio estuvieron disponibles solamente para los investigadores principales y no alteraron el curso ulterior del embarazo. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando software Arcus Pro Stat, Ver. 3.03 (Medical Computing Aughton, Reino Unido). El nivel de  $p < 0.05$  se consideró estadísticamente significativo.

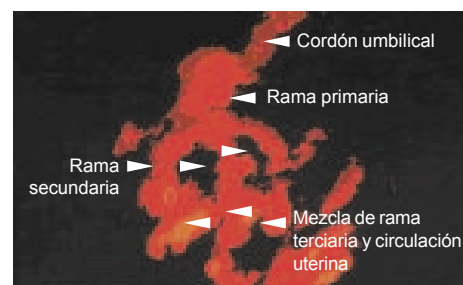
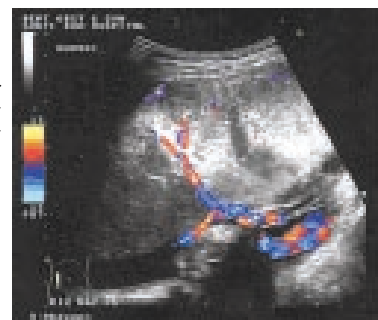
## Resultados

Los resultados originales de este trabajo fueron publicados en el Journal of Perinatal Medicine 2002.<sup>10</sup> En total se incluyeron 16 mujeres. Entre ellas, 15 tenían un embarazo único y una tenía un embarazo múltiple con mellizos, complicado con síndrome de transfusión entre gemelos (STEG). Las gestaciones únicas fueron examinadas en el tercer trimestre, a una edad gestacional mediana de 38 semanas (entre las 37 y las 40 semanas), mientras que la mujer con mellizos fue evaluada a partir de las 29 semanas de embarazo. No hubo signos de desprendimiento, infección, hemorragia, diabetes, trastornos vasculares sistémicos u otra condición que pudiera influir la anatomía vascular placentaria. Todas las mujeres incluidas en el estudio fueron controladas y parieron en nuestro departamento, y no se encontraron anomalías placentarias morfológicas obvias ni inserciones velamentosas del cordón luego del alumbramiento. La tasa de visualización de los vasos placentarios está representada en la Tabla 1.

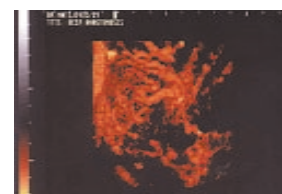
Encontramos la ecografía 3D superior a la 2D (ambas con tecnología Doppler) en la determinación de las ramas vasculares distales de los vasos placentarios fetales ( $p < 0.05$ ). Nuestros resultados muestran que los vasos placentarios vistos con la técnica Doppler 3D se correlacionan bien con la anatomía conocida. Una revisión de los datos de volumen usando imágenes planas triortogonales tiene dos ventajas. Primero, éstas se pueden obtener de orientaciones imposibles usando ecografía 2D, y segundo, pueden ser vistas en conjunto con imágenes reproducidas de volumen para permitir la identificación de vasos específicos. No hubo diferencia en la tasa de visualización de las partes maternas de la circulación uteroplacentaria (arterias espiraladas y radiales) con ecografía 2D y 3D con técnica Doppler ( $p > 0.05$ ). Uno de los ejemplos de visualización de vasos placentarios con técnica Doppler 2D y 3D se presenta en la Figura 2.

En el embarazo complicado con STEG fuimos capaces de ver la red vascular placentaria entera utilizando ecografía de técnica Doppler 3D, e incluso anastomosis arteriovenosas que creemos responsables del STEG. Los vasos únicos no pareados del gemelo dador pueden ser claramente visualizados, corriendo por la superficie de la placenta, desapareciendo en el cotiledón, así como vasos únicos no pareados surgiendo del mismo cotiledón dirigiéndose hacia el gemelo receptor (Figura 3).

**Figura 2.** La visualización de los vasos fetales placentarios por Doppler 2D color (arriba), power Doppler (medio) y power Doppler 3D (abajo). El Doppler 2D puede visualizar los vasos primarios y secundarios mientras que el 3D puede ver los vasos terciarios.

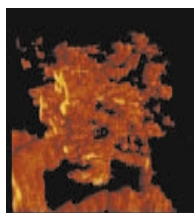


**Figura 3.** Red vascular placentaria a las 29 semanas de gestación en un embarazo complicado con síndrome de transfusión entre gemelos.



## Discusión

En este estudio valoramos la visualización de los vasos fetales placentarios usando ecografías 2D y 3D, ambos con power Doppler. Optamos por la tecnología del power Doppler, ya que se la encontró superior en comparación con la técnica convencional Doppler color. Mediante la técnica de power Doppler, el ruido del ultrasonido está menos presente ya que el flujo sanguíneo se puede observar como un color de fondo homogéneo en vez de diferentes colores como se ve en el Doppler color convencional.<sup>11</sup> Esto hace a la técnica power Doppler más sensible, por la capacidad para visualizar vasos sanguíneos de diámetro más pequeño con menor velocidad de flujo, lo que es característico de los vasos placentarios. Además de ello, no es necesario usar filtros de baja frecuencia, que pueden causar la completa ausencia de detección de señales de flujo sanguíneo de baja velocidad. La técnica power Doppler utiliza planimetría de flujo color, creando señales integradas más dependientes de la densidad que de la velocidad de flujo sanguíneo.<sup>12</sup> Las señales de flujo sanguíneo se vuelven independientes del ángulo y los vasos pequeños analizados en sección transversa aparecerán en la pantalla ecográfica, lo que no es posible utilizando la técnica Doppler color convencional. Sin embargo, la técnica power Doppler no tiene la posibilidad de detectar la dirección del flujo, pero esto no era de importancia



**Figura 4.** Combinación de flujo sanguíneo en la apertura de las arterias espiraladas, espacios intervellosos y flujo sanguíneo en las partes terminales de la circulación placentaria fetal.

en nuestro proyecto de investigación. Con tales características, se encontró que la técnica power Doppler fue muy útil para hacer mapas de flujo sanguíneo en órganos parenquimatosos como la placenta y los riñones.<sup>13</sup>

En los primeros tiempos de la técnica power Doppler se recomendó el uso de sulfato de dihidroxianrostenediona (DHEA-S) como medio de contraste para poder visualizar los vasos placentarios más claramente.<sup>14</sup> Los autores estudiaron el efecto del DHEA-S en el flujo sanguíneo placentario en 11 mujeres con un embarazo no complicado entre las 37 y las 39 semanas de gestación, mediante comparación de la técnica power Doppler con el resultado obtenido luego de la administración intravenosa de 200 mg de DHEA-S disuelto en 20 ml de dextrosa al 5%: se observó que las mejoras de la técnica power Doppler luego de la inyección con DHEA-S eran evidentes en todos los casos, y propusieron este método para la valoración de la función uteroplacentaria durante el embarazo en curso.<sup>14</sup> Hoy en día se acepta que el medio de contraste no es necesario, y los resultados de nuestro estudio apoyan dicha observación.<sup>1,8,10,13</sup>

Se encontró que la ecografía 2D con la técnica Doppler era suficiente para el análisis de los vasos placentarios mayores, incluyendo la inserción del cordón umbilical y los vasos superficiales placentarios que recorren la placa coriónica. En nuestro estudio fue posible seguir la arteria y la vena umbilicales desde la inserción del cordón en todos los casos. No obstante, se necesitaron grandes esfuerzos y experiencia para seguir cada vaso placentario superficial aislado desde la inserción del cordón umbilical hasta el lugar donde perfora la placa coriónica desapareciendo dentro del cotiledón. Para realizar esto, la ecografía 3D con la técnica power Doppler es superior, en comparación con la ecografía 2D, en rapidez y precisión. Esto no es solamente debido a la posibilidad de memorizar los segmentos examinados en los distintos medios de memoria realizando los análisis subsecuentes posibles. En general la ecografía 3D es más rápida, ya que puede presentar la ramificación completa de los vasos placentarios en el segmento definido del tejido placentario durante un único examen. Por ello, el tiempo de exposición se reduce, así como la energía enviada por el ultrasonido, lo que disminuye su potencial efecto dañino.

