

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**



**TESIS DOCTORAL**

**Perfiles hormonales esteroideos durante el embarazo y la  
utilización de modelos matemáticos para la predicción del  
inicio del parto**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Silvia Alonso Marín**

Directores

**Juan Carlos Illera del Portal**  
**Sara Cáceres Ramos**

Madrid

© Silvia Alonso Marín, 2020

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**



**TESIS DOCTORAL**

Perfiles hormonales esteroideos durante el embarazo y la utilización de modelos matemáticos para la predicción del inicio del parto.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Silvia Alonso Marín

DIRECTOR

Dr. Juan Carlos Illera del Portal

Dra. Sara Cáceres Ramos





El **Prof. Dr. D. Juan Carlos Illera del Portal** y la **Dra. Dña. Sara Cáceres Ramos**, certifican que:

Dña. **Silvia Alonso Marín**, graduada en Enfermería, ha realizado bajo nuestra dirección la Tesis Doctoral titulada: “**Perfiles hormonales esteroideos durante el embarazo y la utilización de modelos matemáticos para la predicción del inicio del parto**”. Este trabajo, que presenta para optar al título de Doctor, ha sido realizado en la Sección Departamental de Fisiología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

Y para que conste, firmamos el presente certificado en Madrid, a 10 de abril de 2020.

VºBº Directores de la Tesis Doctoral

Fdo.: Juan Carlos Illera del Portal

Fdo.: Sara Cáceres Ramos

Fdo.: Silvia Alonso Marín.





*Por ti, mamá.*



# AGRADECIMIENTOS

*“Investigación es lo que hago cuando no se que estoy haciendo” -*

Whernher von Braun

Dicen que las casualidades no existen y están en lo cierto.

No es casualidad haberme cruzado con Juan Carlos Illera y que me haya introducido en este loco mundo de la investigación, muchísimas gracias por confiar en mi desde el principio y darme esta gran oportunidad que de otra manera nunca hubiese alcanzado. De la misma manera, agradecer de forma infinita el apoyo, ayuda y dedicación de Sara Cáceres, compañera y amiga desde el colegio. Gracias a ti he aprendido todo lo que se. Quién nos iba a decir durante nuestras fatigas y suspensos de biología, que acabarías siendo mi directora de tesis en endocrinología -¡Ay, maldito colegio! Gracias a los dos por vuestra ayuda, enseñanzas y esfuerzo en abrirme la mente, ser capaces de lidiar con una testaruda y hacerme comprender que una hormona nunca “viaja sola”. Gracias por despertar en mí la curiosidad por seguir indagando, descubriendo y relacionando conceptos, es impresionante las conclusiones que se pueden desarrollar en torno a un café.

También quisiera agradecer a los profesores del Departamento de Fisiología Animal por haberme apoyado siempre y haber compartido tantas vivencias en torno a una buena comida. A Gema, por animarme siempre y atenderme en cualquier momento con los brazos abierto. Mil gracias por tus correcciones con esas “gafas de encontrar puntos, comas y espacios”, donde otros no ven. A Pilar “May” por tener siempre su despacho abierto y recibirte con una sonrisa para darte ánimos y empujarte a seguir hasta el final. A María José por sus enseñanzas sobre embriología y mostrarme su cariño y empatía con la matronería. No puedo olvidarme de Carmen, mi paño de lágrimas del Departamento, gracias por recordarme día tras día que la “paciencia es la madre de la ciencia”.

A Luis Sanz y Daniel Vélez del Departamento de Matemáticas, sois los “magos de los números”, gracias a vosotros tenemos este maravilloso modelo matemático y hemos conseguido que el trabajo salga redondo. Quería agradecer a Dani, especialmente por su paciencia y explicaciones matemáticas para mi nivel de primaria.

Tampoco es casualidad haberme cruzado con Ana M<sup>a</sup> Suárez, que, tras una entrevista por Skype desde el otro lado del mundo, decidió confiar en mí y darme una oportunidad para emprender juntas el proyecto “One to One”. Compartir la pasión por el cuidado de las mujeres me ha servido de aprendizaje de esta gran profesional (y mejor persona). Ni que decir tiene el magnífico equipo del que se encuentra rodeada: Elena, Marina, Patricia, Bea Ochoa, María Gómez, agradeceros de todo corazón vuestra ayuda en el arduo trabajo de reclutamiento de embarazadas para este estudio.

Quisiera hacer una mención muy especial a todas las mujeres participantes en este estudio, por su paciencia y continuidad. Sin vosotras no hubiese sido posible.

También dicen que las cosas siempre surgen por algo. El Dr. Cristobal Belda seguramente sea de las personas que hubiese preferido no cruzarme en el camino, o por lo menos en las circunstancias en las que lo hicimos, pero el tiempo ha confirmado que nuestra coincidencia no fue fortuita. Gracias por apostar siempre tan, tan fuerte. Apostaste en su día por tratamientos que otros jamás hubiesen arriesgado, y nos regalaste unos añitos más de Carmen. Y después de los años, apostaste por mí y me brindaste la oportunidad de realizar este estudio con HM. Te estaré eternamente agradecida.

Me gustaría agradecer a mi familia: papá, Azu (siempre será mi familia), tía Menchu, tío Edu, tío Pedro y mi hermano Lolo por el apoyo incondicional que me habéis brindado desde el inicio. Especialmente a mi padre por animarme a seguir todas y cada una de las veces que he querido tirar la toalla,

por enseñarme a ser constante, por sus buenos consejos siempre con una sonrisa y escucharme cada lamento.

La vida te pone a gente maravillosa en el camino, y yo me siento afortunada por contar con tanta... Gracias a Alba y Vir, mi tercer pie, por estar siempre ahí. Gracias a mis amigas de la infancia Miriam, Sara, Moni, María, Aida, Almu, Ana, Marta, Lu por soportar mi intensidad y mis continuas quejas...

Gracias al Anarka, por retarme a hacer esta tesis, transmitirme ese orgullo propio tan necesario para alcanzar objetivos, a Guille por su gran ayuda en la parte artística de esta tesis, y a Jesús, por ser como es y sacarme siempre, siempre una carcajada.

Tampoco me puedo olvidar de Mari, Leti, Teresa y Tamayra que creían imposible mi encierro en Madrid para escribir esta tesis, gracias por proponerme este reto. También quiero agradecer también a Carmen Martos por su cálida acogida en el Queen Charlotte's y su apoyo continuo en todos los saltos de mi vida. Y a Elena y Maca por vivir esta tesis como si fuese suya, esperando el día que termine para celebrarlo por todo lo alto.

El haber encontrado al Kana en Escarrilla, tampoco fue por casualidad, mil gracias por animarme a disfrutar de la vida y enseñarme a vivir la vida rider.

Estoy segura de que me dejo a personas en el tintero, lo siento. Con estas palabras de agradecimiento me gustaría reflejar lo importante que ha sido para mi el apoyo continuo de las personas que me rodean, que sin todas ellas no hubiese sido posible finalizar esta tesis.

Aquí desde el café Miranda Suiza en el Escorial, lugar emblemático al que tantas veces vine con mi madre, escribo estas palabras imaginando lo que hubiese disfrutado ella ayudándome con esta tesis, metiéndose en el laboratorio si hubiese hecho falta - quitándose la espinita de no haber podido ejercer de química- y ganándose a todo el departamento con su carisma y don

de gentes que la caracterizaba. Gracias mamá por inculcarme tu honestidad, tesón, capacidad de lucha y tu avidez por el aprendizaje continuo.

# ÍNDICE



<b>I. Relación de abreviaturas y acrónimos</b>	17
<b>II. Resumen</b>	27
<b>III. Summary</b>	33
<b>IV. Revisión bibliográfica</b>	39
1. Etimología del embarazo.	41
2. Desarrollo embrionario y placentario.	42
3. Hormonas y desarrollo embrionario.	50
3.1 Hormonas esteroides:	55
a. Estrógenos.	55
a.1) Estriol.	59
a.2) Sulfato de estrona.	61
b. Progesterona.	63
4. Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal.	66
4.1 Cortisol.	66
5. Hormonas esteroides y parto.	75
6. Aplicación de modelos de regresión logística y random forest para la predicción de la fecha de parto.	85
<b>V. Objetivos</b>	91
<b>VI. Material y métodos</b>	95
1. Reclutamiento de participantes.	97
2. Recogida de muestras de saliva.	109
3. Centrifugación y conservación de muestras.	110
4. Técnicas Enzimoimmunoanalíticas (EIA).	111
4.1 Desarrollo técnica EIA.	112
4.1.1 Adsorción de los anticuerpos a la fase sólida.	113
4.1.2 Preparación de las curvas estándar.	114
4.1.3 Reacción de competición.	114
4.1.4 Tapizado de placas para el EIA de amplificación.	115
4.1.5 Adición del sustrato y del cromógeno.	116
4.1.6 Lectura de placas.	117
4.1.7 Procesado de resultados.	117
4.2 Parámetros de validación de la técnica EIA.	118
5. Cuestionario de ansiedad STAI (Stait-Trait Anxiety Inventory- Cuestionario de Ansiedad Estado-Rasgo).	119

6. Análisis estadístico.	121
7. Metodología para la construcción de un modelo de predicción del parto.	122
7.1 Agrupación de los datos disponibles.	123
7.2 Definición de la variable a predecir (objetivo).	124
7.3 Definición de las variables explicativas (inputs).	125
7.4 Modelización matemática.	127
7.4.1 Construcción de muestras de entrenamiento, validación y test.	127
7.4.2 Tratamiento de datos.	129
7.4.3 Modelos implementados.	130
<b>VII. Resultados</b>	131
1. Validación de las técnicas EIA.	133
2. Evolución de las concentraciones de Cortisol desde la semana 12 hasta la semana 37,38,39,40 y 41.	136
3. Evolución de las concentraciones de Estriol desde la semana 12 hasta la semana 37,38,39,40 y 41.	143
4. Evolución de las concentraciones de Sulfato de Estrona desde la semana 12 hasta la semana 37,38,39,40 y 41.	150
5. Evolución de las concentraciones de Progesterona desde la semana 12 hasta la semana 37,38,39,40 y 41.	157
6. Análisis de correlación entre cortisol, Estriol, sulfato de estrona y progesterona.	164
7. Resultados de cuestionario STAI (Cuestionario de ansiedad Estado-Rasgo).	166
8. Análisis comparativo de la evolución hormonal en función de la semana de parto (37, 38, 39, 40 o 41).	169
9. Resultados del modelo de predicción del parto a partir de la semana 37 de gestación en mujeres embarazadas tras el análisis hormonal de Cortisol, Estriol, Sulfato de Estrona y Progesterona desde la semana 34 de la misma.	171
9.1 Resultados obtenidos.	176
<b>VIII. Discusión</b>	181
<b>IX. Conclusiones</b>	213
<b>X. Bibliografía</b>	217

# ACRÓNIMOS

RESUMEN

SUMMARY

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA



## ACRÓNIMOS

### A

---

**A4** - Androstenediona.

**ACTH** - hormona adrenocorticotropa.

**AFP** - Alfafetoproteína.

**AMP** - Adenosin monofostato

**ANCOVA** - Análisis de la covarianza.

**ANOVA** - Análisis de la varianza.

**AVP** - Arginina-vasopresina.

### C

---

**C** - Cortisol.

**CAP** - Proteínas asociadas a la contracción.

**CIR** - Crecimiento intrauterino retardado.

**COX-2** - Encima ciclooxigenasa-2.

**CRH** - Hormona liberadora de corticotropina.

**Cx43** - Conexina 43.

**CYP11A1** - Colesterol desmolasa tipo 1.

**CYP** - Citocromo P450.

**CYP19A1** - Aromatasa.

**CYP17** - 17 $\beta$ -hidroxilasa/17,20-desmolasa.

**CYP3A7** - Aromatasa.

### D

---

**DAMP** - Patrones moleculares asociados al daño.

**DASS-21** - Escala de Depresión, Ansiedad y Estrés (DASS-21).

**DHEA** - Dehidroepiandrosterona.

**DHEA-S** - Sulfato de dehidroepiandrosterona.

**16OH-DHEA** - 16-hidroxidehidroepiandrosterona.

**16OH-DHEA** - Sulfato de 16-hidroxidehidroepiandrosterona.

**DFG** - Sociedad Alemana de Investigación.

## **E**

---

**E1** - Estrona.

**E2** - Estradiol.

**E3** - Estriol.

**EGF** - Factor de crecimiento epidérmico.

**EIA** - Enzimoimmunoanálisis.

**ER** - Receptor estrogénico.

## **F**

---

**FGF** - Factor de crecimiento de fibroblastos.

**FPP** - Fecha probable de parto.

**FUR** - Fecha última regla.

## **G**

---

**GC** - Glucocorticoides.

**GHQ** - Cuestionario General de Salud.

**GR** - Receptor de glucocorticoides.

**GHRH** - Hormona liberadora de la hormona del crecimiento.

**GnRH** - Hormona liberadora de gonadotropina.

## H

---

**HCG** - Gonadotropina coriónica humana.

**HDL** - Lipoproteínas de alta densidad.

**hGH-V** - Variante de la hormona del crecimiento.

**HHA** - Eje hipotalámico-hipofisario-adrenal.

**hPL** - Lactógeno placentario.

**HRP** - Peroxidasa.

**HSD** - Hidroxiesteroide deshidrogenasa.

**HSD11B1** - 11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1.

**HSD11B2** - 11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2.

**HSD17B1** - 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1.

**HSD3B1** - 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1.

**3 $\beta$ HSD** - 3beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa.

**17 $\beta$ HSD** - 17beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa.

**17 $\beta$ 1HSD** - 17beta-1-hidroxiesteroide deshidrogenasa.

## I

---

**IFN- $\alpha$**  - Interferón alfa.

**IGF-I** - Factor de crecimiento insulínico tipo-I.

**IL-1** - Interleucina 1.

**IL-1B** - Interleucina 1B.

**IL-6** - Interleucina 6.

**IL-8** - Interleucina 8.

## L

---

**LDL** - Lipoproteínas de baja densidad.

## M

---

**MC** - Mineralocorticoides.

## N

---

**NICE** - Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica.

**NO** - Óxido nítrico.

**NOS** - Óxido nítrico sintasa.

## O

---

**OT** - Oxitocina.

## P

---

**P4** - Progesterona.

**P450aro** - Citocromo P450 con función aromatasa.

**P5** - Pregnenolona.

**PAC** - Proteínas asociadas a la contracción.

**PC** - Postconcepcional.

**PDGF** - Factor de crecimiento derivado de plaquetas.

**15-PGDH** - 15- hidroxiprostaglandina deshidrogenasa.

**PG** - Prostaglandina.

**PGE2** - Prostaglandinas E<sub>2</sub>.

**PGF2 $\alpha$**  - Prostaglandina F2 $\alpha$ .

**PGH** - Hormona del crecimiento placentario.

**PKA** - Proteína quinasa A.

**POMC** - Proopiomelancortina.

**PSS** - Escala de Estrés Percibido.

**PTGS2** - Prostaglandina-endoperóxido sintasa 2.

**PTH-rP** - Proteína relacionada con la hormona paratiroidea.

**PVN**- Núcleo paraventricular hipotalámico.

## R

---

**RAE**- Real Academia Española.

**RE $\alpha$**  - Receptor estrogénico  $\alpha$ .

**RE $\beta$**  - Receptor estrogénico  $\beta$ .

**RANM** - Real Academia Nacional de Medicina.

**RCG** - Receptores de glucocorticoides.

**RP-A** - Receptor de P<sub>4</sub> tipo A.

**RP-B** - Receptor de P<sub>4</sub> tipo B.

## S

---

**SAS** - Statistical Analysis Systems.

**SAS\*** - Escala de Ansiedad Percibido.

**SEGO** - Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia.

**SHBG** - Globulina fijadora de hormonas sexuales.

**SNC** - Sistema nervioso central.

**SO4E1** - Sulfato de estrona.

**Sp1** - Factor de transcripción 1.

**STAI** - Cuestionario de Ansiedad Estado- Rasgo.

**STAIX** - Inventario de Expresión de Ira Estado -Rasgo.

**StAR** - Proteína reguladora aguda de la esteroidogénesis.

**STS** - Sulfotransferasa.

**SULT2A1**- Sulfotransferasa 2A tipo 1.

## T

---

**T** - Testosterona.

**TBG** - Globulina fijadora de tiroxina.

**Th2** - Linfocitos Th2 (T helper 2).

**TNF- $\alpha$**  - Factor de necrosis tumoral  $\alpha$ .

**TRH** - Hormona liberadora de tirotropina.

## U

---

**UCM** - Universidad Complutense de Madrid.

## V

---

**VEGF** - Factor de crecimiento endotelial vascular.

**VLDL** - Lipoproteína de muy baja densidad.

## V

---

**WHO/ OMS** - Organización Mundial de la Salud.

**WMA** - Asociación Médica Mundial.



ACRÓNIMOS

## **RESUMEN**

SUMMARY

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA



Uno de los principales objetivos de la obstetricia es el conocimiento más profundo de los acontecimientos que suceden durante el embarazo, con el fin de procurar un buen desarrollo fetal que culmine con una transición a la vida extrauterina y adaptación a la etapa infantil y madurez satisfactorios. La interacción hormonal es crucial para una adecuada evolución fetal, siendo el segundo trimestre una etapa imprescindible para la maduración de los órganos y sistemas; y el tercer trimestre necesario para la preparación al parto y la vida extrauterina.

Los procesos fisiológicos de la gestación dependen principalmente de la interacción de distintos factores, donde los sistemas endocrinos materno-fetales tienen un papel imprescindible para el buen desarrollo fetal. La placenta y las glándulas adrenales (fetales y maternas) son los órganos responsables de la síntesis de grandes cantidades de hormonas esteroideas durante el segundo y tercer trimestre de gestación. La exposición del feto a elevadas cantidades de hormonas esteroides pueden tener un impacto negativo en el desarrollo fetal.

Las principales hormonas producidas en la glándula adrenal fetal son pregnenolona (P5), dehidroepiandrosterona (DHEA), dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) y cortisol (C). P5 y DHEA sirven como sustrato para la síntesis placentaria de P4 y estrógenos (estrón (E1), estradiol (E2) y estriol (E3)), cuyos niveles irán aumentando a lo largo de la gestación. P4 es la hormona encargada del mantenimiento de la gestación. La forma sulfatada de E1 (SO<sub>4</sub>E1) sirve como reservorio estrogénico para la síntesis periférica de estrógenos biológicamente activos, mientras que E3 es el estrógeno más abundante durante la gestación y sirve como marcador del estado de la unidad feto-placentaria, puesto que su producción depende de la capacidad de síntesis de la placenta y el feto juntos.

Por ello, el objetivo de este estudio fue la determinación de los niveles de C, E3, SO<sub>4</sub>E1 y P4 en saliva durante el segundo y tercer trimestres de gestación, así como el desarrollo de un modelo matemático basado en la

medición de estas hormonas que permita predecir la fecha de parto, y con ello mejorar la práctica clínica, reduciendo el número de inducciones al parto, así como la previsión del número posible de partos en esa semana.

La determinación de concentraciones hormonales en muestras de saliva recogidas desde la semana 12 de gestación hasta la semana de parto, se realizó mediante una técnica de enzimo-inmunoensayo altamente sensible y precisa.

Niveles elevados de ansiedad materna pueden incrementar la síntesis de C, lo cual puede tener grandes repercusiones para el desarrollo fetal. Por ello, pedimos a las participantes que completasen el cuestionario de Ansiedad-Estado Rasgo (STAI) junto con la toma semanal de la muestra de saliva, con el fin de buscar una correlación entre el estado psicológico de la madre y las concentraciones de C.

Se ha decidido ajustar dos tipos de modelos matemáticos. Por un lado, uno de tipo regresión logística, al ser un referente dentro del ámbito biosanitario por su facilidad para ser interpretado. Por otro lado, uno más competitivo desde el punto de vista predictivo, aunque más complejo de interpretar como es el random forest.

En nuestros resultados observamos un aumento gradual de C, P4 y E3 a lo largo del segundo trimestre de gestación, así como unas elevaciones fisiológicas en las semanas 16,18 y 23, relacionadas con el comienzo de movimiento fetales y la percepción de estos por parte de la madre, así como el inicio del funcionamiento del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA) fetal de forma autónoma. A partir del tercer trimestre, el aumento de estas hormonas es más pronunciado hasta la semana 37, en la que comienza un incremento exponencial hasta la semana de parto, pudiendo tener relación con el inicio del parto. Destaca que las concentraciones de SO4E1 comienzan su incremento

exponencial en la semana 35 hasta la semana del parto, lo que indica que SO4E1 juega un papel de gran relevancia en el inicio del parto.

Por otro lado, en los resultados de STAI solo encontramos correlación con los niveles de C en la semana 12, lo que puede ser debido a que la repetición semanal del test puede tener un sesgo de aprendizaje y los resultados no ser válidos.

En nuestro estudio hemos desarrollado un modelo matemático basado en las mediciones hormonales de C, P4, SO4E1 y E3 desde la semana 34, con el que podemos predecir, en gestantes a término, el parto la semana siguiente desde la última toma de muestra. La implementación de este modelo matemático supondrá una reducción en el número de inducciones al parto, además de una mejora en la gestión de recursos en unidades de maternidad.

Concluimos que la determinación de hormonas esteroideas durante el segundo y tercer trimestres de gestación, puede servir como indicadores del buen funcionamiento de la unidad feto-placentaria. Además, la implementación del modelo matemático puede ayudar a la gestión de recursos sanitarios en maternidades, en función de la previsión del número de partos, así como la disminución del número de inducciones del parto en embarazos post-término.



ACRÓNIMOS

RESUMEN

## **SUMMARY**

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA



One of the main goals in obstetrics is the deeper knowledge of the events that occurs during pregnancy, in order to ensure a good fetal development that culminates with a transition to extrauterine life and adaptation to childhood and satisfactory maturity. The hormonal interaction is crucial for an adequate fetal evolution, being the second trimester an essential stage for the maturation of the organs and systems; and the third trimester necessary for childbirth preparation and extrauterine life.

The physiological processes of pregnancy mainly depend on the interaction of different factors where the maternal-fetal endocrine systems have an essential role for the good fetal development. The placenta and the adrenal glands (fetal and maternal) are the organs responsible for the synthesis of large amounts of steroid hormones during the second and third trimesters of pregnancy. Exposure of the fetus to high amounts of steroid hormones can have a negative impact on fetal development.

The main hormones produced in the fetal adrenal gland: pregnenolone (P5), dhydroepiandrosterone (DHEA), and cortisol (C). P5 and DHEA serve as a substrate for the placental synthesis of P4 and estrogens (estrone (E1), estradiol (E2) and estriol (E3)), whose levels will increase throughout gestation. P4 is the hormone responsible for pregnancy maintenance. The sulfated form of E1 (SO<sub>4</sub>E1) serves as an estrogenic reservoir for the peripheral synthesis of biologically active estrogens, while E3 is the most abundant estrogen during pregnancy and serves as a marker of the feto-placental unit state, since its production depends of the synthesis capacity of the placenta and the fetus together.

Therefore, the objective of this study was the determination of the levels of C, E3, E1SO<sub>4</sub> and P4 in saliva during the second and third trimester of gestation, and the development of a mathematical model based on the measurement of these hormones that allows predicting the date of delivery, and thus improve clinical practice, reducing the number of inductions of labor, as well as the anticipation of the possible number of deliveries in that week.

The determination of hormonal concentrations in saliva samples collected from the 12th week of gestation until the week of delivery, was performed using a highly sensitive and precise enzyme-immunoassay technique.

High levels of maternal anxiety can increase C synthesis, which can have great repercussions for development. Therefore, we asked the participants to complete the Trait-State Anxiety Questionnaire (STAI) together with the weekly taking of the saliva sample, in order to search for a correlation between the psychological state of the mother and C concentrations.

It has been decided to develop two types of mathematical models. On the one hand, the logistic regression type, it is a benchmark in the biosanitary field due to its ease of interpretation. On the other hand, a more competitive one from the predictive point of view, although more complex to interpret as is the random forest.

In our results we observed a gradual increase in C, P4 and E3 throughout the second trimester of gestation, as well as physiological elevations in weeks 16, 18 and 23, related to the onset of fetal movement and the perception of these by the mother, as well as the start of operation of the fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HHA) autonomously. From the third trimester, the increase in these hormones is more pronounced until week 37, when an exponential increase begins until the week of delivery, and may be related to the start of labor. It is noteworthy that E1SO4 concentrations begin their exponential increase in week 35 until the week of delivery, indicating that E1SO4 plays a highly relevant role in the onset of labor.

On the other hand, in the STAI results we only found a correlation with C levels at week 12, which may be due to the fact that the weekly repetition of the test may have a learning bias and the results may not be valid.

In our study, we have developed a mathematical model based on the hormonal measurements of C, P4, E1SO4 and E3 from week 34, with which we

can predict, in pregnant women at term, if the delivery will occur the following week from the last sampling. The implementation of this mathematical model will mean a reduction in the number of inductions at labor, in addition to an improvement in the management of resources in maternity units.

We conclude that the determination of steroid hormones during the second and third trimester of gestation can serve as indicators of the proper functioning of the feto-placental unit. In addition, the implementation of the mathematical model can help the management of health resources in maternity hospitals based on the prediction of the number of births, as well as the decrease in the number of inductions of labor in post-term pregnancies.



ACRÓNIMOS

RESUMEN

SUMMARY

# REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA



## 1. Etimología de embarazo.

Según la Real Academia Española (RAE, 2018), el embarazo se define como el estado en que se halla la mujer gestante, y procede de la palabra embarazar. En leonés, *baraça* significa lazo, cordel o cordón, aludiendo a los impedimentos que soporta la mujer durante el embarazo (Lugones Botell *et al.*, 2015) (Figura 1).



Figura 1: La mujer encinta (*La Donna Gravida*, en italiano), pintada por Raffaello Sanzio entre 1505-1506. Imagen tomada de *Web Gallery of Art*, disponible en: <https://www.wga.hu/index1.html>.

Actualmente, en términos médicos, embarazo es sinónimo de gestación. Según la Real Academia Nacional de Medicina (RANM, 2019), la gestación puede definirse como “*el periodo que transcurre entre la implantación en el útero del óvulo fecundado y el momento del parto*”. Los procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo del feto ocurren durante este periodo en el interior del útero materno.

La duración de la gestación se estima alrededor de 280 días tras la fecha de la última regla (FUR). La edad gestacional se calcula en base a la FUR, ya que resulta difícil saber el momento exacto de la concepción. Debido a que la ovulación tiene lugar con bastante certeza dos semanas después de la menstruación, la fecundación tiene lugar entre 24-48 h tras la ovulación (Webster y de Wreede, 2015). Solamente el 4% de las mujeres paren a los 280 días, mientras que el 70% paren en el intervalo de  $\pm 10$  días alrededor de la fecha probable de parto (F.P.P) (Jukic *et al.*, 2013).

## **2. Desarrollo embrionario y placentario.**

El embarazo abarca aproximadamente 40 semanas desde la fecundación y se divide en periodos de tres meses denominados trimestres (Webster y de Wreede, 2015).

En el primer trimestre de gestación, comprendido entre la FUR hasta la semana 12 de gestación, comenzará el desarrollo fetal, que comprenderá el desarrollo tanto placentario como embrionario (embriogénesis). El segundo trimestre abarca entre la semana 13 y 26 de gestación. En este periodo el útero

aumenta de tamaño para albergar al feto en crecimiento, y continúa la maduración de los aparatos y sistemas. Por último, el tercer trimestre comienza en la semana 27 hasta la fecha de parto; donde el feto se prepara para el nacimiento, girándose y encajando la cabeza en la pelvis (Webster y de Wreede, 2015; Moore *et al.*, 2016).

Si existe fecundación, comienza el periodo a veces denominado “periodo del huevo”, en el que el cigoto (embrión monocelular resultante tras la fecundación) se desplaza por las trompas de Falopio, se va desarrollando a blastocito (embrión de 4 a 8 células), hasta implantarse en el útero y dura alrededor de 2 semanas (Webster y de Wreede, 2015).

Entre la fecundación y la 8ª semana de gestación, se da el periodo conocido como embriogénesis en el que se forman las principales estructuras del embrión. Alrededor de la 3ª semana de gestación las capas externas del blastocito dan lugar al trofoblasto y las capas internas al embrioblasto (Webster y de Wreede, 2015) (Figura 2A).

Las células del trofoblasto, serán las encargadas de formar la mayor parte de las membranas extraembrionarias (corion y placenta). Estas proliferan pudiendo diferenciar una capa interna de células mononucleares denominada *citotrofoblasto*, y una capa externa de células multinucleares denominada *sincitiotrofoblasto* (Krause *et al.*, 2011; Demir *et al.*, 2006). Las células del trofoblasto liberan el factor activador del plasminógeno, el cual facilita la invasión del trofoblasto en el endometrio (Figura 2B).

Por su parte, el embrioblasto se organiza dando lugar al disco embrionario bilaminar, formado por epiblasto e hipoblasto, compuestos de células pluripotenciales (Arteaga Martínez y García Peláez, 2014). El hipoblasto dará lugar al saco vitelino (Rohen y Lütjen-Drecoll, 2008) y, junto con el epiblasto, se generará el tejido mesenquimatoso extraembrionario rodeando la cavidad coriónica. Este mesénquima extraembrionario es un tejido pluripotencial que dará lugar a tejidos conjuntivos y de soporte como el endotelio, endocardio y miocardio, mesotelio, vasos y ganglios linfáticos (RANM, 2019) (Figura 2C).

En este momento, el embrión humano se inserta en el epitelio uterino y se implanta en el estroma (Rohen y Lütjen-Drecoll, 2008; Moore *et al.*, 2016).

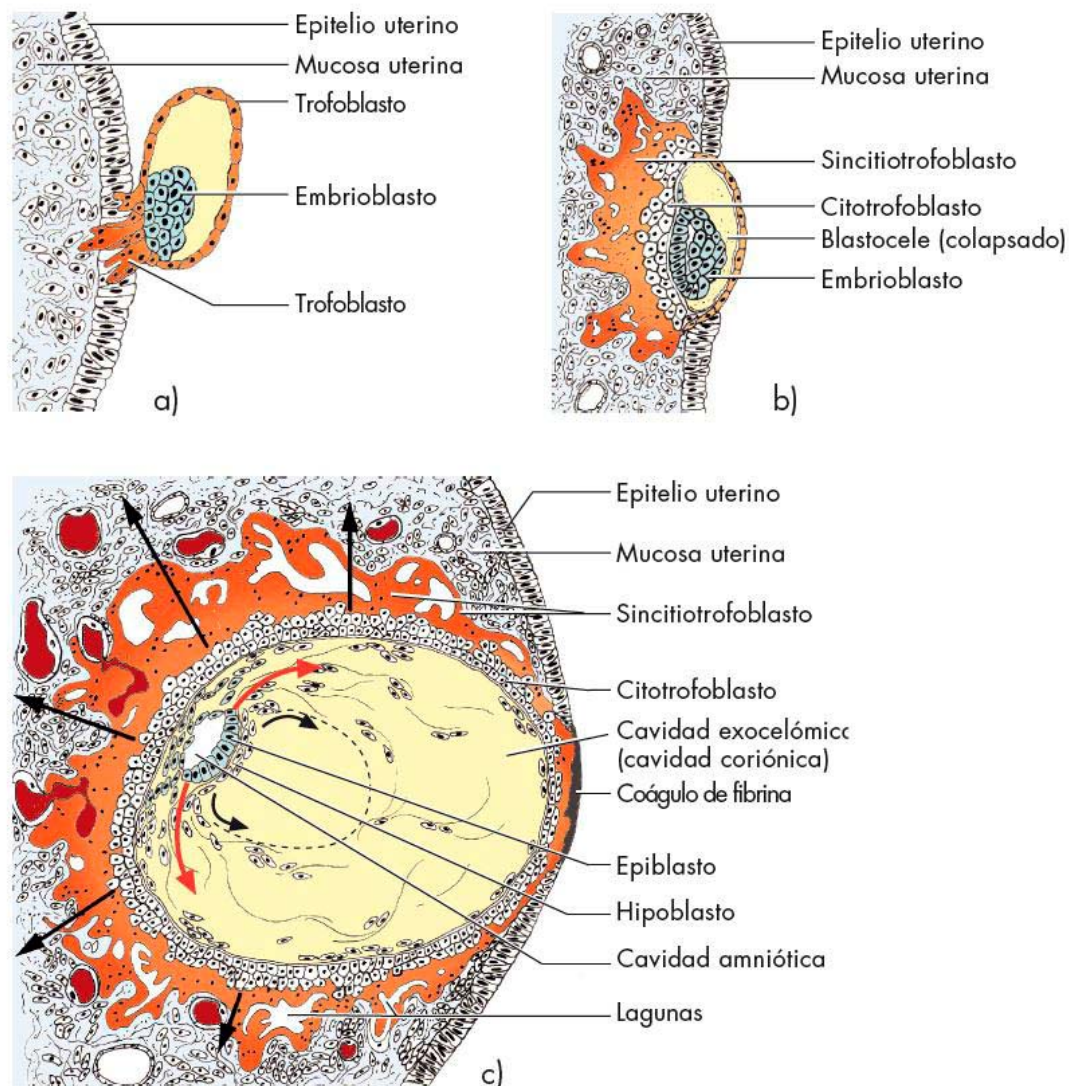


Figura 2: Procesos de desarrollo e implantación del blastocito. A) Inicio de la implantación. Diferenciación del trofoblasto y embrioblasto. B) Proliferación y diferenciación del trofoblasto en sincitio y citotrofoblasto. El embrioblasto se encuentra todavía quiescente. C) Diferenciación del embrioblasto. Se empieza a formar el saco vitelino a partir del hipoblasto (flechas negras cortas). Se desarrolla el mesénquima extraembrionario de la cavidad coriónica desde el epiblasto y el hipoblasto (flechas rojas). Imagen tomada de Rohen y Lütjen-Drecoll, 2008.

En la 4<sup>a</sup> semana de gestación, se produce una transformación de las capas embrionarias (embrioblasto) que darán lugar al: ectodermo, mesodermo y endodermo. Las células provenientes de estas capas contribuyen a la formación de diferentes tejidos y órganos (Rhoades y Tanner, 1997; Rohen y Lutjen-Drecoll, 2008; Moore *et al.*, 2016) (Figura 3). La diferenciación de

órganos y sistemas que darán lugar al feto maduro tiene lugar entre la 8ª y 12ª semanas de gestación (Castillo Moreno y Alegría Baños, 2013; Moore *et al.*, 2016).

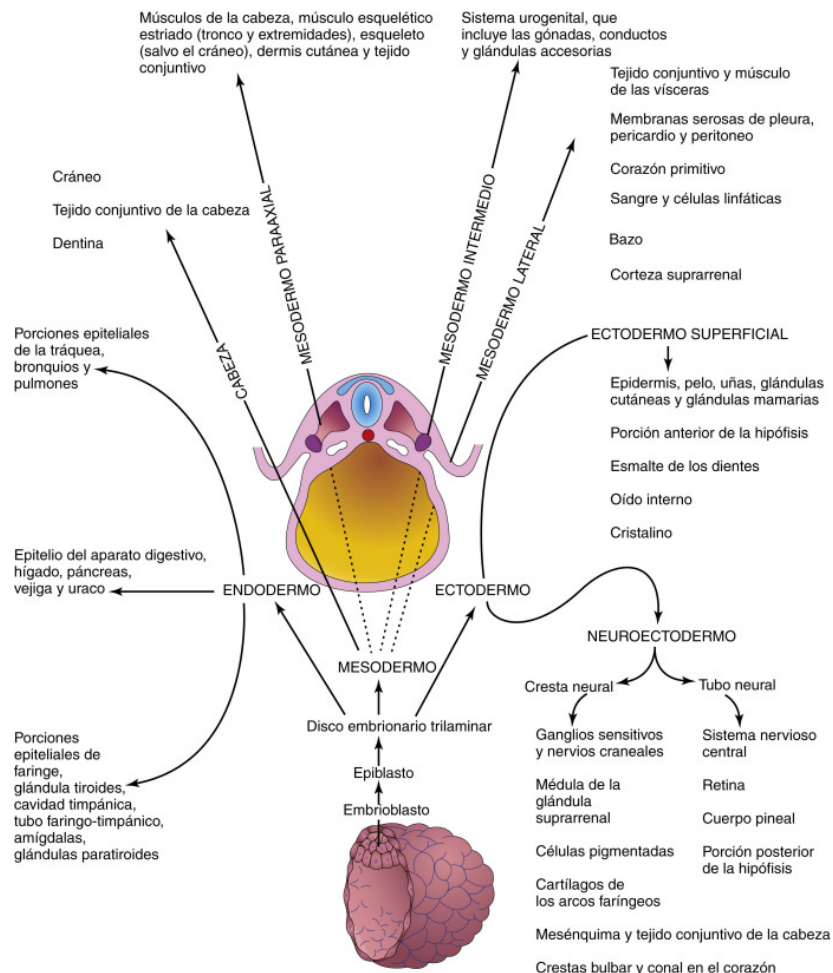


Figura 3. Esquema de los derivados de las tres capas germinativas: endodermo, mesodermo y ectodermo. Imagen tomada de Moore *et al.*, 2016.

A medida que el embrión se va desarrollando, sus necesidades nutricionales incrementan y necesita conectarse a la madre para la obtención de nutrientes, realizando así un intercambio de gases y desechos. Comienza el proceso denominado desarrollo placentario (Webster y de Wreede, 2015).

El desarrollo placentario es un proceso secuencial y complejo que comienza tras la implantación del blastocito (Arteaga Martínez y García Peláez,

2014). El sincitiotrofoblasto invade los vasos endometriales, los erosiona, y se introduce en el estroma de la capa funcional del endometrio, lo que permite al embrión ir penetrando en el estroma uterino (Figura 4A-B). Se van formando depósitos de sangre materna (lagunas trofoblásticas), mientras que en la periferia se acumulan células del citotrofoblasto que darán lugar a las vellosidades coriónicas. A su vez el epitelio endometrial se va restableciendo hasta ocultar el sitio de penetración del blastocito (Figura 4C-D) (Arteaga Martínez y García Peláez, 2014). Así se forma en la mucosa materna un órgano muy diferenciado, la placenta, que surge en la región del disco embrionario y se hará cargo de todas las funciones vitales para el embrión (Rohen y Lütjen-Drecoll, 2008). A medida que la placenta madura, va adquiriendo distintas funciones nutritivas y secretoras, alcanzando su estructura definitiva tras las 12 semanas de gestación (Lunghi *et al.*, 2007, Webster y de Wreede, 2015).

La placenta es un órgano altamente especializado que apoya el desarrollo y crecimiento fetal, cumple funciones de protección y de transporte, siendo la proveedora principal de oxígeno, aminoácidos, lípidos, vitaminas, minerales y nutrientes necesarios para la maduración fetal (Gude *et al.*, 2004). También destaca su función metabólica, imprescindible para el inicio y mantenimiento de la gestación hasta el momento del alumbramiento (Rodríguez-Cortés y Mendieta-Zerón, 2014).

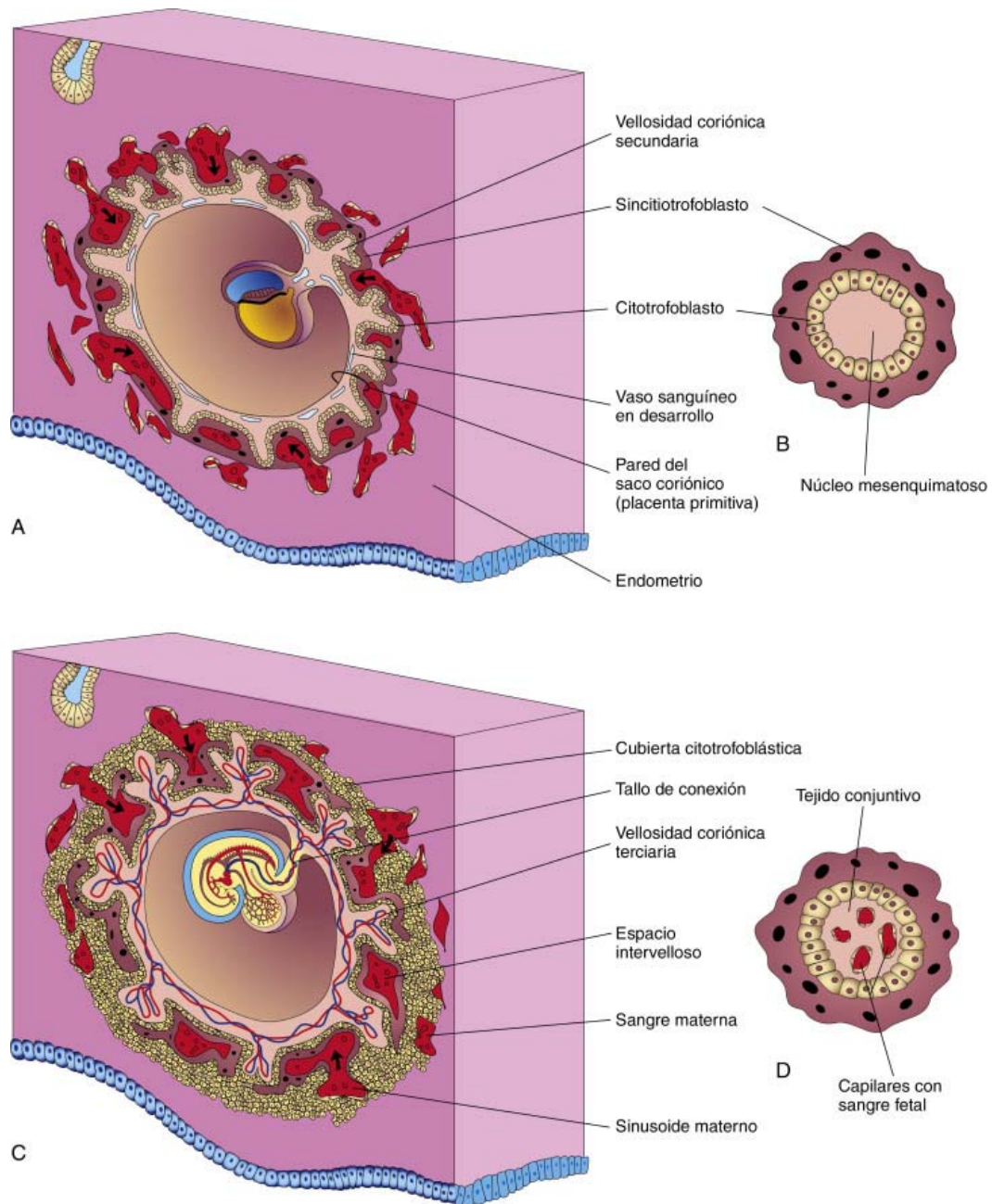


Figura 4. Formación inicial de la placenta. A-B) Ramificaciones del sincitiotrofoblasto se introducen en el estroma endometrial. Continúa la diferenciación de las vellosidades coriónicas. C-D) Extensiones del citotrofoblasto forman la cubierta citotrofoblástica que ancla el saco coriónico (placenta primitiva) al endometrio. El desarrollo de las vellosidades dará lugar a la placenta definitiva. Se establece una compleja red vascular que permite el intercambio metabólico, gases y nutrientes entre el embrión y la madre. (Imagen obtenida de Moore *et al.*, 2016).

A partir de la 4ª semana de gestación se establece una comunicación funcional entre la sangre materna y el sistema vascular en desarrollo del embrión (Rhoades y Tanner, 1997, Webster y de Wreede, 2015; Burton y Jauniaux, 2018). Se han producido los cambios anatómicos necesarios para llevar a cabo los intercambios fisiológicos entre madre y embrión/feto (Moore *et al.*, 2016).

Entre la cuarta y octava semana, el embrión se desarrolla hasta adquirir un aspecto humano reconocible, se han formado los primordios de los tejidos y órganos principales. Se produce la transformación de embrión a feto (Moore *et al.*, 2016).

El periodo fetal se caracteriza por un rápido crecimiento y desarrollo de órganos y sistemas. No existe ninguna norma formal para estructurar los hitos relevantes de este periodo (Moore *et al.*, 2016). A continuación, describimos brevemente los cambios más relevantes por semanas (Tabla 1).

Semana 9 a 12	<p>La cabeza constituye la mitad de la longitud céfalo-caudal del feto.</p> <p>Comienza la eritropoyesis.</p> <p>Comienza la producción de orina. Los productos de desecho alcanzan la circulación materna atravesando la membrana placentaria.</p>
Semana 13 a 16	<p>Osificación del esqueleto fetal.</p> <p>Comienzo del movimiento de los miembros no perceptible por la madre.</p> <p>Movimientos oculares lentos.</p>
Semana 17 a 20	<p>Formación de grasa parda. Percepción por parte de la madre de movimientos fetales.</p>
Semana 21 a 25	<p>Comienzo de reflejos parpebrales.</p> <p>Los neumocistos tipo II de las paredes alveolares pulmonares comienzan a segregar surfactante pulmonar.</p>
Semana 26 a 29	<p>Desarrollo de los pulmones y vascularización alveolares.</p> <p>Maduración del sistema nervioso central. Conversión de la médula ósea como órgano principal de la eritropoyesis.</p>
Semana 30 a 38	<p>Comienzo del reflejo pupilar.</p> <p>El sistema nervioso adquiere el grado de madurez necesario para integrar estímulos. Muestran una orientación espontánea a la luz.</p> <p>La mayoría de los fetos adquieren un aspecto rollizo, siendo el perímetro abdominal mayor que el cefálico. El tejido adiposo constituye alrededor del 16 % del tejido corporal.</p>

Tabla 1. Hitos importantes en el desarrollo fetal desglosado por semanas (Moore *et al.*, 2016).

### 3. Hormonas y desarrollo embrionario.

Las hormonas juegan un papel primordial en el desarrollo fetal y placentario. Son capaces de modificar el fenotipo placentario de dos formas: directamente actuando sobre receptores específicos de diferentes células

placentarias; o de forma indirecta induciendo cambios fisiológicos en el feto y/o en la madre, como la alteración en la disponibilidad de nutrientes o en el flujo sanguíneo placentario (Fowden *et al.*, 2015). Una de sus acciones más importantes en el desarrollo embrionario es estimular la maduración de los tejidos y órganos con el fin de preparar al feto para la vida extrauterina (Fowden *et al.*, 1998). Para ello, se producen cambios en el metabolismo materno para asegurar el combustible metabólico necesario para el desarrollo fetal intrauterino (Berga *et al.*, 2016).

Al inicio de la gestación, las hormonas esteroides y proteicas son producidas exclusivamente por el trofoblasto y, a medida que la gestación avanza, la placenta tomará el relevo en su producción (Cunningham *et al.*, 2011; Rodríguez-Cortés y Mendieta-Zerón, 2014). Dentro de las hormonas producidas por la placenta, caben destacar: lactógeno placentario (hPL), gonadotropina coriónica humana (hCG), hormona adrenocorticotropa (ACTH), prolactina, activina e inhibina, hormona del crecimiento placentario (PGH), relaxina, progesterona (P<sub>4</sub>), cortisol (C), dehidroepiandrosterona (DHEA), sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA-S), estrona (E<sub>1</sub>), estradiol (E<sub>2</sub>) y estriol (E<sub>3</sub>) (Cunningham *et al.*, 2011; Rodríguez-Cortés y Mendieta-Zerón, 2014).

