

Diagnóstico prenatal

M^a Pilar Ribate Molina

Departamento de Pediatría,
Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza

Feliciano J. Ramos Fuentes

Unidad de Genética Clínica, Servicio de Pediatría,
Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa", Zaragoza
Departamento de Pediatría,
Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza



1. INTRODUCCIÓN

El diagnóstico prenatal pretende la detección de un defecto congénito o anomalía en el desarrollo morfológico, estructural, funcional o molecular presente en un feto.

El interés sobre la salud fetal se comenzó en los años 50, con la introducción de la amniocentesis por Bevis en 1952, para el diagnóstico de la eritroblastosis fetal. En 1956 Fuchs y Riis publicaron los primeros estudios sobre la determinación del sexo fetal mediante estudios de la cromatina X (test de Barr) en líquido amniótico obtenido por punción. Los avances en las técnicas citogenéticas de años posteriores permiten realizar los primeros cultivos con el componente celular del líquido amniótico, lográndose entre 1965 y 1966, los primeros cariotipos fetales a partir de amniocitos. Este hecho permitió el desarrollo de una herramienta muy valiosa para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas o cromosomopatías. Los descubrimientos y avances en el diagnóstico prenatal se fueron multiplicando en años sucesivos. En 1968 Nadler y Dancis realizan, de forma independiente, los primeros diagnósticos de errores congénitos del metabolismo en células cultivadas de líquido amniótico. A finales de este mismo año Brock y Sutcliffe confirman la utilidad de la alfa-fetoproteína para el diagnóstico de los defectos del tubo neural fetal.

La introducción de la ecografía bidimensional a partir de 1968 permitió, además del estudio del genotipo fetal como se venía haciendo hasta el momento, el conocimiento de las características fenotípicas del feto. En un primer momento los equipos desarrollados sólo permitían la identificación de un número limitado de anomalías, como la anencefalia. El desarrollo, en años posteriores, de equipos más sofisticados aumenta el número de malformaciones que se pueden detectar por esta técnica. El desarrollo de las técnicas ecográficas ha llegado hasta tal punto que permite el diagnóstico prenatal de más del 90% de las anomalías fetales con una cierta expresividad estructural. Además, la ecografía también sirve como una técnica de apoyo para la realización de otros procesos diagnósticos como son la amniocentesis, biopsia de corion, cordocentesis, etc.

Las fetoscopias comenzaron a utilizarse con fines diagnósticos a partir de 1973, gracias a un estudio de Hobbins y Mahoney para el diagnóstico de hemoglobinopatías, convirtiéndose en una herramienta en el diagnóstico prenatal ya que permite la obtención de biopsias de diferentes tejidos.

En 1984 se estableció como un proceso estandarizado las biopsias de corion, junto con el control ecográfico pertinente. Además, Daffos y cols desarrollaron otra técnica que permitía la obtención de sangre fetal, sin la

utilización de la fetoscopia, mediante la punción directa por ecografía de los vasos umbilicales.

El conocimiento en 1980 de la dotación genética contenida en el ADN permitirá nuevos avances en el diagnóstico prenatal, mediante la aplicación a este campo de las nuevas técnicas desarrolladas en biología molecular e ingeniería genética. Los distintos logros alcanzados en este campo han proporcionado una herramienta indispensable para el diagnóstico prenatal de muchas enfermedades congénitas mediante la identificación del gen alterado en las células fetales, siendo muchas de ellas imposibles de detectar por la aparición tardía de los primeros síntomas.

Los estudios genéticos permiten analizar de forma directa tanto el ADN como los cromosomas e incluso el estudio del producto o proteína codificado por un gen. Mediante técnicas moleculares (PCR, secuenciación,...) se puede realizar un estudio directo de ADN que permite detectar alteraciones en la secuencia génica (mutaciones). En la actualidad, el estudio del cariotipo fetal (cromosomas) se realiza mediante las técnicas de FISH (hibridación in situ por fluorescencia) y cariotipo espectral, que permiten la visualización de anomalías en los cromosomas fetales. El estudio de las proteínas codificadas por un gen permitirá identificar distintas patologías dependiendo de la alteración que sufra tanto la funcionalidad como la concentración de dicha proteína. Aunque en la actualidad casi todas las enfermedades monogénicas se pueden detectar por diagnóstico prenatal, en la tabla 1 aparecen aquellas más frecuentes, junto con el tipo de herencia.