Las desventajas de la ecografía 2D son obvias. Aun con el uso de equipamientos de alta calidad disponibles en el mercado no es posible visualizar la arquitectura completa y la ramificación de los vasos principales. Por lo tanto, la técnica Doppler 2D sólo puede ser utilizada parcialmente para confirmar los resultados de los estudios histológicos sobre la ramificación de la arteria umbilical en el sistema de los llamados vasos principales durante un embarazo en curso.<sup>1</sup> En nuestro estudio encontramos que la técnica power Doppler 3D fue superior a la 2D en la detección y visualización de ramas vasculares placentarias. No hubo diferencias en la visualización de los vasos principales primarios; sin embargo, las diferencias se volvieron estadísticamente significativas a nivel de los vasos secundarios ( $p = 0.03$ ) y aun más prominentes a nivel de los vasos terciarios ( $p = 0.0008$ ). Existen varias razones para ello. La ecografía 2D Doppler puede mostrar vasos sanguíneos en su mayoría si son examinados en su longitud total o parcial. No obstante, si éstos son examinados en una sección transversa, a pesar de la mejor visualización en la técnica power Doppler que con la técnica Doppler color, esos vasos se reflejarán en la pantalla del ecógrafo como puntos

**Tabla 2.** Los resultados de la densidad de vasos sanguíneos en un cubo placentario definido de 3x3x3 cm. No hubo diferencias en la densidad de vasos entre embarazos normales y embarazos complicados con retraso del crecimiento intrauterino y preeclampsia.

	Embarazo normal n=6		Retraso del crecimiento intrauterino n=5		Preeclampsia n=4	
	C	P	C	P	C	P
Pocos vasos	5	5	4	5	4	3
Densidad media	0	1	1	0	0	1
Red vascular densa	1	0	0	0	0	0

codificados en color que se pueden pasar por alto fácilmente o pueden ser diagnosticados erróneamente como una distorsión debida al movimiento. La reconstrucción computarizada de numerosas imágenes 2D obtenidas durante el examen 3D y su combinación pueden crear la percepción de tercera dimensión. Esas imágenes de reproducción de volumen fueron valiosas para permitir al investigador adquirir un entendimiento general más completo de la anatomía placentaria. En esas imágenes, los puntos codificados en color que representaban la sección transversa de un pequeño vaso placentario se pueden combinar para hacer posible la visualización del largo total o parcial del vaso sanguíneo examinado.

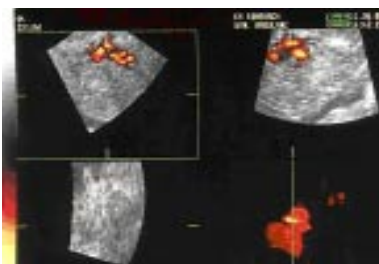
Por ello, las imágenes de reconstrucción de volumen ayudan al investigador a seguir la continuidad de los vasos, cuando éstos se enroscan y retuercen, gracias a la percepción de la tercera dimensión. Con la rotación de estas imágenes generadas por computadora se vuelve mucho más fácil poder ver las ramas vasculares distales al vaso principal, hasta el nivel de los vasos terciarios, en un 75% de los casos. Por tal motivo, la técnica Doppler 3D puede mostrar más precisamente los vasos placentarios en general, así como su relación con las estructuras que los rodean dentro de la placenta.<sup>15</sup> El sistema vascular placentario termina con los vasos cotiloideos y vellosos. Estos no se vieron usando ecografía Doppler 2D o 3D. Esos vasos se caracterizan por velocidades de flujo sanguíneo lentas pero, más importante, se encuentran en las proximidades del espacio intervelloso y de la apertura de las arterias espiraladas. Por esto, las señales de flujo sanguíneo que se puedan originar en ellos se verán superpuestas con la señal mucho más potente obtenida de la apertura de las arterias espiraladas, haciendo el análisis por separado imposible (Figura 4).

Nuestros resultados son muy similares a los de Pretorius y col.<sup>1</sup> Ellos analizaron 14 voluntarias embarazadas con embarazos normales y lograron observar los principales vasos primarios en todos los casos, los vasos secundarios en un tercio de los casos y los vasos terciarios en pocos casos. Los autores examinaron una mujer con retraso del crecimiento intrauterino y encontraron que la vasculatura placentaria no mostraba diferencia alguna comparada con los valores normales de la misma edad gestacional. En estos momentos se está realizando un proyecto similar en nuestro instituto, y nosotros tampoco encontramos diferencias en la vasculatura placentaria cuando se compararon embarazadas con retraso del crecimiento intrauterino y embarazos complicados con hipertensión inducida por el embarazo con las mujeres cursando un embarazo normal (Figura 5, Tabla 2).

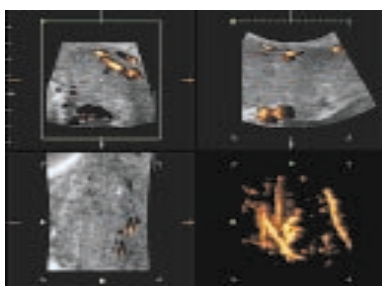
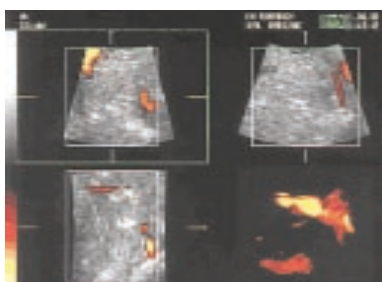
En el estudio de Pretorius y col., se informa que el proceso de la vascularización placentaria tiene un modelo progresivo hacia el final del embarazo.<sup>1</sup> Esto fue confirmado por el posterior trabajo de Bude y col.<sup>16</sup> En nuestro proyecto, al determinar los criterios de inclusión se seleccionó un grupo de mujeres a finales del tercer trimestre y, en consecuencia, se evitó la posibilidad de incrementar el número de vasos y ramas vasculares con el avance



Información adicional en [www.siicsalud.com](http://www.siicsalud.com): dirección de correspondencia, bibliografía completa, abstract, full text, aprobación y patrocinio.