El embarazo produce un gran impacto sobre el sistema endocrino materno, comenzando desde etapas muy tempranas con la síntesis de hCG por parte del sincitiotrofoblasto imprescindible para el mantenimiento de la gestación (Berga *et al.*, 2016).

A medida que la gestación avanza, se desarrolla una interacción hormonal exclusiva entre la madre, placenta y feto (Chatuphonprasert *et al.*, 2018).

Tras la fecundación e implantación, alrededor de 8-9 días postconcepcional (p.c.), comienza la secreción de hCG por parte del trofoblasto. La producción placentaria de hCG alcanza su máxima concentración a las 10 semanas de gestación. Esta producción es estimulada por la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) placentaria por vía paracrina (Rodríguez-Cortés y Mendieta-Zerón, 2014; De Cherney *et al.*, 2015). La principal función de la hCG es estimular la esteroidogénesis luteal, placentaria y fetal. Al inicio de la gestación, la hCG también influye en la esteroidogénesis fetal, constituyendo un estímulo trófico para el desarrollo de una zona de la corteza adrenal en desarrollo. Posteriormente, esta función es mantenida por la ACTH hipofisaria fetal (Guyton y Hall, 2016).

A nivel luteal, la hCG estimula el cuerpo lúteo para que siga produciendo P<sub>4</sub> y posibilitar la supervivencia del trofoblasto implantado en el endometrio (Rhoades y Tanner, 1997; Webster y de Wreede, 2015). A este proceso se le denomina “reconocimiento materno del embarazo” (Rhoades y Tanner, 1997). Tras su pico máximo a la 10ª semana, los niveles de hCG disminuyen y predomina la producción placentaria de P<sub>4</sub> y estrógenos (Rhoades y Tanner, 1997; Guyton y Hall, 2016) (Figura 5).

A nivel placentario, la hCG estimula la producción de esteroides debido a que facilita la captación y utilización de colesterol, y el paso de pregnenolona (P<sub>5</sub>) a P<sub>4</sub>. Además, estimula la aromatización de los andrógenos y su conversión a estrógenos (Karolicki, 1979; Tresguerres, 2005).

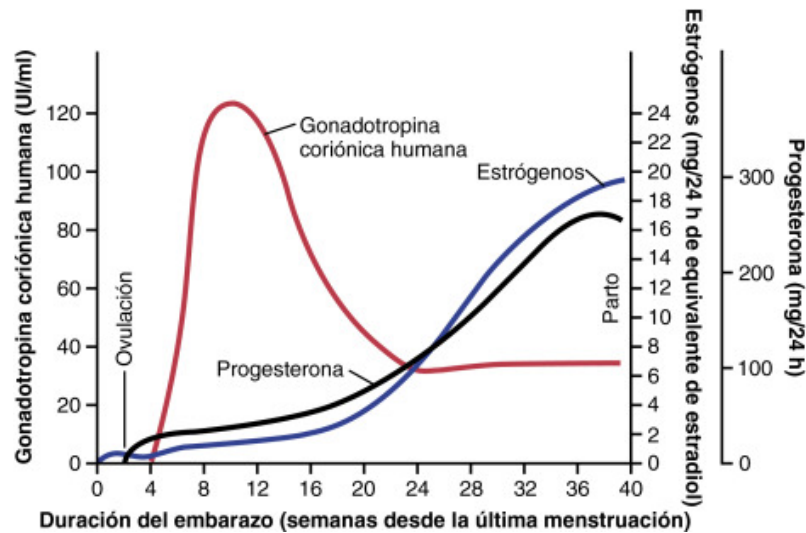


Figura 5. Velocidades de secreción de estrógenos, progesterona y hCG durante la gestación. Gráfica obtenida de Guyton y Hall, 2016.

Por su parte, los esteroides sexuales desarrollan numerosas funciones esenciales para el desarrollo fetal (Seaborn *et al.*, 2010; Ishimoto y Jaffe, 2011), y presentan una interacción exclusiva entre los tres compartimentos principales: madre, placenta y feto. Para el buen desarrollo fetal, es necesario un metabolismo coordinado entre hormonas placentarias, maternas y fetales (Chatuphonprasert *et al.*, 2018).

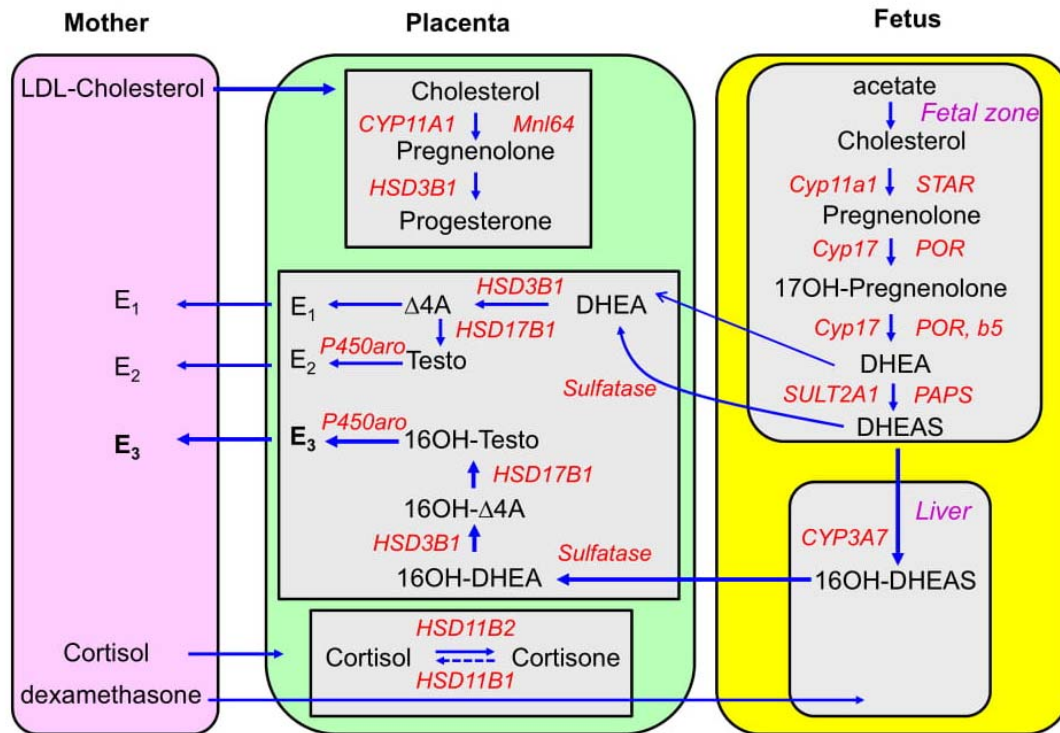


Figura 6. Ruta metabólica de esteroides durante la gestación. Relación materna, placentaria y fetal. Se describen las enzimas esteroidogénicas y productos intermedios destacando la producción placentaria de estrógenos y progesterona, a partir de precursores fetales y/o maternos. HSD3B1, 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1; HSD17B1, 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1; HSD11B1, 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1, HSD11B2, 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2, CYP11A1, colesterol desmolasa tipo 1; CYP17, 17β-hidroxiilasa/17,20-desmolasa; CYP3A7, aromatasa; DHEA, dehidroepiandrosterona; DHEA-S, dehidroepiandrosterona sulfato; 16OH-DHEA-S, 16 hidroxidehidroepiandrosterona sulfato; StAR, proteína reguladora aguda de la esteroidogénesis; SULT2A1, sulfotransferasa 2A tipo 1; P450aro, aromatasa. Imagen tomada de Morel *et al.*, 2016.

Una vez que el cuerpo lúteo deja de sintetizar hormonas, la placenta, gracias a precursores que le llegan a través de la sangre materna y fetal, comienza a producir grandes cantidades de estrógenos (E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> y E<sub>3</sub>) y P<sub>4</sub> que retornarán de nuevo a la madre y al feto (Hernández García, 2015).

El sincitiotrofoblasto placentario es la mayor fuente de síntesis de P<sub>4</sub> y estrógenos, llegando a alcanzar a nivel sanguíneo 250 mg/ml/día y 120 mg/ml/día, respectivamente, al final de la gestación (Chatuphonprasert *et al.*,

2018). La mayoría de los estrógenos son producidos por la placenta y sulfatados o inactivados en el hígado fetal para proteger al feto de un exceso de estrógenos. La exposición fetal a niveles elevados de hormonas esteroides sexuales durante el desarrollo fetal, puede predisponer al niño a trastornos del espectro autista (Malkki, 2014). Algunos autores exponen que el desarrollo estructural del cerebro fetal puede verse influido por una alteración en el metabolismo de esteroides sexuales maternos, en periodos concretos de la gestación (Weiss, 2002).

Tanto la P<sub>4</sub> como los estrógenos se secretan de manera progresiva a lo largo de la gestación. Sin embargo, a partir del séptimo mes, la secreción de P<sub>4</sub> se mantiene constante, y la síntesis de estrógenos sigue aumentando. El *ratio estrógenos: progesterona* se eleva lo suficiente al final de la gestación, para ser responsable, en parte, de la contractilidad uterina (Guyton y Hall, 2016).

### **3.1 Hormonas esteroides.**

#### **a) Estrógenos**

Los principales estrógenos producidos durante el periodo de gestación son E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> y E<sub>3</sub>. Dentro de las múltiples funciones de los estrógenos destacan la estimulación del flujo sanguíneo útero-placentario, y la capacidad de estimular la producción de sustancias vasodilatadoras (Boeldt y Bird, 2018) (Tabla 2). Además, promueven la producción de factor de crecimiento

endotelial vascular (VEGF) en las células endoteliales facilitando, de manera indirecta, la remodelación vascular (Kazi y Koss, 2007).

Los estrógenos también influyen en el crecimiento y diferenciación endometrial, así como en la contracción del miometrio y la diferenciación del epitelio mamario y adiposo (Costa, 2016). Su influencia sobre la contractilidad uterina viene determinada por su acción directa sobre el miometrio; o, indirectamente, aumentando la liberación de oxitocina (OT) por parte de la hipófisis (Roberts y Share, 1969), o de las prostaglandinas de origen uterino (Blatchley *et al.*, 1971). También inducen la formación de receptores de P<sub>4</sub> y estimulan la síntesis proteica hepática (Tresguerres, 2005; Guyton y Hall, 2016).

Los estrógenos ejercen su efecto a través de receptores nucleares  $\alpha$  y  $\beta$  (RE $\alpha$  y RE $\beta$ ) así como distintos receptores de membrana (Chatuphonprasert *et al.*, 2018).

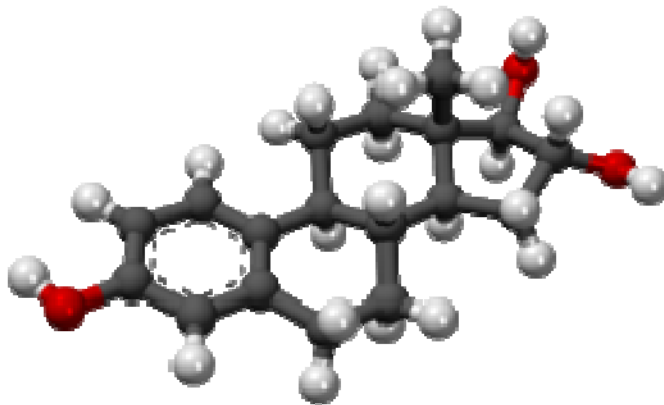
Principales efectos de los estrógenos en la madre:
<p>1. Aumentan la secreción hepática:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Lipoproteínas (VLDL, LDL y HDL).</li> <li>➤ Angiotensinógeno.</li> <li>➤ Factores de coagulación.</li> <li>➤ Proteínas transportadoras (SHBG-globulina fijadora de hormonas sexuales; transcortina, TBG- globulina fijadora de tiroxina).</li> </ul>
<p>2. Efectos tisulares:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Incrementan la acción de la insulina. <ul style="list-style-type: none"> <li>- Estimula los depósitos grasos. Acción mamogénica.</li> </ul> </li> <li>➤ Estimulan la acción de la prolactina.</li> <li>➤ Regulan los receptores uterinos de progesterona.</li> <li>➤ Promueven la actividad miometrial. <ul style="list-style-type: none"> <li>- Degradación de las fibras de colágeno del cérvix.</li> </ul> </li> <li>➤ Aumentan la sensibilidad del centro respiratorio materno al dióxido de carbono.</li> <li>➤ Ayuda sobre el control del cansancio, cambios de humor e irritabilidad así como labilidad emocional.</li> </ul>
Principales efectos de los estrógenos en el feto:
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ayudan al mantenimiento homeostático fetal.</li> <li>2. Promueven el desarrollo de los órganos fetales.</li> <li>3. Regulan el sistema neuroendocrino fetal que controla la reacción al estrés, función del sistema inmune, almacenamiento y gasto energético.</li> <li>4. Regulan el inicio del parto.</li> </ol>

Tabla 2. Efectos maternos y fetales de los estrógenos durante la gestación. Información obtenida de Tresguerres, 2005 y Kaludjerovic y Ward, 2012.

La producción estrogénica se da mayoritariamente en la unidad feto-placentaria, siendo el hígado fetal imprescindible para ello (Figura 6). La placenta carece de actividad 17-hidroxilasa, por lo que es incapaz de formar E<sub>1</sub> y E<sub>2</sub> a partir de P<sub>4</sub>. Por ello, la producción de estrógenos depende de esteroides C-19 como la DHEA-S materna y fetal, sintetizada en la corteza adrenal. El buen desarrollo y funcionamiento de la glándula adrenal fetal es imprescindible para la síntesis de estrógenos en la placenta (Kaludjerovic y Ward, 2012; Hernández García, 2015).

El feto produce DHEA-S en la glándula adrenal que, gracias a la enzima CYP3A7 es hidroxilado en posición 16, en el hígado fetal a 16OH-DHEA en el hígado fetal (O'Shaughnessy *et al.*, 2013). Posteriormente, en la placenta, gracias a la acción de la sulfatasa (3 $\beta$ HSD1) se convierte en DHEA no conjugada, que tras pasar a androstenediona (A<sub>4</sub>) y testosterona (T), se transforma en E<sub>1</sub> y E<sub>2</sub> por acción de la aromatasa (HSD17 $\beta$ 1) (Hernández García, 2015; Costa, 2016; Pasqualini y Chetrite, 2016). Algo similar ocurre para la síntesis del E<sub>3</sub>, aunque en este caso el precursor: DHEA-S proviene, exclusivamente, de la adrenal fetal (Pasqualini, 2005; Falah *et al.*, 2015; Hernández García, 2015).

Por su parte, la hCG también favorece la síntesis adrenal fetal de DHEA y DHEA-S. Al final de la gestación, el 60% de DHEA-S usado por la placenta para la síntesis de E<sub>1</sub> y E<sub>2</sub> proviene de la corteza adrenal fetal, mientras que el 40% restante deriva de la corteza adrenal materna (Tresguerres, 2005).

**a.1) Estriol (E<sub>3</sub>).**

El E<sub>3</sub> es el estrógeno dominante durante la gestación (Falah *et al.*, 2015), alcanzando casi el 90% de la producción de estrógenos placentarios (Hernández García, 2015).

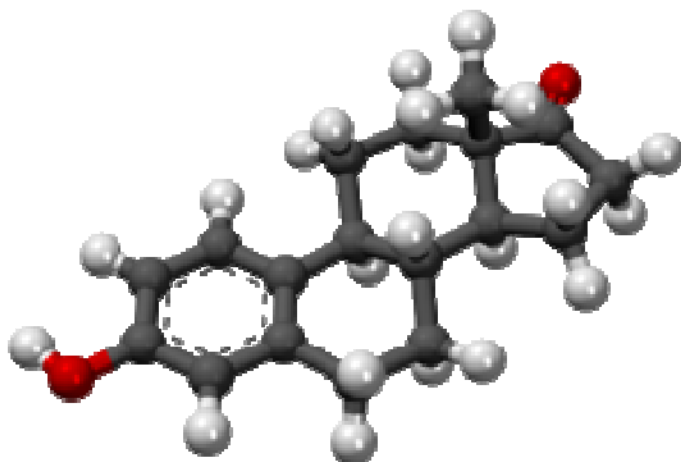
Es un estrógeno de acción rápida, que tiene mayor afinidad que E<sub>1</sub> y E<sub>2</sub> por los receptores estrogénicos  $\alpha$  y  $\beta$ , promoviendo, así, la proliferación de las células superficiales del epitelio vaginal (Tzingounis *et al.*, 1978).

Más del 90% del E<sub>3</sub> formado en el sincitiotrofoblasto placentario pasa a la circulación materna y es eliminado a través de la orina (Thomas y Potter, 2013). Además, Wingeier y colaboradores en 2017, han revelado que es posible detectar bajas concentraciones de E<sub>3</sub> en saliva desde la semana 6 de gestación (Wingeier *et al.*, 2017). Por ello, algunos autores postulan que las concentraciones de E<sub>3</sub> podrían utilizarse como potencial marcador de predicción del parto (Hee, 2011). Estudios recientes han demostrado que la concentración media de E<sub>3</sub> en orina aumenta gradualmente desde la semana 12 de gestación (Falah *et al.*, 2015), incrementando de manera exponencial entre 2 y 4 semanas previas al inicio del parto (Hampson *et al.*, 2013).

El E<sub>3</sub> influye en la relajación de la musculatura lisa de las arteriolas, ya que estimula la síntesis de prostaglandinas A y E, aumentando así el flujo sanguíneo uterino y la vascularización placentaria (Gitsch *et al.*, 1980; Hernández García, 2015).

Por otro lado, el E<sub>3</sub> es una hormona indicadora de posible sufrimiento fetal, y se emplea como indicador del estado de la unidad feto-placentaria, ya que su producción depende de la capacidad de síntesis de la placenta y del feto conjuntamente (Tresguerres, 2005). Además, desde 1960, el E<sub>3</sub> ha sido utilizado como marcador bioquímico prenatal como prueba de bienestar intrauterino, ayudando al diagnóstico de múltiples anomalías congénitas (Falah *et al.*, 2015). El E<sub>3</sub> no conjugado tiene bajo valor predictivo de manera individual, sin embargo, su inclusión en la prueba de síndrome de Down basada en la edad materna y la AFP mejora el valor predictivo de la misma (Wald *et al.*, 1988). Los niveles de E<sub>3</sub> no conjugado son anormalmente bajos para la trisomía del cromosoma 21 (Síndrome de Down) y trisomía del cromosoma 18 (Síndrome de Edwards) (Wapner *et al.*, 2003). Además, se analiza como marcador de riesgo en la prueba de detección triple y cuádruple; parte del cribado neonatal (Malone *et al.*, 2005). Estos test deben realizarse al inicio del segundo trimestre de gestación para el diagnóstico precoz de aneuploidías y otro tipo de anomalías fetales como defectos en la formación del tubo neural. Por otro lado, valores disminuidos de E<sub>3</sub> en el segundo trimestre, se han correlacionado con muerte intrauterina (Huang *et al.*, 2005) y crecimiento intrauterino retardado (Kim *et al.*, 2000).

## a.2) Sulfato de estrona.



El sulfato de estrona ( $\text{SO}_4 \text{E}_1$ ), es sintetizado por la madre en los ovarios y por la placenta a partir de DHEA-S (fetal y materna) actuando como reserva para la formación periférica de formas estrogénicas bioactivas (Escobar *et al.*, 2011).

La hidrólisis del  $\text{SO}_4 \text{E}_1$  es llevada a cabo por la sulfatasa (STS) (Geyer *et al.*, 2017). Existe un mecanismo de control que regula la expresión de STS intracelular en órganos como la placenta (Schuler *et al.*, 2008), glándula mamaria (Janowski *et al.*, 2002) y ovario (Hoffman *et al.*, 1996) y así se regula la disponibilidad de esteroides activos (Geyer *et al.*, 2017).

En experimentos realizados sobre el amnion y corion placentarios se ha observado que sus células tienen capacidad de hidrolizar el  $\text{SO}_4 \text{E}_1$  a su forma libre  $\text{E}_1$ . La biodisponibilidad de  $\text{E}_1$  contribuye a la regulación del ambiente embriotrófico uterino (Gibson *et al.*, 2018) e influye en la contractilidad miometrial (Mitchell *et al.*, 1984). Aparte de servir como reservorio estrogénico,

parece existir una relación entre esteroides sulfatados y la transformación del estroma endometrial, necesaria para la implantación embrionaria y el desarrollo placentario (Gibson *et al.*, 2018).

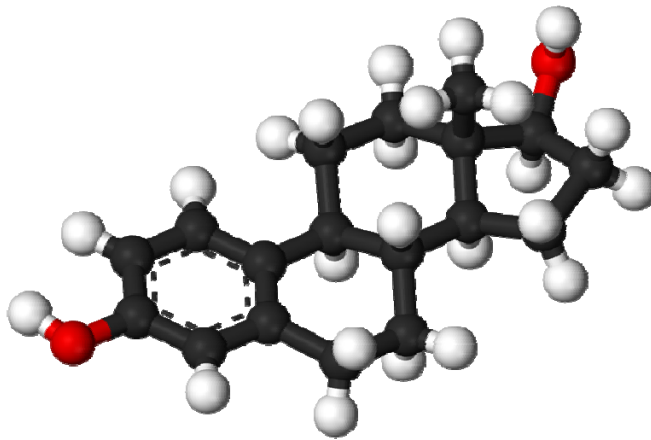
El grupo de investigación “Esteroides sulfatados en reproducción” de la Sociedad Alemana de Investigación (DFG), expone que otra de las funciones de los esteroides sulfatados es evitar la unión de esteroides libre a sus receptores y proteger al feto del exceso de estos, aunque su síntesis e importancia biológica sigue siendo incierta (Geyer *et al.*, 2017).

También, la  $A_4$  puede ser convertida por la aromatasas en  $E_1$ ; o convertida en T gracias a la enzima 17 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 $\beta$ HSD). La  $E_1$  y la T pueden ser convertidas a  $E_2$  gracias a la aromatasas y 17 $\beta$ HSD, respectivamente (Kaludjerovic y Ward, 2012).

En animales, como en vacas, caballos y cerdos, se usa como indicador de viabilidad de la gestación y posible predictor del parto. El análisis del  $SO_4E_1$  se utiliza, generalmente, para diagnosticar la viabilidad de gestaciones porcinas (Ohtaki *et al.*, 1999) y diagnóstico de anomalías en el crecimiento fetal del ganado vacuno (Kornmatitsuk *et al.*, 2004). Además, su medición en saliva y orina en yeguas es útil para estimar la supervivencia fetal (Kasman *et al.*, 1988). Kornmatitsuk y colaboradores en 2004, sugieren el uso cambiado de por del  $SO_4E_1$  para el control de bienestar fetal en animales con elevado riesgo de muerte fetal a término (Kornmatitsuk *et al.*, 2004).

Raeside, en 2017 describe que la unidad feto-placentaria en mujeres y yeguas presenta grandes similitudes, ya que ambas son capaces de producir grandes cantidades de estrógenos. Esta semejanza nos ha llevado a pensar que el  $SO_4 E_1$  tiene un papel en la gestación más importante del descrito hasta ahora (Geyer *et al.*, 2017).

### b) Progesterona.



El cuerpo lúteo segrega  $P_4$  hasta la 8ª semana de gestación. A partir de ese momento, es la placenta la encargada de su producción (Malassine *et al.*, 2003).

La producción placentaria de  $P_4$  requiere dos pasos: el primero es la conversión del colesterol a  $P_5$  por la enzima CYP11A1 en la mitocondria de las células del trofoblasto. Debido a la incapacidad de la placenta para formar colesterol, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) circulantes se unen a la membrana de las células trofoblásticas donde se produce su lipólisis dando lugar a aminoácidos, ácidos grasos y colesterol (Kaludjerovic y Ward, 2012; Chatuphonprasert *et al.*, 2018). El segundo paso es la conversión de  $P_5$  a  $P_4$

gracias a la enzima 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 $\beta$ HSD) situada en la membrana mitocondrial (Morel *et al.*, 2016).

La P<sub>4</sub>, aparte de actuar como intermediario para la síntesis de otras hormonas esteroideas, ejerce funciones indispensables para el desarrollo de la gestación, como el mantenimiento de la implantación placentaria y la preparación de las glándulas mamarias para la lactancia (Tabla 3). Se ha demostrado que la P<sub>4</sub> favorece la secreción de citocinas Th2 por los linfocitos T, ejerciendo efectos inmunosupresores durante la gestación, regulando el sistema inmune materno, e inhibiendo la respuesta inmune materna a los antígenos fetales. (Barrera *et al.*, 2007).

Por otro lado, inhibe la contractilidad del miometrio, y está relacionada con la relajación de la musculatura uterina, disminuyendo la producción de prostaglandinas (PG), y la expresión génica de las proteínas asociadas a la contracción (PAC) del miometrio (Pařízek *et al.*, 2014).

También ejerce un efecto inhibitor sobre las citoquinas pro-inflamatorias como la interleucina 1B (IL-1B) e interleucina 8 (IL-8) de la barrera materno-fetal (Shields *et al.*, 2005). Además, tiene efecto sobre la regulación de la invasividad del trofoblasto y, por lo tanto, en la remodelación vascular (Chen *et al.*, 2011).

La P<sub>4</sub> mantiene el útero quiescente durante la gestación, y a diferencia de otras especies, no existe una disminución de los niveles de P<sub>4</sub> antes del parto (Pieber *et al.*, 2001).

Existen dos isoformas del receptor de P<sub>4</sub> (RP): RP-A y RP-B. El RP-B acentúa el efecto anti-inflamatorio de P<sub>4</sub>, mientras que el RP-A inhibe la expresión de RP-B. Cerca del momento del parto se produce un aumento en la expresión de RP-A frente a RP-B, aumentando la afinidad de P<sub>4</sub> a RP-A y dando lugar a un ambiente más inflamatorio (Pieber *et al.*, 2001; Vrachnis *et al.*, 2012).

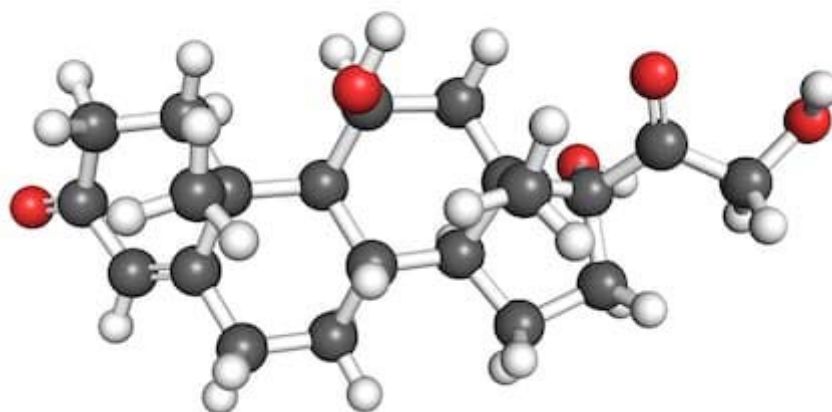
#### **Funciones de la progesterona durante la gestación:**

- Mantenimiento de la implantación de la placenta.
- Autorregulación de sus receptores.
- Disminuye la secreción hepática de lipoproteínas.
- Acciones tisulares:
  - Estimula la lipólisis.
  - Estimula la eliminación renal de sodio.
  - Estimula el metabolismo del nitrógeno.
  - Relaja la musculatura lisa vascular y visceral.
  - Estimula el centro respiratorio, el centro del apetito y la respuesta inmune.

Tabla 3. Funciones de P<sub>4</sub> durante la gestación. Información obtenida de Tresguerres, 2005.

## 4. Eje hipófisis-hipotálamo-adrenal.

### 4.1 Cortisol



El eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA) es una parte esencial del sistema neuroendocrino. Tiene un papel importante en la regulación de la homeostasis y en la respuesta al estrés (Fowden y Forehead, 2009b). También modula las funciones cardiovasculares, reproductivas, metabólicas y neurológicas (Groeneweg *et al.*, 2011).

Estas acciones son debidas al conjunto de interacciones de retrofuncionalidad hormonales producidas en el hipotálamo, hipófisis y glándula adrenal (Jara Albarrán, 2012).

En adultos, estímulos estresores como enfermedades o infecciones, estimulan la liberación de hormona liberadora de corticotropina (CRH) por parte del hipotálamo (Derrickson y Tortora, 2015; Stewart y Newell-Price, 2017). A su vez, la CRH y la arginina-vasopresina constituyen el principal estímulo para la secreción, por parte de la hipófisis anterior, de hormona adrenocorticotropa

(ACTH), que presenta un ritmo de liberación circadiano. Esta hormona estimula el aumento de receptores de LDL y HDL para aumentar la captación de colesterol por las glándulas adrenales e inducir así la síntesis de glucocorticoides (GC) (Jara Albarrán, 2012) que, a su vez, ejerce una retrofuncionalidad negativa sobre la liberación de CRH y ACTH. (Jara Albarrán, 2012; Stewart y Newell-Price, 2017; Chatuphonprasert *et al.*, 2018; McGowan y Mathews, 2018) (Figura 7).

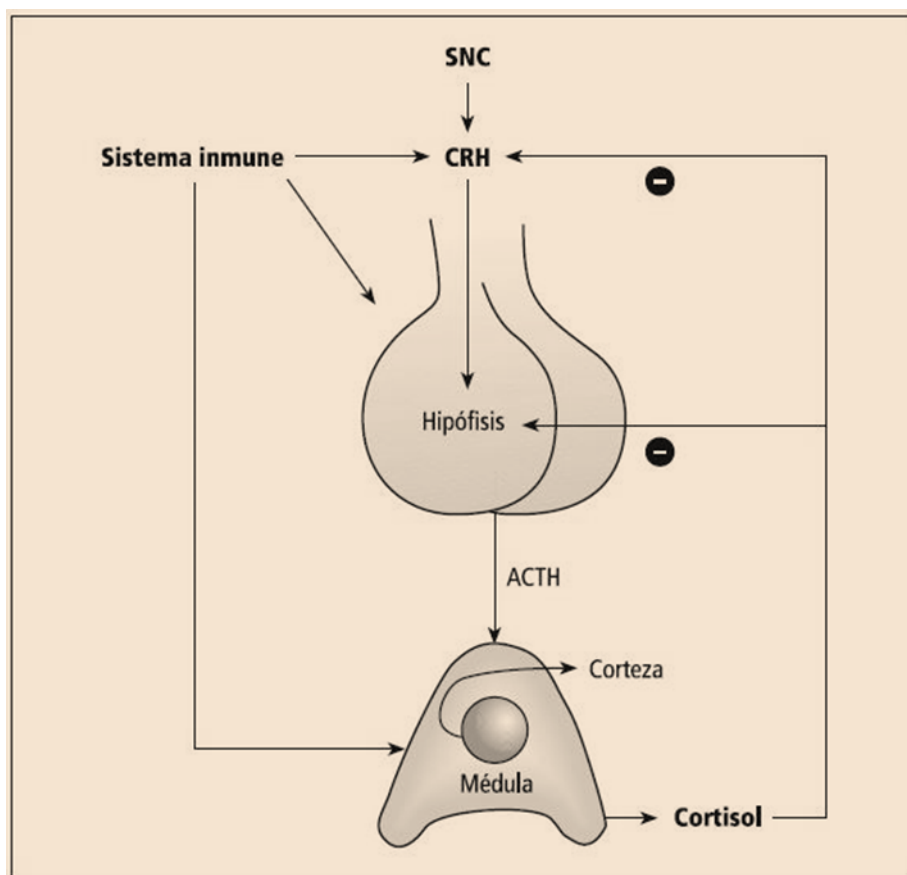


Figura 7. Control de la secreción de glucocorticoides a través del HHA. ACTH: hormona adenocorticotropa, CRH: hormona liberadora de corticotropina; SNC: Sistema nervioso central. Imagen tomada de Jara Albarrán, 2012.

El desarrollo embrionario del hipotálamo comienza a formarse en las paredes del diencefalo a partir de la quinta semana de gestación. El desarrollo de la hipófisis proviene de dos orígenes, a partir de la tercera semana, aparece una evaginación del ectodermo oral que va a dar lugar al divertículo hipofisario

(bolsa de Rathke). El segundo origen es un crecimiento del diencéfalo, dando lugar al divertículo neurohipofisario. Estas dos partes, en torno a la 8ª semana, crecen la una hacia la otra y el divertículo hipofisario se aísla de su origen ectodérmico y se conecta al hipotálamo por el infundíbulo (Webster y Wreeede, 2015) (Figura 8).

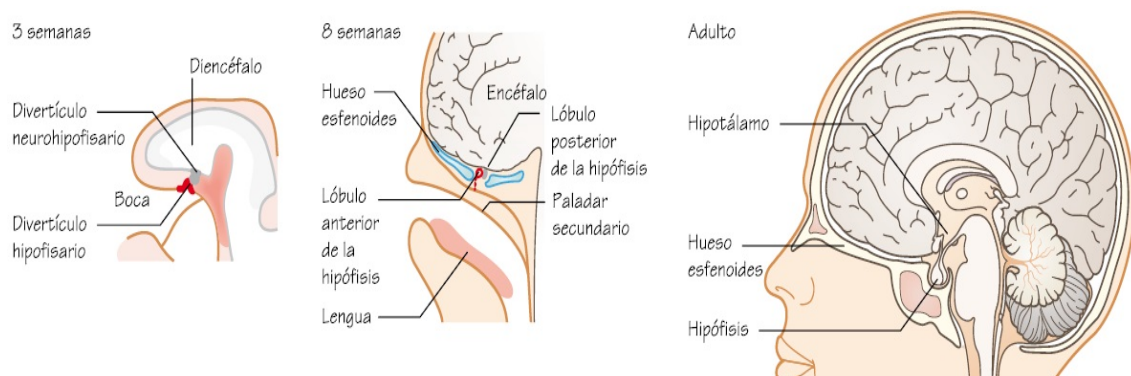


Figura 8. Desarrollo del hipotálamo y la hipófisis. Imagen obtenida de Webster y Wreeede, 2015.

Por otro lado, la corteza y la médula de las glándulas adrenales tienen orígenes embrionarios distintos (Figura 9). La corteza adrenal se forma en la sexta semana de gestación a partir del mesodermo, mientras que la médula se forma de las células de la cresta neural (Arteaga Martínez y García Peláez, 2014; Webster y Wreeede, 2015; Moore *et al.*, 2016).

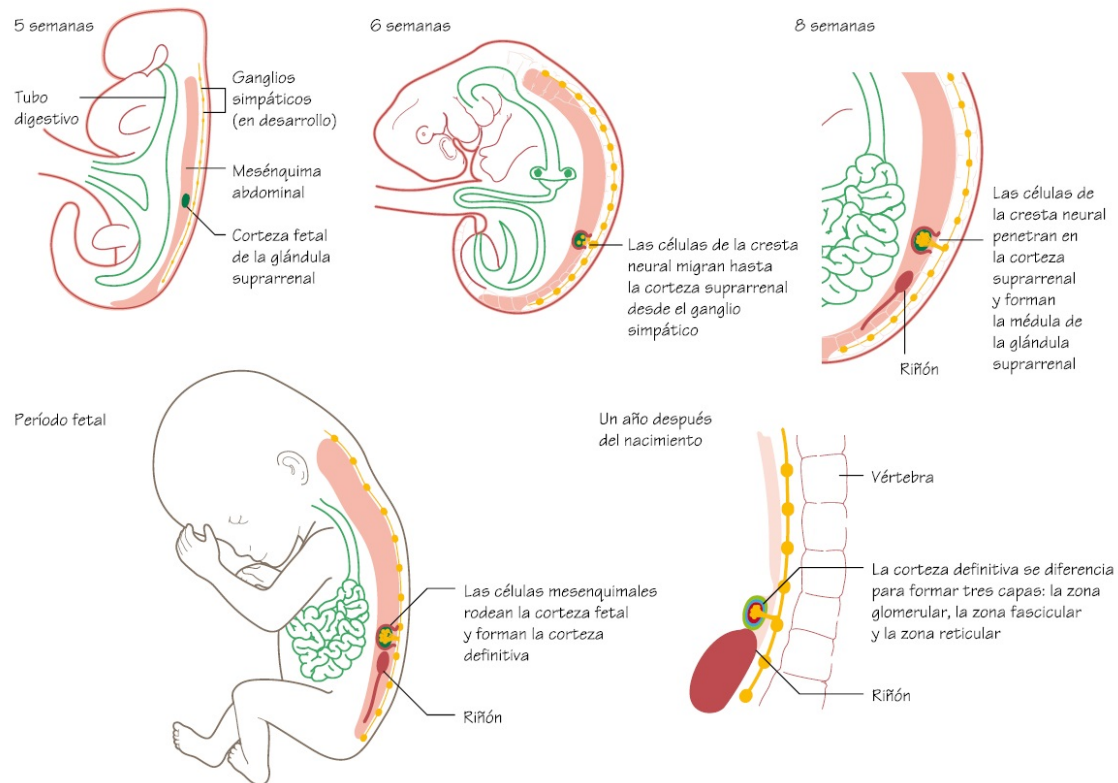


Figura 9. Desarrollo de las glándulas adrenales. Imagen obtenida de Webster y Wreeede, 2015.

Es complejo definir el momento exacto de la gestación en el que la corteza adrenal fetal comienza a funcionar, ni tampoco el mecanismo por el cual inicia su funcionamiento. Kaludjerovic y Ward (2012), explican que la esteroidogénesis adrenocortical comienza alrededor de la octava semana de gestación. Por otro lado, Goto y colaboradores (2006), afirman que las enzimas esteroidogénicas son detectables con técnicas de inmunocitoquímica entre los días 50 y 52 p.c. (alrededor de la novena semana de gestación).

Por otro lado, se ha detectado mRNA para receptores de glucocorticoides (RCG) en el metanefros embrionario, intestino, músculo,

médula espinal, cuerdas testiculares y la glándula adrenal del feto, alrededor de las semanas 8<sup>a</sup>-10<sup>a</sup> de gestación (Costa *et al.*, 1996; Condon *et al.*, 1998), además de en los pulmones fetales, alrededor de la 12<sup>a</sup> semana de gestación. Por ello, algunos autores exponen que la glándula adrenal fetal funciona a partir de la 8<sup>a</sup> semana de gestación (Johnston *et al.*, 2018).

La corteza adrenal fetal está dividida en zona fetal, zona transicional y zona definitiva (Figura 10). La zona fetal segrega DHEA y DHEA-S, que serán convertidas a estrógenos por parte de la placenta, mientras que en la zona definitiva se sintetizan GC (Morsi *et al.*, 2018; Galanous *et al.*, 2019).

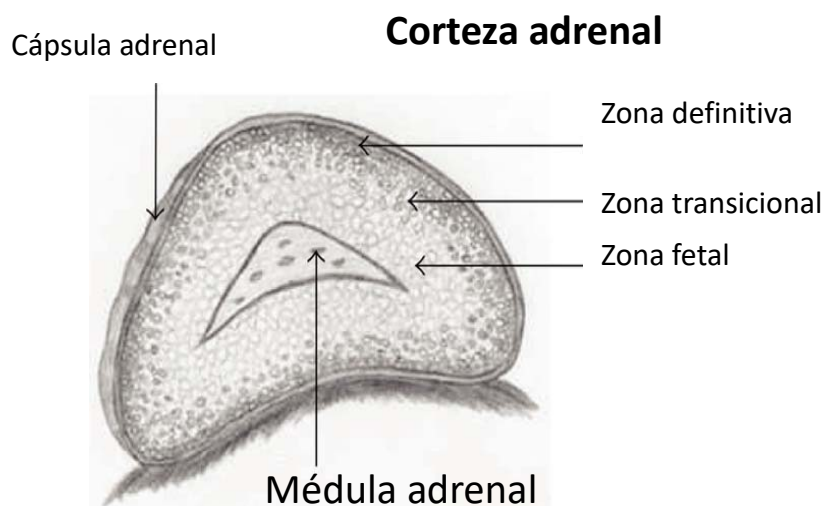


Figura 10. Imagen de la glándula adrenal fetal en la mitad de la gestación. Imagen tomada de Kaludjerovic y Ward, 2012.

Dentro de los diferentes esteroides sintetizados por las glándulas adrenales, destacan la familia de los GC, los cuales están implicados en diferentes funciones como la respuesta inmune e inflamatoria, homeostasis, función metabólica, cognitiva y reproductora (Tabla 4). Además, los GC son

synthesized in response to situations of stress, illness or infections (Derrickson and Tortora, 2015).

<b>Importancia biológica de los glucocorticoides.</b>	
<b>1. Metabolismo de hidratos de carbono:</b>	
✓	Estimulan la formación de glucógeno hepático.
✓	Estimulan la gluconeogénesis a partir de proteínas.
<b>2. Metabolismo lipídico:</b>	
✓	Estimulan la redistribución de tejido adiposo favoreciendo la arterioesclerosis.
<b>3. Acción sobre sistema hematopoyético:</b>	
✓	Aumentan la eritropoyesis, reticulocitosis, síntesis de plaquetas y neutrófilos.
<b>4. Acción sobre sistema inmune:</b>	
✓	Disminuyen las reacciones alérgicas, la producción de anticuerpos y la resistencia a infecciones.
<b>5. Acción sobre SNC:</b>	
✓	Producen hiperexcitabilidad y euforia.

Tabla 4. Acciones de los glucocorticoides sobre el organismo (Jara Albarrán, 2012).

During fetal development, GCs play an essential role in the future adaptation to life outside the uterus. At the cellular level, they exert changes in the expression of growth factors, cytoskeleton, transport proteins and factors of coagulation, among others (Fowden *et al.*, 1998; Jansson and Powell, 2007).

Moreover, they influence cell growth and differentiation in the physiological processes involved in preparation for birth (Fowden and Forhead,

2009). Su efecto gluconeogénico activa la producción endógena de glucosa fetal y estimulan la acumulación de glucógeno en el hígado y músculo fetal (Fowden *et al.*, 1998).

Pueden alterar la acción enzimática placentaria implicada en la síntesis e inactivación de esteroides, eicosanoides y hormonas tiroideas. Dependiendo de la edad gestacional, dichas acciones pueden resultar beneficiosas para el mantenimiento de la gestación (protegiendo al feto de la exposición temprana a exceso de nutrientes y hormonas maternas) y, al mismo tiempo, tienen efectos perjudiciales sobre la programación celular y de tejidos, alterando, por ejemplo, la actividad placentaria de la enzima  $11\beta$ -HSD2, involucrada en la conversión del cortisol en cortisona (Fowden y Forhead, 2009).

El principal GC producido por la glándula adrenal es el cortisol (C), cuya producción diaria alcanza hasta 20 mg/día en adultos (Jara Albarrán, 2012).

Es el GC más abundante y relevante durante la gestación. En los dos primeros trimestres de gestación, los niveles de C permanecen bajos, promoviendo la proliferación celular (Cabero Roura *et al.*, 2012b). Esta acción es llevada a cabo por diferentes factores de crecimiento locales como PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), EGF (factor de crecimiento epitelial), FGF (factor de crecimiento de fibroblastos) e IGF-I (factor de crecimiento insulínico tipo-I); estos factores estimulan la división celular promoviendo el paso de las fases G0 a G1 y de G1 a S del ciclo celular (Cabero Roura *et al.*, 2012b).

Existe mucha controversia acerca del momento de la gestación en el que el feto empieza a producir C de manera autónoma. Gitau y colaboradores (2001), postulan que la liberación de C fetal da comienzo en la semana 20 de gestación. Por otro lado, en el estudio de Narasaka y colaboradores (2001), se afirma que la corteza adrenal comienza a sintetizar C *de novo* en la zona definitiva en la semana 23 de gestación. El hígado fetal también tiene la capacidad de sintetizar córticoesteroides, aunque en menor medida (Malassine *et al.*, 2003; Costa, 2016; Pasqualini y Chetrite, 2016).

Existe un aumento de C libre de 2 a 4 veces a lo largo de la gestación, exponiendo al feto a grandes concentraciones de GC (Lindsay y Nieman, 2005). A medida que la gestación avanza, los niveles de C aumentan, bloqueando la expresión de los genes necesarios para el paso de G0 a G1 y S, lo que da lugar a un enlentecimiento de la proliferación celular, e induce la activación de las funciones de importantes tejidos fetales como: hígado, pulmones, intestinos, tejido adiposo y la musculatura esquelética (Fowden *et al.*, 1998). Además, altos niveles de C inducen cambios morfológicos y funcionales en estos tejidos (Cabero Roura, L., 2012).

La placenta es permeable al C, el cual es convertido a su forma inactiva, cortisona gracias a la enzima 11 $\beta$ -HSD (Cabero Roura, L., 2012). Existen dos isoformas de 11 $\beta$ -HSD, tipo 1 y tipo 2, donde la isoforma tipo 2 es muy relevante en la protección fetal frente al exceso de C materno (Kapoor *et al.*, 2006). Al final de la gestación, existe una disminución de la síntesis de 11 $\beta$ -

HSD2, coincidiendo con la elevación fisiológica de C (Sandman *et al.* 2006, Li *et al.* 2014).

Pequeñas variaciones en los niveles de C materno pueden producir un cambio significativo en las concentraciones de C fetales (Gitau *et al.* 1998). En mujeres con altos niveles de ansiedad durante la gestación, se ha observado que la síntesis de  $11\beta$ -HSD2 se ve disminuida, y el C producido atraviesa la barrera placentaria exponiendo al feto a mayores niveles de C (O'Donnell *et al.*, 2012). Por ello, las variaciones de C materno tienen grandes repercusiones en el feto (Kane *et al.*, 2014).

Reissland y Wandinger, 1999, aseveran que el C es un factor que influye en la producción de IFN- $\alpha$  en la sangre del cordón umbilical. Además, proponen que el aumento de concentraciones de C en sangre del cordón umbilical podría ser considerado como factor de interacción con el sistema inmune y endocrino.

Diversos estudios han determinado que, en las madres, altos niveles de C están relacionados con una mayor atracción y sensibilidad al olor de su recién nacido (Fleming *et al.*, 1997). De la misma manera, en el periodo postparto, elevados niveles de C materno agudizan la atención y respuesta de la madre a las necesidades del recién nacido (Stallings *et al.*, 2001).

## 5. Hormonas esteroides y parto.

El proceso de parto implica una compleja interacción de mecanismos biomoleculares, inmunológicos y endocrinos, modulados por la etiología, etnia y edad gestacional (Keelan, 2018).

El parto involucra la intrincada relación entre madre, feto y placenta. Conlleva una serie de mecanismos fisiológicos tales como: distensión uterina, maduración pulmonar y adrenal fetal, producción hormonal placentaria, así como la síntesis de mediadores inflamatorios placentarios (Cabero Roura, L., 2012).

Es una perfecta coordinación de eventos que incluyen: el progresivo borrado y dilatación del cérvix; ruptura de las membranas del saco amniótico; e inicio y mantenimiento de contracciones uterinas efectivas. Todo ello, culmina en la expulsión del feto y la placenta desde la cavidad uterina (Cunningham *et al.*, 2015).

El aumento de niveles de C placentario está relacionado con la inducción en la síntesis de estrógenos previa al inicio del parto (Li *et al.*, 2014). A nivel celular durante la gestación, el C se une a los RCG los cuales se encuentran situados en el sincitiotrofobalsto y citiotrofoblasto placentarios. Wang y colaboradores (2014), han demostrado que los GC incrementan la expresión y síntesis de CRH y hCG por el sincitiotrofoblasto placentario y contribuyen a la

expresión de la aromatasa en la placenta, necesaria para la síntesis de estrógenos (Figura 11).