Tabla 1. Algunas enfermedades hereditarias en las que es posible el diagnóstico prenatal.

Tipo de Herencia	Enfermedad
Autosómica dominante	Acondroplasia
	Síndrome de Marfan
	Neurofibromatosis
	Distrofia miotónica
	Retinoblastoma
	Enfermedad poliquística renal
	Enfermedad de Huntington
Autosómica recesiva	Anemia de las células falciformes
	Fenilcetonuria
	Enfermedad de Gaucher (I, II, III)
	Ataxia de Friedrich
	Hiperplasia adrenal congénita
	Enfermedad de Tay-Sachs
	Talasemias α y β
	Atrofia muscular espinal
	Fibrosis quística
Ligada al Cromosoma X	Hemofilia A y B
	Síndrome X Frágil
	Distrofia muscular de Duchenne y Becker
	Deficiencia de Ornitin Transcarbamilasa
	Adrenoleucodistrofia

Modificada de Alvarenga RH, 2002.

Durante los últimos años se han desarrollado distintos programas de screening de malformaciones que se han aplicado al diagnóstico prenatal, como por ejemplo, la realización de ecografías rutinarias entre las 18 y 20 semanas, el estudio de aneuploidías mediante marcadores bioquímicos y la ultrasonografía para la búsqueda de marcadores fenotípicos. También se han descubierto nuevos marcadores bioquímicos, alfa-fetoproteína, beta HCG y el estriol sérico no conjugado, cuya combinación permite la identificación de diferentes anomalías fetales, como el síndrome de Down.

El diagnóstico prenatal se ha convertido en un servicio multidisciplinario en el que es necesaria la participación de perinatólogos, ecografistas, genetistas, bioquímicos, endoscopistas, especialistas en reproducción, etc.

Los nuevos avances en este campo se basan en el desarrollo y mejora de las técnicas existentes intentando reducir los riesgos tanto para la madre como para el feto, así como para mejorar la eficacia que presentan. Un claro ejemplo de ello es la ecografía en 3 dimensiones, que permite una mejor visualización del fenotipo fetal. Con respecto a estos avances también hay que tener en cuenta los realizados en el campo del diagnóstico preimplantacional.

2. OBJETIVOS

El diagnóstico prenatal no se desarrolló con el único propósito de detectar anomalías de la vida fetal y permitir terminar la gestación ante la presencia de dichos defectos, sino que presenta otros objetivos como son:

- Permitir una elección informada a aquellas parejas que presenten un riesgo de tener un hijo con una anomalía.
- Disminuir la ansiedad y proporcionar tranquilidad, reduciendo el nivel de preocupación en particular en aquellas gestantes con un alto riesgo.
- Permitir a las parejas con riesgo de tener descendencia con alguna anomalía la posibilidad de comenzar un embarazo, sabiendo que podrán conocer la presencia o ausencia del trastorno pudiendo interrumpir el embarazo en ese momento.
- Permite la preparación psicológica, conocimientos sobre la gestación, el parto y los cuidados posnatales en caso del nacimiento de un niño con un trastorno genético.
- En algunos casos posibilita el tratamiento prenatal del feto afectado. En la actualidad son pocos los trastornos genéticos que se pueden tratar, pero este número va en aumento.

3. INDICACIONES

La aplicación de las distintas técnicas de diagnóstico prenatal tiene que ser un acto limitado, a excepción de las ecografías, debido al riesgo añadido que presentan, el elevado coste y los escasos centros en donde se realizan. Por todo ello, es necesaria una selección de aquellas gestaciones que presenten un cierto riesgo.