**Figura 5.** La densidad de los vasos sanguíneos placentarios definida como escasa (0-2 vasos) (arriba), densidad media (medio) y red vascular densa (abajo), con power Doppler 3D.



de la gestación para influir los resultados. El modelo progresivo de vascularización también está presente en el lado materno de la circulación placentaria. Hay una expansión continua del espacio vascular, mayormente debido al aumento de volumen del espacio intervelloso, lo que hace posible el intercambio de la sangre y los nutrientes necesarios para el crecimiento y bienestar fetales.<sup>17</sup> La superficie activa de contacto entre la circulación fetal y materna se estimó en varios metros cuadrados en la superficie de un órgano discoidal de sólo 20-25 cm de diámetro. Esto es posible por la especial organización y estructura de las unidades funcionales placentarias; el incremento progresivo del número de vasos fetales placentarios durante el curso del embarazo fue confirmado en un informe reciente.<sup>6</sup> Del lado materno no encontramos diferencias en la tasa de visualización de las arterias espiraladas y radiales con el uso de la técnica Doppler 2D y 3D. Esto no nos sorprende, ya que esos vasos son más anchos en diámetro y tienen una velocidad de flujo sanguíneo característica alta, lo que hace relativamente sencilla su visualización con la tecnología Doppler 2D convencional.<sup>18</sup> La revisión sobre las partes maternas de la circulación uteroplacentaria y sus cambios en el embarazo en curso, así como las posibilidades diagnósticas de la ecografía Doppler en este campo han sido publicadas en forma reciente y no se las seguirá tratando en este trabajo.<sup>19</sup>

Al igual que en el embarazo único, se encontró que la técnica Doppler 3D era útil en la valoración de las anastomosis placentarias en el embarazo múltiple,<sup>9</sup> y que la técnica Doppler 2D convencional era un método suficiente para la valoración de

la circulación materna durante el embarazo en curso.<sup>20</sup> Welsh y col. examinaron la detección de anastomosis placentarias arterioarteriales y arteriovenosas en embarazos monocoriónicos. Concluyeron que se puede demostrar la anatomía anastomótica detallada con la técnica Doppler 3D *in vivo*, y dado el aumento de evidencia que implica varias configuraciones anastomóticas en la transfusión patológica entre gemelos, esta técnica podría resultar útil en la valoración prenatal y el tratamiento de los embarazos gemelares monocoriónicos. Este proyecto todavía se está realizando en nuestro instituto.

Cada unidad placentaria es independiente en el nivel más distal. Ellas se comunican a nivel de los vasos principales, cuando se unen en la superficie de la placenta cerca de la inserción del cordón umbilical. Por ello, la valoración del flujo sanguíneo en cada una de estas unidades es de gran importancia para entender la función y la fisiología placentarias, lo que se vuelve posible con el uso de la técnica Doppler 3D. Desgraciadamente, por el momento sólo tenemos la posibilidad de analizar imágenes estáticas sin estudios paralelos funcionales Doppler. Creemos que pronto será posible la valoración de los vasos placentarios fetales en tiempo real, con el correspondiente potencial para identificar embarazos de alto riesgo, es decir insuficiencia placentaria temprana, trombosis placentaria arterial y venosa, síndrome de transfusión entre gemelos, infarto o desprendimiento de placenta, antes del desarrollo de compromiso fetal detectable por otros métodos tradicionales.

**Ratko Matijevic**

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2004

#### Bibliografía

1. Pretorius DH, TR Nelson, RN Baergen, E Pai, C Cantrell. Imaging of placental vasculature using three dimensional ultrasound and color power Doppler: a preliminary study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;12:45
2. Chaoui R, KD Kalache, J Hartung. Application of three-dimensional power Doppler ultrasound in prenatal diagnosis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;17:22
3. Chaoui R, KD Kalache KD. Three-dimensional power Doppler ultrasound of the fetal great vessels. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;17:455
4. Pretorius DH, NN Borok, MS Coffer, TR Nelson. Three-dimensional ultrasound in obstetrics and gynecology. *Radiol Clin North Am* 2001;39:499
5. Kurjak A, S Kupesic, V Sparac, I Bekavac. Preoperative evaluation of pelvic tumors by Doppler and three-dimensional sonography. *J Ultrasound Med* 2001;20:829
6. Pretorius DH, TR Nelson, R Beagen, C Cantrell. Three dimensional ultrasound and power Doppler imaging of placental vasculature. *Acad Radiol* 1995;2:1154
7. Metznerbauer M, E Hafner, D Hoefinger, K Schuchter, G Stangl, E Ogris, K Philipp. Three-dimensional ultrasound measurement of the placental volume in early pregnancy: method and correlation with biochemical placenta parameters. *Placenta* 2001;22:602
8. Welsh AW, K Humphries, DO Cosgrove, MJ Taylor, NM Fisk. Development of three-dimensional power Doppler ultrasound imaging of fetoplacental vasculature. *Ultrasound Med Biol* 2001;27:1161
9. Welsh AW, MJ Taylor, DO Cosgrove, NM Fisk. Freehand three-dimensional Doppler demonstration of monochorionic vascular anastomoses in vivo: a preliminary report. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;18:317
10. Matijevic R, Kurjak A. The assessment of placental blood vessels by three-dimensional power Doppler ultrasound. *J Perinat Med* 2002;30:26
11. Macsweeney JE, DO Cosgrove, J Arenson. Colour Doppler energy (power) mode ultrasound. *Clin Radiol* 1996;51:387
12. Adler RS, JM Rubin, JB Fowlkes, PL Carson, JE Pallister. Ultrasonic estimation of tissue perfusion: a stochastic approach. *Ultrasound Med Biol* 1995;21:493
13. Ritchie CJ, WS Edwards, LA Mack, DR Cyr, Y Kim. Three-dimensional ultrasonic angiography using power-mode Doppler. *Ultrasound Med Biol* 1996;2:277
14. Hata T, A Manabe, T Yonehara, S Aoki, K Miyazaki. Power Doppler enhancement of the dehydroepiandrosterone sulphate in term pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:360



Información adicional en [www.siiisalud.com](http://www.siiisalud.com):  
dirección de correspondencia, bibliografía completa, **abstract**,  
**full text**, aprobación y patrocinio.

## B - Toxicidad de la Cocaína en el Recién Nacido. Detección y Prevalencia. Identificación de Factores de Susceptibilidad



Óscar García-Algar\*

Columnista Experto

Sociedad Iberoamericana de Información Científica

**Función que desempeña:** Médico Adjunto, Servicio de Pediatría, Hospital del Mar. Profesor Asociado, Médico Pediatra, Universidad Autónoma de Barcelona, España.

**Otro trabajo de su autoría:** Marchei E, Pellegrini M, Pichini S, Pérez E, Puig C, Vall O, Pacifici R, Zuccaro P, Ordobàs L,

García-Algar Ó. «Determination of opiates, cocaine and amphetamines in meconium», *Clin Chem Lab Med* 41(supl):541S, 2003.

\* En colaboración con Antonio Mur Sierra y Núria López Segura.

