

DIAGNOSTICO PRENATAL DE LAS ENFERMEDADES HEREDITARIAS

Dr. Patricio López J.*

Dra. Sonia Santillán G.**

La utilización de la amniocentesis y del líquido amniótico para el estudio genético y citogenético fetal es relativamente nuevo. Los primeros trabajos sobre cultivos celulares y estudios citogenéticos sobre líquido amniótico son descritos por Tuner y Cols. (40), Steele y Breg (37) y Thiede y Cols. (41). El diagnóstico prenatal de enfermedades metabólicas se inicia con Nadler y Cols (23) y en la actualidad existen técnicas de diagnóstico para aproximadamente 100 enfermedades. El advenimiento de la dosificación de alfafetoproteína y de acetilcolinesterasa permiten el diagnóstico de defectos de cierre de tubo neural (2). Sin embargo, todo este desarrollo a nivel genético no hubiera sido posible sin contar con otros medios físicos de diagnóstico como son el ultrasonido, electrocardiografía fetal y fetoscopia.

1. Metodología de estudio prenatal.

La valoración de una pareja de riesgo y con indicación de estudio prenatal se inicia con la elaboración de la historia clínica genética; en base a ella se da el respectivo consejo genético y se plantean las ventajas y limitaciones del diagnóstico prenatal. Esta entrevista debe realizarse antes de la amniocentesis para que la pareja pueda tomar una decisión libremente, considerando los riesgos

de la amniocentesis, la utilidad del estudio y la posición de los padres frente a un aborto eugenésico si es que el feto resulta afectado de cualquier alteración genética o citogenética detectable por este procedimiento.

1.1. Amniocentesis

La amniocentesis transabdominal se utiliza como método para la obtención de líquido amniótico durante el segundo trimestre de gestación. Se puede realizar entre las 14 y 20 semanas de gestación, sin embargo el momento más idóneo se encuentra entre las 16 y 17 semanas, momento en el cual el volumen de líquido amniótico es de alrededor de 200 ml que permite aspirar 10 a 20 ml sin complicaciones (35, 30, 10).

La introducción del ultrasonido como método auxiliar para realizar la amniocentesis (11) presenta las ventajas de determinar la existencia de un embarazo múltiple, localizar la placenta en la pared uterina, determinar la edad gestacional del feto, la cantidad de líquido amniótico, realizar antropometría fetal y diagnosticar diversas anomalías como hidrocefalia, defectos de cierre de tubo neural, riñones poliquísticos, retraso de crecimiento intrauterino, malformaciones cardíacas, síndromes de Marfan y Turner,

* Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Medicina de Quito y Departamento de Postgrado "Facultad de Medicina de Ribeirao Preto U. S. P., Brasil.

** Departamento de Genética. Fundación Jiménez Díaz Universidad Autónoma de Madrid. España.

etc. (17, 27)

La extracción se lleva a cabo de forma ambulatoria y el líquido amniótico así obtenido puede cultivarse hasta luego de 5 a 7 días posteriores a la amniocentesis siempre que sea conservado en condiciones estériles. Sin embargo, es recomendable cultivar la muestra inmediatamente (16, 28).

El tiempo medio de cultivo necesario para el análisis citogenético es de 13 a 20 días, siendo un poco mayor para determinaciones metabólicas. En la actualidad existen técnicas de hibridación molecular de DNA, aplicación de enzimas de restricción y de grupos de ligamiento en diversas enfermedades.