Para considerar a una gestante susceptible de diagnóstico prenatal el riesgo de la anomalía fetal tiene que ser por lo menos tan elevado como el riesgo de aborto provocado por las propias técnicas, como amniocentesis o biopsia de corion. Las principales indicaciones a tener en cuenta son las siguientes:

- **Edad materna avanzada.** Aunque existen variabilidad de opiniones por lo general se considera por encima de los 35 años. En una gestante de esta edad el riesgo de tener un feto con una anomalía es aproximadamente igual al riesgo de de aborto asociado con las distintas técnicas aplicadas para el diagnóstico prenatal.
- **Hijo previo con una anomalía cromosómica de novo.** El riesgo de tener un hijo con una anomalía cromosómica en aquellos progenitores que ya tienen un hijo con una anomalía puede ser mucho mayor que en el resto, posiblemente debido a la presencia de un mosaicismo germinal, aunque no se conoce por completo el mecanismo que hace que se incremente.
- **Presencia de una anomalía cromosómica estructural en uno de los progenitores.** El riesgo de que el feto presente una anomalía cromosómica depende del tipo de anomalía que sea y del progenitor que sea portador de ella.
- **Historia familiar de una alteración genética.** Son trastornos que pueden ser detectados mediante análisis bioquímicos o de genética molecular. Suelen tratarse de defectos monogénicos (Tabla 1), por ello el riesgo de recurrencia suele ser del 25 o del 50% dependiendo del tipo de herencia que presente dicho trastorno.
- **Historia familiar de una anomalía ligada al cromosoma X.** En muchos de estos casos no suelen existir métodos específicos de diagnóstico prenatal, por ello la determinación del sexo del feto suele ser un factor clave para la continuación o interrupción de la gestación. En aquellos casos en los que se puede realizar un diagnóstico genético de la anomalía como es el caso de la distrofia muscular de Duchenne y la hemofilia A y B primero se determina el sexo fetal y después se realiza el análisis de ADN si el feto es varón.

- **Riesgo de defecto del tubo neural.** En familiares de primer y segundo grado de pacientes con este tipo de defectos es recomendable la realización de un diagnóstico prenatal por la existencia de un incremento del riesgo de tener un hijo con esta alteración.
- **Cribado en suero materno y ecografía.** La visualización de anomalías fetales mediante estas técnicas es motivo suficiente para recomendar la realización de determinados estudios genéticos u otros análisis dependiendo del tipo de anomalía detectado.

Existen otros riesgos de presencia de patologías fetales debidos a factores ambientales, como pueden ser:

- Exposición a radiaciones
- Enfermedades infecciosas o crónicas maternas
- Tratamientos con determinados fármacos
- Ingesta de determinadas drogas, alcohol, tabaco, etc.

4. TÉCNICAS

El diagnóstico prenatal se puede realizar mediante distintas metodologías que se pueden dividir dependiendo de si son **técnicas no invasivas**, en las que la información sobre el feto nos la aporta de forma directa o indirecta la madre, o técnicas invasivas o directas, mediante la toma de muestra de tejidos del feto o del medio en el que se desarrolla.

A. TÉCNICAS NO INVASIVAS

1. Exámenes de sangre y orina maternos

Estos exámenes rutinarios permiten la determinación de anticuerpos específicos frente a determinadas enfermedades infecciosas, descarte de enfermedades metabólicas en la gestante (diabetes, fenilcetonuria,...), determinación del grupo sanguíneo materno y estudios citogenéticos.

2. Cribado en el suero materno (triple cribado)

Mediante el triple cribado se miden tres marcadores sanguíneos y se realiza en la mayoría de las gestantes entre la semana 15 y 20 de gestación. Este estudio permite identificar aquellas gestantes que presentan un riesgo

incrementado para el síndrome de Down, Trisomía 18, los defectos del tubo neural, una gestación múltiple y una muerte anteparto. Los tres componentes séricos medidos son la alfafetoproteína (AFP), el estriol no conjugado (uE3) y la gonadotropina coriónica humana (HCG). En la tabla 2 se recogen los valores de estos tres marcadores bioquímicos para cada uno de los casos anteriores.

Tabla 2. Cribado bioquímico prenatal

PATOLOGÍA	AFP	uE3	HCG
Defectos del tubo neural	Elevada	Normal	Normal
Síndrome de Down	Baja	Bajo	Elevada
Trisomía 18	Baja	Bajo	Baja
Gestación múltiple	Elevada	Normal	Elevada
Muerte anteparto	Elevada	Bajo	Baja

Modificada de Nussbaum, McInnes and Willard, 2007.

El cribado en el suero materno es únicamente un método de **screening** y no una prueba diagnóstica. En aquellas gestantes en las que el cribado sea positivo es necesaria la realización de una prueba diagnóstica como puede ser la amniocentesis, biopsia corial, etc. Aquellas pruebas en las que el resultado sea “negativo” el riesgo de tener un hijo con alguna de estas patologías será menor pero no nulo, ya que se trata de la estimación un riesgo.