No se conocen totalmente los efectos del uso prenatal de la cocaína en los recién nacidos, pero muchos estudios científicos demuestran que los hijos de madres que consumen cocaína durante el embarazo nacen antes de tiempo y con peso, talla y perímetro craneal menores. Además, algunas publicaciones informan sobre consecuencias graves, como malformaciones cerebrales, cardíacas, esqueléticas, gastrointestinales y genitourinarias,<sup>1-6</sup> retraso del crecimiento intrauterino<sup>7,8</sup> complicaciones obstétricas,<sup>3</sup> y muerte súbita.<sup>2</sup> Es muy difícil estimar todas las consecuencias del uso de la droga por las mujeres embarazadas y es todavía más difícil determinar el peligro específico de una droga en particular sobre el feto, dado que generalmente consumen más de una. Aunque en algunas series de mujeres consumidoras puras de cocaína se han descrito complicaciones graves, hay muchos factores que dificultan determinar el impacto directo del uso de la cocaína durante la gestación; por ejemplo, cantidad y número de drogas que consume la madre, falta de cuidado prenatal, abuso y abandono de los niños por el estilo de vida de la madre, nivel socioeconómico, mala nutrición de la madre y otros problemas de salud y posibilidad de haber estado expuesta a enfermedades de transmisión sexual.<sup>9,10</sup> En la década anterior los "bebés crack", o sea, los niños nacidos de madres adictas a la cocaína durante el embarazo, fueron declarados como una generación perdida. Se decía que iban a sufrir graves daños irreversibles, menor inteligencia y capacidades sociales reducidas. Después se determinó que esto había sido una exageración, ya que la mayoría de los "bebés crack" se recuperaban aparentemente bien. Sin embargo, no se debe interpretar como un signo positivo. Con el uso de tecnología avanzada, se está descubriendo ahora que cuando los fetos se exponen a la cocaína durante el desarrollo, se producen cambios pequeños, pero muy importantes para el futuro, en particular respecto del comportamiento adecuado para el rendimiento escolar, como la capacidad de evitar las distracciones y la concentración a largo plazo.<sup>9,10</sup>

No obstante, últimamente han aparecido publicaciones y revisiones que cuestionan algunos de los posibles efectos perjudiciales de la cocaína sobre el feto y el recién nacido.<sup>3,10-12</sup> En una revisión sistemática (metaanálisis) reciente, Frank y col.<sup>12</sup> concluyen que no se ha podido demostrar que la exposición a la cocaína en el útero afecte el crecimiento físico, que no parece afectar de forma independiente las escalas de desarrollo durante los primeros 6 años de vida (aunque los datos son insuficientes para valorar esto en los recién nacidos pretérmino), que los efectos sobre el desarrollo motor son confusos, en todo caso transitorios y consecuencia de hecho de la exposición al tabaco, y que la exposición se puede asociar con alteraciones moderadas de algunas respuestas fisiológicas a estímulos de conducta que tienen un significado clínico desconocido. En suma, estos datos no confirman que la exposición a la cocaína en el útero tenga consecuencias adversas importantes sobre el desarrollo en la primera infancia y en todo caso no pueden separarse de las asociadas con otros riesgos ambientales o de exposición.

### Consumo de cocaína

Actualmente el consumo de cocaína está experimentando un notable aumento en nuestro medio (según fuentes del Plan Nacional Sobre Drogas, dependiente del Ministerio del Interior) y en muchos países,<sup>9,13</sup> en todos los estamentos sociales y no sólo entre la clase social alta y determinados profesionales. Ello es debido a la baja capacidad de la cocaína para producir dependencia física y a sus efectos estimulantes, que producen una sensación de aumento de las capacidades de la persona.

### Formas de administración

La cocaína disponible en nuestro medio es realmente clorhidrato de cocaína y tiene forma de polvo blanco. El consumo de cocaína se produce por vía intranasal (esnifar) ya que es el método más seguro de consumirla, aunque puede producir perforación del tabique nasal. También se puede administrar por vía intravenosa, en ocasiones junto con la heroína, pero este método entraña múltiples riesgos de infecciones como hepatitis B, hepatitis C y sida. Una forma de consumo de cocaína muy poco prevalente en nuestro medio es fumar la cocaína base (crack). Esta vía es la que supone mayores toxicidad y adicción.

### Composición y efectos agudos

La cocaína (metiléster de benzoilecgonina) es una droga que se extrae de un arbusto llamado *Erythroxylon coca*, que crece en Sudamérica. Pertenece a la familia de las drogas estimulantes ya que actúa sobre el sistema nervioso central, activándolo a través de un bloqueo de la recaptación de aminas (dopamina sobre todo) que en principio es reversible, produciendo euforia, excitación, locuacidad, sensación de gran fuerza física y agudeza mental. Todo esto va acompañado de una serie de manifestaciones físicas que son el resultado del efecto estimulante de la cocaína a nivel de los distintos aparatos y sistemas del organismo, puede aparecer taquicardia, hipertensión, aumento de la temperatura corporal, taquipnea, respiración irregular, midriasis arreactiva, bruxismo, movimientos estereotipados, alucinaciones táctiles o visuales, arritmias, convulsiones e incluso muerte por paro cardiorrespiratorio. Todas estas manifestaciones dependen de la dosis, de la vía de administración y de la forma de consumo.

### Efectos a largo plazo

Su consumo continuado da lugar a cuadros de tipo paranoide que no ceden con el abandono del consumo y alucinaciones, siendo típicas las táctiles con sensación de que la piel es recorrida por insectos (síndrome de Magnan). Asimismo se ha observado disminución del flujo sanguíneo cerebral, riesgo de cardiopatía isquémica y de accidentes vasculares cerebrales, enfermedades pulmonares, necrosis hepática e hiperprolactinemia persistente.

### Dependencia y síndrome de abstinencia

El consumo continuado de cocaína se justifica por la fuerte dependencia psíquica que produce. La capacidad o no de generar dependencia física continúa siendo un tema controvertido. El crack tiene mayor probabilidad de generar síndrome de abstinencia, con aparición de depresión, fatiga, irritabilidad, ansiedad, alteraciones del sueño y necesidad intensa de volver a consumir la sustancia (*craving*). Estos síntomas se presentan a las pocas horas de haber consumido la cocaína y desaparecen en un día en los casos de abuso leve, pero llegan a persistir hasta una semana si se trata de un abuso grave.

### Toxicidad de la cocaína en hijos de consumidoras

Se han descrito múltiples efectos secundarios,<sup>2,14-17</sup> aunque la inconsistencia de los hallazgos y los problemas metodológicos, unidos a los problemas de seguimiento a largo plazo de los estudios realizados, hacen que la evidencia no sea convincente y



que sean precisos nuevos estudios que tengan en cuenta otros factores del entorno fetal.

### **Efectos fetales**

La cocaína atraviesa fácilmente la barrera placentaria, alcanzando hasta un 80 % de las concentraciones plasmáticas de la madre,<sup>18</sup> y como su eliminación es más lenta, supone mayor toxicidad para el feto. Disminuyen el riego y la oxigenación fetal, uterina y placentaria. Por lo tanto, la placenta no actúa como barrera para el paso de la cocaína y sus metabolitos (norcocaína y cocaetilena).<sup>18</sup> Se ha descrito la asociación del consumo materno de cocaína con diversas malformaciones congénitas,<sup>3</sup> pero en un estudio reciente<sup>11</sup> no se han encontrado diferencias entre el tipo o número de anomalías evidentes entre los recién nacidos expuestos y los no expuestos, ni relación con la dosis o el tiempo de exposición a la cocaína en los casos encontrados. Algunos autores también han encontrado mayor frecuencia de abortos espontáneos y desprendimiento prematuro de la placenta.<sup>1</sup>

### **Efectos neonatales**

Valores bajos de Apgar, peso, talla y perímetro craneal.<sup>3,7,19</sup> Mayor frecuencia de sufrimiento fetal agudo, prematuridad,<sup>3</sup> bajo peso<sup>3</sup> y retraso del crecimiento intrauterino,<sup>7,8</sup> principalmente en hijos de madres consumidoras de dosis elevadas durante el tercer trimestre del embarazo, que es cuando ocurre el mayor crecimiento fetal. Algunos estudios<sup>3</sup> concluyen que los efectos neonatales adversos asociados con la exposición fetal a la cocaína siguen una relación dosis respuesta.

