

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Obstetricia y Ginecología



TESIS DOCTORAL

**Análisis de los marcadores bioquímicos utilizados en
el cribado de aneuploidías, en gestaciones
sucesivas**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Tamara Illescas Molina

Directores:

**Joaquín Montalvo Montes
Pluvio J. Coronado Martín**

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-694-7133-3

© Tamara Illescas Molina, 2011



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID

Facultad de Medicina

Departamento de Obstetricia y Ginecología

TESIS DOCTORAL

ANÁLISIS DE LOS MARCADORES BIOQUÍMICOS,
UTILIZADOS EN EL CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS,
EN GESTACIONES SUCESIVAS

TAMARA ILLESCAS MOLINA

MADRID, 2011

Directores: Dr. D. Joaquín Montalvo Montes.

Dr. D. Pluvio J. Coronado Martín.

A Pedro y Carmen

AGRADECIMIENTOS

A Joaquín Montalvo, por todo lo que he aprendido de él en estos años.

A Pluvio Coronado, por sus consejos y su apoyo.

A Dolores Ortega y Cristina Fernández, por su ayuda en la realización de este trabajo.

A Pilar Martínez Ten y Begoña Adiego, por guiarme en mi camino profesional.

A Mar Muñoz, por enseñarme los principios esenciales del ultrasonido.

A mis padres, por todo su amor.

A todos mis amigos, porque siguen contando conmigo, aunque casi siempre esté ocupada con el trabajo.

ÍNDICE

	pág.
- INTRODUCCIÓN.	7
- EVIDENCIA DISPONIBLE: EL CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS.	10
○ 1. LA EDAD MATERNA.	12
○ 2. EDAD MATERNA Y BIOQUÍMICA EN SEGUNDO TRIMESTRE.	15
○ 3. EL CRIBADO COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE.	16
▪ 3.1. La translucencia nucal.	17
▪ 3.2. Los marcadores bioquímicos (PAPP-A y fβHCG).	25
• 3.2.1. PAPP-A.	26
• 3.2.2. fβHCG.	28
○ 4. OTROS MARCADORES BIOQUÍMICOS.	29
▪ 4.1. ADAM12 y otras proteínas.	29
▪ 4.2. Proteómica.	31
○ 5. CÁLCULO DEL RIESGO INDIVIDUAL DE CROMOSOMOPATÍA.	32
○ 6. EFICACIA DE LOS DISTINTOS MÉTODOS DE CRIBADO.	36
○ 7. FACTORES QUE MODIFICAN LA BIOQUÍMICA.	38
○ 8. LAS GESTACIONES SUCESIVAS.	48
- OBJETIVOS.	59
- HIPÓTESIS DE TRABAJO.	61
- MATERIAL Y MÉTODOS.	63
○ 1. POBLACIÓN, VARIABLES Y DISEÑO DEL ESTUDIO.	64
○ 2. ULTRASONOGRAFÍA Y MEDIDA DE LA TN.	68
○ 3. MEDIDA DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS.	69
○ 4. CÁLCULO DEL RIESGO COMBINADO.	73
○ 5. CODIFICACIÓN.	76
○ 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y BIBLIOGRAFÍA.	78
- RESULTADOS.	79
○ 1. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.	80
▪ 1.1. Distribución de las variables en función de la edad gestacional.	88
▪ 1.2. Distribución de las variables en función del sexo del neonato.	90

○ 2. POBLACIÓN ANEUPLOIDE.	92
○ 3. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD.	95
○ 4. CURVAS ROC.	98
○ 5. GESTACIONES SUCESIVAS.	99
▪ 5.1. Sensibilidad y especificidad.	100
▪ 5.2. Comparación de riesgos entre las sucesivas gestaciones.	104
▪ 5.3. Comportamiento de las variables según gravidez y sexo fetal.	107
▪ 5.4. PAPP-A.	112
▪ 5.5. f β HCG.	114
▪ 5.6. Translucencia nugal.	116
▪ 5.7. Diferencias individuales.	117
▪ 5.8. Correlaciones entre variables distintas.	119
- DISCUSIÓN.	122
- CONCLUSIONES.	142
- BIBLIOGRAFÍA.	145
- ÍNDICE DE ABREVIATURAS.	154

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos constantes en las últimas décadas, en la asistencia a la mujer gestante, es la identificación, por medios seguros, eficientes y lo más precoces posible, de los fetos portadores de alteraciones cromosómicas. Las pacientes desean tener la posibilidad de detección de una cromosomopatía, a ser posible, de forma precoz (mejor en el primer trimestre que en el segundo), para minimizar las consecuencias físicas y psicológicas en el caso de un resultado anómalo que lleve a la decisión de interrumpir la gestación.

Las pruebas diagnósticas (amniocentesis, biopsia corial) suponen un alto gasto y representan una técnica invasiva no exenta de riesgo de pérdida fetal. Por ello, a lo largo de los años se ha ido desarrollando una serie de estrategias de cribado, con la pretensión de alcanzar a toda la población de gestantes, que puedan detectar los fetos aneuploides entre el porcentaje de la población con mayor riesgo de tenerlas (generalmente el 5% con mayor riesgo). Las pacientes valoran considerablemente la tranquilidad que les ofrece un método de cribado efectivo, que les evita la necesidad de una prueba de diagnóstico invasivo, en caso de un resultado de bajo riesgo.

El síndrome de Down (descrito por Langdon Down en 1866)¹ es una de las cromosomopatías más frecuentes, y el clínico se enfrenta de continuo al reto de detectar los fetos portadores en las mujeres gestantes que, cada día más, buscan en las pruebas realizadas durante el seguimiento de su embarazo, la seguridad y rapidez en cuanto al cribado y eventual diagnóstico de aberraciones cromosómicas fetales.

El intento por diferenciar las gestaciones euploides de las aneuploides ha llevado en las últimas décadas a una mejora de los marcadores utilizados para el cribado, así como un aumento de las tasas de detección, con una tasa de falsos positivos estable.

Desde los años setenta, en que la indicación de estudio de cariotipo fetal se hacía en función de la edad materna, con una baja tasa de detección de aneuploidías, se ha introducido marcadores ecográficos y bioquímicos que aumentan significativamente la sensibilidad del cribado.

Para mejorar la fiabilidad del método de cribado es fundamental una correcta medición de las variables, así como una serie de ajustes que precisa la determinación de los marcadores bioquímicos, en función de las características maternas y gestacionales. La generalización de la práctica del cribado combinado en el primer trimestre ha permitido disponer de una casuística amplia que incluye pacientes que han tenido más de una gestación cribada en este trimestre.

El cribado de cromosopatías en el primer trimestre actualmente forma parte de la práctica obstétrica habitual en nuestro país desde hace varios años y está basado en la edad materna, la translucencia nucal (TN) y los marcadores bioquímicos. Cuando se ha podido disponer de los datos de este estudio en pacientes con varias gestaciones sucesivas, se ha empezado a considerar la posible dependencia de los valores de las variables de una gestación a otra.

Algunos autores han descrito la correlación entre las variables bioquímicas en gestaciones sucesivas; este hecho podría depender de factores maternos y genéticos, aún no totalmente comprendidos, que pudieran conducir a una mala estimación del riesgo.

Igualmente, algunos autores han valorado la influencia del sexo fetal en el comportamiento de las variables estudiadas en el cribado de aneuploidías.

El objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento de las variables del cribado combinado en el primer trimestre en gestaciones sucesivas en la misma paciente. También se intentará determinar si el sexo fetal influye en los niveles de los distintos parámetros ecográficos y bioquímicos.

EVIDENCIA DISPONIBLE: EL CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS

El diagnóstico prenatal de cromosopatías requiere de técnicas invasivas de alto coste que implican cierto riesgo de pérdida fetal (aproximadamente 1% para amniocentesis realizadas entre las semanas 15 y 16, lo mismo para biopsia corial realizada tras la semana 11) y que deben ser realizadas por personal muy especializado. La amniocentesis precoz (semanas 10-14) conlleva un riesgo mayor de pérdidas fetales (2-3%) y la biopsia corial antes de la semana 11 puede acarrear mayor incidencia de anomalías en las extremidades, por lo que se desaconseja su práctica en estas edades gestacionales².

Es evidente pues, la necesidad de una técnica de cribado, que se ofrezca a toda la población asintomática (en este caso, sin manifestaciones de la posible aneuploidía fetal) para detectar un porcentaje de individuos con mayor riesgo de cromosopatías y ofrecerles las técnicas de diagnóstico a esas pacientes. Este porcentaje, generalmente establecido en el 5% de la población, puede hacerse equiparable al número de técnicas invasivas realizadas (puesto que la mayoría de las mujeres con un resultado de alto riesgo se someterán a la prueba diagnóstica) y a la tasa de falsos positivos (puesto que la mayoría de los fetos de este grupo son euploides)^{2,3}. Siempre es posible establecer, mediante criterios epidemiológicos (edad avanzada, antecedentes o alteraciones parentales), grupos de riesgo más elevado a los que ofrecer directamente una prueba diagnóstica.

Desde que se planteó la necesidad de un cribado poblacional para la detección de individuos con alto riesgo de cromosopatía, se ha diseñado diferentes estrategias, cada una de las cuales gana en complejidad para mejorar en sensibilidad, con una tasa de falsos positivos aceptable. A continuación pasamos a describir las más importantes de ellas.

1. LA EDAD MATERNA

La asociación entre cromosopatías y edad materna avanzada es conocida desde el siglo XIX⁴. La edad materna avanzada fue el primer criterio para cribar el riesgo de síndrome de Down en la población y fue introducido a principios de los años '70 (cuando se desarrollaron las técnicas de determinación de cariotipo fetal)^{2,5}. A finales de los '80 se dispuso de tablas para estimar el riesgo en función de la edad.

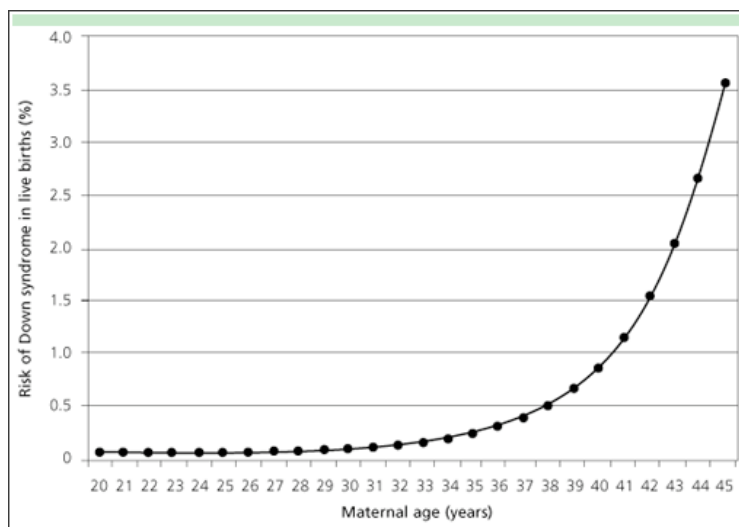


Figura 1. Riesgo estimado de síndrome de Down en función de la edad materna⁶.

En esta primera estrategia de cribado, el punto de corte para ofrecer amniocentesis en función de la edad se ha ido modificando según las características de la población gestante en cada momento y lugar, y según la seguridad y coste de la prueba. En líneas generales, primero se ofreció diagnóstico invasivo a partir de 40 años de edad materna, para después disminuir a 35 (el riesgo por edad de este último grupo de mujeres para trisomía 21 y en la semana 20 es de 1/270, con discretas variaciones según publicaciones, y coincide con el punto de corte para ofrecer amniocentesis utilizado por gran parte de los centros, incluido el nuestro)⁷.

Más tarde, la tendencia para ofrecer una amniocentesis sólo por el riesgo atribuible a la edad materna ha consistido en situar el punto de corte en 38 años, lo cual supone una tasa de falsos positivos aceptable, teniendo en cuenta que la edad media de las gestantes va aumentando progresivamente; sin embargo, esta estrategia detecta tan sólo un 30% de los fetos con síndrome de Down^{2,5}.

Maternal age (years)	Trisomy 21			Trisomy 18			Trisomy 13		
	12 weeks	20 weeks	40 weeks	12 weeks	20 weeks	40 weeks	12 weeks	20 weeks	40 weeks
20	898	1175	1527	2484	4897	18 013	7826	14 656	42 423
25	795	1040	1352	2200	4336	15 951	6930	12 978	37 567
30	526	688	895	1456	2869	10 554	4585	8 587	24 856
35	210	274	356	580	1142	4 202	1826	3 419	9 896
40	57	74	97	157	310	1 139	495	927	2 683

Tabla 1. Riesgo estimado para trisomías 21, 18 y 13 (1/número de la tabla) en relación con edad materna y gestacional⁵.

El riesgo para la edad se define como el riesgo *a priori* que presenta una gestante de tener un feto afecto de una cromosopatía, para la edad que tendrá en la fecha probable de parto, o en el momento del cribado. A través del metaanálisis de Cuckle⁶ de 1987, pudo establecerse el riesgo específico de trisomía 21 para la edad materna, en cada año, entre los 18 y los 50 años. La ecuación obtenida a partir de los datos de este metaanálisis se ha utilizado ampliamente en los programas informáticos destinados al cálculo del riesgo de síndrome de Down y otras aneuploidías, a pesar de que Hook⁸ afirma que infraestima el riesgo para la edad materna en el momento del parto, aproximadamente en un 10% (principalmente en las mayores de 35 años), por no considerar la mortalidad intraútero. El riesgo de cromosopatías disminuye con la edad gestacional por la alta letalidad intraútero que éstas tienen. Hook formuló nuevas ecuaciones más realistas y propuso sus propios coeficientes adaptados a la ecuación de Cuckle, con las que consiguió predecir, con gran exactitud, el número de síndromes de Down que debieran haber nacido, en ausencia de interrupción médica del embarazo.

Las trisomías pueden detectarse en todos los pares de cromosomas, pero la mayor parte de ellas son letales en fases muy iniciales de la gestación, siendo las más viables las de los cromosomas 21, 18, 13 y las de los cromosomas sexuales. De todo ello se deduce que la edad materna y la letalidad intrauterina son los factores determinantes de la prevalencia de las aneuploidías en el transcurso de la gestación y en el momento del parto. La letalidad intrauterina espontánea de los fetos afectados de una aneuploidía es específica de cada variedad de anomalía cromosómica e implica que el riesgo que presenta la madre de ser portadora de un feto afecto se modifique según el momento de la gestación en que se considere este riesgo⁹ (ver tabla 2).

Cromosomopatía	Porcentaje estimado de pérdidas fetales	
	Entre 12-40 semanas	Entre 16-40 semanas
Trisomía 21	41	32
Trisomía 18	86	74
Trisomía 13	82	71
Síndrome de Turner	75	52
47,XXX	5	3
47,XYY	5	3
Triploidía	>99	>99

Tabla 2. Estimación de las pérdidas fetales a lo largo de la gestación, en diferentes cromosomopatías, según Snijders⁵.

Para mejorar la técnica de cribado había que añadir otros parámetros al riesgo inicial según la edad materna, para diferenciar el riesgo en grupos de la misma edad. En los últimos años ha sido constante la búsqueda de nuevos marcadores de cromosomopatía. Pese a que el cribado a través de la edad materna en la actualidad está obsoleto, es grande la utilidad de este riesgo *a priori* para las estimaciones mediante otras estrategias de cribado más elaboradas, que incluyen marcadores ecográficos y bioquímicos.

2. EDAD MATERNA Y BIOQUÍMICA EN SEGUNDO TRIMESTRE

A finales de los años '80 se amplió el cribado basado en la edad materna, añadiendo, en la semana 16 de gestación, la valoración de una serie de marcadores bioquímicos que, en diferentes combinaciones, podían alcanzar una tasa de detección de cromosopatías del 50-70%, con un 5% de falsos positivos⁵.

Estos marcadores eran los siguientes productos feto-placentarios, cuya concentración sérica se medía en sangre materna, y que mostraban diferencias significativas entre gestaciones euploides y aneuploides²:

- alfafetoproteína (AFP).
- estriol no conjugado (E₃).
- gonadotropina coriónica humana (total y fracción β libre).
- inhibina A.

Edad de gestación (semanas completadas)	n	percentil 5 (IU/L)	Media (IU/L)	percentil 95 (IU/L)
14	528	7,4	19,7	59,4
15	1 906	5,6	15,0	46,4
16	1 088	4,2	12,2	34,5
17	507	3,4	9,1	25,6
18	246	2,9	8,4	27,0

Edad de gestación (semanas completadas)	n	Media (IU/L)
Semana 14	10	71,4
Semana 15	51	37,4
Semana 16	45	31,3
Semana 17	19	25,4
Semana 18	15	14,0

Tabla 3. Valores de fβhCG en suero materno utilizando BRAHMS KRYPTOR fβhCG, en segundo trimestre de la gestación, en gestaciones euploides (arriba) y con síndrome de Down (abajo)¹⁰.

La sensibilidad de esta estrategia de cribado para la detección de trisomía 21 está entre el 60-70%. Además, puede detectar el 72% de los defectos del tubo neural (DTN) mediante la AFP en suero materno, que se eleva en los casos con esta malformación (se toma como punto de corte el valor de 2,5 múltiplos de la mediana -MoM- de los valores de la AFP en la población de que se trate). Antes de la semana 15 la AFP no es útil para la detección de defectos abiertos del conducto neural. Por último, también muestra una tasa de detección del 50-60% para las trisomías 18 que no presentan defectos abiertos neurales o abdominales, si se utilizan los algoritmos específicos³.

3. EL CRIBADO COMBINADO DEL PRIMER TRIMESTRE

El cribado de cromosomopatías, fundamentalmente la trisomía 21, en el primer trimestre de gestación (entre las semanas 11 y 13+6), se introdujo en la década de los '90 y está basado en un cálculo del riesgo a través de la combinación de¹¹:

- la edad materna,
- la translucencia nucal fetal (TN),
- y los marcadores bioquímicos maternos:
 - o fracción libre de la cadena β de la gonadotropina coriónica (f β HCG).
 - o proteína plasmática asociada al embarazo (PAPP-A).

Mediante esta combinación de marcadores se obtiene una sensibilidad del 85-90% con una tasa de falsos positivos del 5%. Además, el desarrollo de nuevos métodos de análisis bioquímico que permiten la obtención de resultados automatizados, precisos y reproducibles en pocos minutos tras la toma de la muestra sanguínea (mediante la técnica de *random access immunoassay analyzer using time-resolved-amplified-cryptate-emission*), ha permitido el cálculo del riesgo en una única visita (One-Stop Clinics for Assessment of Risk, OSCAR)².

Los marcadores descritos a continuación (TN, PAPP-A, f β HCG) se mostraron como independientes de la edad materna^{12,13}, tanto en gestaciones euploides como aneuploides; requisito necesario para poder combinarlos en un algoritmo multivariante de riesgo. Tampoco se halló asociación entre marcadores bioquímicos y ultrasonográficos⁵. Así es como se puede plantear el cribado combinado basado en edad materna, TN y marcadores bioquímicos.

3.1. La translucencia nucal.

La translucencia nucal (TN) es la apariencia ecográfica del acúmulo subcutáneo de líquido detrás del cuello fetal en el primer trimestre de la gestación. Este término se utiliza independientemente de la presencia de septos o de si está limitado al cuello o envuelve totalmente al feto.

Al principio de los años noventa, varios estudios comunicaron la asociación de un aumento de la TN, entre las semanas 10 y 14, con las gestaciones portadoras de una aneuploidía¹². En el 72% de las gestaciones con síndrome de Down el valor de la TN está por encima del percentil 95.

La TN sigue siendo el marcador que aisladamente se muestra más efectivo para la detección de síndrome de Down. La combinación de edad materna y TN permite detectar el 77-81% de las gestaciones aneuploides, con un 5% de falsos positivos^{5,14}. La TN, en general, aumenta con la edad gestacional (CRL) y su valor permite obtener un cociente de probabilidad que se multiplica por el riesgo *a priori*, basado en la edad materna y la edad gestacional (CRL), para calcular un nuevo riesgo de aneuploidía.

Se calcula que, tras estimar las pérdidas fetales espontáneas, una estrategia de cribado basada en edad materna y TN, con interrupción selectiva de las gestaciones afectadas, disminuye la incidencia de nacidos con síndrome de Down al menos en un 70%⁵.

La TN es actualmente el principal marcador de cromosopatía en el examen ultrasonográfico del primer trimestre, obligatorio en el cribado entre las semanas 11 y 13+6. Los límites se sitúan en estas edades gestacionales porque antes de la semana 11 no disponemos de una técnica diagnóstica que se pueda ofrecer con seguridad, y después de la semana 14 disminuye el acúmulo cervical de líquido y además la medida es más difícil de realizar².

La medida de la TN precisa ecografistas con formación y entrenamiento suficientes, equipos de alta resolución, y auditorías para detectar las desviaciones que puedan sesgar los resultados y alterar la sensibilidad y especificidad de la técnica de cribado.

Para realizar la medición se precisa un ecógrafo de alta resolución con función de *video-loop* y *calipers* que permitan medir décimas de milímetro. En el 95% de las ocasiones, la medida de la TN se puede obtener con éxito por vía transabdominal; el resto de las ocasiones, requerirá una ecografía transvaginal. Se obtiene un plano medio sagital del feto en el que se mide la longitud cráneo-caudal (CRL) para confirmar la edad gestacional, que debe estar entre 45 y 84 mm; en ese mismo corte se mide el máximo espesor de la colección de líquido econegativo que corresponde a la translucencia subcutánea, entre la piel fetal y los tejidos blandos sobre la columna cervical.

Para la medición correcta de la TN es preciso^{2,14,15}:

- Obtención de un buen plano medio sagital del feto, con la imagen magnificada de modo que se visualice sólo la cabeza y el tórax fetales, y que los movimientos de los *calipers* detecten cambios de 0,1 mm.
- El feto debe estar en posición neutra, puesto que en hiperextensión la medida se sobreestima hasta 0,6 mm, y en hiperflexión puede disminuir hasta 0,4 mm.
- Distinción cuidadosa entre la piel fetal y el amnios, mediante la observación de los movimientos fetales.

- Debe reducirse la ganancia para evitar el error de colocar los *calipers* en el borde difuminado de la línea, lo que causaría una subestimación de la medida de la TN.
- Realización de varias medidas (se anotará la mayor de ellas), colocando los *calipers* de "dentro a dentro", respecto de las líneas refringentes que delimitan la translucencia. La cruz del *caliper* debe ser difícilmente visible a medida que surge del borde de la línea y no debe verse en el fluido nucal.
- El cordón umbilical puede estar rodeando el cuello fetal en un 5-10% de los casos, lo que puede sobreestimar la medida de la TN. En estos casos, las medidas de la TN por encima y por debajo del cordón son diferentes y, para calcular el riesgo, lo más apropiado es utilizar la media entre ambas determinaciones.

En uno de los primeros estudios publicados sobre la utilidad de la TN para la detección de cromosopatías, Nicolaides et al. (1992)¹⁵ establecieron un valor de la TN de 3 mm como punto de corte para establecer el riesgo aumentado de cromosopatía, y hallaron lo siguiente:

- La incidencia de fetos con TN mayor o igual a 3 mm fue del 6%.
- La presencia de TN aumentada incrementa 10 veces el riesgo de cromosopatía, y la ausencia de TN aumentada disminuye este riesgo 3 veces.
- El riesgo de alteración en los cromosomas aumenta de forma directamente proporcional al valor de la TN.

La medida de la TN es independiente de la raza, la paridad, el hábito tabáquico, la presencia de diabetes, el uso de técnicas de reproducción asistida, el sexo fetal o la metrorragia en el primer trimestre².

Según los grupos de trabajo y de manera general, en la actualidad se establece que un individuo tiene alto riesgo de cromosopatías mediante un punto de corte en el valor de la TN, o mediante un riesgo combinado entre edad materna y la desviación

de la TN respecto a la mediana normal para cada valor de CRL. El punto de corte de 3 mm establecido inicialmente, actualmente en la mayoría de los centros se sustituye por el valor del p95 de la TN, para cada CRL. En hospitales como el Clínico San Carlos de Madrid se establece de manera generalizada la estrategia de que con un valor de TN por encima del p95, se informa a la paciente del riesgo de cromosopatía y se ofrece una técnica de diagnóstico invasivo, independientemente del resultado del cribado combinado.

A continuación se muestra un ejemplo de las tablas disponibles para consultar los percentiles del valor de la TN, en función de la CRL.

CRL (mm)	Percentil								
	1	2,5	5	10	50 (mediana) ^a	90	95	97,5	99
45	0,49	0,58	0,67	0,78	1,18	1,70	1,88	2,05	2,27
46	0,51	0,61	0,70	0,80	1,22	1,74	1,92	2,10	2,32
47	0,53	0,64	0,72	0,83	1,25	1,78	1,97	2,14	2,38
48	0,56	0,66	0,75	0,86	1,28	1,82	2,01	2,19	2,43
49	0,58	0,68	0,77	0,89	1,32	1,86	2,05	2,24	2,47
50	0,60	0,70	0,80	0,91	1,35	1,90	2,09	2,28	2,52
51	0,62	0,73	0,82	0,93	1,38	1,94	2,13	2,32	2,57
52	0,64	0,75	0,84	0,96	1,41	1,97	2,17	2,37	2,61
53	0,66	0,76	0,86	0,98	1,43	2,01	2,21	2,41	2,66
54	0,67	0,78	0,88	1,00	1,46	2,05	2,25	2,45	2,70
55	0,69	0,80	0,90	1,02	1,49	2,08	2,29	2,49	2,75
56	0,70	0,82	0,92	1,04	1,52	2,11	2,33	2,53	2,79
57	0,72	0,84	0,94	1,06	1,54	2,15	2,36	2,57	2,83
58	0,73	0,85	0,96	1,08	1,57	2,18	2,40	2,60	2,87
59	0,75	0,87	0,98	1,10	1,59	2,21	2,43	2,64	2,91
60	0,76	0,88	0,99	1,12	1,61	2,24	2,47	2,68	2,95
61	0,77	0,89	1,00	1,13	1,64	2,28	2,50	2,71	2,99
62	0,79	0,91	1,02	1,15	1,66	2,31	2,53	2,75	3,03
63	0,80	0,92	1,03	1,16	1,68	2,33	2,56	2,78	3,07
64	0,81	0,93	1,05	1,18	1,70	2,36	2,60	2,82	3,11
65	0,82	0,94	1,06	1,19	1,72	2,39	2,63	2,85	3,15
66	0,83	0,96	1,07	1,21	1,74	2,42	2,66	2,89	3,18
67	0,84	0,97	1,08	1,22	1,76	2,45	2,69	2,92	3,22
68	0,85	0,98	1,10	1,24	1,78	2,48	2,72	2,95	3,26
69	0,85	0,99	1,11	1,25	1,80	2,50	2,75	2,98	3,29
70	0,86	1,00	1,12	1,26	1,82	2,53	2,78	3,02	3,33
71	0,87	1,01	1,13	1,27	1,84	2,56	2,81	3,05	3,36
72	0,88	1,02	1,14	1,29	1,86	2,58	2,84	3,08	3,40
73	0,89	1,02	1,15	1,30	1,87	2,61	2,86	3,11	3,43
74	0,89	1,03	1,16	1,31	1,89	2,63	2,89	3,14	3,46
75	0,90	1,04	1,17	1,32	1,91	2,66	2,92	3,17	3,50
76	0,90	1,05	1,18	1,33	1,93	2,68	2,95	3,20	3,53
77	0,91	1,05	1,18	1,34	1,94	2,70	2,97	3,23	3,56
78	0,92	1,06	1,19	1,35	1,96	2,73	3,00	3,26	3,60
79	0,92	1,07	1,20	1,36	1,97	2,75	3,02	3,29	3,69
80	0,92	1,07	1,21	1,37	1,99	2,77	3,05	3,32	3,66
81	0,93	1,08	1,21	1,38	2,00	2,80	3,08	3,34	3,69
82	0,93	1,09	1,22	1,38	2,02	2,82	3,10	3,37	3,72
83	0,94	1,09	1,23	1,39	2,03	2,84	3,13	3,40	3,75
84	0,94	1,10	1,23	1,40	2,05	2,86	3,15	3,43	3,78

Tabla 4. Percentiles de los valores de TN, en función de la CRL¹⁶.

Para calcular el riesgo específico de cromosopatía en cada paciente, se multiplica el riesgo *a priori* en función de las edades materna y gestacional por un cociente de probabilidad, que depende del valor delta en milímetros, es decir, de la diferencia entre la medida de la TN y la mediana normal para la misma CRL². Para

los marcadores bioquímicos, sin embargo, se utiliza el método de los múltiplos de la mediana (MoM), y determinados programas de cálculo de riesgo en cribado combinado lo emplean también para la TN⁹.

En general se asume que la TN aumenta conforme lo hace la CRL. El estudio de Bindra et al.¹⁰ muestran las siguientes distribuciones de TN en gestaciones euploides y aneuploides (figuras 2 y 3).

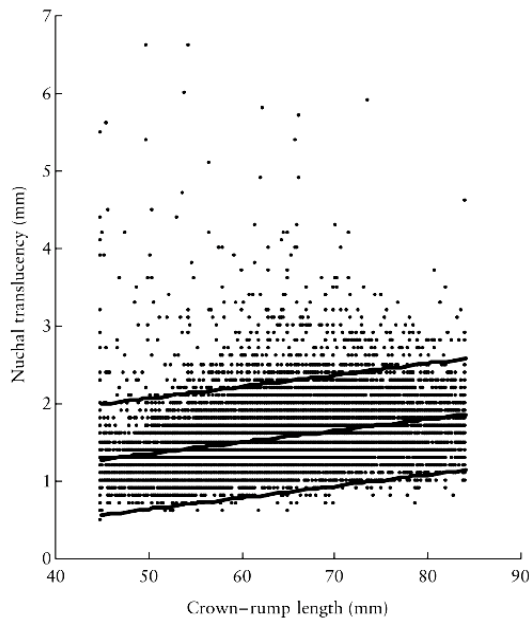


Figura 2. Distribución de la TN en gestaciones euploides, en función de la CRL, según Bindra et al.¹⁰

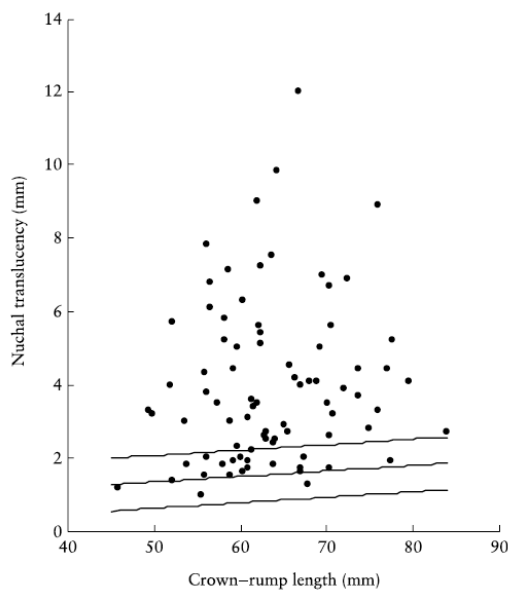


Figura 3. Distribución de la TN en gestaciones aneuploides, en función de la CRL, según Bindra et al.¹⁰

En este mismo estudio, se halló que, en gestaciones con síndrome de Down, el valor delta de la TN (diferencia entre el valor hallado y el esperado según los valores en gestaciones euploides), no cambió significativamente con la edad gestacional¹⁰.

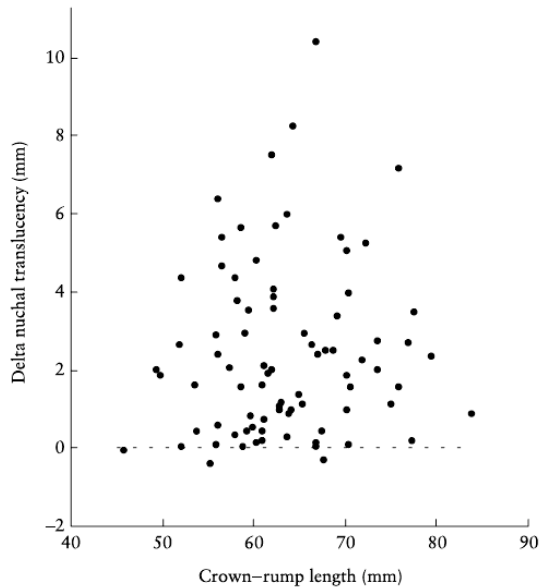


Figura 4. Distribución de la delta TN en gestaciones aneuploides, en función de la CRL, según Bindra et al. La delta es la diferencia entre el valor observado y la mediana para la CRL en gestaciones euploides. El valor normal de delta es 0 (línea de puntos)¹⁰.

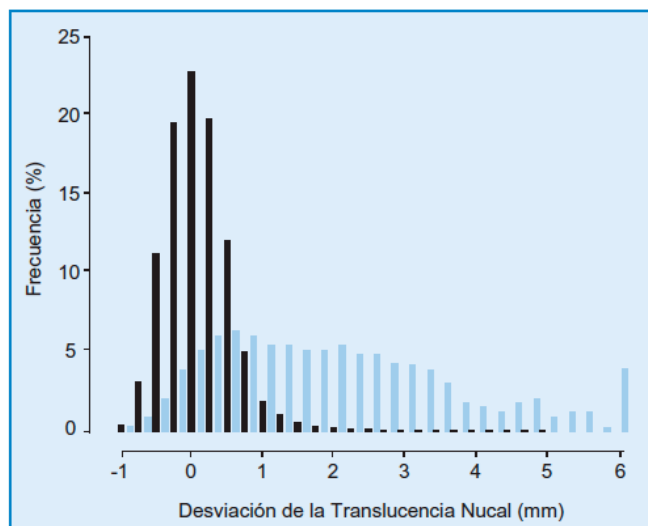


Figura 5. Distribución del grosor de la TN expresada como desviación respecto a la mediana normal para la CRL (delta TN) en fetos euploides (barras negras) y con trisomía 21 (barras azules)².

En el cribado de cromosopatías, según Spencer¹⁷, el uso de la delta proporciona riesgos individuales precisos, mientras que los MoM no serían apropiados, puesto que precisan tres requisitos que no se cumplen:

- en la población no afecta, la distribución de los MoM de TN no es Gaussiana,
- las desviaciones estándar (DS) no permanecen constantes cuando cambia la edad gestacional,
- la mediana de los MoM en gestaciones con trisomía 21 no es una proporción constante de la mediana para las gestaciones euploides.

De esta manera, el empleo de los MoM para la TN resultaría en una sobreestimación del riesgo en la semana 11, y una subestimación considerable a las 13 semanas².

Sin embargo, Kagan¹⁸ encuentra que la TN sigue dos distribuciones diferentes, tanto en fetos euploides como aneuploides. Una de ellas es dependiente de la CRL del feto, y la otra es CRL-independiente. La distribución independiente de la CRL es seguida por el 95% de los fetos con síndrome de Down, y por el 5% de los fetos euploides. La cuantificación de la desviación de la TN respecto de la normalidad, mediante este modelo mixto de distribuciones, es mejor que la delta TN (que resulta de la diferencia entre la TN esperada y la TN observada) o los MoM (que resultan de dividir la TN observada entre la esperada).

Morris y Wald¹⁹ hicieron énfasis sobre la necesidad de comprobar si la distribución de un marcador es realmente Gaussiana antes de realizar estimaciones de riesgo. Además, sólo si las DS son similares en la distribución de los fetos euploides y aneuploides, se puede asumir que la distribución de los riesgos es también normal. En el caso de la TN, tanto la media como la DS son mayores en el grupo de fetos con síndrome de Down. Esto conllevaría conclusiones erróneas sobre todo en los valores extremos (como que un valor muy bajo de TN aumenta el riesgo de cromosopatía), que precisarían realizar un truncado de los límites. La

distribución de las *likelihood ratio* ya no es *Gaussiana*, y por tanto, es incorrecto hacer una aproximación normal en estas distribuciones.