3. Ecografías

Es una técnica fundamental en el diagnóstico prenatal ya sea como un método diagnóstico en sí mismo o como procedimiento de apoyo de otras técnicas. Los principales objetivos de las ecografías son: a) Fijación de la edad gestacional, mediante una biometría precoz y la medición de la longitud craneocaudal del feto entre las semanas 8ª y 13ª, en los casos que sea posible; b) determinación de la vitalidad fetal, a través de la valoración de la frecuencia cardiaca, movimientos fetales corporales y respiratorios. Durante el segundo trimestre puede ser útil para conocer el sexo del feto con una alto grado de seguridad.

En la actualidad se trata de uno de los medios de diagnóstico prenatal con mayor fiabilidad debido al progreso técnico que ha sufrido, la experiencia acumulada en este campo y la escasa invasividad que presenta.

Los marcadores ecográficos más utilizados son la translucencia nuchal y la ausencia de hueso nasal. Actualmente está en estudio la validación como técnica de cribado el estudio del ducto en la semana 12 de gestación.

La translucencia nuchal se valora entre las semanas 10 y 13 y permite alcanzar tasas de detección del 91%. La mayor desventaja de esta medición es la posibilidad de obtener resultados contradictorios. La ausencia de hueso nasal se determina durante el primer trimestre, y es señal de un retraso de la osificación por una alteración de la matriz extracelular en el síndrome de Down, ya que es un signo que aparece en el 73% de los fetos con síndrome de Down y sólo en un 0,5% de los fetos normales.

A partir de las semanas 18-20, una vez completada la fase de desarrollo embrionario se puede realizar una ecografía de alta resolución que permite detectar malformaciones estructurales mayores.

Hasta el momento no existe ninguna evidencia de que la ecografía sea peligrosa para el feto o la gestante.

4. Análisis del ADN fetal procedente de células fetales circulantes en la sangre materna

La circulación sanguínea materna contiene en una muy baja proporción células fetales. Este hecho demostrado en 1969 fue la clave para el desarrollo de esta técnica, que se basa en la obtención de células fetales mediante un método no invasivo a partir de sangre materna para el diagnóstico de determinados trastornos monogénicos, la determinación del sexo y para el análisis cromosómico.

Es una técnica en desarrollo que presenta como mayor desventaja la escasa cantidad de células fetales existentes en la circulación materna. Además aún no se ha dado con el tipo celular ideal para el estudio, los linfocitos fetales parecen ser el mejor candidato aunque puede dar lugar a resultados confusos en embarazos posteriores.

Hasta el momento no se ha determinado el momento adecuado de la gestación para la realización de esta técnica o la determinación de la fracción de células fetales. El aumento del número de células fetales en la circulación materna en los casos de trisomía 21 podría ser utilizado como un factor de detección de esta anomalía.

La aplicación de las más novedosas técnicas de diagnóstico molecular, como la PCR digital o la secuenciación en masa, al análisis del ADN fetal parece indicar que la detección no invasiva de anomalías cromosómicas (trisomías) en el feto puede convertirse en un futuro no muy lejano en un estudio de rutina. Con su implantación generalizada algunos vaticinan el final de las técnicas invasivas actualmente utilizadas (amniocentesis o biopsia coriónica). Sin embargo, todavía está por demostrar su utilidad en la detección prenatal de enfermedades hereditarias mendelianas, como la fibrosis quística o las talasemias.