En cambio, otros estudios<sup>10-12</sup> concluyen que las mujeres que consumen cocaína durante el embarazo presentan numerosas alteraciones en su vida que pueden influir en el curso de su gestación, entre las cuales el consumo de cocaína sólo es un marcador más que no parece influir en la prevalencia de bajo peso al nacer o de parto pretérmino.

Entre otros efectos se ha descrito un aumento notable de los casos de enterocolitis necrotizante y de muerte súbita.<sup>2</sup> Sin embargo, en una revisión reciente<sup>12</sup> se concluye que no se ha demostrado que la exposición prenatal a cocaína sin exposición concomitante a opiáceos sea un factor independiente del síndrome de muerte súbita del lactante. La lactancia natural está contraindicada si la madre sigue consumiendo cocaína.

**Trastornos neuroconductuales del recién nacido.** A las pocas horas de nacer puede aparecer un cuadro parecido al síndrome de abstinencia neonatal a opiáceos, con trastornos generales del sistema nervioso central (temblores, irritabilidad, hipertonía generalizada, hiperreflexia), respiratorios y digestivos, pero de poca intensidad clínica. Puede corresponder a un cuadro de intoxicación por la droga parecido al que presentan los adultos por una dosis excesiva, a un auténtico síndrome de abstinencia o a los trastornos neuroconductuales descritos en los recién nacidos hijos de madres consumidoras de cocaína.<sup>2,11,17</sup> Este cuadro requiere medidas de apoyo como dieta hipercalórica frecuente a demanda y un ambiente tranquilo sin ruidos ni movimientos bruscos. Se ha podido establecer una diferencia entre los efectos sobre la conducta del recién nacido producidos por la cocaína (neonatos letárgicos) y sus metabolitos como la benzoilecgonina y norcocaína (signos de neuroexcitación).<sup>16</sup> Como se demuestra en estudios de mujeres embarazadas consumidoras puras de cocaína,<sup>2</sup> estas alteraciones neuroconductuales pueden aparecer incluso si sólo se ha consumido cocaína durante el primer trimestre de la gestación, a diferencia de la heroína, que no causa síndrome de abstinencia neonatal si no se ha consumido durante el último mes del embarazo.

**Alteraciones estructurales.** Trabajos retrospectivos en niños expuestos a cocaína<sup>5,20</sup> han sugerido una incidencia aumentada de hemorragia periventricular y de quistes subependimarios y periventriculares. Sin embargo, los estudios prospectivos y controlados<sup>4,6</sup> no han logrado encontrar una asociación entre la exposición intrauterina a la cocaína y las anomalías en las ecografías craneales.

Recientemente un estudio ha demostrado una correlación positiva entre la dosis de exposición a la cocaína y la incidencia de hemorragia subependimaria.<sup>21</sup>

### **Alteraciones de la conducta y el desarrollo**

Se han realizado numerosos estudios sobre las consecuencias a nivel del crecimiento físico, desarrollo cognitivo, desarrollo motor, lenguaje y comportamiento, atención y afectividad, pero los efectos de la exposición prenatal a la cocaína sobre la estructura y la función del sistema nervioso central del recién nacido, aunque parecen dependientes en parte de la dosis, todavía no están plenamente demostrados.<sup>13,22</sup> Existe una revisión<sup>12</sup> en la que concluyen que en niños menores de 6 años no existe evidencia convincente de que la exposición prenatal a la cocaína se asocie de manera independiente a efectos tóxicos del desarrollo tanto físico (crecimiento) como conductual, aunque estos datos son insuficientes en el caso de niños nacidos pretérmino. Después de controlar factores de confusión, los únicos efectos significativos son la disminución del crecimiento fetal para la edad gestacional y la afectación del desarrollo motor (esta última sólo presente hasta los 7 meses de vida). Consideran que deben tomarse estos datos como preliminares, debiéndose realizar más estudios. Si en el futuro se demuestra una toxicidad específica de la cocaína en el feto, probablemente ésta será de menor magnitud que la relacionada con la exposición al tabaco y al alcohol.<sup>12</sup> Un estudio reciente establece una relación positiva entre la dosis de exposición a la droga y pobre lenguaje receptivo (no el expresivo) al año de edad, después de controlar los factores de confusión.<sup>23</sup> No obstante, la cuestión de si la cocaína ejerce efectos adversos a largo plazo sobre el sistema nervioso central humano en desarrollo todavía no se ha resuelto, en gran parte debido a limitaciones metodológicas de los estudios existentes.<sup>10,11</sup> Finalmente, en el último estudio publicado,<sup>24</sup> no se han encontrado diferencias en la exploración neurológica a los 6 años entre los niños expuestos a la cocaína durante el embarazo y un grupo control, aunque sin excluir deficiencias más sutiles en los niños expuestos. La conclusión de este trabajo es que las anomalías neurológicas que se encuentran en estos niños no se pueden atribuir automáticamente a la exposición a la cocaína, aunque hay que poner en marcha estudios adicionales.

### **Alteraciones del metabolismo energético cerebral**

Se ha sugerido la aparición de anomalías del metabolismo energético en el cerebro de los recién nacidos expuestos a la cocaína durante la vida intrauterina.<sup>25</sup> Este estudio ha examinado los efectos neurotóxicos de la exposición prenatal a la cocaína mediante espectroscopia con resonancia magnética de protones, encontrando, al igual que en los adultos consumidores, un aumento de creatinina junto con un valor de NA (N-acetil aspartato, marcador de integridad neuronal) relativamente normal en el lóbulo frontal de niños expuestos con problemas de atención y conducta según los padres. Así pues, destaca, en ausencia de anomalías estructurales, una alteración del metabolismo energético celular (probablemente como resultado de múltiples episodios de flujo sanguíneo uterino disminuido hacia el feto).

### **Detección del consumo de cocaína en el embarazo**

Dado el ambiente que rodea a la madre embarazada consumidora de drogas, con frecuencia es difícil obtener información fiable sobre el consumo de sustancias tóxicas para el feto: si se pregunta de forma directa al respecto, puede recibirse una respuesta negativa. Por ello, a menudo la sospecha es clínica, tanto por los síntomas maternos como del RN.

Existen diversos métodos de detección del consumo de cocaína durante el embarazo, de acuerdo con el sustrato biológico (biomarcador) que se analiza.