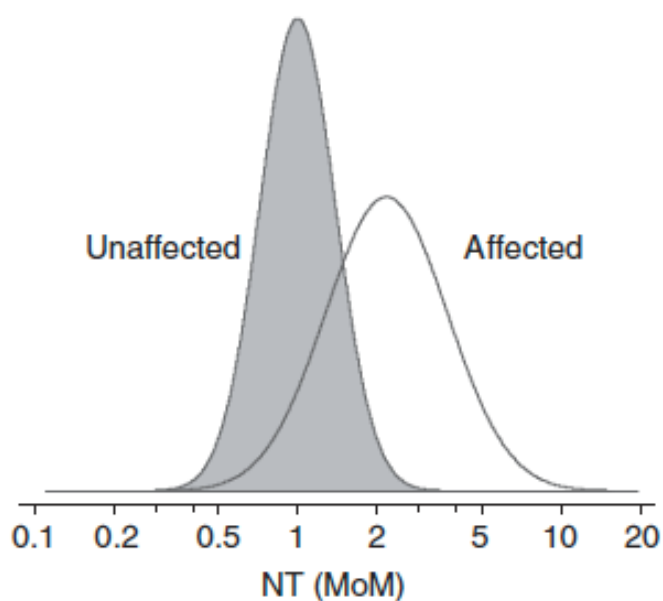


Figura 6. Modelo de distribución de TN en gestaciones euploides (unaffected) y aneuploides (affected), según Morris y Wald. La DS en los aneuploides es mucho mayor que en euploides¹⁹.

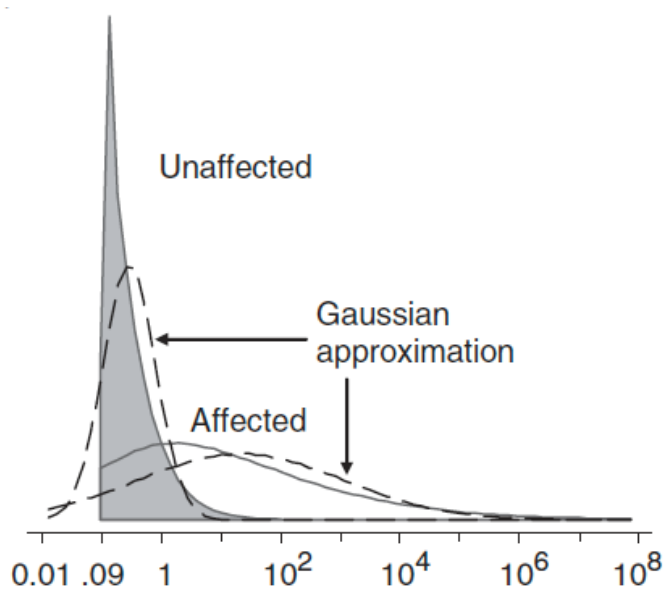


Figura 7. Modelo de distribución de riesgos según los MoM de TN en gestaciones euploides (unaffected) y aneuploides (affected), según Morris y Wald. La aproximación *Gaussiana* no es precisa¹⁹.

3.2. Los marcadores bioquímicos (PAPP-A y fβHCG)

En la década de los noventa se generalizó en muchos países el cribado de trisomía 21 en segundo trimestre de la gestación mediante la combinación de edad materna, α-fetoproteína (AFP) y fβHCG; o bien edad materna, AFP, HCG total y estriol no conjugado. Estas estrategias permitían detectar aproximadamente el 65% de las gestaciones afectadas con una tasa de falsos positivos del 5%^{12,20}.

El cribado precoz (en el primer trimestre) sólo tiene sentido si a las pacientes con alto riesgo se les puede ofrecer una técnica diagnóstica en ese mismo momento. De este modo, sería preciso disponer de una fácil accesibilidad para la realización de biopsias coriales. Una amniocentesis precoz supone un riesgo inaceptable y, si se realiza entre las semanas 15-16, como está recomendado, supone un lapso de tiempo excesivo entre la prueba de cribado y el resultado citogenético definitivo. Para obviar este problema, también podría realizarse técnicas como la QF-PCR o la FISH, que permiten un diagnóstico rápido de las trisomías autosómicas más frecuentes³. La técnica de FISH o *hibridación in situ con fluorescencia*, permite la detección y localización de secuencias específicas de ADN sobre los cromosomas, sin necesidad de cultivo celular previo. La QF-PCR está basada en la aplicación conjunta de dos técnicas, la PCR (*polymerase chain reaction*) y la fluorescencia cuantificable; permite adelantar el resultado del cariotipo en líquido amniótico a 72 horas, con respecto a los cromosomas 13, 18, 21 y sexuales²¹.

Las ventajas de encontrar marcadores que permitan el cribado de cromosopatías en el primer trimestre son incuestionables, puesto que adelantar el diagnóstico disminuye la ansiedad de los padres y permite tomar decisiones terapéuticas más precozmente, de manera que las consecuencias físicas y psicológicas, en el caso de someterse a una interrupción voluntaria de la gestación, son mucho menores para la paciente. Una posible crítica a este planteamiento es que el cribado precoz va a identificar un alto porcentaje de fetos cuya evolución

natural sería al aborto espontáneo, aunque esta crítica se puede realizar a cualquier estrategia de cribado, sea del primero o del segundo trimestre⁵.

De este modo, se centró la atención en la búsqueda de marcadores bioquímicos útiles en el primer trimestre de la gestación. Hay estudios retrospectivos desde principios de los años noventa²²⁻²⁴ que evalúan la posible utilidad de algunos parámetros bioquímicos. Aitken²² halló cierta utilidad de la AFP en la detección de cromosopatías en primer trimestre, pero en la mayoría de las publicaciones se concluyó que los marcadores empleados en el segundo trimestre (y otros como glicoproteína β -1 específica del embarazo o SP1)⁵ no resultaban de utilidad en el primero, con la notable excepción de la f β HCG, y se encontró que en combinación con la PAPP-A, ambos marcadores podían ofrecer una sensibilidad similar a los del segundo trimestre con la misma tasa de falsos positivos²⁰.

Dunstan y Nix²⁵ diseñaron un método para comparar las tasas de detección entre el primer y el segundo trimestre, teniendo en cuenta las pérdidas fetales. Para que el cribado en primer trimestre sea superior al cribado en segundo trimestre, su tasa de detección debe ser al menos un 8,3% mayor que la del cribado en segundo trimestre.

3.2.1. PAPP-A²⁶:

La proteína plasmática asociada al embarazo (PAPP-A) es un producto de la placenta y la decidua, secretado por las células del trofoblasto hacia la circulación materna durante la gestación.

Es una proteasa de la IGFBP-4 (insulin growth factor binding protein) cuya función consiste en la proteólisis de la IGFBP-4 en la zona de intercambio materno-fetal.

La actividad proteolítica de la PAPP-A se identifica en fibroblastos humanos, líquido folicular y células de la granulosa, medios con células trofoblásticas (se detecta en citoplasma y membrana de células trofoblásticas en cultivo) y células estromales del endometrio decidualizado, y en suero de mujeres grávidas.

Durante la gestación, el 99% de la PAPP-A circulante está en forma de un tetrámero covalente de 500 kDa, 2:2 con otra proteína de origen placentario, de 50 kDa, llamada proMBP (proform of eosinophil major basic protein), que actúa como inhibidor de la actividad proteolítica de la PAPP-A. La PAPP-A que se expresa en la membrana de los trofoblastos tiene un peso molecular de unos 200 kDa.

Los IGF (insulin growth factor) son péptidos mitógenos que regulan la proliferación y regulación celulares; son importantes para el crecimiento fetal y placentario durante la gestación.

IGFBP-4 es la segunda IGFBP más abundante en la placenta tras IGFBP-1, e inhibe la acción de IGF, luego su proteolisis aumenta la disponibilidad y acción de IGF (ya que para actuar, los IGF han de estar libres, no ligados a su *binding protein*). En la decidua materna, IGFBP parece tener ciertas acciones independientes de IGF sobre las funciones trofoblásticas.

Por ello, los altos niveles de PAPP-A y proteolisis de IGFBP-4 en suero materno durante la gestación son importantes en la regulación de la disponibilidad de IGF para el crecimiento feto-placentario y las funciones placentarias. En el lecho placentario, las IGFBP son producidas por la decidua; IGF-II es secretado por el trofoblasto y facilita la invasión trofoblástica de la decidua; IGF-I interviene en la esteroidogénesis en el sincitiotrofoblasto y el transporte de glucosa y aminoácidos en las vellosidades placentarias.

Sun et al.²⁶ encontraron actividad proteolítica sobre IGFBP-4 (dependiente de IGF-II y Ca^{2+} como cofactores) en las membranas de los trofoblastos humanos, identificada como PAPP-A. El efecto de la PAPP-A ligada a la membrana sería aumentar la acción de IGF sobre sus receptores en la membrana trofoblástica para la regulación de la incorporación de glucosa y aminoácidos, y la invasión celular. En contraposición a esto, la PAPP-A secretada produce proteolisis de la IGFBP-4 decidual, para ejercer acciones paracrinas sobre las células vasculares o estromales de la decidua, y potencia la acción de IGF sobre el crecimiento de tejidos maternos durante la gestación.

3.2.2. $f\beta HCG$:

Las gonadotropinas (folitropina -FSH- y luteotropina -LH), la tirotropina (TSH) y la gonadotropina coriónica humana (HCG) son todas glicoproteínas, y se constituyen en forma de heterodímeros, con dos cadenas polipeptídicas (α y β) unidas por enlaces no covalentes. La subunidad α es común a todas ellas y su secuencia, que en el hombre tiene 96 aminoácidos, se conserva en un alto grado entre las diferentes especies animales. La subunidad β es específica para cada hormona, y en el caso de la gonadotropina coriónica tiene 144 aminoácidos. Esta es la fracción que se mide en el cribado de cromosopatías, si bien ninguna de las dos cadenas de la hormona por separado tiene acción biológica, ya que hacen falta las dos para la unión al receptor²⁷.

La gonadotropina coriónica humana tiene un peso molecular de unos 39 kDa y su estructura molecular y función son las mismas que las de la hormona luteinizante (LH) secretada por la hipófisis. Es secretada por el sincitiotrofoblasto y pasa a los líquidos maternos. Se detecta en sangre materna a los 8-9 días de la ovulación, poco después del anidamiento del blastocisto sobre el endometrio. Los niveles se elevan rápidamente hasta un máximo entre las 10-12 semanas post-ovulación. Luego, descienden hasta una meseta que se mantiene desde las semanas 16-20 post-ovulación hasta el término del embarazo.

Edad de gestación (semanas completadas)	n	percentil 5 (IU/L)	Media (IU/L)	percentil 95 (IU/L)
11+0	> 5 000	16,68	44,83	120,47
12+0	> 5 000	14,63	39,33	105,69
13+0	> 5 000	11,28	30,32	81,49
14+0	> 5 000	8,29	22,29	59,89

Edad de gestación (semanas completadas)	n	percentil 5 (IU/L)	Media (IU/L)	percentil 95 (IU/L)
14	528	7,4	19,7	59,4
15	1 906	5,6	15,0	46,4
16	1 088	4,2	12,2	34,5
17	507	3,4	9,1	25,6
18	246	2,9	8,4	27,0

Tabla 5. Valores de fβhCG en suero materno utilizando BRAHMS KRYPTOR fβhCG, en primer y segundo trimestres de la gestación¹⁰.

Tiene un papel muy importante en el mantenimiento de la gestación; su función más importante consiste en hacer crecer el cuerpo lúteo, que produce una gran cantidad de hormonas sexuales (progesterona y estrógenos), lo cual hace que el endometrio siga creciendo y acumulando nutrientes en vez de producirse la menstruación. Las células endometriales se convierten en células deciduales nutricias, muy hinchadas hacia el momento en que el blastocisto se implanta. Si el cuerpo lúteo se elimina antes de la 7ª semana de embarazo (y a veces hasta la 12ª semana) casi siempre se interrumpe el embarazo²⁸.

4. OTROS MARCADORES BIOQUÍMICOS

4.1. ADAM12 y otras proteínas²⁹:

Actualmente está en estudio la posibilidad de utilizar otros marcadores bioquímicos para detección de aneuploidías. ADAM12 (A Disintegrin And Metaloprotease 12) es una glicoproteína sintetizada por el trofoblasto, relacionada con el crecimiento y la diferenciación. Aparece significativamente disminuida en todas las trisomías antes de las 9 semanas. Wortelboer et al. realizaron un estudio en el que las muestras de sangre materna para estudio bioquímico eran recogidas desde las semanas 8-9 hasta la semana 13, y compararon los niveles de ADAM12 en

los fetos aneuploides con controles euploides de su misma edad gestacional. Los resultados se expresaron en múltiplos de la mediana (MoM) respecto a gestaciones simples euploides. Se encontró una fuerte asociación entre ADAM12 y PAPP-A. Pese a que los niveles de ADAM12 eran significativamente menores en los aneuploides respecto a los euploides, sobre todo en edades gestacionales tempranas (antes de la semana 10; después los niveles tienen una tendencia ascendente, de manera que para la semana 13 las diferencias entre grupos han desaparecido), no encontraron una mejora significativa de la tasa de detección de la trisomía 21. Parece que su uso secuencial insertado en el cribado actual (ADAM12+PAPP-A en semana 8-9 y BhCG+TN en semana 12) podría mejorar la detección de otras cromosopatías distintas del síndrome de Down.

Por el contrario, en segundo trimestre, ADAM12 aumenta en fetos aneuploides respecto de euploides, y en un estudio de Cuckle³⁰ se vio que en los fetos afectos la glicoproteína se correlacionaba de forma estadísticamente significativa con hCG e inhibina A (en fetos euploides se correlacionaba con todos los otros marcadores). Los valores de la mediana fueron menores en fumadoras, de forma estadísticamente significativa en el grupo de fetos euploides. Si se añadía ADAM12 al cribado bioquímico con los demás marcadores, la sensibilidad aumentaba 2-3% para una tasa de falsos positivos fija; para una tasa de detección determinada, se disminuía los falsos positivos entre 0,9 y 1,7%. La sustitución de alguno de los marcadores bioquímicos por ADAM12 disminuía la sensibilidad del cribado. La tasa de detección de ADAM12 para síndrome de Down, usado como marcador único, con una tasa de falsos positivos del 5%, fue del 36%, similar a la de otros estudios³⁰.

Asimismo se ha descrito una reducción de los niveles de ADAM12 en relación con resultados adversos de la gestación (preeclampsia, crecimiento intrauterino restringido)³¹⁻³³.

Hay varias publicaciones en la literatura que estudian otros muchos marcadores, potencialmente útiles para mejorar la detección de aneuploidías, en particular la trisomía 21. Sin embargo, de ninguno de ellos, aisladamente, se ha encontrado capacidad discriminativa suficiente para mejorar los cribados actuales.

Hedley y Christiansen³⁴ estudiaron los posibles cambios en los niveles de leptina, proteína expresada por la placenta, en gestaciones con trisomía 21 respecto a las euploides, sin hallar diferencias.

Debieve et al.³⁵, basándose en el hecho de que los fetos con síndrome de Down muestran hipoplasia del trofoblasto y vascularización reducida, estudiaron proteínas relacionadas con la angiogénesis y la permeabilidad capilar durante el desarrollo placentario. En concreto, investigaron los niveles de factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y de factor de crecimiento placentario (PLGF). El primero no fue detectable en suero materno, y en los extractos de placenta no hubo diferencias entre fetos euploides y aneuploides. El segundo fue significativamente menor en suero de pacientes portadoras de un feto con trisomía 21 que en pacientes con un feto euploide.

4.2. Proteómica:

En un intento de identificar nuevos marcadores analíticos discriminativos, que puedan mejorar el rendimiento del cribado de cromosomopatías durante la gestación, se ha utilizado la proteómica, que consiste en un estudio a gran escala de múltiples proteínas en función de su estructura, función y cuantificación. Estos métodos permiten el estudio simultáneo de muchas proteínas y asimismo se puede obtener correlaciones de los cambios de sus niveles. En el caso de buscar marcadores para el cribado de aneuploidías, se puede estudiar proteínas expresadas por la placenta o el hígado fetal, que difunden a la circulación materna y allí son detectables.

Koster et al.³⁶ analizaron 73 potenciales marcadores mediante la técnica denominada *bead-based multiplexed immunoassay*. Si bien no encontraron ningún marcador que por sí mismo fuera discriminatorio para síndrome de Down, sí hallaron nueve marcadores con niveles significativamente diferentes respecto a los fetos euploides. Estas proteínas son las siguientes:

- Alfafetoproteína (AFP).
- Epidermal growth factor (EGF).
- Extracellular rage binding protein (EN-RAGE).
- Eotaxina.
- Haptoglobina.
- Insulina.
- Lipoproteína A.
- PAPP-A.
- f β HCG.

Cuando los nueve marcadores se utilizaron conjuntamente con la TN y teniendo en cuenta el riesgo *a priori* por la edad materna, la tasa de detección fue mejor que en el cribado combinado del primer trimestre con edad materna + TN + PAPP-A + f β HCG.

5. CÁLCULO DEL RIESGO INDIVIDUAL DE CROMOSOMOPATÍA

El riesgo *a priori*, para la edad de la paciente, de que el feto presente trisomía 21 se obtiene a partir del riesgo en el momento del parto con una corrección al alza para poder expresarlo en el momento del cribado, considerando la pérdida fetal espontánea tardía (aquellos fetos afectados que se pierden espontáneamente intraútero, desde el momento del cribado hasta el parto). Hay distintos métodos para realizar este cálculo (exponencial de Cuckle⁶, logístico de Hook⁸) y desde las primeras publicaciones empleadas para la estimación del riesgo por edad⁶ se ha

publicado tablas de riesgo para la edad de la paciente, para otras cromosomopatías y para diferentes momentos de la gestación³⁷. El riesgo *a priori* para trisomía 18 se considera aproximadamente 10 veces inferior al de trisomía 21.

El cálculo del riesgo, combinando el riesgo *a priori* por edad materna y la información aportada por los marcadores, precisa un análisis multivariante que puede efectuarse matemáticamente por diferentes métodos. El de la probabilidad (*likelihood method*) es el más ampliamente utilizado. Consiste en obtener un cociente (razón) que exprese la probabilidad de que el resultado de una prueba corresponda a un feto afecto de la trisomía que queremos detectar frente a la probabilidad de que corresponda a un feto sano (*likelihood ratio*). De cada uno de los parámetros ecográficos y bioquímicos estudiados se obtiene una *likelihood ratio* por la que se multiplicará el riesgo *a priori*^{9,10}. La razón de probabilidad para un determinado marcador bioquímico o ecográfico se calcula en base al conocimiento previo de la distribución poblacional Gaussiana para un grupo afecto y otro no afecto de la trisomía a detectar.

Los parámetros de la distribución poblacional Gaussiana, es decir la forma que describe la curva de Gauss para cada marcador, para la población afecta y no afecta de cada trisomía estudiada, se introducen en la configuración del programa informático de cálculo y están constituidos por la media y desviación estándar de la transformación logarítmica decimal de los MoM de cada marcador para la población afecta y no afecta. En el caso de utilizarse múltiples marcadores debe conocerse además el coeficiente de correlación mutua entre pares de marcadores para cada combinación deseada. Para que una determinada combinación de marcadores sea eficaz su correlación debe ser virtualmente nula o muy baja, ya que de lo contrario su asociación aportaría muy poco, o nada, a los índices de detección.

Existen publicados un buen número de conjuntos de parámetros de la distribución poblacional Gaussiana para los distintos marcadores y sus combinaciones. Es importante, para la eficiencia del cribado, escoger aquellos que han sido calculados para los marcadores que estamos utilizando y para una metodología analítica o

ecográfica y población de estudio similares. La utilización de parámetros de distribución poblacional Gaussiana inadecuados puede ocasionar resultados del cribado globalmente sesgados en la capacidad de detección y en la tasa de falsos positivos.

Dado que las curvas de la distribución Gaussiana de los MoM para los diferentes marcadores, en la práctica, no son realmente Gaussianas en sus valores extremos, estos deben ser truncados para que al calcular la razón de probabilidad los resultados sean aceptables. Así los MoM que están fuera de los límites de truncado se convierten automáticamente en los valores correspondientes a dichos límites.

Los límites de truncado deben ser definidos para cada marcador, para la población afecta y no afecta y para cada trisomía, dependiendo de cómo el marcador se ajuste al modelo Gaussiano. El truncado puede ayudar a evitar la hipercorrección producida por valores extremos. Se puede realizar introduciendo límites propuestos, como los de la siguiente tabla^{19,38}; o bien excluyendo los valores que exceden una desviación de 3,5 DS respecto de la media^{39,40}, tanto por encima como por debajo de ella.

Marcador	Límites de truncado
Primer trimestre	
TN	0,65-2,5
fβHCG	0,3-5,0
PAPP-A	0,2-3,0
Segundo trimestre	
AFP	0,4-3,0
E ₃	0,4-2,0
fβHCG	0,3-5,0
Inhibina A	0,3-5,0

Tabla 6. Límites de truncado para los MoM de los distintos marcadores, recomendados por Morris¹⁹ y Wald³⁸.

Finalmente, la estimación del riesgo combinando la edad materna y los diferentes marcadores, para una trisomía determinada, se obtiene multiplicando la probabilidad *a priori* para la edad de la paciente de ser portadora de dicha trisomía por la razón de probabilidad obtenida a partir de los marcadores (previamente transformados en MoM) y se expresa como un índice de probabilidad de 1 entre el resultado de dicho producto. Si el riesgo *a priori* para la edad materna se estableció como el riesgo en el momento del parto (sin corrección para la pérdida fetal tardía) el riesgo combinado para la trisomía en cuestión lo será también como riesgo en el momento del parto, o a término, mientras que en caso contrario quedará expresado como riesgo en el momento del cribado.

Una vez calculado el riesgo combinado para una trisomía determinada, previa comprobación de la exactitud de la edad de la gestante, semanas de gestación, técnica analítica o ecográfica, de los valores de los marcadores convertidos a MoM (debidamente ajustados por los factores de corrección) y que se está en el rango de semanas admitidas para el tipo de cribado realizado, no se debería bajo ningún pretexto y por la misma naturaleza de los métodos de detección (probabilísticos y no de certeza diagnóstica) realizar nuevos cribados de verificación o confirmación en pacientes concretas, ya que únicamente pueden aportar confusión a la paciente y descrédito al método⁹.

El nivel de corte a partir del cual se ofrecerá y recomendará la práctica de una técnica invasiva diagnóstica es una decisión arbitraria de política sanitaria y depende sobre todo de los recursos materiales que se puedan invertir para el diagnóstico prenatal de las cromosopatías.

No obstante existen unos márgenes relativamente estrechos para los que la sensibilidad y especificidad son óptimos y, a partir de los cuales, para obtener pequeños aumentos en la capacidad de detección son necesarios importantes incrementos en la tasa de falsos positivos (con la consecuente elevación de los costes, procedimientos invasivos innecesarios, pérdidas fetales, morbilidad y

ansiedad materna, etc). Estos márgenes se pueden calcular mediante las curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic Curve* o curva de características operativas), que se construyen representando la sensibilidad (verdaderos positivos) en el eje de ordenadas y 1 - especificidad (falsos positivos) en el eje de abscisas; así, para una prueba en concreto, se puede calcular la sensibilidad y especificidad con cada punto de corte⁹.

6. EFICACIA DE LOS DISTINTOS MÉTODOS DE CRIBADO.

La introducción de parámetros bioquímicos en el cribado aumenta la tasa de detección en un 16% respecto a la sensibilidad del cribado basado únicamente en la edad materna y la TN¹². Noble et al.⁴¹ encontraron un aumento de la sensibilidad del cribado desde un 80% hasta un 85% al añadir la fβHCG en el cribado realizado mediante edad materna y TN.

Diversos estudios prospectivos han demostrado que para una tasa de falsos positivos del 5% este cribado combinado del primer trimestre puede detectar aproximadamente el 90% de los fetos afectados. Aunque en principio está diseñado con algoritmos específicos para trisomías 21 y 18, detecta además el 80% de las trisomías del cromosoma 13, el 96% de los síndromes de Turner y el 62% de las demás aneuploidías sexuales⁹.

Para el cálculo del riesgo, se multiplica el riesgo *a priori* obtenido por la edad materna por las razones de probabilidad obtenidas a partir de las desviaciones de la medida de la TN, la fβHCG, y la PAPP-A, de sus respectivas medianas.

Kagan et al.¹⁸ encontraron, en un estudio de validación prospectiva de las técnicas de cribado, para una tasa de falsos positivos del 3%, una tasa de detección del 81% mediante edad materna y TN, del 63% mediante edad materna y bioquímica (PAPP-A y fβHCG), y un 90% mediante edad materna, TN y bioquímica. Se tuvo en cuenta las formas de distribución de TN (dependiente e independiente de CRL), y el

modelo de regresión múltiple de los marcadores bioquímicos, para ajustar los valores según diferentes variables materno-fetales.

Según las estimaciones de Dunstan y Nix²⁵, el cribado bioquímico del primer trimestre, con una sensibilidad del 67%, no superaría al cribado bioquímico del segundo trimestre, con una sensibilidad del 65%. Pero la combinación de cribado bioquímico del primer trimestre con la TN, con una sensibilidad de hasta un 90% para una tasa de falsos positivos del 5%, sí supera claramente al cribado bioquímico del segundo trimestre aislado^{12,20,25}. Es importante recordar, respecto al cribado bioquímico, que datar la gestación con precisión mediante ecografía es esencial, puesto que de lo contrario, el porcentaje de detección se reduce aproximadamente un 10%².

Spencer et al. en 1999¹², hallaron una correlación débil, pero significativa, entre fβHCG y PAPP-A, expresados en MoM. No se halló correlación entre estos marcadores bioquímicos y la TN⁴¹. El bajo grado de correlación entre fβHCG y PAPP-A hace que la sensibilidad de ambos marcadores juntos sea mejor que la de cada uno de ellos independientemente, luego el cribado conjunto alcanzará una mayor tasa de detección, y por el mismo motivo la tasa es aún más alta cuando se combina con la edad los marcadores bioquímicos y la TN²⁰.

Cabe mencionar que desde 2001 se ha comenzado a estudiar el hueso nasal como un nuevo marcador que, introducido en esta estrategia de cribado, podría mejorar la sensibilidad hasta un 95%, basándose en el hecho de que en el 60-70% de los fetos con trisomía 21 (y en un 2% de fetos euploides), el hueso nasal no es visible en la ecografía de las 11-13⁺⁶ semanas².

Históricamente, la evolución del cribado de cromosopatías se resume en las siguientes tasas de detección de trisomía 21, para cada una de las combinaciones de marcadores, con un tasa de falsos positivos fija del 5%:

	TASA DETECCIÓN (%)
Edad materna	30
fBhCG	33
PAPP-A	38
EM+fBhCG	46
EM+PAPP-A	48
EM+BQ 2T (AFP+fBhCG)	65
EM+BQ 1T (fBhCG+PAPP-A)	63-67
EM+TN	77-81
EM+TN+fBhCG+PAPP-A	87-90
EM+TN+HN	90
EM+TN+HN+BQ	95

Tabla 7. Tasa de detección de cada una de las estrategias de cribado. EM: Edad materna. BQ: Bioquímica. 1T: Primer trimestre. 2T: Segundo trimestre. HN: Hueso nasal.

7. FACTORES QUE MODIFICAN LA BIOQUÍMICA

Para independizar las concentraciones de los marcadores bioquímicos del momento del embarazo en que se efectúa su determinación, y para que su distribución sea Gaussiana, éstas deben transformarse en múltiplos de la mediana (MoM). La transformación a MoM implica disponer de las medianas para cada marcador bioquímico, obtenidas por el propio laboratorio, y el conocimiento lo más exacto posible de la edad gestacional en el momento del cribado. La datación de la gestación debe efectuarse en semanas y días calculados a partir de una ecografía practicada preferentemente en el primer trimestre. La forma que describe la curva de Gauss para cada marcador, en población afecta y no afecta de la aneuploidía analizada, están constituidos por la media y la desviación estándar de la transformación logarítmica decimal de los MoM de cada marcador para la población de cada grupo (enfermos y sanos)⁹.

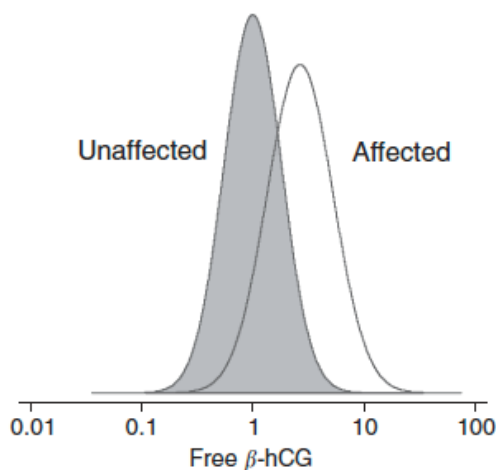


Figura 8. Modelo de distribución de fβhCG en gestaciones euploides (unaffected) y aneuploides (affected), según Morris y Wald¹⁹.

En las determinaciones bioquímicas es necesario hacer ajustes para las medidas de fβHCG y PAPP-A, en función de determinadas características maternas y gestacionales^{11,42}. Existen publicados, en la literatura especializada, factores de corrección para:

- el peso materno^{43,44},
- la raza⁴⁵,
- el consumo de tabaco^{44,46},
- la diabetes insulino-dependiente⁴⁷,
- el número de fetos⁴⁸,
- la presencia de metrorragias en el primer trimestre⁴⁹,
- el sexo fetal⁵⁰,
- la forma de concepción (técnicas de reproducción asistida)⁵¹, y
- la paridad de la gestante⁵²⁻⁵⁴.

Estos parámetros son diferentes para cada laboratorio (es decir, cambian en función también de las máquinas y los reactantes utilizados). El factor de corrección a aplicar actúa como divisor del valor en MoM del marcador considerado. Sin embargo, las características étnicas y sociales, entre otras, de cada población ejercen una importante influencia sobre el peso que estos factores

puedan tener en la práctica habitual del cribado. La realidad es que estudios realizados en distintos centros no siempre proporcionan resultados coincidentes al valorar cómo y cuánto debe corregirse cada marcador bioquímico en presencia de un determinado factor⁹.

En el proceso de cribado del primer trimestre, cada valor obtenido de PAPP-A y f β HCG se convierte en un múltiplo de la mediana (MoM) esperado para un embarazo de la misma edad gestacional, peso materno, raza, forma de concepción y presencia o no de hábito tabáquico. Se asume que la distribución de los valores de ambos parámetros bioquímicos es Gaussiana, tanto en gestaciones euploides como aneuploides⁴².

- Ambos marcadores disminuyen con el peso materno (por dilución, según aumenta el peso, en un mayor volumen de sangre)^{44,55}.
- Los niveles de PAPP-A aumentan conforme aumenta la CRL, y los de f β HCG disminuyen.
- Los niveles de los marcadores son mayores en mujeres de raza negra que en las de raza blanca, con mayor diferencia para la PAPP-A que para la f β HCG.
- Los niveles de los marcadores son menores en fumadoras que en no fumadoras, con mayor diferencia para la PAPP-A⁴⁴ que para la f β HCG.
- En gestaciones conseguidas por fecundación in vitro (FIV), los niveles de PAPP-A disminuyen y los de f β HCG aumentan, respecto a las gestaciones logradas espontáneamente.

	Variable	f β HCG	PAPP-A
Raza	Afro-caribeña	↑ 12%	↑ 57%
	Sur Asia	↓ 9%	↑ 3%
	Este Asia	↑ 8%	↑ 9%
	Nulípara	↑ 2%	↑ 2%
	Fumadoras	↓ 4%	↓ 17%
	FIV	↑ 9%	↓ 10%

Tabla 8. Comportamiento de f β HCG y PAPP-A en función de variables materna (comparado con mujer caucasiana, múltipara, no fumadora, y gestación espontánea)⁴². FIV: Fecundación in vitro.

Desde hace varias décadas, se conoce que el sexo fetal influye en los niveles de HCG, al final de la gestación⁵⁶. Sin embargo, se tardó un poco más en demostrar que las diferencias también existían en etapas más tempranas del embarazo.

En gestaciones euploides con feto de sexo femenino Spencer⁵⁰ encontró, en el segundo trimestre, niveles más altos de fβHCG y niveles más bajos de AFP, lo cual condujo a una mayor tasa de FP en estos casos respecto a las gestaciones con feto de sexo masculino. No hubo diferencias significativas en los niveles de los marcadores en los fetos con trisomía 21 en función del sexo fetal. La tasa de detección fue algo mayor para fetos masculinos que para femeninos, pero la diferencia no fue significativa.

Diferentes estudios del cribado de cromosopatías en el primer trimestre, centrados en las diferencias de los marcadores según el sexo fetal, coinciden en un aumento de la fβHCG⁵⁷ y la PAPP-A en las gestaciones con feto femenino^{58,59}, más importante para el primer marcador. Podría haber una tendencia a valores menores de TN en fetos femeninos pero con un impacto nulo o mínimo. Spencer⁵⁸ halló las mismas diferencias entre sexos para fetos con trisomía 21, si bien sólo fueron estadísticamente significativas para la TN. En conclusión, encuentra una disminución de la tasa de detección en fetos femeninos de 1-2%, ya que los niveles mayores de fβHCG no compensan los niveles aumentados de PAPP-A y el valor menor de TN en estos fetos, y de este modo la sensibilidad del cribado es más baja⁵⁸. De Graaf⁴⁴ describe mayores niveles de fβHCG, menores de AFP (no significativo) y ningún efecto sobre la PAPP-A en gestaciones con fetos femeninos; esto conllevaría un aumento de la tasa de falsos positivos (TFP) en estos fetos.

En el segundo trimestre de la gestación, los niveles de HCG, tanto en fetos euploides como aneuploides, son menores en mujeres multíparas que en nulíparas, aunque la diferencia no es suficientemente grande como para exigir un ajuste en este parámetro para el cribado de cromosopatías⁵². Wald et al.⁵⁴ no encontraron justificación para ajustar los parámetros bioquímicos del cribado de cromosopatías según la paridad ni según la edad materna. Sólo hallaron

discretas diferencias en la HCG en función de la paridad (los abortos y la edad materna no influían en los niveles del marcador); únicamente la AFP varió de forma directamente proporcional a la edad materna. Spencer⁶⁰ sí encontró un mínimo decremento en los niveles de fβHCG en función del número total de gestaciones, con influencia insignificante en los resultados del cribado. Haddow et al.⁵² hallaron una tendencia de la HCG a aumentar con la edad materna. Mooney et al.⁶¹ observaron una disminución de la HCG tanto con la paridad como con la gravidez, en fetos euploides, y también en fetos con síndrome de Down. La edad y la raza no introdujeron factores de confusión. La AFP no se vio afectada por la paridad.

Sin embargo, en el primer trimestre de gestación, de Graaf⁴⁴ sí encuentra, en primigrávidas, niveles significativamente mayores de AFP, así como niveles más bajos de PAPP-A (que no alcanzaron significación estadística) y ningún efecto en la fβHCG. Y Spencer¹³ halló, en gestaciones euploides y sin complicaciones, una tendencia de la TN a disminuir y de PAPP-A y fβHCG a aumentar conforme aumentan la gravidez y la paridad, no estadísticamente significativa en ningún caso. A través de estos estudios se puso de manifiesto que la historia obstétrica influye sobre los niveles de los marcadores bioquímicos.

Kagan et al.⁴² dedujeron del efecto del peso materno y el CRL sobre los marcadores bioquímicos, que el riesgo específico para síndrome de Down en cada paciente disminuye con el peso materno y aumenta conforme lo hace el CRL. De esta manera, la corrección de los niveles en función del peso materno aumenta ligeramente la tasa de detección de cromosomopatías o disminuye la tasa de falsos positivos⁴⁴. Spencer recomienda realizar el ajuste mediante regresión lineal logarítmica⁵⁵.