2. Indicaciones de estudio prenatal

- 2.1 Anomalías cromosómicas
- 2.2 Defectos de cierre de tubo neural
- 2.3 Trastornos bioquímicos hereditarios
- 2.4 Enfermedades ligadas al X

2.1. Anomalías cromosómicas

Alrededor de un 85 por ciento de las amniocentesis que se llevan a cabo durante el segundo trimestre en América del Norte se deben a la posible presencia de anomalías en el feto (39). Sabemos que entre el 1 y 2 por ciento de los neonatos presentan alguna alteración cromosómica (19) cifras que se elevan al 35 o 40 por ciento en productos abortados durante el primero o segundo trimestre (6). En consecuencia, se puede concluir que la mayoría de los fetos con una anomalía cromosómica se eliminan de forma espontánea durante las primeras fases del embarazo. Esta observación es coincidente con los trabajos de Creasy y Crolla (95) quienes reportan que el 65 por ciento de fetos con Síndrome de Down y el 95 por ciento de los fetos con síndrome de Turner se abortan de forma espontánea. Sin embargo de esta "selección natural" queda un remanente que debe ser sometido a diagnóstico prenatal cuya técnica está indicada en los siguientes casos:

- Edades prenatales elevadas
- Hijo previo con trisomía 21
- Progenitores portadores de translocaciones
- Progenitores portadores de inversiones

2.1.1. Edades parentales elevadas

Es bien conocido que el aumento de la edad materna aumenta el riesgo de un desorden cromosómico, particularmente trisomías autosómicas o aneuploidías de cromosomas sexuales. La trisomía autosómica más frecuente es la trisomía 21 cuya incidencia en la población general es de 1 por 650 recién nacidos vivos (33), sin embargo esta incidencia aumenta a medida que la edad materna se eleva, de tal manera que a los 40 años, la incidencia varía entre el 1 y 2 por ciento y sobre los 45 años va entre el 3 y 7 por ciento (4, 35). Con la introducción de la amniocentesis se ha encontrado que la incidencia de trisomía 21 a las 16 semanas de gestación es el doble que la reportada al nacimiento (29).

Otras trisomías autosómicas que aumentan su incidencia con la edad materna son la trisomía 18 y la trisomía 13 y a nivel de cromosomas sexuales tenemos los síndromes de Klinefelter (47, XXY), Triplo X (47, XXX). La incidencia de síndrome de Turner conocemos que no se aumenta con la edad materna porque su mecanismo de producción parece ser una anafase alargada.

Las incidencias en la población general y en mujeres de 40 años o más para las aneuploidías autosómicas o sexuales que se ven afectados por un mecanismo de no disyunción meiótica o mitótica se resumen en la tabla No. 1.

TABLA 1

INCIDENCIA EN LA POBLACION GENERAL Y A LOS 40 AÑOS EN ENFERMEDADES CROMOSOMICAS PROVOCADAS POR NO DISYUNCIÓN

	Inciden- cia Pop. General	Inciden- cia 40 años o más
Síndrome de Down	1:650	1-2 ^o / _o
Síndrome de Edwards	1:8000	1:450
Síndrome de Patau	1:19000	1:750
Síndrome de Klinefelter	1:500	1:250
Síndrome Triplo	1:1.500	1:450

En la actualidad se considera importante la edad paterna dentro de los mecanismos de no disyunción. Así, Erickson y Bjerkedal (43) examinaron 695000 nacidos en Noruega y se conoció que cuando la edad paterna pasa de los 50 años el riesgo de tener un hijo con síndrome de Down se incrementa en un 20 a 30 por ciento.

Cuando una mujer menor de 35 años tiene un niño con trisomía 21, el riesgo de recurrencia está entre el 1 y 2 por ciento (42, 21). En estos casos se debe realizar un estudio cromosómico en ambos progenitores para descartar una translocación que implique al cromosoma 21. Este hallazgo se ha determinado en el 3 por ciento de los casos de síndrome de Down. El 97 por ciento restante cursa con un cariotipo normal de los progenitores.