B. TÉCNICAS INVASIVAS

1. Amniocentesis

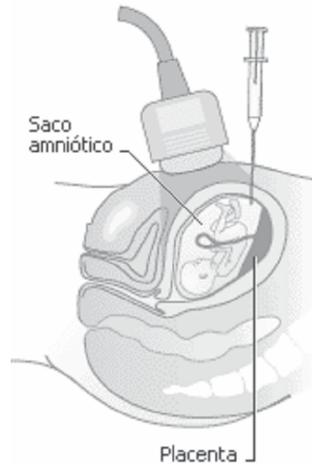
Se trata de una técnica invasiva mediante la cual se consigue la extracción de líquido amniótico con una punción a través del abdomen guiada por una ecografía. Es una prueba sencilla que se realiza de forma ambulatoria y no precisa anestesia local. El líquido obtenido contiene células que son descamadas del feto en desarrollo, por lo tanto contienen ADN de origen fetal que permite, tras ser cultivadas, la realización de distintas pruebas diagnósticas, entre las que se encuentran el análisis bioquímico y molecular y un cariotipo. Es una técnica que se realiza entre la semana 14-16 de gestación. La amniocentesis se ha establecido como una técnica de rutina en pacientes mayores de 35 años. Antes de la realización de la amniocentesis es necesaria una ecografía para confirmar la viabilidad fetal, la edad gestacional, el número de fetos, la normalidad estructural y la posición óptima de inserción de la aguja, ya que deberá evitar la placenta y el feto.

Mediante esta técnica se puede medir la concentración de la alfafetoproteína, que permitirá de detección de defectos del tubo neural. Durante mucho tiempo la larga espera para la obtención de los resultados de esta prueba ha constituido uno de los mayores inconvenientes de la amniocentesis. En la actualidad, mediante técnicas de biología molecular (PCR y FISH) pueden determinarse en 24 horas la normalidad numérica de los cromosomas para descartar las aneuploidías más frecuentes como son las de los cromosomas X, Y, 13, 18 y 21. Otra aplicación de esta técnica es la determinación de fosfolípidos de origen pulmonar para confirmar la madurez funcional del pulmón durante el tercer trimestre.

El riesgo de aborto como consecuencia de la realización de la amniocentesis incrementa del 0,5 al 1% sobre el riesgo basal estimado entre 2-3%. Aunque no suelen aparecer con frecuencia otras complicaciones relacionadas con esta técnica serían: la pérdida del líquido amniótico, infección y lesión fetal por punción de la aguja. Tras una prueba prenatal invasiva existe el riesgo de inmunización Rh de la madre, por ello se administra inmunoglobulina

Rh.a todas las gestantes Rh-negativas a las que se somete a dicha prueba.

Amniocentesis



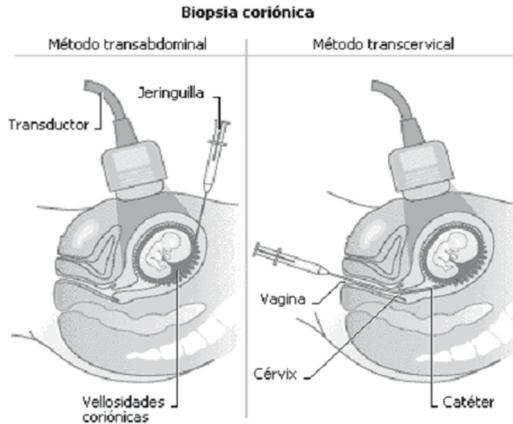
2. Biopsia corial

Se trata de una biopsia de las vellosidades coriales (tejido placentario) ya que contiene tejido trofoblástico fetal (parte extraembrionaria del blastocisto). Se puede practicar por vía transabdominal o transcervical, dependiendo de la localización de la placenta por ultrasonido. En el primer caso se realiza mediante una punción transabdominal y la posterior aspiración de vellosidades; en el segundo se requieren unas pinzas especiales obteniéndose la muestra a través del cuello uterino. En ambos casos es necesario un control ecográfico para el correcto desarrollo de la técnica. La práctica de esta técnica se realiza entre las semanas 10-12 de gestación.

Permite la realización de los mismos estudios que la amniocentesis a excepción de la medida de la concentración de la alfafetoproteína, que se realizará posteriormente.

La mayor ventaja de esta técnica es la posibilidad de realizarla en un estadio temprano de la gestación, permitiendo reducir el período de incertidumbre y aumentando la posibilidad de planificación de las intervenciones más adecuadas. Además permite la obtención de los resultados de forma más rápida. Su mayor desventaja es que presenta un riesgo de aborto mayor que en el caso de la amniocentesis, incrementando el riesgo basal (2-5%) en un 1-2,5%. Otro inconveniente que presenta esta técnica es la posibilidad

de contaminación de la muestra con células maternas o la aparición de resultados ambiguos debido a mosaicismos cromosómicos, por lo que será necesario confirmar los resultados obtenidos mediante otras técnicas.