El método secuencial de ajuste para cada parámetro de forma individual tiene el inconveniente de no considerar la interacción de estas variables entre sí, y para obviar este problema han surgido estudios en los que se realizó regresión múltiple⁴².

Las concentraciones de β HCG generalmente disminuyen con la edad gestacional, mientras que las de PAPP-A aumentan.

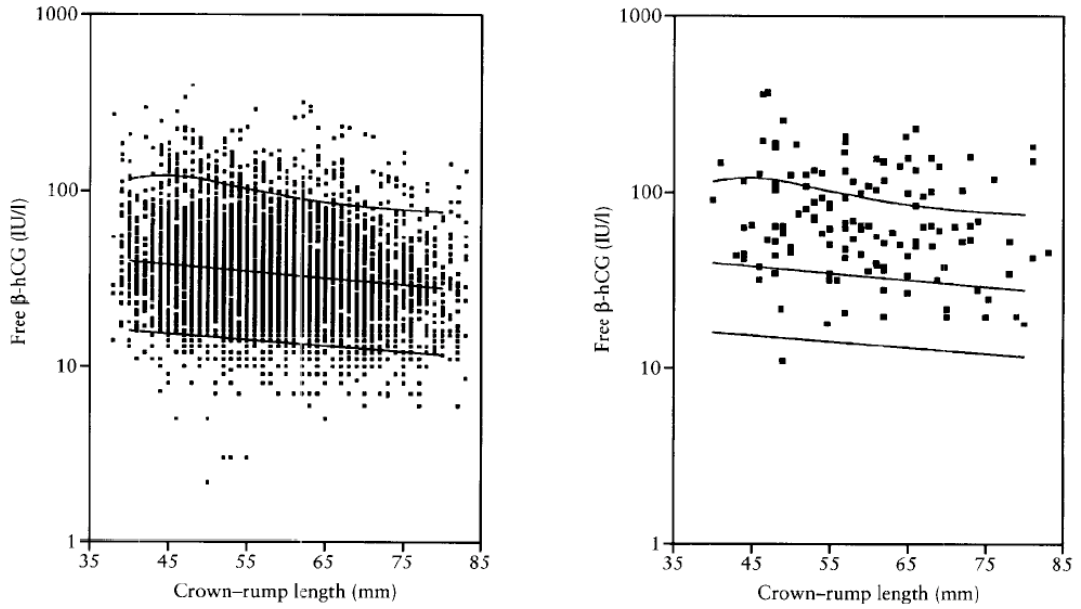


Figura 9. Concentraciones de β HCG en suero materno en función de la CRL, en gestaciones euploides (izquierda) y con síndrome de Down (derecha)⁵.

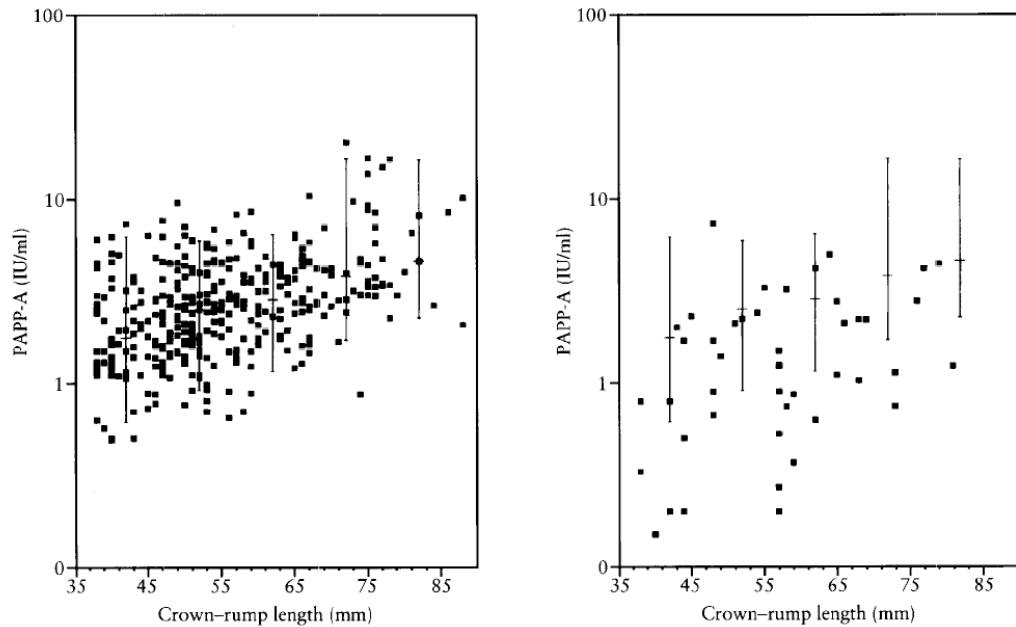


Figura 10. Concentraciones de PAPP-A en suero materno en función de la CRL, en gestaciones euploides (izquierda) y con síndrome de Down (derecha)⁵.

Edad de gestación (semanas completadas)	n	percentil 5 (IU/L)	Media (IU/L)	percentil 95 (IU/L)
11+0	> 5 000	0,632	1,587	3,986
12+0	> 5 000	1,040	2,612	6,560
13+0	> 5 000	1,543	3,874	9,730
14+0	> 5 000	2,062	5,178	13,005

Tabla 9. Valores de PAPP-A en suero materno, entre las semanas 11 y 14, utilizando BRAHMS KRYPTOR PAPP-A¹⁰.

Mientras la mediana de ambos marcadores séricos en la población euploide es 1'0, en las gestaciones con feto afecto de síndrome de Down la mediana de la fβHCG se sitúa en 2'0 y la mediana de la PAPP-A en 0'5¹⁸.

El cribado bioquímico basado en la edad materna y los dos marcadores séricos tiene una tasa de detección del 65%, con un 5% de falsos positivos. Globalmente, ofrece mejores resultados en la semana 11 que en la 13, con una contribución relativa mayor de la PAPP-A a las 11 semanas, y de la fβHCG a las 13 semanas.

A medida que progresa la gestación la diferencia en la concentración sérica materna de fβHCG entre gestación euploides y aneuploides aumenta, mientras que en el caso de la PAPP-A esta diferencia disminuye conforme aumenta la edad gestacional^{2,12}.

Bindra et al.¹⁰, en un estudio con 15030 gestaciones, no encontraron en aquellas afectas por síndrome de Down diferencias significativas en la fβHCG expresada en MoM (corregida por CRL y peso materno), conforme aumentaba la CRL; pero sí observaron un aumento con la CRL en el caso de la PAPP-A.

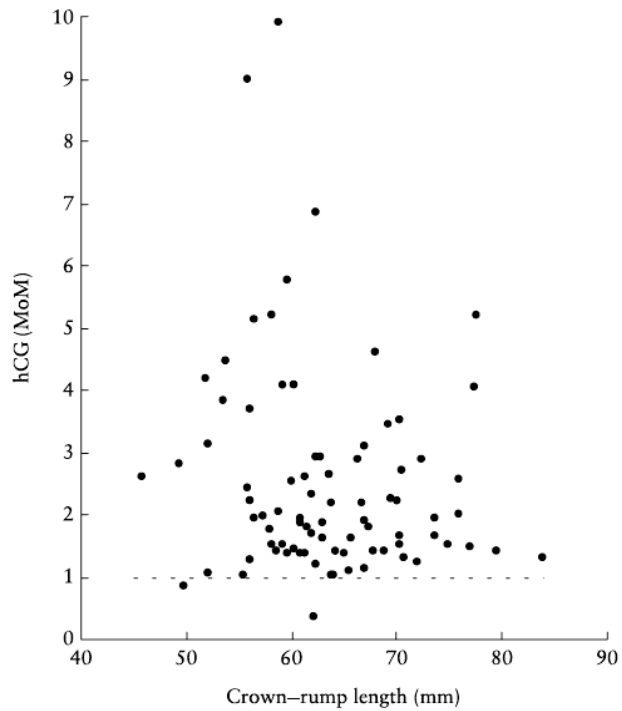


Figura 11. Distribución de los MoM de β HCG en suero materno en gestaciones con trisomía 21, en función de la CRL y el peso materno, según Bindra et al. El valor normal es 1 MoM (línea de puntos)¹⁰.

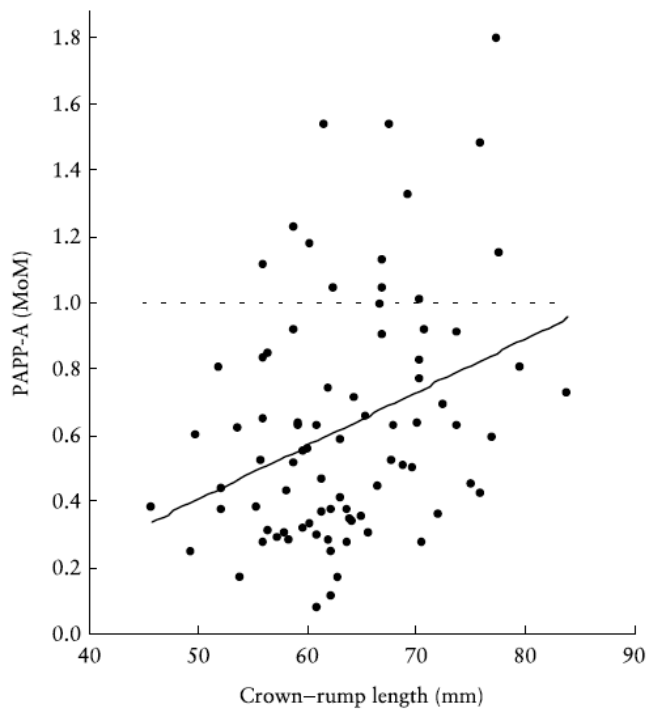


Figura 12. Distribución de los MoM de PAPP-A en suero materno en gestaciones con trisomía 21, en función de la CRL y el peso materno, según Bindra et al. Se ve un incremento significativo con la edad gestacional (línea de regresión). El valor normal es 1 MoM (línea de puntos)¹⁰.

Por ello, la $f\beta HCG$ discrimina gestaciones euploides y aneuploides de forma igualmente efectiva a las 11 semanas y a las 13 (de forma similar a la TN), mientras que la PAPP-A, que es el marcador bioquímico de cromosomopatía más potente en el primer trimestre, distingue mejor las trisomías en la semana 11 que en la 13, y pierde por completo su capacidad discriminativa en la semana 15³.

La definición de límites en las semanas de gestación es muy importante debido a que los diferentes marcadores son útiles en unas semanas determinadas, y sus asociaciones deben responder a las semanas de la gestación comunes en las que son efectivos. Así, el PAPP-A es un buen marcador entre las 8 y 13 semanas, la AFP lo es entre la 13 y la 20, y la $f\beta HCG$ entre la 9 y 20⁹.

En realidad, para la eficacia óptima del cribado en el primer trimestre, se debería obtener la muestra para marcadores bioquímicos unas dos semanas antes de la realización de la ecografía. Una vez realizada ésta, para datar la gestación y obtener el valor de TN, se puede calcular de modo inmediato y automatizado el riesgo combinado de trisomía para informar a la paciente. Esto tiene los inconvenientes de aumentar la posibilidad de perder pacientes y diferir el resultado durante varios días después de la extracción de sangre. Por ello la tendencia es a realizar todo el cribado en una sola visita, que en este caso será preferible en la semana 12 debido a la mayor significación relativa de la medición del grosor de la TN en el algoritmo de estimación del riesgo y a que en esta semana se puede realizar una valoración morfológica precoz por ecografía, para descartar malformaciones graves^{3,10}.

La tabla siguiente, extraída del trabajo de Kagan et al.⁴², muestra las tasas de detección y de falsos positivos (FP) para síndrome de Down mediante edad materna, $f\beta HCG$ y PAPP-A, en la semana 12 de gestación (para un punto de corte del riesgo de 1:100). El grupo de referencia es una gestante múltipara caucasiana,

no fumadora, que concibió espontáneamente. El interés de la tabla está en que muestra la diferencia en los resultados de la técnica de cribado si no se hicieran ajustes en función de las variables. De esto se deduce que la correcta estimación del riesgo mediante marcadores bioquímicos depende del ajuste por las características maternas.

Grupo	Tasa de FP (%)	Sensibilidad (%)
Referencia	4,6	68
Afro-caribeña	1,4	51
Sur Asia	3,3	63
Este Asia	4,2	66
Fumadora	7,0	74
FIV	7,6	75
Nulípara	4,5	68

Tabla 10. Influencia de las variables maternas en la sensibilidad y TFP del cribado por edad + bioquímica, sin realizar correcciones. Los resultados están realizados a partir de un punto de corte para alto riesgo de 1:100⁴².

Las alteraciones endocrinas en suero materno, en gestaciones con síndrome de Down, han sido atribuidas a inmadurez de la función feto-placentaria o a un cambio en el equilibrio de la secreción de proteínas entre feto y placenta⁴¹. Sin embargo, otros autores, tras valorar la expresión del RNAm de la β HCG en la placenta y la decidua, sugieren que el aumento de $f\beta$ HCG en suero materno en gestaciones con trisomía 21 puede ser consecuencia de una alteración en la fase post-traducción de la biosíntesis de la molécula de HCG⁶².

Respecto a otras cromosopatías, se puede decir que niveles disminuidos de ambos marcadores se asocian con un aumento del riesgo de síndrome de Edwards (trisomía 18) y de Patau (trisomía 13)²⁰. En las aberraciones de los cromosomas sexuales la $f\beta$ HCG es normal y la PAPP-A está disminuida. En la triploidía de origen

paterno la $f\beta\text{HCG}$ está muy aumentada y la PAPP-A está ligeramente disminuida. En la triploidía de origen materno hay niveles muy bajos tanto de $f\beta\text{HCG}$ como de PAPP-A².

	$f\beta\text{HCG}$	PAPP-A
TRISOMÍA 21	↑↑	↓↓
TRISOMÍA 18	↓↓	↓↓
TRISOMÍA 13	↓↓	↓↓
CROMOSOMOPATÍAS SEXUALES	Normal	↓↓
TRIPLOIDÍA PATERNA	↑↑↑	↓
TRIPLOIDÍA MATERNA	↓↓↓	↓↓↓

Tabla 11. Comportamiento de $f\beta\text{HCG}$ y PAPP-A en las distintas cromosomopatías.

De esta manera, vemos que $f\beta\text{HCG}$ y PAPP-A son productos placentarios, pero en sus niveles, para una gestación determinada, influye una serie de factores maternos, que parecen intervenir en la producción y/o el metabolismo de estos analitos. La literatura nos muestra que los niveles de los marcadores se ven modificados en función de la paridad y la gravidez previas, del sexo fetal, y también dependiendo de si la gestación anterior fue aneuploide o no.

8. LAS GESTACIONES SUCESIVAS.

Algunos autores han señalado la necesidad de realizar ajustes en el cribado combinado de gestaciones sucesivas en la misma paciente (de cara, sobre todo, a evitar una aparente tendencia a la repetición de resultados falsos positivos)^{40,63}. La idea de usar los resultados del cribado de una gestación previa deriva de la teoría

de que cada mujer tiene su propio nivel de marcadores y una tendencia al comportamiento de estos (respecto a producción, distribución y eliminación) que se mantiene más o menos estable entre diferentes gestaciones. De esta manera, si en una gestación previa los marcadores indicaban cierto riesgo de síndrome de Down (falso positivo), en la siguiente gestación un resultado parecido puede considerarse menos alarmante. Por el contrario, si en una gestación previa los marcadores bioquímicos indicaron un riesgo muy bajo, un resultado más cercano al alto riesgo sería menos tranquilizador, incluso aunque no estuviera realmente en límites de alto riesgo (pero indicaría un riesgo aumentado respecto a la propia paciente, en su gestación anterior)⁶³. Es decir, en la evaluación del riesgo, hay que tener en cuenta el comportamiento de las variables en cada individuo, cuando tenemos más de una gestación para comparar. Todo esto se ve apoyado por el hecho bien conocido de la correlación condicionada por características propias de la madre, sean susceptibles o no de cambio, como la raza y el peso. Sin embargo, la tendencia a repetir resultados falsos positivos de manera recurrente disminuye con la edad, ya que se obtiene con menor frecuencia valores extremos de los marcadores (que conducen a resultados positivos del cribado)^{39,64}. Lo que no se conoce es la influencia sobre los marcadores, entre gestaciones sucesivas, de factores genéticos paternos; es decir, dependiendo de si el progenitor masculino es la misma persona o no⁶³.

Hasta finales de los años '90 se publicó una serie de artículos⁶⁴⁻⁶⁷ que mostraban una correlación significativa entre los logaritmos de los valores en MoM de ciertos marcadores bioquímicos del cribado del segundo trimestre, en dos gestaciones sucesivas en una misma paciente; pero no se encontró utilidad práctica a la introducción de un factor de corrección por el mínimo efecto que causaría en el resultado del cribado⁶³. Los marcadores estudiados y los índices de correlación hallados se resumen en la tabla 12.

Autores	Marcador	Índice de correlación (r)
Wald & Cuckle 1981 ⁶⁵	AFP	0,31
Holding & Cuckle 1994 ⁶⁴	AFP	0,27
	HCG	0,38
	Estriol	0,28
Dar 1996 ⁶⁶	AFP	0,33
	HCG	0,30
Spencer 1997 ⁶⁷	AFP	0,24
	fβHCG	0,36

Tabla 12. Publicaciones en los años '80 y '90 sobre el estudio de los marcadores del cribado del segundo trimestre en gestaciones sucesivas. *r* es el índice de correlación entre marcadores, en dos gestaciones sucesivas.

Ya en 1996, Dar et al.⁶⁶ encontraron una predisposición individual, que se repite en las sucesivas gestaciones, a niveles anómalos de determinados marcadores séricos, influenciada por factores ambientales o genéticos. Habían estudiado 2361 mujeres con dos gestaciones sucesivas, en las cuales obtuvieron la medida de la α fetoproteína (AFP), así como la HCG en 1816 de ellas. El riesgo relativo de obtener un segundo resultado elevado de la AFP (≥ 2 MoM) fue de 6'5, en comparación con las mujeres con un resultado previo normal; y el riesgo relativo de un segundo resultado disminuido ($\leq 0'5$ MoM) fue de 3'8. El riesgo relativo de repetir resultados anormalmente altos o bajos respecto a la HCG fue de 3'9 y 2'2, respectivamente.

Según Holding y Cuckle⁶⁴, las mujeres con resultado falso positivo (FP) para el cribado de síndrome de Down en una gestación previa, tienen mayor riesgo de obtener un resultado falso positivo en la gestación actual. Esto ocurre porque un marcador sérico de cribado como la alfafetoproteína (AFP), en una gestación previa, está asociado con el nivel de dicho marcador en gestaciones sucesivas⁶⁵. Este hecho parece lógico dados los factores individuales maternos que parecen determinar, al menos en parte, los niveles de los marcadores en gestaciones sucesivas. Según estos mismos autores, en el segundo trimestre de gestación, las

mujeres con riesgo elevado de cromosomopatía en la primera gestación tienen 5 veces más probabilidad de repetir este riesgo en la siguiente gestación. También se ha observado que las mujeres que tuvieron un nivel de AFP elevado, marcador de riesgo de DTN, también tenían un riesgo 5 veces aumentado de repetir este resultado falso positivo⁶⁷.

Esto sugiere que hay factores genéticos o maternos adicionales que influyen sobre los niveles de estos marcadores séricos, aparte de los mal comprendidos factores fisiológicos. La correlación de los marcadores en gestaciones sucesivas es pequeña pero se mantiene constante, de manera que, si bien no influye significativamente en el cribado de forma global, sí lo hace en las pacientes que tuvieron un resultado FP en la gestación anterior.

Larsen et al.⁶³ sí encuentran utilidad práctica a la introducción de un factor de corrección, en el cribado de aneuploidías, que tenga en cuenta las gestaciones previas, sobre todo en centros (como es el caso del nuestro) con posibilidades de modificar el cálculo del riesgo según su programa informático. El beneficio sería equiparable al obtenido de la corrección por el peso materno. Si no se puede implementar de forma rutinaria, sí al menos debería tenerse en cuenta de forma individual en determinados casos, junto con el consejo a la pareja, sobre todo en resultados de riesgo intermedio y alto o valores muy extremos de los parámetros bioquímicos.

Por otra parte, sería preciso estudiar la correlación entre una gestación normal y una, sucesiva, con cromosomopatía, puesto que los estudios asumen la misma correlación entre gestaciones euploides y entre una euploide y otra aneuploide, para los cálculos del impacto de un factor de corrección sobre el cribado⁶³.

Igualmente hay que tener presente que la edad media de las mujeres con al menos una gestación previa es mayor que la edad media de toda la población en estudio. Para ello, Larsen dispuso una distribución etaria, que puede variar entre distintas

poblaciones según sus características y que puede no ser exacta, pero debe tenerse en cuenta para reflejar estas particularidades⁶³.

La correlación entre marcadores conduce a una correlación entre los riesgos, pero hay que tener en cuenta que el riesgo de la primera gestación incluye la edad de la paciente en ese momento, lo cual no influye en modo alguno sobre el riesgo de la segunda gestación. El empleo de las *likelihood ratio* puede servirnos para disponer de la información respecto de las demás variables y obviar el factor edad.

Hay situaciones en las que el uso de los ajustes puede ser inapropiado, por ejemplo si una paciente era fumadora en la primera gestación, pero no en la segunda³⁸. Igualmente puede ser innecesario ajustar respecto a una gestación anterior si ésta fue cribada en los últimos diez meses, puesto que entonces es muy probable que esta gestación previa haya terminado en aborto espontáneo o en interrupción por algún tipo de anomalía, lo cual se asocia con valores extremos patológicos de los marcadores.

Huang et al.⁴⁰, en el análisis de más de 50.000 pacientes con dos o más gestaciones con cribado de cromosopatías en el segundo trimestre, encontraron una tasa de falsos positivos (FP) 2,5 veces mayor de lo esperado en dicho cribado, en mujeres que habían tenido un resultado FP previo; y 3,9 veces mayor en mujeres con dos resultados FP previos. Estas tasas podrían reducirse significativamente con un ajuste en el cribado que considerara la gestación previa. La influencia del resultado del cribado en la gestación previa parece mantenerse de forma prolongada en el tiempo.

A partir del año 2000 hay estudios que incluyen los marcadores del cribado de aneuploidías en primer trimestre^{38-40,68-70}. Las correlaciones halladas se muestran en la siguiente tabla; para la TN, no fueron estadísticamente significativas en ninguno de los estudios:

Autores	Marcador	Índice de correlación (r)
Spencer 2001 ⁶⁸	TN	0,08
	PAPP-A	0,32
	fβHCG	0,41
Spencer 2002 ⁶⁹	TN	0,09
	PAPP-A	0,43
	fβHCG	0,39
Wald 2004 ³⁹	AFP	0,41
	Estriol	0,26
	HCG	0,42
	fβHCG	0,42
	fαHCG	0,38
	Inhibina A	0,40
Abdul-Hamid 2004 ⁷⁰	AFP	0,41
	fβHCG	0,47
Wald 2006 ³⁸	TN	0,11
	PAPP-A	0,42
	fβHCG	0,49
Huang 2007 ⁴⁰	AFP	0,40
	Estriol	0,31
	fβHCG	0,41

Tabla 13. Publicaciones a partir de 2000 sobre el estudio de los marcadores del cribado del primero y segundo trimestre en gestaciones sucesivas. *r* es el índice de correlación entre marcadores, en dos gestaciones sucesivas. No fueron estadísticamente significativas para TN.

Como vemos, si bien la casuística es amplia en cuanto al estudio del comportamiento de los marcadores bioquímicos de cromosopatías en el segundo trimestre, el número de estudios es escaso en cuanto a los marcadores del primer trimestre (PAPP-A y fβHCG):

- Spencer⁶⁸ realizó en 2001 un estudio con 149 pacientes con dos gestaciones sucesivas; pese al reducido tamaño muestral, pudo poner de manifiesto por primera vez la ausencia de correlación de la TN entre gestaciones sucesivas, así como la presencia de una correlación significativa para la fβHCG (similar a la observada en segundo trimestre) y para la PAPP-A (algo mayor que para la AFP en segundo trimestre). De esta manera, un resultado

FP en una primera gestación aumentaría el riesgo de otro FP en la segunda entre 1,5 y 2 veces.

- El mismo autor realizó en 2002 otro estudio⁶⁹, retrospectivo como el anterior, esta vez con 1002 pacientes con dos gestaciones euploides sucesivas. El estudio ampliado muestra resultados similares al inicial, si bien cabe destacar que en este caso encuentra un aumento de 2 a 3 veces en el riesgo de un FP recurrente. Las correlaciones entre marcadores bioquímicos parecen más fuertes en los del primer trimestre que en los del segundo.
- Wald³⁸ calculó en 2006 los coeficientes de regresión a través del estudio retrospectivo de dos gestaciones normales consecutivas en 401 mujeres. De esta manera, introduciendo los factores de corrección obtenidos, encuentra un aumento de la sensibilidad de la prueba entre 3-6% para un 1% de falsos positivos, o una reducción de los FP en un tercio aproximadamente para una tasa de detección del 85%. Así, las pacientes que tuvieron un resultado FP en una gestación previa ven reducidas las posibilidades de que ese resultado se repita en aproximadamente dos tercios. Esta corrección sólo debe aplicarse a pacientes con una gestación previa no afectada por síndrome de Down.

Respecto a la modificación de los marcadores bioquímicos tras una gestación previa con aneuploidía, es importante recordar que no se puede aplicar el cálculo del riesgo de la misma manera. Hay que tener en cuenta que, en una minoría de casos, el riesgo de recurrencia puede ser alto por una alteración del genotipo parental. La mayoría de las veces, sin embargo, el riesgo puede recalcularse añadiendo un porcentaje fijo al riesgo *a priori* por edad, y a partir de ahí, aplicar el cribado según la estrategia habitual. Sin embargo, algunos autores han puesto de manifiesto que esta corrección no es exacta porque los marcadores bioquímicos no se comportan de la misma manera tras una gestación euploide o aneuploide⁷¹. Se ha comprobado un aumento significativo de los niveles de los marcadores bioquímicos del primer trimestre, tras una gestación aneuploide (10% para fβHCG y 15% para

PAPP-A). La dispersión de $f\beta HCG$ es también mayor tras una gestación aneuploide, mientras que se mantiene similar para la PAPP-A. Esto, en conjunto, llevaría a una sobreestimación del riesgo a cuenta de la $f\beta HCG$ y a una infraestimación por parte de la PAPP-A. En estrategias en que se usa ambos marcadores las diferencias tienden a anularse pero, aunque el sesgo sería más grave en cribados con uno solo de los marcadores, conviene hacer una corrección. La más sencilla sería dividir el nivel de $f\beta HCG$ obtenido entre 1,10, y el de PAPP-A entre 1,15; y después calcular el riesgo según la estrategia de cribado utilizada habitualmente. Esto implica asumir que el aumento de los niveles de los marcadores sería el mismo tanto si la nueva gestación es euploide como si es aneuploide (hasta el momento no hay casuística suficiente que contradiga esta suposición, y por ello se considera válida).

La importancia de la influencia de los resultados del cribado en una gestación anterior se ve incrementada por la constatación de que las pacientes con un resultado FP en una gestación previa son más susceptibles de rechazar la realización del cribado en una gestación posterior. Rausch et al.⁷² estudiaron dos grupos de 108 mujeres, ajustados por edad para hacerlos comparables, uno de ellos con cribado previo positivo en el segundo trimestre de gestación para riesgo de síndrome de Down o de defectos del tubo neural, y el otro con resultado normal. Encontraron que la participación en el test de cribado en una gestación posterior era significativamente menor en el grupo con un falso positivo previo, de manera que este resultado repercutiría en un 64% menos de participación en el cribado en una gestación posterior en comparación con el grupo de resultados verdaderos negativos. Lo atribuyeron a la ansiedad generada por el resultado previo, ya que no vieron diferencias en función del grado de riesgo. Y concluyeron la necesidad de disminuir los falsos positivos para hacer más estables los niveles de participación. La ansiedad producida por un resultado positivo en un test de cribado puede reducirse si se da previamente una información adecuada a las pacientes: propósito del test, posibilidad de obtener un resultado positivo y secuencia de decisiones y procedimientos que siguen a esta situación^{72,73}. Parece evidente que la información

anterior a la prueba puede modificar la actitud de la paciente, tanto a favor como en contra de participar, pero esta información es en general deficiente por parte de los profesionales sanitarios. Muchas mujeres que rechazan el cribado en una gestación posterior, motivadas por un resultado falso positivo previo, están dispuestas sin embargo a realizar otro tipo de pruebas como ecografía dirigida a la búsqueda de marcadores, o asumen el riesgo de las pruebas de diagnóstico invasivo (amniocentesis, biopsia corial). Se cree que una mayor información sobre las pruebas de cribado y el significado de un resultado positivo puede hacer que las mujeres se adhieran en mayor proporción en gestaciones sucesivas, tras un resultado falsamente positivo.

Por ello, se ha planteado la conveniencia, y valorado la posibilidad, de corregir la asociación entre los resultados de una gestación y otra⁶³, aunque algunos autores consideran que los beneficios son escasos⁶⁷ ya que en la población total el aumento de la tasa de detección de cromosopatías sería menor del 2%. Los autores⁶⁹ que no encuentran una gran repercusión para la población general en introducir un factor de corrección en función de los resultados en una gestación previa, sí destacan la utilidad a nivel individual de esa información para aconsejar de manera puntual a algunas pacientes, en casos de riesgo elevado en el cribado.

A efectos prácticos, si la corrección aporta un beneficio escaso, puede no ser eficiente introducir este nuevo factor, que obliga a una anamnesis más prolongada en el tiempo para completar los datos necesarios. Por otro lado, si la corrección se utiliza como una estrategia ocasional y no generalizada, en los casos con riesgo alto puede resultar complejo y tener diferentes implicaciones legales individualizar en función de los resultados de la gestación previa (por ejemplo, modificar la toma de decisiones y no realizar una técnica de diagnóstico invasivo, a pesar de tener un resultado positivo en la prueba de cribado).

Dar et al.⁶⁶ proponen ajustar el riesgo individual de síndrome de Down u otro resultado adverso de la gestación, teniendo en cuenta niveles de los marcadores

inexplicablemente altos o bajos en una gestación previa. Este y otros autores mostraron métodos de corrección que conducen a una estimación del riesgo más precisa, aunque sólo aumenta la detección a nivel de población en menos del 2%. Entre los autores que defienden la corrección de los valores ajustando según los resultados en una gestación previa se encuentran Wald et al.^{38,39}, que sostienen que mediante este ajuste se puede mejorar el cribado y reducir la tasa de falsos positivos. Estos ajustes pueden ser aplicados utilizando el mismo software que se emplea en la interpretación del cribado de la paciente.

El método propuesto por Wald^{38,39} para realizar esta corrección consiste en lo siguiente: para cada marcador sérico, los valores expresados en MoM se ajustan teniendo en cuenta los valores en la gestación previa, usando el coeficiente de regresión b de los valores de la gestación actual en correlación con los de la gestación anterior. El valor observado en MoM se divide entre el valor esperado, que es igual al valor en MoM del marcador en la gestación previa, elevado a b .

El efecto esperado por el ajuste sería una mejora discreta de la tasa de detección para una tasa determinada de falsos positivos: las estimaciones de alto riesgo se verían reducidas si el resultado en una gestación previa fue de alto riesgo; mientras que los individuos de bajo riesgo verían incrementado ligeramente el riesgo si el resultado en la gestación previa fue un verdadero negativo. Al igual que sucede con el ajuste por el peso materno, se reduce la dispersión de las medidas y el solapamiento en la distribución de los riesgos, entre gestaciones afectas y no afectas por cromosomopatía³⁹.

Asimismo, en su estudio de 2004, Wald³⁹ encuentra para el test cuádruple del segundo trimestre que en pacientes con un resultado FP en la primera gestación hay un riesgo de repetir el FP del 20%, lo cual supone triplicar la tasa general de FP. Con el mismo método de ajuste Huang⁴⁰, en 56688 gestaciones euploides sucesivas cribadas en el segundo trimestre, encontró una reducción de la tasa de falsos positivos recurrentes desde un 26,4% al 10,7% (coincidente con la tasa esperada), lo cual supuso una reducción de la tasa de falsos positivos en la población total cribada desde un 8% a un 7%.

Esta forma de corrección no tiene en cuenta que, para los valores de MoM ajustados, las desviaciones estándar tienden a ser menores y por tanto los coeficientes de correlación podrían ser ligeramente diferentes, aunque Wald³⁸ no encontró grandes influencias de este hecho sobre la efectividad del programa de cribado. Por otro lado, la escasez de datos respecto a una gestación con síndrome de Down tras una gestación euploide hizo a Wald asumir el efecto sumatorio de la aneuploidía y la correlación entre marcadores y de esta manera utilizó los mismos coeficientes de correlación.

En este trabajo analizaremos nuestra propia población para estudiar el comportamiento de las variables del cribado combinado del primer trimestre en mujeres con más de una gestación.

OBJETIVOS

Describir la población gestante en estudio, sometida a cribado del primer trimestre.

Determinar la tasa de detección de la prueba de cribado, en condiciones reales, en la población en estudio.

Tras excluir las gestaciones aneuploides, estudiar retrospectivamente los valores del cribado de cromosopatías en las pacientes de nuestra población, y valorar el comportamiento de las variables incluidas en dicha prueba de cribado, con especial atención a los marcadores bioquímicos y a las diferencias debidas a sexo fetal, gravidez, y entre gestaciones sucesivas.

Se trata de ver si es posible predecir el comportamiento de las variables tras los resultados en una primera gestación, determinar si esto influye en la tasa de falsos positivos (y si aumenta la posibilidad de tener un falso positivo tras uno previo en una gestación previa) y por último, buscar un posible factor de corrección para soslayar este posible efecto.

Asimismo, se intentará comprobar si hay diferencias en las correlaciones entre marcadores, en gestaciones sucesivas, en función del sexo fetal.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los valores de los parámetros bioquímicos, en el cribado combinado de cromosopatías en el primer trimestre de gestación, pueden no ser variables independientes en el mismo individuo en gestaciones sucesivas, lo cual puede disminuir la tasa de detección en estos individuos y/o aumentar los falsos positivos, si no se introducen los factores de corrección pertinentes.

Dado que el comportamiento de las variables es diferente en función del sexo fetal, la correlación de los marcadores en gestaciones sucesivas también puede variar en función de este parámetro.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. POBLACIÓN, VARIABLES Y DISEÑO DEL ESTUDIO.

Se trata de un estudio observacional retrospectivo de toda la población gestante del Área Sanitaria 7 de la Comunidad de Madrid, que ha acudido para cribado de cromosomopatías durante el primer trimestre de la gestación a su centro asociado (Hospital Clínico San Carlos), desde la instauración de la técnica en Julio de 1999 hasta Diciembre de 2009 (tamaño muestral N = 21363).

Esta muestra no comprende toda la población gestante que se atiende en el hospital, pero la determinación exacta de dicha población no resulta posible por varios motivos:

- hay pacientes del Área Sanitaria 7 que, por llegar tarde al cribado del primer trimestre o por mal control obstétrico general, no constan en nuestra base de datos, aunque el resto de los controles del embarazo y/o el parto se produzcan en nuestro hospital;
- por otro lado, el registro de partos del centro no incluye todas las pacientes que en un momento del embarazo son evaluadas en el entorno hospitalario, porque en algunos casos el parto se atiende en un centro distinto;
- por último, hay un porcentaje pequeño de pacientes que en un determinado momento de la gestación, o durante el parto, son atendidas en el centro, pero no pertenecen a nuestra Área Sanitaria.

En todo caso, dado lo ampliamente extendido que está el cribado combinado entre la población gestante, se estima que nuestra muestra corresponde a más del 80% de la población total, lo cual la convierte en una muestra razonablemente representativa de la población del Área Sanitaria 7 de la Comunidad de Madrid.