2.1.3. Padres portadores de una translocación en equilibrio.

Los portadores de una translocación en equilibrio son personas normales desde el punto de vista físico y mental. La presencia de una translocación en equilibrio se sospecha por la presencia de abortos, mortinatos o hijos previos polimalformados o con retraso mental que constituyen los portadores de la alteración citogenética en desequilibrio. El riesgo medio de tener un hijo portador de la translocación en desequilibrio es del 10 por ciento aproximadamente, mientras que el riesgo de que el hijo sea portador equilibrado es del 25 por ciento, variando según el sexo del progenitor portador del trastorno y con el tipo de translocación (14, 4)

2.1.4. Progenitores portadores de inversiones

Se trata de un trastorno cromosómico en equilibrio, que puede afectar a uno de los brazos cromosómicos (inversión paracéntrica) o incluir al centrómero dando un giro de 180° (inversión pericéntrica). En el primer caso de inversión pericéntrica el riesgo depende del sexo del progenitor: si es el padre hay un riesgo del 5 por ciento de tener descendencia aneuploide; si es la madre, el riesgo es del 10 por ciento (38)

2.2. Defectos del cierre del tubo neural

Durante el desarrollo embrionario el cierre del tubo neural se completa durante el primer

mes desde la concepción. Un defecto en este mecanismo de cierre determina fetos anencefálicos o con mielomeningocele con o sin hidrocefalo.

La incidencia de esta anomalía varía entre el 9,7 por mil en Irlanda (8) hasta 0,9 por mil en Japón (24). En ciudades sudamericanas incluidas dentro del Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC) la incidencia es de 1 por mil, tasa que nos coloca como zona de baja frecuencia dentro del contexto mundial (26)

En 1972 Brock y Sutcliffe (2) demostraron la presencia de cantidades excesivas de alfa-fetoproteína en líquido amniótico de un feto portador de defecto de cierre de tubo neural; ellos sugirieron que la proteína podía provenir por transducción directamente de este defecto en el tubo neural.

El líquido amniótico contiene pequeñas cantidades de AFP (alfafetoproteína) durante el segundo trimestre (10–40 ug/ml) que desaparecen durante el tercer trimestre (1)

Fetos anencefálicos tienen un nivel elevado de AFP al igual que los mielocelos abiertos que constituyen el 95 por ciento de todas las espinas bífidas quísticas. El 5 por ciento restante consisten de miel y meningocelos cerrados que presentan aumento de AFP.

Pueden cursar con aumento de AFP en líquido amniótico otras anomalías fetales tales como Nefrosis Congénita (34) Teratoma Sacrocóxico (36) Exónfalos y Extrofia de Cloaca (5)

La determinación de AFP en líquido amniótico constituye un método altamente específico para defectos de cierre de tubo neural y se estima que los resultados falsos positivos son menores del 0.1 por ciento (3)

Cuando una pareja ha tenido un hijo afecto de un fallo en el cierre del tubo neural tiene un riesgo de recurrencia del 5 por ciento, aumentando al 10 por ciento si tiene dos niños con antecedentes de defectos en el tubo neural. Un adulto afecto tiene un 5 por ciento de riesgo de procrear un hijo con defecto. Cerca del 90 por ciento de los casos ocurre en familias con antecedentes (35)

Estas observaciones, junto con el hecho de que la AFP en el suero materno está aumentada en presencia de fetos con defectos de tubo neural (3) permiten que se utilice la determinación de

AFP en suero materno de mujeres con riesgo como screening (3) Realizado entre las 16 y 17 semanas de amenorrea este test es capaz de identificar sobre el 90 por ciento de defectos de tubo neural en aquellas madres que tienen AFP 2.5 veces mayores que la media normal.

La determinación de acetilcolinesterasa descrita independientemente por Smith (36) y Chubb (7) mediante técnicas de espectrofotometría. Más adelante estas determinaciones se realizaron por electroforesis con gel de policriamida teniendo una fiabilidad de 99.6 por ciento para anencefalia y 99.4 por ciento para espina bífida (12)

2.3 Desórdenes bioquímicos hereditarios

Se conocen más de mil enfermedades que tienen un modelo monogénico de herencia (20) En general, la minoría de los procesos autosómicos dominantes como el Síndrome de Marfan, la acondroplasia pueden ser detectados mediante ultrasonido. Es aceptado que las mutaciones dominantes producen más frecuentemente alteraciones de proteínas estructurales.