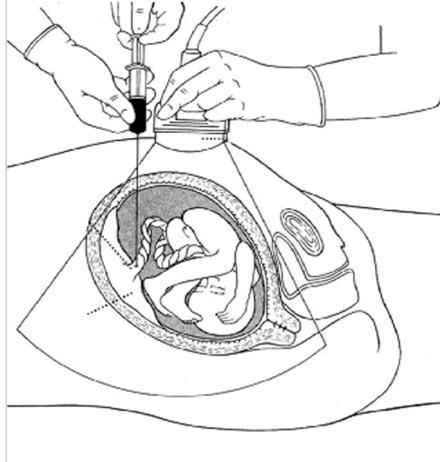


3. Funiculocentesis

Esta técnica se basa en la extracción de sangre fetal por punción del cordón umbilical, por ello también se conoce como cordoncentesis. Al igual que las dos técnicas anteriores precisa de un seguimiento ecográfico para desarrollo seguro de la prueba. Se reserva para los embarazos en un avanzado estado de gestación ya que se puede realizar entre las semanas 19 y 21.

La principal utilidad de esta técnica es la realización de un cariotipo fetal seguro y en un corto período de tiempo. Además, también permite el estudio de la anemia fetal y la transfusión fetal, diagnóstico de infecciones como toxoplasmosis y parvovirus B19.

La tasa de pérdidas fetales debidas a la funiculocentesis oscila el 4%, por lo que es una técnica restringida a aquellos casos en los que se han detectado anomalías fetales por ecografía, errores metabólicos congénitos, han fallado los cultivos celulares de líquido amniótico o se han obtenido resultados ambiguos en otras pruebas.



4. Embrioscopia y fetoscopia

Ambas técnicas permiten la visualización directa del feto mediante la introducción de un endoscopio en la cavidad amniótica, siempre bajo control ecográfico. Permiten una valoración más precisa de posibles malformaciones fetales. La fetoscopia se realiza durante la 20 semana de gestación y requiere de sedación y anestesia local. Es una técnica que requiere de personal altamente cualificado y un equipamiento específico y costoso. Por todo ello el riesgo de pérdida fetal es muy superior al producido por cualquier otra de las técnicas vistas hasta el momento.

A pesar de ser una técnica en desuso debido al desarrollo de los equipos de ultrasonografía, sigue siendo de utilidad en los casos que se requiera la toma de muestras fetales, como es el caso de una biopsia de piel o hepática y también en aquellos casos en los que sea necesaria una intervención quirúrgica fetal o tratamientos intraúteros médicos. En la tabla 3 se comparan las características de las tres técnicas invasivas más habituales de diagnóstico prenatal.

Tabla 3. Características más importantes de las distintas técnicas invasivas de diagnóstico prenatal.

Método	Amniocentesis	Biopsia corial	Funiculocentesis
Edad Gestacional	14-16	10-12	19-21
Riesgo de pérdida fetal	0,5-1%	1-2,5%	4%
Ventajas	Análisis de alfafetoproteína. Estudios citogenéticos de alta calidad. Técnica muy desarrollada, escaso equipamiento.	Se realiza en periodo más temprano. Menor tiempo de incertidumbre. Precocidad en el diagnóstico.	Resultados más rápidos. Útil ante el fallo de otras técnicas.
Desventajas	Escaso tiempo de repetición. Avanzado estado de gestación en la obtención de resultados. Posible lesión fetal. Resultados de 12 a 20 días.	Resultados ambiguos. Mayor riesgo de pérdida fetal. Posible contaminación materna de la muestra. No permite el análisis de alfafetoproteína.	Técnica más complicada. Mayor riesgo fetal. Embarazo en avanzado estado de gestación.

En la actualidad existen otras técnicas de diagnóstico prenatal emergentes como son el diagnóstico genético preimplantacional y la obtención de células fetales en la sangre materna.

C. DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL

Aunque no es el objeto de este capítulo, el diagnóstico genético preimplantacional es una técnica que se emplea cada vez en más parejas con antecedentes de enfermedad hereditaria y que utiliza de forma conjunta técnicas citogenéticas y/o moleculares para la selección de embriones no portadores de la anomalía cromosómica o la mutación de la enfermedad en

cuestión. Dichos embriones serán seleccionados para transferirlos al útero materno tras un proceso de fecundación in vitro. Los embriones portadores de la anomalía genética, que teóricamente estarán afectados, son desechados, lo que ha planteado importantes controversias desde el punto de vista ético.