Sólo se incluyó a pacientes con gestaciones simples (dado que en las gestaciones múltiples el cribado bioquímico no se considera válido), con feto vivo y edad gestacional entre 11 y 13+6 semanas (longitud cráneo-caudal o CRL entre 45 y 84 mm), confirmada por ultrasonido, ya que es el rango en que se realiza el cribado del

primer trimestre. Por tanto, no se contabilizan los abortos precoces, previos a la edad gestacional en que se realiza el cribado. Además, hubo que excluir a 169 pacientes por error en el procesamiento de datos. En los primeros meses del período de cribado se admitió en algunos casos CRL menores de 45 mm; estos casos han sido incluidos en el estudio puesto que pudieron ser cribados con ecografía y analítica en el mismo día.

El cribado consiste en un cálculo del riesgo de cromosomopatías, combinando:

- el riesgo *a priori* por la edad materna,
- ecografía en la que se mide la CRL y la TN, y
- marcadores bioquímicos (PAPP-A y $f\beta HCG$).

Con la base de datos original, incluyendo a todas las pacientes (salvo las 169 con errores en el procesamiento de datos), se analiza y describe las características de la población y del método de cribado utilizado a través de los siguientes parámetros y variables:

- edad materna,
- raza (blanca, negra, amarilla, otras, desconocida),
- peso materno,
- consumo de tabaco (dicotómica),
- diabetes mellitas (dicotómica),
- edad gestacional media por fecha de última regla (FUR) en el momento del cribado,
- edad gestacional media en el momento del parto,
- distribución por sexo de los recién nacidos,
- peso medio de los recién nacidos,
- distribución de los valores de TN, PAPP-A y $f\beta HCG$ (media, mediana, DS, rango intercuartílico), expresados de forma absoluta y en MoM, en la población total,

- distribución de los valores de TN, PAPP-A y fβHCG en función de la edad gestacional (mediana de los valores de todas las pacientes cribadas cada semana de gestación),
- distribución de los MoM de TN, PAPP-A y fβHCG en función del sexo del recién nacido (media e intervalo de confianza al 95%),
- proporción de pruebas de diagnóstico invasivo realizadas en la población,
- proporción de cromosopatías en la población total (diagnosticados pre y postnatalmente),
- tipo de cromosopatía que presentan los individuos aneuploides,
- análisis de la capacidad de detección de cromosopatías de cada estrategia de cribado:
 - tasa de detección de la prueba (sensibilidad), que se describe como la capacidad de una prueba para detectar individuos afectados, y responde a la fórmula:
$$S = VP / (VP + FN)$$
 - tasa de falsos positivos, que refleja la especificidad, definida como la capacidad de la prueba para detectar individuos sanos, y se expresa mediante la fórmula:
$$E = VN / (VN + FP)$$
 - valor predictivo positivo, que expresa la probabilidad de que un individuo con un resultado positivo en la prueba, esté realmente afecto, y se expresa con la fórmula:
$$VPP = VP / (VP + FP)$$
 - valor predictivo negativo, que expresa la probabilidad de que un individuo con un resultado negativo en la prueba, esté realmente sano, y se expresa a través de la fórmula:
$$VPN = VN / (VN + FN)$$
- tasa de detección específica de trisomía 21, trisomía 13 y trisomía 18,
- sensibilidad de la prueba de cribado por cada año en que se ha realizado la prueba en el Hospital Clínico San Carlos,

- curvas ROC de PAPP-A, fβHCG y TN, para detección de cromosomopatías en general y de trisomía 21 en concreto.

Después de la descripción de la muestra, se selecciona y extrae el grupo de pacientes que han tenido más de una gestación (entendiendo como tal, las que tienen más de un cribado del primer trimestre en el periodo de estudio), sin distinguir las que llegan a término de las que finalizan antes de término o las que son interrumpidas, espontáneamente o de forma terapéutica. En este subgrupo, se estudia:

- la distribución de la edad materna en cada gestación,
- la sensibilidad y la TFP de la prueba de cribado en función del número de gestaciones, con especial atención a la tasa de falsos positivos tras un FP previo,
- la distribución (media, DS, error típico, IC al 95%) de las variables PAPP-A, fβHCG y TN en función de la gravidez (se incluye las pacientes con una sola gestación).

Por último, se extrae del subgrupo de pacientes multigrávidas todas las gestaciones de las pacientes con algún resultado aneuploide y, con la base de datos restante, se va a estudiar el comportamiento de los diferentes parámetros utilizados en la prueba de cribado del primer trimestre (TN, PAPP-A y fβHCG). A través de la intranet del Hospital Clínico San Carlos, se obtuvo información sobre el sexo de los nacidos.

A partir de estos individuos, se estudia:

- tendencia de los marcadores en función de la gravidez, tras discriminar por sexo de recién nacido,
- valores de los MoM de cada variable en gestaciones sucesivas,
- correlación (Rho de Spearman) de las variables en gestaciones sucesivas, en la muestra total y tras discriminar por sexo del recién nacido,
- diferencias entre las variables, en gestaciones sucesivas, en un mismo individuo (media, DS, error típico),

- correlación (Rho de Spearman) entre variables diferentes: en la misma gestación, en gestaciones diferentes, y tras discriminar por el sexo del recién nacido.

El Servicio de Análisis Clínicos (Diagnóstico Prenatal) investiga el resultado tras el nacimiento a través de consulta con el Servicio de Neonatología, y en ocasiones por vía telefónica hablando directamente con la paciente, si el parto se produjo en otro centro. Los datos se incluyen en la base de datos utilizada para este trabajo. Postnatalmente no se realizó estudio de cariotipo a todos los neonatos; se consideró cromosómicamente normales a aquellos con fenotipo normal y sin sospecha de aneuploidía.

En el diseño del estudio se ha tenido en cuenta la declaración STROBE⁷⁴, que incluye una serie de recomendaciones de lo que debe ser publicado en un estudio observacional.

2. ULTRASONOGRAFÍA Y MEDIDA DE LA TN.

Los ecógrafos utilizados para la medida de la CRL y la TN fueron Toshiba Xario SSA-660A (con sonda abdominal de 3,5 MHz y sonda vaginal de 6 MHz) o Siemens Antares 3.5.1. (con sonda abdominal de 3,33 MHz y sonda vaginal de 7,27 MHz).

Se realizó ecografía transabdominal en todas las pacientes. Se procedió a examen mediante ecografía transvaginal cuando hubo dificultad para la medición de la TN debido a mala transmisión ultrasonográfica (cicatrices en pared abdominal, panículo adiposo) o a la variedad de posición fetal. La edad gestacional se consideró según la medida de la CRL en esta ecografía.

La TN se midió según los protocolos recogidos por la Fetal Medicine Foundation^{2,14} y se expresó en milímetros, con una exactitud de décimas de milímetro.

En el cálculo del riesgo combinado, para los coeficientes de regresión que relacionan la CRL con la TN (polinómica logarítmica de segundo grado), se utilizó los publicados por Nicolaides et al.⁷⁵ en 1998.

En la misma ecografía se descartaba anomalías anatómicas fetales mayores. La medición de marcadores ecográficos secundarios de cromosomopatías (hueso nasal, onda A del ductus venoso, regurgitación tricuspídea) no estaba reglada en el Servicio y no se practicaba de forma homogénea entre todos los ecografistas. En el momento del examen ultrasonográfico se recogía también las características de la paciente: peso, talla, edad, raza, consumo de tabaco y presencia de diabetes.

3. MEDIDA DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS.

La muestra de sangre para la obtención de los parámetros bioquímicos se obtenía el mismo día de la ecografía, tras comprobar la viabilidad fetal y que el CRL estaba entre 45 y 84 mm (técnica *one step* o de un solo paso).

Las muestras se analizaron con KRYPTOR (Brahms Diagnostica GmbH, Berlin). Se precisa un kit específico para cada uno de los parámetros bioquímicos a determinar:

BRAHMS PAPP-A KRYPTOR⁷⁶ es un kit diseñado para el ensayo automático por inmunofluorescencia de PAPP-A, en suero o plasma heparinizado, con BRAHMS KRYPTOR. De la misma manera, BRAHMS Free β hCG KRYPTOR⁷⁷ analiza la subunidad beta libre de la HCG en suero.

Cada kit consiste en el anticuerpo monoclonal anti-PAPP-A o anti- β hCG libre, respectivamente, (conjugado con criptato de europio y con XL665); tampón, albúmina bovina, inmunoglobulinas inespecíficas de ratones, fluoruro de potasio; y un diluyente con suero de ternero neonato y conservantes.

El principio de medición BRAHMS KRYPTOR se basa en la tecnología TRACE (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission), que mide la señal que se emite desde un inmunocomplejo con retardo de tiempo. La base de la tecnología TRACE es la transferencia de energía no radiante desde un donador (una estructura similar a una jaula con un europio en el centro - criptato) hasta un aceptor, que es parte de

una proteína de las algas modificada químicamente, captadora de luz (XL655). La proximidad del donador (criptato) y el aceptor (XL655), cuando son parte de un inmunocomplejo, y el solapamiento espectral entre la emisión del donador y la absorción del aceptor, por una parte intensifican la señal fluorescente del citrato y por otra parte extienden la vida de la señal del aceptor, permitiendo la medición de la fluorescencia retardada temporalmente.

Para la medición de la concentración de analito se precisa incubar durante 19 minutos un volumen de 50 μL de suero o plasma heparinizado, para la PAPP-A; para la $\text{f}\beta\text{hCG}$ se precisa un volumen de 26 μL de suero. Las unidades empleadas serán mUI/L , en el caso de la PAPP-A; y ng/mL (con equivalencia $\text{ng/mL} = \text{UI/L}$) para la $\text{f}\beta\text{hCG}$.

Cuando se excita la muestra con un láser de nitrógeno a 337 nm, el donador (criptato) emite una señal fluorescente de vida larga en el intervalo de milisegundos a 620 nm, mientras que el aceptor (XL655) genera una señal de vida corta en el intervalo de nanosegundos a 665 nm. Cuando los dos componentes se unen en un inmunocomplejo, la amplificación de señal y también la prolongación de la vida de la señal del aceptor ocurren a 665 nm, de modo que se puede medir en microsegundos. Esta señal de vida larga es proporcional a la concentración del analito que se va a medir. Las señales no específicas, por ejemplo las señales del aceptor de vida corta y no ligado XL665 y las señales de interferencia específicas del medio, condicionales según sea la fluorescencia natural de la muestra, son eliminadas por el retardo temporal de la medición de fluorescencia. La señal generada por el criptato a 620 nm sirve como una referencia interna y se mide simultáneamente a la señal de vida larga del aceptor a 665 nm, que es la señal específica. Las influencias de interferencia, por ejemplo, a partir de sueros turbios, se corrigen automáticamente por medio de la relación calculada internamente de las intensidades a esas longitudes de onda.

Las muestras ictericas, hemolíticas o hiperlipémicas, aquellas que son turbias o que contienen fibrina pueden proporcionar resultados imprecisos, y están señalizadas por el analizador.

El riesgo individual de anomalías cromosómicas, considerando las variables bioquímicas, se calcula incluyendo todos los parámetros por medio de un software adecuado. Para este fin se recomiendan los siguientes programas: ViewPoint PIA Database o Astraia (algoritmo FMF UK), así como el software PCR, desarrollado por FMF Alemania^{76,77}.

El laboratorio debe garantizar una correcta recogida, transporte y procesamiento de las muestras así como la realización de controles internos (precisión intra e inter-ensayo) y externos, preferentemente de agencias internacionales ya bien establecidas (como el UK NEQAS for Maternal Serum Screening). Un laboratorio con acreditación para el cribado bioquímico debe procesar un mínimo de 1000 muestras al año, para cumplir los requisitos necesarios⁹.

Considerando que las concentraciones séricas de los marcadores bioquímicos varían con la edad gestacional, para que la distribución de los MoM de las diferentes concentraciones de un marcador para una población determinada sea Gaussiana, es muy importante que cada laboratorio calcule sus propias medianas, para cada semana de gestación, para cada técnica, para la población que habitualmente atiende, y que periódicamente las actualice. Las normalidades de las medianas deben calcularse con un mínimo de 100 muestras, para cada semana de gestación, en los intervalos semanales habituales para cada tipo de cribado.

Hay diversas técnicas matemáticas de regresión que permiten calcular las medianas para cada semana de gestación. La regresión se obtiene a partir de las medianas del marcador bioquímico para cada semana de gestación, ponderando o balanceando por el número de determinaciones disponibles en cada semana (la ponderación incrementa la precisión de la regresión en los extremos de ésta, esto es, en las semanas en las que generalmente se dispone de menor número de determinaciones). Si el cálculo de las medianas y la conversión a MoM de los distintos parámetros se hace correctamente, el valor esperable de la mediana de los MoM para una población amplia debe ser 1. Es aconsejable probar los distintos tipos de regresión para cada uno de los marcadores bioquímicos y observar el comportamiento de la correlación entre las medianas reales y las obtenidas por

regresión, para cada semana de gestación y para cada uno de ellos, así como los respectivos coeficientes de determinación antes de decidir que tipo de regresión utilizar en los cálculos de riesgo.

El programa SsdwLab V 4.1 recomienda utilizar regresión polinómica de 3^{er} grado decimal para la fβHCG, y regresiones polinómicas de 2^o grado decimales o logarítmicas para la PAPP-A⁹.

Los valores de los MoM de los marcadores bioquímicos deben ser corregidos para las características propias de cada embarazada. Ello se hace a partir de los factores de corrección publicados para cada marcador o calculados por el propio centro de cribado.

Respecto al peso materno, en particular, condiciona un factor de corrección (diferente para cada parámetro bioquímico) importante, puesto que la concentración de los marcadores en sangre materna es inversamente proporcional al volumen en que estos se diluyen, y este volumen depende del peso materno. Se recomienda hacer la corrección mediante el *método lineal recíproco* de Neveux⁴³, y calcular los coeficientes para cada marcador bioquímico, y para la propia población, puesto que la distribución de pesos de las gestantes puede variar mucho entre zonas o centros, y esto introduciría un error pequeño, pero evitable.

El programa SsdwLab v 4.1, calcula los factores de corrección mediante una regresión lineal decimal entre los MoM del marcador (sin correcciones) y el recíproco del peso de la paciente, ponderando por el número de determinaciones en cada intervalo de peso de 5 kg entre los 50 y los 90 kg. Se excluye a todas aquellas pacientes que presentan diabetes, hábito tabáquico y peso nulo, inferior a los 34 kg o superior a los 140 kg (la raza no es excluyente, ya que se puede calcular los factores de corrección para las diferentes razas). Para obtener los propios coeficientes de corrección por el peso materno es aconsejable disponer de un mínimo de 1000 pacientes para que sean fiables⁹.

Las correcciones introducidas sistemáticamente, para el cálculo de los valores de los marcadores bioquímicos, en el Hospital Clínico San Carlos, son referentes a:

- Peso materno.
- Consumo de tabaco.
- Diabetes mellitus.

No se realiza, con el programa actual, corrección por técnicas de reproducción asistida (que en general producen un aumento en la estimación del riesgo). El programa permite la introducción de una corrección por raza, pero esta resulta inestimable debido a la composición de nuestra población, con un mínimo porcentaje de mujeres de raza negra y asiática; la gran mayoría de las pacientes se incluye en la categoría de raza blanca, si bien esta categoría comprende las pacientes latinoamericanas con distintos tipos de mestizaje, que no pueden ser diferenciados con el programa utilizado en el hospital.

Por otro lado, se recoge sistemáticamente el dato de la talla materna, a efectos estadísticos, puesto que se cree que un ajuste por medio de la superficie corporal (para cuyo cálculo, se precisa el dato de la talla), podría ser más preciso que el ajuste por peso materno. Sin embargo, en la actualidad no se dispone de una ecuación que se ajuste mejor que la del peso; luego se recoge ese dato en previsión de la obtención eventual de una ecuación adecuada.

Por último, el ajuste por la presencia de metrorragias en primer trimestre no se hace sistemáticamente, sino entrevistando a la paciente y preguntándole por sus antecedentes en casos de valores inusualmente elevados de $f\beta hCG$, ya que se sabe que las metrorragias pueden elevar los niveles de este marcador.

4. CÁLCULO DEL RIESGO COMBINADO.

El riesgo para una gestante de que el feto esté afecto de una trisomía se calcula a partir de la probabilidad *a priori* basada en su edad. El riesgo no es el mismo para

las distintas aneuploidías (el riesgo *a priori* para trisomía 18 se considera aproximadamente 10 veces inferior al de trisomía 21). Este riesgo (epidemiológico) se combina con la información obtenida para los distintos marcadores utilizados (bioquímicos y ecográficos), con sus valores previamente transformados a MoM, y corregidos para los factores de variación descritos para cada uno de ellos. Todo el proceso de cálculo, muy complejo, se efectúa mediante programas informáticos especialmente diseñados para este fin⁹.

El riesgo *a priori* para la edad de la paciente se obtiene a partir del riesgo en el momento del parto, con una corrección al alza para poder expresarlo en el momento del cribado, considerando la pérdida fetal espontánea tardía. El programa utilizado en el Hospital Clínico San Carlos (SsdwLab V 4.1)⁹ permite realizar la corrección de dos maneras diferentes para poder expresar el riesgo o bien a término o bien en el momento del cribado. El método más utilizado es el *método discreto*, que calcula la letalidad intrauterina en una semana concreta de gestación. Para calcular los factores de corrección, debe expresarse la letalidad intrauterina entre el momento del cribado y el del parto, como tanto por uno, y esta cifra restarla de 1.

En el Hospital Clínico, el riesgo por edad se expresa en el momento del cribado; y utiliza el metanálisis de Cuckle⁶ para los cálculos.

El cálculo del riesgo que cada paciente tiene de gestar un feto con cromosopatía parte de un riesgo inicial o riesgo *a priori*, que depende de la edad materna y la edad gestacional, y que se va multiplicando por diferentes cocientes de probabilidad o *likelihood ratios* que dependen del resultado de las diferentes pruebas de cribado que son realizadas a la paciente.

El cociente de probabilidad de un parámetro ecográfico o bioquímico se basa en el conocimiento previo de la distribución poblacional Gaussiana de ese parámetro, para un grupo afecto y otro no afecto de la cromosopatía en concreto, y se calcula dividiendo el porcentaje de fetos aneuploides entre el porcentaje de fetos euploides con esa medida².

Tras la determinación de uno de los parámetros del cribado, el riesgo *a priori* se multiplica por la *likelihood ratio* obtenida y se obtiene un nuevo riesgo, que se convierte en el riesgo *a priori* de la siguiente prueba. Finalmente el riesgo se expresa como un índice de probabilidad de 1 entre el resultado de dicho producto. Este es un proceso de cribado secuencial y requiere que las diferentes pruebas sean independientes entre sí. Si esto no sucede, se puede utilizar análisis multivariante para calcular un cociente de probabilidad combinado⁵.

Dado que las curvas de la distribución Gaussiana de los MoM para los diferentes marcadores, en la práctica, no son realmente Gaussianas en sus valores extremos, algunos autores recomiendan que sean truncados para que al calcular la razón de probabilidad los resultados sean aceptables^{19,38}. Sin embargo, en el Hospital Clínico San Carlos no se realiza truncado de los valores, de modo que siempre se usan los valores reales obtenidos. No se ha hallado utilidad práctica al ajuste mediante truncado para el cálculo de riesgo y además puede ocultar información que podría resultar útil:

- Valores muy altos de fβhCG pueden ser observados en el contexto de metrorragias del primer trimestre (debe preguntarse a la paciente por los antecedentes en las primeras semanas de gestación).
- Valores muy bajos de PAPP-A pueden ponernos sobre la sospecha de una triploidía (y si se hace truncado de valores, esta información se enmascara).

Se considera riesgo elevado de cromosopatías un resultado de 1/270 o mayor. A estas pacientes se les ofrece diagnóstico prenatal del cariotipo fetal mediante técnicas invasivas (amniocentesis o biopsia de vellosidades coriales).

El programa informático utilizado en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital Clínico San Carlos es el SsdwLab V 4.1⁹, que permite el cálculo del riesgo combinado de síndrome de Down a partir de la translucencia nucal y dos marcadores bioquímicos (en nuestro caso, PAPP-A y fβhCG).

En nuestro estudio, el riesgo para trisomía 21 se expresa, al igual que el riesgo por edad, en el momento del cribado, ya que, si bien teóricamente hay que tener en cuenta la letalidad intrauterina de las aneuploidías, en la práctica no se ha visto un efecto significativo de la trisomía 21 sobre el número de pérdidas fetales, y por ello no se ve justificado hacer el ajuste para expresar el riesgo en el momento del parto.

Este programa incorpora además cribado para síndrome de Edwards (la segunda trisomía más frecuente), que se realiza sólo con marcadores bioquímicos. En realidad, aunque aparece escrito en el informe como riesgo para síndrome de Edwards, en realidad en este apartado se codifica el riesgo de trisomía 13 ó 18. Estas trisomías son más infrecuentes, pero tienen una letalidad intraútero muchísimo mayor que el síndrome de Down, de manera que se ha establecido expresar el cálculo del riesgo en el momento del parto.

El informe incluye los datos de filiación de la paciente y el número de identificación del ecografista encargado de la evaluación ultrasonográfica; la edad materna en la fecha probable del parto, edad gestacional en el momento del cribado; técnica analítica utilizada, niveles séricos de los marcadores y valor de la TN, y sus correspondientes MoM, así como los factores de corrección aplicados. Por último, se expresa el riesgo por edad en el momento del cribado, el riesgo combinado para trisomía 21 en el momento del cribado, y el riesgo de trisomía 13+18 en el momento del parto⁹.

5. CODIFICACIÓN.

En el estudio de la base de datos recogidos de las pacientes cribadas en el Hospital Clínico San Carlos, la clasificación de las cromosomopatías diagnosticadas mediante técnicas invasivas de diagnóstico prenatal se ajustó a lo descrito en la 9ª revisión de la Clasificación Internacional de Enfermedades (eCIE9MC)⁷⁸. Este

sistema de codificación, en su sección número 14 de Anomalías Congénitas, incluye el apartado 758 de Anomalías Cromosómicas, que incluye síndromes asociados con anomalías en el número y forma de los cromosomas y se clasifica como sigue:

758 Anomalías cromosómicas.

758.0 Síndrome de Down:

- Mongolismo.
- Síndrome de Down por translocación.
- Trisomía: - 21 ó 22

758.1 Síndrome de Patau:

- Trisomía: - 13

758.2 Síndrome de Edwards:

- Trisomía: - 18

758.3 Síndrome por delección autosómica:

758.31 Síndrome cri-du-chat:

- Delección 5p

758.32 Síndrome velo-cardio-facial:

- Delección 22q11.2

758.33 Otras microdeleciones:

- Síndrome de Miller-Dieker.
- Síndrome de Smith-Magenis.

758.39 Otras deleciones autosómicas.

758.4 Translocación autosómica balanceada en individuo normal.

758.5 Otras afecciones por anomalías autosómicas.

- Autosomas accesorios NCOC.

758.6 Disgenesia gonadal:

- Disgenesia ovárica.
- Síndrome de Turner.
- Síndrome XO

Excluye: disgenesia gonadal pura (752.7)

758.7 Síndrome de Klinefelter:

- Síndrome XXY

758.8 Otras afecciones por anomalías cromosómicas sexuales:

758.81 Otras afecciones debidas a anomalías de los cromosomas sexuales.

758.89 Otras.

758.9 Afecciones por anomalías cromosómicas no especificadas.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y BIBLIOGRAFÍA.

El análisis estadístico de los datos se realizó con SPSS versión 17. A pesar de la distribución no Gaussiana de muchas de las variables estudiadas (comprobado mediante el test de Kolmogorov-Smirnoff), se pudo utilizar test paramétricos por tratarse de muestras de gran tamaño. Para el análisis de los datos se aplicó el test de ANOVA de un factor, con análisis post hoc de Bonferroni. Para comparar riesgos en las gestaciones sucesivas respecto de la primera, se empleó test de McNemar e índice kappa. Se consideró que con una seguridad del 95% ($p < 0,05$) se alcanzaba la significación estadística.

Para estudiar la correlación entre marcadores ecográficos y bioquímicos en gestaciones sucesivas, se utilizó la correlación de Spearman (no paramétrica), que consiste en una regresión lineal de los MoM del marcador en cuestión, en la gestación sucesiva, respecto del mismo valor en la gestación inicial. Permite obtener un factor de correlación ρ ; su cuadrado (ρ^2) es el factor de determinación, que indica el tanto por ciento en que una variable depende de la modificación de la otra.

Los valores extremos no son excluidos (no se realizó truncado, puesto que no se ha introducido en la práctica clínica diaria para los cálculos del riesgo, por no considerar que aportara beneficios a la técnica de cribado), con excepción de la composición de las gráficas, para que pudiera facilitarse la visualización de los datos.

Para el análisis de las diferencias individuales de los marcadores entre distintas gestaciones se utilizó el método de Bland-Altman.

La fuente principal de referencias bibliográficas fue MEDLINE en su versión electrónica (PUBMED). El tratamiento y descripción de dichas referencias se acoge a la convención de Vancouver.

RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA.

Entre Julio de 1999 y Diciembre de 2009 se realizó, en el Hospital Clínico San Carlos (Madrid, España), cribado combinado de cromosopatías en el primer trimestre a 21363 pacientes con gestación simple en curso. En esta casuística tuvimos que excluir 169 casos por errores en el procesamiento de datos; queda por tanto una muestra de 21194. La distribución de las pacientes cribadas en cada uno de los años se muestra a continuación en el siguiente gráfico:

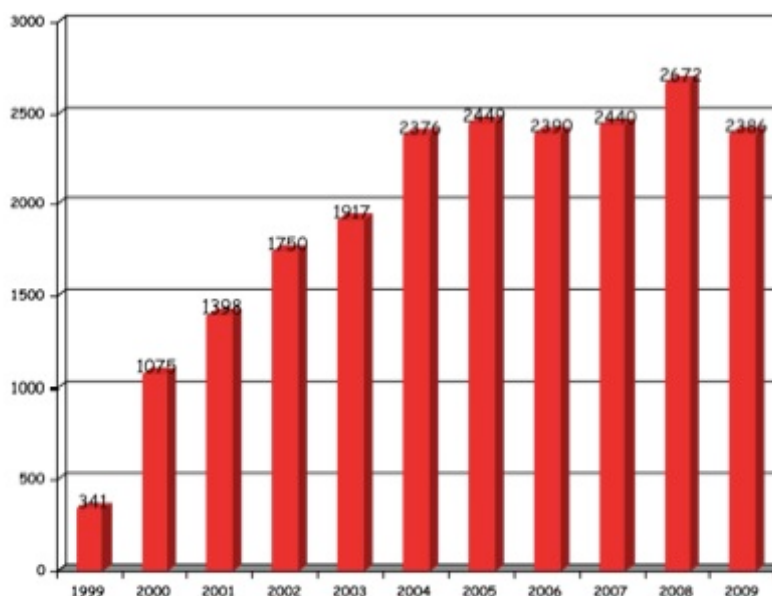


Gráfico 1. Número de pacientes cribadas cada año.

El cribado consistió en ecografía entre las semanas 11 y 13+6, con medida de la longitud cráneo-caudal (CRL) y de la translucencia nucal (TN); analítica de sangre el mismo día de la ecografía para determinación de los parámetros bioquímicos PPAP-A (proteína plasmática asociada a la gestación) y f β HCG (fracción libre de la cadena β de la gonadotropina coriónica); y cálculo del riesgo combinado considerando el riesgo *a priori* por la edad materna, el calculado a partir de la medida de la TN y (con las correcciones pertinentes según peso materno, hábito tabáquico o presencia de diabetes) el obtenido de los marcadores bioquímicos.

La prueba se consideró positiva (riesgo aumentado de cromosopatía) cuando el riesgo combinado fue $\geq 1/270$ en el momento del estudio, con indicación de prueba de diagnóstico genético prenatal, que se ofrecía a la paciente.

De todas estas pacientes, tenemos constancia de un resultado de feto con aneuploidía en 141 casos (6,6‰), bien por diagnóstico prenatal mediante técnicas invasivas (amniocentesis y biopsia corial) o bien por estudio de cariotipo al nacimiento.

Las características demográficas de la población en estudio son las siguientes:

- Edad materna: Media 30,6 años; mediana 31,0 años; DS 5,3 años; rango intercuartílico (27-34).
- La distribución por razas fue la siguiente: blanca 70,7%, negra 0,7%, amarilla 1,3%, otras 9,1%, desconocida 18,2%.
- Peso materno: Media 62,5 kg; mediana 61 kg; DS 11 kg; rango intercuartílico (55-68).
- El 15,9% de las pacientes cribadas eran fumadoras.
- El 2,4‰ de las pacientes constan como diabéticas.
- Edad gestacional, calculada por FUR, en el momento del cribado: Media 11,8 semanas; mediana 12 semanas; DS 0,86 semanas; rango intercuartílico (11,3-12,4).

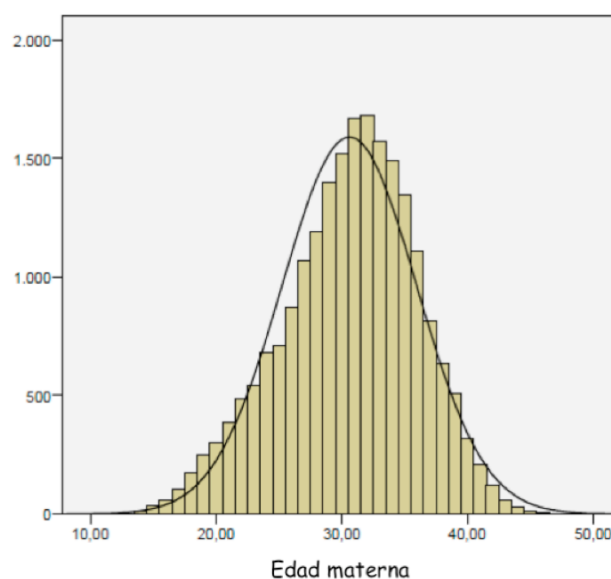


Gráfico 2. Distribución de la edad materna en el cribado del primer trimestre.

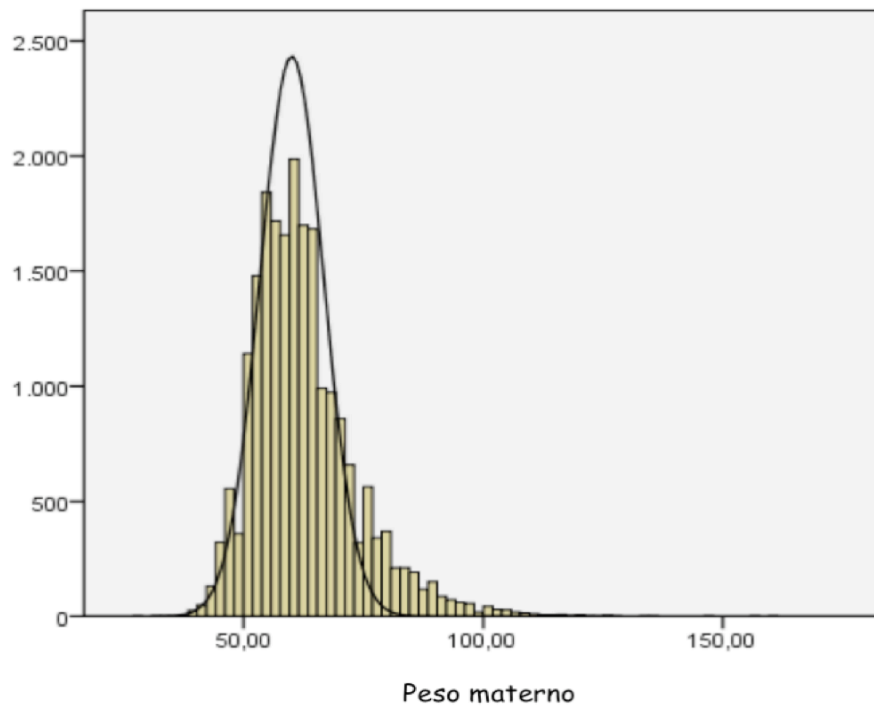


Gráfico 3. Distribución del peso materno en el cribado del primer trimestre.

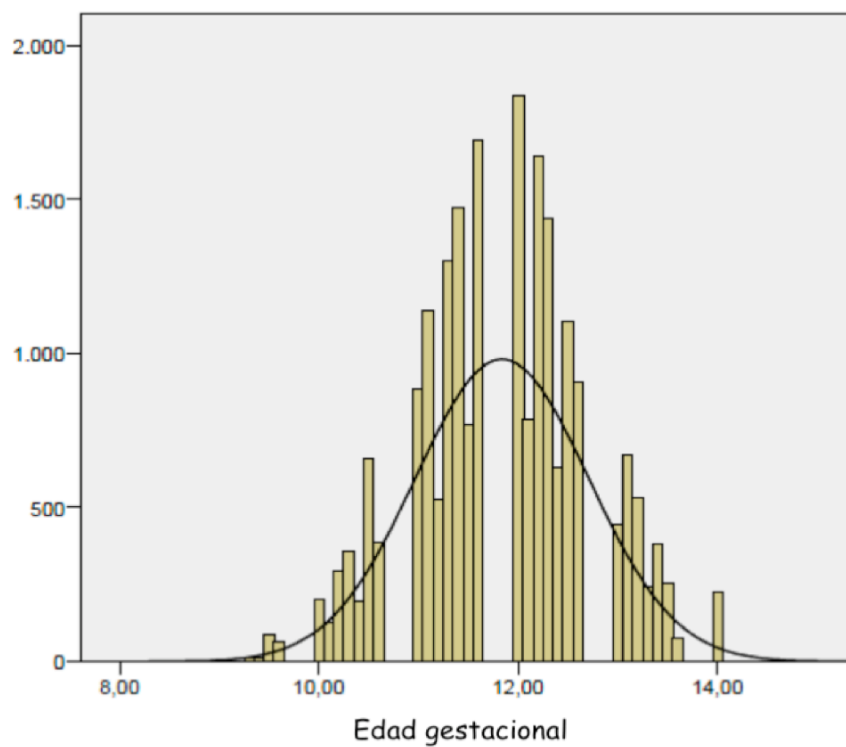


Gráfico 4. Distribución de la edad gestacional por fecha de última regla en el cribado del primer trimestre.

- La edad gestacional en el momento del parto sólo estaba disponible en 5333 casos, con una media de 38,5 semanas, mediana de 39 semanas, DS de 4,75 semanas, y rango intercuartílico (38-40).
- Se conoció el sexo del recién nacido en 4370 casos, en la base de datos original, con una distribución de 50,8% de varones frente a un 49,2% de mujeres.
- El peso del recién nacido sólo estaba disponible en 4499 casos, con una media de 3201 g, mediana de 3210 g, DS 521 g, rango intercuartílico (2910-3545).



Gráfico 5. Proporción de recién nacidos respecto al sexo.

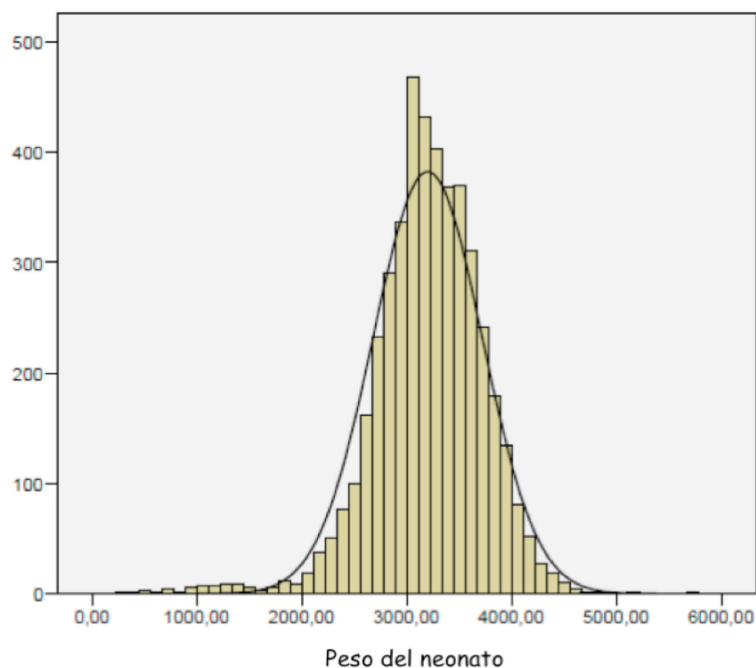


Gráfico 6. Distribución del peso del recién nacido.