Los desórdenes autosómicos recesivos dan lugar a alteraciones enzimáticas o metabólicas. De las 500 alteraciones autosómicas recesivas descritas el defecto bioquímico se conoce en 160 de ellas y tienen diagnóstico prenatal en aproximadamente 70 enfermedades. Este estudio puede llevarse a cabo en cultivos de fibroblastos o cultivos de líquido amniótico, en el sobrenadante o en células no cultivadas de líquido amniótico. Desgraciadamente ni la fenilcetonuria ni la fibrosis quística pueden ser diagnosticadas prenatalmente. Es importante señalar que en este grupo de enfermedades es necesario hacer el diagnóstico correcto desde el punto de vista enzimático ya que la clínica puede ser similar.

La amniocentesis para diagnóstico prenatal de estas alteraciones debe ser realizada a las 16 semanas de gestación para completar los estudios antes de las 20 semanas ante la posibilidad de una suspensión del embarazo. Los nuevos medios de cultivo y las microtécnicas han hecho posible obtener resultados en 3 o 4 semanas posteriores a la amniocentesis (25, 10)

Es necesario realizar conjuntamente el cultivo de fibroblastos de piel de ambos progenitores que sirven como control, así como standarizar

los medios de cultivo, pH, tiempo de cultivo, etc., ya que estos factores pueden alterar la actividad de la enzima que estamos investigando (18)

Por estas razones expuestas anteriormente, el diagnóstico prenatal de trastornos bioquímicos hereditarios es realizado actualmente sólo en pocos centros altamente especializados y que han adquirido experiencia en determinados desórdenes.

La mayoría de diagnósticos prenatales en enfermedades bioquímicas hereditarias se ha realizado en pacientes con Mucopolisacaridosis tipo I (síndrome de Hurler) tipo II (síndrome de Hunter— y tipo III (Sanfilippo); en trastornos del metabolismo de esfingolípidos, especialmente de gangliosidosis GM2 tipo 1 (enfermedad de Tay Sachs) y tipo II (enfermedad de Sandhoff); en enfermedad de Gaucher y Niemann—Pick, cistinosis, galactosemia, leucodistrofia metacromática, enfermedad de Pompe, enfermedad de orina de jarabe de Arce, aciduria argininsuccínica y metilmalónica, etc. (16, 4)

Dado que para la valoración de los errores congénitos del metabolismo es necesario llevar a cabo determinaciones metabólicas o enzimáticas cuantitativas, es importante que antes de intentar el diagnóstico prenatal de estos procesos exista un mínimo de datos básicos. En primer lugar, es esencial que la reacción enzimática o metabólica afectada se exprese en las células de líquido amniótico; así por ejemplo la enzima fenilalanina—hidroxilasa, cuyo déficit da lugar a la fenilcetonuria no se expresa en las células de líquido amniótico en cultivo por lo que en la actualidad no puede diagnosticarse prenatalmente.

Por otro lado, es importante que los individuos heterocigotos sean valorados, utilizando cultivo de células somáticas (fibroblastos de piel) antes de intentar un diagnóstico fetal, ya que puede confundirse a un feto portador con un feto homocigoto afecto.

2.4 Enfermedades ligadas al cromosoma

En la actualidad se conocen numerosas enfermedades de origen genético que se transmiten de forma ligada al cromosoma X. Esto indica que el gen que da lugar al fenotipo anormal se halla situado en el cromosoma X. En consecuencia, estos procesos afectan de forma casi exclusiva a los varones por ser hemocigóticos y se transmiten

por mujeres heterocigóticas fenotípicamente normales. En general, los procesos ligados al cromosoma X son de tipo recesivo, lo que hace que la mujer portadora no presente anomalías. Sin embargo, existen también procesos dominantes ligados al cromosoma X, como el raquitismo resistente a la vitamina D, que en la heterocigota da lugar a una anomalía fenotípica menos grave que en el varón homocigoto afectado.