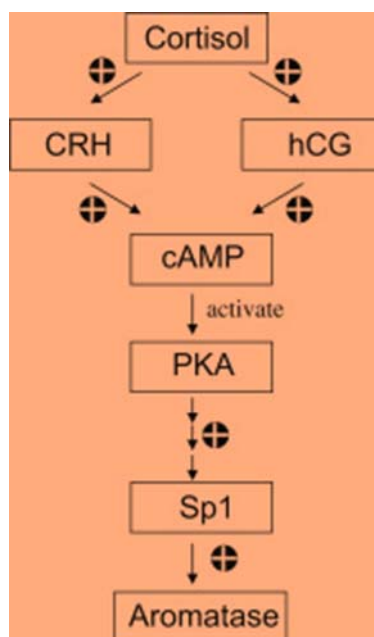


Figura 11. Esquema de la regulación de la expresión de la aromatasa. El C induce la expresión y producción de CRH y hCG, las cuales incrementan el adenosis monofostafo (AMP) intracelular y activan la PKA (proteína quinasa- A). La pKA promueve la expresión de Sp1 (factor de transcripción 1) que induce la expresión y síntesis de la aromatasa en la placenta. Imagen tomada de Wang *et al.*, 2014.

Al final del embarazo los estrógenos producen cambios madurativos en los órganos de la madre interviniendo en el desarrollo de los mecanismos del parto (Morel *et al.*, 2016).

Entre las diferentes funciones de la CRH placentaria destacan: la inducción de la expresión del transportador de glucosa (Gao *et al.*, 2012); la estimulación de la producción de E<sub>2</sub> mediante la expresión de las enzimas CYP19A1 y 17β-HSD1 en el trofoblasto (Yang *et al.*, 2006); y su influencia en el metabolismo de ACTH y PG (Gao *et al.*, 2012). Existen varios neurohormonas, como norepinefrina o vasopresina, que resultan esenciales en la respuesta

neuroendocrina frente al estrés, puesto que son capaces de activar la síntesis de CRH placentaria (Hobel *et al.*, 1999).

Estudios *in vitro* han observado que la CRH placentaria estimula la producción de DHEA-S en la glándula adrenal fetal (Smith *et al.*, 1998), sirviendo de precursor para la síntesis de E<sub>3</sub> placentario. El incremento de E<sub>3</sub> a lo largo de la gestación estimula la expresión de los genes conexina 43 (CX43) asociados al parto y de los receptores de OT, necesarios para que las contracciones uterinas se den de forma coordinada (Melamed, 1997).

Por otro lado, la CRH placentaria interactúa de forma compleja con P<sub>4</sub>. La P<sub>4</sub> inhibe la CRH placentaria y atenúa sus efectos (Karalis *et al.*, 1996; Vrachnis *et al.*, 2012b). La P<sub>4</sub> también compite con el C para unirse a los mismos RCG (Majzoub y Karalis 1999). El efecto de P<sub>4</sub> sobre la actividad de CRH depende de la edad gestacional y del ratio de los diferentes PR (Micks *et al.*, 2015).

A medida que avanza la gestación, la CRH inhibe la producción de P<sub>4</sub> bloqueando las enzimas CYP11A1 y 3 $\beta$ -HSD1 (Yang *et al.*, 2006). La disminución de la síntesis de P<sub>4</sub> da lugar al comienzo de contracciones uterinas que darán lugar al parto al final de la gestación (Haluska *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 2006).

La CRH placentaria puede aumentar la producción de E<sub>3</sub> y reducir la síntesis de P<sub>4</sub> (Yang *et al.*, 2006) La inhibición de P<sub>4</sub>, el aumento del volumen y

estrechamiento intrauterino, y el incremento de síntesis de  $E_3$ , generan un ambiente proclive para el inicio del parto (Roger *et al.*, 2009). Por lo tanto, la CRH tiene un papel fundamental en el comienzo del parto mediante la regulación de los niveles de estrógenos y  $P_4$ , ya que estos controlan los mecanismos de contractilidad uterina (Majzoub y Karalis 1999; Thomson, 2013).

Resulta importante destacar la acción de la CRH sobre la producción de citoquinas IL-1B y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que tienen una acción inhibitoria sobre la enzima placentaria 11 $\beta$ HSD-2, encargada de metabolizar el C en cortisona, protegiendo al feto de la acción del primero. Estas citoquinas también aumentan la producción placentaria de PG (Mendelson ,2009).

Existe controversia entre considerar el parto un proceso inflamatorio o un proceso hormonal, aunque todo indica que es una interrelación de ambos (Golightly *et al.*, 2011) (Figura 12).

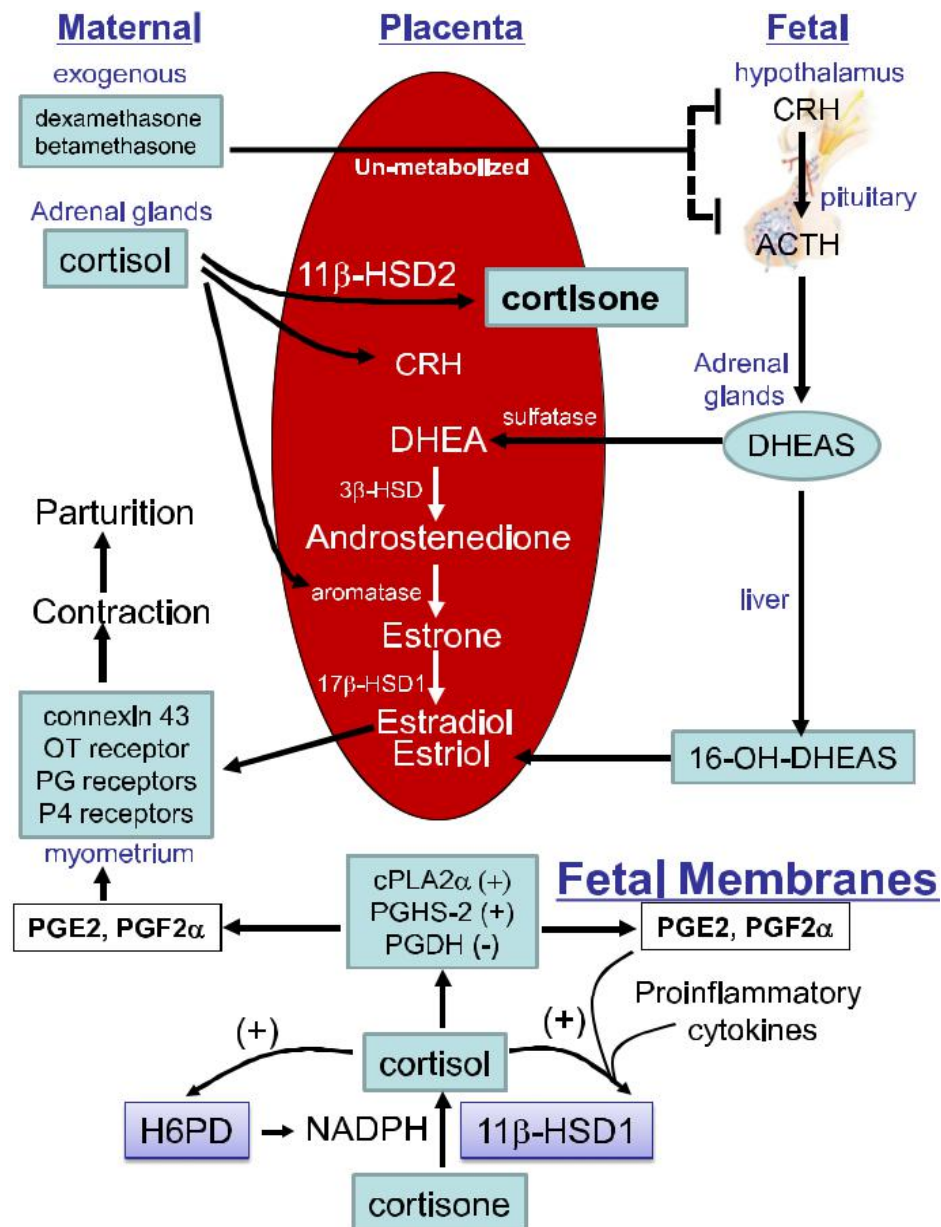


Figura 12. Esquema de las diferentes acciones de los GC y estrógenos en el proceso de preparación al parto. Los GC actúan sobre la síntesis de aromatasa, PGE<sub>2</sub> (Prostaglandina E<sub>2</sub>), PGF<sub>2α</sub> (Prostaglandina F<sub>2α</sub>) y CRH, y atenúan la acción catabólica de la PGDH (hidroxiprostaglandina deshidrogenasa) sobre las PGE<sub>2</sub>, participando así en la preparación del miometrio y en el metabolismo y síntesis de receptores uterotónicos. Los estrógenos presentan una acción directa sobre la síntesis de receptores de prostaglandina (PG), receptores de prostaglandina (P<sub>4</sub>), y conexina-43. Imagen tomada de Li *et al.*, 2014.

Los estrógenos provocan una serie de cambios a nivel endometrial: incrementan la expresión de los receptores de OT así como de los agonistas α-adrenérgicos que modulan los canales de calcio en la membrana celular, facilitando la contracción uterina (Jackson y Dudley, 1998; Kota *et al.*, 2013;

Kalagiri *et al.*, 2016). Además, estimulan la síntesis de proteínas de enlace gap en el miometrio (Petrocelli y Lye, 1993) y activan la enzima responsable de la contracción muscular (Lye *et al.*, 1993; Bale, 1997).

También aumentan la producción de prostaglandinas E2 (PGE2) y prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) así como la expresión de sus receptores (Fuchs y Fuchs, 1993). Las PGE2 Y PGF2 $\alpha$ , al igual que los estrógenos, ejercen una acción uterotónica en el parto (Keelan, 2018), modulando la activación de las proteínas uterinas, y estimulando la expresión de las CX-43, receptores de OT, síntesis de prostaglandina-endoperóxido sintasa 2 (PTGS2) (Xu *et al.*, 2015) y actuando como ligando para la activación de los canales iónicos del miometrio (Smith, 2007).

Por otro lado, Friebe-Hoffman y colaboradores (2001), analizando el parto como un proceso inflamatorio, sugieren que IL-1 $\beta$  e IL-6 inducen la secreción uterina de OT necesaria para el inicio y mantenimiento de las contracciones uterinas durante el parto (Friebe-Hoffman *et al.*, 2001; Golightly *et al.*, 2011, Kalagiri *et al.*, 2016). También las IL-1 $\beta$  tienen una acción indirecta sobre el parto, aumentando la síntesis de PG (Osman *et al.*, 2003).

A medida que avanza la gestación, aumenta la concentración de PG, metaloproteasas (encargadas de descomponer el colágeno intercelular) y otros mediadores inflamatorios (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, PGE2 y TNF- $\alpha$ ) detectables en el líquido amniótico (Keelan *et al.*, 2003; Vranichis *et al.*, 2012). La leucocitosis del cérvix al final de la gestación, responde a un aumento de estrógenos, dando

lugar a la síntesis de metaloproteasas y colagenasas que derivan en el borrado y dilatación del cuello uterino (Keelan, 2018).

Las hormonas y sus acciones se relacionan mediante un bucle de retrofuncionalidad positiva. El incremento de PGE2 y citoquinas inflamatorias estimula la producción de CRH placentaria (Keelan, 2018), responsable del inicio del parto y del estado de hipercortisolemia fisiológica que aparece a partir del segundo trimestre de gestación (Kalantaridou, *et al.*, 2004).

Aparte del incremento de los niveles de C, la CRH placentaria estimula la expresión de proteínas asociadas a la contracción (CAP) del miometrio (Wu *et al.*, 2007), además de producir una vasodilatación en los vasos maternos y fetales de la placenta, debido a la activación de la óxido nítrico-sintasa (NOS) capaz de sintetizar óxido nítrico (NO) involucrado en el control del tono vascular (Ledingham *et al.*, 2000).

El NO tiene su efecto en el borrado del cuello uterino, ya que induce la síntesis de la encima ciclooxigenasa-2 (COX-2) fundamental para la síntesis de PG (Chawlisz y Garfield, 1998; Ledingham *et al.*, 2000). Además, aumenta la producción de PGE2 y PGF2 $\alpha$  en la decidua materna y las membranas fetales, estimulando la contracción de la musculatura lisa uterina (Grammatopoulos y Hillhouse, 1999).

El C actúa en conjunto con el NO suprimiendo la acción de la enzima 15-hidroxi prostaglandina-deshidrogenasa (15-PGDH), responsable de la

inactivación biológica de PGE<sub>2</sub>, dando lugar a una mayor exposición miometrial a PG del líquido amniótico (Vrachnis, 2012). Además, el NO, inhibe la unión de P<sub>4</sub> a sus receptores promoviendo la respuesta inflamatoria y el comienzo del parto (Madsen *et al.*, 2004, Karalis *et al.*, 1996).

El aumento de la síntesis de C, mantenida gracias al incremento de CRH a lo largo de la gestación, contribuye a la producción de proteínas de surfactante, encargadas de la maduración pulmonar, así como a la producción de fosfolípidos. Estos compuestos, presentes en el líquido amniótico, tienen capacidad inflamatoria y estimulan la producción de PG y el inicio de la reacción inflamatoria del saco amniótico (Smith, 2007; Vrachnis *et al.*, 2012b) (Figura 13).

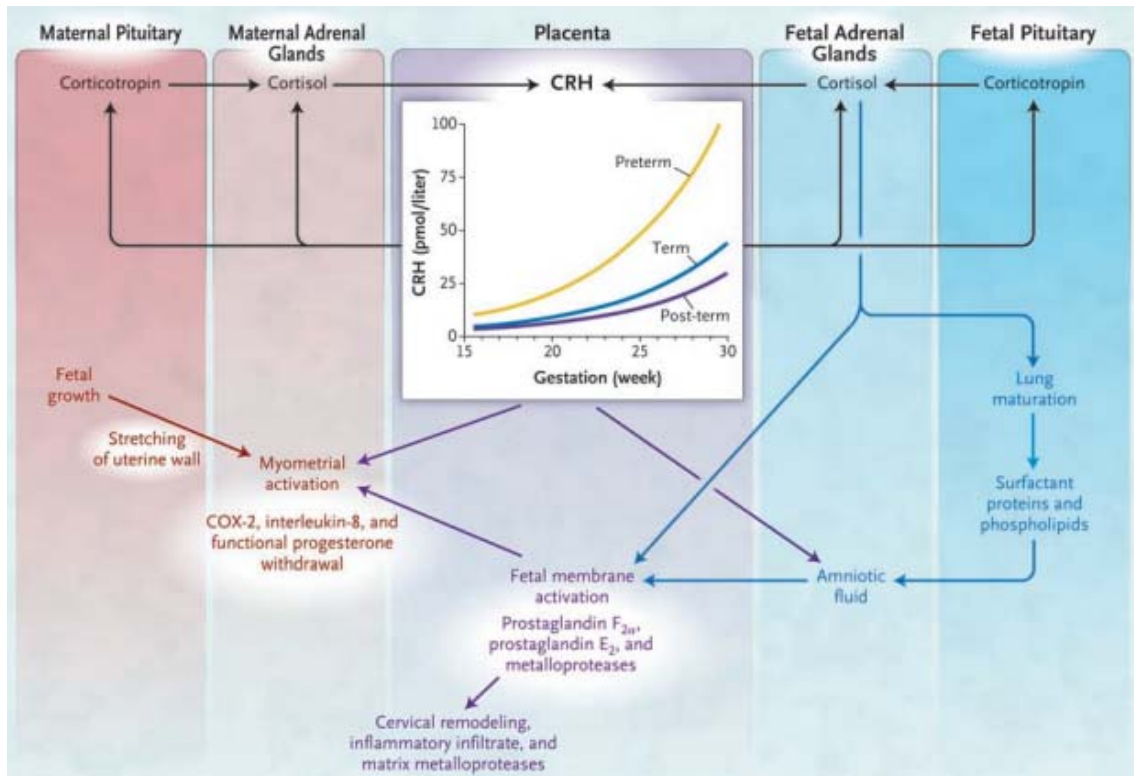


Figura 13. Esquema del sistema endocrino fetal y materno, y su relación con la producción placentaria de CRH. El aumento de la síntesis placentaria de CRH deriva en un incremento de la producción de CRH y C materna y fetal. El aumento de C (materno y fetal) estimula la síntesis de CRH, dando lugar a un feed-back positivo. El C propicia la maduración pulmonar fetal, aumentando la producción de surfactante pulmonar y fosfolípidos. El surfactante pulmonar junto con el C activa la respuesta inflamatoria en el amnion, dando lugar al borrado cervical y la activación del miometrio. A su vez, la activación miometrial implica la disminución en la concentración de P<sub>4</sub> y un aumento en la síntesis de COX-2, la cual sintetiza PG y promueve la contracción. El crecimiento fetal, junto con la distensión del miometrio combinado con la deprivación de P<sub>4</sub> promueve la contractilidad uterina. Imagen tomada de Smith, (2007).

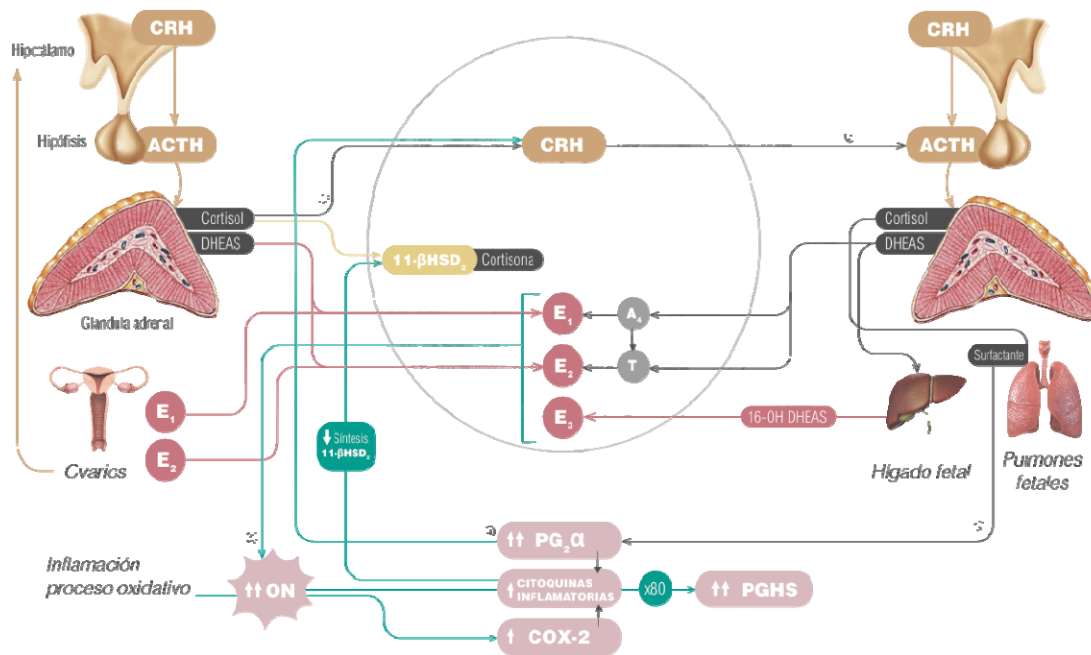


Figura 14. El útero grávido estimula el eje HHA materno, estimulando la síntesis de C y DHEA-S en la corteza adrenal materna. El C materno (a diferencia de los adultos que ejerce un feedback negativo para la formación de CRH), estimula la síntesis de CRH placentaria (Morsi, et al., 2018). Parte del C es inactivado a Cortisona gracias a la 11βHSD2. El aumento de CRH placentaria deriva en un aumento de CRH y C materno y fetal (Hill et al., 2010) Alrededor de la semana 20 de gestación, el C fetal estimula la síntesis de proteínas del surfactante pulmonar (Moore et al., 2016). El aumento del surfactante junto con el C activan la respuesta inflamatoria (Smith et al., 2007) estimulando la síntesis de  $PG_2\alpha$  (Cunningham et al., 2011) dando lugar al borrado cervical y a la activación del miometrio. A su vez, la activación miometrial implica la disminución en la concentración de  $P_4$  y un aumento en la síntesis de COX-2, que sintetiza PG y promueve la contracción (Smith et al., 2007). La  $PG_2\alpha$  induce, al igual que el C, la síntesis de CRH placentaria (Keelan et al., 2018) y de citoquinas inflamatorias que, a su vez, multiplican por ochenta la producción de PGH-sintasa (complejo enzimático que cataliza la formación de PG). Las citoquinas inflamatorias, al final de la gestación tienen la capacidad de reducir la síntesis de 11-βHSD<sub>2</sub>, permitiendo el paso de C materno al feto y ayudar así a la maduración pulmonar del feto (Keelan et al., 2018). Las DHEA-S materna y fetal sirven como precursores estrogénicos a la placenta para la síntesis de E<sub>1</sub> y E<sub>2</sub>. Además, el feto tiene la capacidad de hidroxilar la DHEA-S a nivel hepático, y formar la 16-OH DHEA-S que servirá de precursor para formar E<sub>3</sub> a nivel placentario. El aumento de estrógenos placentarios estimula la síntesis de NO (óxido nítrico) y activar el proceso inflamatorio (Ledingham et al., 2000).

La compresión completa del proceso del parto sigue siendo un reto (Smith, 2007). Es importante reconocer la relevancia y complejidad del eje HHA fetal durante el embarazo y el desarrollo fetal y preparación al parto (Wood y Keller-Wood, 2016). Hay que tener en cuenta que estímulos externos como infección, estrés, una mala perfusión placentaria o un estado de hipoxia, entre otros, pueden activar el eje HHA (Groeneweg *et al.*, 2011; Derrickson y Tortora, 2015; Valsamakis *et al.*, 2017) y desencadenar los mecanismos del parto (Smith, 2007; Wood y Keller-Wood, 2016).

## **6. Aplicación de modelos de regresión logística y random forest para la predicción de la fecha de parto.**

El aprendizaje automático (machine learning) es el nombre que recibe el conjunto de técnicas que permiten a los sistemas informáticos realizar tareas complejas (Sidey-Gibbons y Sidey Gibbons, 2019). Se basa en aprender de los datos, descubrir su estructura y los patrones que subyacen tras ellos. Su principal objetivo es la extracción de la información contenida en un conjunto de datos, y a partir de esa información adquirida posibilitar la tomar decisiones sobre nuevos conjuntos de datos (Mitchell, 2006) . Como disciplina académica, el aprendizaje automático comprende elementos de las ciencias matemáticas, estadísticas e informáticas. Sus técnicas están basadas en algoritmos y conjunto de procedimientos matemáticos que describen las relaciones entre distintas variables (Sidey-Gibbons y Sidey Gibbons, 2019).

A partir de 1990 se ha observado un aumento del uso de las múltiples técnicas de machine learning aplicadas a la investigación entre las que destacan los modelos de regresión logística, altamente utilizados, así como máquinas de vectores de soporte (Support Vector Machines), árboles de decisión y modelos de random forest, entre otros (Koohy, 2018).

Como en el caso de nuestro estudio, el uso de técnicas de aprendizaje automático resulta imprescindible. Nos enfrentamos a un conjunto de datos en los que existen múltiples variables, que pueden interaccionar de forma más o menos compleja, pudiendo ser muy difícil encontrar un modelo global que sea capaz de reflejar la verdadera relación subyacente entre ellas. En nuestro caso, hemos decidido comparar un modelo lineal tradicional como es la regresión logística frente a otro más complejo como es el random forest.

Aunque su comprensión resulte compleja, resulta necesario introducir brevemente el concepto de ambos modelos. El modelo de regresión logística es un método que se utiliza para obtener odds ratio (siendo el cociente entre la probabilidad de que ocurra un evento y la probabilidad de que no ocurra) en presencia de más de una variable explicativa. El procedimiento es bastante similar a la regresión lineal múltiple, con la excepción de que la variable de respuesta es binomial. El resultado es el impacto de cada variable sobre el odds ratio del objeto observado, siendo la principal ventaja evitar los efectos de confusión al analizar todas las variables juntas (Sperandei, 2014).

Por otro lado, el modelo random forest es un algoritmo predictivo que usa la técnica de bagging para combinar diferentes árboles CART (conjunto de árboles de clasificación y regresión), estando orientados a la predicción de variables cualitativas (árboles de clasificación) o continuas (árboles de regresión).

La técnica bagging consiste en ajustar modelos a diferentes muestras aleatorias con reemplazo y luego combinar o ensamblar resultados. En el caso del random forest, además de sortearse las muestras con las que cada árbol es ajustado, se hace un sorteo de variables en cada árbol, buscando que en los árboles ensamblados no participen siempre las mismas variables explicativas y estén así más incorrelados, lo que juega a favor de que el estimador final tenga menor varianza (Brieman, 2001).

El modelo de regresión logística se utiliza cuando la investigación se centra en si un evento ha ocurrido o no, en lugar de cuándo ocurrió (la información del tiempo no se utiliza). El uso de este modelo es adecuado, por ejemplo, en estudios que involucran estados de enfermedad (enfermo o sano), y toma de decisiones (si o no), y por ello es ampliamente utilizado en ciencias de la salud. Aunque existen modelos más complejos como el random forest que contemplan situaciones en las que la variable pronosticada toma más de dos categorías (Boateng y Abaye, 2019).

Desde el desarrollo del algoritmo predictivo del modelo de random forest, hace dos décadas, se ha incrementado su uso frente al modelo de regresión logística, convirtiéndose en una herramienta estándar entre investigadores. A pesar de sacrificar su capacidad explicativa de las variables, el modelo de random forest tiene una elevada capacidad predictiva y de generalización de sus resultados (Couronné et al., 2018).

El uso de técnicas de aprendizaje automático en medicina, se encuentran disponibles para mejorar el sistema de salud ofreciendo diagnósticos tempranos de enfermedades, mejores pronósticos médicos, así como avances en la planificación de tratamientos individualizados (Sidey-Gibbons y Sidey Gibbons, 2019; Gerke et al., 2020)

Existe un cambio de paradigma en la ciencia médica en la que se aboga por que los profesionales sanitarios no solo sean “recolectores de datos”, si no que puedan incorporar el soporte de tecnologías emergentes como las técnicas de aprendizaje automático para el correcto análisis e interpretación de datos, así como desarrollo modelos matemáticos predictivos, y mejorar así diagnósticos y pronósticos médicos (Andía et al. ,2019).

En el ámbito de la obstetricia se ha recalado en los últimos años la necesidad de desarrollar modelos predictivos que permitan predecir complicaciones del embarazo como preeclampsia, de partos prematuros, crecimiento intrauterino retardado, entre otras (Kleinrouweler et al., 2016, Naimi

et al., 2018). Aunque sí se están desarrollando modelos predictivos de parto en gestaciones in vitro, en las que se estima la posibilidad de un nacimiento vivo antes de someterse al tratamiento (Qiu et al., 2019). La aplicación de estas herramientas resulta esperanzadora para el desarrollo de modelos predictivos de la fecha de parto basadas en variables biológicas.



ACRÓNIMOS

RESUMEN

SUMMARY

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

**OBJETIVOS**

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA



Uno de los principales objetivos de la obstetricia es el conocimiento más profundo de los acontecimientos que suceden durante el embarazo, con el fin de procurar un buen desarrollo fetal que culmine con una transición a la vida extrauterina y adaptación a la etapa infantil y madurez satisfactorios. La interacción hormonal es crucial para una adecuada evolución fetal, siendo el segundo trimestre una etapa imprescindible para la maduración de los órganos y sistemas; y el tercer trimestre necesario para la preparación al parto y la vida extrauterina.

Por ello, la hipótesis de este estudio es determinar la implicación de los estrógenos y de los progestágenos en la maduración de los órganos y sistemas en el segundo trimestre de gestación, utilizando la medición en saliva como método no invasivo para la cuantificación de los niveles de estrógenos (E3 y SO4E1) y progestágenos (P4). Así mismo, establecer si los niveles de cortisol (C) podrían utilizarse como un buen indicador del desarrollo fetal.

Por otro lado, la predicción de la fecha de parto sigue siendo una gran incógnita, siendo necesaria mayor investigación en este ámbito. La práctica clínica se sigue basando en la fecha probable de parto, que tiene un amplio margen de error, para realizar intervenciones obstétricas como inducciones al parto por embarazos prolongados con múltiples riesgos tanto para el feto como para la madre.

Por ello, nos planteamos si la medición de los niveles de E3, C, P4 y SO4E1 desde la semana 34, puede predecir si la gestante dará a luz en una semana determinada y mejorar así la práctica clínica, reduciendo el número de inducciones al parto, así como la previsión del número posibles de partos en esa semana.

Para la consecución de nuestras hipótesis se han establecido los siguientes objetivos:

1. Realizar un seguimiento semanal del segundo y tercer trimestre de gestación de los niveles hormonales de estrógenos y progestágenos

salivares, con el fin de establecer los valores de normalidad que sirvan como indicador de la maduración de los órganos y sistemas y de buen funcionamiento de la unidad feto-placentaria.

2. Realizar un seguimiento semanal del segundo y tercer trimestre de gestación de los niveles hormonales de cortisol salivares, con el fin de establecer los valores de normalidad que sirvan como indicador de bienestar fetal.

3. Desarrollar un modelo matemático de predicción de parto basado en las concentraciones de las hormonas medidas durante el tercer trimestre de gestación.

ACRÓNIMOS

RESUMEN

SUMMARY

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

## MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA



## **1. Reclutamiento de participantes:**

Para la realización de esta investigación se han reclutado 159 mujeres embarazadas sanas en la consulta obstetricia del hospital HM Nuevo Belén, existiendo un 33,3 % de abandono del estudio, resultando un total de 106 mujeres. Las mujeres firmaron su consentimiento a la recogida semanal de saliva como parte del estudio FISMACOR aprobado por el Comité Ético de investigaciones clínicas HM Hospitales con el código CEIm HM hospitales: 16.06.0960-GHM, de acuerdo con la Asociación Médica Mundial (WMA) y la declaración de Helsinki.

## HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE

### PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

#### **Estudio sobre la predicción del parto y posibles partos distócicos.**

#### INTRODUCCIÓN

Este documento contiene información sobre un proyecto de investigación en el que se le ha propuesto participar. En este estudio analizaremos dos sustancias que el cuerpo humano produce habitualmente y que se llaman cortisol, estriol, progesterona y sulfato de estrona. Durante el embarazo la producción de estas dos sustancias varía frente a otras situaciones normales. Algunos científicos han propuesto que algunas de esas variaciones son capaces de predecir la evolución del embarazo. Sin embargo, no existe información procedente de estudios bien diseñados que permitan su introducción en la práctica clínica.

Partiendo de este supuesto, la Fundación de Investigación HM Hospitales junto con la Universidad Complutense de Madrid, hemos desarrollado un proyecto de investigación para estudiar dos grandes objetivos:

- Analizar si los niveles de cortisol, estriol, progesterona y sulfato de estrona en la saliva de las mujeres embarazadas es capaz de predecir su fecha probable de parto con quince días de antelación.
- Analizar si los niveles de estriol en saliva y en sangre de mujeres embarazadas son capaces de predecir complicaciones durante el parto.

Para ello, durante su embarazo, le solicitaremos muestras de su saliva en fechas que las investigadoras pactarán con ud pero que se ajustarán en la medida de lo posible a las fechas previstas de revisiones rutinarias de su propio embarazo. La saliva se recogerá a través de un algodón (Salivette®) que se le suministrará durante las visitas al Centro. En relación con la determinación sanguínea de estriol, utilizaremos la determinación que ya se realiza de forma rutinaria en las analíticas sanguíneas que se le extraen durante el seguimiento normal de su embarazo por lo que simplemente le solicitamos autorización para incorporar esos valores dentro de nuestra base de datos.

Por último, recogeremos los datos relativos a su fecha efectiva de parto así como la información procedente de la historia clínica del momento del parto para analizar la posible relación entre sus datos clínicos durante el parto y su análisis de cortisol, estriol, progesterona y sulfato de estrona.

Durante el estudio no se le administrará ninguna sustancia ni se le someterá a ningún procedimiento diagnóstico que pueda suponer riesgo alguno para usted o para el/los feto/s. Además, no existirá ninguna modificación de su atención clínica más allá de la recogida de la saliva.

En relación a sus datos, le informamos que todos aquellos datos que puedan permitir su identificación personal, serán disociados mediante la generación de códigos aleatorios alfanuméricos por lo que su muestra inicial estará disociada de sus datos personales. Más allá, las muestras serán destruidas una vez obtenidas las sustancias objetos de estudio. Finalmente, sus datos, disociados o no, tienen una especial protección al tratarse de datos de salud, no pudiendo ser transferidos a terceros ni utilizados para ningún objeto que no sea el vinculado a este proyecto de investigación. Así, existen directivas europeas y leyes orgánicas del Reino de España que garantizan esa protección especial y con las que seremos especialmente rigurosos en su cumplimiento.

En cualquier caso, le pedimos que

- Lea detenidamente la información que a continuación le detallamos, consulte con quién crea necesario y pregunte cualquier duda.
- Su participación en el estudio sólo es posible si entiende perfectamente el objetivo, justificación, procedimientos, riesgos y derechos contemplados en esta hoja de información.
- Le rogamos se tome el tiempo suficiente para meditar y consultar con quien estime oportuno sobre su participación.
- En el caso de que acepte participar en el estudio, le recordamos que debe quedarse con una copia de esta HOJA DE INFORMACIÓN así como de la hoja de firmas del CONSENTIMIENTO INFORMADO.

#### ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

La predicción mediante marcadores fiables de la fecha probable de parto supone una necesidad clínica y social de enorme relevancia, tanto para la mujer embarazada como para la gestión de los diferentes servicios clínicos necesariamente disponibles para hacer frente a cualquier situación clínica durante las 24 horas del día.

El cortisol es una sustancia producida por el cuerpo humano de forma natural. Esta sustancia se produce como respuesta natural al estrés de origen muy variado. Su presencia en los diferentes tejidos del cuerpo permite que esos tejidos aumenten su funcionamiento y les prepara para responder a situaciones de sobrecarga biológica. El cortisol se produce en distintos tejidos pero las glándulas más importantes se denominan glándula supra-renales. Estas dos glándulas, situadas encima de los riñones (de ahí su nombre y su número), aumentan en su actividad durante el embarazo pues esta situación, siendo normal, supone

una sobrecarga biológica para la mujer.

En este sentido, distintos investigadores han propuesto los niveles de cortisol como predictor de la fecha probable de parto. Esto es debido a que el cortisol puede tener influencia tanto en el proceso de desarrollo fetal como en los resultados del parto. Por ejemplo, se ha observado que los niveles de cortisol en la sangre de la madre aumentan entre 2 y 4 veces a lo largo de la gestación. Además, el cortisol es capaz de atravesar la barrera placentaria actuando directamente sobre el feto o, de forma indirecta, pues es capaz de modificar la producción placentaria de CRH. Por otro lado, se ha observado una relación significativa entre el estrés prenatal psicosocial y el riesgo de partos prematuros.

Finalmente, existen diferentes modelos animales en los que se ha conseguido relacionar el nivel de cortisol con la fecha probable de parto.

El estriol es una sustancia producida normalmente por el cuerpo humano como derivado de otra sustancia conocida como estradiol. Se le considera una hormona femenina y su productor principal son el ovario y, durante el embarazo, la placenta. De forma rutinaria se le considera como marcador de insuficiencia placentaria o de problemas fetales. Por ello, se realizan determinaciones rutinarias de esta sustancia a partir del segundo trimestre del embarazo.

La progesterona es la hormona encargada del mantenimiento de la gestación, sintetizada a nivel ovárico, placentario y fetal. Niveles bajos pueden estar relacionados con partos prematuros.

El sulfato de estrona, a pesar de que su investigación en humana es relativamente escasa, se ha investigado en animales su relación con la supervivencia fetal.

Nuestro interés radica en correlacionar los niveles de cortisol en saliva obtenidos durante toda la gestación con la fecha de parto real así como con los niveles de estriol sanguíneos como predictor de complicaciones durante el parto. Por tanto, se trata de un estudio diagnóstico, sin intervención de ningún tipo más allá de la recogida de muestras durante el embarazo.

Por tanto, se le pide que nos permita:

- Analizar sus niveles de cortisol en su saliva.
- Analizar sus niveles de progesterona en su saliva.
- Analizar sus niveles de sulfato de estrona en su saliva.
- Analizar sus niveles de estriol en saliva y sangre
- Correlacionar los datos obtenidos de los puntos 1 y 2 con su fecha real de parto así como con su partograma.

#### ¿CÓMO VAMOS A OBTENER SU SALIVA?

La saliva la obtendremos a través de un sistema Salivette®. Este sistema está compuesto de un tubo estrecho que contiene un algodón en su interior. Este algodón se extrae del tubo y se introduce en la boca para masticar durante 60 segundos. Una vez pasado este tiempo se vuelve a introducir dentro del tubo y se cierra.

Figura 1. Sistema Salivette

#### ¿QUÉ RIESGOS TIENE LA OBTENCIÓN DE SALIVA A TRAVÉS DEL SISTEMA SALIVETTE®?

Se trata de un procedimiento no invasivo por lo que no existen complicaciones descritas. Aun así, es posible que puedan producirse mordeduras durante la masticación del algodón, náuseas, sabor desagradable y aspiración del algodón que podría ocupar la vía aérea. Esta situación última situación no está descrita en la literatura y por tanto debe considerarse como una complicación muy improbable.

De sus muestras de saliva obtendremos los niveles de cortisol, estríol, sulfato de estrona y progesterona durante el estudio.

#### ¿QUÉ ES UNA VENOPUNCIÓN?

Este procedimiento se considera como mínimamente invasivo.

La punción venosa es la recolección de una muestra de sangre que se obtiene pinchando una vena, siendo el sitio más común el brazo y/o el dorso de la mano. Las venas son vasos sanguíneos que se encuentran cerca de la superficie de la piel y, por su estructura y funcionamiento, tienen un color azulado. A través de esta venopunción obtendremos una muestra de sangre de la que obtendremos sus niveles de estríol durante el embarazo.

#### ¿CÓMO SE REALIZA UNA VENOPUNCIÓN?

Inicialmente, el/la profesional que va a realizar la venopunción utilizará un compresor elástico para aumentar el volumen de sus venas en el brazo. Este compresor, que es como un elástico de 1-2 cms de ancho, se anudará firmemente a su brazo pero sin llegar a provocarle dolor. Posteriormente, el área de la piel sobre la que se va a realizar la venopunción se limpiará con un líquido anti-séptico que puede ser alcohol o algún otro tipo de sustancia que permita la eliminación de gérmenes. Posteriormente, el/la profesional identificará mediante palpación la vena y, finalmente, realizará una punción de la misma con una aguja nueva y estéril. Una vez se compruebe que la aguja está adecuadamente colocada en la vena, se retirará añadiendo un contenedor al extremo opuesto de la aguja, se desanudará el compresor y observará como comenzará a fluir la sangre dentro del contenedor al que está conectada la aguja. Ahí será donde se recogerá inicialmente la sangre de la punción. Una vez completado el llenado del contenedor, se retirará la aguja y se aplicará una pequeña compresión con algodón estéril y se procederá nuevamente a la limpieza y esterilización de la zona.

#### REACCIONES ADVERSAS

La cantidad de sangre extraída para cada análisis será de 10 cc, lo cual no implica ningún riesgo para su salud. En cualquier caso, el análisis será el empleado para el control rutinario de su embarazo por lo que no se realizará ningún tipo de procedimiento diferente al que se realizaría durante los controles habituales. Aun así, legalmente estamos obligados a informarle de ello. El siguiente listado recoge las reacciones adversas más frecuentes: Dolor agudo en el sitio de la punción: toda punción, por mínimamente invasiva que sea, puede provocar dolor en el momento de la misma. La percepción varía en cada persona aunque en ciertos individuos puede ser muy pronunciado. En cualquier caso, el estrés generado por la punción, con frecuencia es más intenso, que la propia punción en sí misma.

Dolor sub-agudo (de unos pocos días de duración): Es posible que en la extracción la vena pueda romperse lo que implicaría que podría tener dolor en la zona e incluso desarrollar algún hematoma. Tanto el dolor como el hematoma sería similar al que se podría desarrollar en el transcurso de cualquier análisis de sangre que y tendrá una duración de pocos días.

Desmayo, palidez y bajada de tensión: antes, durante o después de la punción, algunas personas pueden presentar los efectos adversos mencionados, debido principalmente al nerviosismo o ansiedad que causan este tipo de procedimientos.

En cualquier caso, la venopunción y la obtención de la saliva se va a realizar en un hospital universitario de tercer nivel, con un equipo de profesionales experto en el manejo de patologías de complejidad extrema.

#### BENEFICIOS ESPERABLES PARA EL PARTICIPANTE

No se espera ningún tipo de beneficio para el participante más allá de la contribución al avance de la Ciencia. Incluso desde esa perspectiva, es posible que los resultados del estudio tampoco permitan concluir un avance científico significativo.

#### PRECAUCIONES NECESARIAS EN EL CASO DE MUJERES Y HOMBRES EN EDAD FÉRTIL.

Ninguna.

#### MEDIDAS A TOMAR PARA RESPONDER A EVENTOS ADVERSOS

Tal y como se ha descrito en el apartado que describe la venopunción y la obtención de la saliva, es posible que puedan aparecer ciertas complicaciones asociadas a ésta. Tal y como hemos comentado anteriormente, aun siendo leves o muy leves, la venopunción y la obtención de la saliva se está realizando dentro de un hospital de tercer nivel con un equipo médico y de cuidados de enfermería que nos permiten responder a cualquier eventualidad. En cualquier caso y debido a que el riesgo asociado a la venopunción y a la obtención de la saliva es mínimo, el estudio no dispone de un seguro que garantice una compensación adecuada en el caso de que usted sufra algún daño.

#### DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

En el estudio van a participar mujeres embarazadas que proporcionarán muestras de saliva y de sangre que, conjuntamente con los datos procedentes de su historia clínica, se utilizarán para determinar si estos niveles son capaces de predecir la fecha probable de parto así como las posibles distocias durante el partograma. Su participación en el estudio estará limitada a la autorización de obtención de sus muestras de saliva, a la autorización del uso de las cifras de estriol obtenidas de forma rutinaria

en sus controles del embarazo y a la autorización del uso de la información clínica sobre la fecha real de parte y de la presencia o ausencia de distocias durante el partograma, siempre de forma voluntaria.

Antes de comenzar su participación, las investigadoras comprobarán conjuntamente con su médico/a habitual que su gestación es de bajo riesgo. Será necesario, por tanto, que además de su consentimiento no se encuentre ud en vigilancia médica por ningún otro motivo.

Así, si todas estas pruebas permiten su participación en el estudio, se procederá a la obtención de saliva los días y horas previamente fijados con usted.

Estas muestras se manejarán con la más estricta garantía de confidencialidad y se dedicará exclusivamente al estudio denominado **“Estudio sobre la predicción del parto y posibles partos distócicos”** sin que pueda utilizarse para ninguna otra prueba. Aun así, y si las investigadoras encontraran resultados que obligaran a un nuevo análisis se pondrán en contacto con ud para solicitarle un nuevo consentimiento no siendo posible bajo ningún concepto realizar ningún tipo de estudio con sus resultados fuera del proyecto aquí descrito.

#### FUTURO USO POTENCIAL DE LOS RESULTADOS DERIVADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Tal y como hemos descrito anteriormente, el estudio se fundamenta en el estudio de la saliva y de los niveles de ciertas sustancias en la misma. Por tanto, los datos obtenidos de cada participante sólo tendrán interés demográfico y no se utilizarán para ningún otro objeto ni estudio de investigación. Más allá, los resultados obtenidos de este proyecto de investigación, exclusivamente procedentes de la agrupación poblacional de los datos de todas las muestras obtenidas podrán ser utilizadas para futuras investigaciones e incluso para el desarrollo de productos comerciales de diferente aplicación.

#### ¿DÓNDE SE REALIZARÁN LOS EXPERIMENTOS Y CUAL SERÁ EL DESTINO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS?

Una vez obtengamos la muestra de sangre por venopunción y de saliva mediante el sistema Salivette® anteriormente descrito, y tras su disociación de los datos de identificación personal mediante un código aleatorio compuesto por letras y números, procederemos analizar los niveles de cortisol en saliva mediante un sistema de EIA. Este sistema es una tecnología que permite la identificación de sustancias mediante el uso de proteínas artificiales que se unen a regiones muy concretas de las

sustancias de interés. Las proteínas artificiales, una vez unidas a las sustancias de interés son capaces de emitir una señal en forma de color o de radiación fácilmente identificable en el laboratorio.

Este procedimiento se realizará dentro de las instalaciones de la Universidad Complutense de Madrid así como en las del Grupo HM Hospitales. Se realizarán en ambos laboratorios con el fin de mantener duplicados de los resultados y analizar su nivel de concordancia.

En cualquier caso, las muestras de sangre y saliva obtenidas serán destruidas tras realizar los experimentos mediante EIA.

¿PUEDO SOLICITAR LA DESTRUCCIÓN DE MIS MUESTRAS PREVIAMENTE A LA OBTENCIÓN DE CUALQUIER RESULTADO?

Si. Usted puede solicitar la retirada y destrucción de sus muestras antes de que sean procesadas si así lo estima oportuno y sin dar ningún tipo de explicación. Esta solicitud, en tanto puede revelar su identidad, tendrá las mismas garantías de confidencialidad que todos los procedimientos utilizados para la gestión de sus datos de salud.

La solicitud por escrito deberá dirigirla al Dr. Cristóbal Belda Iniesta o al Dr. Angel Ayuso Sacido, Fundación de Investigación HM Hospitales, Plaza del Conde del Valle Suchil 2; 28015 MADRID o al Dr. Juan Carlos Illera; Universidad Complutense de Madrid, Avda de la Victoria s/n 28050 MADRID.

#### FINANCIACIÓN

El estudio está financiado por la Universidad Complutense de Madrid.

#### PARTICIPACIÓN / RETIRADA VOLUNTARIA DEL ESTUDIO

La participación es voluntaria y en el caso de que se decida suspender, no va a suponer ningún tipo de penalización. Asimismo, los participantes podrán ser retirados del estudio, sin su consentimiento, si las investigadoras consideran que es preferible para su salud o bienestar.

#### CONFIDENCIALIDAD Y ACCESO A LOS DATOS

La Ley Orgánica 15/99 de Protección de Datos de Carácter Personal y la Ley 41/02 de Autonomía del Paciente, establecen que el acceso a los datos clínicos y personales del paciente sólo es posible con el consentimiento expreso y revocable del mismo. Por este motivo le solicitamos el consentimiento expreso en la hoja que hemos denominado CONSENTIMIENTO INFORMADO que acompaña a esta HOJA DE INFORMACIÓN. Este consentimiento establecerá que usted da su

consentimiento para que los miembros del equipo investigador de este proyecto accedan a sus datos clínicos siendo consciente de que dicho consentimiento es revocable. Es decir, usted puede ejercitar, en todo momento, los derechos reconocidos en la LOPD, de acceso, rectificación, cancelación y oposición, en los términos y condiciones que la normativa procedente de la LOPD 15/99 y sus reglamentaciones y regulaciones posteriores establecen.

No se cederán sus datos a terceros a menos que usted lo consienta de forma expresa y por escrito.