- PAPP-A: Media 3704,5 mUI/L, mediana 3061,0 mUI/L, DS 2884,1 mUI/L, rango intercuartílico (1967-4590).
- MoM de la PAPP-A: Media 1,29; mediana 1,13; DS 0,90; rango intercuartílico (0,78-1,60).
- $f\beta$ HCG: Media 41,7 UI/L, mediana 33,2 UI/L, DS 37,10 UI/L, rango intercuartílico (22,0-51,6).
- MoM de la $f\beta$ HCG: Media 1,23; mediana 1,0; DS 1,09; rango intercuartílico (0,67-1,51).
- TN: Media 1,31 mm, mediana 1,2 mm, DS, 0,61 mm, rango intercuartílico (1-1,5).
- MoM de la TN: Media 0,86; mediana 0,80; DS 0,4; rango intercuartílico (0,67-0,97).

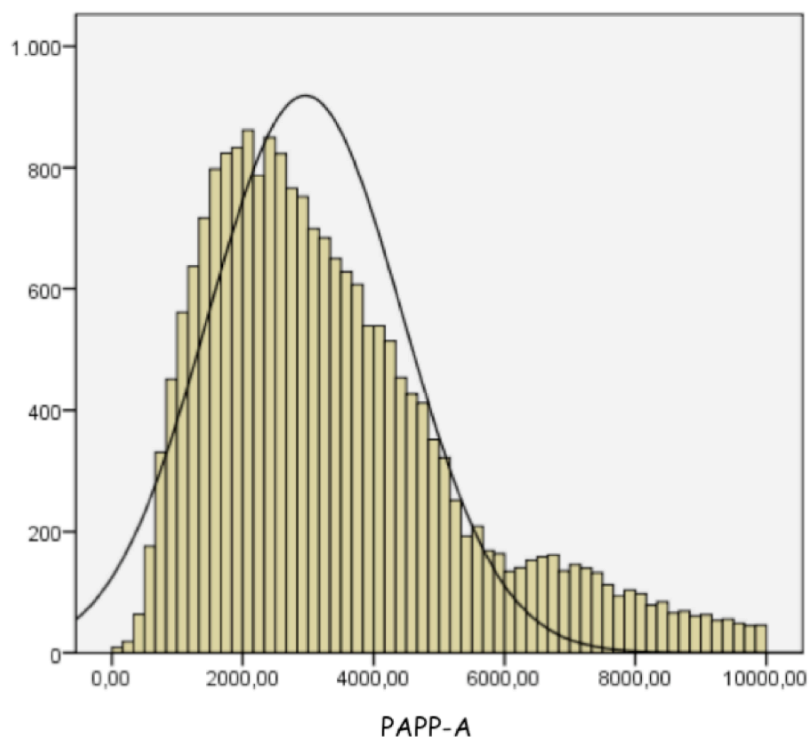


Gráfico 7. Distribución de los valores de PAPP-A en las pacientes cribadas.

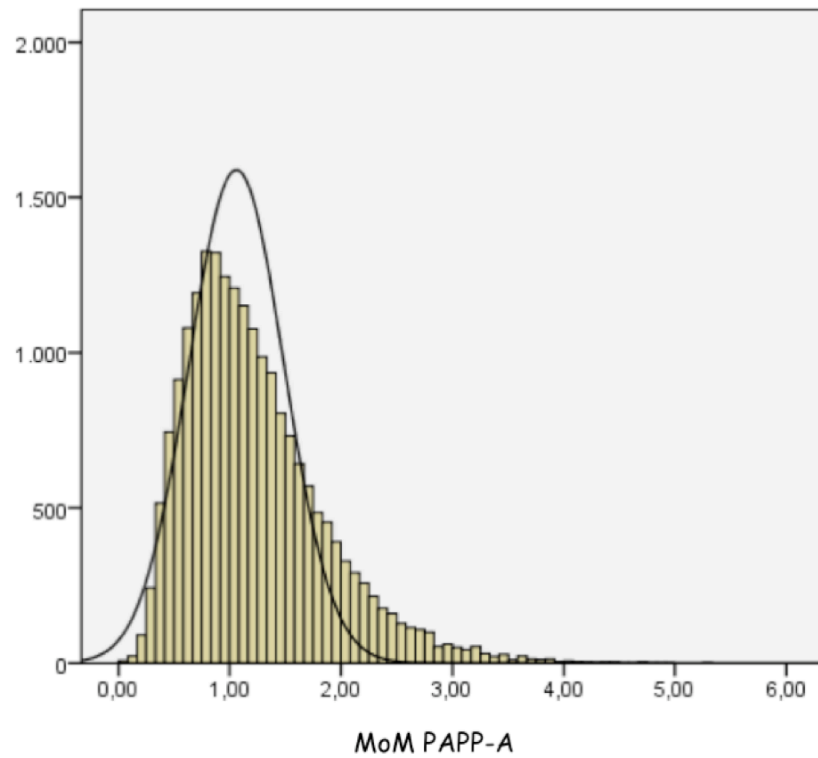


Gráfico 8. Distribución de los valores de los MoM de la PAPP-A en las pacientes cribadas.

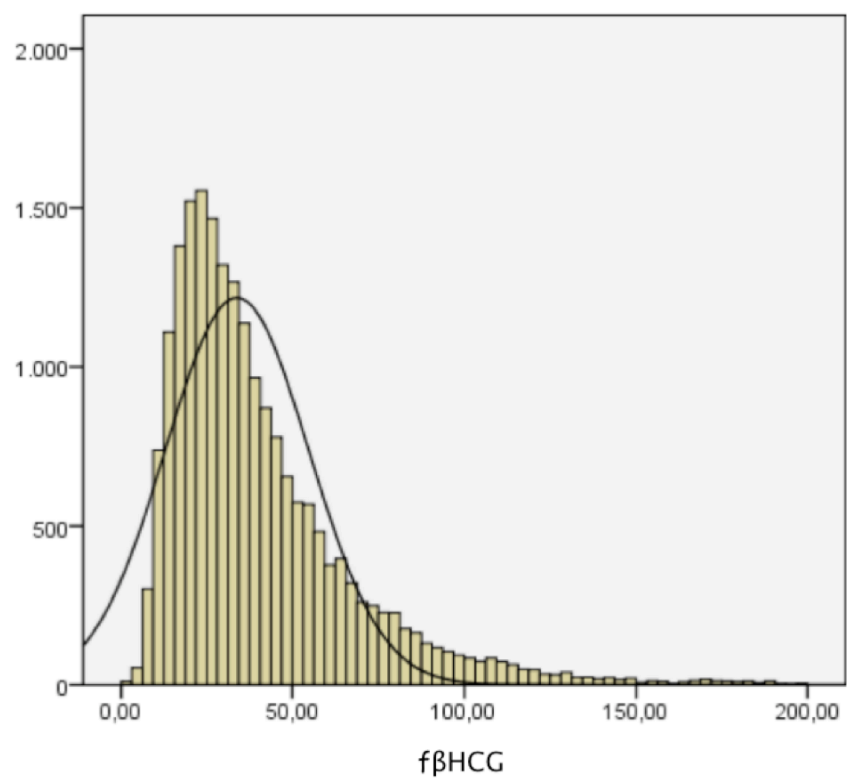


Gráfico 9. Distribución de los valores de fβHCG en las pacientes cribadas.

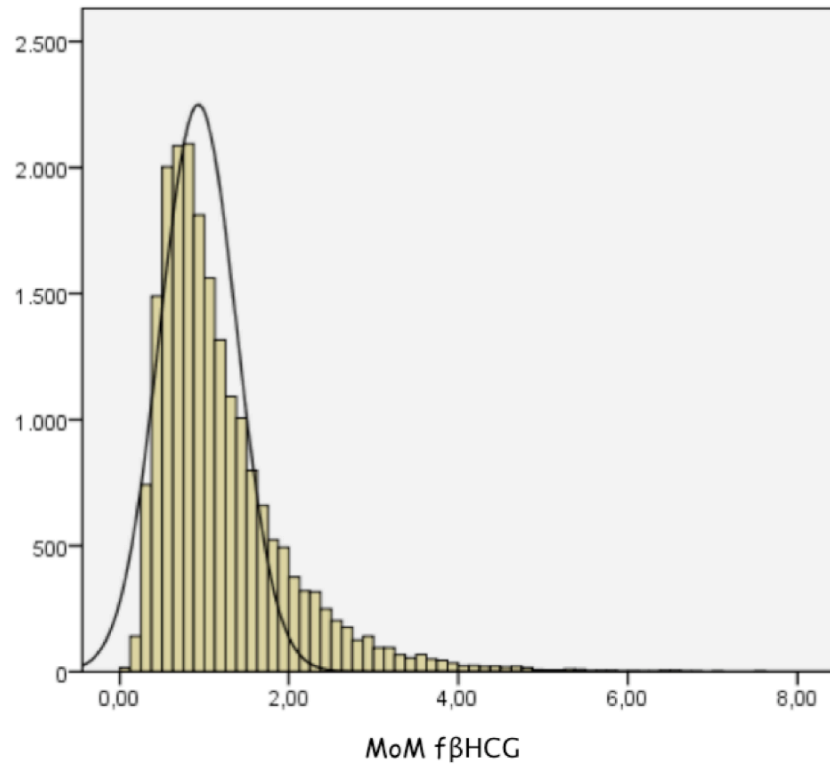


Gráfico 10. Distribución de los valores de los MoM de fβHCG en las pacientes cribadas.

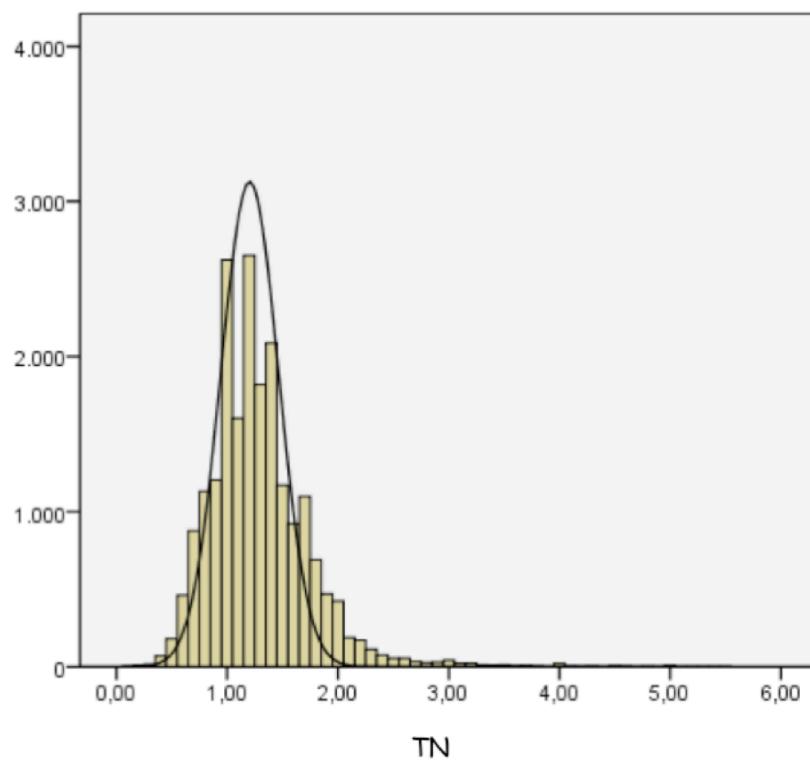


Gráfico 11. Distribución de los valores de la TN en las pacientes cribadas.

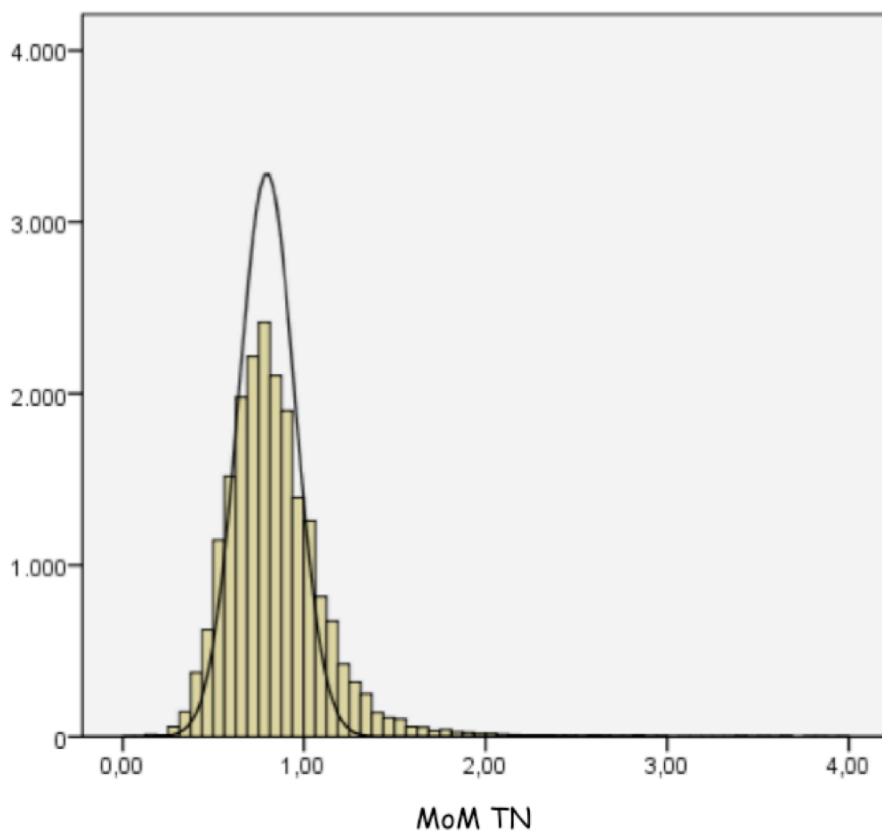


Gráfico 12. Distribución de los valores de los MoM de la TN en las pacientes cribadas.

	<i>Media</i>	<i>Mediana</i>	<i>DS</i>	<i>Rango IC</i>
PAPP-A	3704,5 mUI/L	3061,0 mUI/L	2884,1 mUI/L	(1967-4590)
MoM PAPP-A	1,29	1,13	0,90	(0,78-1,60)
fβHCG	41,7 UI/L	33,2 UI/L	37,10 UI/L	(22,0-51,6)
MoM fβHCG	1,23	1,0	1,09	(0,67-1,51)
TN	1,31 mm	1,2 mm	0,61 mm	(1-1,5)
MoM TN	0,86	0,80	0,4	(0,67-0,97)

Tabla 14. Distribución de los valores de PAPP-A, fβHCG, TN y sus MoM. DS: Desviación estándar.

Rango IC: Rango intercuartílico.

1.1. Distribución de las variables en función de la edad gestacional.

El número de gestaciones cribadas en cada semana de gestación, junto con las medianas de los valores de PAPP-A, f β HCG y TN, aparecen en la siguiente tabla. La edad gestacional codificada es la resultante del cálculo de la amenorrea (puede no coincidir con la calculada por biometría).

EG	N	PAPP-A	f β HCG	TN
9	179	1227	52,6	0,9
10	2222	1715	40,9	1,0
11	7714	2560	35,8	1,2
12	8275	3599	31,7	1,3
13	2580	4878	25,7	1,4
14	223	7103	22,63	1,6

Tabla 15. Distribución de valores de PAPP-A (en mUI/L), f β HCG (en UI/L) y TN (en mm), en función de la edad gestacional (EG) por FUR. N: Número de casos cribados en cada semana cumplida de gestación.

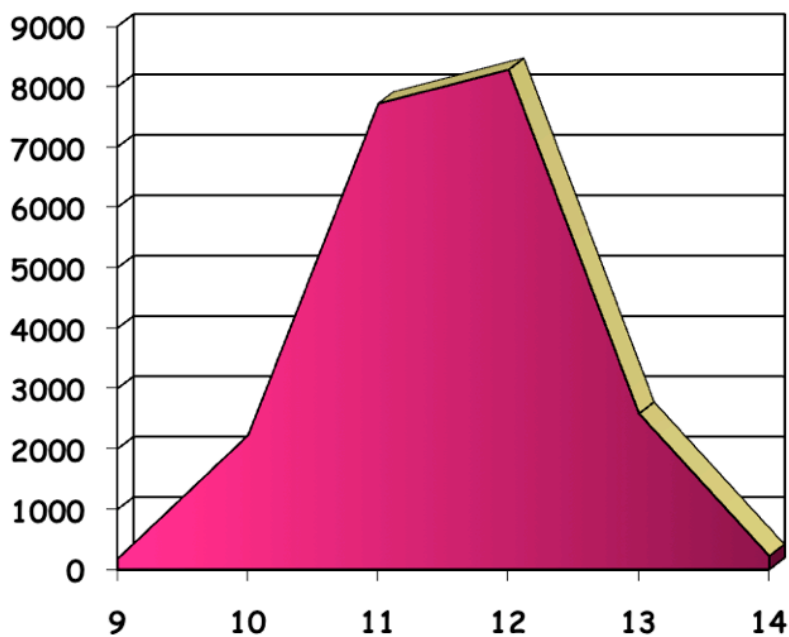


Gráfico 13. Número de pacientes cribadas en cada semana de gestación cumplida.

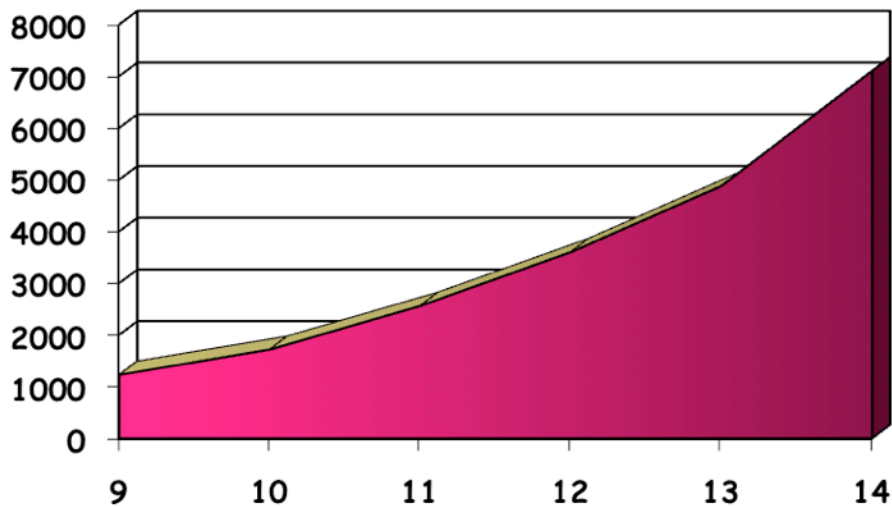


Gráfico 14. Mediana de los valores de PAPP-A en mUI/L, en cada semana de gestación cumplida.

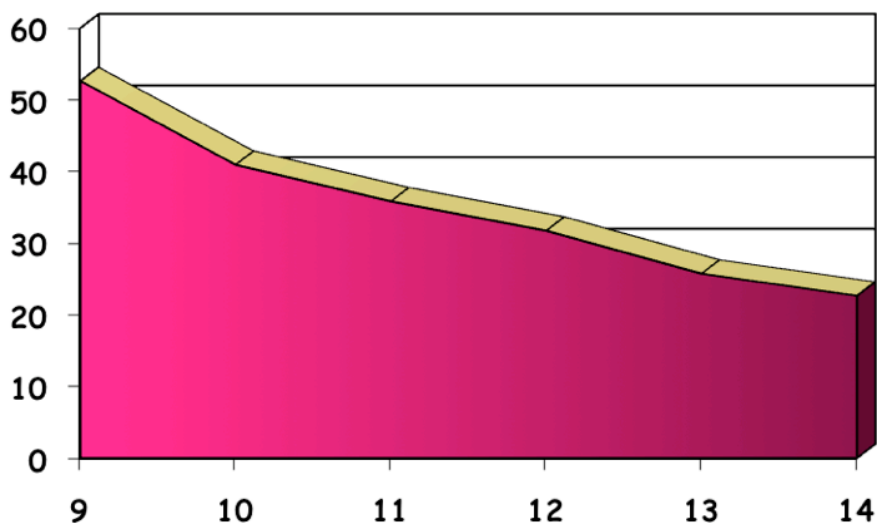


Gráfico 15. Mediana de los valores de fβHCG en UI/L, en cada semana de gestación cumplida.

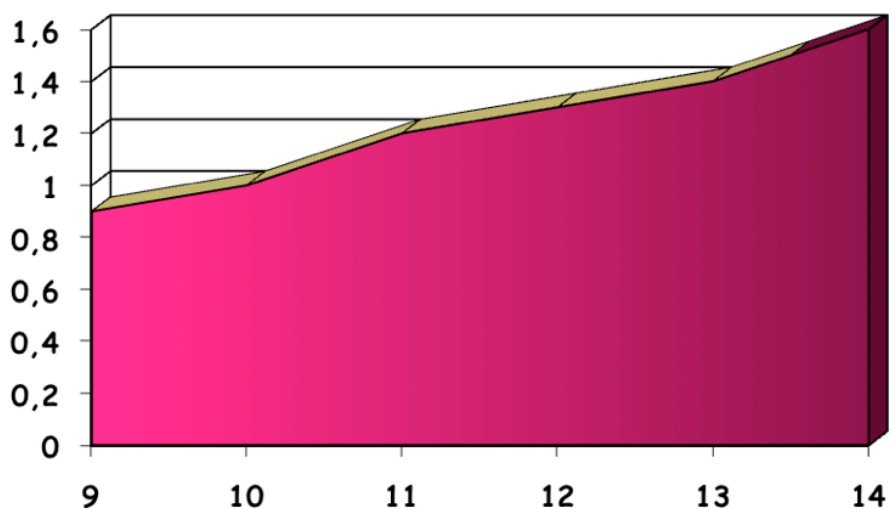


Gráfico 16. Mediana de los valores de TN en milímetros, en cada semana de gestación cumplida.

1.2. Distribución de las variables en función del sexo del neonato.

La distribución de los valores de TN, PAPP-A y β HCG en función del sexo del recién nacido, en el subgrupo de 4370 gestaciones euploides con sexo fetal conocido, fue la siguiente:

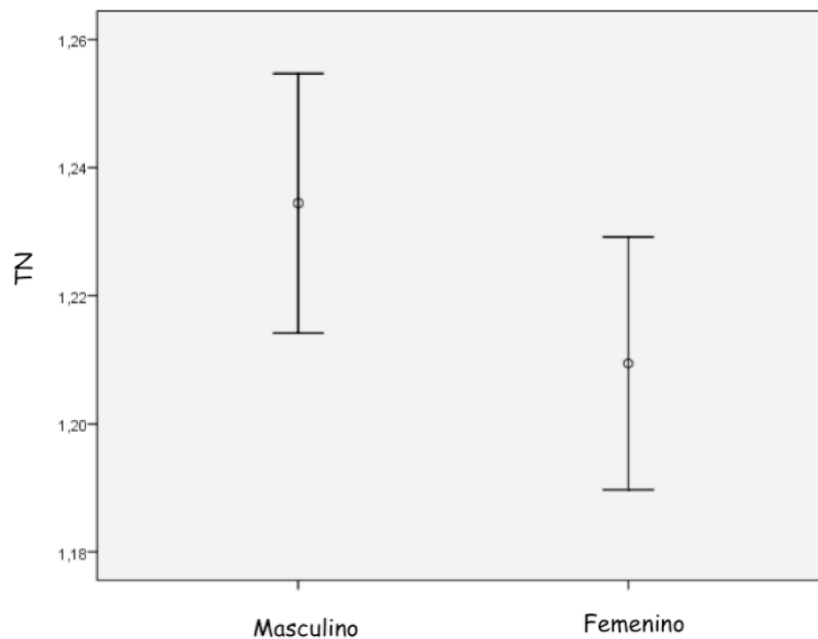


Gráfico 17. Intervalo de confianza del 95% en torno a la media de los valores de TN en fetos femeninos y masculinos.

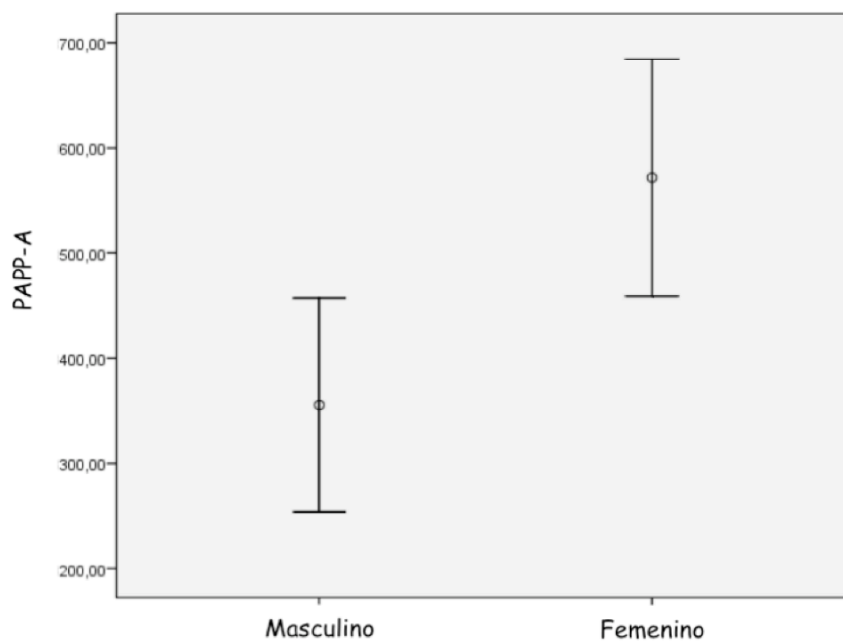


Gráfico 18. Intervalo de confianza del 95% en torno a la media de los valores de PAPP-A en fetos femeninos y masculinos.

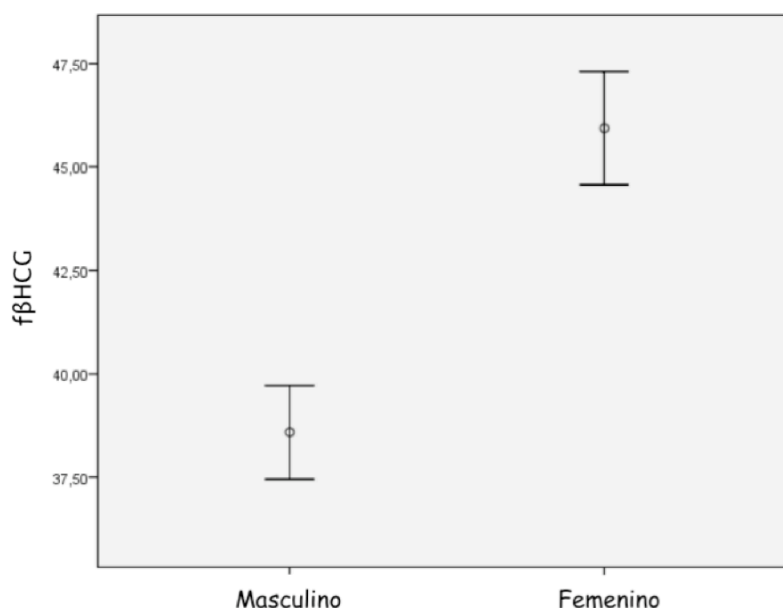


Gráfico 19. Intervalo de confianza del 95% en torno a la media de los valores de $f\beta HCG$ en fetos femeninos y masculinos.

La siguiente tabla muestra los valores de PAPP-A, $f\beta HCG$ y TN en función del sexo del recién nacido. Las diferencias fueron estadísticamente significativas para PAPP-A y $f\beta HCG$, con valores mayores en gestaciones con feto mujer, en ambos casos. Se vio una tendencia a una TN menor en fetos de sexo femenino, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

VARIABLE	SEXO FETAL	N	MEDIA	DS
PAPP-A	1	2220	3355,48	2438,35
	2	2150	3571,64	2669,11
$f\beta HCG$	1	2220	38,58	27,36
	2	2150	45,93	32,46
TN	1	2220	1,2344	0,4865
	2	2150	1,2094	0,4659

Tabla 16. Estadísticos de los valores de PAPP-A, $f\beta HCG$ y TN en función del sexo del recién nacido (1,00: Sexo masculino; 2,00: Sexo femenino).

El porcentaje de resultados de alto riesgo en el cribado combinado fue de 2,4% en ambos sexos, sin diferencias entre ellos ni con la población general (total de la muestra).

2. POBLACIÓN ANEUPLOIDE.

Entre toda la población estudiada, hubo un total de 2230 técnicas de diagnóstico prenatal, lo cual supone un 10,5% de pruebas invasivas en nuestra población. Entre estas hubo 1117 fetos euploides masculinos (53,1%) y 986 fetos euploides femeninos (46,9%).

Hubo constancia de 141 fetos con cromosomopatía (6,6‰), de los cuales 14 fueron diagnosticados después del nacimiento. La distribución de los cariotipos disponibles, según la clasificación de la CIE-9-MC (7ª edición)⁷⁸, se muestra en la siguiente tabla.

CODIFICACIÓN	CARIOTIPO	N
758	Trisomía 21	72
758.1	Trisomía 13	11
758.2	Trisomía 18	21
758.3	Delecciones	1
758.4	Translocaciones	2
758.5	Autosomas accesorios	9
758.6	Turner	13
758.7	Klinefelter	10
758.8	Otras anomalías cromosómicas sexuales	2

Tabla 17. Distribución de fetos según cariotipo.

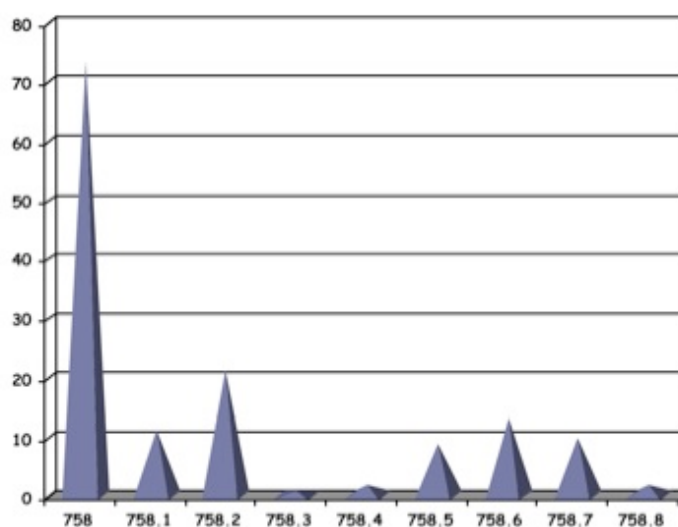


Gráfico 20. Distribución de aneuploidías.

De los 14 fetos diagnosticados después del nacimiento (9,9% del total de aneuploides), 4 de ellos tuvieron un test de cribado de alto riesgo, pero no se realizó cariotipo prenatal. Trece eran casos de trisomía 21, y hubo un caso de delección autosómica (758.3).

La siguiente tabla muestra el riesgo combinado (edad materna + TN + marcadores bioquímicos) de cada uno de los aneuploides diagnosticados postnatalmente, junto con el riesgo calculado sólo a partir de la edad materna más los marcadores bioquímicos.

CASO	RIESGO COMBINADO	RIESGO EDAD + BQ
1	100	17
2	10	18
3	6870	1903
4	85	10
5	2798	229
6	841	1472
7	1770	167
8	643	63
9	2850	311
10	321	268
11	29	10
12	337	35
13	406	83
14	990	289

Tabla 18. Aneuploides diagnosticados postnatalmente. Riesgo combinado y riesgo por edad más bioquímica (el número reflejado es el denominador del cociente que expresa el riesgo). El color rojo indica riesgo alto ($>1/270$).

Por otra parte, de los 127 fetos aneuploides diagnosticados prenatalmente, 32 de ellos tenían un resultado de la prueba de cribado combinado de bajo riesgo, luego la técnica invasiva se realizó por otros motivos. De todos ellos, 17 (53%) tuvieron un resultado de riesgo alto, basado en el cálculo por edad + bioquímica, como se refleja en la tabla 19.

CASO	RIESGO COMBINADO	RIESGO EDAD + BQ
1	966	10
2	3704	618
3	463	43
4	1482	154
5	664	45
6	429	31
7	964	110
8	1568	1824
9	1590	165
10	4257	442
11	4164	346
12	3100	258
13	948	98
14	1196	97
15	1121	100
16	2428	252
17	585	3778
18	10708	5192
19	4784	405
20	3735	2950
21	4130	332
22	50000	11154
23	2352	481
24	3148	512
25	4472	332
26	537	210
27	297	2
28	434	45
29	15504	1384
30	367	385
31	409	244
32	341	52

Tabla 19. Aneuploides con riesgo combinado bajo, diagnosticados prenatalmente (test diagnóstico invasivo por otra indicación). Riesgo combinado y riesgo por edad más bioquímica (el número reflejado es el denominador del cociente que expresa el riesgo). El color rojo indica riesgo alto ($>1/270$).

3. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD.

En nuestra población había un 24,2% de mujeres con 35 años o más. Teniendo en cuenta sólo la edad, el 33,3% de las pacientes (6911) tendrían un riesgo igual o superior a 1/270, que correspondía a 33 años de edad. En este grupo de pacientes había 90 fetos con cromosopatía, lo cual suponía un 63,8% del total de fetos aneuploides. De ellos, 52 eran fetos con trisomía 21 (72,2% del total de fetos con síndrome de Down).

Respecto al análisis del riesgo combinado en nuestra población, se dispuso de datos en 20733 pacientes. La prueba dio resultado de alto riesgo en 564 pacientes (y de bajo riesgo en el resto, 20169). Teniendo en cuenta que, de las 564 pacientes con un test de cribado de alto riesgo, 99 eran realmente portadoras de un feto con cromosopatía; y que 42 fetos con cromosopatía dieron un resultado de bajo riesgo, la distribución queda como sigue:

- VP: 99.
- VN: 20127.
- FP: 465.
- FN: 42.

Y de este modo, el cálculo de la sensibilidad y de la especificidad resulta:

$$- S = VP / (VP + FN) \rightarrow 99 / (99 + 42) = 0,70 (70\%).$$

$$- E = VN / (VN + FP) \rightarrow 20127 / (20127 + 465) = 0,9774 (97,7\%).$$

Por tanto, la tasa de FN (1 - S) es del 30%, y la de FP (1 - E) es del 2,3%.

Por último, los valores predictivos de la prueba serían los siguientes:

$$- VPP = VP / (VP + FP) \rightarrow 99 / (99 + 465) = 0,1755 (17,5\%).$$

$$- VPN = VN / (VN + FN) \rightarrow 20127 / (20127 + 42) = 0,9979 (99,8\%).$$

Para detectar una paciente que realmente fuera portadora de un feto con cromosopatía, se ofreció diagnóstico invasivo de cariotipo a 5,7 mujeres.

La sensibilidad específica para trisomía 21 fue del 73,6% (se detectó 53 de los 72 fetos portadores), con una tasa de FP del 2,3%.

Respecto a la combinación de edad + marcadores bioquímicos, hay datos en 20723 pacientes. Hubo 3399 resultados de alto riesgo, y el resto fueron de bajo riesgo. De los 141 casos de aneuploidía, 41 dieron resultado de bajo riesgo. De este modo, tenemos:

- VP: 100.
- VN: 17283.
- FP: 3299.
- FN: 41.