#### **1. Entrevista por cuestionario<sup>26</sup>**

Se han utilizado diversas técnicas para disminuir el número de embarazadas que niegan su consumo de tóxicos: entrevista mediante un cuestionario estructurado que se pasa en varias

ocasiones durante la gestación, llevado a cabo por la misma persona y creando un ambiente de confianza y con incentivos; usar la técnica "bogus pipe-line", que consiste en comentarle a la mujer antes de realizar la entrevista que se verificará la existencia o no de consumo de drogas mediante una prueba de laboratorio muy sensible. A pesar de todo ello, sólo se consigue una sensibilidad del 65% y una de especificidad del 100%, con 55% de falsos negativos y un 0% de falsos positivos. El principal inconveniente de la entrevista materna es que es una prueba que requiere mucho tiempo y de sensibilidad muy baja.<sup>26</sup>

## 2. Orina de la madre y el RN<sup>26</sup>

- **Ventajas.** La recolección es fácil y no invasiva. En la orina se pueden encontrar grandes concentraciones de tóxicos y no suelen haber proteínas o células que alteren los resultados.
- **Limitaciones.** Tiene una sensibilidad de 37%, y entre 30% y 60% de falsos negativos. Sólo detecta los casos de consumo reciente (pocos días antes), la retrospectividad de la prueba no es superior a las 72 horas tras el último consumo. Examina principalmente la benzoilecgonina (el principal metabolito urinario de la cocaína), pero sólo si está presente en concentraciones elevadas (superiores a 150 ng/ml).

## 3. Meconio<sup>16,18,26,27</sup>

- **Ventajas.** Es fácil de obtener. La droga está presente en él en altas concentraciones acumuladas y se puede detectar hasta los 3 días tras el parto. Tiene un coste similar al análisis de orina. Tiene sensibilidad de 87% y especificidad de 100%, con 32% de falsos negativos y un 0% de falsos positivos. Es el método ideal para la detección perinatal de drogas por su elevada sensibilidad y la facilidad para recogerlo.<sup>26</sup>
- **Limitaciones.** Sólo se detecta a partir del primer trimestre del embarazo (ya que la formación de meconio empieza en la semana 12) y son las fases precoces del embarazo las que se consideran la etapa crítica para el desarrollo del sistema nervioso central.

## 4. Pelo de la madre<sup>26,28,30</sup>

- **Ventajas.** Detecta el consumo retrospectivamente durante un largo período de tiempo. Tiene sensibilidad de 100% y especificidad de 68%, con 0% de falsos negativos.
- **Limitaciones.** Tiene 13% de falsos positivos, seguramente debido a la exposición pasiva del pelo a drogas presentes en el ambiente formando parte del humo o en forma de partículas en el aire o la ropa. Su coste es elevado. Junto con el meconio, el pelo tiene la mayor sensibilidad para la detección perinatal de cocaína y opiáceos, pero su principal inconveniente es la posibilidad de resultados falsamente positivos asociados con la exposición pasiva a las drogas.<sup>26</sup>

## 5. Pelo del RN<sup>4,6,21,31-35</sup>

Tiene sensibilidad, especificidad y valor predictivo elevados. Sólo crece durante los últimos 4 meses del embarazo. Es importante que los resultados positivos obtenidos mediante las tres últimas técnicas por radioinmunoensayo sean confirmados mediante cromatografía de gases/espectrometría de masa. Según un estudio,<sup>35</sup> el control de rutina mediante entrevista y búsqueda de tóxicos en orina, sólo detectaría el 42% de las madres consumidoras de cocaína pero el 93% de éstas presentan un consumo elevado, por lo que detectaría el 79% de los casos del grupo de elevada exposición. La búsqueda de metabolitos adicionales de la cocaína puede ayudar a reducir los falsos negativos.

### Identificación de factores de susceptibilidad

Esta identificación se basa en dos aspectos fundamentales, que no se conocen completamente:

**Dosis respuesta.**<sup>7</sup> Aquellos fetos cuyas madres consumen más cocaína son más susceptibles de presentar efectos adversos. Dada la posibilidad de obtener datos sobre la cantidad en meconio y pelo, es necesario establecer a partir de qué dosis hay riesgo de toxicidad. Es difícil determinar si existen anomalías relacionadas con el tiempo y la dosis de exposición porque la cantidad real consumida es desconocida, la pureza de la droga puede variar y la

memoria de los consumidores es escasa y poco fiable.<sup>3</sup>

**Factores de susceptibilidad farmacogenéticos.**<sup>36,37</sup> La barrera placentaria no se comporta como tal barrera fisiológica para el paso de la cocaína y sus metabolitos de la sangre materna a la sangre fetal.<sup>16</sup> Tanto la madre como el feto según la actividad del citocromo CYP3A (también 1A, 2A y quizás 2B) hepático pueden generar especies metabólicas tóxicas de la cocaína (norcocaína y N-OH-norcocaína).<sup>36,37</sup> La actividad de algunas de estas enzimas presentan polimorfismos genéticos en la población general. Se ha descrito la detección de cocaína, cocaetilena, norcocaína y benzoilecgonina en meconio y también en líquido amniótico.<sup>16,17,26,27,38</sup> Esta determinación ofrece mejores resultados que en sangre de cordón y permite estudiar si existe tal susceptibilidad genética. La presencia de benzoilecgonina se ha asociado con un cuadro neuroexcitatorio y la cocaína se ha asociado a neonatos letárgicos.<sup>2,16</sup>

### Conclusiones

Un número de recién nacidos cada vez mayor ha estado expuesto prenatalmente a la cocaína, aunque las consecuencias del consumo de esta droga durante el embarazo no se comprenden del todo.

Los efectos de la cocaína se manifiestan principalmente por su acción sobre los receptores aminérgicos del sistema nervioso central y periférico. Alteraciones en el desarrollo, fisiológicas y del comportamiento observadas en el recién nacido parecen ser debidas a la cocaína, pero estos hallazgos pueden estar sesgados por variables de confusión tales como el uso concomitante de otras drogas, factores ambientales y el tiempo, dosis y tipo de consumo de la cocaína.

El manejo clínico de los niños expuestos a la cocaína requiere prestar atención a las consecuencias que pueden aparecer inicialmente en el recién nacido y posteriormente a largo plazo. El hecho de detectar precozmente la exposición intrauterina a la cocaína garantizará un seguimiento estrecho del recién nacido después del alta, controlando con especial interés en estos niños el desarrollo como parte del programa del niño sano y aplicando medidas de intervención en caso necesario.

Para una embarazada consumidora de cocaína, si ha dejado de consumirla en el tercer trimestre, el rango de complicaciones medicas comúnmente asociadas (por ejemplo, bajo peso o prematuridad) se ve significativamente disminuido. Estos datos apoyan la importancia de la búsqueda activa del consumo de cocaína en todas las embarazadas y el necesario asesoramiento de aquellas en las que se obtengan datos o resultados positivos.

### Actualidad de esta línea de investigación

Se ha puesto en marcha un ensayo prospectivo, cuyo diseño es de cohorte, que pretende estudiar la siguiente hipótesis: la clínica que manifiestan los recién nacidos expuestos a la cocaína durante el embarazo podría estar relacionada no sólo con la dosis sino también con factores de susceptibilidad de la madre y el feto respecto de su capacidad de activar la cocaína a especies metabólicas tóxicas.

La pregunta de investigación de este trabajo es la siguiente: ¿La clínica que manifiestan los recién nacidos expuestos a la cocaína durante el embarazo está relacionada con factores de susceptibilidad de la madre y el feto respecto de su capacidad de activar la cocaína a especies metabólicas tóxicas? Los objetivos de este estudio son los siguientes:

- Comprobar si la clínica que manifiestan los recién nacidos expuestos a la cocaína durante el embarazo está relacionada con factores de susceptibilidad de la madre y el feto respecto de su capacidad de activar la cocaína a especies metabólicas tóxicas.
- Confirmar que la cocaína produce efectos adversos sobre el recién nacido.
- Actualmente se ha iniciado la fase de recolección de datos, y en los próximos meses se completará el estudio y se podrá contrastar la hipótesis de trabajo.