No es previsible que los datos obtenidos dentro de este estudio puedan revelar información de carácter personal de sus familiares. En este caso, también se solicitará un consentimiento expreso y escrito de todos ellos.

#### GARANTÍA DE ANONIMATO

Para proteger su identidad utilizaremos un código disociado en lugar de su nombre y apellidos. Este código disociado será una combinación de números y letras, generados de forma aleatoria y que será conocido exclusivamente por los investigadores del estudio. La correspondencia entre este código y los datos necesarios para su identificación estarán custodiados por el equipo investigador y no se cederá a terceras partes. En cualquier caso, la conservación de esta correspondencia sólo persigue disponer de la capacidad de que el equipo investigador pueda localizarle en el caso de encontrar alguna anomalía biológica que pueda poner en peligro su salud o la de sus familiares. Más allá, cualquier nueva información referente a los procedimientos empleados para este estudio que se descubra mientras dure la participación, le será debidamente comunicada y se dará la oportunidad de interrumpir el estudio.

#### PREGUNTAS E INFORMACIÓN

En caso de dudas sobre el estudio o sus derechos, podrá contactar con los investigadores responsables, que son xxxxxx o xxxxx en el teléfono xxxxxxxxxxxx.

#### COMPENSACIÓN POR PARTICIPACIÓN

La participación en este estudio no supone ninguna compensación de económica.

REVISIÓN ÉTICA

El protocolo del estudio ha sido revisado y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación Clínica (CEIC) del Grupo HM Hospitales.

Firma del Voluntario

Por el Equipo Investigador

Nombre

Dr/a.

Fecha:

Fecha:



fecundación *in vitro* con tratamiento de heparina, tratamiento esteroideo en la actualidad.

Todas las participantes se encontraban con edades comprendidas entre 27- 44 años ( $34,88 \pm 3,29$ ).

El tamaño de la muestra fue calculado utilizando un módulo para la determinación del tamaño muestral del paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI (Universidad Complutense de Madrid, Spain).

Del total de mujeres, el 43,3% eran primíparas y el 56,6% eran multíparas. Todas gestaciones únicas.

A todas las participantes se les hizo entrega de un kit de estudio FISMACOR en la consulta de obstetricia. Este kit contenía una carpeta con información sobre el estudio, consentimiento informado, 28 copias de cuestionarios Ansiedad Estado- Rasgo y 28 tubos recolectores Salivette® , uno por cada semana del estudio.

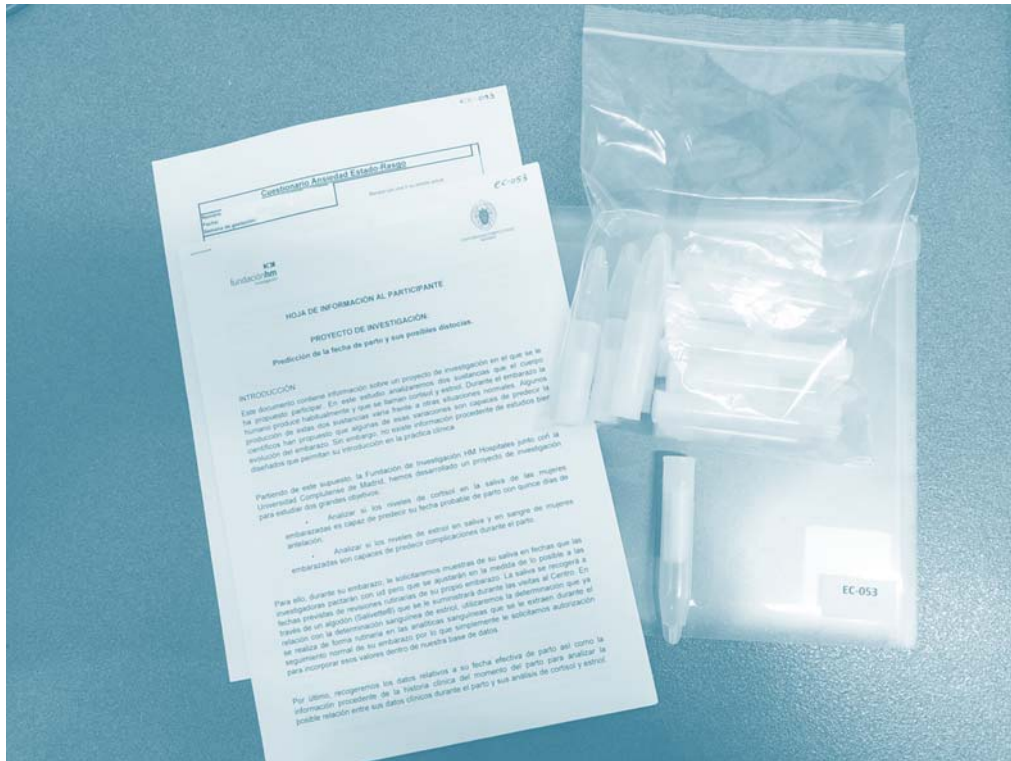


Imagen 2. Kit de estudio FISMACOR

## 2. Recogida de muestras de saliva:

Las mujeres recogieron una muestra semanal de saliva a partir de la semana 12 de gestación hasta la semana del parto.

Todas las muestras fueron tomadas en un horario establecido (10:00 h  $\pm$  1 horas), dado que los esteroides objeto de estudio muestran un patrón de liberación circadiana, escogimos esta hora para la recogida de muestras debido a que es un periodo de estabilidad en las concentraciones de hormonas esteroides, y así evitar los cambios hormonales que aparecen a primera hora del día y última hora de la tarde.

Para la obtención de las muestras las participantes introdujeron en la boca el algodón interior del dispositivo, masticaron durante 60 segundos, siguiendo las instrucciones del fabricante. Pasado ese tiempo depositaron el algodón en el tubo y lo identificaron con la etiqueta correspondiente a la semana de gestación y número de participante asignado para el estudio.



*Imagen 3. Tubo recolector Salivette®*

Las muestras recogidas fueron entregadas por las pacientes en consulta. De ahí se trasladó al laboratorio del Departamento de Fisiología Animal de la Universidad Complutense de Madrid, para su posterior análisis hormonal.

### **3. Centrifugación y conservación de muestras:**

Las muestras de saliva fueron centrifugadas a 4800 rpm durante 15 minutos a 4°C. Se almacenó la saliva en tubos eppendorf debidamente

identificados y conservados a una temperatura de  $-22^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis hormonal.

#### **4. Técnicas Enzimoinmunoanalíticas (EIA):**

Realizamos una técnica EIA de competición para la determinación de las concentraciones de  $\text{C}$ ,  $\text{P}_4$  y  $\text{SO}_4\text{E}_1$  en las muestras de saliva.

Por otro lado para el análisis de las concentraciones de  $\text{E}_3$  desarrollamos una técnica EIA de amplificación.

Las técnicas EIA y anticuerpos utilizados se han desarrollado y validado en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Fisiología Animal (Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid) (Illera *et al.*, 2014).

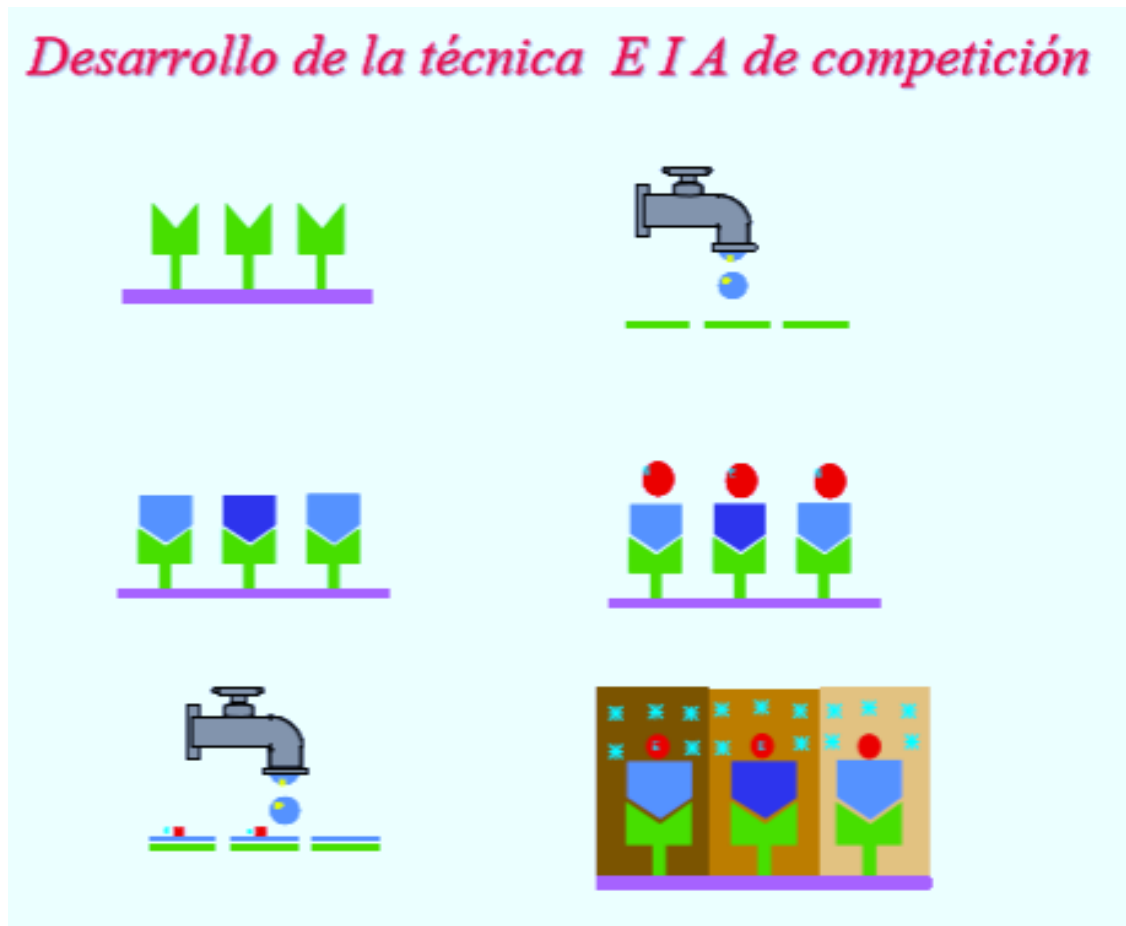


Figura 1. Esquema de EIA de competición.

#### 4.1 Desarrollo técnica EIA:

A continuación, se explica el protocolo a seguir del EIA de competición incluyendo las modificaciones pertinentes en la técnica EIA de amplificación.

La siguiente tabla (Tabla 1) resume todos los anticuerpos y conjugados utilizados en esta técnica, como también las diluciones y los tiempos de incubación del sustrato.

Anticuerpo	Dilución	Conjugado	Dilución	Tiempo de sustrato
Anti-C (R4866)	1/8.000	CORTISOL-HRP	1/80.000	3 min
Anti-E1GLUC (R522-2)	1/4.000	E1 GLUC: HRP	1/80.000	5 min
Anti-E3 (R4835)	1/6.000	E3-3- HRP	1/60.000	20 min
Anti-P4 (CL425)	1/6.000	P4-HRP (2012-1A)	1/40.000	10 min

Tabla1: Anticuerpos y conjugados utilizados para las técnicas EIA.

#### 4.1.1 Adsorción de los anticuerpos a la fase sólida.

Inicialmente se tapizaron microplacas de poliestireno de 96 pocillos (Greiner Bio-one; Frickenhausen, Alemania) con la dilución apropiada del anticuerpo para la hormona a determinar (Tabla 1). Estas disoluciones se realizaron en buffer coating (carbonato de sodio hidrógeno (0,05M), carbonato sódico (0,05M), pH: 9,6).

Una vez preparadas las diluciones de anticuerpo, se tapizaron las placas añadiendo 100µL en todos los pocillos dejando libre el primero que será utilizado como blanco.

Finalmente, se sellaron las placas con un papel adherente de acetato, dejando en incubación durante 16 horas a 4°C. Trascorrido este tiempo, se lavaron las placas con 200 µL solución de lavado usando para ello un lavador de placas (Anthos Washer Fluido WK Model 24 500, *Anthos Labtec Instruments*), se realizaron cinco lavados por placa.

#### **4.1.2 Preparación de las curvas estándar:**

Para trazar la curva estándar para cada una de las hormonas se realizaron diluciones seriadas en etanol absoluto a partir de una solución madre de hormona esteroide, hasta obtener un total de 5 estándares (0,1 pg; 1 pg; 10 pg; 100 pg; 1000 pg/ 100 µL). Estas curvas se utilizaron para todas las hormonas del estudio. Se prepararon cinco tubos con 10 µL de cada uno de los estándares.

Seguidamente, se dejaron los tubos en un evaporador para evaporar el etanol y se añadieron 500 µL de conjugado para diluir el extracto.

Posteriormente, se procedió al tapizado de las placas con las muestras para la reacción de competición, se añadieron 50 µL de cada estándar con conjugado y 50 µL de tampón EIA: Fosfato de sodio dihidrógeno monohidratado (0,01M), fosfato di-sodio hidrógeno anhidro (0,01M), cloruro de sodio (0,9M), BSA 1%, pH:7,0, en los pocillos adecuados de la placa.

#### **4.1.3 Reacción de competición:**

En este paso se produce una reacción entre la hormona libre (estándar) y la hormona marcada con peroxidasa (HRP). Para ello se realizó una dilución de conjugado en solución buffer EIA. Se han utilizado las diluciones de conjugados indicados en la tabla 1.

Con esta mezcla de muestra (extraída o no extraída) y conjugado, se tapizaron los pocillos de la placa añadiendo 60  $\mu\text{l}$  de la misma y 40  $\mu\text{l}$  de buffer EIA. Cada muestra se analizó por duplicado.

Por último, se sellaron de nuevo las placas quedando en incubación y agitación durante 2 horas a temperatura ambiente (22°C aproximadamente).

#### **4.1.4 Tapizado de placas para el EIA de amplificación.**

Esta técnica fue utilizada para el análisis del E<sub>3</sub>. El proceso de tapizado de placas difiere de la técnica anterior debido a que la hormona de la muestra y el conjugado no compiten por unirse al anticuerpo.

Una vez lavada la placa tras la adsorción del anticuerpo, se tapizó la placa con 50  $\mu\text{L}$  de buffer EIA. A continuación, se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de estándares por duplicado y 50  $\mu\text{L}$  de muestra pura. Posteriormente, se cubrió la placa y se dejó incubando en agitación a 4°C durante toda la noche.

Al día siguiente, sin lavar la placa, se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de la dilución de conjugado correspondiente en todos los pocillos. Se taparon y se dejaron incubando en agitación durante 4 horas a temperatura ambiente.

#### 4.1.5 Adición del sustrato y del cromógeno.

Para obtener sólo la cantidad de hormona unida al anticuerpo, se lavaron cinco veces las placas tras la incubación con solución de lavado.

Se utilizó peróxido de hidrógeno como sustrato que va diluido en un tampón sustrato que lleva el cromógeno timidilbecidina (Enhanced K Blue, Neogen, España). Se añadieron 100  $\mu$ L de sustrato en todos los pocillos y se dejaron incubando a temperatura ambiente, el tiempo necesario para cada hormona (Tabla 1).

Posteriormente, se frena la reacción enzimática añadiendo 100  $\mu$ L de una solución de ácido sulfúrico al 10% en todos los pocillos de la placa (Figura 2).

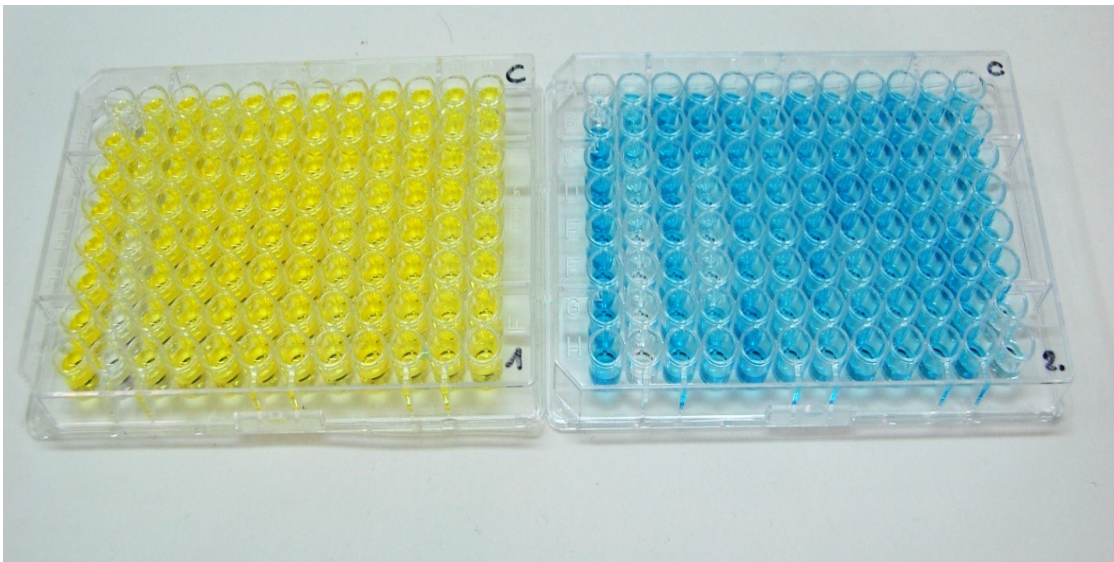


Figura 2. Placas de ELISA antes y después de la adición del sustrato.

#### **4.1.6 Lectura de placas.**

Para la lectura de placas se usa un lector automático EIA (Multiskan RC, Thermo Labssystem) que es de lectura bicromática lo que elimina el color producido por una posible reacción de fondo inespecífica. Los filtros utilizados son de 450 y 600nm.



*Imagen 4. Lector de placas automático Multiskan RC.*

#### **4.1.7 Procesado de resultados.**

Los resultados de las concentraciones hormonales obtenidos mediante el lector automático se calcularon mediante un software desarrollado por el Departamento de Informática de la Universidad de California (Davis, EEUU). Enfrenta las concentraciones estándar de las hormonas en el eje de abscisas y el porcentaje de unión de las muestras con el anticuerpo, en el eje de ordenadas trazando así una curva patrón. Después calcula las concentraciones hormonales tomando como referencia estas curvas.

Para obtener las medidas de las concentraciones en las unidades correctas se incluyó un factor de corrección. Los resultados hormonales se expresaron en ng/ml.

#### **4.2 Parámetros de validación de la técnica EIA.**

La validación de la técnica EIA se llevó a cabo determinando una serie de parámetros:

Porcentajes de recuperación: Se calcularon añadiendo cantidades conocidas de hormona a un pool de muestras con concentraciones bajas y altas de dicha hormona.

Precisión: Se realizaron calculando los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo. El coeficiente intra-ensayo se calculó analizando un pool de muestras 10 veces dentro de un mismo ensayo. Para el cálculo del coeficiente inter-ensayo analizó el mismo pool 10 veces en ensayos consecutivos.

Sensibilidad: se realizó con las medias de los valores mínimos de detección y calculado en 10 ensayos consecutivos:

Paralelismo: Se realizó comparando diluciones seriadas de un conjunto de muestras (pool) y la curva estándar, demostrando que las curvas de unión

de distintas diluciones del pool son paralelas a las curvas estándar en un rango de concentración de 1:1 a 1:50.

**5. Cuestionario de ansiedad STAI (Stait-Trait Anxiety Inventory-  
Cuestionario de Ansiedad Estado-Rasgo).**

Solicitamos a las participantes que completaran un cuestionario STAI (cuestionario Ansiedad Estado-Rasgo) en el momento en el que recogían la muestra de saliva.

Es un cuestionario estandarizado de 40 preguntas, y validado para la determinación de estrés en el embarazo (Valsamakis *et al.*, 2017; Field *et al.*, 2010), está basado en dos escalas independientes. La primera, Ansiedad como estado (A-E) contiene 20 elementos con los que se evalúa un estado emocional transitorio, que se caracteriza por sentimientos subjetivos conscientemente percibidos. La segunda escala nos permite evaluar, mediante otros 20 elementos, la Ansiedad como rasgo (A-R) que pretende identificar una propensión ansiosa estable que caracteriza a las personas con tendencia a percibir situaciones como amenazantes (Spielberger y Sydeman, 1994; Castrillón Moreno y Borrero Copete, 2005).

<b>Cuestionario Ansiedad Estado-Rasgo</b>					
<b>Nombre:</b> <b>Fecha:</b> <b>Semana de gestación:</b>		Marque con una X su estado actual			
1. Me siento calmado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
2. Me siento seguro	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
3. Estoy tenso	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
4. Estoy contrariado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
5. Me siento cómodo (estoy a gusto)	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
6. Me siento alterado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
7. Estoy preocupado ahora por posibles desgracias futuras	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
8. Me siento descansado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
9. Me siento angustiado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
10. Me siento confortable	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
11. Tengo confianza en mí mismo	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
12. Me siento nervioso	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
13. Estoy desasosegado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
14. Me siento muy «atado» (como oprimido)	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
15. Estoy relajado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
16. Me siento satisfecho	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
17. Estoy preocupado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
18. Me siento aturdido y sobreexcitado	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
19. Me siento alegre	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
20. En este momento me siento bien	Nada	<input type="checkbox"/> Algo	<input type="checkbox"/> Bastante	<input type="checkbox"/> Mucho	<input type="checkbox"/>
21. Me siento bien	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
22. Me canso rápidamente	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
23. Siento ganas de llorar	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
24. Me gustaría ser tan feliz como otros	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
25. Pierdo oportunidades por no decidirme pronto	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
26. Me siento descansado	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
27. Soy una persona tranquila,serena y sosegada	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
28. Veo que las dificultades se amontonan y no puedo con	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
29. Me preocupo demasiado por cosas sin importancia	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
30. Soy feliz	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
31. Suelo tomar las cosas demasiado seriamente	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
32. Me falta confianza en mí mismo	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
33. Me siento seguro	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
34. No suelo afrontar las crisis o dificultades	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
35. Me siento triste (melancólico)	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
36. Estoy satisfecho	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
37. Me rondan y molestan pensamientos sin importancia	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
38. Me afectan tanto los engaños que no puedo olvidarlos	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
39. Soy una persona estable	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>
40. Cuando pienso sobre asuntos y preocupaciones actuales me pongo tenso y agitado	Casi nunca	<input type="checkbox"/> A veces	<input type="checkbox"/> A menudo	<input type="checkbox"/> Casi siempre	<input type="checkbox"/>

Imagen 4. Cuestionario Ansiedad Estado-Rasgo (STAI)

## **6. Análisis estadístico:**

El análisis estadístico se realizó con el apoyo del Centro de Cálculo de la Universidad Complutense de Madrid (Unidad de apoyo a la investigación), utilizando para ello los programas estadísticos SAS 9.4 (Statistical Analysis Systems, SAS/STAT, Inst. Inc, Cary NC, EEUU) y Sigma Plot (Systat software INC, CHICAGO, IL, EEUU).

Se realizó un análisis estadístico descriptivo y una prueba de suma de rangos de Wilcoxon, seguido de un análisis de varianza (ANOVA) para comparar la evolución de las concentraciones de P<sub>4</sub>, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>, E<sub>3</sub> y C durante las semanas de estudio. Las correlaciones entre los valores hormonales se calcularon utilizando los coeficientes de correlación de Pearson.

Para el análisis estadístico de los parámetros de validación de las técnicas EIA se usó el análisis ANCOVA. Para determinar los efectos de la saliva en la curva estándar se realizó un análisis de regresión y paralelismo.

El cuestionario STAI consta de dos escalas: Ansiedad/Estado (A/E) y Ansiedad / Rasgo (A/R). La escala de respuesta va de 0 a 3 en la que la negación de un sentimiento (nada o casi nunca) tienen un valor de cero puntos en la percepción del sujeto. La puntuación total se obtuvo sumando los valores de los ítems (tras las inversiones de las puntuaciones en los ítems que indican ansiedad ausente). Como resultado los totales de cada escala fluctúan entre 0-

60, de forma que las puntuaciones elevadas reflejan mayor ansiedad (Guillén-Riquelme *et al.*, 2011).

Guillén- Riquelme y colaboradores (2011) en su estudio sobre 1036 adultos concluyeron que la escala STAI conserva buenas propiedades psicométricas:  $\alpha$  de Cronbach 0,90 para A/R y 0,94 para A/E y no tiene afectación por funcionamiento diferencial de los ítems por sexo (Guillén-Riquelme *et al.*, 2011).

Se realizó un análisis descriptivo (mediana, media y desviación estándar) de las variables categóricas del cuestionario de ansiedad STAI utilizando también el programa estadístico SAS 9.4 (Statistical Analysis Systems, SAS/STAT, Inst. Inc, Cary NC, EEUU). Por otro lado, se analizó el coeficiente de correlación de Pearson entre los resultados del test y los niveles hormonales de C, P<sub>4</sub>, E<sub>3</sub> y SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>.

En todos los análisis estadísticos el nivel de confianza es del 95% y se han considerado diferencias estadísticamente significativas para los valores  $p < 0,05$ . Los resultados se han expresado como media  $\pm$  error estándar.

## **7. Metodología para la construcción de un modelo de predicción del parto**

Se ha desarrollado un modelo matemático que predice la probabilidad de parto en la semana siguiente a aquella en la que se realiza la última recogida

de muestra a partir de la semana 37, con los niveles hormonales recogidos desde la semana 34 de gestación. Es decir, con los análisis hormonales de las semanas 34, 35, 36 y 37 se intenta predecir si el parto se va a producir en la semana 38... y así sucesivamente hasta la semana 41.

Para la consecución de nuestro objetivo contamos con la colaboración del Departamento de Estadística e Investigación Operativa de la Facultad de Matemáticas de la Universidad Complutense de Madrid. Se utilizó el software de minería de datos SAS Enterprise Miner®.

### 7.1 Agrupación de los datos disponibles:

La tabla siguiente recoge la proporción de mujeres de la muestra cuyo parto ha tenido lugar en la semana que se indica:

Semana	Partos	%
37	16	15,1%
38	30	28,3%
39	24	22,6%
40	20	18,9%
41	16	15,1%
	106	100%

Tabla 1. Porcentaje de mujeres que paren en la semana que se indica.

## 7.2 Definición de la variable a predecir (objetivo)

A partir de los datos disponibles, se ha definido una variable binaria para cada par M (mujer), S (semana) que identifica si la mujer M da a luz (1) o no (0) en la semana S. Esta es la variable cuyo valor se pretende predecir y su distribución por semanas se muestra en la tabla siguiente:

Objetivo		S: Semana parto				
		37	38	39	40	Total
M	0	90	60	36	16	202
	1	16	30	24	20	90
Total		106	90	60	36	292

Tabla 2. Variable binaria para mujer (M) y semana (S) que identifica si la mujer da a luz (1) o no (0).

Obsérvese que en la semana 37, 16 de las 106 mujeres paren mientras que las otras 90 pasan a la semana 38. De ellas, 30 paren en la semana 38 y las restantes 60 pasan a la 39; de las 60, 24 paren en la semana 39 y 36 pasan a la semana 40; de estas 36, 20 tienen su hijo en la semana 40 y las 16 restantes paren en la semana 41. De esta forma, una mujer que pare en la semana 40 tendrá el valor 0 para la variable objetivo en las semanas 37, 38 y 39 y el valor 1 para el objetivo de la 40. Obsérvese también que los 16 casos correspondientes a los partos de la semana 41, que no aparecen como tales en la tabla, serán casos identificados también con el valor 0 para el objetivo en la semana 40.

La tabla resultante dispone así de un total de 292 datos distribuidos en 202 casos con objetivo igual a 0 y 90 con objetivo igual a 1. Una vez definida la variable target (variable a predecir) es preciso definir las variables explicativas (inputs) que se utilizarán para realizar la predicción.

### **7.3 Definición de las variables explicativas (inputs)**

A partir de las mediciones temporales de los indicadores citados se han definido las siguientes variables explicativas. Siendo W la semana en la que se evalúa el objetivo (si la mujer dio o no a luz), se contemplan:

- 4 variables denominadas INDICATOR\_WEEK\_1 que reflejan el nivel del indicador en la semana anterior a W.
- 4 variables denominadas INDICATOR\_FORTNIGHT\_1 que reflejan el nivel medio del indicador en la quincena anterior a W, esto es, el promedio del indicador en las 2 últimas semanas.
- 4 variables denominadas INDICATOR\_MONTH\_1 que reflejan el nivel medio del indicador en el mes anterior a W, esto es, el promedio del indicador en las 4 últimas semanas.
- De esta manera, CORTISOL\_WEEK\_1 mide el valor de C en la semana anterior a W; ESTRIOL\_FORTNIGHT\_1 mide la media de los dos valores de E3 registrados en las dos semanas anteriores a W; PROGESTERONA\_MONTH\_1 mide la media de los cuatro valores de P4 registrados en las cuatro semanas anteriores a W, etc.

- 4 variables denominadas INDICATOR\_VAR\_WEEK que reflejan la variación porcentual del indicador entre las 2 semanas anteriores a W.
- 4 variables denominadas INDICATOR\_VAR\_FORTNIGHT que reflejan la variación porcentual del indicador entre las 2 últimas quincenas anteriores a W.

De esta manera, SO4E1\_VAR\_WEEK responde a la expresión:

$$SO4E1\_VAR\_WEEK = \frac{SOE41\_WEEK\_1 - SOE41\_WEEK\_2}{SOE41\_WEEK\_2}$$

siendo SO4E1\_WEEK\_1 la medición de SO4E1 anterior a la semana W y SO4E1\_WEEK\_2 la medición de SO4E1 que se produce dos semanas antes de la semana W.

Análogamente, SO4E1\_VAR\_MONTH responde a la expresión:

$$SO4E1\_VAR\_MONTH = \frac{SOE41\_FORTNIGHT\_1 - SOE41\_FORTNIGHT\_2}{SOE41\_FORTNIGHT\_2}$$

siendo SO4E1\_FORTNIGHT\_1 la medición de SO4E1 obtenida como promedio de las dos semanas anterior a la semana W y SO4E1\_FORTNIGHT\_2 la medición de SO4E1 obtenida como promedio de las semanas que integran la quincena anterior.

- Finalmente se han contemplado otras **2 variables explicativas**:
  - EDAD. - variable continua que hace referencia a la edad de la mujer.

- PRIMÍPARA. - variable binaria que identifica si es la primera vez (valor 1) o no (valor 0) que la mujer pare.

La tabla resultante, compuesta por el par (Mujer, Semana), la variable objetivo binaria (parto o no parto) y **las 22 variables explicativas**, es la que ha servido de entrada a los modelos matemáticos ajustados.

#### **7.4 Modelización matemática.**

A continuación, se detallarán las diferentes fases contempladas en el proceso de modelización matemática:

- ✓ Construcción de muestras de entrenamiento y test.
- ✓ Tratamiento de datos.
- ✓ Modelos implementados.
- ✓ Ajuste de modelo matemático.
- ✓ Validación de resultados.

##### **7.4.1 Construcción de muestras de entrenamiento, validación y test.**

En primer lugar, para buscar la capacidad de generalización del modelo es preciso dividir en dos el conjunto de datos disponible. Uno denominado conjunto de **aprendizaje** que se utilizará para construir el modelo analítico y otro denominado conjunto de **test o de prueba**, que se utilizará para comprobar que el modelo tiene capacidad predictiva. El porcentaje de registros reservado para uno y otro conjunto ha sido de  $2/3$  y  $1/3$  respectivamente,

siendo esta la proporción habitualmente utilizada para el ajuste de modelos analíticos.

Es importante reseñar que esta separación no ha sido realizada de forma aleatoria sobre la tabla construida, sino que se ha hecho de manera que los conjuntos de pacientes registrados en una y otra tabla sean excluyentes. Dado que, según la tabla de datos preparada, una misma mujer puede tener varios registros asociados a cada una de las semanas en la que se realiza la medición del target (objetivo), se ha forzado a que el colectivo de mujeres registradas en una y otra tabla sea disjunto, con la idea que garantizar que el modelo funcione bien sobre mujeres distintas a aquellas que han constituido su muestra de aprendizaje. De acuerdo a esta consideración, de las 106 mujeres disponibles, 71 han ido a dicha tabla y 35 a la de test, siendo la distribución del objetivo en una y otra tabla la que se muestra a continuación:

Objetivo	Semana parto				
Aprendizaje	37	38	39	40	Total
0	60	40	24	11	135
1	11	20	16	13	60
Total	71	60	40	24	292

Objetivo	Semana parto				
Test	37	38	39	40	Total
0	30	20	12	5	67
1	5	10	8	7	30
Total	35	30	20	12	97

Tabla 3. Conjunto de aprendizaje y conjunto de test o prueba.

En la tabla de aprendizaje, hay 11 mujeres que dan a luz en la semana 41 (los 11 casos negativos de la semana 40), mientras que en la de test esta misma situación se presenta en 5 casos (ambas celdas señaladas en color azul en las tablas).

Debido al tamaño reducido de la muestra de aprendizaje, en el proceso de ajuste del modelo se ha recurrido a una estrategia de validación cruzada utilizando como métrica a maximizar la tasa de acierto del modelo, esto es, la proporción de pronósticos en los que se acierta el modelo.

#### **7.4.2 Tratamiento de datos.**

En la tabla de partida, existen semanas en las que no se dispone de medida de alguno de los indicadores para ciertas mujeres.

Antes de la definición de las variables presentadas en el apartado anterior, se ha procedido a la imputación de dichos valores, mediante métodos de interpolación lineal. Este método consiste en ajustar una recta entre los dos valores que haya informado y proponer como valor a imputar el proporcionado por dicha recta.

Ejemplo de la tabla:

ID	INDICADOR	S_13	S_14	S_15	S_16	S_17
EC-130	CORTISOL	0,64	.	.	.	0,88
EC-130	CORTISOL IMPUTADO	0,64	0,70	0,76	0,82	0,88

La recta sería:

$$\mathbf{CORTISOL = 0,06(SEMANA - 13) + 0,64}$$

Observa que:

cuando semana =14, CORTISOL = 0,06+0,64 = 0,70

cuando semana = 15, CORTISOL = 0,06\*2+0,64 = 0,76

cuando semana = 16, CORTISOL = 0,06+0,64 = 0,82

#### **7.4.3 Modelos implementados.**

Se han ajustado dos tipos de modelos: uno de **regresión logística** y un **modelo de random forest**.

Se ha decidido ajustar dos tipos de modelos. Por un lado, uno de tipo regresión logística, al ser un referente dentro del ámbito biosanitario por su facilidad para ser interpretado. Por otro lado, uno más competitivo desde el punto de vista predictivo, aunque más complejo de interpretar como es el random forest. La idea que subyace bajo esta comparativa, es saber si la ganancia en términos de acierto a la hora de predecir si una mujer dará o no a luz la semana siguiente a la medición de los indicadores hormonales, justifica sacrificar la capacidad interpretativa.

Los resultados obtenidos con cada uno de los modelos se exponen en el capítulo de resultados.

ACRÓNIMOS

RESUMEN

SUMMARY

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

**RESULTADOS**

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA



## 1. Validación de las técnicas EIA.

La validación del EIA para las hormonas: C, E<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> y P<sub>4</sub> se basó en los resultados de: porcentaje de recuperación, precisión, límite de detección y paralelismo.

Los porcentajes de recuperación se calcularon añadiendo cantidades conocidas de C, E<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> y P<sub>4</sub> a la saliva. La Tabla 1 muestra los rangos de tasas de recuperación promediadas para saliva: 90,08 ± 3,29 a 99,65 ± 2,01 %.

Pg añadidos	Cortisol		Estriol	
	(pg/ml)		(pg/ml)	
<b>0</b>	0,00	4200,00	0,00	920,00
<b>100</b>	94,48 (94,48)	4186 (97,34)	94,68 (94,68)	1037,04 (101,67)
<b>1.000</b>	998,34 (99,83)	5032 (96,76)	868,32 (86,83)	1874,76 (97,64)
<b>Media</b>	<b>97,15±2,67</b>	<b>94,29±3,85</b>	<b>90.75±3.92</b>	<b>99,65±2,01</b>
	Sulfato de Estrona		Progesterona	
	(pg/ml)		(pg/ml)	
<b>0</b>	0,00	130,00	0,00	110,00
<b>100</b>	86,79 (86,79)	216,62 (94,18)	93,34 (93,34)	198,97 (90,44)
<b>1.000</b>	933,76 (93,37)	1043,84 (92,37)	1040.82 (104.08)	1089,37 (98,14)
<b>Media</b>	<b>90,08±3,29</b>	<b>93,27±0,90</b>	<b>98,71±5,37</b>	<b>94,29±3,85</b>

Tabla 1: Porcentajes de recuperación y concentraciones hormonales después de la adición de P<sub>4</sub>, C, E<sub>3</sub> y SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> a diferentes pools de muestras de saliva.

La precisión del EIA de C, E<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> y P<sub>4</sub> se determinó calculando los coeficientes de variación intra e inter-ensayo (% CV). El CV intra-ensayo (%) se calculó mediante mediciones repetidas de tres concentraciones estándar (1, 10 y 100 pg/pocillo) de C, E<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> y P<sub>4</sub> añadidas a la saliva. Cada muestra se analizó por triplicado, 10 veces en un ensayo. El CV inter-ensayo (%) se calculó mediante las mediciones repetidas de las muestras mencionadas anteriormente en 10 ensayos consecutivos. Tanto el CV intra e inter-ensayo (%) se resumen en la Tabla 2.

	Intra-ensayo (%)	Inter-ensayo (%)
<b>Cortisol</b>	4,8 ± 1,02	7,4 ± 1,23
<b>Estriol</b>	6,7 ± 1,32	9,1 ± 2,14
<b>Sulfato de estrona</b>	2,9 ± 0,84	6,5 ± 1,36
<b>Progesterona</b>	3,2 ± 0,98	5,3 ± 0,89

Tabla 2: Coeficientes Intra- e inter-ensayo (%) para P<sub>4</sub>, C, E<sub>3</sub> y SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> en muestras de saliva.

La sensibilidad del EIA se probó mediante el límite de detección, según lo definido por Abraham *et al.*, 1975, y se calculó a partir de B<sub>0</sub>-2SD en 10 ensayos consecutivos, y fue:

- P<sub>4</sub>= 12,81 pg/pocillo.
- C= 2,48 pg /pocillo.
- SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>= 4,24 pg/pocillo.
- E<sub>3</sub>= 1,87 pg/pocillo.

Para determinar los efectos de la saliva en la curva estándar, se realizaron curvas estándar en saliva que se corrieron en paralelo con la curva dosis-respuesta realizadas en EIA buffer. Hubo un buen grado de paralelismo entre ambas curvas estándar para las hormonas estudiadas: C, E<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> y P<sub>4</sub> (Tabla 3).

		<b>Fórmula de la Curva</b>	<b>P</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Cortisol</b> <b>(ng/ml)</b>	Estándar	$Y = 1,75 - 0,00010X$	0,84	0,84
	Saliva	$Y = 1,74 - 0,00012X$		
<b>Estriol</b> <b>(pg/ml)</b>	Estándar	$Y = 1,75 - 0,00011X$	0,81	0,89
	Saliva	$Y = 1,76 - 0,00010X$		
<b>Sulfato de estrona</b> <b>(ng/ml)</b>	Estándar	$Y = 1,75 - 0,00012X$	0,90	0,83
	Saliva	$Y = 1,73 - 0,00012 X$		
<b>Progesterona</b> <b>(ng/ml)</b>	Estándar	$Y = 1,75 - 0,00011X$	0,87	0,86
	Saliva	$Y = 1,78 - 0,00010X$		

Tabla 3: Fórmula lineal de la curva dosis-respuesta estándar diluida en EIA buffer o en muestras de saliva.

## **2. Evolución de las concentraciones de Cortisol desde la semana 12 hasta las semanas 37, 38, 39, 40 y 41.**

Las concentraciones de Cortisol a lo largo de la gestación (semana 12 a la 41) están representadas en las figuras: 1-5.

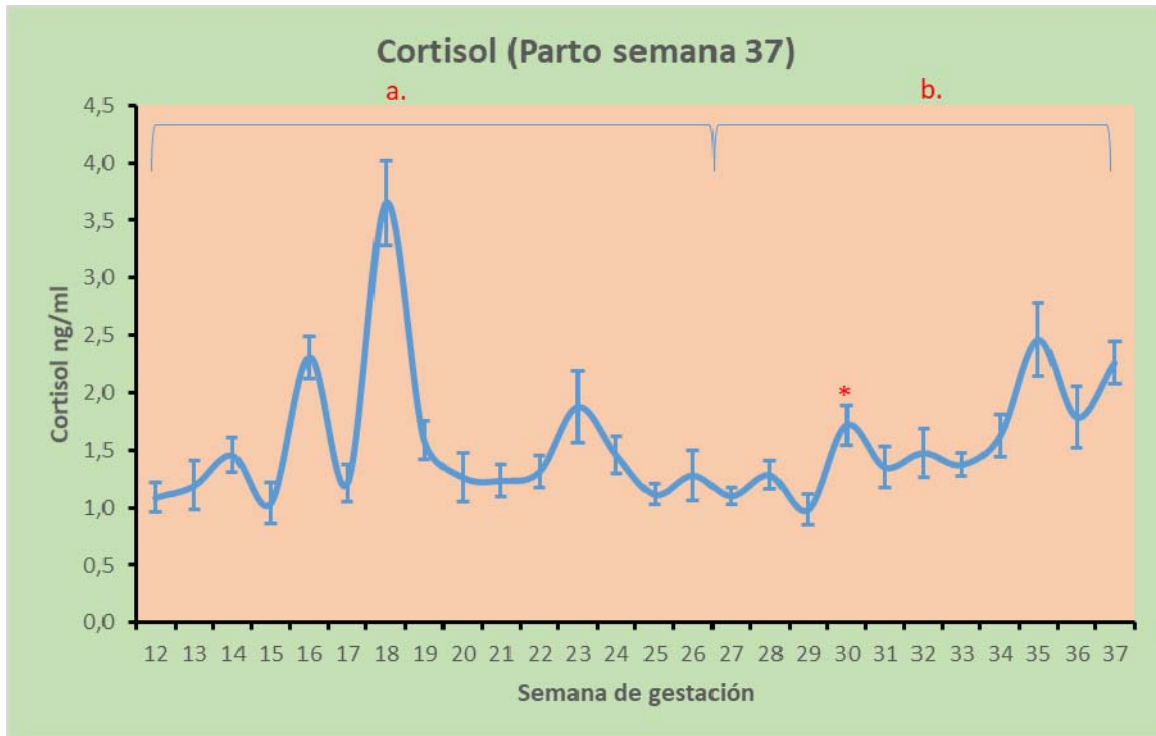
Durante el segundo trimestre de gestación (periodo comprendido entre las semanas 12 a 26), los niveles de C en las mujeres que parieron las semanas 37 y 38: se incrementan significativamente ( $p < 0,05$ ) en la semana 16, donde el C obtiene un valor de  $2,31 \pm 0,18$  ng/ml; en la semana 18 el C llegó a su valor máximo de  $3,65 \pm 0,37$  ng/ml; y en la semana 23 el C alcanza  $1,87 \pm 0,31$  ng/ml. En las mujeres con parto en la semana 39: destacan elevaciones estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en la semana 16 de  $1,87 \pm 0,18$  ng/ml; otra en la semana 18 con un máximo de  $3,34 \pm 0,27$  ng/ml; y un incremento en la semana 20 de  $1,40 \pm 0,13$  ng /ml. En las mujeres con parto en la semana 40 los niveles medios de C mantienen un ascenso gradual hasta la semana 23, donde destaca en la semana 16 un pico estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) con valor de  $2,97 \pm 0,44$  ng/ml; y otro aumento en la semana 18 estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) de  $3,21 \pm 0,33$  ng/ml. Por último, en las mujeres con parto en la semana 41, los niveles de C mantienen un ligero aumento, destacando un incremento estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) en la semana 18 donde C alcanza un valor de  $2,95 \pm 0,44$  ng/ml, para luego decrecer a los valores medios.

En el tercer trimestre, periodo comprendido entre semana 27 a la semana de parto, se muestra un leve aumento de los niveles de C en las mujeres que paren en la semana 37. Resalta el incremento estadísticamente significativo de C en la semana 30 con un valor de  $1,78 \pm 0,18$  ng/ml y un pico en la semana 35 de  $2,42 \pm 0,35$  ng/ml.

En las mujeres que tuvieron el parto en las semanas 38-41: los niveles de C se mantienen constantes hasta la semana 35, en la que los valores medios de C tienen un rápido ascenso, estadísticamente significativo, hasta  $2,85 \pm 0,19$  ng/ml, para después disminuir ligeramente en la semana 36. A partir de la semana 37 se elevan las concentraciones hasta obtener el valor máximo en la semana del parto.

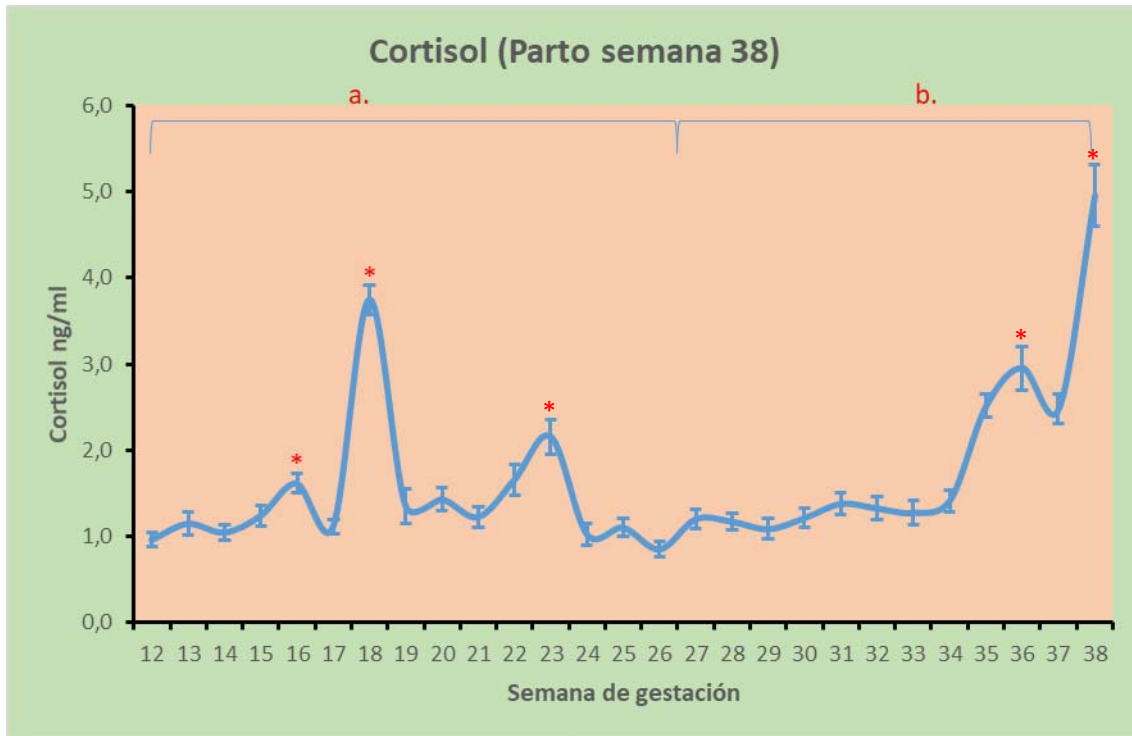
- ❖ Semana 38:  $4,95 \pm 0,36$ .
- ❖ Semana 39:  $5,17 \pm 0,38$ .
- ❖ Semana 40:  $6,23 \pm 0,61$ .
- ❖ Semana 41:  $6,33 \pm 0,87$ .