Y de esta modo, el cálculo de la sensibilidad y de la especificidad resulta:

- $S = VP / (VP + FN) \rightarrow 100 / (100 + 41) = 0,7092$ (71%).
- $E = VN / (VN + FP) \rightarrow 17283 / (17283 + 3299) = 0,839$ (84%).

Por tanto, la tasa de FN (1 - S) es del 29 %, y la de FP (1 - E) es del 16 %.

Por último, los valores predictivos de la prueba serían los siguientes:

- $VPP = VP / (VP + FP) \rightarrow 100 / (100 + 3299) = 0,0294$ (2,9%).
- $VPN = VN / (VN + FN) \rightarrow 17283 / (17283 + 41) = 0,9976$ (99,8%).

En cuanto al riesgo de trisomía 13 ó 18, hubo un resultado de alto riesgo en 368 pacientes de las 20730 de las que había datos disponibles. Se consiguió detectar mediante este método 20 de los 21 fetos con trisomía 18 y 6 de los 11 fetos con trisomía 13, lo que supone una sensibilidad global del 81,25 %, y una tasa de detección del 95,2% para síndrome de Edwards y del 54,5% para síndrome de Patau.

Por último se representa la sensibilidad y los falsos negativos en cada año del periodo de cribado, para el combinado y el de edad + bioquímica.

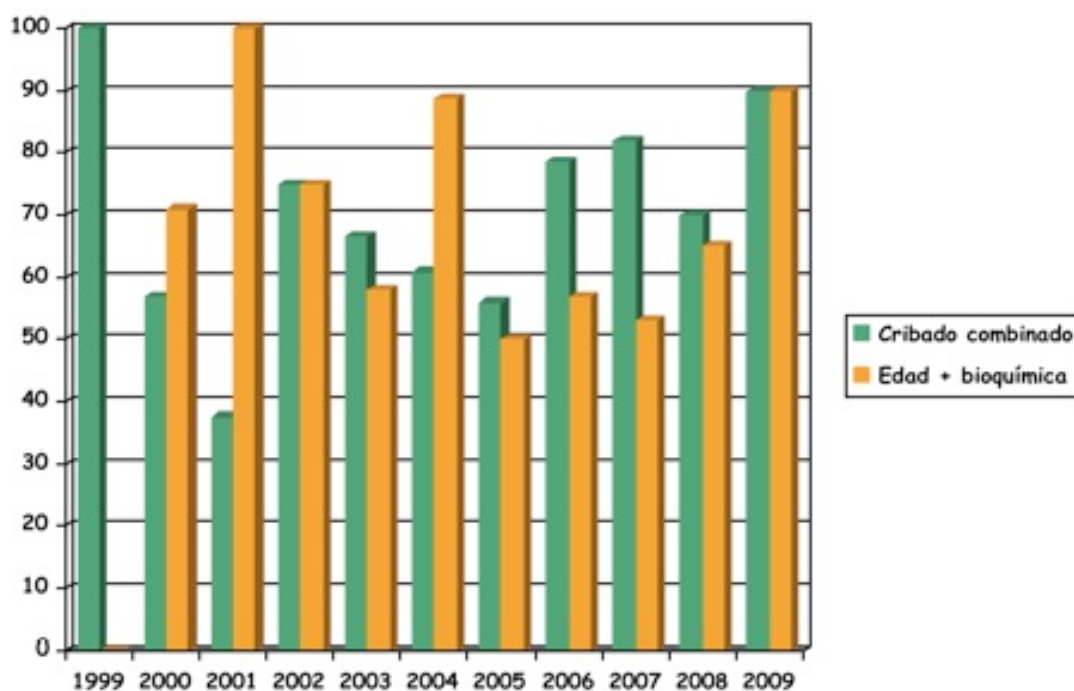


Gráfico 21. Distribución de la sensibilidad en cada año del periodo de cribado, para la estrategia combinada y para el cribado por edad + bioquímica.

AÑO	n	Aneuploides	Cribado combinado		Edad + BQ	
			S (%)	FN	S (%)	FN
1999	341	1	100	0	0	1
2000	1075	7	57	3	71	2
2001	1398	8	37,5	5	100	0
2002	1750	8	75	2	75	2
2003	1917	12	66,6	4	58	5
2004	2376	18	61	7	89	2
2005	2449	16	56	7	50	8
2006	2390	14	78,6	3	57	6
2007	2440	17	82	3	53	6
2008	2672	20	70	6	65	7
2009	2386	20	90	2	90	2

Tabla 20. Muestra cribada, número de aneuploides, sensibilidad de la técnica (cribado combinado o cribado por edad + bioquímica) y número de falsos negativos por año de cribado.

4. CURVAS ROC.

Las siguientes curvas ROC representan la sensibilidad (susceptibilidad) frente a la tasa de FP (1-especificidad) para TN, MoM de PAPP-A y MoM de $f\beta$ HCG, en la detección de cromosopatías en el primer trimestre de la gestación. El punto de corte más adecuado (dintel con sensibilidad y especificidad óptimas) para cada marcador se obtiene por la intersección de la curva con una línea que va desde el punto de sensibilidad igual a 1 (sobre el eje de ordenadas) hasta el punto de especificidad 0 (sobre el eje de abscisas).

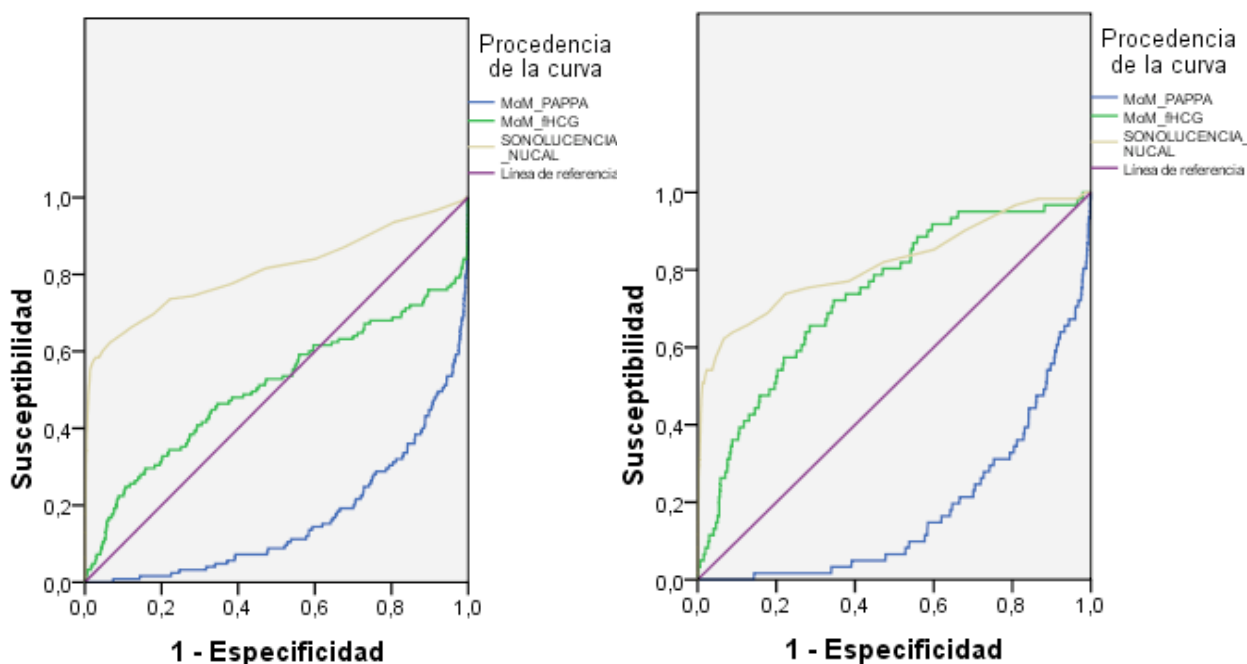


Figura 13. Curvas ROC para la detección de cromosopatías en conjunto (izquierda) y de trisomía 21 en concreto (derecha).

5. GESTACIONES SUCESIVAS.

Entre todas las pacientes sometidas a la prueba de cribado durante el periodo de estudio, hubo 16341 que tuvieron una sola gestación (evaluada mediante esta prueba, en el primer trimestre). Esto supone un 77,1% del total de cribados de nuestra muestra.

Hubo 2343 mujeres con más de una gestación cribada en el primer trimestre (de esta manera, hubo un total de 18684 pacientes cribadas en nuestra muestra, con un 12,5% de pacientes con más de una gestación). Estas mujeres cursaron un total de 4852 gestaciones, de manera que 2191 tuvieron dos, 138 tuvieron tres, 13 pacientes tuvieron cuatro, y una paciente tuvo cinco (esta última gestación no se considerará en los cálculos, de tal manera que consideraremos el grupo de 4 gestaciones con 14 miembros).

Entre estas pacientes con más de una gestación, hubo 53 diagnósticos de aneuploidía: 37 en el primer embarazo (12 de ellos fueron casos de trisomía 21); 13 en el segundo (8 casos de trisomía 21); y 3 casos en el tercero, (todos ellos casos de trisomía 21); no hubo casos de aneuploidía en la cuarta gestación.

<i>Gestación</i>	<i>N</i>	<i>Down</i>	<i>Otras</i>
1	2343	12	25
2	2343	8	5
3	152	3	0
4	14	0	0

Tabla 21. Resultados del cariotipo en pacientes con gestaciones sucesivas (el número, del 1 al 4, refleja el ordinal de la gestación a la que se refiere). N: Número de pacientes cribadas. Down: Fetos con trisomía 21. Otras: Otras cromosopatías.

La media, desviación estándar, mínimo y máximo de la edad materna en cada gestación, se expone en la siguiente tabla:

<i>Gestación</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>DS</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
1	2343	29,82	4,475	14	45
2	2343	32,75	4,533	16	46
3	152	33,74	4,412	23	44
4	14	35,00	2,184	32	39
Total	4852	31,37	4,744	14	46

Tabla 22. Resultados de la edad en pacientes con gestaciones sucesivas (el número, del 1 al 4, refleja el ordinal de la gestación a la que se refiere). N: Número de pacientes cribadas.

Con ANOVA, las diferencias fueron estadísticamente significativas entre grupos, respecto a la edad materna. La prueba post hoc mostró significación estadística entre la primera gestación y todas las demás. Entre la segunda y la tercera, la significación era límite. Entre el resto de los grupos no hubo diferencias estadísticamente significativas, probablemente por el escaso tamaño muestral.

5.1. Sensibilidad y especificidad.

La siguiente tabla muestra la distribución de pacientes con riesgo positivo por edad, en las gestaciones sucesivas. Las diferencias fueron estadísticamente significativas:

	POSITIVO	NEGATIVO	Total
1	519 22,2%	1824 77,8%	2343 100%
2	1173 50,1%	1170 49,9%	2343 100%
3	95 62,5%	57 37,5%	152 100%
4	10 71,4%	4 28,6%	14 100%
Total	1797 37,0%	3055 63,0%	4852 100%

Tabla 23. Resultados del riesgo por edad en pacientes con más de una gestación, expresado en cifras absolutas y en porcentaje de las gestaciones sucesivas (el número en las filas, del 1 al 4, refleja el ordinal de la gestación a la que se refiere).

La misma distribución, pero únicamente en los fetos aneuploides, se muestra en la siguiente tabla:

	POSITIVO	NEGATIVO	Total
1	21 56,8%	16 43,2%	37 100%
2	10 76,9%	3 23,1%	13 100%
3	2 66,7%	1 33,3%	3 100%
Total	33 62,3%	20 37,7%	53 100%

Tabla 24. Resultados del riesgo por edad en las gestaciones aneuploides de pacientes con más de un embarazo, expresado en cifras absolutas y en porcentaje de las gestaciones sucesivas (el número en las filas, del 1 al 4, refleja el ordinal de la gestación a la que se refiere).

La sensibilidad y la tasa de falsos positivos del parámetro edad materna para la detección de aneuploidías, fueron como sigue:

- Para la primera gestación: S = 56,8%, TFP = 21,6%.
- Para la segunda gestación: S = 76,9%, TFP = 49,9%.
- Para la tercera gestación: S = 66,7%, TFP = 62,4%.
- Para la cuarta gestación: TFP = 71,4%.
- Global: S = 62,3%, TFP = 36,8%.

El incremento de la TFP fue estadísticamente significativo entre gestaciones.

La siguiente tabla muestra la distribución de pacientes con riesgo positivo en el cribado combinado, en las gestaciones sucesivas. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas:

	POSITIVO	NEGATIVO	Total
1	74 3,2%	2269 96,8%	2343 100%
2	60 2,6%	2283 97,4%	2343 100%
3	4 2,6%	148 97,4%	152 100%
4	2 14,3%	12 85,7%	14 100%
Total	140 2,9%	4712 97,1%	4852 100%

Tabla 25. Resultados del riesgo combinado en pacientes con más de una gestación, expresado en cifras absolutas y en porcentaje de las gestaciones sucesivas (el número en las filas, del 1 al 4, refleja el ordinal de la gestación a la que se refiere).

La misma distribución, pero únicamente en los fetos aneuploides, se muestra en la siguiente tabla:

	POSITIVO	NEGATIVO	Total
1	27 73,0%	10 27,0%	37 100%
2	11 84,6%	2 15,4%	13 100%
3	3 100%	0 0%	3 100%
Total	41 77,4%	12 22,6%	53 100%

Tabla 26. Resultados del riesgo combinado en las gestaciones aneuploides de pacientes con más de un embarazo, expresado en cifras absolutas y en porcentaje de las gestaciones sucesivas (el número en las filas, del 1 al 4, refleja el ordinal de la gestación a la que se refiere).

La sensibilidad y la tasa de falsos positivos del cribado combinado para la detección de aneuploidías en gestaciones sucesivas, fueron como sigue:

- Para la primera gestación: S = 73%, TFP = 2%.
- Para la segunda gestación: S = 84,6%, TFP = 2,1%.
- Para la tercera gestación: S = 100%, TFP = 0,7%.
- Para la cuarta gestación: TFP = 14,3%.
- Global: S = 77,4%, TFP = 2,1%.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

La TFP en gestaciones con feto varón fue del 2,2% y en gestaciones con feto mujer del 2,5%, sin que estas diferencias fueran estadísticamente significativas.

La siguiente tabla muestra la distribución de pacientes con riesgo positivo por edad + bioquímica, en las gestaciones sucesivas. Las diferencias fueron estadísticamente significativas entre grupos:

	POSITIVO	NEGATIVO	Total
1	277 11,8%	2065 88,2%	2342 100%
2	540 23,0%	1803 77,0%	2343 100%
3	36 23,7%	116 76,3%	152 100%
4	3 21,4%	11 78,6%	14 100%
Total	856 17,6%	3995 82,4%	4851 100%

Tabla 27. Resultados del riesgo por edad + bioquímica en pacientes con más de una gestación, expresado en cifras absolutas y en porcentaje de las gestaciones sucesivas (el número en las filas, del 1 al 4, refleja el ordinal de la gestación a la que se refiere).

La misma distribución, pero únicamente en los fetos aneuploides, se muestra en la siguiente tabla:

	POSITIVO	NEGATIVO	Total
1	22 59,5%	15 40,5%	37 100%
2	10 76,9%	3 23,1%	13 100%
3	3 100%	0 0%	3 100%
Total	35 66,0%	18 34,0%	53 100%

Tabla 28. Resultados del riesgo por edad + bioquímica en las gestaciones aneuploides de pacientes con más de un embarazo, expresado en cifras absolutas y en porcentaje de las gestaciones sucesivas (el número en las filas, del 1 al 4, refleja el ordinal de la gestación a la que se refiere).

La sensibilidad y la tasa de falsos positivos del cribado por edad + bioquímica para la detección de aneuploidías en gestaciones sucesivas, fueron como sigue:

- Para la primera gestación: S = 59,5%, TFP = 11,1%.
- Para la segunda gestación: S = 76,9%, TFP = 22,7%.
- Para la tercera gestación: S = 100%, TFP = 22,1%.
- Para la cuarta gestación: TFP = 21,4%.
- Global: S = 66%, TFP = 17,1%.

Las diferencias en los falsos positivos fueron estadísticamente significativas entre gestaciones.

La TFP en gestaciones con feto varón fue del 14,8% y en gestaciones con feto mujer del 18,7%. Estas diferencias fueran estadísticamente significativas, lo que indica que el número de falsos positivos es mayor en gestaciones con feto mujer.

5.2. Comparación de riesgos entre las sucesivas gestaciones.

Posteriormente, fueron excluidas todas las gestaciones de pacientes que hubieran tenido al menos un feto con aneuploidía, de manera que los siguientes cálculos sólo incluyeran gestaciones con fetos euploides. Como hubo 53 aneuploidías, pero una

paciente tuvo dos casos, se eliminó un total de 52 pacientes y de 115 gestaciones. De esta manera, quedaron 2291 pacientes con gestaciones sucesivas euploides (2149 con dos gestaciones, 129 con tres gestaciones, 13 con cuatro gestaciones).

A continuación se estudia la evolución del riesgo por edad de las gestaciones sucesivas respecto de la primera. Las diferencias fueron estadísticamente significativas en todos los casos; sólo se muestra la tabla que compara la segunda gestación con la primera:

		2ª gestación		
		POSITIVO	NEGATIVO	Total
1ª gestación	POSITIVO	487	5	492
		99,0%	1,0%	100%
		42,9%	0,4%	21,5%
	NEGATIVO	21,3%	0,2%	21,5%
		649	1150	1799
		36,1%	63,9%	100%
Total	57,1%	99,6%	78,5%	
	28,3%	50,2%	78,5%	
	1136	1155	2291	
Total	49,6%	50,4%	100%	
	100%	100%	100%	
	49,6%	50,4%	100%	

Tabla 29. Resultados del riesgo por edad en la segunda gestación (columnas) respecto de la primera (filas). En cada casilla se representa: 1º valor absoluto, 2º porcentaje respecto al grupo con el mismo riesgo, en la primera gestación; 3º porcentaje respecto al grupo con el mismo riesgo, en la segunda gestación y 4º el porcentaje respecto del total.

Ahora se estudia la evolución del riesgo combinado de las gestaciones sucesivas respecto de la primera. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas en ningún caso; únicamente se muestra la tabla que compara los riesgos entre las gestaciones primera y segunda:

		2ª gestación		
		POSITIVO	NEGATIVO	Total
1ª gestación	POSITIVO	2	45	47
		4,3%	95,7%	100%
		4,3%	2,0%	2,1%
	NEGATIVO	0,1%	2,0%	2,1%
		45	2199	2244
		2,0%	98,0%	100%
Total	95,7%	98,0%	97,9%	
	2,0%	96,0%	97,9%	
	47	2244	2291	
Total	2,1%	97,9%	100%	
	100%	100%	100%	
	2,1%	97,9%	100%	

Tabla 30. Resultados del riesgo combinado en la segunda gestación (columnas) respecto de la primera (filas). En cada casilla se representa: 1º valor absoluto, 2º porcentaje respecto al grupo con el mismo riesgo, en la primera gestación; 3º porcentaje respecto al grupo con el mismo riesgo, en la segunda gestación y 4º el porcentaje respecto del total.

Por último se muestra la evolución del riesgo por edad + bioquímica de las gestaciones sucesivas respecto de la primera. Las diferencias fueron estadísticamente significativas entre las gestaciones primera y segunda (tabla 31):

		2ª gestación		
		POSITIVO	NEGATIVO	Total
1ª gestación	POSITIVO	165	86	251
		65,7%	34,3%	100%
		32,0%	4,8%	11,0%
	NEGATIVO	7,2%	3,8%	11,0%
		351	1688	2039
		17,2%	82,8%	100%
Total	68,0%	95,2%	89,0%	
	15,3%	73,7%	89,0%	
	516	1774	2290	
Total	22,5%	77,5%	100%	
	100%	100%	100%	
	22,5%	77,5%	100%	

Tabla 31. Resultados del riesgo por edad + bioquímica en la segunda gestación (columnas) respecto de la primera (filas). En cada casilla se representa: 1º valor absoluto, 2º porcentaje respecto al grupo con el mismo riesgo, en la primera gestación; 3º porcentaje respecto al grupo con el mismo riesgo, en la segunda gestación y 4º el porcentaje respecto del total.

5.3. Comportamiento de las variables según gravidez y sexo fetal.

Para estudiar el comportamiento de la PAPP-A, la $f\beta HCG$ y la TN en función de la gravidez, se agrupó a las pacientes con gestaciones únicas con las primeras gestaciones de las pacientes con varios embarazos; y así, se comparó este grupo con el de segunda y tercera gestación; por el escaso tamaño muestral, se agrupó a las pacientes con 4 ó más gestaciones. La descripción del comportamiento de los MoM de PAPP-A, $f\beta HCG$ y TN se muestra en la siguiente tabla:

		N	Media	DS	Error típico	IC para la media al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
MoM PAPP-A	1	18683	1,3012	0,92401	0,00676	1,2880	1,3145
	2	2343	1,2233	0,72543	0,01499	1,1939	1,2526
	3	152	1,1971	0,72028	0,05842	1,0817	1,3125
	4	15	1,1471	0,79884	0,20626	0,7047	1,5894
	Total	21193	1,2918	0,90312	0,00620	1,2796	1,3039
MoM TN	1	18683	0,86217	0,408571	0,002989	0,85632	0,86803
	2	2343	0,84855	0,329878	0,006815	0,83518	0,86191
	3	152	0,89183	0,349555	0,028353	0,83581	0,94785
	4	15	0,88053	0,167144	0,043156	0,78797	0,97309
	Total	21193	0,86089	0,400124	0,002749	0,85551	0,86628
MoM $f\beta HCG$	1	18683	1,23742	1,123552	0,008220	1,22131	1,25354
	2	2343	1,23216	0,847564	0,017510	1,19783	1,26650
	3	152	1,14524	0,982349	0,079679	0,98781	1,30267
	4	15	1,02733	0,585309	0,151126	0,70320	1,35147
	Total	21193	1,23603	1,095189	0,007523	1,22129	1,25078

Tabla 32. Valores de los MoM de PAPP-A, TN y $f\beta HCG$ en función del número de gestaciones (el número, del 1 al 4, refleja el número de gestaciones incluyendo la actual). N: Número de pacientes cribadas. IC: Intervalo de confianza.

En la TN no se halló ninguna diferencia significativa entre grupos. En los parámetros bioquímicos hay en ambos casos una tendencia decreciente de los valores de los MoM, que sólo fue estadísticamente significativa para la PAPP-A, entre primigestas y secundigestas. Este comportamiento de las variables se mantiene igual en el subgrupo de pacientes con gestaciones sucesivas tras haber

excluido todas las gestaciones de las pacientes que tuvieron algún feto aneuploide, como se muestra detalladamente más adelante.

La tendencia de comportamiento de las tres variables, en función de la gravidez, se refleja en los siguientes gráficos:

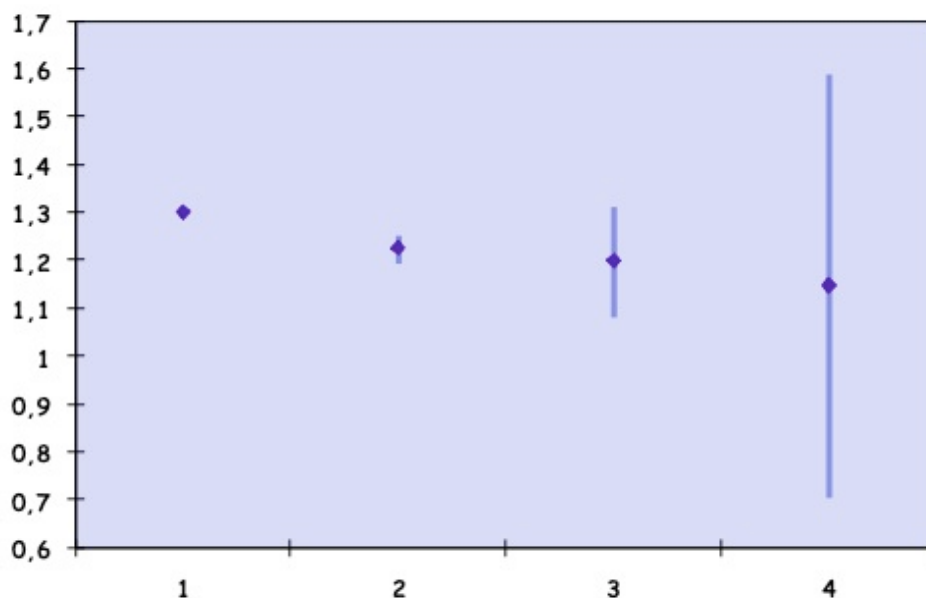


Gráfico 22. Media e intervalo de confianza al 95% para los MoM de PAPP-A (en el eje de ordenadas), en función de la gravidez. Los números en el eje de abscisas representan el ordinal de la gestación.

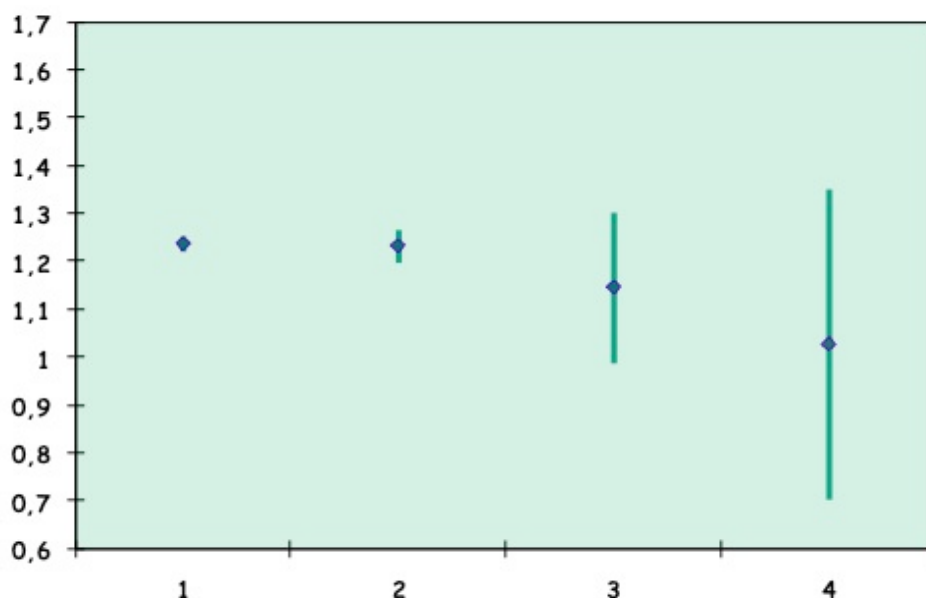


Gráfico 23. Media e intervalo de confianza al 95% para los MoM de fβHCG (en el eje de ordenadas), en función de la gravidez. Los números en el eje de abscisas representan el ordinal de la gestación.

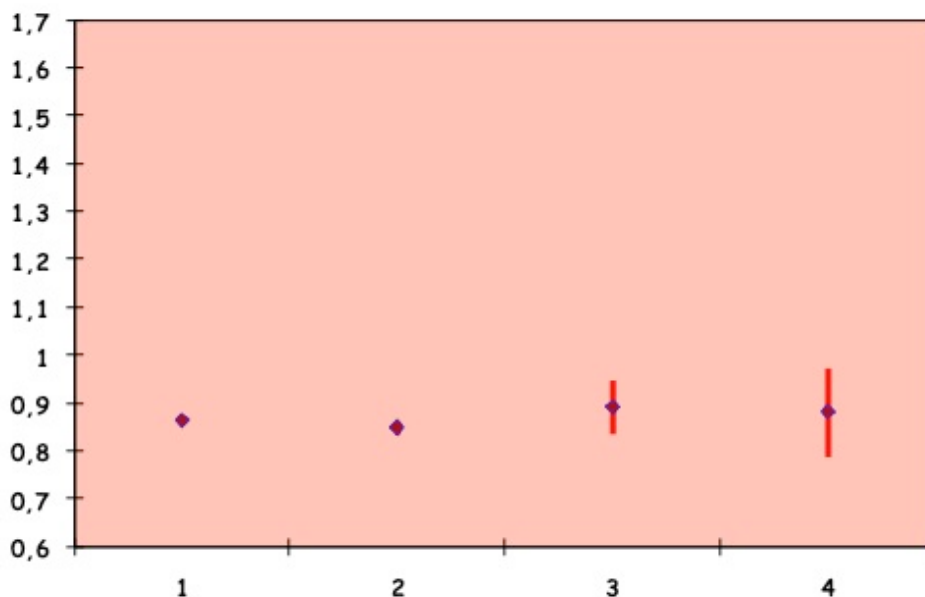


Gráfico 24. Media e intervalo de confianza al 95% para los MoM de TN (en el eje de ordenadas), en función de la gravidez. Los números en el eje de abscisas representan el ordinal de la gestación.

Para estudiar el comportamiento de las variables TN, PAPP-A y f β HCG en el subgrupo de pacientes con gestaciones sucesivas, en función del sexo fetal, fueron excluidas todas las gestaciones de las pacientes que hubieran tenido alguna gestación aneuploide, y a través de consulta de la intranet del Hospital Clínico San Carlos, se investigó el sexo de los nacidos en estas gestaciones. Se consiguió información del sexo del nacido en 3875 casos. En el resto no había datos disponibles, o el resultado fue un aborto. De estas gestaciones con sexo conocido, el 53,1% correspondían a varones, y el 46,9% a mujeres.

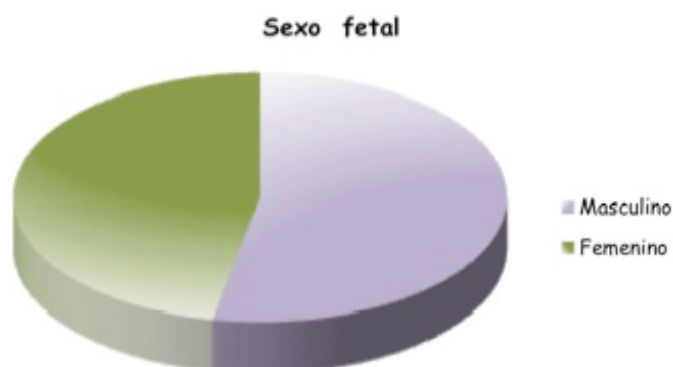


Gráfico 25. Proporción de fetos respecto al sexo, en el grupo de gestaciones sucesivas.

La siguiente tabla representa la distribución de las tres variables y de sus MoM, en función del sexo fetal:

VARIABLE	SEXO FETAL	N	MEDIA	DS
PAPP-A	1	2056	3466,32	2416,648
	2	1819	3555,88	2439,920
f β HCG	1	2056	37,5379	25,84271
	2	1819	46,2739	41,52196
TN	1	2056	1,29081	0,510682
	2	1819	1,26025	0,524387
MoM PAPP-A	1	2056	1,2368	0,72120
	2	1819	1,2759	0,70543
MoM f β HCG	1	2056	1,11331	0,744876
	2	1819	1,38114	1,468639
MoM TN	1	2056	0,84743	0,337458
	2	1819	0,83221	0,353223

Tabla 33. Distribución de TN, PAPP-A y f β HCG, y de sus MoM, en función del sexo fetal (1: masculino, 2: femenino).

Los valores de PAPP-A, f β HCG y sus MoM fueron mayores para fetos mujeres que para fetos varones. Con la TN sucede lo contrario. Las diferencias fueron significativas para la f β HCG y sus MoM. No fueron significativas para el resto de las variables, aunque resultó límite para la TN ($p = 0,067$) y para los MoM de PAPP-A ($p = 0,088$).

En el grupo de gestaciones sucesivas, con todas las gestaciones euploides, se discriminó por sexo fetal y los resultados obtenidos se muestran en las siguientes tablas:

		N	Media	DS	Error típico	IC para la media al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
MoM PAPP-A	1	1046	1,2679	0,73213	0,02264	1,2235	1,3123
	2	951	1,2031	0,71015	0,02303	1,1579	1,2483
	3	52	1,2042	0,68800	0,09541	1,0127	1,3957
	4	7	1,4001	0,72528	0,27413	0,7294	2,0709
	Total	2056	1,2368	0,72120	0,01591	1,2056	1,2679
MoM TN	1	1046	0,84305	0,376983	0,011656	0,82018	0,86593
	2	951	0,84818	0,279676	0,009069	0,83039	0,86598
	3	52	0,90867	0,458413	0,063570	0,78105	1,03630
	4	7	0,94400	0,183454	0,069339	0,77433	1,11367
	Total	2056	0,84743	0,337458	0,007442	0,83284	0,86203
MoM fβHCG	1	1046	1,13855	0,788335	0,024375	1,09072	1,18638
	2	951	1,09739	0,706004	0,022894	1,05246	1,14231
	3	52	0,94198	0,519293	0,072013	0,79741	1,08655
	4	7	0,77743	0,209023	0,079003	0,58411	0,97074
	Total	2056	1,11331	0,744876	0,016428	1,08109	1,14552

Tabla 34. Valores de los MoM de PAPP-A, TN y fβHCG en función del número de gestaciones (el número, del 1 al 4, refleja el número de gestaciones incluyendo la actual), en casos con feto VARÓN.

Aunque las tendencias son similares para cada una de las variables a las del grupo global, las diferencias no fueron estadísticamente significativas en el grupo de fetos masculinos.

		N	Media	DS	Error típico	IC para la media al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
MoM PAPP-A	1	908	1,3420	0,72802	0,02416	1,2945	1,3894
	2	857	1,2197	0,67840	0,02317	1,1742	1,2652
	3	50	1,0885	0,62074	0,08779	0,9121	1,2649
	4	4	0,6815	0,66086	0,33043	-0,3701	1,7331
	Total	1819	1,2759	0,70543	0,01654	1,2435	1,3084
MoM TN	1	908	0,83630	0,406969	0,013506	0,80980	0,86281
	2	857	0,82641	0,293629	0,010030	0,80673	0,84610
	3	50	0,85306	0,233661	0,033045	0,78665	0,91947
	4	4	0,88625	0,128144	0,064072	0,68234	1,09016
	Total	1819	0,83221	0,353223	0,008282	0,81597	0,84846
MoM fβHCG	1	908	1,43060	1,865813	0,061919	1,30908	1,55212
	2	857	1,34980	0,928030	0,031701	1,28758	1,41202
	3	50	1,01624	0,533822	0,075494	0,86453	1,16795
	4	4	1,42900	0,971204	0,485602	-0,11640	2,97440
	Total	1819	1,38114	1,468639	0,034435	1,31360	1,44867

Tabla 35. Valores de los MoM de PAPP-A, TN y fβHCG en función del número de gestaciones (el número, del 1 al 4, refleja el número de gestaciones incluyendo la actual), en casos con feto MUJER.

En el grupo de fetos femeninos, las diferencias fueron estadísticamente significativas para la PAPP-A entre las gestaciones primera y segunda. Entre las gestaciones primera y tercera se obtuvo una $p=0,078$ (límite). Cabe destacar la gran dispersión de los valores de βHCG (DS altas), sobre todo en la primera gestación.

5.4. PAPP-A.

Se estudió los niveles de PAPP-A en los cuatro grupos, divididos en función del número de gestaciones previas. La tendencia a valores descendentes de los MoM de la PAPP-A conforme aumentaba el número de gestaciones, observada en el grupo total de gestantes, se confirma para las pacientes con más de una gestación, y también al considerar sólo las euploides. Este descenso sólo fue estadísticamente significativo ($p<0,001$) entre la primera y la segunda gestación.

	1	2	3	4
Media	1,29	1,22	1,18	1,06
DS	0,72	0,69	0,69	0,71
Mínimo	0,19	0,11	0,16	0,27
Máximo	6,43	7,93	4,39	2,53
p25	0,80	0,74	0,68	0,52
p75	1,61	1,51	1,48	1,76

Tabla 36. Valores de los MoM de PAPP en las gestaciones sucesivas euploides.