## C - Obtención Transcervical de Células Fetales para el Diagnóstico Prenatal Temprano Mínimamente Invasivo



**Riccardo Cioni\***

Columnista Experto  
Sociedad Iberoamericana de Información Científica

**Función que desempeña:** Research Fellow, Department of Gynecology, Perinatology and Human Reproduction, University of Florence, Florence, Italia.

**Otro trabajo de su autoría:** Cioni R., Bussani C., Scarselli B., Bucciantini S., Barciulli F., Scarselli G. «Fetal cells in cervical mucus in the first trimester of pregnancy», *Prenatal Diagnosis* 23:168-171, 2003.

\* En colaboración con Cecilia Bussani (PhD), Benedetta Scarselli (BSc), Sandra Bucciantini (MD) y Gianfranco Scarselli (MD).

Estudios recientes han despertado gran interés ante la posibilidad de llegar al diagnóstico genético prenatal mediante procedimientos no invasivos<sup>1</sup> que podrían reemplazar la amniocentesis y la obtención de material de las vellosidades coriónicas (MVC), las cuales causan un pequeño pero significativo riesgo de pérdida del embarazo. Estos métodos alternativos incluyen la obtención y aislamiento de células fetales de la circulación materna y la toma de muestras de células transcervicales (CTC). La presencia de varias subpoblaciones diferentes de células fetales en la circulación materna ha sido bien documentada, pero lamentablemente su número parece ser bajo;<sup>2</sup> además, se requieren complejos métodos de separación celular para eliminar el exceso abrumador de células contaminantes provenientes de la madre. Aunque este fenómeno precisa estudios más amplios para comprender su importancia biológica, el interés de los investigadores en ese campo se ha desplazado actualmente de las potenciales implicaciones para el diagnóstico prenatal a la detección de estas células y de ADN fetal libre de las células en la sangre materna en vista del posible uso como marcador de placenta defectuosa y las complicaciones derivadas del embarazo.<sup>3</sup>

El primer estudio sobre la presencia de células fetales en muestras obtenidas del cuello uterino de mujeres embarazadas data de antes de 1970,<sup>4</sup> pero es apenas en la década de 1990 que la información se concentró sobre este aspecto a partir del advenimiento de procedimientos más precisos de análisis molecular tales como la reacción de cadena de polimerasa (PCR) y los ensayos de hibridación fluorescente *in situ* (FISH). Cuando iniciamos nuestras experiencias sobre material celular transcervical (CTC) en 1998, la mayoría de los estudios disponibles habían documentado ya la presencia de células fetales en las secreciones con CTC, pero aun había discusión sobre los métodos ideales tanto para la recolección de la muestra como para el análisis.<sup>5</sup> Dentro de este contexto, el objetivo de nuestro estudio fue, primero y principal, conseguir extensas series de CTC para permitir comparaciones apropiadas y confiables entre estos métodos, debido a que sentíamos que un tamaño pequeño de la muestra había sido la limitación mayor de la generalidad de los estudios anteriores disponibles.

Primero analizamos el lavado intrauterino en 87 mujeres con indicación terapéutica de interrumpir sus embarazos. El lavado se realiza por medio de un catéter insertado a través del cuello, que atraviesa el orificio cervical interno; esta técnica, que supone todavía cierto grado de invasividad, probó realmente ser muy eficaz para conseguir células fetales con alto rédito, y sería posible con ensayos de PCR y FISH rectificar la información sobre el sexo del feto en el 87% y 90% respectivamente.<sup>6</sup> Tal como la mayoría de los estudios anteriores, nuestra investigación tuvo una limitación en el enfoque usado para el análisis de las CTC, ya que las muestras contenían también

células maternas en una proporción variable e impredecible; como una situación de hecho, con los análisis de FISH y PCR pudimos identificar directamente la presencia de células fetales en la muestra detectando el material derivado sólo del cromosoma Y en embarazos con feto masculino, pero no conseguimos discriminar verdaderamente entre las células maternas y las de fetos femeninos. Independientemente, nuestros hallazgos fueron importantes porque demostraron que las células fetales estaban presentes en la enorme mayoría de las muestras de CTC de embarazos masculinos y con una frecuencia muy elevada (valor medio 45%), sugiriendo claramente la utilidad de la técnica en la práctica clínica.

Partiendo de estas premisas, continuamos la obtención de muestras de lavado intrauterino intentando la determinación microscópica de elementos fetales dentro de un espécimen fresco y luego realizando análisis cuantitativo de fluorescencia PCR (QF-PCR)<sup>7</sup> además de la PCR tradicional y los métodos FISH. Nuestro ensayo QF-PCR involucró el empleo de dos marcadores de secuencias cortas repetitivas para cromosoma 21. La presencia de ADN fetal en especímenes de lavado fue documentada por la detección de picos paternos además de alelos maternos, y es de notar que en algunos casos pudo ser demostrada independientemente del sexo del feto. Esta metodología resultó verdaderamente exitosa, dado que los filamentos de las vellosidades coriónicas o las pinzas celulares de origen trofoblástico pudieron ser aisladas en casi el 90% de los casos, y los ensayos de QF-PCR revelaron la presencia de picos paternos en el 61% de las muestras microprocesadas con contaminación mínima, cuando la hubo, por células maternas. En una derivación de los experimentos, llevada a cabo en colaboración con el profesor Matteo Adinolfi (Londres, UK), Judith Bulmer (Newcastle-upon-Tyne, UK) y un grupo de biólogos españoles, las muestras de lavado intrauterino fueron inmunomarcadas con un panel de anticuerpos monoclonales específicos para diferentes subpoblaciones celulares, incluyendo anticuerpo anti HLA-G G233.<sup>8</sup> Grupos de citotrofoblastos HLA-G positivos, así como células sincitiales y maternas, fueron entonces recolectadas empleando microdissección láser y analizadas por QF-PCR mediante marcadores de secuencias cortas repetidas para los cromosomas 21, 18 y 13 más amelogenina para el sexo.

Aproximadamente el 50% de las muestras evidenciaron citotrofoblastos positivos para HLA-G; con relación a este elemento, la discrepancia aparente con los resultados obtenidos con FISH y los procedimientos basados en la PCR puede ser atribuida a la sensibilidad inferior de la técnica inmunohistoquímica. La experiencia con microdissección láser de las células marcadas, pese a ser indispensable profundizar la investigación en series más amplias, reveló que esta conducta es posible y podría ser utilizada para aislar de manera inocua células fetales libres de los contaminantes maternos.

Entre las posibles técnicas para la obtención de CTC (cepillado para la recolección de mucus, aspiración, lavado endocervical e intrauterino), nuestro interés se orientó en primer lugar hacia el último, ya que tanto la literatura científica como nuestra propia experiencia parecían demostrar que las células fetales estaban presentes sólo en baja proporción de especímenes recuperados con los otros métodos;<sup>9</sup> más aun, solamente el lavado intrauterino podía ser considerado como técnica de cierto valor clínico en términos de consecuencias sobre el diagnóstico prenatal. Sin embargo, decidimos efectuar un estudio de tamaño considerable sobre las muestras recolectadas de mucus por cepillado para develar la controversia;<sup>10</sup> en ese ensayo, las células fetales pudieron ser halladas en sólo 20% a 30% de las muestras de mucus tratadas con diferentes procedimientos de laboratorio y analizadas con FISH y PCR. Estos resultados son



trascendentes en lo que se refiere a las consecuencias biológicas, en que las células fetales detectadas a nivel del orificio cervical externo resultan más comúnmente de una pérdida espontánea, cuya importancia se desconoce; pero antes de implementar alguna técnica para su uso en la práctica clínica, la recuperación de células fetales debe lograrse con regularidad y de manera confiable.