Pueden diagnosticarse prenatalmente pocas enfermedades ligadas al X: síndrome de Lesch-Nyhan, síndrome de Hunter, enfermedad de Fabry y déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

En la actualidad puede diagnosticarse por estudios en plasma fetal obtenido por fetoscopia o por aspiración placentaria diversos trastornos como la distrofia muscular de Duchenne y las hemofilias A y B. Sin embargo quedan todavía muchas enfermedades ligadas al X en las cuales no es factible su identificación bioquímica o prenatal metabólica que permita diferenciar a los varones afectados de los varones sanos. En estos casos, la única posibilidad es la identificación del sexo fetal, y en el caso de que se trate de un varón, conocer que el riesgo con el cual puede estar afecto es del 50 por ciento; frente a este riesgo la familia debe tomar una decisión con respecto a interrupción o no de embarazo.

Para la identificación del sexo fetal, anteriormente se realizaba la determinación de la cromatina de Barr en células cultivadas de líquido amniótico teniendo una fiabilidad del 95 por ciento (15)

La técnica de fluorescencia con mostaza de quinacrina para la porción distal del cromosoma Y humano (22) permite la identificación del cromosoma Y en células de líquido amniótico cultivadas o no.

Por supuesto, el estudio del cariotipo en células cultivadas de líquido amniótico constituye el mejor medio para la determinación del sexo fetal.

3. Cultivo de líquido amniótico

Para el cultivo de células de líquido amniótico "in vitro" se utilizan diferentes medios de cultivo enriquecido con suero fetal a concentraciones superiores al 15-20 por ciento. Las células de tipo fibroblasto crecen con mayor rapidez que las células de tipo epitelial. En casos raros, el cultivo puede contaminarse con células de origen materno

que se caracterizan por un crecimiento rápido inicial (44) Esta contaminación puede dar origen a diagnósticos errados de sexo fetal femenino siendo el feto en realidad un varón (21)

4. Riesgos de la amniocentesis

Pueden haber complicaciones que afecten tanto al feto como a la madre de forma inmediata; así por ejemplo puede haber hemorragia, amnionitis o aborto como efecto secundario de la punción. Se han descrito riesgos teóricos como pueden ser punción fetal (no se conoce ningún caso hasta el momento) muerte materna, etc.

Todos los riesgos descritos arriba pueden evitarse si se trabaja tanto bajo control ecográfico cuanto que el equipo que esté a cargo de ello sea experimentado.

CONCLUSIONES

Según los estudios realizados por el NICHD Study Group (39) se cree que es un método que no produce un aumento significativo en el riesgo de pérdidas fetales en relación al riesgo de aborto en enfermas que no han sido sometidas a este tipo de pruebas. Autores como Siggers (35) dan un riesgo adicional del 1 por ciento de pérdidas fetales sobre el 2 por ciento que es el riesgo para esta edad gestacional.

Estas técnicas creemos que deben aconsejarse a todas las parejas que tienen un riesgo mayor que la población general para tener un hijo polimalformado, mujeres mayores de 35 años o padres mayores de 50 años.

La gran expansión del diagnóstico prenatal se debe fundamentalmente a sus excelentes resultados de diagnóstico frente al bajo riesgo de complicaciones obstétricas o fetales que se reducen al mínimo cuando se realizan en centros especializados y con personal calificado.