Cabe destacar la diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre las concentraciones de C en el segundo y tercer trimestre de gestación en todas las mujeres analizadas, excepto las mujeres que paren en la semana 37.



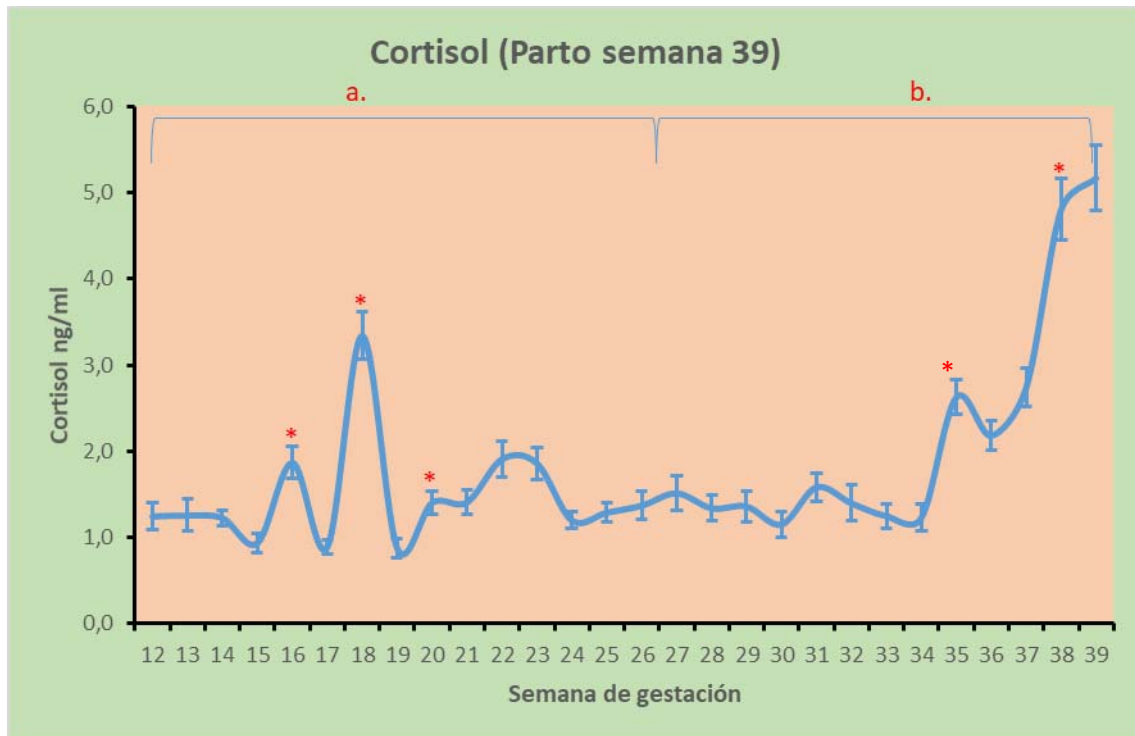
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,09 ± 0,13	22	1,31 ± 0,14	32	1,48 ± 0,21
13	1,19 ± 0,21	23	1,87 ± 0,14	33	1,37 ± 0,10
14	1,46 ± 0,15	24	1,46 ± 0,16	34	1,63 ± 0,18
15	1,04 ± 0,18	25	1,12 ± 0,09	35	2,46 ± 0,32*
16	2,31 ± 0,18*	26	1,28 ± 0,21	36	1,79 ± 0,27
17	1,21 ± 0,16	27	1,10 ± 0,07	37	2,26 ± 0,18
18	3,65 ± 0,37*	28	1,28 ± 0,12		
19	1,58 ± 0,17	29	0,98 ± 0,13		
20	1,26 ± 0,21	30	1,72 ± 0,13		
21	1,24 ± 0,14	31	1,35 ± 0,18		

Figura 1. Niveles de Cortisol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 37 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



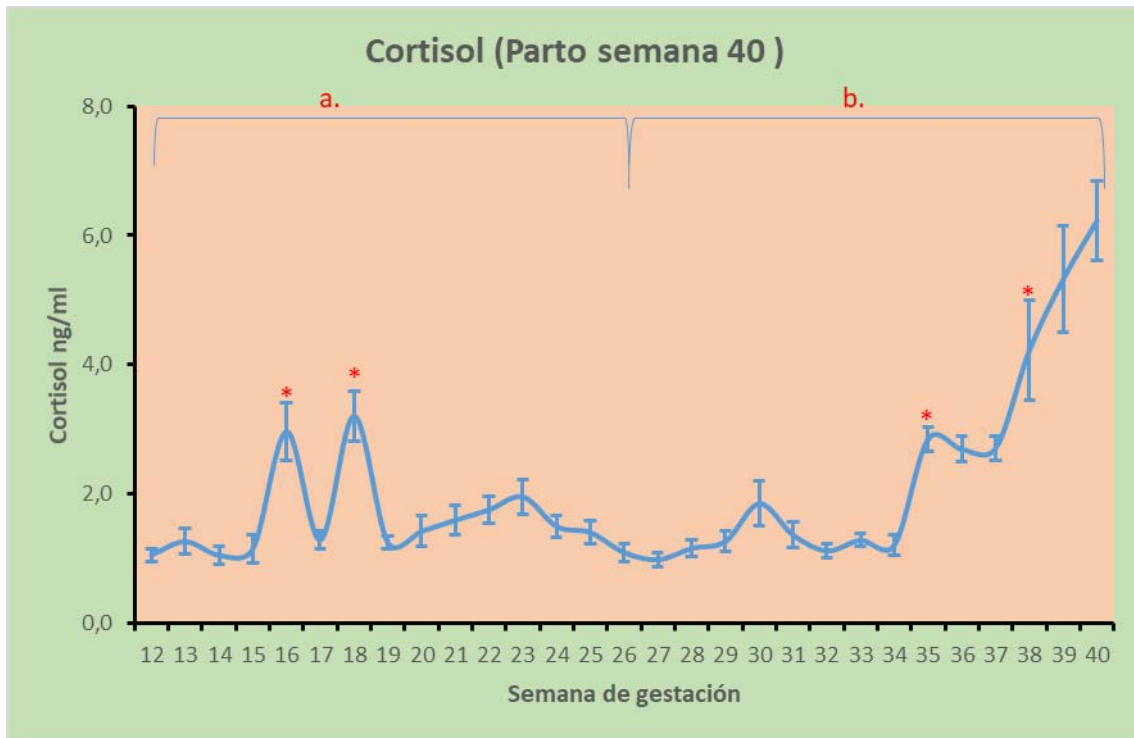
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	0,96 ± 0,08	22	1,66 ± 0,18	32	1,33 ± 0,14
13	1,15 ± 0,13	23	2,16 ± 0,20*	33	1,27 ± 0,14
14	1,05 ± 0,09,	24	1,02 ± 0,12	34	1,42 ± 0,13
15	1,24 ± 0,12	25	1,10 ± 0,10	35	2,51 ± 0,13
16	1,62 ± 0,11*	26	0,85 ± 0,08	36	2,95 ± 0,25*
17	1,11 ± 0,09	27	1,20 ± 0,11	37	2,48 ± 0,17
18	3,75 ± 0,17*	28	1,17 ± 0,09	38	4,95 ± 0,36*
19	1,35 ± 0,20	29	1,09 ± 0,12		
20	1,43 ± 0,14	30	1,22 ± 0,11		
21	1,23 ± 0,12	31	1,38 ± 0,13		

Figura 2. Niveles de Cortisol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 38 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



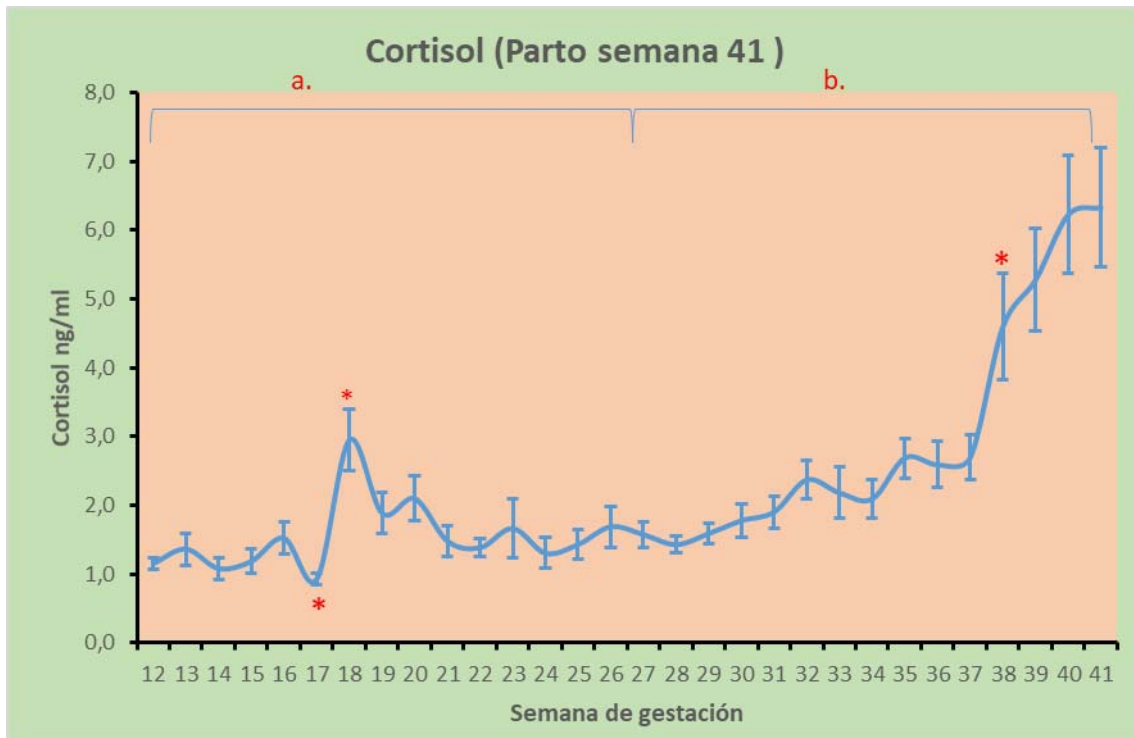
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,24 ± 0,15	22	1,91 ± 0,20	32	1,40 ± 0,21
13	1,26 ± 0,19	23	1,86 ± 0,19	33	1,25 ± 0,15
14	1,23 ± 0,09	24	1,20 ± 0,09	34	1,23 ± 0,16
15	0,94 ± 0,11	25	1,29 ± 0,11	35	2,63 ± 0,20*
16	1,87 ± 0,18*	26	1,37 ± 0,16	36	2,18 ± 0,17
17	0,89 ± 0,08	27	1,51 ± 0,20	37	2,74 ± 0,22
18	3,34 ± 0,27*	28	1,34 ± 0,15	38	4,81 ± 0,35*
19	0,88 ± 0,11	29	1,36 ± 0,18	39	5,17 ± 0,38
20	1,40 ± 0,13*	30	1,15 ± 0,15		
21	1,41 ± 0,14	31	1,58 ± 0,17		

Figura 3. Niveles de Cortisol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 39 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,06 ± 0,10	22	1,76 ± 0,21	32	1,12 ± 0,10
13	1,27 ± 0,20	23	1,96 ± 0,26	33	1,29 ± 0,10
14	1,06 ± 0,14	24	1,50 ± 0,17	34	1,21 ± 0,15
15	1,15 ± 0,22	25	1,41 ± 0,18	35	2,85 ± 0,19*
16	2,97 ± 0,44*	26	1,10 ± 0,14	36	2,69 ± 0,20
17	1,30 ± 0,14	27	0,99 ± 0,11	37	2,71 ± 0,19
18	3,21 ± 0,38*	28	1,16 ± 0,13	38	4,22 ± 0,77*
19	1,25 ± 0,10	29	1,27 ± 0,15	39	5,33 ± 0,82
20	1,43 ± 0,24	30	1,85 ± 0,35	40	6,23 ± 0,61
21	1,60 ± 0,24	31	1,37 ± 0,20		

Figura 4. Niveles de Cortisol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 40 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,16 ± 0,09	22	1,38 ± 0,14	32	2,37 ± 0,28
13	1,36 ± 0,23	23	1,66 ± 0,42	33	2,18 ± 0,38
14	1,08 ± 0,16	24	1,30 ± 0,23	34	2,09 ± 0,27
15	1,19 ± 0,18	25	1,43 ± 0,21	35	2,69 ± 0,29
16	1,52 ± 0,23	26	1,69 ± 0,30	36	2,59 ± 0,34
17	0,92 ± 0,09*	27	1,57 ± 0,19	37	2,70 ± 0,33
18	2,95 ± 0,44*	28	1,43 ± 0,12	38	4,60 ± 0,77*
19	1,88 ± 0,30	29	1,59 ± 0,15	39	5,28 ± 0,75
20	2,10 ± 0,33	30	1,78 ± 0,24	40	6,22 ± 0,85
21	1,48 ± 0,22	31	1,90 ± 0,23	41	6,33 ± 0,87

Figura 5. Niveles de Cortisol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 41 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).

### **3. Evolución de las concentraciones de Estriol desde la semana 12 hasta las semanas 37, 38, 39, 40 y 41.**

Las concentraciones de Estriol a lo largo de la gestación (semanas 12 a la 41) están representadas en las figuras: 1 -5.

Durante el segundo trimestre de gestación, los niveles de E<sub>3</sub> en las mujeres que parieron en las semanas 37 y 38, ocurren variaciones semejantes a las observadas en las concentraciones de C: las concentraciones de E<sub>3</sub> aumentan significativamente ( $p < 0,05$ ) en la semana 16 donde se obtiene un valor de  $2,66 \pm 0,36$  ng/ml; en la semana 18 el E<sub>3</sub> llegó a su valor máximo de  $3,34 \pm 0,37$  ng/ml; y en la semana 23 donde E<sub>3</sub> alcanza  $2,89 \pm 0,15$  ng/ml. En las mujeres de la semana 39, destacan dos ligeros aumentos estadísticamente significativos en la semana 16 con valor  $2,68 \pm 0,24$  ng/ml; y en la semana 18 con valor de  $3,41 \pm 0,26$  ng/ml.

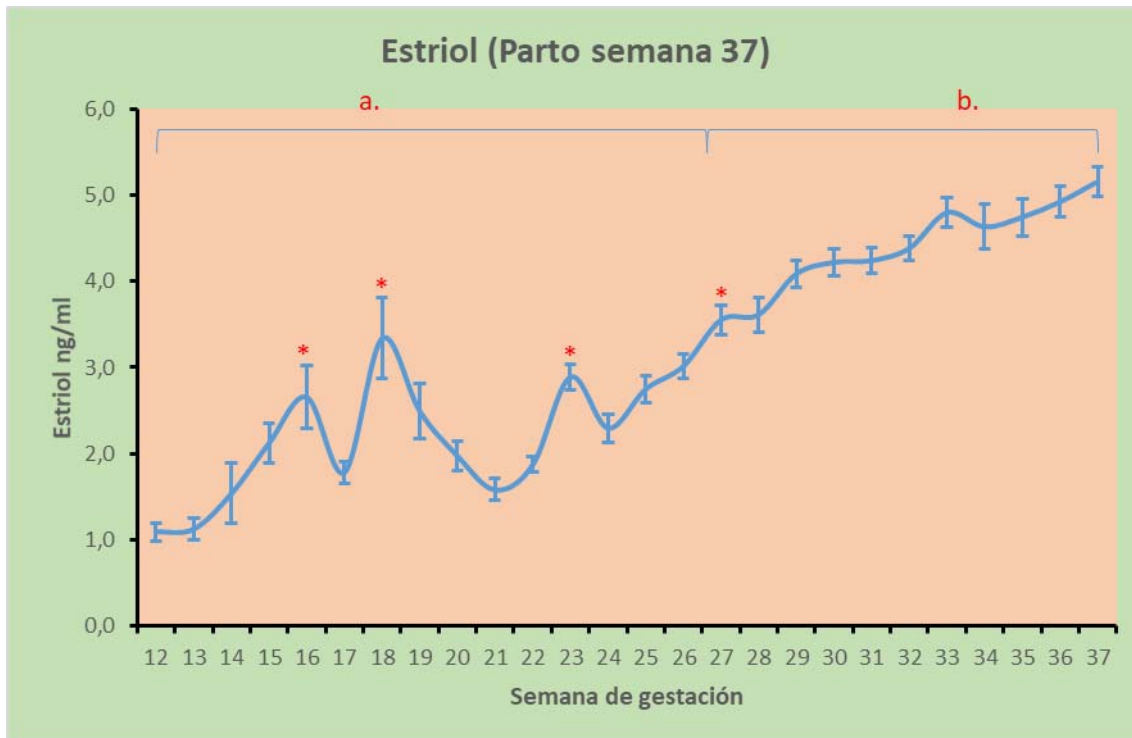
En las mujeres que paren en la semana 40, el valor de E<sub>3</sub> es similar al de la semana 39, aunque los ligeros aumentos de E<sub>3</sub> se producen en la semana 17 con valores de  $2,57 \pm 0,39$  ng/ml; y en la semana 19 con valores de  $3,23 \pm 0,26$  ng/ml. Y por último en las mujeres que paren en la semana 41, los niveles de E<sub>3</sub> presentan un ligero aumento en las semanas 16 y la 18, aunque estos aumentos no son estadísticamente significativos.

En el tercer trimestre, se observa como las concentraciones de E<sub>3</sub> van aumentando a medida que transcurren las semanas de gestación. Es llamativo

que a partir de la semana 37 se produce una elevación significativa de  $E_3$  en las mujeres que tuvieron el parto entre las semanas 38 a 41. En todas estas semanas la máxima concentración se obtuvo en la semana del parto.

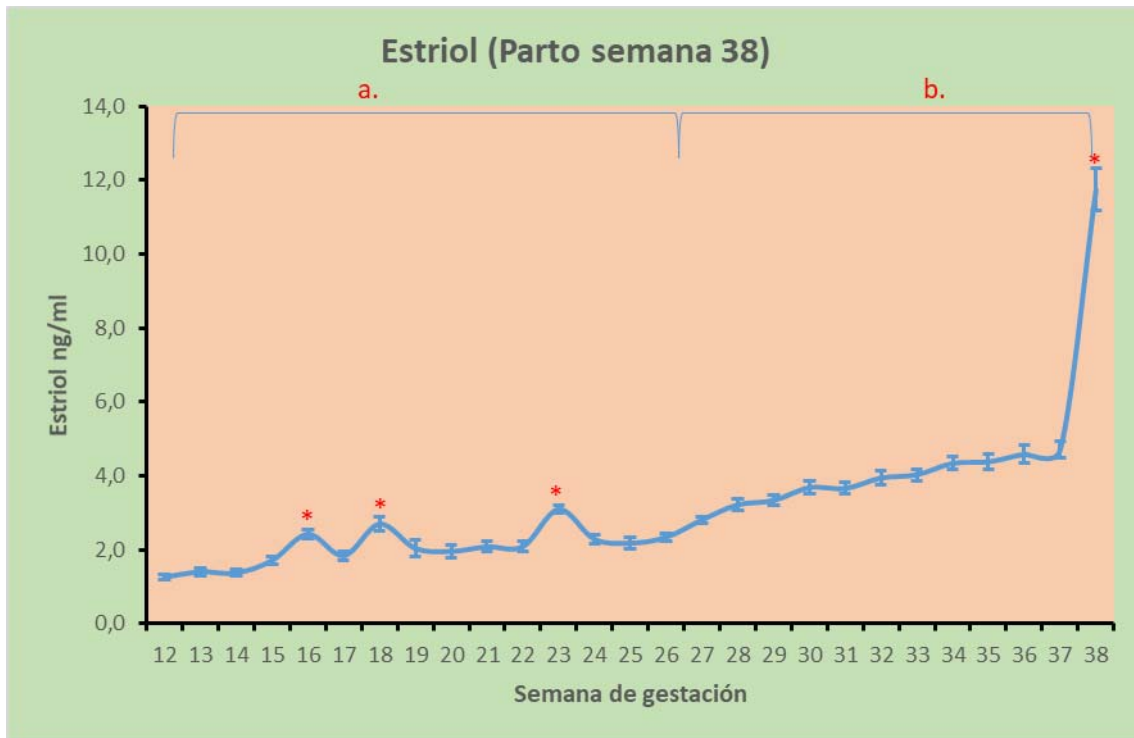
- ❖ Semana 38:  $11,74 \pm 0,57$ .
- ❖ Semana 39:  $15,96 \pm 0,96$ .
- ❖ Semana 40:  $17,08 \pm 0,72$ .
- ❖ Semana 41:  $20,16 \pm 0,84$ .

También se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de  $E_3$  en el segundo y tercer trimestre de gestación.



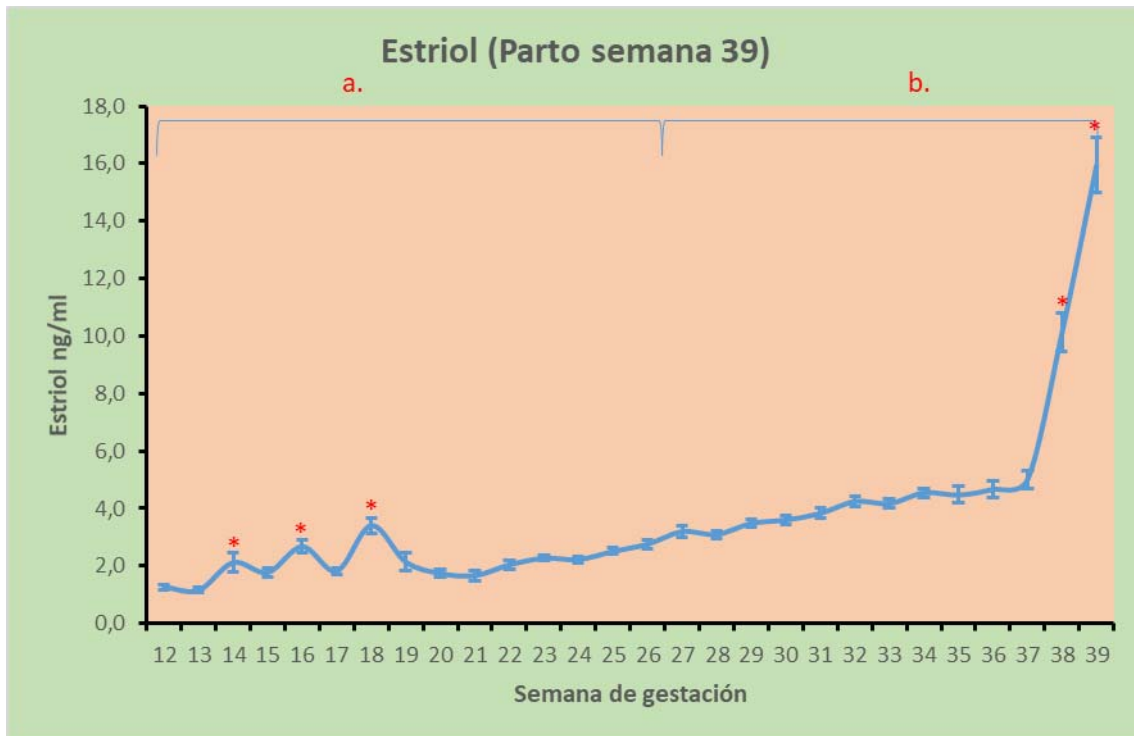
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,09 ± 0,10	22	1,87 ± 0,09	32	4,38 ± 0,14
13	1,13 ± 0,13	23	2,89 ± 0,15*	33	4,80 ± 0,17
14	1,54 ± 0,35	24	2,30 ± 0,16	34	4,63 ± 0,26
15	2,12 ± 0,23	25	2,75 ± 0,15	35	4,75 ± 0,21
16	2,66 ± 0,36*	26	3,02 ± 0,14	36	4,92 ± 0,18
17	1,78 ± 0,12	27	3,55 ± 0,17*	37	5,16 ± 0,17
18	3,34 ± 0,47*	28	3,61 ± 0,20		
19	2,49 ± 0,32	29	4,09 ± 0,16		
20	1,98 ± 0,17	30	4,22 ± 0,16		
21	1,58 ± 0,13	31	4,24 ± 0,14		

Figura 1. Niveles de Estril (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 37 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



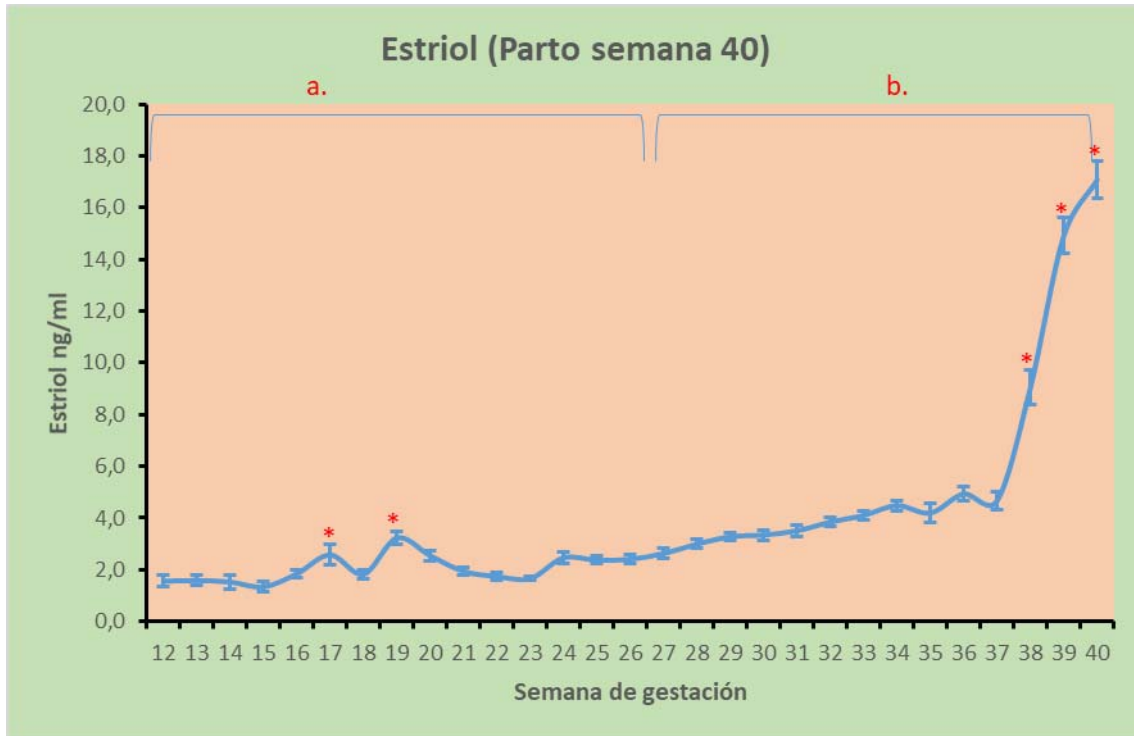
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,26 ± 0,08	22	2,08 ± 0,15	32	3,94 ± 0,20
13	1,40 ± 0,11	23	3,09 ± 0,11*	33	4,03 ± 0,16
14	1,37 ± 0,08	24	2,28 ± 0,11	34	4,33 ± 0,17
15	1,71 ± 0,11	25	2,17 ± 0,15	35	4,38 ± 0,21
16	2,42 ± 0,13*	26	2,33 ± 0,09	36	4,58 ± 0,23
17	1,84 ± 0,12	27	2,80 ± 0,09	37	4,70 ± 0,22
18	2,69 ± 0,19*	28	3,21 ± 0,14	38	11,74 ± 0,57*
19	2,03 ± 0,22	29	3,33 ± 0,14		
20	1,95 ± 0,17	30	3,68 ± 0,17		
21	2,08 ± 0,14	31	3,66 ± 0,15		

Figura 2. Niveles de Estriol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 38 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



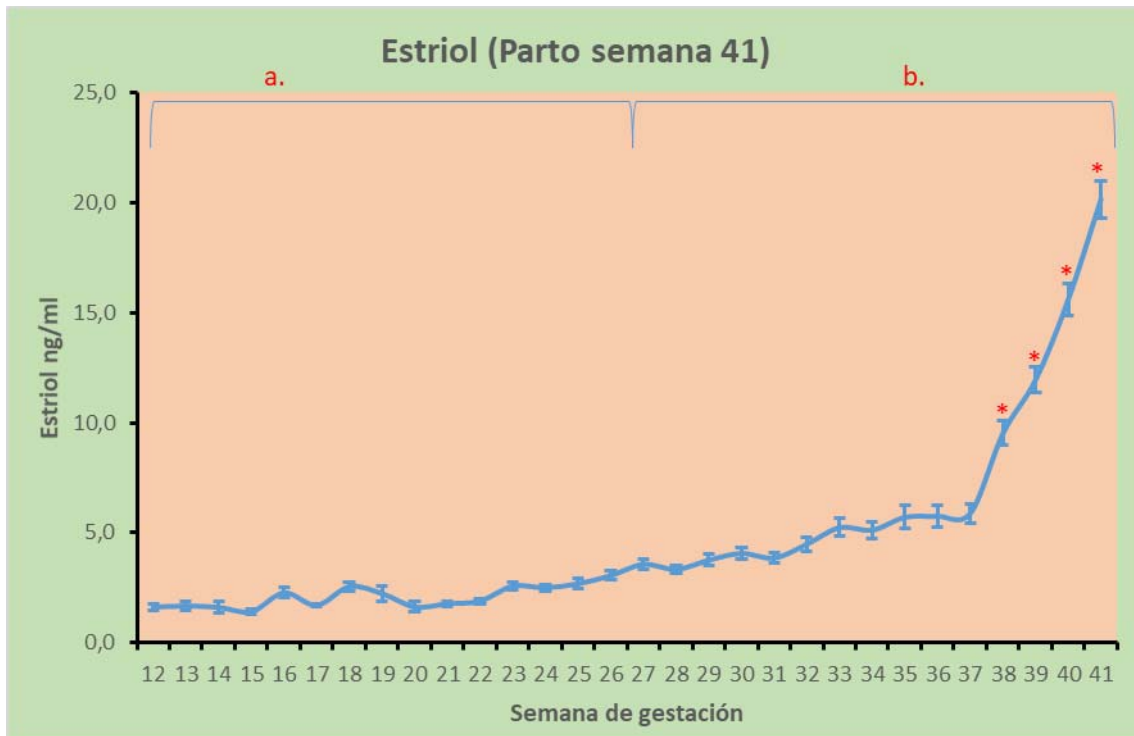
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,28 ± 0,09	22	2,04 ± 0,15	32	4,25 ± 0,18
13	1,16 ± 0,09	23	2,27 ± 0,09	33	4,18 ± 0,15
14	2,12 ± 0,34*	24	2,23 ± 0,12	34	4,55 ± 0,16
15	1,78 ± 0,16	25	2,51 ± 0,11	35	4,47 ± 0,29
16	2,68 ± 0,24*	26	2,76 ± 0,15	36	4,67 ± 0,29
17	1,83 ± 0,11	27	3,20 ± 0,18	37	5,01 ± 0,30
18	3,41 ± 0,26*	28	3,10 ± 0,13	38	10,13 ± 0,69*
19	2,14 ± 0,32	29	3,48 ± 0,15	39	15,96 ± 0,96*
20	1,74 ± 0,12	30	3,60 ± 0,16		
21	1,67 ± 0,18	31	3,83 ± 0,18		

Figura 3. Niveles de Estríol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 39 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,56 ± 0,21	22	1,75 ± 0,14	32	3,85 ± 0,15
13	1,59 ± 0,20	23	1,66 ± 0,08	33	4,10 ± 0,18
14	1,53 ± 0,29	24	2,47 ± 0,22	34	4,49 ± 0,20
15	1,34 ± 0,19	25	2,37 ± 0,15	35	4,20 ± 0,37
16	1,85 ± 0,16	26	2,41 ± 0,19	36	4,94 ± 0,26
17	2,57 ± 0,39*	27	2,63 ± 0,21	37	4,67 ± 0,36
18	1,83 ± 0,18	28	3,00 ± 0,17	38	9,06 ± 0,65*
19	3,23 ± 0,26*	29	3,28 ± 0,17	39	14,92 ± 0,69*
20	2,55 ± 0,19	30	3,35 ± 0,20	40	17,08 ± 0,72*
21	1,94 ± 0,16	31	3,51 ± 0,21		

Figura 4. Niveles de Estríol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 40 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,63 ± 0,17	22	1,90 ± 0,12	32	4,48 ± 0,32
13	1,68 ± 0,19	23	2,58 ± 0,15	33	5,24 ± 0,41
14	1,62 ± 0,27	24	2,51 ± 0,16	34	5,13 ± 0,38
15	1,42 ± 0,12	25	2,69 ± 0,22	35	5,71 ± 0,51
16	2,28 ± 0,24*	26	3,06 ± 0,19	36	5,75 ± 0,50
17	1,71 ± 0,08	27	3,57 ± 0,24	37	5,88 ± 0,44
18	2,56 ± 0,20	28	3,34 ± 0,20	38	9,51 ± 0,56*
19	2,24 ± 0,34	29	3,76 ± 0,26	39	11,96 ± 0,56*
20	1,64 ± 0,24	30	4,07 ± 0,24	40	15,60 ± 0,72*
21	1,78 ± 0,11	31	3,86 ± 0,22	41	20,16 ± 0,84*

Figura 5. Niveles de Estríol (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 41 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).

#### 4. Evolución de las concentraciones de Sulfato de Estrona desde la semana 12 hasta la semana 37, 38, 39, 40 y 41.

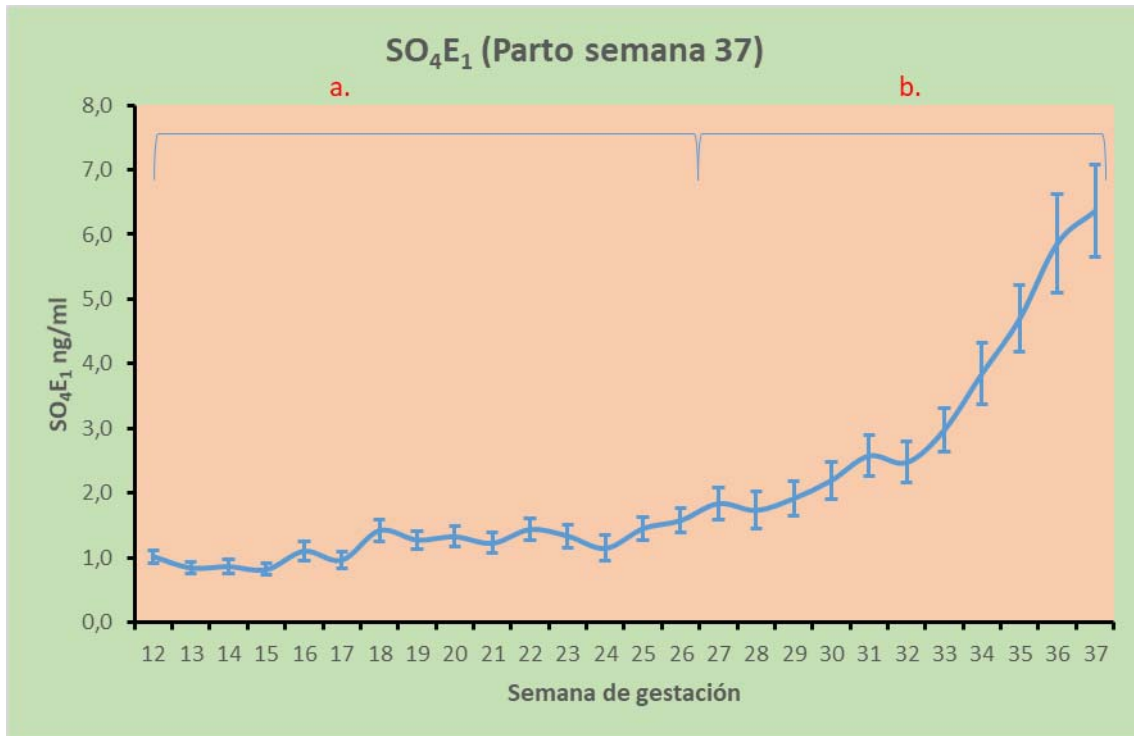
Las concentraciones de Sulfato de Estrona a lo largo de la gestación (semanas 12 a la 41) están representadas en las figuras: 1-5.

Durante el segundo trimestre de gestación, los niveles de  $SO_4E_1$  en las mujeres que parieron entre las semanas 37 a la 41 presentan un ligero aumento en las semanas 16 y 18, aunque estos aumentos no son estadísticamente significativos.

En el tercer trimestre, se observa como las concentraciones de  $SO_4E_1$  van aumentando a medida que transcurren las semanas de gestación. En esta hormona, los valores comienzan a elevarse de manera significativa a partir de la semana 35. Al igual que ocurría con las concentraciones de  $E_3$ , la máxima concentración se obtuvo en la semana del parto.

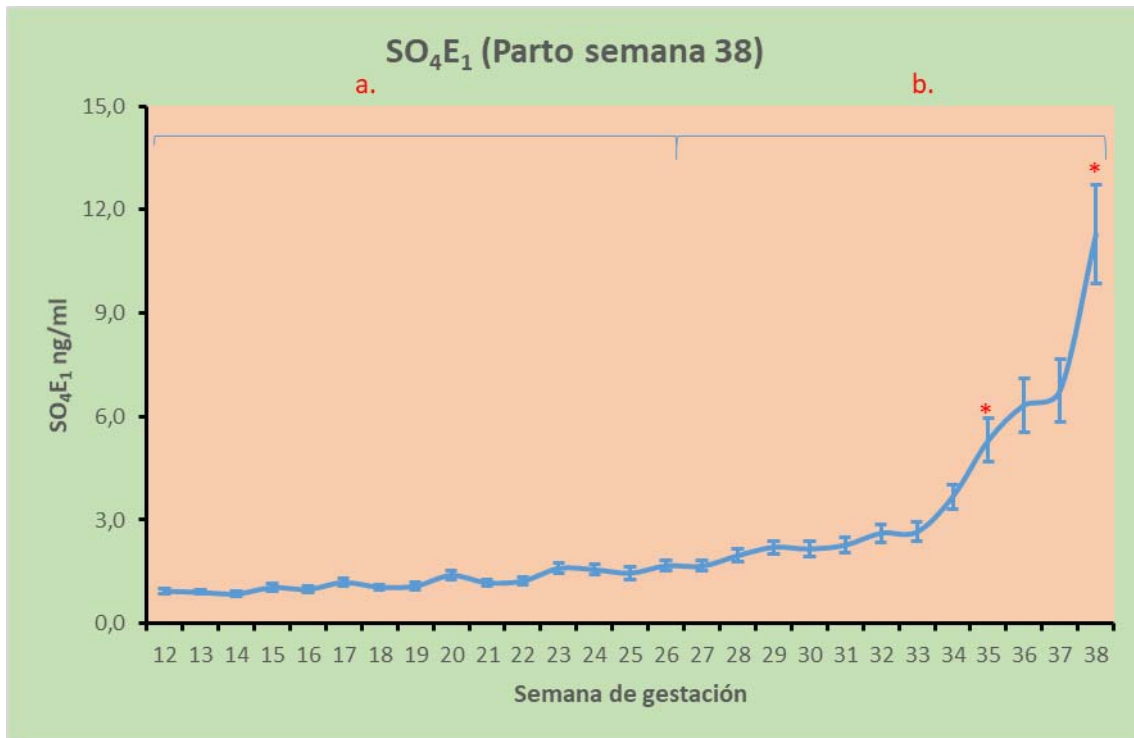
- ❖ Semana 37:  $6,36 \pm 0,71$ .
- ❖ Semana 38:  $11,29 \pm 1,42$ .
- ❖ Semana 39:  $13,46 \pm 1,32$ .
- ❖ Semana 40:  $20,29 \pm 2,81$ .
- ❖ Semana 41:  $29,94 \pm 2,27$ .

En el caso del  $\text{SO}_4\text{E}_1$  también se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de  $\text{SO}_4\text{E}_1$  en el segundo y tercer trimestre de gestación en todas las mujeres analizadas.



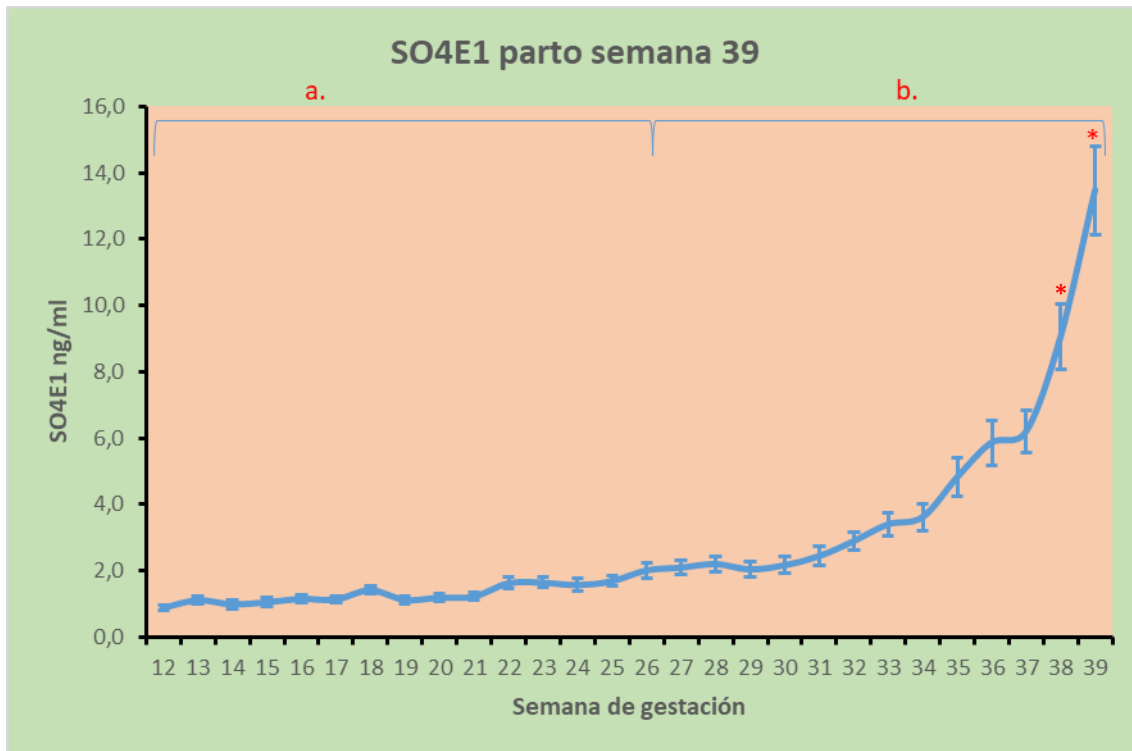
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,02 ± 0,10	22	1,44 ± 0,17	32	2,47 ± 0,32
13	0,84 ± 0,09	23	1,34 ± 0,17	33	2,98 ± 0,34
14	0,86 ± 0,11	24	1,15 ± 0,19	34	3,85 ± 0,48
15	0,82 ± 0,09	25	1,45 ± 0,17	35	4,70 ± 0,52
16	1,10 ± 0,14	26	1,58 ± 0,19	36	5,86 ± 0,76
17	0,96 ± 0,13	27	1,84 ± 0,24	37	6,36 ± 0,71
18	1,42 ± 0,16	28	1,73 ± 0,29		
19	1,28 ± 0,14	29	1,92 ± 0,26		
20	1,33 ± 0,16	30	2,20 ± 0,28		
21	1,23 ± 0,16	31	2,58 ± 0,31		

Figura 1. Niveles de Sulfato de Estrona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 37 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



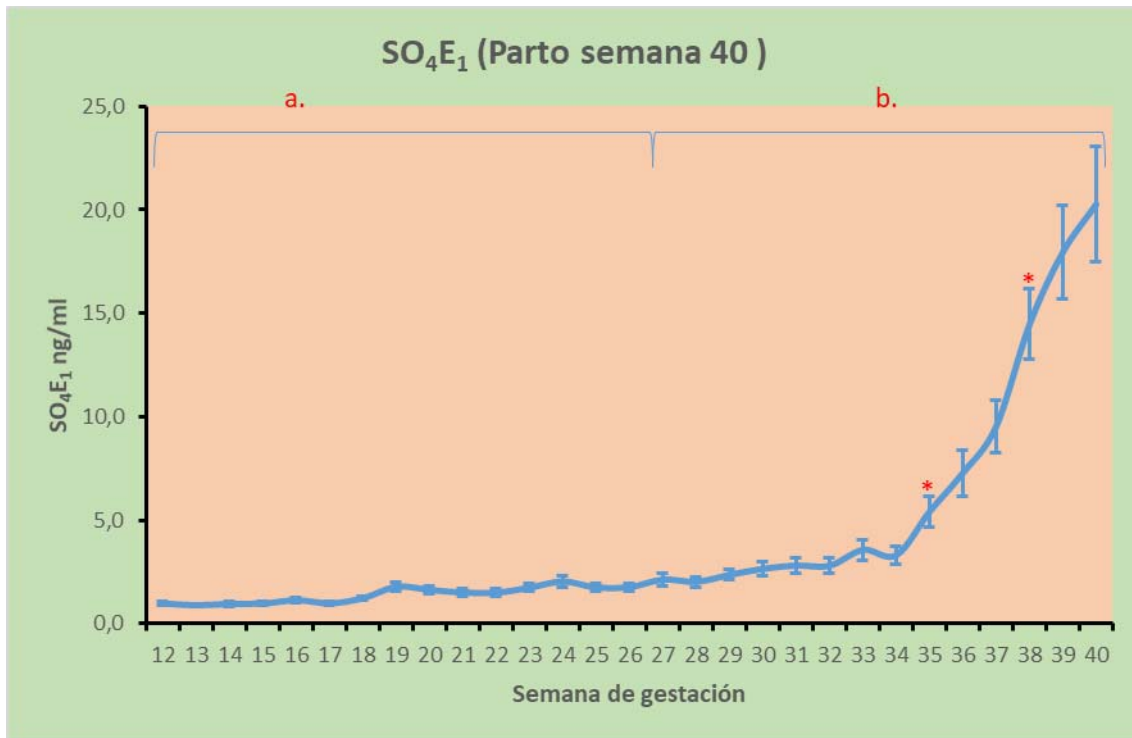
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	0,94 ± 0,06	22	1,23 ± 0,13	32	2,62 ± 0,26
13	0,90 ± 0,06	23	1,60 ± 0,14	33	2,65 ± 0,27
14	0,86 ± 0,08	24	1,56 ± 0,15	34	3,67 ± 0,36
15	1,04 ± 0,11	25	1,46 ± 0,20	35	5,31 ± 0,63*
16	0,99 ± 0,08	26	1,67 ± 0,15	36	6,34 ± 0,79
17	1,19 ± 0,11	27	1,66 ± 0,15	37	6,76 ± 0,90
18	1,05 ± 0,07	28	1,97 ± 0,19	38	11,29 ± 1,42*
19	1,08 ± 0,12	29	2,21 ± 0,19		
20	1,39 ± 0,12	30	2,16 ± 0,21		
21	1,18 ± 0,09	31	2,27 ± 0,23		

Figura 2. Niveles de Sulfato de Estrona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 38 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



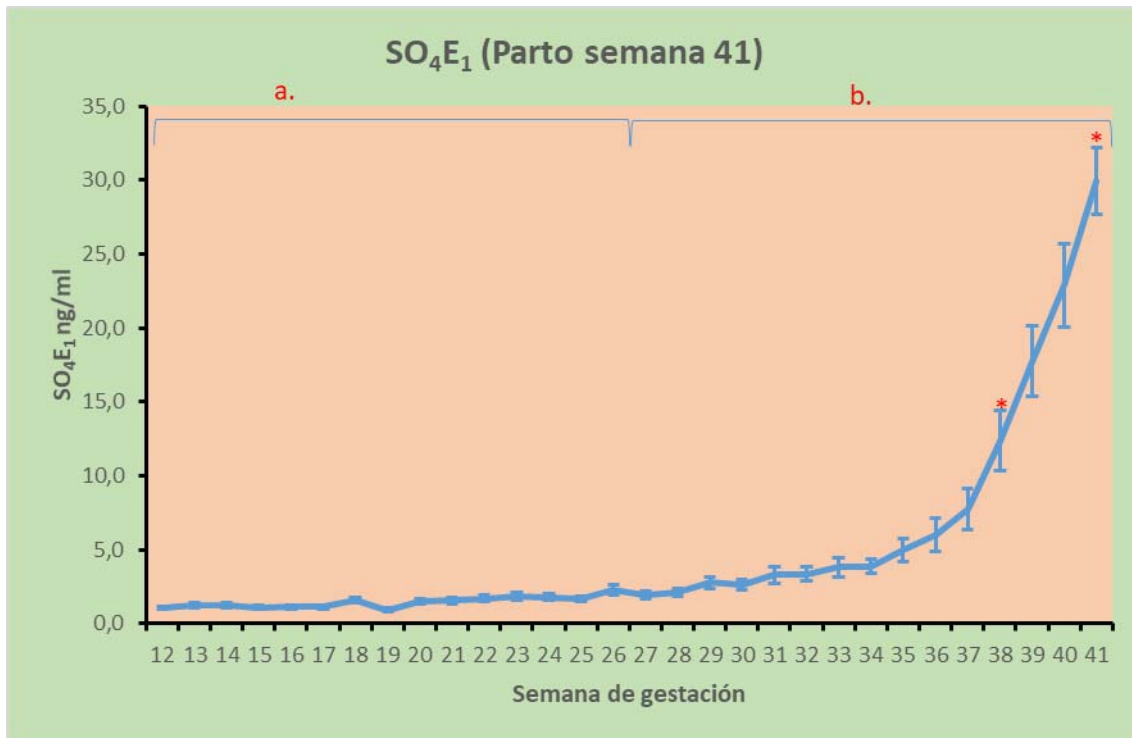
Semana	Media $\pm$ ES	Semana	Media $\pm$ ES	Semana	Media $\pm$ ES
12	0,88 $\pm$ 0,07	22	1,62 $\pm$ 0,18	32	2,89 $\pm$ 0,27
13	1,11 $\pm$ 0,11	23	1,64 $\pm$ 0,15	33	3,40 $\pm$ 0,34
14	0,99 $\pm$ 0,13	24	1,57 $\pm$ 0,20	34	3,62 $\pm$ 0,40
15	1,05 $\pm$ 0,12	25	1,69 $\pm$ 0,17	35	4,81 $\pm$ 0,57
16	1,15 $\pm$ 0,13	26	2,01 $\pm$ 0,23	36	5,86 $\pm$ 0,68
17	1,13 $\pm$ 0,09	27	2,09 $\pm$ 0,22	37	6,19 $\pm$ 0,65
18	1,41 $\pm$ 0,12	28	2,20 $\pm$ 0,23	38	9,05 $\pm$ 0,98*
19	1,12 $\pm$ 0,11	29	2,04 $\pm$ 0,22	39	13,46 $\pm$ 1,32*
20	1,19 $\pm$ 0,11	30	2,16 $\pm$ 0,25		
21	1,22 $\pm$ 0,12	31	2,44 $\pm$ 0,28		

Figura 3. Niveles de Sulfato de Estrona (Media  $\pm$  Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 39 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	0,98 ± 0,10	22	1,50 ± 0,17	32	2,80 ± 0,37
13	0,88 ± 0,08	23	1,74 ± 0,18	33	3,57 ± 0,49
14	0,96 ± 0,14	24	2,04 ± 0,29	34	3,31 ± 0,46
15	0,97 ± 0,11	25	1,74 ± 0,20	35	5,42 ± 0,74*
16	1,14 ± 0,11	26	1,76 ± 0,20	36	7,29 ± 1,10
17	0,98 ± 0,11	27	2,13 ± 0,31	37	9,54 ± 1,26
18	1,23 ± 0,11	28	2,02 ± 0,28	38	14,48 ± 1,70*
19	1,78 ± 0,22	29	2,36 ± 0,24	39	17,97 ± 2,27
20	1,63 ± 0,19	30	2,65 ± 0,32	40	20,29 ± 2,81
21	1,50 ± 0,16	31	2,81 ± 0,40		

Figura 4. Niveles de Sulfato de Estrona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 40 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	1,03 ± 0,09	22	1,71 ± 0,19	32	3,36 ± 0,45
13	1,24 ± 0,18	23	1,87 ± 0,24	33	3,84 ± 0,66
14	1,26 ± 0,20	24	1,79 ± 0,23	34	3,87 ± 0,50
15	1,09 ± 0,14	25	1,68 ± 0,21	35	4,97 ± 0,74
16	1,12 ± 0,15	26	2,29 ± 0,38	36	6,00 ± 1,15
17	1,14 ± 0,13	27	1,96 ± 0,24	37	7,73 ± 1,36
18	1,60 ± 0,18	28	2,11 ± 0,27	38	12,38 ± 2,02*
19	0,90 ± 0,12	29	2,76 ± 0,35	39	17,76 ± 2,38
20	1,49 ± 0,20	30	2,64 ± 0,33	40	22,89 ± 2,84
21	1,57 ± 0,21	31	3,28 ± 0,53	41	29,94 ± 2,27*

Figura 5 Niveles de Sulfato de Estrona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 41 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencia significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).