En conclusión, en nuestra experiencia de 5 años con CTC hemos realizado una contribución importante al conocimiento en este campo, demostrando que el lavado intrauterino exclusivo puede considerarse una herramienta promisoriosa y estimable para el diagnóstico prenatal no invasivo o mínimamente invasivo; de hecho, la mayoría de las muestras de lavado contienen células fetales que pueden ser reconocidas rápidamente, clasificadas sin dificultad en el microscopio y entonces analizadas para identificar aneuploidías comunes. Las células fetales han sido identificadas en los especímenes celulares transcervicales a las 7 semanas de gestación; su uso permitiría un diagnóstico genético prenatal muy temprano. No obstante, hay aspectos que requieren mayor consideración y estudio. Primero y principal, el escaso riesgo del lavado intrauterino debe ser evaluado precisamente en un número extenso de embarazos en curso; al momento actual, sólo existe experiencia muy limitada con procedimientos de muestras de CTC en mujeres no programadas para la interrupción de su embarazo, y a pesar de que algunos ensayos han fracasado en demostrar daño sobre él,<sup>11,12</sup> todavía existe preocupación acerca de las técnicas de lavados y el riesgo de infección. Sería útil también para comprender en su totalidad el proceso por el cual los trofoblastos están presentes en el cérvix y el polo uterino inferior. Podría ser el resultado de una migración, ya que los trofoblastos tienen naturaleza invasiva que podría hacerlos cruzar la membrana que envuelve la decidua capsularis, pero ha sido cuestionado que el lavado intrauterino pueda actuar como una suerte de biopsia placentaria, manteniendo así cierto grado de invasividad.

Nuestro próximo trabajo sobre CTC comprende los aspectos ya mencionados. Ante todo estamos planificando llevar adelante nuestra investigación sobre mujeres en lista para la interrupción del embarazo; no obstante, las tomas de CTC se realizarían al momento de registrarse para el procedimiento y no inmediatamente antes del mismo: esto permitiría monitorear todas las posibles complicaciones relacionadas con la toma de CTC (sangrado, infecciones, contracciones, etc.) en el intervalo de 1-2 semanas que se requiere normalmente entre el momento del registro y la terminación del embarazo. Si ese corto período de seguimiento muestra resultados mejores, entonces comenzaremos a efectuar tomas de CTC en embarazos en curso, un paso esencial hacia el posible uso clínico de este procedimiento.

Además, en el intento de evaluar finalmente la eficacia de diversos métodos para la toma de material para CTC, hemos recolectado mucus y especímenes de lavado intrauterino en la misma mujer, ya que no es quizás apropiado comparar los resultados informados en estudios que incluían diferentes grupos de individuos.

Con respecto a los métodos de laboratorio y análisis, nos encontramos actualmente realizando el ensayo QF-PCR sobre todas nuestras muestras de lavados: éstas son microprocesadas para una suerte de elementos trofoblásticos. Los resultados de nuestras experiencias con QF-PCR sugerirían que los criterios adoptados para la clasificación celular son correctos, ya que los picos paternos son comúnmente identificados; por otro lado, también sugieren que, con microprocesamiento, el problema de la contaminación materna puede ser soslayado. El análisis FISH todavía se realiza en muestras no microprocesadas, esto es, sin tejido trofoblástico evidente para aislar; verdaderamente, nosotros encontramos que algunas muestras negativas para trofoblastos en el microscopio podrían contener algunas células fetales detectables con FISH. Otra rama de nuestros experimentos involucra un abordaje de dos pasos para la detección de células fetales dentro de una muestra: en el primer estado, se emplea inmunohistoquímica con anticuerpos

monoclonales para el trofoblasto para las células blanco fetales; luego, el ensayo FISH puede favorecer la enumeración de los cromosomas. Como una cuestión de hecho, este enfoque no precisa microprocesamiento de las muestras, ya que las células fetales, tanto de concepciones masculinas como femeninas, estarían marcadas y por lo tanto serían sencillamente reconocidas.

Por último, será útil definir y optimizar la técnica para la recolección del espécimen: con relación a esto, el análisis estadístico de nuestros datos, obtenidos de una extensa población, ayudará a definir las características maternas, obstétricas y demográficas que influyen en el descenso de las células fetales, y podrían además aportar información importante sobre el momento ideal para la obtención del material con CTC.

**Dr. Riccardo Cioni**

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2004

#### Bibliografía

- Adinolfi, M. 1995. Non- or minimally invasive prenatal diagnostic tests on maternal blood samples or transcervical cells. *Prenat Diagn* 15: 889-96.
- Pertl, B., Bianchi, D.W. 1999. First trimester prenatal diagnosis: fetal cells in the maternal circulation. *Semin Perinatol* 23: 393-402.
- Chiu RW, Lo YM. 2002. Application of fetal DNA in maternal plasma for noninvasive prenatal diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2(1): 32-40.
- Shettles, L.B. 1971. Use of the Y chromosome in prenatal sex determination. *Nature* 230: 52.
- Adinolfi M, Sherlock J. 1997. First trimester prenatal diagnosis using transcervical cells: an evaluation. *Hum Reprod Update* 3:383-92.
- Cioni R, Bussani C, Scarselli B, Barciulli F, Bucciantini S, Simi P, Fogli A, Scarselli G. 2002. Detection of fetal cells in intrauterine lavage samples collected in the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 22: 52-55.
- Bussani C., Cioni R., Scarselli B., Barciulli F., Bucciantini S., Simi P., Fogli A., Scarselli G. 2002. Strategies for the isolation and analysis of fetal cells in transcervical samples. *Prenat Diagn* 22: 1098-101.
- Bulmer JN, Cioni R, Bussani C, Cirigliano V, Sole F, Costa C, Garcia P, Adinolfi M. 2003. HLA-G positive trophoblastic cells in transcervical samples and their isolation and analysis by laser microdissection and QF-PCR. *Prenat Diagn* 23: 34-9.
- Rodeck, C., Tutschek, B., Sherlock, J., Kingdom, J. 1995. Methods for the transcervical collection of fetal cells during the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 15: 933-42.
- Cioni R., Bussani C., Scarselli B., Bucciantini S., Barciulli F., Scarselli G. 2003. Fetal cells in cervical mucus in the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 23: 168-71.
- Chang, S., Lin, S., Hsi, B. 1997. Minimally-invasive early prenatal diagnosis using fluorescence in situ hybridisation on samples from uterine lavage. *Prenat Diagn* 17: 1019- 25.
- Maggi, F., Berdusco, F., Liuti, R., Trotta, A., Testi, A., Vadora, E., Petrelli, M., Calestani, V., Simoni, G. 1996. First-trimester chromosome diagnosis by lavage of the uterine cavity. *Prenat Diagn* 16: 823-7