Al correlacionar los valores de la PAPP-A en las sucesivas gestaciones, encontramos unos coeficientes de Spearman que muestran una correlación moderada y estadísticamente significativa entre las sucesivas gestaciones. De esta manera, las respectivas Rho de Spearman (ρ), el nivel de significación estadística y el tamaño muestral en cada grupo, se muestra en la siguiente tabla:

		2	3	4
1	ρ	0,530	0.576	0.742
	Sig.	0.000	0.000	0.004
	N	2291	142	13
2	ρ		0.494	0.709
	Sig.		0.000	0.007
	N		142	13
3	ρ			0.742
	Sig.			0.004
	N			13

Tabla 37. Correlación de los valores de PAPP-A entre gestaciones sucesivas (los números 1,2,3,4, indican el ordinal de gestación). ρ : Rho de Spearman. Sig.: Significación estadística (bidireccional).

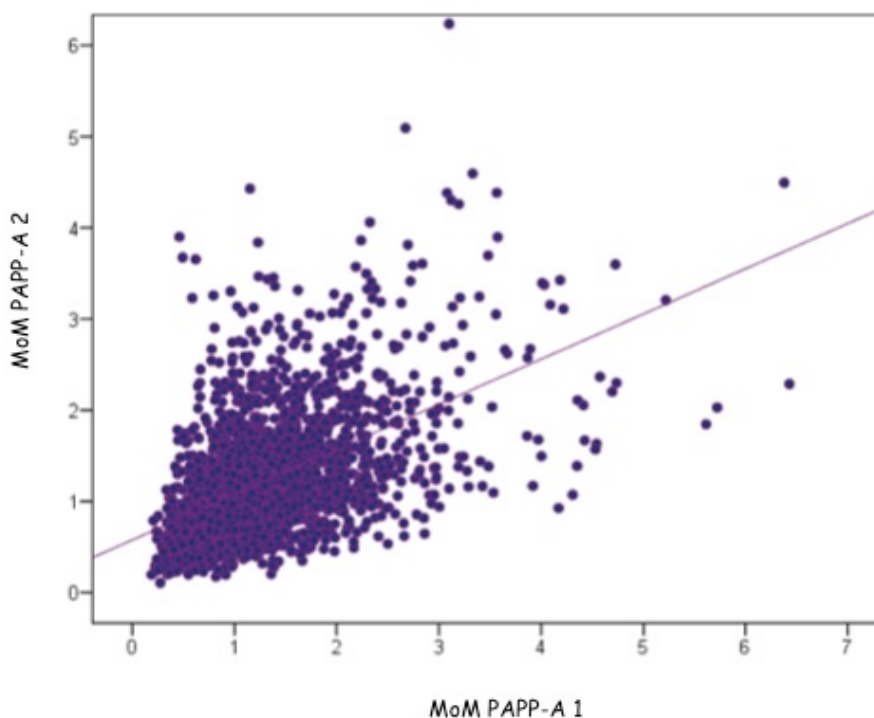


Gráfico 26. Valores de los múltiplos de la mediana (MoM) de la PAPP-A en la segunda gestación, en relación con la primera.

Se discriminó por sexo fetal en la primera y la segunda gestaciones y se volvió a calcular los coeficientes de correlación, sin observar diferencias importantes y sin que se viera una tendencia clara de comportamiento de las variables en función del sexo fetal.

SEXO DE LOS FETOS			
1-1	ρ	0,493	
	N	478	
1-2	ρ	0,562	
	N	414	
2-1	ρ	0,585	
	N	382	
2-2	ρ	0,529	
	N	366	

Tabla 38. Correlación de los MoM de PAPP-A entre primera y segunda gestación, considerando el sexo fetal en cada una de ellas (1: masculino, 2: femenino). Todas las correlaciones fueron estadísticamente significativas.

5.5. f β HCG.

No hubo diferencias significativas en los valores de f β HCG, entre diferentes grupos, por gestaciones sucesivas. Se vio una tendencia a valores decrecientes, pero no alcanzó significación estadística ($p=0,609$), y se producía tanto al considerar todas las multigrávidas como si consideramos sólo las pacientes con gestaciones euploides.

	1	2	3	4
Media	1,27	1,23	1,12	1,03
DS	1,34	0,84	0,98	0,59
Mínimo	0,03	0,15	0,24	0,57
Máximo	50,55	9,86	10,39	2,86
p25	0,67	0,68	0,65	0,65
p75	1,53	1,53	1,40	1,11

Tabla 39. Valores de los MoM de f β HCG en las gestaciones sucesivas euploides.

Al correlacionar los valores de la f β HCG en las sucesivas gestaciones, encontramos unos coeficientes de Spearman que muestran una correlación débil pero estadísticamente significativa entre las sucesivas gestaciones, excepto la cuarta gestación respecto de las demás (probablemente debido al escaso tamaño muestral). De esta manera, las respectivas Rho de Spearman (ρ), el nivel de

significación estadística y el tamaño muestral en cada grupo, se muestra en la siguiente tabla:

		2	3	4
1	ρ	0.439	0.324	0.511
	Sig.	0.000	0.000	0.074
	N	2291	142	13
2	ρ		0.334	0.429
	Sig.		0.000	0.144
	N		142	13
3	ρ			0,533
	Sig.			0.061
	N			13

Tabla 40. Correlación de los valores de β HCG entre gestaciones sucesivas (los números 1,2,3,4, indican el ordinal de gestación). ρ : Rho de Spearman. Sig.: Significación estadística (bidireccional).

Los coeficientes en rojo no fueron estadísticamente significativos.

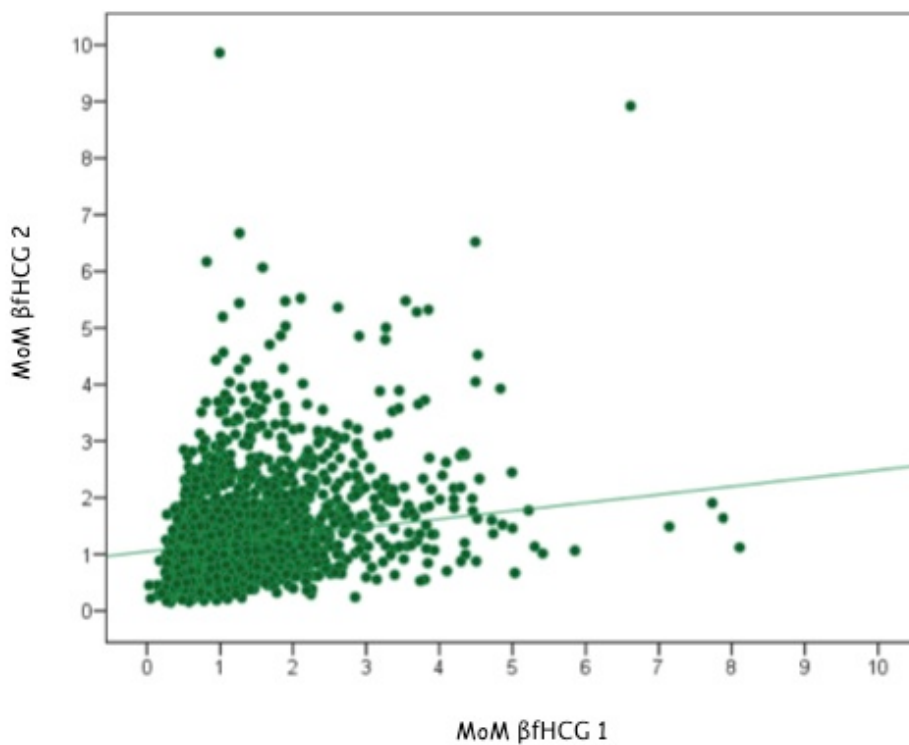


Gráfico 27. Valores de los múltiplos de la mediana (MoM) de la β HCG en la segunda gestación, en relación con la primera.

Se discriminó por sexo fetal en la primera y la segunda gestaciones y se volvió a calcular los coeficientes de correlación, sin observar diferencias importantes y sin que se viera una tendencia clara de comportamiento de las variables en función del sexo fetal.

SEXO DE LOS FETOS	
1-1	ρ 0,470
	N 478
1-2	ρ 0,427
	N 414
2-1	ρ 0,389
	N 382
2-2	ρ 0,463
	N 366

Tabla 41. Correlación de los MoM de f β HCG entre primera y segunda gestación, considerando el sexo fetal en cada una de ellas (1: masculino, 2: femenino). Todas las correlaciones fueron estadísticamente significativas.

5.6. Translucencia nucal.

No hubo diferencias significativas en los valores de TN entre diferentes grupos, por gestaciones sucesivas euploides, y tampoco incluyendo las aneuploides. Asimismo no hubo correlación, salvo entre las gestaciones 1 y 2, donde se encuentra una correlación significativa, pero muy débil ($\rho = 0,072$). Al discriminar por sexo fetal se observa la misma tendencia y los coeficientes de correlación no fueron significativos, salvo en el grupo con dos fetos femeninos, con una ρ de 0,110 al correlacionar los MoM de la TN entre la primera y la segunda gestaciones. Las diferencias de los valores de los MoM de TN entre gestaciones sucesivas resultaron prácticamente nulas.

	1	2	3	4
Media	0,84	0,83	0,87	0,88
DS	0,38	0,27	0,32	0,18
Mínimo	0,06	0,17	0,32	0,58
Máximo	7,24	4,59	3,38	1,29
p25	0,64	0,66	0,69	0,74
p75	0,96	0,96	1,00	1,00

Tabla 42. Valores de los MoM de TN en las gestaciones sucesivas euploides.

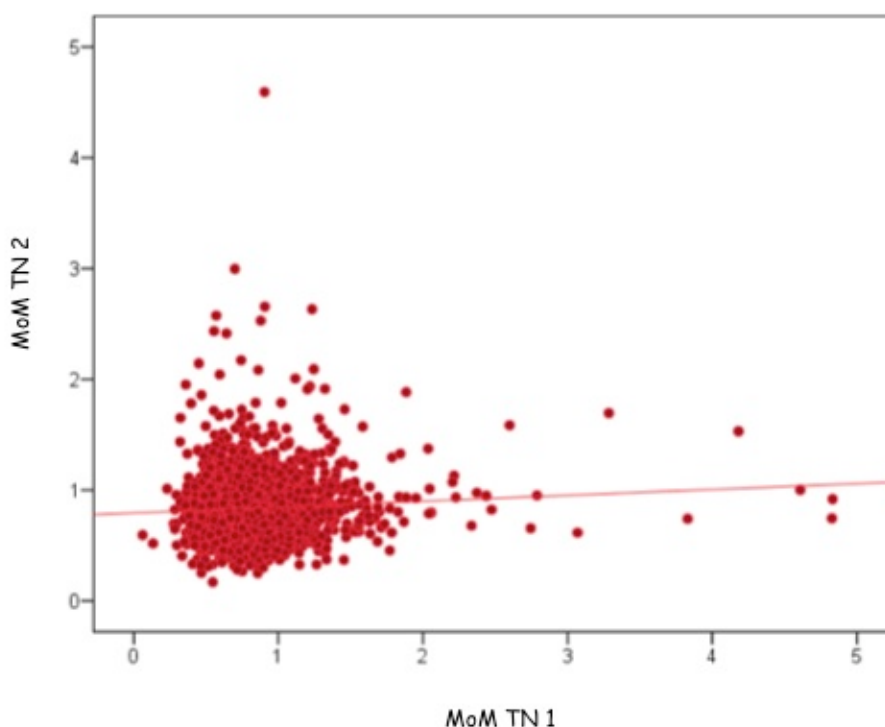


Gráfico 28. Valores de los múltiplos de la mediana (MoM) de la TN en la segunda gestación, en relación con la primera.

5.7. Diferencias individuales.

Para el análisis de las diferencias individuales se utilizó el método de Bland-Altman. Se obtuvo, para cada paciente, la diferencia de los valores de PAPP-A, $f\beta HCG$ y TN entre las gestaciones segunda y primera. La TN no varía con la gravidez. Las dos variables bioquímicas tienden a disminuir de la primera a la segunda gestación en una misma paciente, aunque la diferencia sólo es estadísticamente significativa para la PAPP-A.

	N	Media	DS	Error típico
MoM PAPP-A	2291	-0,0781	0,6995	0,0146
MoM β HCG	2291	-0,0389	1,4179	0,0296
MoM TN	2291	-0,0053	0,4609	0,0096

Tabla 43. Valores de las diferencias de los MoM de PAPP-A, β HCG y TN entre la segunda y la primera gestaciones.

En este último gráfico se muestran las diferencias individuales, entre la primera y la segunda gestaciones, de los valores de PAPP-A, β HCG y TN. Sólo fueron estadísticamente significativas para la PAPP-A.

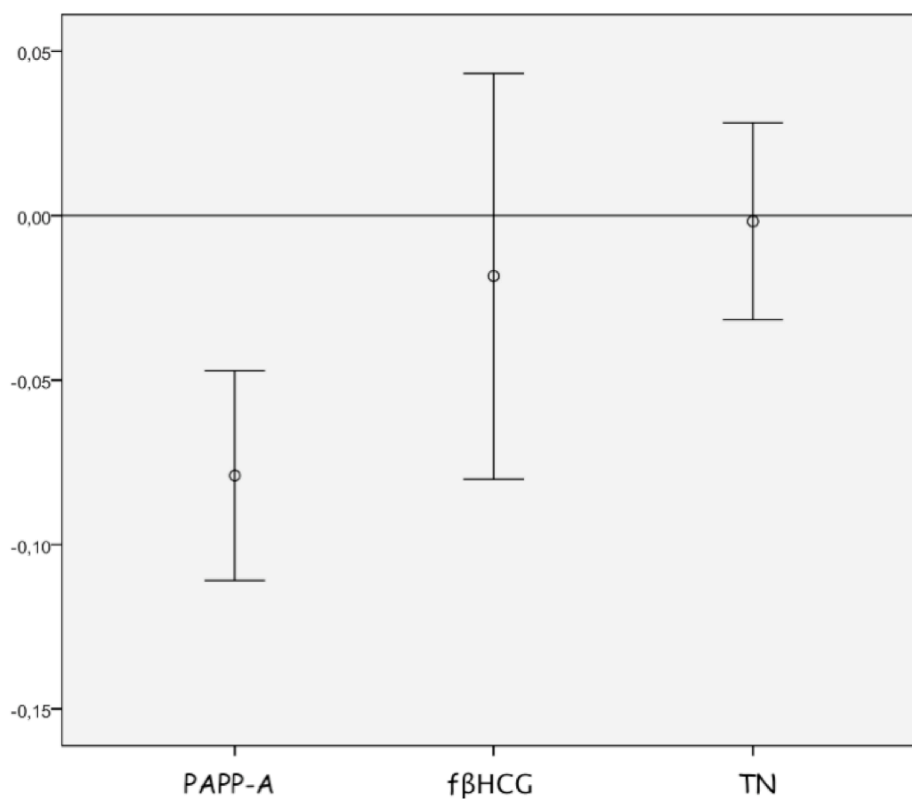


Gráfico 29. Media e intervalo de confianza al 95% de las diferencias individuales de PAPP-A, β HCG y TN, entre la segunda y la primera gestación, en pacientes con todas las gestaciones euploides.

5.8. Correlaciones entre variables distintas.

La TN no mostró correlación con las variables bioquímicas en ninguno de los grupos de las gestaciones sucesivas. Sin embargo, sí se vio correlación débil entre PAPP-A y f β HCG en el mismo grupo de gestación, significativa para primigestas, secundigestas y tercigestas:

	1	2	3	4
ρ	0,186	0,198	0,272	-0,313
Sig	0,000	0,000	0,000	0,297
N	2291	2291	142	13

Tabla 44. Correlación de los valores de f β HCG y PAPP-A entre sí, en las sucesivas gestaciones (los números 1,2,3,4, indican el ordinal de gestación). ρ : Rho de Spearman. Sig.: Significación estadística (bidireccional). Los coeficientes en rojo no fueron estadísticamente significativos.

Se discriminó por sexo fetal en la primera y la segunda gestaciones y se volvió a calcular los coeficientes de correlación, sin observar diferencias importantes y sin que se viera una tendencia clara de comportamiento de las variables en función del sexo fetal.

SEXO DE LOS FETOS	1ª GESTACIÓN		2ª GESTACIÓN	
1-1	ρ	0,159	ρ	0,179
	N	478	N	478
1-2	ρ	0,172	ρ	0,280
	N	414	N	414
2-1	ρ	0,207	ρ	0,122
	N	382	N	382
2-2	ρ	0,189	ρ	0,176
	N	366	N	366

Tabla 45. Correlación entre los MoM de f β HCG y PAPP-A, en las gestaciones primera y segunda, considerando el sexo fetal en cada una de ellas (1: masculino, 2: femenino). Todas las correlaciones fueron estadísticamente significativas.

Al comparar entre gestaciones diferentes se halló también correlación significativa, aunque débil o muy débil, entre PAPP-A y β HCG. En la tabla siguiente se ha eliminado los datos de las gestaciones coincidentes para facilitar su lectura, así como los datos de la cuarta gestación, que no aportan información útil por el escaso tamaño muestral.

PAPP-A \ β HCG	1	2	3
1	X	0,098 0,000 2291	0,177 0,036 142
2	0,122 0,000 2291	X	0,079 0,353 142
3	0,208 0,013 142	0,144 0,088 142	X

Tabla 46. Correlación de los valores de β HCG y PAPP-A entre sí, en las diferentes gestaciones sucesivas (los números 1,2,3, indican el ordinal de gestación). Las cifras en cada cuadro significan, de arriba abajo: el coeficiente rho de Spearman, la significación estadística (bidireccional), y el tamaño muestral. Los coeficientes en rojo no fueron estadísticamente significativos.

Se discriminó por sexo fetal y se volvió a calcular los coeficientes; se observó correlaciones débiles, que en algunos casos no fueron estadísticamente significativas. Para ver la posible influencia del sexo fetal, a continuación se muestra la correlación de PAPP-A y β HCG entre primera y segunda gestación, separando por el sexo de los fetos.

SEXO DE LOS FETOS			
1-1	ρ	0,044	
	N	478	
1-2	ρ	0,149	
	N	414	
2-1	ρ	0,088	
	N	382	
2-2	ρ	0,133	
	N	366	

Tabla 47. Correlación de los MoM de $f\beta HCG$ en la segunda gestación, respecto a los MoM de PAPP-A en la primera, considerando el sexo fetal en cada una de ellas (1: masculino, 2: femenino). En rojo se muestra las correlaciones que no fueron estadísticamente significativas.

SEXO DE LOS FETOS			
1-1	ρ	0,098	
	N	478	
1-2	ρ	0,143	
	N	414	
2-1	ρ	0,163	
	N	382	
2-2	ρ	0,099	
	N	366	

Tabla 48. Correlación de los MoM de PAPP-A en la segunda gestación, respecto a los MoM de $f\beta HCG$ en la primera, considerando el sexo fetal en cada una de ellas (1: masculino, 2: femenino). En rojo se muestra una correlación que no fue estadísticamente significativa (p límite 0,058).

DISCUSIÓN

El cribado combinado de cromosomopatías, con marcadores ecográficos y bioquímicos, en el primer trimestre de la gestación, se ha generalizado en muchos países, incluida España, en los últimos diez años. Según se ha ido obteniendo nuevos datos, han mejorado los algoritmos de cálculo del riesgo, para así optimizar las tasas de detección. Esto ha sido posible teniendo en cuenta factores como gestación múltiple (*versus* simple), peso materno, consumo de tabaco, diabetes mellitus insulina-dependiente, metrorragias del primer trimestre, tratamientos de reproducción asistida y paridad, de manera que la corrección del riesgo a través de estos factores reduce la tasa de falsos positivos⁶⁷.

El Hospital Clínico San Carlos fue uno de los primeros en implantar el cribado combinado del primer trimestre en la Comunidad de Madrid. Ello permite disponer de una amplia casuística, de la que los datos analizados merecen algunas puntualizaciones.

Desde la implantación del cribado en 1999, el número de pacientes que se acogen a esta estrategia va aumentando hasta hacerse estable en 2004, año a partir del cual se criba en torno a 2400 pacientes por año.

Respecto a las características demográficas, cabe comentar que la edad materna media (y la mediana) está por encima de los 30 años, en concordancia con la tendencia social en nuestro país, desde hace unos años, de retrasar el momento de la maternidad. Igualmente hay que considerar el aumento, en los últimos años, de la técnicas de reproducción asistida en pacientes estériles cuya edad media es superior. En nuestra muestra no se dispone de información a este respecto, y no se introduce factor de corrección en función de la forma de concepción; pero recordamos el contexto de la reciente aparición y progresivo desarrollo de la Unidad de Reproducción Asistida en el Hospital Clínico San Carlos, cuyas pacientes han podido contribuir a un aumento de la edad media materna.

La distribución de razas que nos permite la clasificación del programa informático de cribado no refleja la situación real de nuestra población. Este programa se

adapta mejor a la distribución de razas de los países anglosajones, con un porcentaje significativo de pacientes de raza negra y amarilla. Sin embargo, nuestra población tiene un porcentaje significativo de pacientes de los países del norte de África y, sobre todo, de América latina, con diversos grados de mestizaje que no pueden ser reflejados en el momento del cribado, ya que por la clasificación disponible se ha optado por incluir a todas estas pacientes en el grupo de raza blanca.

Los datos relacionados con el peso materno nos informan de que, en general, no trabajamos con población obesa. El porcentaje de pacientes fumadoras fue de casi un 16%, y esta se consideró como una variable dicotómica, sin que se disponga de información respecto al número de cigarrillos consumidos, ni durante cuánto tiempo. El porcentaje de pacientes diabéticas es algo menor que el reflejado en la literatura para nuestro país⁷⁹ (1% de prevalencia para diabetes pregestacional según la GEDE en 2005).

La mayoría de las pacientes fueron cribadas entre las semanas 11 y 12 cumplidas de gestación. Esto parece seguir la tendencia generalizada a realizar el examen ecográfico del primer trimestre en torno a la semana 12, ya que facilita la realización de una valoración anatómica precoz que complementa el propósito de cribado de aneuploidías de la prueba^{3,10}.

La edad gestacional en el momento del parto y el peso del recién nacido no muestran valores extremos ni inesperados.

Respecto a la distribución por sexos se observa, como era de esperar, una cierta predominancia de los fetos con sexo masculino. Conocemos la tasa de natalidad superior de varones que de mujeres y también la mayor mortalidad de los primeros, lo cual pudiera explicar la pequeña diferencia en las proporciones. Para esta descripción general, utilizamos los datos disponibles en la base de datos original, en la que se conocía el sexo del feto en 4370 casos.

En cuanto al comportamiento de las variables bioquímicas y ultrasonográficas estudiadas vemos que, en nuestra población, las medianas de los MoM de PAPP-A y

$f\beta HCG$ se sitúan muy próximas a 1, lo cual indica que la población de referencia usada por el programa informático para convertir los valores de las variables a MoM se aproxima mucho a nuestra muestra. Sin embargo, en el caso de la TN, la mediana de sus MoM es 0,80, por debajo de lo esperado respecto a los valores de referencia. Teniendo en cuenta que la medida de la TN es más dependiente del observador que la determinación de los niveles de analitos, probablemente estos valores sean debidos a la curva de aprendizaje necesaria para los ecografistas desde la implantación de la estrategia de cribado. Esta aparente tendencia global de los distintos ecografistas dedicados a la realización de este examen a infraestimar ligeramente el valor de la TN repercutiría en una determinación de riesgos menores, que conllevaría una menor sensibilidad de la prueba de cribado. Este aspecto se comentará con más detalle posteriormente.

En las gráficas relacionadas, vemos que las variables bioquímicas tienen curvas asimétricas hacia la derecha, mientras que la TN y sus MoM tiene curvas mucho más simétricas, pero leptocúrticas. La asimetría y el apuntamiento o curtosis en la distribución de las variables demuestran que no siguen una curva de Gauss, motivo por el cual se ha decidido, a pesar de gran tamaño muestral, utilizar pruebas no paramétricas en el análisis de resultados, en la mayoría de los casos.

La tendencia de los marcadores respecto a la edad gestacional confirma el comportamiento esperado en función de la biología^{5,10,27,28}. De esta manera, observamos en nuestra población que, conforme avanza la edad gestacional, en el rango estudiado (finales del primer trimestre, incluye desde 9 hasta 14 semanas cumplidas, aunque en los periodos extremos el tamaño muestral es pequeño):

- Los valores de PAPP-A aumentan.
- Los valores de $f\beta HCG$ disminuyen.
- La medida de la TN aumenta.

El estudio de los niveles de estas mismas variables, respecto al sexo fetal (en el subgrupo de gestaciones cuyo sexo conocíamos inicialmente, todas ellas euploides), concuerda también con los datos publicados^{58,59}. De esta forma:

- La TN es mayor en fetos masculinos, sin diferencias estadísticamente significativas.
- Los valores de PAPP-A y fβHCG son significativamente mayores en fetos femeninos.

Estos mismos marcadores (en valor absoluto y también en MoM) fueron investigados en el subgrupo de pacientes con gestaciones sucesivas, en las que, para este propósito, se investigó el sexo de los nacidos a través de la intranet del hospital. Hay que recordar que en este subgrupo se excluyó a las pacientes con gestaciones aneuploides (todas sus gestaciones). Las tendencias de comportamiento de las variables son similares, con la diferencia de que en este caso las diferencias no fueron estadísticamente significativas para la PAPP-A. La fβHCG muestra en todos los casos un gran índice de dispersión, mayor en fetos de sexo femenino, lo cual va en detrimento de la significación estadística, a pesar de lo cual todas las diferencias son significativas, lo cual da una idea de la gran fuerza de la asociación entre los niveles de esta variable y el sexo fetal.

Se realizó una técnica de diagnóstico genético prenatal (amniocentesis o biopsia de vellosidades coriales) en un 10,5% de la población. Esto es prácticamente equiparable a la TFP de estas pruebas, porque de un total de 2230 técnicas realizadas, sólo 127 fueron realmente aneuploidías (hubo otros 14 diagnósticos realizados postnatalmente). Es un porcentaje aceptable de pruebas invasivas, pero también es susceptible de mejora, puesto que gran parte de las pruebas no fueron indicadas por test de cribado combinado de alto riesgo (aún la ansiedad materna supone una proporción importante de las pruebas que realizamos). La aneuploidía más frecuente es la trisomía 21, que representa más de la mitad de los casos; hubo 21 casos de síndrome de Edwards (trisomía 18) y 11 casos de síndrome de Patau

(trisomía 13); cabe destacar que las anomalías de los cromosomas sexuales, en conjunto, supusieron 25 casos, si bien son aneuploidías que captan una atención secundaria, tanto por parte de las pacientes como incluso de los profesionales.

De los diagnósticos postnatales, 4 de ellos estaban en rango de alto riesgo; el motivo por el que no se realizó diagnóstico prenatal se desconoce, pero es de suponer que la paciente declinó el ofrecimiento de diagnóstico invasivo por razones personales (éticas o religiosas) o miedo a complicaciones de la prueba. Parece más improbable que cambiaran de centro, puesto que los datos no están perdidos y conocemos el cariotipo que se realizó al neonato.

De los 10 falsos negativos de la prueba que no se logró identificar antes del nacimiento, 6 tenían riesgo que actualmente definimos como intermedio (entre 1/270 y 1/1000), que en la actualidad comienza a manejarse con una actitud de reevaluación ecográfica (con marcadores como el hueso nasal, la valoración de la onda A en ductus venoso y la presencia de regurgitación tricuspídea) para reajustar el riesgo e incluir a las pacientes definitivamente en la categoría de riesgo alto o bajo, con la actitud consecuente. Sin embargo, la reevaluación ecográfica es una estrategia actualmente en progresiva implantación y no puede ser tomada en cuenta de cara a los resultados de este trabajo.

Hay otros 32 falsos negativos de la prueba de cribado combinado, pero fueron detectados prenatalmente mediante estudio de cariotipo. El motivo por el que se realizó una prueba de diagnóstico invasivo a estas pacientes se desconoce, pero hay que comentar que el 53% de estas pacientes tuvo alto riesgo respecto a edad + parámetros bioquímicos. Otra posibilidad es que hubiera marcadores o hallazgos ecográficos que de por sí llevaran al profesional a aconsejar a la paciente la realización de cariotipo, o bien que la paciente lo solicitara por iniciativa propia o por otras indicaciones que no están uniformemente aceptadas en todos los centros (riesgo exclusivamente por edad, antecedentes personales o familiares de gestaciones con aneuploidías, etc.).

Se ha estudiado por separado la sensibilidad y tasa de falsos positivos de diferentes métodos de cribado, esto es, el cribado combinado, que es el que realmente se realiza a la paciente; así como la tasa de detección que se podría esperar teniendo sólo en cuenta la edad, o bien la edad junto con los parámetros bioquímicos.

Como cabía esperar, la tasa de detección teniendo en cuenta solamente la edad materna es baja y similar a la referida en la literatura. Esto hace esta estrategia de cribado inaceptable. Vemos una sensibilidad algo mayor para síndrome de Down que para todas las cromosomopatías en general, teniendo en cuenta sólo la edad materna. Probablemente esto se deba a la clara asociación entre la mayor edad materna y la incidencia de gestaciones con trisomía 21, mientras que no todas las cromosomopatías tienen la misma relación directa con la edad materna.

La tasa de detección del cribado mediante edad materna + bioquímica es bastante variable en cada año del periodo de estudio, con algunos picos en los que la sensibilidad supera incluso la del cribado combinado. Teniendo en cuenta que los resultados extremos pueden estar justificados porque al dividir por años el número de aneuploidías en cada uno de ellos se convierte en una muestra reducida, por lo demás la tasa de detección de los marcadores bioquímicos (junto con la edad) se mantiene bastante estable y similar a la de los estudios publicados.

La sensibilidad global del cribado combinado es menor que en algunos de los estudios publicados, aunque estos suelen estar referidas a una tasa de falsos positivos del 5%, y nosotros tenemos una TFP del 2,3%. La sensibilidad para trisomía 21, exclusivamente, es similar a la tasa de detección global. Es útil la perspectiva que nos aporta el dato de que, por una cromosomopatía diagnosticada prenatalmente, se ofreció una prueba invasiva (indicada por cribado combinado de alto riesgo) a casi 5 mujeres que gestaban un feto sano. Es un dato favorable que indica un alto rendimiento de las pruebas de diagnóstico invasivo gracias a la baja tasa de falsos positivos. Snijders¹⁴ refería, en un estudio de 1998 sobre el cribado mediante edad materna y TN, la necesidad de 30 pruebas invasivas para diagnosticar un feto afecto de aneuploidía. No se trataba de la misma técnica de

cribado, pero con este dato y pese a que la TN es un potente marcador de forma aislada, podemos hacernos una idea de en qué medida la introducción de los marcadores bioquímicos puede mejorar el cribado de aneuploidías.

Ya se ha comentado la desviación global de las medidas de TN, en nuestra muestra, por debajo de la mediana de la población de referencia utilizada en el programa informático de cálculo del riesgo. La curva de aprendizaje necesaria para la realización de la ecografía puede repercutir en el rendimiento de todo el cribado combinado, sobre todo en los primeros años de implantación de la estrategia de cribado. El hecho de que haya varios ecografistas aumenta también la dispersión de los resultados y disminuye el rendimiento de la prueba y, con ello, del cribado en general. Esta idea se confirma al observar la gráfica por años; la tendencia de la sensibilidad es ascendente, probablemente por una mayor formación de los ecografistas.

En los Países Bajos se realizó un estudio multicéntrico publicado por Schielen et al.⁸⁰ en 2006 que mostró, para un punto de corte de alto riesgo de 1/250 en el cribado combinado del primer trimestre, una sensibilidad del 71% con una tasa de falsos positivos del 4,7%. También hallaron en la correcta medición de la TN una gran posibilidad de mejoría del rendimiento de la prueba.

La sensibilidad global del cribado teniendo en cuenta sólo la edad y la bioquímica es 71%, similar a la de la literatura y a la obtenida en nuestra población mediante cribado combinado. La diferencia está en la especificidad, que es mucho más baja. De este modo, para la misma tasa de detección, los FP aumentan de un 2,3% con cribado combinado a un 16% con edad + bioquímica.

Es por ello que, aunque en el estudio de los FN del cribado combinado veamos que aproximadamente la mitad de ellos daban un resultado de alto riesgo respecto a la edad + bioquímica, sea difícil establecer la estrategia de evaluar individualmente la realización de diagnóstico prenatal en los casos con riesgo combinado bajo pero con riesgo alto por los marcadores bioquímicos, ya que probablemente multiplicarían los

FP (y con ello, el número de técnicas invasivas realizadas) hasta un porcentaje inaceptable.

Por otro lado, un valor de TN superior al p95 para su CRL es criterio para informar a la paciente del riesgo de cromosopatía, y se ofrece la posibilidad de realizar un cariotipo prenatal independientemente del resultado del cribado combinado. Esto, junto con las diferentes circunstancias individuales (antecedentes personales o familiares de la paciente, ansiedad materna, otro tipo de marcadores de aneuploidías que indiquen diagnóstico invasivo), conlleva la realización de técnicas de diagnóstico genético prenatal, que finalmente mejoran la tasa de detección, con una tasa de FP aceptable. Se detectó un 93% de los fetos con aneuploidía, con una tasa de FP, equivalente al número de técnicas de diagnóstico prenatal realizadas con resultado normal (hubo 127 con resultado de aneuploidía), del 9,9%.

El riesgo de trisomía 13 y 18 se calcula sólo con variables bioquímicas, con una alta tasa de detección para síndrome de Edwards (95,2%) y mucho más débil para síndrome de Patau (54,5%). Sin embargo, a la detección de estas aneuploidías contribuye su frecuente asociación a hallazgos ecográficos que permiten establecer muchas veces la sospecha diagnóstica con facilidad. De hecho, los 14 casos de aneuploidía diagnosticados postnatalmente fueron recién nacidos con síndrome de Down, salvo uno, con una delección autosómica; todos ellos presumiblemente con menor expresividad en los hallazgos ultrasonográficos que las otras aneuploidías a que nos referíamos.

Hemos calculado las curvas ROC para TN, MoM de PAPP-A y MoM de fβHCG, tanto para la detección de cromosopatías en general como para la de trisomía 21 en particular. El dintel con sensibilidad y especificidad óptimas para cada marcador se obtiene por la intersección de la curva con una línea que va desde el punto de máxima sensibilidad (sobre el eje de ordenadas) hasta el punto de especificidad nula (sobre el eje de abscisas).

En ambos casos se observa un rendimiento muy bajo de la PAPP-A; la fβHCG funciona mejor como marcador de la trisomía 21 que para las cromosopatías en general. Es probable que esta diferencia en el rendimiento de los dos marcadores bioquímicos sea debida a que la fβHCG mantiene su capacidad discriminativa a lo largo de las semanas de edad gestacional en que se realiza el cribado del primer trimestre, mientras que la PAPP-A pierde eficacia en el cribado de aneuploidías conforme aumenta la edad gestacional³. La TN se comporta en los dos casos como el mejor marcador aislado para discriminar aneuploidías.

Respecto a la influencia del sexo fetal sobre el cálculo del riesgo, el porcentaje de fetos con resultado de riesgo combinado positivo fue de 2,4% en ambos sexos, sin diferencias significativas. Este porcentaje puede equipararse a tasa de falsos positivos, puesto que se trataba de fetos euploides en todos los casos. En el grupo de gestaciones sucesivas la TFP fue de 2,2% para fetos varones y de 2,5% para fetos mujeres, también sin diferencias significativas. De esta manera, este dato no concuerda con lo que sugieren otros autores, que obtienen diferentes tasas de detección y de falsos positivos, en función del sexo fetal^{50,58}.

Por otro lado, introducir en primer trimestre un ajuste por sexo fetal no sería exacto, puesto que de momento, la precisión de la determinación ecográfica del sexo fetal a esta edad gestacional está en 70-90%^{50,58}.

En nuestra población la distribución de las aneuploidías por sexos no se conoce.