Hasta la actualidad, dada la escasez de datos sobre esta técnica, no se ha demostrado efectos nocivos en los embriones. La mayor ventaja de este procedimiento es que elimina la necesidad de realizar las técnicas invasivas vistas con anterioridad.

5. RECOMENDACIONES

1. Durante el primer trimestre las pruebas ofrecidas a todas las gestantes deben ser:
 - Semanas 8-13: extracción de sangre materna (HCG).
 - Semanas 11-13: ecografía para establecer la edad gestacional y medir la translucidez nucal.
2. Cálculo del riesgo de cromosopatía de acuerdo con los marcadores anteriores:
 - Riesgo bajo: control normal del embarazo.
 - Riesgo alto: posibilidad de realización de prueba diagnóstica invasiva (biopsia corial o amniocentesis).
3. Para aquellas gestantes que lo deseen se les ofrecerá a partir de la semana 14 el cribado de segundo trimestre.
 - Extracción de sangre para determinación de HCG, AFP y uE3.
4. Cálculo del riesgo de cromosopatías según los valores de los marcadores anteriores:
 - Riesgo bajo: control normal del embarazo y ecografía a la semana 18-20.
 - Riesgo alto: prueba diagnóstica invasiva (amniocentesis).

6. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarenga RH. Estudios genéticos en el diagnóstico prenatal. **Rev Med Hond** 2002; 70:82-85.
- Bailón-Muñoz E. Situación actual del diagnóstico prenatal. *Atención Primaria* 2004; 34:454-456.
- Carrera JM. Control ecográfico sistemático para el diagnóstico de malformaciones fetales: 24 años de experiencia. **Prog Diag Prenat** 1994; 6:379-389.
- Daffos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. Fetal blood sampling via the umbilical cord using a needle guided by ultrasound. Report of 66 cases. **Prenat Diag** 1983; 4:271-277.
- Evans MI, Johnsons MP, Yaron Y, Drugan A. Eds. **Prenatal Diagnosis**. Philadelphia, McGraw-Hill Co. Inc. 2006.
- Hahn S and Jackson LG Eds. **Prenatal Diagnosis. Methods in Molecular Biology** nº 444. New York. Humana Press, 2008.
- Hahn S, Jackson LG, Kolla V, Mahyuddin AP, Choolani M. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal aneuploidies and Mendelian disorders: New innovative strategies. **Expert Rev Mol Diagn** 2009; 9:613-621.
- Kassis M, Galacteros F, Ferec C et al. **El consejo genético en medicina fetal**. Enciclopedia Médico-Quirúrgica (E) 2005, 4-002 T-10.
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF Eds. Prenatal Diagnosis. En: Thompson and Thompson´s **Genetics in Medicine**. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Co., 2007, pp. 443-459.
- Penchaszadeh V. Diagnóstico genético prenatal por análisis de ADN fetal en sangre materna. **Arch Argent Pediatr** 2009; 107:392-394.
- Pérez González J, Bueno M: Diagnóstico prenatal. En: **Tratado de Pediatría**. Cruz M Ed. Vol. I, 9ª ed. Madrid: ERGON S.A., 2006, pp. 208-211.
- Protocolo de diagnóstico prenatal de anomalías congénitas fetales de la Generalidad de Cataluña**. Dept. de Salud. Barcelona. <http://www.gencat.cat/salut/depsalut/html/es>
- Steele MW and Breg WR Jr. Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. **Lancet** 1966; 1:383.
- Turnpenny P and Ellard S Eds. Prenatal testing and reproductive genetics. En: **Emery's Elements of Medical Genetics**. 13th. ed. London: Elsevier Science, 2007, pp. 327-339.
- Van Vugt JMG and Shulman LP Eds. **Prenatal Medicine**. New York: Taylor & Francis Group, 2006.
- Wexler K & Wexler L. **The ABC's of Prenatal Diagnosis: A Guide to Pregnancy Testing and Issues**. 2nd (Revised) Ed. Denver: Genassist Pub. Inc., 2004.