## **5. Evolución de las concentraciones de Progesterona desde la semana 12 hasta la semana 37, 38, 39, 40 y 41.**

Las concentraciones de Progesterona a lo largo de la gestación (semanas 12 a la 41) están representadas en las figuras: 1-5.

Durante el segundo trimestre de gestación, los niveles de P<sub>4</sub> en las mujeres que parieron entre las semanas 37 a la 40, se incrementan de forma gradual, destacando cuatro aumentos estadísticamente significativos dependiendo de la semana del parto. Cabe destacar a las mujeres que paren en la semana 40, donde encontramos que las 4 elevaciones son estadísticamente significativas: en la semana 16 con valor de  $0,91 \pm 0,06$  ng/ml; en la semana 18 con valor de  $1,13 \pm 0,04$  ng/ml; en la semana 23 con valor de  $1,47 \pm 0,04$  ng/ml; y en la semana 26 con valor de  $1,55 \pm 0,03$  ng/ml.

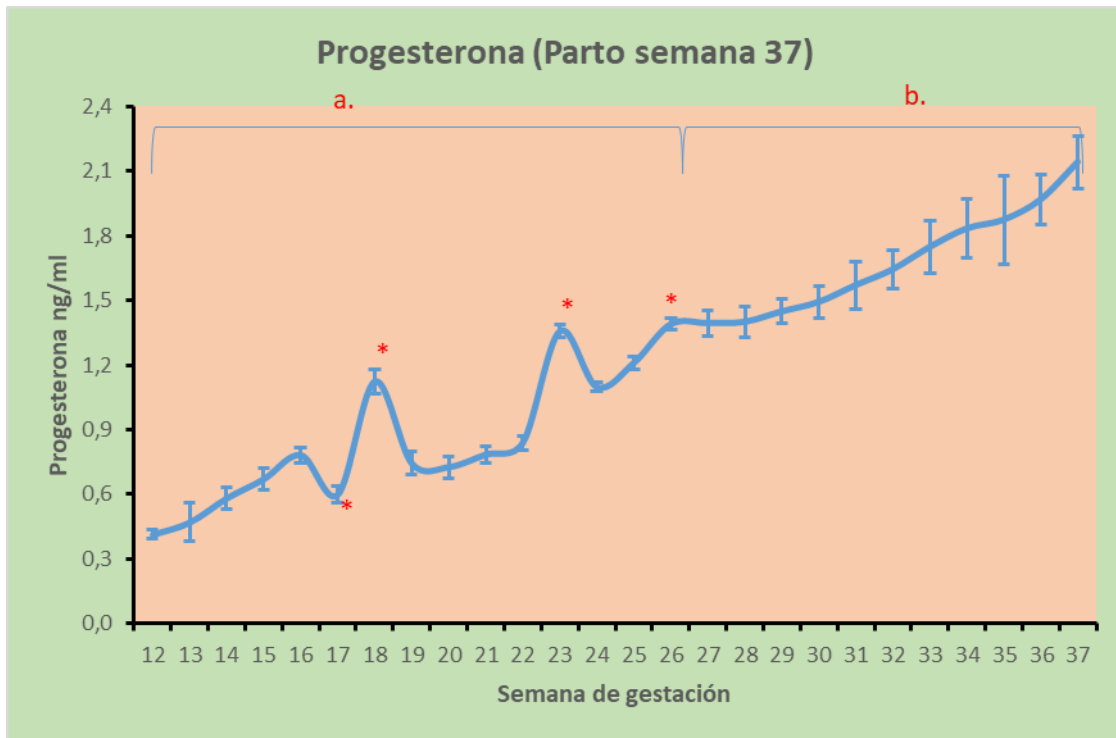
Entre los picos de las semanas 16 y 18, observamos en la semana 17 un descenso estadísticamente significativo en todas las mujeres que depende de la semana de parto. Los mínimos valores los obtuvimos en las mujeres que parieron en la semana 37, con una concentración media de  $0,60 \pm 0,04$  ng/ml.

En el tercer trimestre de gestación se observa como las concentraciones de P<sub>4</sub> van aumentando a medida que transcurren las semanas de gestación, aunque este aumento no es tan llamativo como en el caso del E<sub>3</sub> y SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>.

En todas las mujeres analizadas la máxima concentración se obtuvo en la semana del parto.

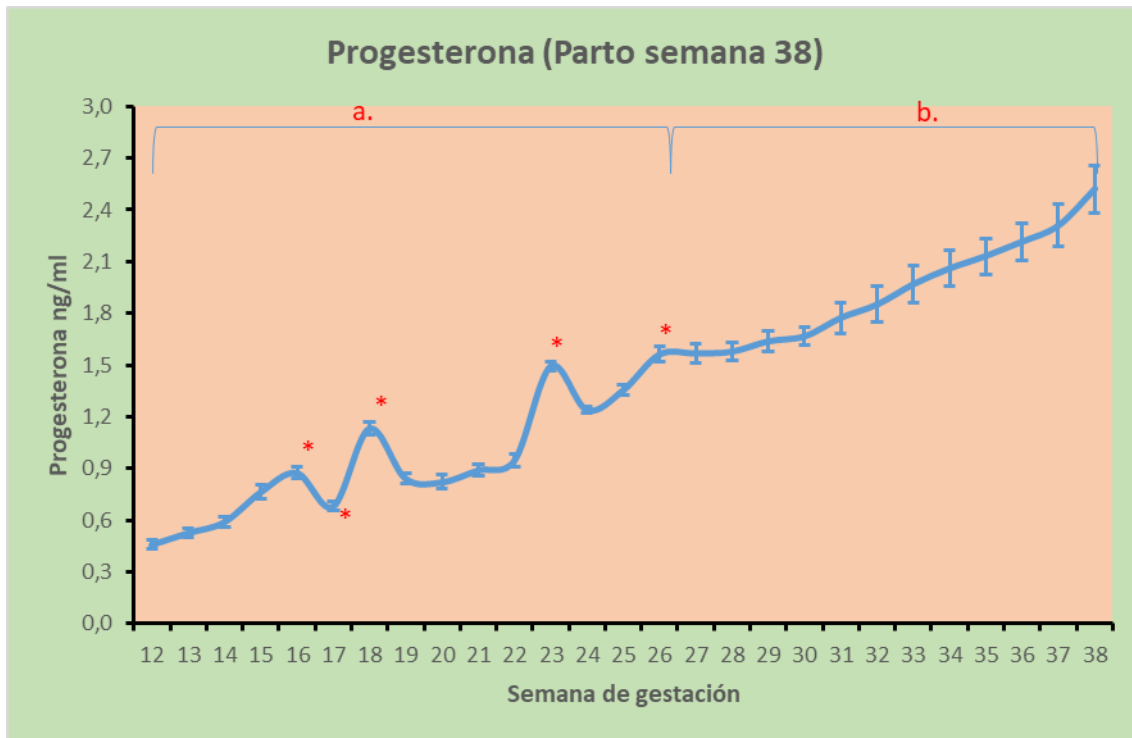
- ❖ Semana 37:  $2,14 \pm 0,12$ .
- ❖ Semana 38:  $2,52 \pm 0,14$ .
- ❖ Semana 39:  $2,70 \pm 0,18$ .
- ❖ Semana 40:  $2,87 \pm 0,19$ .
- ❖ Semana 41:  $2,87 \pm 0,19$ .

También se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de  $P_4$  entre el segundo y el tercer trimestre de gestación.



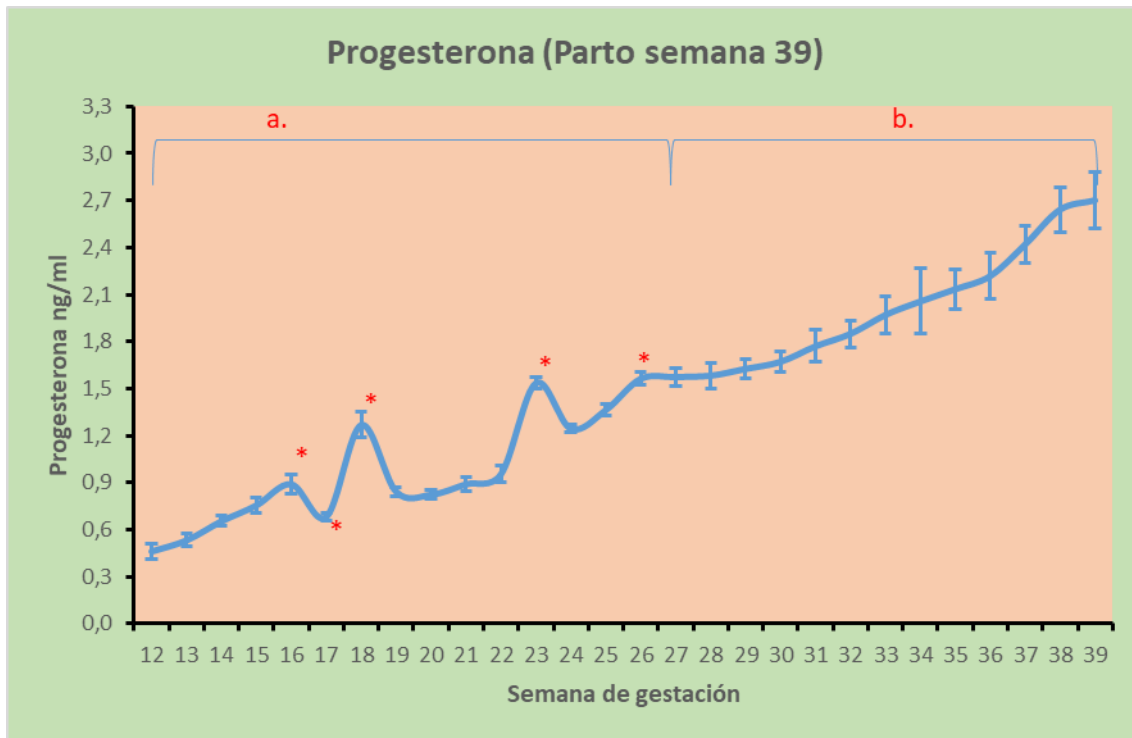
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	0,41 ± 0,02	22	0,84 ± 0,03	32	1,64 ± 0,09
13	0,47 ± 0,09	23	1,36 ± 0,03*	33	1,75 ± 0,12
14	0,58 ± 0,05	24	1,10 ± 0,02	34	1,83 ± 0,14
15	0,67 ± 0,05	25	1,21 ± 0,03	35	1,87 ± 0,21
16	0,78 ± 0,04	26	1,39 ± 0,03*	36	1,97 ± 0,12
17	0,60 ± 0,04*	27	1,39 ± 0,06	37	2,14 ± 0,12
18	1,12 ± 0,05*	28	1,40 ± 0,07		
19	0,74 ± 0,05	29	1,45 ± 0,06		
20	0,73 ± 0,05	30	1,49 ± 0,08		
21	0,79 ± 0,04	31	1,57 ± 0,11		

Figura 1. Niveles de Progesterona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 37 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



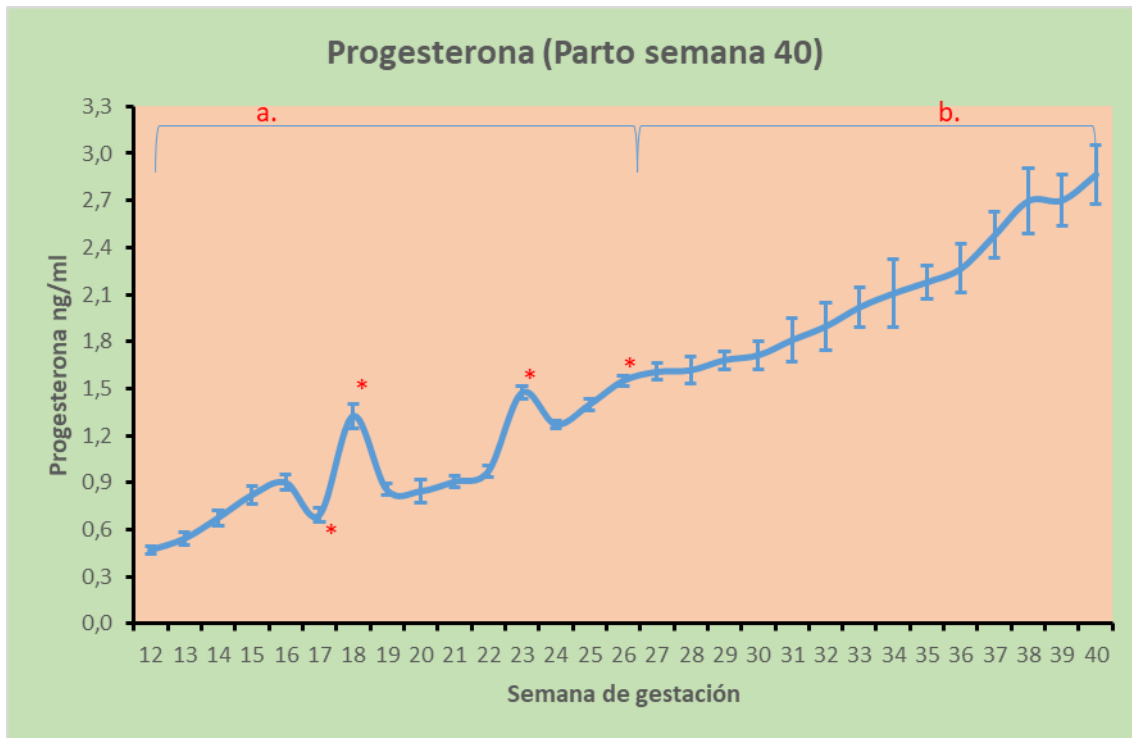
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	0,46 ± 0,03	22	0,95 ± 0,04	32	1,85 ± 0,10
13	0,53 ± 0,03	23	1,49 ± 0,03*	33	1,97 ± 0,11
14	0,59 ± 0,03	24	1,24 ± 0,02	34	2,06 ± 0,11
15	0,76 ± 0,04	25	1,36 ± 0,03	35	2,13 ± 0,10
16	0,88 ± 0,04*	26	1,56 ± 0,04*	36	2,22 ± 0,11
17	0,68 ± 0,03*	27	1,57 ± 0,05	37	2,31 ± 0,12
18	1,13 ± 0,04*	28	1,58 ± 0,05	38	2,52 ± 0,14
19	0,84 ± 0,03	29	1,64 ± 0,06		
20	0,82 ± 0,04	30	1,67 ± 0,05		
21	0,89 ± 0,03	31	1,77 ± 0,09		

Figura 2. Niveles de Progesterona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 38 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



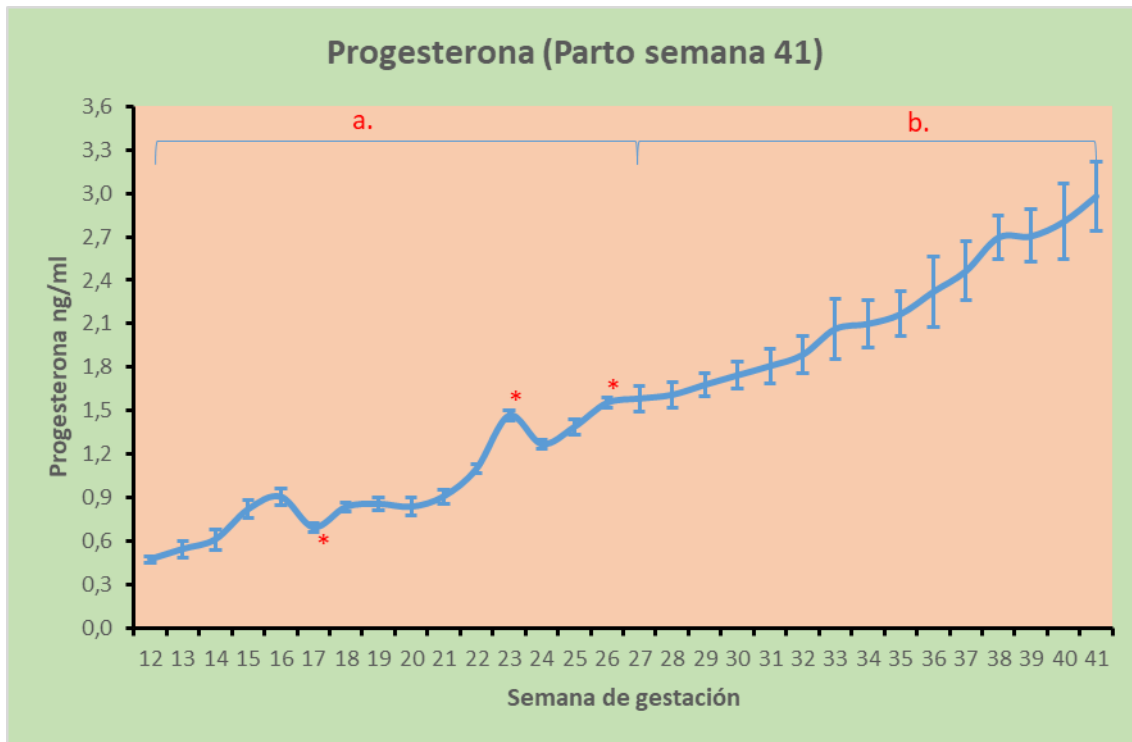
Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	0,46 ± 0,05	22	0,96 ± 0,05	32	1,85 ± 0,09
13	0,53 ± 0,04	23	1,54 ± 0,04*	33	1,97 ± 0,12
14	0,65 ± 0,03	24	1,24 ± 0,03	34	2,06 ± 0,21
15	0,76 ± 0,05	25	1,36 ± 0,04	35	2,13 ± 0,12
16	0,89 ± 0,06*	26	1,56 ± 0,04*	36	2,22 ± 0,15
17	0,68 ± 0,03*	27	1,57 ± 0,06	37	2,42 ± 0,12
18	1,27 ± 0,08*	28	1,58 ± 0,08	38	2,64 ± 0,14
19	0,84 ± 0,03	29	1,63 ± 0,06	39	2,70 ± 0,18
20	0,82 ± 0,03	30	1,67 ± 0,06		
21	0,89 ± 0,04	31	1,77 ± 0,10		

Figura 3. Niveles de Progesterona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 39 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	0,47 ± 0,02	22	0,97 ± 0,04	32	1,90 ± 0,15
13	0,54 ± 0,04	23	1,47 ± 0,04*	33	2,02 ± 0,13
14	0,67 ± 0,05	24	1,27 ± 0,03	34	2,11 ± 0,22
15	0,82 ± 0,06	25	1,40 ± 0,04	35	2,18 ± 0,11
16	0,90 ± 0,05	26	1,55 ± 0,03*	36	2,27 ± 0,16
17	0,69 ± 0,05*	27	1,61 ± 0,05	37	2,48 ± 0,15
18	1,33 ± 0,08*	28	1,62 ± 0,09	38	2,70 ± 0,21
19	0,86 ± 0,04	29	1,68 ± 0,06	39	2,70 ± 0,17
20	0,85 ± 0,07	30	1,71 ± 0,09	40	2,87 ± 0,19
21	0,91 ± 0,04	31	1,81 ± 0,14		

Figura 4. Niveles de Progesterona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 40 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).



Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES	Semana	Media ± ES
12	0,47 ± 0,02	22	1,10 ± 0,03	32	1,89 ± 0,13
13	0,54 ± 0,05	23	1,47 ± 0,04*	33	2,07 ± 0,21
14	0,61 ± 0,07	24	1,27 ± 0,03	34	2,10 ± 0,17
15	0,82 ± 0,06	25	1,39 ± 0,05	35	2,17 ± 0,15
16	0,91 ± 0,06	26	1,55 ± 0,04*	36	2,32 ± 0,25
17	0,69 ± 0,03*	27	1,58 ± 0,09	37	2,47 ± 0,20
18	0,84 ± 0,03	28	1,61 ± 0,09	38	2,70 ± 0,15
19	0,86 ± 0,05	29	1,68 ± 0,08	39	2,71 ± 0,18
20	0,84 ± 0,06	30	1,75 ± 0,10	40	2,81 ± 0,26
21	0,91 ± 0,05	31	1,81 ± 0,12	41	2,98 ± 0,24

Figura 5. Niveles de Progesterona (Media ± Error Estándar) desde la semana 12 hasta semana 41 (semana de parto). \* Denota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre semanas consecutivas. a, b Diferentes letras denotan diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $p < 0,05$ ).

## 6. Análisis de correlación entre Cortisol, Estriol, Sulfato de Estrona y Progesterona.

Los coeficientes de correlación obtenidos entre C, E<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> y P<sub>4</sub> se detallan por semanas de parto (Tabla 1). En los coeficientes de correlación hormonales correspondientes a las mujeres que paren en la semana 37, observamos una relación directa y fuerte entre E<sub>3</sub>/SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> ( $r=0,647$ ), E<sub>3</sub>/P<sub>4</sub> ( $r=0,710$ ) y SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>/P<sub>4</sub> ( $r=0,643$ ). Sin embargo, la relación entre el C y el resto de hormonas, aun siendo positiva, es una relación débil.

Conforme aumenta la semana de parto, observamos que las correlaciones entre los estrógenos y la P<sub>4</sub> se siguen manteniendo positivas y fuertes (SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>/P<sub>4</sub>: semana 38:  $r=0,571$ ; semana 41:  $r=0,682$ ). Sin embargo, en los coeficientes de correlación entre E<sub>3</sub>/P<sub>4</sub> en las mujeres que paren en la semana 41, observamos que la relación entre estas hormonas es menos fuerte con respecto a las mujeres que paren en semanas anteriores (semana 38:  $r=0,645$ ; semana 41:  $r=0,476$ ). Por otro lado, se observó que los coeficientes de correlación entre estrógenos (E<sub>3</sub>/SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>) aumentan a medida que aumentaba la semana de parto (semana 38:  $r=0,670$ ; semana 41:  $r=0,812$ ).

Aun habiendo encontrado una correlación débil entre el C y las distintas hormonas estudiadas, se comprobó que, a medida que aumenta la semana de parto, las correlaciones C/E<sub>3</sub> y C/SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> se hacían notablemente más fuertes (C/E<sub>3</sub>: semana 37:  $r=0,192$ ; semana 41:  $r=0,782$ ; C/SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>: semana 37:  $r=0,198$ ; semana 41:  $r=0,847$ ). En el caso de la correlación C/P<sub>4</sub>, observamos que la misma también se hace más fuerte a medida que aumenta la semana de

parto, sin embargo, el incremento no es tan notable como en el caso de las anteriores (semana 37:  $r=0,273$ ; semana 41:  $r=0,578$ ).

<b>Semana 37</b>	<b>E<sub>3</sub></b>	<b>SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub></b>	<b>P<sub>4</sub></b>
C	0,192*	0,198*	0,273*
E <sub>3</sub>		0,64*	0,710*
SO <sub>4</sub> E <sub>1</sub>			0,643*
<b>Semana 38</b>	<b>E<sub>3</sub></b>	<b>SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub></b>	<b>P<sub>4</sub></b>
C	0,637*	0,524*	0,433*
E <sub>3</sub>		0,670*	0,645*
SO <sub>4</sub> E <sub>1</sub>			0,571*
<b>Semana 39</b>	<b>E<sub>3</sub></b>	<b>SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub></b>	<b>P<sub>4</sub></b>
C	0,797*	0,642*	0,462*
E <sub>3</sub>		0,776*	0,543*
SO <sub>4</sub> E <sub>1</sub>			0,623*
<b>Semana 40</b>	<b>E<sub>3</sub></b>	<b>SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub></b>	<b>P<sub>4</sub></b>
C	0,811*	0,684*	0,557*
E <sub>3</sub>		0,758*	0,600*
SO <sub>4</sub> E <sub>1</sub>			0,592*
<b>Semana 41</b>	<b>E<sub>3</sub></b>	<b>SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub></b>	<b>P<sub>4</sub></b>
C	0,782*	0,847*	0,578*
E <sub>3</sub>		0,812*	0,476*
SO <sub>4</sub> E <sub>1</sub>			0,682*

*Tabla 1.* Coeficientes de correlación hormonales desde semana 12 hasta la semana 37, 38, 39, 40 y 41 (semana de parto). \* Denota significación  $p<0,05$ .

## 7. Resultados del cuestionario STAI (Cuestionario de ansiedad Estado-Rasgo).

Los cuestionarios recogidos de manera semanal, fueron analizados con la fórmula específica del cuestionario. La puntuación media obtenida en la variable ansiedad-estado (AE) fue  $34,27 \pm 2,24$ , mientras que la puntuación obtenida en la variable ansiedad-rasgo (AR) fue  $35,15 \pm 1,66$ . Las puntuaciones más altas se obtuvieron en la semana 12, alcanzando una puntuación media de 67 en la variable AE y de 48 en la variable AR (Tabla 1).

Al haber analizado el C como hormona indicadora de estrés hemos correlacionado los resultados del STAI con los valores de C por semanas. Aplicando el coeficiente de correlación de Pearson, observamos que existe una correlación positiva y significativa entre los resultados del STAI en la variable AE y los niveles de C en la semana 12 (Tabla 2). A partir de la semana 13 de gestación existe alguna correlación positiva entre la variable AE y el C (semanas 27, 41), sin embargo, en ningún caso las correlaciones encontradas fueron estadísticamente significativas.

En cuanto a la correlación entre la variable AR y los niveles de C (Tabla 2), observamos una correlación positiva en las semanas 12, 15, 20, 38, 39 y 40. Sin embargo, estas correlaciones no resultaron ser estadísticamente significativas.

Semana	AE	AR	Semana	AE	AR
12	67*	48*	27	33	33,69
13	38,55	38,2	28	37,15	37,07
14	36,19	38,23	29	35,19	34,22
15	34,21	36,31	30	34,04	34,48
16	37,83	37,21	31	34,75	34,88
17	36,25	37,38	32	34	33,3
18	34,68	35,85	33	34,42	34,31
19	33,42	34,67	34	34,89	32,96
20	34,03	34,13	35	33,3	32,7
21	32,06	33,22	36	34,68	33,6
22	31,64	32,89	37	35,24	32,57
23	32	33,17	38	33	31,94
24	31,85	32,97	39	35,22	33,56
25	32,89	33,32	40	39,4	38,2
26	34,18	34,64	41	41,3	40,11

*Tabla 1.* Valores numéricos obtenidos de cuestionario STAI por semanas (AE: Ansiedad-Estado; AR: Ansiedad-Rasgo).

Semana	C/AE	p. valor	C/AR	p. valor	Semana	C/AE	p. valor	C/AR	p.valor
12	0,50*	0,02	0,34	0,13	27	0,38	0,06	0,07	0,71
13	0,09	0,63	-0,16	0,43	28	0,004	0,98	-0,11	0,57
14	-0,05	0,79	0,03	0,87	29	-0,20	0,29	-0,36	0,06
15	0,27	0,14	0,10	0,59	30	-0,28	0,18	-0,18	0,38
16	0,01	0,94	0,018	0,92	31	0,25	0,19	0,08	0,66
17	-0,10	0,56	0,19	0,27	32	0,20	0,32	-0,18	0,36
18	-0,12	0,48	0,05	0,77	33	-0.0006	0,99	-0.001	0,99
19	0,005	0,97	-0,18	0,32	34	0,04	0,82	-0,008	0,96
20	0,11	0,54	0,11	0,52	35	-0,24	0,24	-0,10	0,63
21	0,24	0,20	0,04	0,83	36	0,09	0,66	-0,07	0,73
22	-0,01	0,91	-0,30	0,10	37	0,11	0,12	0,07	0,31
23	0,05	0,76	0,08	0,63	38	0,09	0,26	0,41	0,87
24	0,06	0,72	-0,08	0,68	39	0,14	0,83	0,19	0,12
25	0,08	0,65	0,06	0,72	40	0,19	0,39	0,34	0,57
26	0,10	0,57	-0,06	0,75	41	0,25	0,12	0,06	0,15

Tabla 2. Coeficientes de correlación entre los resultados de los valores de C y la variable AE (C/AE) y AR (C/AR) respectivamente con los p valor obtenidos. \* denota diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

## **8. Análisis comparativo de la evolución hormonal en función de la semana de parto (37, 38, 39, 40 o 41)**

Se ha realizado un análisis comparativo de la evolución de los indicadores en función de la semana de parto (37, 38, 39, 40 o 41) (Figura 2), para ver si existen semanas que puedan aportar, desde el punto de vista de la comparabilidad, información más relevante que otras en lo que respecta a la predicción de la semana en la que se producirá el parto.

Para hacer este análisis se representan en un gráfico las trayectorias que muestran, por semana, el nivel medio de cada uno de los indicadores, correspondiente a cada uno de los grupos de mujeres, distinguidos por la semana en la que dieron a luz.



Figura 2. La figura representa la evolución de las medias de C (A), E3 (B), SO4E1 (C) y P4 (D) desde la semana 12 de gestación hasta la semana 37 en función de las semanas de parto (37, 38, 39, 40, 41).

### Algunas observaciones de interés:

- En primer lugar, conviene observar que los valores de  $P_4$  para las embarazadas que paren en la semana 37 son sensiblemente más bajos que los registrados para las que paren el resto de las semanas, siendo más elevados en aquellas que paren semanas más tarde.

- Aunque no es tan significativo como en el caso anterior, se puede apreciar que, en el caso de las mujeres que tienen el parto en las últimas semanas (40 y 41), los niveles de  $SO_4E_1$  parecen haber estado más altos a lo largo de todo el embarazo. Las mujeres que tienen los niveles más altos de  $SO_4E_1$  en la semana 37 no paren esa semana, sino que tardan hasta la semana 40 o 41.
- Se observan elevaciones en las semanas 16, 18 y 23 en los niveles de C,  $E_3$  y  $P_4$ .
- Finalmente, se puede observar que mientras los niveles de  $E_3$  y de  $SO_4E_1$  presentan una clara tendencia creciente a lo largo de todo el embarazo, el nivel de C es más errático, si bien su nivel se incrementa sensiblemente en las últimas semanas.

**9. Resultados del modelo de predicción del parto a partir de la semana 37 de gestación en mujeres embarazadas tras el análisis hormonal de Cortisol, Estriol, Sulfato de Estrona y Progesterona desde la semana 34 de la misma.**

Los resultados obtenidos con cada uno de los modelos se presentan a continuación.

**Modelo de regresión logística**

Se ha ajustado un modelo de tipo regresión logística con función de enlace tipo logit y aplicando un proceso de selección de variables tipo stepwise

(por pasos) con nivel de significación  $\alpha = 0,05$  para el parámetro de entrada de variables y  $\alpha = 0,1$  para el de salida. Para evaluar los diferentes modelos obtenidos en cada uno de los pasos se ha tenido en cuenta el valor de la tasa de acierto error en validación cruzada.

La siguiente tabla (Tabla 1) muestra el orden en el que han ido entrando las variables en el modelo de acuerdo a la muestra con la que ha sido entrenado.

Paso	Sense	Variable	Tasa de acierto en validación cruzada
1	Entra	ESTRIOL_VAR_WEEK	76,41%
2	Entra	CORTISOL_FORTNIGHT	74,87%
3	Entra	SO4E1_VAR_FORTNIGHT	76,92%
4	Entra	PRIMIPARA	73,33%
5	Entra	AGE	76,92%
6	Entra	PROGESTERONA_MONTH	77,44%

Tabla 1. Evolución de la tasa de acierto en entrenamiento y validación cruzada de la regresión logística por pasos.

En el proceso se dan un total de 6 pasos. Observamos que las variables que más relevancia toman son: ESTRIOL\_VAR\_WEEK, CORTISOL\_FORTNIGHT, SO4E1\_VAR\_FORTNIGHT que entran en el primer, segundo y tercer paso respectivamente.

En cada uno de los pasos se obtiene un modelo distinto: el primero solo con ESTRIOL\_VAR\_WEEK, el segundo con ESTRIOL\_VAR\_WEEK y CORTISOL\_FORTNIGHT y así hasta el último que contempla las 6 variables.

Tras evaluarlos todos ellos con una estrategia de validación cruzada, el mejor modelo es el que contempla las 6 variables, teniendo una tasa de acierto del 77,44% pero de un 69,01% en la tabla de test tal y como se verá en el capítulo 9.1 (resultados obtenidos) (Tabla 3).

Las diferencias significativas entre una y otra tasa de acierto, nos han llevado a descartar dicho modelo y a proponer como alternativa otro que, si bien tiene menor capacidad explicativa, presenta unas tasas de acierto mayores y más alineadas, lo que permite confiar en su capacidad de generalización a otras muestras de mujeres distintas a aquella con la que se ha entrenado. Este modelo se detalla en el apartado siguiente.

### **Modelo de Random Forest**

Se ha ajustado un modelo de random forest, ensamblando 100 árboles para los que se ha establecido un nivel de profundidad de 50 y permitiendo que en las hojas finales del árbol pueda haber una única observación. La evaluación de la tasa de error en validación cruzada, lleva a considerar como modelo óptimo aquél que anida un total de 60 o 71 árboles (Figura 1), siendo la tasa de acierto en validación cruzada de 81.03% (Tabla 3). De acuerdo al principio de parsimonia que se recomienda en el contexto de modelización (los

modelos más parsimoniosos son más simples y por tanto menos sobreajustados), se ha tomado aquél que anida 60 árboles.

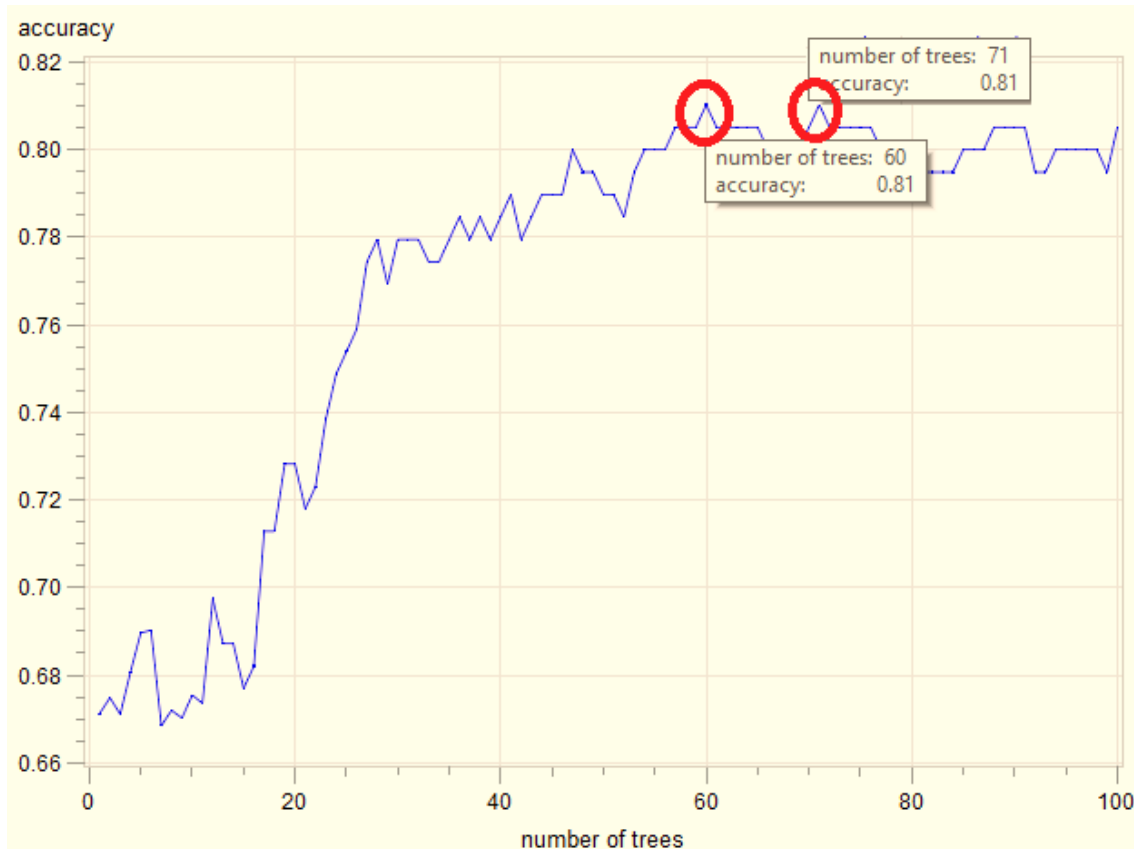


Figura 1. Evolución de la tasa de acierto en entrenamiento y validación cruzada del random forest.

A continuación, se presenta un listado con las variables que tienen más importancia en este modelo. Dicha importancia se establece en función del grado de participación de dichas variables en cada uno de los 60 árboles que configuran el modelo (Tabla 2). El hecho de que una misma variable pueda participar en un mismo árbol varias veces, justifica que la participación de cada variable pueda ser superior a 60.

Variable	Number of rules
SO4E1_MONTH	123
PROGESTERONA_MONTH	111
ESTRIOL_VAR_WEEK	103
ESTRIOL_FORTNIGHT	90
PROGESTERONA_FORTNIGHT	85
ESTRIOL_VAR_FORTNIGHT	84
CORTISOL_VAR_FORTNIGHT	78
ESTRIOL_MONTH	77
SO4E1_FORTNIGHT	70
CORTTISOL_MONTH	70
ESTRIOL_MONTH	64
SO4E1_VAR_WEEK	61
PROGESTERONA_WEEK	60
CORTISOL_FORTNIGHT	59
PROGESTERONA_VAR_	54
CORTISOL_VAR_WEEK	44
SO4E1_VAR_FORTNIGHT	39
SO4E1_WEEK	37
CORTISOL_WEEK	36
PROGESTERONA_VAR_WEEK	33
EDAD	26
PRIMIPARA	11

Tabla 2. Importancia de las variables en función de su participación en el random forest.

### 9.1 Resultados obtenidos.

La siguiente tabla muestra las tasas de acierto obtenidas durante el proceso de validación cruzada, así como en la reservada para test.

Modelo	Validación cruzada	Test
Regresión logística	77,44%	69,07%
Random forest	81,03%	79,38%

Tabla 3. Tasas de acierto obtenidas por validación cruzada y en la tabla de test.

Se puede observar que el modelo de random forest además de ser el que presenta una tasa superior de aciertos sobre la tabla de test, es también el que está menos sobreajustado, al moverse dicha tasa en un nivel bastante similar al obtenido en el proceso de validación cruzada.

La matriz de confusión asociada a uno y otro modelo, evaluada sobre la tabla de test, es la que a continuación se presenta (Tabla 4):

Todas las semanas	Regresión logística			Todas las semanas	Random forest		
<b>Real</b>	0	1	Total	<b>Real</b>	0	1	Total
<b>0</b>	52	15	67	<b>0</b>	60	7	67
<b>1</b>	15	15	30	<b>1</b>	13	17	30
<b>Total</b>	67	30	97	<b>Total</b>	73	24	97
<b>Tasa de acierto: 69,07%</b>				<b>Tasa de acierto: 79,38%</b>			
<b>Precisión en partos: 50,00%</b>				<b>Precisión en partos: 70,83%</b>			
<b>Precisión en no partos: 77,61%</b>				<b>Precisión en no partos: 82,19%</b>			

Tabla 4. Matrices de confusión evaluadas sobre la tabla de test.

La tasa de aciertos del modelo es el cociente entre el número de casos (partos y no partos) en los que el modelo acierta entre el número de casos totales. La métrica “precisión en no partos” refleja el porcentaje de veces que el modelo predice que no habrá partos y acierta. De manera análoga, la métrica “precisión en partos” refleja el porcentaje de veces que el modelo predice que habrá partos y acierta.

El modelo de random forest acierta en un 10% más de los casos y sus tasas de acierto son casi un 5% superior en la tasa de no partos y casi un 20% en la de partos.

Finalmente, se presenta el desglose de esta información por semanas para cada uno de los modelos (Tabla 5 y 6).

Semana 37	Regresión logística			Semana 38	Regresión logística		
<b>Real</b>	0	1	Total	<b>Real</b>	0	1	Total
<b>0</b>	27	3	30	<b>0</b>	15	5	20
<b>1</b>	5	0	5	<b>1</b>	5	5	10
<b>Total</b>	32	3	35	<b>Total</b>	20	10	30
<b>Tasa de acierto: 77,14%</b>				<b>Tasa de acierto: 66,67%</b>			
<b>Precisión en partos: 0,00%</b>				<b>Precisión en partos: 50,00%</b>			
<b>Precisión en no partos: 84,38%</b>				<b>Precisión en no partos: 75,00%</b>			

Semana 39	Regresión logística			Semana 40	Regresión logística		
<b>Real</b>	0	1	Total	<b>Real</b>	0	1	Total
<b>0</b>	7	5	12	<b>0</b>	3	2	5
<b>1</b>	3	5	8	<b>1</b>	2	5	7
<b>Total</b>	10	10	20	<b>Total</b>	5	7	12
<b>Tasa de acierto: 60,00%</b>				<b>Tasa de acierto: 66,67%</b>			
<b>Precisión en partos: 50,00%</b>				<b>Precisión en partos: 71,43%</b>			
<b>Precisión en no partos: 70,00%</b>				<b>Precisión en no partos: 60,00% (predicción en partos en la semana 41)</b>			

Tabla 5. Matrices de confusión evaluadas por semana sobre la tabla de test en la regresión logística.