BIBLIOGRAFIA

1. ALLAN, L.D., FERGUSON-SMITH, M.A., DONALD, I., SWEET, E.M. and GIBSON, A.A.M.: Amniotic fluid alpha-feto-protein in the antenatal diagnosis of spina bifida. **Lancet**, **2**, 522, 1973.
2. BROCK, D.J.H. and SUTCLIFFE, R.G.: Alphafetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. **Lancet**, **2**, 197, 1972.
3. BROCK, D.J.H.: Communication of International Symposium "Towards the prevention of fetal malformations" Edinburgh, 1977.
4. BROCK, D.H.J.: Early diagnosis of fetal defects. Curchill Livingstone, 1982. Edinburgh.
5. CAMPBELL, S. and RODECK, C.: The role of ultrasound and fetoscopy in the diagnosis on the neural tube defects and other abnormalities. In: **Jordan J.A., Symonds, E.M. (eds)**. Diagnosis and management of neural tube defects. Royal College of Obstetricians and Gynecologists. London.
6. CARR, D.H.: Chromosome abnormalities and spontaneous abortions. In: **Jacobs, P.A., Price, W.H. and Law, P.** (eds). Human Population Cytogenetics. Edinburgh University Press, 1970.
7. CHUFF, I.W., PILOWSKY, P.M., SPRINWELL, H.J.: Acetylcholinesterase in human amniotic fluid: an index of fetal neural development. **Lancet**: **1**, 688, 1979.
8. COFFEY, V.P. and JESSOP, W. J.: Study of 137 cases of anencephaly. **Brit. J. Prev. Soc. Med.**, **2**, 74, 1957.
9. CREASY, M.R. and CROLLA, J.A.: Prenatal mortality of trisomy 21. **Lancet**, **1**, 473, 1974.
10. GALJAARD, H.: Genetic metabolic diseases. Elsevier North Holland Biomedical Press. 1980.
11. GOTTESFELD, K. R., THOMPSON, H. E., HOLMES, J. H. and TAYLOR, E.S.: Ultrasonic placentography: a new method for placental localization. **Amer. J. Obstet. Gynecol.**, **96**, 538, 1966.
12. HADDOW, J. E., MORIN, I.E., HALMAN, M. S.: Acetylcholinesterase and fetal malformations: modified qualitative technique for diagnosis of neural tube defects. **Clinical Chemistry**, **27**, 61, 1981.
13. HAGARD, S. and CARTER, F.A.: Preventing the birth of infants with Down's Syndrome: a cost benefit analysis. **Brit. Med. J.** **1**, 753, 1976.
14. HAMERTON, J. L.: Prenatal Diagnosis of genetic diseases chromosome abnormalities. A review of two collaborative studies. Communication to International Congress of Medical Genetics. Mexico City, 1976.
15. HSU, L. Y., DUBIN, E.C., KERENYI, T. and HIRSCHHORN, K.: Results and pitfalls in prenatal cytogenetic diagnosis. **J. Med. Genet.** **10**, 112, 1973.
16. KABACK, M. M., LEISTI, J. T. and LEVINE, M.D.: Diagnóstico genético prenatal. En: Enfermedades Genéticas y Endócrinas de la Infancia y de la adolescencia. Gardner, L. I. Barcelona, Salvat editores, 1982, Cap. 23, 1351.
17. KOENIGSBERG, M. and FOCTOR, S.: Marfan Syndrome: prenatal ultrasound diagnosis with pathological confirmation of Skeletal and Aortic Lesion. **Prenatal diagnosis**, **1**, 241, 1981.
18. LIE, S. O., SCHOFIELD, B. H., TAYLOR, H. A. Jr and DOTY, S. B.: Structure and function of the lysosomes of human fibroblasts in culture: dependence on medium pH. **Pediatr. Res.**, **7**: 13, 1973.