Sin embargo, en el subgrupo de gestaciones sucesivas, se observó una TFP, para cribado por edad + bioquímica, de 14,8% para varones, y de 18,7% para mujeres; estas diferencias sí fueron estadísticamente significativas. Parece lógico esperar mayores diferencias en una estrategia de cribado que no considere la TN, puesto que en el marcador ultrasonográfico hay menos diferencias por sexo fetal, y así, se reducen las diferencias en el cribado combinado.

Asimismo, desde la implantación de este método de cribado, han pasado los suficientes años como para poder estudiar los datos de las pacientes que han tenido varias gestaciones sucesivas sometidas a esta estrategia de detección de aneuploidías.

Disponemos de una casuística amplia, con más del doble de pacientes que el estudio ampliado de Spencer⁶⁹, que contaba con 1002 pacientes. En nuestra muestra hay un 12,5% de pacientes con más de una gestación cribada en el primer trimestre, durante el periodo de estudio. Es un porcentaje de multigrávidas menor de lo esperado; puede responder a la tendencia a tener un menor número de hijos, en los últimos años. En cualquier caso, también contamos con un número considerable de pacientes con 3 gestaciones sucesivas. La casuística no es suficientemente amplia para estudiar el comportamiento de las variables en gestaciones aneuploides.

La media de edad en el grupo de pacientes multigrávidas (31,4 años) fue sólo ligeramente superior a la muestra total (30,6 años). En la primera gestación tenemos edades similares (29,82 años). Hay diferencias significativas en la edad materna, entre la primera gestación y las demás; por otra parte, hay mayor diferencia de edad entre las gestaciones primera y segunda (casi 3 años) que entre las siguientes.

En cuanto al riesgo por edad en el subgrupo de mujeres con gestaciones sucesivas, tenemos que las diferencias globales son pequeñas (del 33,3% de la muestra total al 37% global en pacientes con más de una gestación). Este riesgo lógicamente aumenta conforme lo hace el número de gestaciones, desde un riesgo menor al general en la primera gestación hasta un riesgo por edad en casi 3 de cada 4 mujeres en su cuarta gestación.

Respecto al cribado combinado, cabe destacar que la sensibilidad global es algo mayor para el grupo de pacientes con más de una gestación (77,4% frente al 70% de la muestra total) y va aumentando conforme lo hace el número de gestaciones, hasta alcanzar un 100% en el grupo de 3 gestaciones (esto puede estar también influido por una mejor implementación de la estrategia de cribado, tras el paso de

algunos años). Todo esto con una TFP constante y similar a la de la muestra total, salvo para el grupo de 4 gestaciones, aunque a esto no se le atribuye un gran valor por el escaso tamaño muestral (14 individuos).

Por último, en cuanto al cribado por edad + bioquímica, la sensibilidad va aumentando conforme lo hace el número de gestaciones hasta alcanzar un 100% en el grupo de 3 gestaciones. La TFP global es similar a la de la muestra total (17,6% vs 16%), pero hay un aumento marcado entre la primera gestación y las siguientes (de 11,8%, en la primera gestación, a 23%, en la segunda).

La necesidad de realizar ajustes en gestaciones sucesivas en la misma paciente ha sido señalada en algunas publicaciones^{40,63}. El significado de los resultados del cribado combinado se matizaría en función de los obtenidos en una gestación anterior, para tener en cuenta el comportamiento de las variables en cada individuo.

Esta recomendación se basa en la teoría de que cada mujer tiene su propio nivel de marcadores y una tendencia al comportamiento de estos que se mantiene bastante estable entre diferentes gestaciones; y se ve apoyado por el hecho bien conocido de la correlación condicionada por características propias de la madre, sean susceptibles o no de cambio, como la raza y el peso.

De este modo, si en una gestación previa hubo un resultado falso positivo, en la siguiente gestación un resultado parecido sería menos alarmante. Por el contrario, si en una gestación previa los marcadores bioquímicos indicaron un riesgo muy bajo, un resultado más cercano al alto riesgo, incluso aunque se encontrara en límites normales, indicaría un riesgo aumentado para la propia paciente respecto a su gestación anterior⁶³.

Sin embargo, en nuestro caso no hay diferencias en la tasa de falsos positivos en función de la gravidez, para el cribado combinado (sí aumenta, para el cribado por edad + bioquímica, sobre todo entre las gestaciones primera y segunda).

En nuestra muestra observamos, como en las publicaciones mencionadas, que la tasa de falsos positivos tras un FP en una gestación anterior aumenta en la gestación siguiente:

- Cuando una mujer ha estado en rango de alto riesgo por edad en una gestación previa, necesariamente lo estará también en una gestación sucesiva, ya que su edad es mayor. La excepción a esto sería que los criterios de alto riesgo por edad cambiaran para el hospital, entre una gestación y otra. Esto, si no un error de codificación de datos, podría explicar por qué entre la primera y la segunda gestaciones tenemos 5 mujeres que primero eran de alto riesgo y después, de bajo riesgo.
- En cuanto al cribado combinado vemos que, en las mujeres con un FP en la primera gestación, el porcentaje de FP es del 4,3%, casi el doble que nuestra tasa de FP general (2,3%). Este porcentaje aumenta hasta un 16,7% en la tercera gestación. Sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas entre grupos.
- Respecto al cribado por edad + bioquímica, como era de esperar, la influencia de un FP previo es aún mayor porque ya no contamos con el efecto de la variable independiente TN para equilibrar. De hecho, en secundigestas con un FP previo, el riesgo de un nuevo FP es del 65,7%, casi 3 veces más que la TFP en el grupo de segunda gestación (23% de FP) y 4 veces más que la tasa de FP general (16%). En este caso las diferencias sí fueron estadísticamente significativas entre las gestaciones primera y segunda.

Como ya se ha comentado anteriormente, hay varios trabajos publicados^{52,54,60,61} que encuentran una disminución en los valores de $f\beta HCG$ en el segundo trimestre de la gestación, en función de la paridad y/o la gravidez. Spencer encontró en primer trimestre de la gestación¹³ una tendencia de la TN a disminuir, y de la PAPP-A y la $f\beta HCG$ a aumentar en relación a la paridad o la gravidez, en ningún caso estadísticamente significativa.

Nuestros resultados en primer trimestre muestran valores menores de $f\beta HCG$ conforme aumenta la gravidez, aunque estas diferencias no son significativas. Por otro lado, sí se ve una disminución estadísticamente significativa en los valores de PAPP-A entre primigestas y secundigestas. La tendencia descendente observada en los valores de los MoM de la $f\beta HCG$, según el número de gestación, puede no resultar estadísticamente significativa por la amplia dispersión de los valores, lo cual da una DS alta que va en detrimento de la significación estadística. Esto se explica por no haber truncado los valores, en consecuencia con la estrategia de nuestro centro de no realizar truncado para no enmascarar la información que pueden proporcionarnos los valores extremos de ciertos parámetros (en concreto, por ejemplo, los valores muy altos de $f\beta HCG$ que encontramos en el contexto de metrorragias del primer trimestre, pero también en las triploidías de origen paterno). Las variables muestran un comportamiento similar en el grupo de gestaciones sucesivas euploides. Además, cuando se discrimina por sexo, seguimos viendo una gran dispersión de los valores de los MoM de $f\beta HCG$ en las gestaciones con feto mujer, que puede influir en la significación estadística de las diferencias halladas. La tendencia descendente de la PAPP-A de la primera a la segunda gestación fue significativa sólo en el subgrupo de gestaciones con feto femenino.

En la literatura publicada sobre gestaciones sucesivas sometidas a cribado de cromosopatías, no se ha visto correlación entre los múltiplos de la mediana de la translucencia nucal entre la primera y la segunda gestación. Sí se ha visto una correlación significativa para los MoM de la $f\beta HCG$ y de la PAPP-A⁶⁸. En primer trimestre, la correlación de la $f\beta HCG$ es de la misma magnitud que la observada en el segundo, mientras que para la PAPP-A es algo mayor que para la AFP en segundo trimestre. En conjunto, la correlación parece más fuerte entre los marcadores del primer trimestre que entre los del segundo. Todo esto es concordante con nuestros resultados porque, aunque hay una correlación significativa para la TN entre las gestaciones primera y segunda, el valor de la ρ es menor de 0,1, lo cual indica una correlación muy débil.

La probabilidad de tener un riesgo aumentado en la prueba de cribado combinado del primer trimestre, tras un falso positivo previo, es aproximadamente la mitad que la observada en el segundo trimestre, en el que sólo se calcula el riesgo a través de variables bioquímicas. En el primer trimestre el riesgo relativo se reduce gracias a la translucencia nucal, puesto que es un marcador independiente y, de los tres que utilizamos (TN, $f\beta HCG$ y PAPP-A), es el que más contribuye a la determinación del riesgo. Esto implica que en mujeres con riesgo elevado de síndrome de Down en la primera gestación hay 1'5-2 veces más posibilidades de tener el riesgo elevado en la segunda gestación⁶⁸. En segundo trimestre se ha visto correlación para la AFP, la HCG total, la $f\beta HCG$ y el estriol no conjugado, en gestaciones sucesivas⁶⁶. La correlación de los marcadores parece mayor para la HCG, con índices de 0'37 para la HCG total⁶⁴ y de 0'3651 para la fracción libre⁶⁷.

Nuestra casuística confirma de manera significativa los resultados comunicados en la bibliografía disponible hasta el momento respecto a la correlación de las variables bioquímicas, y con un tamaño muestral superior al de los estudios publicados^{38,68,69}. Todos ellos muestran unas correlaciones parecidas respecto a la $f\beta HCG$, que oscilan entre 0,39 y 0,49, pero que en la mayoría de los casos se encuentran entre 0,41 y 0,42; son similares incluso entre estudios que evalúan el marcador en primer y segundo trimestre^{38-40,68-70}. Estos datos concuerdan de forma muy precisa con los nuestros, puesto que la ρ de Spearman entre la primera y la segunda gestación, para la $f\beta HCG$, fue 0,439. El coeficiente es más bajo al correlacionar la tercera gestación con la primera y la segunda, respectivamente. Después no alcanzamos significación estadística, luego no se puede hacer afirmaciones al respecto, probablemente por el pequeño tamaño muestral. De este modo, vemos una asociación muy constante para la $f\beta HCG$ en diferentes gestaciones de la misma paciente, aunque pueda no ser tan fuerte como para alcanzar significación estadística con menor número de individuos. Al discriminar por sexo fetal no se halló grandes diferencias en la correlación.

En cuanto a la PAPP-A, hay menos estudios que la hayan analizado (sólo los que han considerado marcadores del primer trimestre)^{38,68,69}. Las correlaciones de la PAPP-A están entre 0,42 y 0,43 (hay un estudio de Spencer⁶⁸ en que da valores de 0,32, pero es un preliminar, y cuando lo amplía⁶⁹ obtiene una correlación de 0,43). En nuestro estudio se observa unos valores más altos de los coeficientes de correlación de Spearman para la PAPP-A. Los resultados son estadísticamente significativos entre todas las gestaciones y la correlación mejora conforme aumenta el número de gestaciones. De hecho, pese a que hay mayor dispersión de datos en los grupos con 3 y 4 gestaciones por la escasez de muestra, la correlación es más fuerte y alcanza significación estadística. Nuevamente, al discriminar por sexo fetal no se halló grandes diferencias en la correlación.

Los resultados respecto a la TN en gestaciones sucesivas, con y sin aneuploides y también cuando se discrimina por sexo fetal, no hallan diferencias ni correlaciones con entidad clínica, todo lo cual la confirma como una variable independiente de las demás, lo cual justifica que sea el marcador que, aisladamente, tiene mayor capacidad predictiva del riesgo de aneuploidías⁵.

En nuestra casuística también se ha podido comprobar la existencia de una correlación, débil pero significativa, entre variables bioquímicas diferentes, en la misma gestación y en gestaciones sucesivas. No hubo cambios al discriminar por sexo fetal. Larsen⁶³ decía en su artículo publicado en 1998 que no había datos en la literatura a este respecto. Después de esa fecha, las búsquedas bibliográficas realizadas para la realización de este trabajo no han aportado nuevos datos al respecto.

En cualquier caso, estas correlaciones probablemente tienen un efecto mínimo o nulo sobre la estimación del riesgo, pero vienen a corroborar, una vez más, que existe una cierta asociación entre diferentes marcadores bioquímicos en la misma gestación y en gestaciones diferentes de un mismo individuo, que no ocurre para la

TN. Por ello, el rendimiento de los marcadores bioquímicos, juntos, no corresponde a la suma de su capacidad de detección por separado, si bien la utilización de más de un marcador bioquímico mejora la sensibilidad que tendría cada uno de ellos aisladamente.

Wald et al.³⁹ proponen, para corregir los MoM de los marcadores bioquímicos en función de los resultados en gestaciones previas, un ajuste basado en los siguientes cálculos:

$$\text{MoM ajustada} = \frac{\text{MoM observada}}{\text{MoM esperada}}$$

donde $\text{MoM esperada} = (\text{MoM en gestación previa})^b$.

b = coeficiente de correlación entre gestaciones sucesivas.

Según Wald³⁹, el ajuste para mujeres con más de dos gestaciones debe hacerse por la gestación inmediatamente anterior, para simplificar el proceso. Teóricamente, el ajuste mediante el empleo de información de varias gestaciones previas sería más preciso, pero el beneficio es pequeño³⁸.

Los casos verdaderos positivos (esto es, una gestación aneuploide anterior) no parecen influir de la misma manera en el resultado del cribado en la siguiente gestación, y para estas mujeres no habría que introducir un factor de corrección en los embarazos sucesivos⁴⁰. Por otra parte, estas pacientes ya tienen, por este antecedente, un riesgo de trisomía 21 mayor que la población general en las siguientes gestaciones.

El grupo de mujeres con más de una gestación tiene una edad media mayor que el de la muestra total, con diferencia notable a partir del segundo embarazo, lo cual las hace partir de un riesgo a priori mayor. Sin embargo, el riesgo de un resultado falso positivo disminuye con la edad, puesto que hay una menor tendencia a resultados extremos de los marcadores, que producirían estos resultados FP⁴⁰. El

aumento del riesgo por la correlación de las variables en gestaciones sucesivas se produciría independientemente del hecho de que la edad de la paciente sea mayor en la segunda gestación que en la primera, aunque en este sentido la edad materna puede actuar como factor de confusión.

Además, la tendencia descendente de la PAPP-A conforme aumenta el número de gestaciones produciría un cierto aumento en la estimación del riesgo, independiente de la edad materna, que no se vería contrarrestado significativamente por ninguna diferencia de los valores de β HCG o TN. Probablemente este efecto sea muy pequeño por varias razones: la disminución de los valores de PAPP-A sólo es significativa de la primera gestación a la segunda; hay también una tendencia descendente de la β HCG que puede no haberse mostrado significativa por la dispersión de los datos, pero ejercería un efecto compensador; y, al discriminar por sexo fetal, las diferencias en la PAPP-A ya no son estadísticamente significativas en las gestaciones con feto masculino.

Un posible fallo en este estudio, que pudiera introducir factores de confusión, es que para el análisis sólo se ha excluido las gestaciones anómalas en cuanto al cariotipo, pero desconocemos la incidencia de otras situaciones patológicas (preclampsia, muerte fetal anteparto, etc.) que eventualmente alterarían los niveles de los marcadores.

La base de datos no tiene información sobre la gravidez de la paciente y resulta inviable investigar este dato en todos los individuos, dado el gran tamaño muestral. Por ello, se ha tenido en cuenta sólo las gestaciones incluidas en el programa de cribado. De esta manera, al carecer de información respecto a gestaciones previas a 1999, tomamos como primigestas pacientes que pueden no serlo. Por último, recordamos que los abortos precoces que no han sido cribados no se contabilizan en el cómputo total de gestaciones de cada paciente. Estos datos no disponibles pueden explicar también el porcentaje de multigrávidas menor de lo esperado.

El propósito último de este trabajo, una vez puesto de manifiesto que hay una correlación de las variables en el mismo individuo, de una gestación a otra, es ver si el conocimiento de esa correlación sería útil para mejorar el cálculo del riesgo combinado de aneuploidías en la población. De hecho, es el objetivo de muchos de los trabajos analizados para este trabajo, sin que haya conclusiones uniformes al respecto. Hay autores que encuentran un beneficio claro en la introducción de un factor de corrección que refleje los resultados en una gestación previa, en toda la población cribada^{38-40,63,66}; mientras que otros no encuentran tal beneficio y apuestan por ajustes individuales del riesgo, en situaciones con resultados de riesgo intermedio^{67,69}.

El beneficio de la corrección, de existir, es pequeño y depende, en primer lugar, de la tasa de falsos positivos del cribado combinado en cada población en concreto (si ya es muy baja, es menos probable encontrar diferencias y también poder disminuirlas). Por eso puede haber diferencias entre los estudios, en función de su diseño o de las características de su población (edad materna, composición étnica, porcentaje de población obesa) y de los ajustes introducidos originalmente en el cálculo del riesgo, lo cual determina diferentes tasas de detección y de falsos positivos.

En nuestra muestra, la tasa de falsos positivos global es muy baja (2,3%). Hemos observado que, a pesar de que tras un falso positivo en una gestación anterior la TFP aumenta para el cribado combinado, estas diferencias no resultan estadísticamente significativas. Es por ello que no se espera una mejora significativa del rendimiento de esta estrategia de cribado por una corrección en relación a los resultados de una gestación previa.

Por otro lado, sí se ha visto una diferencia significativa en el riesgo por edad + bioquímica, susceptible de verse reducida por una corrección en función de los resultados previos. Sin embargo, esta no es la estrategia de cribado utilizada en la práctica clínica diaria. Parece que en los resultados globales, el aumento de falsos positivos en cuanto a la bioquímica se vería compensado por la información aportada por el estudio ultrasonográfico. No obstante, en los casos de riesgo

intermedio o alto, sobre todo a expensas de resultados anómalos en la bioquímica, puede resultar útil considerar de forma individualizada la información del cribado en gestaciones previas, para determinar la tendencia de comportamiento de las variables en esa paciente en particular. De esta manera, podría reajustarse el riesgo en casos concretos, informando debidamente a la pareja y consensuadamente con las pacientes.

CONCLUSIONES

1. La tasa de detección del cribado combinado de cromosopatías en el primer trimestre de gestación, en el Hospital Clínico San Carlos, es menor que la publicada en la literatura, aunque ha ido mejorando con los años, probablemente por una mejor formación de los ecografistas. En contraposición, la tasa de falsos positivos es muy baja.
2. Se ve una tendencia a la disminución de los valores de PAPP-A y f β HCG en la segunda gestación respecto de la primera, significativa sólo en el caso de la PAPP-A.
3. El sexo fetal influye en los valores de los marcadores bioquímicos, de manera que en gestaciones con feto femenino, los valores de PAPP-A y f β HCG son mayores; la TN tiende a ser menor que en fetos masculinos.
4. Las diferencias de las variables en función de la gravidez no son significativas cuando se estudia sólo a los fetos varones.
5. Los valores de los marcadores bioquímicos en sangre materna (PAPP-A y f β HCG) se correlacionan, en gestaciones sucesivas, para cada paciente.
6. También se ha observado una correlación recíproca entre PAPP-A y f β HCG, en la misma gestación y en gestaciones diferentes del mismo individuo.
7. Estos hechos pueden condicionar un error en la estimación del riesgo, en el cribado de cromosopatías del primer trimestre de los embarazos sucesivos, que afectaría en mayor medida a pacientes con un resultado falso positivo en una gestación previa.
8. La TN no muestra correlaciones con importancia clínica ni tendencias significativas, lo cual la confirma como un marcador independiente de otras variables, y explica su potencia en la determinación del riesgo de aneuploidía.
9. El aumento de la TFP tras un falso positivo previo no es significativo en el cribado combinado; sí lo es en el cribado mediante edad materna y bioquímica. La TN, como marcador independiente, puede compensar los errores introducidos por las variables bioquímicas.

10. De esta manera, en nuestra población no es rentable introducir factores correctores en función de los resultados en gestaciones previas, pero sí cabe considerarlos individualmente en casos de riesgo intermedio y alto, sobre todo si se ha producido a expensas de valores extremos en las variables bioquímicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Down JLH. Observations on an ethnic classification of idiots. *Clinical Lecture Reports, London Hospital* 1866; 3: 259.
2. Nicolaides KH, Orlando F. La ecografía de las 11-13⁺⁶ semanas. The Fetal Medicine Foundation. <http://www.fetalmedicine.com>
3. Screening de cromosopatías fetales. Documentos de Consenso. SEGO 2000.
4. Fraser J, Mitchell A. Kalmuk idiocy. Report of a case with autopsy. *J Ment Sci* 1876; 98: 169-79.
5. Snijders R, Johnson S, Sebire N, Noble P, Nicolaides KH. First-trimester ultrasound screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7: 216-26.
6. Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Br J Obstet Gynaecol* 1987; 94: 387-402.
7. Palomaki GE, Haddow JE. Maternal-serum alpha-fetoprotein, age, and Down syndrome risk. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 460-3.
8. Bray I, Wright DE, Davies C, Hook EB. Joint estimation of Down syndrome risk and ascertainment rates: a meta-analysis of nine published data sets. *Prenat Diagn* 1998; 18: 9-20.
9. Programa para el screening de síndrome de Down. SsdwLab V 4.1. 2001.
10. Bindra R, Heath V, Liao A, Spencer K, Nicolaides KH. One-Stop clinic for assessment of risk for trisomy 21 at 11-14 weeks: a prospective study of 15030 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 20: 219-25.
11. Kagan KO, Wright D, Baker A, Sahota D, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31: 618-24.
12. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency,

- maternal serum free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 13: 231-7.
13. Spencer K, Ong C, Liao W, Nicolaides KH. The influence of parity and gravidity on first trimester markers of chromosomal abnormality. *Prenat Diagn* 2000; 20: 792-4.
 14. Snijders R, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre Project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. *Lancet* 1998; 542(9125): 343-6.
 15. Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992; 304(6831): 867-9.
 16. Borrell A, Quintó L, Fortuny A, et al. Translucencia nual y ductus venoso: valores de referencia en el primer trimestre de la gestación. *Prog Obstet Ginecol* 2006; 49: 434-40.
 17. Spencer K, Bindra R, Nix A, Heath V, Nicolaides KH. Delta-NT or NT MoM: which is the most appropriate method for calculating accurate patient-specific risks for trisomy 21 in the first trimester? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22: 142-8.
 18. Kagan KO, EtcheGARAY A, Zhou Y, Wright D, Nicolaides KH. Prospective validation of first-trimester combined screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34: 14-18.
 19. Morris JK, Wald NJ. Graphical presentation of distributions of risk in screening. *J Med Screen* 2005; 12: 155-60.
 20. Orlandi F, Damiani G, Hallahan TW, Krantz DA, Macri JN. First-trimester screening for fetal aneuploidy: biochemistry and nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 10: 381-6.

21. Mann K, Donaghue C, Fox S, Docherty Z, Ogilvie C. Strategies for the rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidy. *Eur J Hum Genet* 2004; 12: 907-15.
22. Aitken D, McCaw G, Crossley JA, et al. First-trimester biochemical screening for fetal chromosome abnormalities and neural tube defects. *Prenat Diagn* 1993; 13: 681-9.
23. Macri JN, Spencer K, Aitken D, et al. First trimester free beta (hCG) screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1993; 13: 557-62.
24. Spencer K, Macri JN, Aitken D, Connor JM. Free beta-hCG as first-trimester marker for fetal trisomy. *Lancet* 1992; 339(8807): 1480.
25. Dunstan FDJ, Nix ABJ. Screening for Down's syndrome: the effect of test date on the detection rate. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 57-61.
26. Sun I, Overgaard M, Oxvig C, Giudice L. Pregnancy-Associated Plasma Protein A Proteolytic Activity Is Associated with the Human Placental Trophoblast Cell Membrane. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5235-40.
27. Herrera E. *Biología molecular y bioquímica fisiológica*. Segunda Ed. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana de España, 1991: 1154-5.
28. Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiología Médica*. Novena Ed. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana de España, 1996: 1138-9.
29. Wortelboer EJ, Linskens IH, Koster MPH, et al. ADAM12s as a first-trimester screening marker of trisomy. *Prenat Diagn* 2009; 29: 866-9.
30. Donalson K, Turner S, Wastell H, Cuckle H. Second trimester maternal serum ADAM12 levels in Down's syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 2008; 28: 904-7.
31. Cowans NJ, Spencer K. First-trimester ADAM12 and PAPP-A as markers for intrauterine fetal growth restriction through their roles in the insulin-like growth factor system. *Prenat Diagn* 2007; 27: 264-71.
32. Laigaard J, Sorensen T, Placing S, et al. Reduction of the disintegrin and metalloprotease ADAM12 in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2005; 106: 144-9.

33. Spencer K, Cowans NJ, Stamatopoulo A. ADAM12s in maternal serum as a potential marker of pre-eclampsia. *Prenat Diagn* 2008; 28: 212-6.
34. Hedley P, Christiansen M. Serum leptine in first-trimester Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn*. 2008; 28: 475-7.
35. Debieve F, Moiset A, Thomas K, Pampfer S, Hubinont C. Vascular endotelial growth factor and placenta growth factor concentrations in Down's syndrome and control pregnancies. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 765-80.
36. Koster MP, Pennings JL, Imholz S, et al. Bead-based multiplexed immunoassays to identify new biomarkers in maternal serum to improve first trimester Down syndrome screening. *Prenat Diagn* 2009; 29: 857-62.
37. Snijders RJ, Holzgreve W, Cuckle H, Nicolaides K. Maternal age-specific risks for trisomies at 9-14 weeks' gestation. *Prenat Diagn* 1994; 14: 543-52.
38. Wald NJ, Barnes IM, Birger R, Huttly W. Effect on Down syndrome screening performance of adjusting for marker levels in a previous pregnancy. *Prenat Diagn* 2006; 26: 539-44.
39. Wald NJ, Huttly WJ, Rudnicka AR. Prenatal screening for Down syndrome: the problem of recurrent false-positives. *Prenat Diagn* 2004; 24: 389-92.
40. Huang T, Boucher K, Summers AM. Second trimester prenatal screening for Down syndrome: the associations between the levels of serum markers in successive pregnancies. *Prenat Diagn* 2007; 27: 1138-42.
41. Noble P, Abraha HD, Snijders R, Sherwood R, Nicolaides KH. Screening for fetal trisomy 21 in the first trimester of pregnancy: maternal serum free β -hCG and fetal nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 6: 390-5.
42. Kagan KO, Wright D, Spencer K, Molina FS, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A: impact of maternal and pregnancy characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31: 493-502.

43. Neveux LM, Palomaki GE, Larivee DA, Knight GJ, Haddow JE. Refinements in managing maternal weight adjustment for interpreting prenatal screening results. *Prenat Diagn* 1996; 16: 1115-9.
44. De Graaf I, Cuckle H, Pajkrt E, Leschot N, Bleker O, van Lith J. Co-variables in first trimester maternal serum screening. *Prenat Diagn* 2000; 20: 186-9.
45. Spencer K, Ong CY, Liao AW, Nicolaides KH. The influence of ethnic origin on first trimester biochemical markers of chromosomal abnormalities. *Prenat Diagn* 2000; 20: 491-4.
46. Spencer K. The influence of smoking on maternal serum AFP and free beta hCG levels and the impact on screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1998; 18: 225-34.
47. Wald NJ, Densem JW, Cheng R, Collishaw S. Maternal serum free alpha- and free beta-human chorionic gonadotrophin in pregnancies with insulin-dependent diabetes mellitus: implications for screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1994; 14: 835-7.
48. Spencer K, Salonen R, Muller F. Down syndrome screening in multiple pregnancies using alpha-fetoprotein and free beta-hCG. *Prenat Diagn* 1994; 14: 537-42.
49. Cuckle H, van Oudgaarden ED, Mason G, Holding S. Taking account of vaginal bleeding in screening for Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101: 948-53.
50. Spencer K. The influence of fetal sex in screening for Down syndrome in the second trimester using AFP and free β -hCG. *Prenat Diagn* 2000; 20: 648-51.
51. Orlandi F, Rossi C, Allegra A, et al. First trimester screening with free beta-hCG, PAPP-A and nuchal translucency in pregnancies conceived with assisted reproduction. *Prenat Diagn* 2002; 22: 718-21.

52. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ. Effect of parity on human chorionic gonadotrophin levels and Down's syndrome screening. *J Med Screen* 1995; 2: 28-30.
53. Zimmermann R, Streicher A, Huch R, Huch A. Effect of gravidity and parity on the parameters used in serum screening for trisomy 21. *Prenat Diagn* 1995; 15: 781-2.
54. Wald NJ, Watt HC. Serum markers for Down's syndrome in relation to number of previous births and maternal age. *Prenat Diagn* 1996; 16: 699-703.
55. Spencer K, Bindra R, Nicolaides KH. Maternal weight correction of maternal serum PAPP-A and free β -hCG MoM when screening for trisomy 21 in the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 2003; 23: 851-5.
56. Brody S, Carlstrom G. Human chorionic gonadotropin pattern in serum and its relation to the sex of the fetus. *J Clin Endocrinol* 1965; 25: 792-7.
57. Yaron Y, Wolman I, Kupferminc M, Oschshorn Y, Many A, Orr-Urtreger A. Effect of fetal gender on first trimester markers and on Down syndrome screening. *Prenat Diagn* 2001; 21: 1027-30.
58. Spencer K, Ong C, Liao A, Papademetriou D, Nicolaides K. The influence of fetal sex in screening for trisomy 21 by fetal nuchal translucency, maternal serum free β -hCG and PAPP-A at 10-14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2000; 20: 673-5.
59. Larsen SO, Wøjdemann KR, Shalmi AC, Sundberg K, Christiansen M, Tabor A. Gender impact on first trimester markers in Down syndrome screening. *Prenat Diagn* 2002; 22: 1207-8.
60. Spencer K. The influence of gravidity on Down's syndrome screening with free beta hCG. *Prenat Diagn* 1995; 15: 87-9.
61. Mooney RA, Arvan DA, Saller DN, French CA, Peterson CJ. Decreased maternal serum hCG levels with increasing gravidity and parity. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 900-5.

62. Brizot M, Jauniaux E, McKie A, Farzaneh F, Nicolaides KH. Placental expression of alpha and beta subunits of human chorionic gonadotrophin in early pregnancies with Down's syndrome. *Hum Reprod* 1995; 10: 2506-9.
63. Larsen SO, Christiansen M, Norgaard-Pedersen B. Inclusion of serum marker measurements from a previous pregnancy improves Down syndrome screening performance. *Prenat Diagn* 1998; 18: 706-12.
64. Holding S, Cuckle H. Maternal serum screening for Down's syndrome taking account of the result in a previous pregnancy. *Prenat Diagn* 1994; 14: 321-2.
65. Wald NJ, Cuckle HS. Raised maternal serum alpha-fetoprotein levels in subsequent pregnancies. *Lancet* 1981; i: 1103.
66. Dar H, Merksamer R, Berdichevsky D, et al. Maternal serum marker levels in consecutive pregnancies: a possible genetic predisposition to abnormal levels. *Am J Med Genet* 1996; 61: 154-7.
67. Spencer K. Between-pregnancy biological variability of maternal serum alpha-fetoprotein and free beta hCG: Implications for Down syndrome screening in subsequent pregnancies. *Prenat Diagn* 1997; 17: 39-45.
68. Spencer K. Between pregnancy biological variability of first trimester markers of Down syndrome: implications for screening in subsequent pregnancies. *Prenat Diagn* 2001; 21: 445-7.
69. Spencer K. Between pregnancy biological variability of first trimester markers of Down syndrome and the implications for screening in subsequent pregnancies: an issue revisited. *Prenat Diagn* 2002; 22: 874-6.
70. Abdul-Hamid S, Fox R, Martin I. Maternal serum screening for trisomy 21 in women with a false positive result in last pregnancy. *J Obstet Gynaecol* 2004; 24: 374-6.
71. Cuckle HS, Spencer K, Nicolaides KH. Down syndrome screening marker levels in women with a previous aneuploidy pregnancy. *Prenat Diagn* 2005; 25: 47-50.
72. Rausch DN, Lambert-Messerlian GM, Canick JA. Participation in maternal serum screening for Down syndrome, neural tube defects, and trisomy 18

- following screen-positive results in a previous pregnancy. *West J Med* 2000; 173: 180-3.
73. Marteau TM. Towards informed decisions about prenatal testing: a review. *Prenat Diagn* 1995; 15: 1215-26.
74. Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. Declaración de la Iniciativa STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology): directrices para la comunicación de estudios observacionales. *Gac Sanit* 2008; 22: 144-50.
75. Nicolaides KH, Snijders RJ, Cuckle HS. Correct estimation of parameters for ultrasound nuchal translucency screening. *Prenat Diagn* 1998; 18: 519-23.
76. BRAHMS PAPP-A KRYPTOR. Instrucciones de uso (Versión R12es). Enero 2009.
77. BRAHMS Free β hCG KRYPTOR. Instrucciones de uso (Versión R20es). Octubre 2008.
78. Clasificación Internacional de Enfermedades. 9ª revisión. Modificación clínica (eCIE9MC). Edición electrónica de la CIE-9-MC. 7ª edición (Enero 2010). Versión 1.1.0 19/02/2010. Ministerio de Sanidad y Política Social. Agencia de Calidad del Sistema Nacional de Salud. Instituto de Formación Sanitaria. www.msps.es
79. GEDE (Grupo Español de Diabetes y Embarazo). Diabetes Mellitus y embarazo. Guía Asistencial, 3ª edición. Madrid 2005.
80. Schielen PC, van Leeuwen-Spruijt M, Belmouden I, et al. Multi-centre first-trimester screening for Down syndrome in the Netherlands in routine clinical practice. *Prenat Diagn* 2006; 26: 711-8.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

1T: Primer trimestre.

2T: Segundo trimestre.

ADAM12: A Disintegrin And Metaloprotease 12.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AFP: Alfa-feto-proteína.

BQ: Bioquímica.

CRL: Longitud cráneo-caudal.

DS: Desviación estándar.

DTN: Defectos del tubo neural.

E: Especificidad.

E₃: Estriol no conjugado.

EG: Edad gestacional.

EGF: Epidermal growth factor.

EM: Edad materna.

EN-RAGE: Extracellular rage binding protein.

f α HCG: Fracción libre de la cadena α de la gonadotropina coriónica.

f β HCG: Fracción libre de la cadena β de la gonadotropina coriónica.

FISH: Fluorescence in situ hybridization.

FIV: Fecundación in vitro.

FMF: Fetal Medicine Foundation.

FN: Falso negativo.

FSH: Folitropina.

FP: Falso positivo.

FUR: Fecha de última regla.

GEDE: Grupo Español de Diabetes y Embarazo.

HCG: Gonadotropina coriónica humana.

HN: Hueso nasal.

IC: Intervalo de confianza.

IGF: Insulin growth factor.

IGFBP: Insulin growth factor binding protein.

LH: Luteotropina.

MoM: Múltiplos de la mediana.

n: Tamaño muestral.

PAPP-A: Proteína A plasmática asociada al embarazo.

PLGF: Factor de crecimiento placentario.

proMBP: Proform of eosinophil major basic protein.

QF-PCR: Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction.

ρ : Coeficiente de correlación rho (de Spearman).

ρ^2 : Coeficiente de determinación de Spearman.

r: Índice de correlación (de Pearson).

RNAm: Ácido ribonucleico mensajero.

ROC: Receiver operating characteristic curve o curva de características operativas.

S: Sensibilidad.

SP1: Glicoproteína β -1 específica del embarazo.

TFP: Tasa de falsos positivos.

TN: Translucencia nual.

TRACE: Time-Resolved Amplified Cryptate Emission.

TSH: Tirotropina.

VEGF: Factor de crecimiento del endotelio vascular.

VN: Verdadero negativo.

VP: Verdadero positivo.

VPN: Valor predictivo negativo.

VPP: Valor predictivo positivo.