Semana 37	Random forest			Semana 38	Random forest		
<b>Real</b>	0	1	Total	<b>Real</b>	0	1	Total
<b>0</b>	29	1	30	<b>0</b>	17	3	20
<b>1</b>	4	1	5	<b>1</b>	5	5	10
<b>Total</b>	33	2	35	<b>Total</b>	22	8	30
<b>Tasa de acierto: 85,71%</b>				<b>Tasa de acierto: 73,33%</b>			
<b>Precisión en partos: 50,00%</b>				<b>Precisión en partos: 62,50%</b>			
<b>Precisión en no partos: 87,88%</b>				<b>Precisión en no partos: 77,27%</b>			

Semana 39	Random forest			Semana 40	Random forest		
<b>Real</b>	0	1	Total	<b>Real</b>	0	1	Total
<b>0</b>	11	1	12	<b>0</b>	3	2	5
<b>1</b>	3	5	8	<b>1</b>	1	6	7
<b>Total</b>	14	6	20	<b>Total</b>	4	8	12
<b>Tasa de acierto: 80,00%</b>				<b>Tasa de acierto: 75,00%</b>			
<b>Precisión en partos: 83,33%</b>				<b>Precisión en partos: 75,00%</b>			
<b>Precisión en no partos: 78,57%</b>				<b>Precisión en no partos: 75,00%</b> (predicción en partos en la semana 40)			

Tabla 6. Matrices de confusión evaluadas por semana sobre la tabla de test en el random forest.



ACRÓNIMOS

RESUMEN

SUMMARY

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS

**DISCUSIÓN**

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA



A lo largo del segundo y tercer trimestre de gestación se producen cambios fisiológicos determinantes para el desarrollo fetal. Entre ellos, la producción y secreción de hormonas esteroideas tales como C, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>, P<sub>4</sub> y E<sub>3</sub>, así como la interrelación de estas hormonas en la unidad feto placentaria. Estas mismas juegan un papel esencial en este periodo de la gestación (Costa, 2016).

En la guía de asistencia práctica de control prenatal del embarazo normal de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, proponen la comprobación de movimientos fetales, analítica completa en los tres trimestres, y la realización de tres ecografías durante el embarazo, en mujeres sin factores de riesgo, para el control del crecimiento y bienestar fetal. Además, se realiza un programa de cribado que permite detectar de manera específica, los embarazos con riesgo elevado de alteraciones cromosómicas, en el que se combinan datos clínicos de las gestantes, marcadores bioquímicos maternos y mediciones ecográficas del feto (SEGO, 2018).

Dentro de estos controles rutinarios no se contemplan cómo los factores externos pueden alterar el metabolismo materno, y sus consecuencias en el desarrollo fetal (Yang *et al.*, 2015). Por otro lado, algunos autores concluyen que el segundo trimestre quizá, sea el periodo más sensible de la gestación a las concentraciones elevadas de C materno (Hompeš *et al.*, 2012; Hohwü *et al.*, 2015; Arranz Betegón *et al.*, 2017).

Por ello, en este estudio se realizó la medición de las hormonas E<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>, C y SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> en muestras de saliva en el segundo y tercer trimestres de gestación.

En la saliva, encontramos la fracción libre de la hormona (fracción biológicamente activa) (Fischer-Rasmussen *et al.*, 1981; Kundu *et al.*, 1983; Fred-Voss, 1999; Abrao *et al.*, 2014; Falah *et al.*, 2015). La medición de hormonas esteroides en saliva presenta beneficios frente al plasma y suero sanguíneo, que en estos últimos casi el 98% de las hormonas van unidas a proteínas transportadoras, y para la determinación de la fracción libre se requiere una extracción previa al análisis de la hormona, las cuales pueden dar una reacción cruzada con los anticuerpos (Toniolo *et al.*, 1994; Bellem *et al.*, 2011).

Varios autores realizan la determinación de estrógenos en saliva como método de detección de posible parto y parto prematuro (Goodwin, 1999; Hee, 2011), duración del embarazo (McGregor *et al.*, 1995) y valoración de la función feto-placentaria (Vining *et al.*, 1983). También el análisis de estrógenos en saliva se ha utilizado para la evaluación de supervivencia fetal en animales (Kasman *et al.*, 1988, Ohtaki *et al.*, 1999, Kornmatitsuk *et al.*, 2004).

Además, otros autores proponen que la medición de C en saliva es una técnica no invasiva, la recogida de la muestra no provoca estrés y no necesita entrenamiento del personal sanitario (Bellem *et al.*, 2011; Hohwü *et al.*, 2015). Las muestras pueden ser recogidas por la paciente de forma independiente,

aunque existe el riesgo de olvido, así como de realizarlo en horarios descoordinados (Hohwü *et al.*, 2015).

El análisis hormonal se llevó a cabo mediante la técnica EIA, previamente validada, siendo una técnica altamente sensible y precisa (Illera *et al.*, 2014). Esta técnica es uno de los métodos más comunes para la medición de hormonas esteroides (Morel *et al.*, 2016). Es capaz de medir pequeñas cantidades de moléculas con bajo peso molecular, dependiendo de su afinidad por el anticuerpo y amplificando su unión con un marcador enzimático (Bellem *et al.*, 2011).

La validación de la técnica EIA, para la medición de hormonas esteroides en saliva, es decisiva para el conocimiento del mecanismo hormonal durante el embarazo. Se ha demostrado que las técnicas EIA de son unos métodos específicos y precisos para cuantificar hormonas esteroides (Munro y Lasley, 1988), lo que nos ha llevado a validar una técnica de EIA, sencilla y precisa para las hormonas esteroides C, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>, P<sub>4</sub> y E<sub>3</sub>. Las condiciones en las que la técnica se ha realizado se basan en estudios previos (Silván *et al.*, 1993; Illera *et al.*, 1997; Carneiro *et al.*, 1998). Se trata de una técnica directa, sin extracción previa de la muestra, de alta precisión (incubación de 24 h de la muestra con el anticuerpo en fase sólida) y la temperatura (4°C en todas las etapas, excepto para el sustrato). Esto simplifica en gran medida el método y reduce posibles errores debido al procedimiento de extracción. La prueba de paralelismo confirmó la excelente discriminación de las hormonas esteroides (C, SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub>, P<sub>4</sub> y E<sub>3</sub>) en saliva, la cual no muestran interferencias en el ensayo.

En este sentido, tanto el coeficiente de variación intra e inter-ensayo (%) para las dos técnicas utilizadas están dentro de límites aceptables.

El segundo trimestre de gestación está comprendido entre las semanas 12 y 26 de gestación. En este periodo de gestación tienen lugar acontecimientos importantes, como la percepción de movimientos por parte de la madre o el funcionamiento autónomo de la glándula adrenal fetal (Gitau *et al.*, 2001; Palma-Gudiel *et al.*, 2015; Moore *et al.*, 2016).

La producción esteroidea durante el embarazo es el resultado de una compleja interacción entre madre-placenta-feto necesaria para un buen desarrollo fetal (Heffner y Schust, 2014). La placenta no tiene la capacidad de producir colesterol. Para sintetizar P<sub>4</sub>, la placenta necesita colesterol y pregnenolona procedentes de la madre y el feto. Sin embargo, la placenta es capaz de aromatizar precursores androgénicos, también de origen materno y fetal, en estrógenos (E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>) (Heffner y Schust, 2014).

Por otro lado, el feto carece de la enzima 3beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-HSD) encargada de catalizar la conversión de pregnenolona en P<sub>4</sub>, y DHEA en A<sub>4</sub>. El feto secreta a la placenta grandes cantidades de pregnenolona y DHEA para la producción de estrógenos y P<sub>4</sub> en la placenta. A diferencia de la madre y la placenta, el feto tiene la capacidad de sulfatar rápidamente esteroides a nivel adrenal, lo que reduce la actividad esteroide y acelera su excreción. En el hígado fetal, se produce la hidroxilación de DHEA-S a 16-OH-DHEA-S, que sirve como precursor para producir E<sub>3</sub> en la

placenta. Por ello, los precursores esteroides placentarios deben provenir del feto y la madre (Heffner y Schust, 2014). En nuestros resultados observamos como los niveles medios hormonales de P<sub>4</sub>, E<sub>3</sub> y C aumentan progresivamente a lo largo del segundo trimestre, lo que indica que el eje hipofisario-hipotalámico-adrenal (HHA) fetal, junto con el complejo materno-placentario funcionan de forma coordinada, con unos mecanismos de estímulo e inhibición que regulan de manera dinámica los factores que afectan al desarrollo y crecimiento fetal, bajo diferentes condiciones (Tal *et al.*, 2000; Hernández García, 2015; Morel *et al.*, 2016).

El inicio de la percepción de movimientos fetales por parte de la madre abarca un amplio rango y se produce entre las semanas 16 y 20 de gestación (Akkaya y Büke, 2018). Los movimientos fetales, son considerados un signo de madurez del sistema neurológico y bienestar del feto (Gran- Beuttler *et al.*, 2011), así como los movimientos oculares, respiratorios y el pulso cardiaco (Lerner, 2004).

Entre la semana 18 y 20 de gestación, la madre comienza a sentir el movimiento del feto (RCOG, 2011; Akkaya y Büke, 2018); aunque se ha descrito que algunas multíparas pueden percibir los movimientos fetales desde la semana 16 de gestación (RCOG, 2011). Según los resultados descritos por Di Pietro y colaboradores en 2009, un alto nivel de C está relacionado positivamente con un incremento en la intensidad de los movimientos fetales, siendo este aumento posiblemente estimulado por la ACTH central materna (Di Pietro *et al.*, 2009). En nuestros resultados aparecen aumentos significativos en

las concentraciones de E<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> y C en la semana 16, que pueden estar relacionados con el inicio de movimientos de las extremidades fetales no perceptibles por la madre (Di Pietro *et al.*, 2009; Torres Martí *et al.*, 2012; Moore *et al.*, 2016).

Por otro lado, resulta difícil definir con exactitud el inicio del funcionamiento del eje HHA fetal, y cuándo comienza a hacerlo de manera autónoma. Algunos autores, afirman que la glándula adrenal fetal funciona a partir de la semana 8 de gestación (Johnston *et al.*, 2018) ya que se observaron niveles bajos de E<sub>3</sub> en sangre materna, indicando que el feto comienza a producir DHEA-S en la adrenal fetal (Yen, 1991). Sin embargo, otros autores exponen que la corteza adrenal fetal no es capaz de producir C *de novo* a partir de colesterol hasta la semana 30 de gestación (Mesiano y Jaffe, 1997).

Partsch y colaboradores, encontraron mayores concentraciones de C, corticosterona y aldosterona en la arteria umbilical que en la vena umbilical entre las semanas 10 y 20 de gestación, indicando que estos esteroides son producidos por el feto (Partsch *et al.*, 1991).

Otros autores postulan que, hasta la semana 15 de gestación, la adrenal funciona bajo el estímulo de la hCG. A partir de este momento, comienza a funcionar de manera autónoma bajo el control de la ACTH producida en la hipófisis fetal (Heffner y Schust, 2014).

En la semana 23 observamos un aumento relevante de P<sub>4</sub>, C y E<sub>3</sub> que puede estar relacionado con el inicio del funcionamiento del eje HHA de forma autónoma.

Según Gitau y colaboradores (2001), el eje HHA en el feto humano no comienza a funcionar de manera autónoma hasta la mitad de la gestación; el aumento de  $\beta$ -endorfinas fetales como respuesta al estrés producido por el hipotálamo fetal, es detectable a la semana 18 de gestación; mientras que la síntesis de C como respuesta del sistema nervioso fetal es detectable en la semana 20 de gestación. Por su parte, diferentes autores, postulan que el eje HHA fetal está completamente desarrollado y es funcional en la semana 22 de gestación (Palma-Gudiel *et al.*, 2015), produciendo cantidades apreciables de C (Miranda y Sousa, 2018). Además, se ha observado que la síntesis de C *de novo* comienza en la zona definitiva de la corteza adrenal fetal en la semana 23 de gestación (Narasaka *et al.*, 2001), lo que correspondería con nuestros resultados.

Este aumento de C en la semana 23 coincide también con el inicio de la secreción de surfactante pulmonar, por las células epiteliales secretoras de las paredes interalveolares de los pulmones (Moore *et al.*, 2016). El C induce en el pulmón fetal la síntesis de proteínas B y C del surfactante, y de enzimas implicadas en la síntesis lipídica, en funciones antioxidantes y en la movilización de los fluidos pulmonares fetales (Smith, 2007; Gerulewicz-Vannini *et al.*, 2012).

Por lo tanto, en el segundo trimestre de gestación observamos unos aumentos significativos de C, E<sub>3</sub> y P<sub>4</sub> en las semanas 16 y 23 de gestación, así como el aumento progresivo de los niveles de estas hormonas, que podemos relacionar con el comienzo de la percepción de los movimientos fetales y el inicio del funcionamiento del eje HHA fetal de manera autónoma.

A partir de la semana 37 comienza el periodo conocido como gestación a término, periodo del tercer trimestre de gestación en el que el feto alcanza su madurez y se inician los mecanismos del parto (Cunningham *et al.*, 2011). En nuestros resultados observamos cómo se mantiene un aumento progresivo de las concentraciones de E<sub>3</sub> y C y, a partir de la semana 37 se produce un incremento más rápido y pronunciado de ambas hormonas.

Se ha observado que la concentración de E<sub>3</sub> libre en saliva aumenta gradualmente hasta la quinta semana antes del parto, y a partir de ese momento aumenta de forma exponencial (Vining *et al.*, 1983; McGarrigle y Lachelin, 1984; Darne *et al.*, 1987).

Otros autores observaron un incremento pronunciado de E<sub>3</sub> entre las semanas 35 y 37, así como un aumento paralelo de E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> y E<sub>3</sub> en el mismo periodo, sugiriendo que la maduración del eje HHA fetal tenía relación directa con el inicio del parto (Hobel *et al.*, 1999; Morel *et al.*, 2016). De la misma forma, y corroborando nuestros resultados, otros autores observan un aumento exponencial de E<sub>3</sub> entre 2 y 6 semanas antes del parto (Hampson *et al.*, 2013; Kota *et al.*, 2013; Chatuphonprasert *et al.*, 2018).

Sin embargo, Hedriana y colaboradores (2001) sugieren que no es tanto el valor de las concentraciones de E<sub>3</sub> que se llegan a alcanzar, sino el incremento exponencial al final de la gestación, lo que parece estar relacionado con el momento del nacimiento.

El incremento de E<sub>3</sub> al final de la gestación aumenta la actividad de la enzima 11βHSD encargada de metabolizar el C materno a cortisona inactiva. La cortisona resultante estimula el eje HHA fetal, resultando en un incremento de DHEA-S y C fetales. El aumento de DHEA-S fetal dará lugar a un incremento de E<sub>3</sub>, que estimulará de nuevo mediante mecanismos de retroalimentación positiva la actividad de 11βHSD (Goodwin, 1999; Pepe et al., 2001; Kaludjerovic y Ward, 2012).

También se ha observado que los niveles de E<sub>3</sub> están asociados positivamente con los niveles de CRH placentario, y por consecuencia al aumento de C (Smith *et al.*, 2009), el cual se ha visto que aumenta al final de la gestación (Goldkrand *et al.*, 1976; Sandman *et al.*, 2006; Soma-Pillay *et al.*, 2016) coincidiendo con nuestros resultados. Además, la elevación de corticoides fetales al final de la gestación tiene concordancia con el pronunciado aumento de E<sub>3</sub> en la semana 37 (Fencl *et al.*, 1980) y con el inicio de los mecanismos del parto (Chatuphonprasert *et al.*, 2018).

El incremento de una unidad de C en plasma materno (μg/dl) lleva asociado un aumento de 34 pg/ml de CRH (Sandman *et al.*, 2006), lo que

explica que las modulaciones de CRH al final de la gestación están directamente reflejadas en los niveles de C (Hobel *et al.*, 1999).

Otros autores describen que los niveles de C llegan a triplicarse al final de la gestación (Jung *et al.*, 2011; Duthie y Reynolds, 2013; Wang *et al.*, 2014), lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio.

Mientras que los glucocorticoides inhiben la síntesis y secreción de CRH hipotalámica (Frim *et al.*, 1990), paradójicamente estimulan la expresión placentaria de CRH (Wang *et al.*, 2014).

La CRH placentaria aumenta a medida que avanza la gestación (Nodwell *et al.*, 1999) y estimula la síntesis de ACTH y la esteroidogénesis adrenal fetal. La estimulación de la síntesis de C y DHEA en la adrenal fetal está relacionada con la maduración de los órganos del feto y el inicio del parto (Frim *et al.*, 1990; Yoon *et al.*, 1998; Smith, 2007; Busada y Cidlowski, 2017).

Por otro lado, la P<sub>4</sub> inhibe la producción de CRH en la placenta (Karalis *et al.*, 1996; Ni *et al.*, 2004; Sfakianazi y Norwitz, 2006; Vrachnis *et al.*, 2012b), atenúa sus efectos, y compite con el C fetal por la unión a RGC (Karalis *et al.*, 1996; Micks *et al.*, 2015) estimulando así la hipófisis fetal (Goodwin, 1999). Los efectos de la P<sub>4</sub> sobre la actividad de CRH dependen de la edad gestacional y del número de receptores de P<sub>4</sub> que disminuyen hacia al final de la gestación (Mesiano, 2004; Kota *et al.*, 2013; Costa, 2016).

En cuanto a los resultados obtenidos en las concentraciones de  $P_4$ , observamos que esta hormona aumenta progresivamente durante el segundo y el tercer trimestre hasta el momento del parto, alcanzando su máxima concentración en el tercer trimestre. Estos resultados concuerdan con los expuestos por otros autores, los cuales observan que la concentración plasmática de  $P_4$  va incrementándose a lo largo de la gestación, alcanzando los niveles más altos en el tercer trimestre (Mesiano, 2001; Mesiano, 2004; Morel *et al.*, 2016). Asimismo, se encuentra un incremento del ratio estrógenos/ $P_4$  al final de la gestación relacionado con el inicio del parto (Challis *et al.*, 2000; Golightly *et al.*, 2011).

También observamos que los niveles de  $P_4$  a lo largo de la gestación, para mujeres que paren en la semana 37, son sensiblemente más bajos que para aquellas mujeres que dan a luz más tarde, lo cual está relacionado con la acción de  $P_4$  sobre las contracciones uterinas y la dilatación cervical (Pařízek *et al.*, 2014; Costa, 2016). Se ha observado que embarazos con un rápido incremento de  $P_4$  son más largos que aquellos con un aumento de niveles más lento (Jukic *et al.*, 2013).

Durante el embarazo, el crecimiento uterino se encuentra bajo el control de los estrógenos (Cunningham *et al.*, 2011; Costa, 2016). Asimismo, la supresión del crecimiento uterino y la inducción del estrechamiento de las paredes del miometrio están regulados por la  $P_4$  (Lye *et al.*, 2001). El incremento de la tensión sobre la pared uterina manda señales para el inicio del parto (Cunningham *et al.*, 2011).

Sin embargo, a pesar de que los niveles de P<sub>4</sub> circulante continúan aumentando al final de la gestación, existe una disminución del número de sus receptores, activando así los mecanismos de la contractilidad uterina (Mesiano, 2004; Brown *et al.*, 2006; Condon *et al.*, 2006; Menon, 2016).

El proceso de parto es una interrelación entre un proceso hormonal y un mecanismo inflamatorio (Golightly *et al.*, 2011). La enzima 3 $\beta$ HSD1 cataliza la conversión de DHEA en A<sub>4</sub> para ser luego convertida en E<sub>1</sub> por la enzima aromatasa (CYP19A1) (Hanukoglu, 1992; Thomas y Potter, 2013). Por otro lado, se ha descrito que la CRH puede estimular la expresión de CYP19A1 (You *et al.*, 2006), así como la síntesis de prostaglandinas (Gao *et al.*, 2008; Whittle *et al.*, 2001) y de IL-6 e IL-1 (Angioni *et al.*, 1993; Dudley, 1999; Keelan, 2018). El aumento de CRH al final de la gestación, y la consecuente síntesis de IL-6, IL-1, PGE<sub>2</sub> y CYP19A1, parece crear un ambiente estrogénico propicio para el inicio y mantenimiento del parto (Keelan, 2018; Anelli *et al.*, 2019).

Por otro lado, el aumento de C producido por la adrenal fetal al final de la gestación, da lugar a la producción de proteínas del surfactante pulmonar y fosfolípidos necesarios para el desarrollo y maduración pulmonar. Las proteínas del surfactante, al entrar en contacto con el líquido amniótico, actúan como activadores de macrófagos y estimulan la inflamación que ocurre durante el parto en las membranas fetales, cérvix y el miometrio subyacente (Keelan *et al.*, 1999; Cabero, 2012).

El incremento de  $P_4$ , C y  $E_3$  que observamos al final de la gestación puede estar relacionado con la preparación y el inicio de los mecanismos del parto, ya que la síntesis de estas hormonas puede verse incrementada por el aumento de CRH al final de la gestación, así como la disminución de la expresión de los receptores de  $P_4$  (Goldkrand *et al.*, 1976; Sandman *et al.*, 2006; Soma-Pillay *et al.*, 2016).

Por otro lado, se ha descrito la presencia de grandes cantidades de  $E_1$  en sangre de la mujer gestante, aunque se encuentra la mayor parte en su forma sulfatada ( $SO_4E_1$ ) (Mesiano, 2001).

Existe una gran similitud entre la unidad feto-placentaria de mujeres y otras especies animales (Raeside, 2017). El análisis de  $SO_4E_1$  se usa como indicador de viabilidad en gestaciones porcinas (Ohtaki *et al.*, 1999), así como para el diagnóstico de anomalías fetales en esta especie (Kornmatitsuk *et al.*, 2004). Este análisis también se realiza para la estimación de la supervivencia fetal en diferentes especies animales como las yeguas (Kasman *et al.*, 1988). Sin embargo, no existe mucha información acerca del mecanismo de acción de  $SO_4E_1$  en mujeres (Geyer *et al.*, 2017).

En nuestros resultados observamos que los valores de  $SO_4E_1$  va aumentando ligeramente desde el inicio del segundo trimestre hasta alrededor de la semana 35, que comienzan a aumentar exponencialmente hasta la semana de parto. De todas las hormonas analizadas,  $SO_4E_1$  es la primera que comienza su incremento exponencial en el tercer trimestre, lo que nos indica

que los niveles de esta hormona son de gran importancia para el mantenimiento de la gestación (Gibson *et al.*, 2018) y el inicio de los procesos de parto (Geyer *et al.*, 2017).

El ambiente estrogénico en la placenta tiene una influencia en el inicio de los mecanismos del parto (Ledingham *et al.*, 2000), y se ha propuesto, que la sulfatación de estrógenos está relacionada con la prolongación del embarazo, ya que la sulfatación parece evitar la actividad estrogénica de E<sub>1</sub> (Geyer *et al.*, 2017).

La síntesis de E<sub>1</sub> a partir de A<sub>4</sub> está regulada por la enzima aromatasa, expresada extensamente en la placenta (Kaludjerovic y Ward, 2012; Berkane *et al.*, 2017), y se ha descrito que los niveles de esta enzima aumentan a lo largo de la gestación (Kitawaki *et al.*, 1992). Se ha observado que, en gestantes a término, existe una gran producción placentaria de E<sub>1</sub> gracias a la acción de la aromatasa (Leslie *et al.*, 1994). Por lo tanto, según nuestros resultados obtenidos, el aumento de SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> encontrado puede estar relacionado con una gran actividad de la enzima aromatasa.

Aunque el papel fisiológico de los estrógenos durante la gestación es difícil de determinar (Morel *et al.*, 2016), según nuestros resultados podemos relacionar el aumento de SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> a partir de la semana 35 con la prolongación de la gestación, puesto que las mujeres con niveles más elevados de SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> a partir de la semana 37 paren más tarde, alrededor de las semanas 40-41.

Hacia el final de la gestación, se ha descrito un aumento de la expresión de la enzima  $17\beta$ HSD-2 encargada de convertir  $E_2$  en  $E_1$  en la placenta (Drolet *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2007), lo cual podemos relacionar también con el aumento de  $SO_4E_1$  encontrado en nuestros resultados. Su y colaboradores (2007) hipotetizan que el aumento de  $17\beta$ HSD-2 sirve, como “barrera protectora” para proteger al feto de exceso de  $E_2$ .

Además, algunos autores señalan que altos niveles de  $P_4$  pueden inducir la expresión de  $17\beta$ HSD-2 (Mesiano, 2001; Cheng *et al.*, 2006). La  $E_1$  actúa como una reserva inactiva de estrógenos modulada por la aromatasa, lo que apoya su función protectora sobre el útero de los efectos oxitócicos del  $E_2$  (Leslie *et al.*, 1994). En nuestros resultados también observamos una correlación positiva fuerte entre  $SO_4E_1$  y  $P_4$ , por lo que el aumento de las dos hormonas puede reforzar la hipótesis de que niveles altos de  $SO_4E_1$  y  $P_4$  actúan como agentes protectores del feto al exceso de estrógenos biológicamente activos.

El adecuado funcionamiento e interacción de los tejidos esteroideogénicos, además de las enzimas implicadas en su síntesis y transporte, son cruciales ya que la exposición intrauterina del feto a niveles anormales de glucocorticoides (Miranda y Sousa, 2018) u hormonas sexuales (Cardoso *et al.*, 2015; Pluchino *et al.*, 2016), afectan negativamente al desarrollo fetal. Además, concentraciones anómalas de hormonas esteroideas durante el embarazo pueden aumentar el riesgo materno de desarrollar enfermedades malignas (Schock *et al.*, 2014; Konstantakou *et al.*, 2017).

Existen muchos estudios que realizan un análisis hormonal de estrógenos, progestágenos y/o glucocorticoides durante la gestación, indicando que estos pueden servir como indicadores de alteraciones en el desarrollo de la gestación (Falah *et al.*, 2015; Fowden *et al.*, 2015; Newby *et al.*, 2015). Por ejemplo, niveles bajos de E<sub>3</sub> puede ser un indicador de crecimiento intrauterino retardado (Falah *et al.*, 2015), de muerte intrauterina (Fred-Voss, 1999), así como indicador de anomalías en la cascada esteroidogénica (Bulun, 2000; Pelissier *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2008; Reisch, *et al.*, 2013). Por otro lado, niveles bajos de estrógenos y P<sub>4</sub>, y elevadas concentraciones de andrógenos están relacionados con el desarrollo de pre-eclampsia (Shao *et al.*, 2017; Shin *et al.*, 2018; Wan *et al.*, 2018).

Sin embargo, no existen estudios que interrelacionen estos niveles de estrógenos, progestágenos y glucocorticoides y sus variaciones a lo largo de la gestación. Según los resultados obtenidos en este estudio, el análisis hormonal de P<sub>4</sub>, E<sub>3</sub>, C y SO<sub>4</sub>E<sub>1</sub> en momentos puntuales de la gestación son buenos indicadores de valores de normalidad en gestaciones de bajo riesgo, y su determinación podría aportar información relevante que complementarían al control ecográfico rutinario, al registro cardiotocográfico y reconocimiento de movimientos fetales realizados durante la gestación.

Por otro lado, factores externos como el estrés físico, psicosocial y/o económico pueden influir en el desarrollo del feto (Glover, 2011; Palma-Gudiel *et al.*, 2015). Sin embargo, existen diferencias entre el estrés específico del embarazo y el estrés general, ya que no van a producir el mismo efecto en el

desarrollo del feto (Romero González *et al.*, 2018). Además, la propia gestación supone unos cambios psicológicos (estado de ansiedad percibido) y puede afectar a la secreción materna de C. Los niveles de C en mujeres gestantes pueden ser distintos a los niveles en mujeres no gestantes, ya que estas no presentan estos cambios psicológicos y, es posible, que sus niveles de ansiedad percibidos sean distintos (Rondó *et al.*, 2004).

Así mismo, adversidades maternas como el estrés, depresión o ansiedad están asociados a un aumento en la producción de GC maternos y fetales, y puede depender del momento de la gestación (Morsi *et al.*, 2018).

Un incremento del estrés durante la gestación, supone una exposición fetal a elevadas concentraciones de GC (Glover, 2015) afectando al desarrollo neuronal y comportamental del recién nacido (McGowan y Matthews, 2018). Muchos estudios describen las consecuencias neurológicas a largo plazo asociados a la prematuridad (Rodríguez Valdés *et al.*, 2015; McGowan y Matthews, 2018) como: déficit de atención, hiperactividad, trastornos de ansiedad y esquizofrenia (Crowther, *et al.* 2007; Glover, 2015).

Existe una controversia entre la relación directa de los niveles de estrés materno y su reflejo en los niveles de C, así como su influencia en el desarrollo fetal. Diversos estudios avalan una relación directa entre el estado psicológico materno y niveles de C (Giesbrecht *et al.*, 2012; O'Connor *et al.*, 2013; Valsamakis, *et al.*, 2017). Otros autores afirman que el estrés prenatal puede influenciar la actividad de la enzima  $11\beta$ -HSD2 placentaria, encargada de

convertir el C en su forma inactiva cortisona, dejando al feto expuesto a mayores concentraciones de C (Welberg *et al.*, 2005). Además, se ha asociado el crecimiento intrauterino retardado (CIR) con una disminución de la actividad enzimática de  $11\beta$ -HSD2 (Peña *et al.*, 2012).

Las mujeres que tienen un aumento de los niveles medios de ansiedad durante el embarazo, muestran un incremento más pronunciado de C en comparación con aquellas mujeres que muestran niveles de ansiedad más bajos (Kane *et al.*, 2014). Estos resultados son consistentes con estudios previos en los que muestran asociaciones positivas entre ansiedad durante la gestación, y la actividad de la placenta y del eje HHA fetal (Mancuso *et al.*, 2004; Obel *et al.*, 2005).

El crecimiento fetal, especialmente durante el segundo trimestre, puede verse afectado por elevados niveles de C y estrés maternos, aunque no existe un acuerdo en relación al periodo en el que el feto es más sensible al estrés (Hohwü *et al.*, 2015; Arranz Betegón *et al.*, 2017).

Por otro lado, otros estudios no encuentran una asociación entre el estrés psicológico materno y los niveles de C durante el embarazo (Goedhart *et al.*, 2010; Bolten *et al.*, 2011; Pluess *et al.*, 2011; Kane *et al.*, 2014; Zijlmans *et al.*, 2017; Bleker *et al.*, 2017; Van den Heuvel *et al.*, 2018), así como su influencia sobre los mecanismos neuroendocrinos de la unidad feto-placentaria (Gilles *et al.*, 2018). Además, tampoco encuentran una correlación entre los niveles de C y las puntuaciones en la escala de estrés percibido (Perceived

Stress Scale, PSS) (Baibazarova *et al.*, 2013), o entre síntomas depresivos y ansiedad (Hompes *et al.*, 2012).

En las guías de control del embarazo normal como las que propone la SEGO, 2018 y el National Institute for Health and Care Excellence (NICE, 2017), hacen recomendaciones sobre las acciones informativas y promotoras de salud durante el embarazo, con la finalidad de cuidar el estado de salud de la madre y el hijo centradas en la alimentación, consumo de alcohol y tabaco, higiene, deportes, viajes y trabajo (NICE, 2017; SEGO, 2018).

Sin embargo, estas guías no contemplan la prevención y diagnóstico precoz de estrés y ansiedad, ni proporcionan ninguna herramienta concreta para la evaluación temprana de estos problemas de salud. Por ello, resulta indispensable demostrar la influencia de los estados psicológicos maternos mediante evaluaciones psicológicas, así como determinaciones biológicas, en concreto la determinación del C (Arranz Betegón *et al.*, 2017).

Existen pocos estudios que hayan relacionado conjuntamente pruebas de evaluaciones psicológicas y medidas biológicas de estrés en mujeres embarazadas (Arranz Betegón *et al.*, 2017). Actualmente la medición del estrés se realiza mediante el análisis de los niveles de C (Aguilar Cordero *et al.*, 2014). Además, se ha descrito que los niveles de C y catecolaminas en orina eran más elevados en mujeres que sufrían ansiedad o depresión (Diego *et al.*, 2006; Field *et al.*, 2010). Por ello, nos planteamos la incorporación de un test de

evaluación Estado-Rasgo al análisis hormonal de C, para correlacionar los niveles de ansiedad percibidos por la madre con los niveles de C en saliva.

Parece no haber un acuerdo entre qué medida de evaluación del estrés es la más adecuada, si bien evaluaciones psicológicas y/o análisis de biomarcadores son los más utilizados (Arranz Betegón *et al.*, 2017).

Muchos estudios utilizan instrumentos psicométricos para el análisis de estrés o ansiedad en la gestación, aunque no existe consenso sobre qué herramienta es la más adecuada: STAI, STAIX (Inventario de Expresión de Ira Estado-Rasgo), General Health Questionnaire (GHQ), Perceived Stress Scale (PSS), Life Events Scale, Pregnancy Stress Questions, Pregnancy Related Anxiety Questionnaire, Self Reported Anxiety Scale (SAS), o Depression, Anxiety and Stress Scale 21-item (DASS-21), entre otros son los más utilizados (Zhu *et al.*, 2010; Liou *et al.*, 2016; Field *et al.*, 2010; Khashan *et al.*, 2014; Dolatian *et al.*, 2016).

El inventario STAI es uno de los cuestionarios más utilizados, para medir el nivel de ansiedad en pacientes con diversos trastornos físicos y psicológicos (Guillén- Riquelme y Buela-Casal, 2014), así como en diferentes estudios con mujeres embarazadas (Da Costa *et al.* 2000; Field *et al.*, 2010). Sin embargo, algunos autores especifican que este cuestionario está ideado para mujeres no gestantes mas que para mujeres gestantes. Mujeres embarazadas pueden interpretar las preguntas del cuestionario de forma distinta dando lugar a

puntuaciones más elevadas que corresponden a altos niveles de ansiedad, aunque no muestren síntomas somáticos de esta. (Newham *et al.*, 2012).

Valsamakis y colaboradores (2017), afirman que concentraciones de CRH y C maternos fueron mayores en mujeres con puntuación STAI mayor de 40 puntos, que, en aquellas con una puntuación menor, lo cual sugiere una relación directa entre el estrés materno y la activación del eje HHA durante la gestación. En nuestros resultados observamos una puntuación mayor de 40 puntos tan solo en la semana 12 de gestación, existiendo correlación positiva con los valores de C. Sin embargo, a partir de la semana 13 de gestación, no existe correlación entre los resultados del STAI y los niveles hormonales.

Por otro lado, Bolten y colaboradores, infieren que no existe relación entre el estrés percibido, medido con cuestionarios de angustia prenatal, y los niveles de C de la madre. Sin embargo, sí observan que existe una influencia de niveles de C elevados durante el embarazo sobre el crecimiento intrauterino. Además, concluyen que el análisis bioquímico de C es un mejor predictor de las consecuencias neonatales que el cuestionario de angustia prenatal (Bolten *et al.*, 2011).

Una de las desventajas de la utilización de este tipo de cuestionarios es el posible riesgo de sesgo de aprendizaje al mismo, si se realiza de forma continuada (Choi *et al.*, 2010; Vázquez *et al.*, 2018). Posiblemente, al haber realizado el cuestionario semanalmente, este hecho explicaría por qué no

encontramos correlación entre los niveles de C y la puntuación del cuestionario STAI a partir de la semana 13 de gestación.

Por otro lado, la posibilidad de la predicción del día de parto es una pregunta frecuente en las gestantes; sin embargo, actualmente los especialistas cuentan con pocas herramientas para predecir el parto en gestantes a término (ACOG, 2014). El uso de la ecografía transvaginal y la medición de la longitud cervical a término, para predecir el inicio del parto, se ha normalizado en muchos grupos de población (Orzechowski, *et al.*, 2014), a pesar de ser una técnica molesta, invasiva y con un valor predictivo moderado (Sacconne *et al.*, 2016).

El conocimiento de la fecha de parto supondría múltiples ventajas tanto para la madre, a la hora de poder planificar el mismo, como para la gestión hospitalaria, ya que se podrían coordinar los recursos hospitalarios en función al número de partos esperados. Otra gran ventaja sería la disminución del número de inducciones al parto secundarias a gestaciones prolongadas. El periodo de gestación es considerado a término entre la semana 37 y 42 (Usandizaga *et al.*, 2011), y tan solo el 4% de los neonatos nacen en la fecha probable de parto (F.P.P) (Mongelli *et al.*, 1996). El 33 % nacen con un margen de una semana alrededor de la F.P.P., y el 66 % nacen con un margen de dos semanas alrededor de la F.P.P (Khambalia *et al.*, 2013). Diferentes autores expusieron que el desconocimiento de la fecha de parto, supone en la gestante un motivo de ansiedad, especialmente si ven la posibilidad de necesitar una inducción (López Araque, 2015; Todd *et al.*, 2017).

Por otro lado, cabe resaltar que la tasa de mortalidad perinatal (muerte neonatal precoz y muerte intrauterina) aumenta del 2-3% en la semana 40; y al 4-7% en la semana 42 (Galal *et al.*, 2012), siendo el embarazo post-término prolongado un motivo para la inducción del parto (NICE, 2018). Actualmente, no existe un momento establecido para la realización de la inducción, aunque se recomienda entre la semana 41 y 42 (NICE, 2018).

La mayoría de los estudios se centran en la predicción de parto prematuro (Benoist, 2016; Blanc y Bretelle, 2016). Se ha descrito que la CRH tiene una relación relativamente específica con el aumento del riesgo de parto prematuro (Leung *et al.*, 2001; McGrath *et al.*, 2002;), y que determina el momento del inicio del parto (McLean *et al.*, 1995; Fadalti *et al.*, 2000); por lo que algunos autores lo proponen como buen indicador de parto prematuro, a partir del segundo trimestre (Smith *et al.*, 2009). Sin embargo, no se contempla como indicador de la fecha de parto a término.

Aunque la investigación sobre la predicción de parto en mujeres es limitada, en especies animales como los ovinos, se ha observado que concentraciones plasmáticas de estradiol pueden predecir el momento del parto con cinco días de antelación (Macmillan y Davis, 2002). También se ha utilizado el análisis de metabolitos de esteroides fecales, junto con ecografía abdominal en la panda roja (*Ailurus fulgens styani*) para la predicción del inicio del parto (Curry *et al.*, 2017).

Por otro lado, el sistema endocrino es un complejo sistema regulatorio con múltiples niveles de organización (sistema nervioso central, glándulas, tejidos, células) y ciclos de tiempo (oscilaciones circadianas, respuestas rápidas, ritmos ultradianos). Este sistema muestra respuestas no lineales de retroalimentación involucradas en la interacción entre sus componentes y otras partes del cuerpo. Los modelos matemáticos han enseñado a comprender cómo los mecanismos de retroalimentación son clave para la modulación homeostática (Zabala *et al.*, 2019). La modelización matemática también ayuda a la comprensión del comportamiento del complejo eje hipofisario-hipotalámico-adrenal (Leng y Macgregor, 2008).

Por todo ello, planteamos el desarrollo de un modelo matemático basado en las mediciones hormonales de  $P_4$ ,  $SO_4E_1$ ,  $E_3$  y  $C$  desde la semana 34, para predecir con una semana de antelación si la semana siguiente dará lugar al proceso de parto. Actualmente, los avances tecnológicos en biomedicina hacen que se creen equipos multidisciplinares formados por clínicos, epidemiólogos, estadísticos, matemáticos, informáticos, entre otros (Casals *et al.*, 2009), por ello contamos con la colaboración *del Departamento de Matemáticas de la UCM para la ayuda al desarrollo de la investigación*, para el desarrollo del modelo matemático.

El uso de machine learning, método de análisis de datos que automatiza el desarrollo de modelos analíticos (Baçtanlar y Ozuysal, 2014), despierta un interés creciente en el campo de la obstetricia, ya que se ha visto su utilidad en

el diagnóstico de partos prematuros y enfermedades obstétricas emergentes (Meertens *et al.*, 2018).

La mayoría de modelos de predicción de partos prematuros utilizan modelos de regresión logística múltiple. Sin embargo, su implementación sigue siendo compleja, puesto que la existencia de partos prematuros está influenciada por múltiples factores (Meertens *et al.*, 2018).

En nuestro estudio se ajustaron dos modelos: un modelo de regresión logística, y un modelo random forest.

La regresión logística es un modelo con gran capacidad explicativa que permite realizar una interpretación de la influencia de las variables independientes (o regresores), sobre la dependiente a partir del valor de los odds ratios asociados a las estimaciones de los parámetros. Por otro lado, el modelo de random forest es un modelo que sacrifica la interpretabilidad del resultado, pero a cambio, consigue ser muy competitivo desde el punto de vista predictivo. (Malley *et al.*, 2011).

Para el ajuste de estos modelos, hemos establecido como métrica de evaluación la tasa de acierto del modelo al realizar la predicción. Los valores obtenidos para dicha métrica, en un proceso de validación cruzada y, sobre una muestra de mujeres reservada para test, son respectivamente, de 77,4% y 69,07%, en el caso de la regresión logística, y de 81,03% y 79,38% en el caso del random forest. Además de observarse una mejora sensible en cuanto a la

tasa de acierto de este último sobre la tabla de test, se aprecia también que dicho modelo está menos sobreajustado.

En un estudio comparativo con 243 conjuntos de datos médicos con distintos objetos de estudio, se ha observado que el modelo de random forest tiene mejor capacidad de predicción, comparado con el modelo de regresión logística, y proponen continuar la investigación sobre la metodología de random forest y mejorar su capacidad de aplicar los resultados a otros grupos de datos (Couronné *et al.*, 2018).

Se han comparado modelos de regresión logística múltiple y random forest para relacionar biomarcadores inmunológicos, eicosanoides y factores de crecimiento, y su capacidad para predecir el parto prematuro, observando que, la aplicación del proceso de modelización de random forest tiene mayor poder predictivo que el modelo de regresión logística múltiple (Aung *et al.*, 2019).

El conocimiento de la semana de parto con una semana de antelación tiene múltiples beneficios, tanto para la gestante como para el personal sanitario, resultando de gran utilidad para la reducción del número de inducciones al parto por embarazo prolongado.

La inducción al parto es definida como el proceso de estimulación artificial del útero para comenzar el parto, administrando oxitocina y/o prostaglandinas, o mediante la ruptura artificial de membranas (WHO, 2011). Es una de las intervenciones médicas más frecuentes en relación con los

nacimientos, alcanzando alrededor del 25% de los partos en países de altos recursos económicos (Vogel, 2014; National Childbirth Trust, 2016). Sin embargo, las inducciones al parto tienen un alto impacto en la salud de la mujer y en la de sus hijos (Grivell *et al.*, 2012), y su uso debería tener una clara justificación clínica (NICE, 2018). La recomendación actual de la OMS para inducciones al parto no supera el 10%. (WHO, 2011).

Las inducciones se realizan para prevenir un potencial daño tanto de la madre como del feto (Dunne *et al.*, 2009). Sin embargo, otros autores exponen que existen diferentes motivos para la inducción al parto: rotura prematura de membranas, restricción del crecimiento intrauterino, diabetes gestacional, así como el embarazo prolongado, entre otros (NICE, 2018).

Hay estudios que sugieren que entre el 25-50% de las inducciones se realizan sin un motivo médico, y muchas se realizan antes de alcanzar embarazo postérmino (Ananth *et al.*, 2013; Ekeus y Lindgren, 2016).

El embarazo prolongado, a pesar de la falta de consenso sobre la fecha más adecuada para finalizar la gestación, sigue siendo uno de los principales motivos de inducción ya que, aun siendo bajos los riesgos de muerte intrauterina y compromiso fetal (menos del 1% en la semana 41) (Caughey, 2013), este porcentaje aumenta de manera exponencial a partir de la semana 42 (NICE, 2018).

Las inducciones al parto están asociadas con un mayor porcentaje de partos instrumentales, cesáreas y uso de anestesia epidural (Bailit *et al.*, 2010; Grivell *et al.*, 2012; Baud *et al.*, 2013; Jay *et al.*, 2018; Rydahl *et al.*, 2019). Otras de las complicaciones derivadas de la inducción al parto son: la reducción del pH fetal (Baud *et al.*, 2013; Daskalakis *et al.*, 2013), la retención placentaria directamente relacionada a la hemorragia posparto (Ashwal *et al.*, 2014; Sheiner *et al.*, 2005), y el aumento de corioamnionitis, distocias en el parto, rotura uterina y partos precipitados (Rydahl *et al.*, 2019). Todas estas posibles consecuencias derivadas de las inducciones al parto resultan en un incremento del coste debido a las hospitalizaciones prolongadas (Vardo *et al.*, 2011).

Por lo tanto, la predicción del parto con antelación, podría evitar las inducciones de aquellas gestaciones prolongadas, confirmando que el inicio del parto comenzará la semana siguiente a la aplicación del modelo matemático, concretando el plazo máximo para mantener una gestación, dando la oportunidad de comienzo de un parto espontáneo y reduciendo las complicaciones asociadas a las inducciones al parto.

Estudios basados en las impresiones de las mujeres sobre la fecha probable de parto, concluyen que las mujeres necesitan tener información sobre el momento del parto para poder organizar el embarazo, parto y su vida en el periodo postparto (Todd *et al.*, 2017).

Por ello, otro de los beneficios de la aplicación del modelo matemático desarrollado es el conocimiento de la fecha de parto por parte de la mujer, lo que hace posible reducir los niveles de ansiedad asociados a la incertidumbre del parto y también contribuir a la planificación en las semanas previas al mismo.

El amplio margen de la fecha probable de parto resulta un inconveniente para la planificación de recursos en las maternidades. Con frecuencia se encuentran sobrecargadas, con un riesgo asociado para las mujeres, ya que los recursos asistenciales están basados en niveles de demanda medios y no se tienen en cuenta el volumen de casos reales que se pueden esperar (Litvak *et al.*, 2005). Un aumento en el número de matronas y obstetras está asociado a una disminución del ratio de cesáreas (Zbiri *et al.*, 2018).

Las estimaciones han sido ampliamente usadas para la modelación y análisis de entornos sanitarios (Katsaliaki y Mustafee, 2011). Hoy en día, el cálculo de personal necesario en un paritorio está basado en estimaciones computerizadas en función del número de partos al año y el número de matronas por turno (Allen y Thorton, 2012).

Por ello, el análisis hormonal de  $E_3$ ,  $P_4$ ,  $C$  y  $SO_4E_1$  y la aplicación del modelo matemático desarrollado en mujeres gestantes de bajo riesgo, de forma rutinaria desde la semana 34, puede contribuir a mejorar la asignación de recursos sanitarios en función al número de partos esperados, así como la reducción del número de inducciones al parto postérmino.

En los últimos años, se ha enfatizado la necesidad de desarrollar nuevos métodos de pronóstico en el campo de la obstetricia para mejorar la práctica clínica con respecto a la predicción de nacimientos prematuros, métodos de parto y desarrollo de preeclampsia, entre otros (Kleinrouweler et al., 2016).

Por ello, el desarrollo de un modelo matemático capaz de predecir el parto con una exactitud del 79,38% y un valor predictivo positivo del 70.83%, así como un valor predictivo negativo del 82.19%, basado en las variaciones hormonales de  $E_3$ ,  $P_4$ ,  $C$  y  $SO_4E_1$  de solo cuatro muestras de saliva recogidas desde la semana 34 supone un avance sin precedentes en el campo de la obstetricia. Esta útil herramienta puede contribuir a mejorar la asignación de recursos sanitarios en función al número de partos esperados, así como la reducción del número de inducciones al parto postérmino.