19. LUBS, H.A. and RUDDLE, F. H.: Chromosomal problems in intrauterine diagnosis. **Birth Defects: Original Article series**, **5**, 10, 1971.
20. McKUSICK, V.A.: Mendelian inheritance in man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive and X-Linked phenotypes. 5th. edition. The Johns Hopkins Hospital University Press, Baltimore, 1978.
21. MILUNSKY, A.: The Prenatal Diagnosis of Hereditary Disorders. Springfield, 111. Charles, C. Thomas, 1973.
22. MUKHERJEE, A. B., BLATTNER, P. Y. and NITOWSKY, N. H.: Quinacrine mustard fluorescence of sex chromatin in human amniotic fluid cell cultures. **Nature**, **325**, 266, 1972.
23. NADLER, H. L.: Antenatal detection of hereditary disorders. **Pediatrics**, **42**, 912, 1968.
24. NEEL, J. V.: A study of major congenital defects in japanese infants. **Amer. J. Hum. Genet.**, **10**, 398, 1958.
25. NIERMEIJER, M. F., SACHS, E. S., JAHODONA, M., TICHELAARKLEPPER, C., KLEIJER, W. J. and GALJAARD, H.: Prenatal diagnosis of genetic disorders. **J. Med. Genet.**, **13**, 182, 1976.
26. ORIOLI, I. e CASTILLA, E.: Frecuencia de Anencefalia, Espinha Bífida e Cefalacele em Cidades Sul-Americanas. **34a. Reuniao Anual da Sociedade Brasileira para o Progreso Da Ciencia**. Resumos, 721, Campinas, 1982.
27. PABOR, A., BANG, J.: 45, X Karyotype may the diagnosis by suscept on Ultrasonic Examination in second trimester of pregnancy. **Prenatal Diagnosis**, **1281**, 1.281.
28. PERSAUD, T. V. N.: Genetic Disorders, Syndromology, and Prenatal Diagnosis, MTP Press limited. 1982. England.
29. POLANI, P. E. ALBERMAN, E., BERRY, A. C., BLUNT, S. and SINGER, J. D.: Chromosome abnormalities and maternal age. **Lancet**, **2**, 516, 1976.
30. RAMOS, C., DIAZ RECASENS, J., AYUSO, C., PALOMINO, P.: Diagnóstico prenatal. **Bol. Fund. J. D.** **10**, 1, 1983.
31. RENWICK, J. H. and BOLLING, D. R.: An analysis procedure illustrated on a triple linkage of use for prenatal diagnosis of myotonic dystrophy. **J. Med. Genet.**, **8**, 399, 1971.
32. SCHMID, W. and MUHLETHALER, J. P.: High amniotic fluid alpha-F-protein in a case of fetal sacrococcygeal teratoma. **Hum. Genet.** **26**, 353, 1975.
33. SANCHEZ-CASCOS, A.: Manual de Genética Médica. 1981. Editorial Intermédica. Barcelona.
34. SEPPALA, M., AULA, P., RAPOLA, J., KARJALAINEN, O., HUTTUNEN, N. P. and RUOSLAHTI, E.: Congenital nephrotic syndrome: prenatal diagnosis in genetic counselling by estimation of amniotic fluid and maternal serum alpha-fetoprotein. **Lancet**, **2**, 123, 1976.
35. SIGGERS, D. C.: Prenatal diagnosis of genetic Disease. London, Blackwell Scientific Publications, 1978.
36. SMITH, A. D., WALD, N. J., CUCKLE, H. S.: Amniotic fluid, Acetylcholinesterase as a possible diagnostic test for neural tube defects in early pregnancy. **Lancet** **1**, 685, 1979.
37. STEELE, M. W. and BREG, W. R.: Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. **Lancet**, **1**, 383, 1966.
38. STUHERLAND, G. R., GARDINER, A. J., CARTER, R. F.: Familial pericentric inver-

- sion of chromosome 19 with a note on genetic counselling of pericentric inversion carriers. **Clin. Genet.** **10**, 54, 1976.
39. THE NICHD NATIONAL REGISTRY FOR AMNIOCENTESIS STUDY GROUP: Midtrimester amniocentesis for prenatal diagnosis. Safety and occurocy. **J. Amer. Ass.** **236**, 1471, 1976.
 40. TURNER, S. H., HUTCHINSON, D. L. and CHARLES, D.: Chromosomal studies of the intrauterine human fetus. (Abst.) **Proc. 3rd. Int. Congr. Hum. Genet.** Chicago, 1966.
 41. THIEDE, H. A., CREASMAN, W. T., METCALFE, S.: Antenatal analysis of the human chromosomes. **Amer. J. Obstet. Gynecol.** **94**, 589, 1966.
 42. UCHIDA, I. A.: Epidemiology of mongolism: The Manitoba Study. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** **171**, 361, 1970.
 43. ERICKSON, J. D. and HERKEDALT, B.: Down's Syndrome Associated with Fathers Age in Norway. **Journal of Medical Genetic.** **18**, 22, 1981.
 44. MacIntyre, N. M.: Chromosomal problems in Intrauterine Diagnosis. **Birth Defects: Original Article Series**, **5**, 19, 1971.