Cabe también destacar que el valor de la media de  $SO_4E_1$  en cuatro semanas anteriores cobran una gran relevancia, poniendo en manifiesto que la participación del  $SO_4E_1$  en el inicio de los mecanismos del parto es mas importante que el descrito hasta ahora. Su investigación en el ámbito de la obstetricia puede contribuir a la comprensión de aspectos del parto hasta ahora desconocidos.

ACRÓNIMOS

RESUMEN

SUMMARY

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS

DISCUSIÓN

**CONCLUSIONES**

BIBLIOGRAFÍA



**Conclusión 1:** La técnica EIA desarrollada y validada para la detección de las hormonas esteroideas (cortisol, estriol, sulfato de estrona y progesterona) en saliva de mujeres gestantes es precisa, fiable y altamente sensible. Además, es un buen método de diagnóstico, económico, no invasivo y fácil de implementar en el seguimiento rutinario de la gestación.

**Conclusión 2:** Durante el segundo trimestre existen elevaciones de cortisol, estriol, sulfato de estrona y progesterona, en las semanas 16,18 y 23 de gestación que pueden ayudar a la valoración del buen desarrollo fetal. Estas mediciones pueden servir como apoyo a las pruebas del seguimiento del embarazo realizadas hasta ahora.

**Conclusión 3:** Durante el tercer trimestre existe un aumento gradual y al final exponencial de cortisol, estriol, sulfato de estrona y progesterona, este aumento va a preparar al feto y a la madre para el inicio del parto. El aumento del sulfato de estrona en la semana 35 a va a determinar las subidas de las demás hormonas estudiadas. Por lo que es muy importante la medición de esta hormona durante el tercer trimestre de la gestación, para tener un mejor conocimiento del inicio de los procesos del parto.

**Conclusión 4:** El desarrollo de un modelo matemático predictivo de la fecha de parto con muestras salivares desde la semana 34 en mujeres gestantes es un método novedoso que puede mejorar la gestión de recursos en unidades de maternidad en función de los partos esperados, así como la reducción del número de inducciones al parto por motivo de gestación prolongado.

**Conclusión final:** La inclusión del análisis hormonal y los modelos matemáticos en el seguimiento de la gestación puede contribuir a la mejora de la supervivencia fetal, así como en la predicción de la fecha de parto.

ACRÓNIMOS

RESUMEN

SUMMARY

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

**BIBLIOGRAFÍA**



- Abraham, G.E. 1975. Radioimmunoassay of steroids in biological fluids. *J Steroid Biochem*; 6: 261-70.
- Abrao, A.L., Leal, S.C., Falcao, D.P. 2014. Salivary and serum cortisol levels, salivary alpha- amylase and unstimulated whole saliva flow rate in pregnant and non-pregnant. *Rev Bras Ginecol Obstet*; 36(2): 72-78.
- ACOG, American College of Obstetricians and Gynecologists. 2014. American Institute of Ultrasound in Medicine and Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee opinion no. 611: method for estimating due date. *Obstet Gynecol*; 124: 836-837.
- Aguilar Cordero, M.J., Sánchez López, A.M., Mur Villar, N., García García, I., Rodríguez López, M.A., Ortegón Piñero, A., *et al.* 2014. Cortisol salival como indicador de estrés fisiológico en niños y adultos: revisión sistemática. *Nutrición Hospitalaria*; 29(5): 960-968.
- Akkaya, H., Büke, B. 2018. A frequently asked question: Is it normal not to feel my baby movements yet?. *J Chin Mec Assoc*; 81: 742-746.
- Allen, M., Thorton, S. 2012. Providing one to one care in labour. Analysis of "Birthrate Plus" labour ward staffing in real and simulated labour ward environments. *BJOG*; 120: 100-107.
- Ananth, C.V, Wilcox, A.J., Gyamfi-Bannerman, C. 2013. Obstetrical interventions for term first deliveries in the US. *Paediatr Perinat Epidemiol*; 27(5): 442-4551.
- Andía, M.E., Arrieta, C., Sing Long, C.A. 2019. Una guía conceptual para usar y entender Big Data en la investigación clínica, *Rev Med Clin Condes*; 30(1): 83-94.

- Anelli, G.M., Mandò, C., Letizia, T., Mazzocco, M.I., Novielli, C., Personeni, C., *et al.* 2019. Placental ESRRG-CYP19A1 expressions and circulating 17-beta estradiol in IUGR pregnancies. *Front. Pediatr*; 7: 154.
- Angioni, S., Petraglia F., Gallinelli A., Cossarizza, A., Franceschi, C., Muscettola M., *et al.* 1993. Corticotropin- releasing hormone modulates cytokine release in cultured human peripheral blood mononuclear cells. *Life Sci*; 53: 1735-1742.
- Arranz Betegón, Á., García Moliner, M., Montenegro Nadal, G., Camacho Sáez, A., Parés Tercero, S., Goberna Tricas, J., *et al.* 2017. La influencia del estrés o ansiedad de la gestante en el peso fetal o neonatal: revisión bibliográfica. *Matronas Prof*; 18(2): 69-77.
- Arteaga Martínez S., García Peláez M.I. 2019. Embriología humana y biología del desarrollo. Editorial médica panamericana. <https://www-medicapanamericanacom.bucm.idm.oclc.org/visorebookv2/ebook/9786079356286>.
- Ashwal, E., Melamed, N., Hirsch, L., Wiznitzer, A., Yogev Y., Peled Y. 2014. The incidence and risk factors for retained placenta after vaginal delivery - a single center experience. *J Matern Fetal Neonatal Med*; 27(18): 1897-1900.
- Aung, M.T., Yu, Y., Ferguson, K.K., Cantonwine, D.E., Zeng, L., McElrath, T.F., *et al.*, 2019. Prediction and associations of preterm birth and its subtypes with eicosanoid enzymatic pathways and inflammatory markers. *Sci Rep*; 9: 17049.
- Baçtanlar, Y., Ozuysal, M. 2014 Introduction to machine learning. *Methods Mol Biol*; 1107: 105-128.

- Baibazarova, E., van de Beek, C., Cohen-Kettenis, P.T., Buitelaar, J., Shelton, K.H., van Goozen, S.H. 2013. Influence of prenatal maternal stress, maternal plasma cortisol and cortisol in the amniotic fluid on birth outcomes and child temperament at 3 months. *Psychoneuroendocrinology*; 38: 907-915.
- Bailit, J.L., Gregory, K.D., Reddy, U.M., Gonzalez- Quintero, V.H., Hibbard, J.U., Ramirez, M.M. *et al.* 2010. Maternal and neonatal outcomes by labor onset type and gestational age. *Am J Obstet Gynecol*; 202(3): 245.e1-245.
- Bale, T.L., Dorsa, D.M. 1997. Cloning, novel promoter sequence, and estrogen regulation of a rat oxytocin receptor gene. *Endocrinology*; 138: 1151-1158.
- Barrera, D., Ávila, E., Díaz L. 2007. Papel inmunológico de la progesterona en el mantenimiento del embarazo. *Rev Invest Clín*; 59: 2.
- Baud, D., Rouiller, S., Hohlfeld, P., Tolsa, J.F., Vial, Y. 2013. Adverse obstetrical and neonatal outcomes in elective and medically indicated inductions of labor at term. *J Matern Fetal Neonatal Med*; 26(16): 1595-1601.
- Bellem, A., Meiyappan, S., Romans, S., Einstein, G. 2011. Measuring estrogens and progestagens in humans: An Overview of Methods. *Gend Med*; 8: 283-299.
- Benoist, G. 2016. Prediction of preterm delivery in symptomatic women (preterm labor). *J Gynecol Obstet Biol Reprod*; 45(10): 1346-1363.
- Berga, S.L., Nitsche, F.J., Braunstein, G.D. 2016. Endocrine changes in pregnancy. En: Melmed, S., Polonsky, P., ;arsen, R., Kronenberg, H.M. (eds) *Williams textbook of endocrinology (13<sup>a</sup>ed)*, Elsevier, p. 831-848.
- Berkane, N., Liere, P., Oudinet, J.P., Hertig, A., Lefèvre, G., Pluchino, N., *et al.* 2017. From Pregnancy to Preeclampsia: A Key Role for Estrogens. *Endocr Rev*; 38: 123-144.

- Blanc, J., Bretelle F. 2016. Predictive tools of preterm birth in asymptomatic high-risk pregnancy. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*; 45(10): 1261-1279.
- Blatchley, F.R., Nonovan, B.T., Poyser, N.L., Horton E.W., Thompson, C.J., Los, M. 1971. Identification of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in the uteru-ovarian blood of guinea pig after treatment with oestrogen. *Nature*; 230: 243-244.
- Bleker, L.S., Roseboom, T.J., Vrijkotte, T.G., Reynolds, R.M., de Rooij, S.R. 2017. Determinants of cortisol during pregnancy - the ABCD cohort. *Psychoneuroendocrinology*; 83: 172-181.
- Boateng, E., Abaye, D. 2019. A Review of the Logistic Regression Model with Emphasis on Medical Research. *Journal of Data Analysis and Information Processing*; 7: 190-207.
- Boeldt, D.S., Bird, I.M. 2018. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J Endocrinol*; 232: 27-44.
- Bolten, M., Wurmser, H., Buske-Kirschbaum, A., Papousek, M., Pirke, K., Hellhammer, D. 2011. Cortisol levels in pregnancy as psychobiological predictor for birth weight. *Arch Womens Ment Health*; 14: 33-41.
- Brieman, L. 2001. Random Forest. *Machine Learning*; 45: 1.
- Brown, A.G., Leite, R.S., Strauss, J.F. 2006. Mechanism underlying "functional" progesterone withdrawal at parturition. *Ann NY Acad Sci*; 1034: 36-49.
- Bulun, S.E. 2000. Aromatase deficiency and oestrogen resistance: from molecular genetics clinic. *Semin Reprod Med*; 18: 31-39.
- Burton, G.J., Jauniaux E. 2018. Pathophysiology of placental- derived fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*; 218(2S): S745-S761.
- Busada, J.T., Cidlowski, J.A. 2017. Mechanisms of glucocorticoid action during development. *Curr Top Dev Biol*; 125: 147-170.

- Cabero Roura, L. 2012. Tratado de ginecología y obstetricia. Ginecología y medicina de la reproducción. Editorial médica panamericana. <https://www-medicapanamericana-com.bucm.idm.oclc.org/visorebookv2/ebook/9788498357516>.
- Cabero Roura, L., Saldivar Rodriguez, D., Cabrillo Rodriguez, E. 2012b. Obstetricia y medicina materno-fetal. Editorial médica panamericana. Disponible en: <https://www-medicapanamericana-com.bucm.idm.oclc.org/visorebookv2/ebook/9788498355949>.
- Cardoso, R.C., Puttabyatappa, M., Padmanabhan, V. 2015. Steroidogenic versus metabolic programming of reproductive neuroendocrine, ovarian and metabolic dysfunctions. *Neuroendocrinology*; 102: 226-237.
- Casals, M., Guzman, K., Caylà, J.A. 2009. Modelos matemáticos utilizados en el estudio de las enfermedades transmisibles. *Rev Esp Salu Pública*; 83: 689-695.
- Castrillón-Moreno, D.A, Borrero- Copete, P.E. 2005. Validación del inventario de ansiedad estado-rasgo en niños escolarizados entre los 8 y 15 años. *Act Colom Psicol*; 8: 79-90.
- Caughey, A.B. 2013. Elective induction of labour is associated with decreased perinatal mortality and lower odds of caesarean section at 40 and 41 weeks. *BMJ Evidence-Based Medicine*; 18:117-118.
- Challis, J.R., Matthews, S.G., Gibb, W., Lye, S.J. 2000. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr Rev*; 21: 514-50.
- Chawlisz, K., Garfield, R.E. 1998. Role of nitric oxide in the uterus and cervix: Implications for the management of labor. *J Perinat Med*; 26: 448-457.
- Chatuphonpraster, W., Jarukamjorn, K., Ellinger, I. 2018. Physiology and pathophysiology of steroid biosynthesis, transport and metabolism in the human placenta. *Front Pharmacol*; 9: 1027.

- Chen, J.Z., Wong, M.H., Brennecke, S.P., Keogh, R.J. 2011. The effects of human chorionic gonadotrophin, progesterone and oestradiol on trophoblast function. *Mol Cell Endocrinol*; 342: 73-80.
- Cheng, Y.H., Imir, A., Suzuki, T., Fenkci, V., Yilmaz, B., Sasano, H. *et al.*, 2006. SP1 and SP3 mediate progesterone-dependent induction of the 17beta hydroxysteroid dehydrogenase type 2 gene in human endometrium. *Biol reprod*; 75(4): 605-614.
- Choi, B., Granero, R., Pak, A. 2010. Catálogo de sesgos o errores en cuestionarios sobre salud. *Rev Cost Salud Pública*; 19: 106-118.
- Condon, J., Gosden, C., Gardener, D., Nickson, P., Hewison, M., Howie, A.J. *et al.* 1998. Expression of type 2, 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and cortico steroid hormones receptors in early human fetal life. *J Clin Endocrinol Metab*; 83: 4490-4497.
- Condon, J.C., Hardy, D.B., Kovaric, K., Mendelson, C.R. 2006. Upregulation of the progesterone receptor(PR)-C isoform in laboring myometrium by activation of nuclear factor-kappaB may contribute to the onset of labor through inhibition of PR function. *Mol Endocrinol*; 20: 764-775.
- Costa, M. A. 2016. The endocrine function of human placenta: an overview. *Reprod Biomed Online*; 32: 14-43.
- Costa, A., Rocci, M.P., Arisio, R., Benedetto, C., Fabris, C., Bertino, E., *et al.* 1996. Glucocorticoid receptors immunoreactivity in tissue of human embryos. *J Endocrinol Invest*; 19: 92-98.
- Couronné, R., Probst, P., Boulesteix, A.L. 2018. Random forest versus logistic regression: a large-scale benchmark experiment. *BMC Bioinformatics*; 19: 270.

- Crowther, C.A., Doyle, L.W., Haslam, R.R., Hiller, J.E., Harding, J.E., Robinson, J.S. 2007. ACTORDS Study group. Outcomes at 2 years of age after repeat doses of antenatal corticosteroids. *N Engl J Med*; 357: 1179-1189.
- Cunningham, F., Gant, N., Leveno, K., Gilstrap, L., Hauth, J., Wenstrom, K. 2015. Trabajo de parto y parto normales. En: *Williams Obstetricia*. 24th ed. Madrid: Editorial médica panamericana. p.213-265.
- Cunningham, F., Kenneth, J.L., Bloom, S.L., Hauth, J.C., Rouse, D.J., Spong, C.Y. 2011. *Williams obstetricia*. 23<sup>a</sup>ed., Mexico D.F., McGraw-Hill Interamericana editores, S.A. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/universidadcomplutense-ebooks/reader.action?docID=3214442>.
- Curry, E., Browning, L.J., Reinhart, P., Roth, T.L. 2017. Integrating tras-abdominal ultrasonography with fecal steroid metabolite monitoring to accurately diagnose pregnancy and predict the timing of parturition in the red panda (*Ailurus fulgens styani*). *Zoo Biol*; 36(3): 193-200.
- Da Costa, D., Larouche, J., Drista, M., Brender, W. 2000. Variation in stress levels over the course of pregnancy: factors associated with elevated hassles, state anxiety and pregnancy-specific stress. *J Psychosom Res*; 47: 609-621.
- Darne, J., McGarrigle, H.H., Lachelin, G.C. 1987. Saliva oestriol, oestradiol, oestrone and progesterone levels in pregnancy: spontaneous labor at term is preceded by a rise in the saliva oestriol-progesterone ratio. *Br J Obstet Gynaecol*; 94: 227-235.
- Daskalakis, G., Zacharakis, D., Simou, M., Pappa, P., Detorakis, S., Mesogitis, S., *et al.* 2013. Induction of labor versus expectant management for pregnancies beyond 41 weeks. *J Matern Fetal Neonatal*; 27(2): 173-176.

- De Cherney, A., Spencer, J., Chard, T., Hutchinson, K.A. 2015. Endocrinología del embarazo y la placenta. En: Hobbins, R (eds) Parte II: Obstetricia clínica. Editorial médica panamericana. <https://ucm.on.worldcat.org/search?sortKey#/oclc/733882088>.
- Demir, R., Kayisli, U.A., Cayli, S., Huppertz, B. 2006. Sequential steps during vasculogenesis and angiogenesis in the very early human placenta. *Placenta*; 27(6-7): 535-539.
- Derrickson, B., Tortora, G.J. 2015. Principios de anatomía y fisiología. 13ª ed. Editorial médica panamericana. <https://www-medicapanamericana-com.bucm.idm.oclc.org/visorebookv2/ebook/9786079356705>.
- Di Pietro, J., Kivlighan, K.T., Costigan, K.A., Laudenslager, M.L. 2009. Fetal motor activity and maternal cortisol. *Dev Psychobiol*; 51(6): 505-512.
- Diego, M.A., Jones, N.A., Field, T., Hernández-Reif, M., Schanberg, S., Kuhn, C., *et al.* 2006. Maternal psychological distress, prenatal cortisol, and fetal weight. *Psychosom Med*; 68(5): 747-753.
- Dolatian, M., Mahmoodi, Z., Alavi-Majd, H., Moafi, F., Ghorbani, M., Mirabzadeh, A. 2016. Psychosocial factors in pregnancy and birthweight: path analysis. *J Obstet Gynaecol Res*; 42(7): 822-830.
- Drolet, R., Simard, M., Plante, J., Laberge, P., Tremblay, Y. 2007. Human type 2 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase mRNA and protein distribution in placental villi at mid and term pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*; 10: 5-30.
- Dudley, D.J. 1999. Inmuoendocrinology of preterm labor: The link between corticotropin-releasing hormone and inflammation. *Am J Obstet Gynecol*; S256.

- Dunne, C., Da Silva, O., Schmidt, G., Natale, R. 2009. Outcomes of elective labour induction and elective caesarean section in low-risk pregnancies between 37 and 41 weeks' gestation. *J Obstet Gynaecol Can*; 31(12): 1124-1130.
- Duthie, L., Reynolds, R.M. 2013. Changes in the maternal hypothalamic-pituitary-adrenal axis in pregnancy and postpartum: influences on maternal and fetal outcomes. *Neuroendocrinology*; 98: 106-115.
- Ekeus, C., Lindgren, H. 2016. Induced labor in Sweden, 1999 - 2012: A population-based cohort study. *Birth*; 43(2): 125-133.
- Escobar, J.C., Patel, S.S., Vesahy, V.E., Suzuki, T., Carr, B.B. 2011. The human placenta expresses CYP17 and generates androgens de novo. *J Clin Endocrinol Metab*; 96: 1385-1392.
- Fadalti, M., Pezzani, I., Cobellis, L., Springolo, F., Petrovec, M.M., Ambrosini, G., *et al.* 2000. Placental corticotropin-releasing factor. An update. *Ann NY Acad Sci*; 900: 89-94
- Falah, N., Torday, J., Quinney, S.K., Hass, D.M. 2015. Estriol review clinical application and potential biomedical importance. *Clin Res Trials*; 1(2): 29-33.
- Fencl, M.P., Stillman, R.J., Tulchinsky D. 1980. Direct evidence of sudden rise in fetal corticoids late in human gestation. *Nature*; 287: 225-226.
- Field, T., Diego, M., Hernández-Reif, M., Figueiredo, B., Deeds, O., Ascencio, A., *et al.* 2010. Comorbid depression and anxiety affects on pregnancy and neonatal outcome. *Infant Behav Dev*; 33(1): 23-29.
- Fischer-Rasmussen, W., Gabrielsen, M.V., Wisborg, T. 1981. Relation of estriol in saliva to serum estriol during normal pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*; 60: 417-420.

- Fleming, A.S., Steiner, M., Corter, C. 1997. Cortisol, hedonics, and maternal responsiveness in human mothers. *Horm Behav*; 32: 85-98.
- Fred-Voss, H. 1999. Saliva as a fluid for measurement of estriol levels. *Am J Obstet Gynecol*; 180: 226-231.
- Friebe-Hoffman, U., Chiao, J.P., Rauk, P.N. 2001. Effect of IL-1 $\beta$  and IL-6 on oxytocin secretion in human uterine smooth muscle cells. *Am J Reprod Immunol*; 46: 226-231.
- Frim, D. M., Robinson, B. G., Pasiaka, K. B., Majzoub, J. A. 1990. Differential regulation of corticotropin-releasing hormone mRNA in rat brain. *Am J Physiol*; 258(4): 686-692.
- Fowden, A.L., Forhead A.J. 2009. Endocrine regulation of feto-placental growth. *Horm Res*; 72: 257-265.
- Fowden, A.L., Forhead A.J. 2009b. Hormones as epigenetic signals in developmental programming. *Exp physiol*; 94(6): 607-625.
- Fowden, A.L., Forhead, A.J., Sferruzzi-Perri, A.N., Burton, G.J., Vaughan, O.R. 2015. Review: Endocrine regulation of placental phenotype. *Placenta* 29: 50-59.
- Fowden, A.L., Li, J., Forhead, A.J. 1998. Glucocorticoids and the preparation for life after birth: are there long term consequences of life insurance?. *Proc Nutr Soc*; 57: 113-122.
- Fuchs, A.R., Fuchs, F. 1993. Endocrinology of term and preterm labor. In: Fuch, A.R., Fuchs, F., Stabblfield, P., editors. *Preterm birth- causes, prevention and managment*. 2nd ed. New York: McGraw Hil; p.59.
- Galal, M., Symonds, I., Murray, H., Petraglia, F., Smith, R. 2012. Postterm pregnancy. *Facts Views Vis Obgyn*; 4(3): 175-187.

- Galanous, S., Chouliaras, G., Girginoudis, P., Mengreli, C., Sertedaki, A., Dracopoulo, M. 2019. Adrenal steroids in female hypothyroid neonates: Unraveling an association between thyroid hormones & adrenal remodeling. *J Clin Endocrinol Metab*; doi: 10.1210/jc.2018-02013.
- Gao, L., Lu, C., Xu, C., Li, Y., Cui, X., Gu, H., *et al.* 2012. Differential regulation of glucose transporters mediated by CRH receptor type 1 and type 2 in human placental trophoblasts. *Endocrinology*; 153(3): 1464-1471.
- Gao, L., Lu, C., Xu, C., Tao, Y., Cong, B., Ni, X. 2008. Differential regulation of prostaglandin production mediated by corticotropin-releasing hormone receptor type 1 and type 2 in cultured human placental trophoblasts. *Endocrinology*; 149: 2866-2876.
- Gerke, S., Babic, B., Evgeniou, T., Cohen, I.G. 2020. The need for a system view to regulate artificial intelligence/machine learning-based software as medical device. *NPJ digital medicine*; 3: 53.
- Gerulewicz-Vannini, D., Figueroa-Diesel, H., Hernández-Andrade E. 2012. Endocrinología de la gestación. En *Obstetricia y medicina Materno-Fetal*, Editorial médica panamericana. <https://www-medicapanamericana-com.bucm.idm.oclc.org/visorebookv2/ebook/9788498355949>.
- Geyer, J., Bakhaus, K., Bernhardt, R., Blaschka, C., Dezhkam, Y., Fietz, D., *et al.* 2017. The role of sulfated steroid hormones in reproductive processes. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 172: 207-221.
- Gibson, D.A., Foster, P.A., Simitsidellis, I., Critchley, H., Kelepouri, O., Collins, F., Saunders, P. 2018. Sulfation pathways: A role for steroid sulphatase in intracrine regulation of endometrial decidualisation. *J Molec Endocrinol*; 61(2): 57-65.

- Giesbrecht, G.F., Campbell, T., Letourneau, N., Nooistra, L., Kaplan, B., APrON Study Team. 2012. Psychological distress and salivary cortisol covary within persons during pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*; 37(2): 270-279.
- Gilles, M., Otto, H., Wolf, I.A.C., Scharnholz, B., Peus, V., Scherdl., M. 2018. Maternal hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) system activity and stress during pregnancy: effects on gestational age and infant's anthropometric measures at birth. *Psychoneuroendocrinology*; 94: 152-161.
- Gitau, R., Cameron, A., Fisk, N., Glover, V. 1998. Fetal exposure to maternal cortisol. *Lancet*; 352: 707-708.
- Gitau, R., Fisk, N.M., Cameron, A., Teixeira, J., Glover, V. 2001. Fetal HPA stress responses to invasive procedures are independent of maternal responses. *J Clin Endocrinol Metab*; 86: 104-109.
- Gitsch, E., Janisch, H., Spona, J. 1980. HPL and estriol serum levels of placental perfusion as indexes of placental function in EPH gestosis and placental insufficiency. *Gynecol Obstet Invest*; 11: 102-112.
- Glover, V. 2011. Annual research review: prenatal stress and the origins of psychopathology: an evolutionary perspective. *J Child Psychol Psychiatry*; 52: 356-367.
- Glover, V. 2015. Prenatal stress and its effects on the fetus and the child: possible underlying biological mechanism. *Adv Neurobiol*; 10: 269-283.
- Goldkrand, J.W., Schulte, R.L., Messer, R.H. 1976. Maternal and fetal plasma cortisol levels at parturition. *Obstet Gynecol*; 47: 41-45.
- Golightly, E., Jabbour, H.N., Norman, J.E. 2011. Endocrine immune interactions in human parturition. *Mol Cell Endocrinol*; 335: 52-59.

- Goto, M., Hanley, K.P., Marcos, J., Wood, P.J., Wright, S., Postle, A.D., *et al.* 2006. In human, early cortisol biosynthesis provides a mechanism to safeguard female sexual development. *J Clin Invest*; 116(4): 953-960.
- Grammatopoulos, D.K, Hillhouse, E.W. 1999. Role of corticotropin-releasing hormone in onset of labour. *Lancet*; 354: 1546-1549.
- Gran-Beuttler, M., Glynn, L.M., Salisbury, A.L., Davis, E.P., Holliday, C., Sandman, C.A. 2011. Development of fetal movement between 26 and 36-weeks gestation in response to vibro-acoustic stimulation. *Front Psychol*; 2: 350.
- Groeneweg, F.L., Karst, H., de Kloet, E.R., Joëls, M. 2011. Rapid non genomic effects of corticoesterooids and their role in the central stress response. *J Endocrinol*; 209: 153-167.
- Goodwin, T.M. 1999. A role of estriol in human labour, term and preterm. *Am J Obstet Gynecol*; 180: 208-213.
- Grivell, R.M., Reilly, A.J., Oakey, H., Chan, A., Dodd, J.M. 2012. Maternal and neonatal outcomes following induction of labor: a cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand*; 91(2): 198-203.
- Goedhart, G., Vrijkotte, T., Roseboom, T., Van der Wal, M., Cuijpers, P., Bonsel, G. 2010. Maternal cortisol and offspring birthweight: results from a large prospective cohort study. *Psychoneuroendocrinology*; 35: 644-652.
- Gude, N.M., Roberts, B., Kalionis, B., King, R.G. 2004. Growth and function of the normal human placenta. *Thromb Res*; 114: 397-407.
- Guillén -Riquelme, A., Buéla-Casal, G. 2011. Actualización psicométrica y funcionamiento diferencial de los ítems en el State Trait Anxiety Inventory (STAI). *Psicothema*; 23, 3: 510-515.

- Guillén- Riquelme, A., Buela- Casal, G. 2014. Metaanálisis de comparación de grupos y metaanálisis de generalización de la fiabilidad del cuestionario State-Trait Anxiety Inventory (STAI). *Rev Esp Salud Pública*; 88: 101-112.
- Guyton y Hal. 2016. *Tratado de fisiología médica*. 13ª ed. Barcelona, Elsevier. <https://www-clinicalkey-com.bucm.idm.oclc.org/student/content/book/3-s2.0-9788491130246000878>.
- Haluska, G.J., Cook, M.J., Novy, M.J. 1997. Inhibition and augmentation of progesterone production during pregnancy: effect on parturition in rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol*; 176: 682-691.
- Hampson, E., Phillips, S.D., Soares, C.N., Steiner, M. 2013. Steroid concentrations in antepartum and postpartum saliva: normative values in women and correlations with serum. *Biol Sex Differ*; 4: 7.
- Hanukoglu, I. 1992. Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 43: 779-804.
- Hedriana, H.L., Munro, C.J., Eby-Wilkens, E.M., Lasley, B.L. 2001. Changes in rates of salivary estriol increases before parturition at term. *Am J Obstet Gynecol*; 184: 123-130.
- Hee, L. 2011. Likelihood ratios for the prediction of preterm delivery with biomarkers. *Acta Obstet Gynecol Scand*; 90: 1189-1199.
- Heffner, L.J., Schust, D.J. 2014. *Reproductive system at a glance*. 4th ed. UK, John Wiley and Sons. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/universidadcomplutense-ebooks/reader.action?docID=163506>.

- Hernández García, J.M. 2015. Morfogénesis y morfología de la placenta a lo largo de la gestación. Fisiología de la unidad fetoplacentaria. En: Fisiología obstétrica. Tratado de ginecología y obstetricia. 2ª ed. Madrid: Editorial médica panamericana; p. 978-988.
- Hobel, C.J., Dunkel-Schetter, C., Roesch, S.C., Castro, L.C., Arora, C.P. 1999. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone associated with stress at 20 weeks' gestation in pregnancies ending in preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*; 180(1): 257-263.
- Hoffmann, F.B., Gentz, K. 1996. Failing, Investigations into the course of progesterone, oestrogen- and eCG- concentrations during normal and impaired pregnancy in the mare. *Reprod Dom Anim*; 31: 717-723.
- Hohwü, L., Henriksen, T.B., Grønborg, T.K., Hedegard, M., Sørensen, T.I.A., Obel, C. 2015. Maternal salivary cortisol levels during pregnancy are positively associated with overweight children. *Psychoneuroendocrinology*; 52: 143-152.
- Hompes, T., Vrieze, E., Fieuws, S., Simons, A., Jaspers, L., Van Bussel, J. *et al.* 2012. The influence of maternal cortisol and emotional state during pregnancy on fetal intrauterine growth. *Pediatr Res*; 72(3): 305-315.
- Huang, T., Owolabi, T., Summers, A.M., Meier, C, Wyatt, P.R. 2005. The identification of risk of spontaneous fetal loss through second- trimester maternal serum screening. *Am J Obstet Gynecol*; 193: 395-403.
- Illera, J.C., Silvan, G., Cáceres, S., Carbonell, M.D., Martínez-Fernández, L., Munro, C. *et al.* 2014. Assessment of ovarian cycles in the African elephant (*Loxodonta africana*) by measurement of salivary progesterone metabolites. *Zoo Biol*; 33(3): 245-249.

- Ishimoto, H., Jaffe, R.B. 2011. Development and function of the human fetal adrenal cortex: a key component in the feto-placental unit. *Endocr Rev*; 32: 317-355.
- Jackson, M., Dudley, D.J. 1998. Endocrine assays to predict preterm delivery. *Clin Perinat*; 4: 837-857.
- Janowski, S.T., Zdunczyk, J., Malecki-Tepicht, W., Baranski, A., Ras, A. 2002. Mammary secretion of oestrogens in the cow. *Domest Anim Endocrinol*; 23: 125-137.
- Jansson, T., Powell, T.L. 2007. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanism and potential intervention approaches. *Clin Sci*; 113: 1-13.
- Jara Albarrán, A. 2012. *Endocrinología*, 2ª ed. Madrid, Editorial médica panamericana. <https://www-medicapanamericana-com.bucm.idm.oclc.org/visorebookv2/ebook/9788498355420>.
- Jay, A., Thomas, H., Brooks, F. 2018. In labor or in limbo? The experiences of women undergoing induction of labor in hospital: Findings of a qualitative study. *Birth*; 45: 64-70.
- Johnston, Z.C., Bellingham, M., Filis, P., Soffientini, U., Hough, D., Battacharya, M.S., *et al.* 2018. The human fetal adrenal produces cortisol but not detectable aldosterone throughout the second trimester. *BMC Medicine*; 16(1): 23.
- Jukic, A.M., Baird, D.D., Weinberg, C.R., McConnaughey, D.R., Wilcox, A.J. 2013. Length of human pregnancy and contributors to its natural variation. *Hum Reprod*; 28(10): 2848-2855.
- Jung, C., Ho, J.T., Torpy, D.J., Rogers, A., Doogue, M., Lewis, J.G., *et al.* 2011. A longitudinal study of plasma and urinary cortisol in pregnancy and postpartum. *J Clin Endocrinol Metab*; 96: 1533-1540.

- Kalagiri, R.R., Carder, T., Choudhury, S., Vora, N., Ballard, A.R, Govande, V., *et al.* 2016. Inflammation in complicated pregnancy and its outcome. *Am J Perinatol*; 33(14): 1337-1356.
- Kalantaridou, S.N., Makrigiannakis, A., Zoumakis, E., Chrousos, G.P. 2004. Reproductive functions of Corticotropin- Releasing Hormone. Research and potential clinical utility of antalarmin (CRH Receptor Type 1 Antagonist). *Am J Reprod Immunol*; 51: 269-274.
- Kaludjerovic, J., Ward, W.E. 2012. The interplay between estrogen and fetal adrenal cortex. *J Nutr Metab*; 2012: 837901.
- Kane, H.S., Dunkel Schetter, C., Glynn, L.M., Hobel C.J., Sandman, C.A. 2014. Pregnancy anxiety and prenatal cortisol trajectories. *Biol. Psychol*; 100: 13-19.
- Kapoor, A., Dunn, E., Kostaki, A., Andrews, M.H., Matthews, S.G. 2006. Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids. *J Physiol*; 572(1): 31-44.
- Karalis, K., Goodwin, G., Majzoub, J.A.1996. Cortisol blockade of progesterone: a possible molecular mechanism involved in the initiation of human labour. *Nat med*; 2(5): 556-560.
- Karolicki, H.M.1979. Endocrinología de la placenta. *Act Med Cost*; 22(3): 305-309.
- Kasman, L.H., Hughes, J.P., Stanbenfeldt, G.H., Starr, M.D., Lasley, B.L. 1988. Estrone sulfate concentrations as an indicator of fetal demise in horse. *Am J Vet Res*; 49: 184-187.
- Katsaliaki, K., Mustafee, N. 2011. Applications of simulation within the healthcare context. *J Oper Res Soc*; 62: 1431-1451.
- Kazi, A.A., Koss, R.D. 2007. Estrogen- induced activation of hipoxia- inducible factor-1 alpha, vascular endotelial growth factor expression, and edema in the uterus

are mediated by the phosphatidylinositol 3- kinase/ AKT pathway. *Endocrinology*; 148: 2363-2374.

Keelan, J. 2018. Intrauterine inflammatory activation, functional progesterone withdrawal, and the timing of term and preterm birth. *J Reprod Immunol*; 125: 89-99.

Keelan, J.A., Blumenstein, M., Helliwell, R.J., Sato, T.A., Marvin, K.W., Mitchell M.D. 2003. Cytokines, prostaglandins and parturition—a review. *Placenta*; 24: 33-46.

Keelan, J.A., Marvin, K.W., Sato, T.A., Coleman, M., McCowan, L.M., Mitchell, M.D. 1999. Cytokine abundance in placental tissues evidence of inflammatory activation in gestational membranes with term and preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol*; 181:1530-1536.

Khambalia, A.Z., Roberts, C.L., Nguyen, M., Algert, C.S., Nicholl, M.C., Morris, J. 2013. Predicting date of birth and examining the best time to date a pregnancy. *Int J Gynecol Obstet*; 123: 105-109.

Kim, S.Y., Kim, S.K., Lee, J.S., Kim, I.K., Lee, K. 2000. The prediction of adverse pregnancy outcome using low unconjugated estriol in the second trimester of pregnancy without risk of Down´s síndrome. *Yonsei Med J*; 41: 226-229.

Kim, C.J., Lin, L., Huang, N., Quigley, C.A., AvRuskin, T.W., Achermann, J.C., *et al.* 2008. Severe combined adrenal and gonadal deficiency caused by novel mutations in the cholesterol side chain cleavage enzyme, P450scc. *J Clin Endocrinol Metab*; 93: 696-702.

Kitawaki, S., Inoue, T., Tamura, T., Yamamoto, T., Noguchi, Y., Osawa, H. 1992. Increasing aromatase cytochrome P-450 level in human placenta during pregnancy: studied by immunohistochemistry and enzyme-linked immunosorbent assay. *Endocrinology*; 30(5): 2751-2757.

- Kleinrouweler, C.E, Cheong-See, F.M., Collins, G.S., Kwee, A., Thangaratinam, S., Khan, K.S., *et al.* 2016. Prognostic models in obstetrics: available, but far from applicable. *Am J Obstet Gynecol*; 214(1): 79-90.
- Konstantakou, P., Mastorakos, G., Vrachnis, N., Tomlinson, J. W., Valsamakis, G. 2017. Dysregulation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases: implications during pregnancy and beyond. *J Matern Fetal Neonatal Med*; 30: 284-293.
- Koohy, H. 2018. The rise and fall of machine learning methods in biomedical research. *F1000research*; 6: 2012.
- Kornmatitsuk B., Dahl E., Ropstad E., Beckers JF., Gustaffson H., Kindahl H. 2004. Endocrine profiles, haematology and pregnancy outcomes of late pregnant holstein dairy heifers sired by bulls giving a high or low incidence of stillbirth. *Acta Vet Scand*; 451: 47-68.
- Kota, S.K., Gayatri, K., Jammula, S., Kota, S.K., Krishna, S.V.S., Meher, L.K. *et al.* 2013. Endocrinology of parturition. *Indian J Endocrinol Metab*; 17(1): 50-59.
- Krause, B.J., Hanson, M.A., Casanello, P. 2011. Role of nitric oxide in placental vascular development and function. *Placenta*; 32(11): 797-805.
- Kundu, N., Novak, N., Petersen, L.P. 1983. Salivary unconjugated estriol levels in normal third trimester pregnancy-direct correlation with serum levels. *Steroids*; 41: 145-153.
- Ledingham, M.A., Thomson, A.J., Greer, I.A., Norman, J.E. 2000. Nitric oxide in parturition. *BJOG*; 107: 581-593.
- Leng, G., Macgregor, D.J. 2008. Mathematical modelling in neuroendocrinology. *J Neuroendocrinol*; 20: 713-718.
- Lerner, J.P. 2004. Crecimiento y bienestar fetales. En *Clínicas de ginecología y obstetricia. Temas actuales*. Mcgraw-Hill Interamericana. México, p149-165.

- Leslie, K.K., Zuckerman, D.J., Schrufer, J., Burchell, M., Smith, J., Albertson, B.D. 1994. Oestrogen modulation with parturition in the human placenta. *Placenta*; 15(1): 79-88.
- Leung, T.N., Chung, T.K., Madsen, G., Lam, P.K., Sahota, D., Smith, R. 2001. Rate of rise in maternal plasma corticotrophin-releasing hormone and its relation to gestational length. *BJOG*; 108: 527-532.
- Li, X.Q., Zhu, P., Myatt, L., Sun, K. 2014. Roles of glucocorticoids in human parturition: a controversial fact?. *Placenta*; 35: 291-296.
- Lindsay, J.R. y Nieman, L.K. 2005. The hypothalamic- pituitary- adrenal axis in pregnancy: challenges in disease detection and treatment. *Endocr Rev*; 26: 775-799.
- Liou, S., Wang, P., Cheng, C. 2016. Effects of prenatal maternal mental distress on birth outcomes. *Women Birth*; 29(4): 376-380.
- Litvak, E., Buerhaus, P.I., Davidoff, F., Long, M.C., McManus, M.L. 2005. Managing unnecessary variability in patient demand to reduce nursing stress and improve patient safety. *Jt Comm J Qual Patient Saf*; 31: 330-338.
- López Araque, A.B., López, M.D., Linares, M. 2015. Emotional state of primigravid women with pregnancy susceptible to prolongation. *Invest Educ Enferm*; 33(1): 92-101.
- Lugones Botell, M., Ramírez Bermúdez, M. 2015. Curioso origen y significado de la palabra embarazada. *Rev Cubana Obstet Ginecol*; 41: 90-98.
- Lunghi, L., Ferretti, M. E., Medici, S., Biondi, C., Vesce, F. 2007. Control of human trophoblast function. *Reprod Biol Endocrinolog*; 5: 1-14.

- Lye, S.J., Mitchell, J., Nashman, N., Oldenhof, A., Ou, R., Shynlova, O., *et al.* 2001. Role of mechanical signals in the onset of term and preterm labor. *Front Horm Res*; 27: 165-178.
- Lye, S.J., Nicholson, B.J., Mascarenhas, M., Mackenzie, L., Petrocelli, L. 1993. Increased expression of connexin-43 in the rat myometrium during labor in associated with an increase in the plasma estrogen: Progesterone ratio. *Endocrinology*; 132: 2380-2386.
- Macmillan, K.L., Davis, K.L. 2002. Predicting the onset of parturition during the late gestation in dairy cows using udder scoring and hormonal profiling. *Proc NZ Soc Anim Prod*; 62: 34-37.
- Madsen, G., Zakar, T., Ku, C.Y. Sanbron, B.M., Smith, R., Mesiano, S. 2004. Prostaglandins differentially modulate progesterone receptors-A and -B expression in human myometrial cells: Evidence for prostaglandin-induced functional progesterone withdrawal. *J Clin Endocrinol Metab*; 89: 1010-1013.
- Majzoub, J.A., Karalis, K.P. 1999. Placental corticotropin- releasing hormone: function and regulation. *Am J Obstet Gynecol*; 180: 242-246.
- Malassine, A., Frenzo, J.L., Evain-Brion, D. 2003. A comparison of placental development and endocrine functions between the human and mouse model. *Hum Reprod Update*; 9: 531-539.
- Malkki, H. 2014. Neurodevelopmental disorders: Elevated fetal sex steroids might confer risk for autism. *Nat Rev Neur*; 10(7): 366.
- Malley, J.D., Malley, K.G., Pajevic, S. 2011. *Statistical Learning for Biomedical Data*. United States of America: Cambridge University Press. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/universidadcomplutense-ebooks/reader>.

- Malone, F.D., Canick, J.A., Ball, R.H., Nyberg, D.A., Comstock, C.H., Bukowski, R. *et al.* 2005. First trimester or second-trimester screening, or both, for Down's Syndrome. *N Engl J Med*; 353: 2011-2011.
- Mancuso, R., Dunkel Schetter, C., Rini C., Roesch, S., Hobel, C. 2004. Review: corticotrophin-releasing hormone and human parturition. *Reproduction*; 121: 493-501.
- McGarrigle, H.H., Lachelin, G.C. 1984. Increasing saliva (free) oestriol to progesterone ratio in late pregnancy: arole for oestriol in initiating spontaneous labour in man. *BMJ*; 289: 457-459.
- McGowan, P., Matthews S. 2018. Prenatal stress, glucocorticoids and developmental programming of the stress response. *Endocrinology*; 159(1): 69-82.
- McGrath, S., McLean, M., Smith, D., Bisits, A., Giles, W., Smith, R. 2002. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone trajectories vary depending on the cause of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*; 186: 257-260.
- McGregor, J.A., Jackson, G.M., Lachelin, G.C.L., Goodwin, J.M., Artal, R., Hasting, C., *et al.* 1995. Salivary estriol as risk assesment for preterm labour: a prospective trial. *Am J Obstet Gynecol*; 173: 1337-1342.
- McLean, M., Bisits, A., Davies, J., Woods, R., Lowry, P., Smith, R. 1995. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med*; 1: 460-463.
- Meertens, L.J.E., Van Montfort, P., Scheepers, H.C.J., van Kuijk, S.M.J., Aardenburg, R., Langenveld, J., *et al.* 2018. Prediction models for the risk of spontaneous preterm birth based on maternal characteristics: a systematic review and independent external validation. *Acta Obstet Gynecol Scand*; 97: 907-920.

- Melamed, M., Castano, E., Notides, A.C., Sasson, S. 1997. Molecular and kinetic basis for the mixed agonist/ antagonist activity of estriol. *Mol Endocrinol*; 11: 1868-1878.
- Mendelson, C.R. 2009. Minireview: fetal- maternal hormonal signaling in pregnancy and labour. *Mol Endocrinol*; 23: 947-954.
- Menon, R. 2016. Human fetal membranes at term: dead tissue or signalers of parturition?. *Placenta*; 44: 1-5.
- Mesiano, S., Jaffe, R.B. 1997. Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. *Endocr Rev*; 18(3): 378-403.
- Mesiano, S. 2001. Roles of estrogen and progesterone in human parturition. *Front Horm Res*; 27: 86-104.
- Mesiano, S. 2004. Myometrial progesterone responsiveness and the control of human parturition. *J Soc Gynecol Investig*; 11: 193-202.
- Micks, E., Raglan, G.B., Schulkin, J. 2015. Bridging progestogens in pregnancy and pregnancy prevention. *Edocr Connect*; 4: 81-91.
- Miranda, A., y Sousa, N. 2018. Maternal hormonal milieu influence on fetal brain development. *Brain Behav*; 8: e00920.
- Mitchell, B.F., Cross, J., Hobkirk, R., Challis, J.R.G. 1984. Formation of unconjugated estrogens from estrone sulphate by dispersed cells from human fetal membranes and decidua. *J Clin Endocrinol Metab*; 58(5): 845-849.
- Mitchell, T. 2006. The discipline of machine learning. Technical Report CMU ML-06-108.
- Mongelli, M., Wilcox, M., Gardosi, J. 1996. Estimating the date of confinement: ultrasonographic biometry versus certain menstrual dates. *Am J Obstet Gynecol*; 174: 278-281.

- Moore, K.L., Persaud, T.V.N., Mark, G. 2016. Embriología clínica. 10<sup>a</sup> ed. España, Elsevier. <https://www-clinicalkey-com.bucm.idm.oclc.org/student/content/book/3-s2.0-B9788490229873000242>.
- Morel, Y., Roucher, F., Plotton, I., Goursaud, C., Tardy, V., Mallet, D. 2016. Evolution of steroids during pregnancy: maternal, placental and fetal synthesis. *Annales d'Endocrinologie*; 77: 82-89.
- Morsi, A., DeFranco, D., Witchel, S.F. 2018. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the fetus. *Horm Res Paediatr*; 89: 380-387.
- Naimi, A.I., Platt, R.W., Larkin, J.C. 2018. Machine learning for fetal growth prediction. *Epidemiology*; 29(2): 290-298.
- Narasaka, T., Suzuki, T., Moriya, T., Sasano, H. 2001. Temporal and spatial distribution of corticosteroidogenic enzymes immunoreactivity in developing human adrenal. *Mol Cell Endocrinol*; 174(1-2): 111-120.
- National Childbirth Trust. 2016. <https://www.nct.org.uk/profes-sional/research/maternity%20statistics/maternity-statistics-en-gland>.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). 2017. Antenatal care for uncomplicated pregnancies clinical guideline: NICE Guideline [CG62]. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg62/resources>.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). 2018. Inducing labour: NICE guideline [CG70]. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg70/resources>.
- Newby, E.A, Myers, D.A., Ducsay, C.A. 2015. Fetal endocrine and metabolic adaptations to hipoxia: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 309: 429-439.

- Newham, J.J., Westwood, M., Aplin, J.D., Wittkowski, A. 2012. State-trait anxiety inventory (STAI) scores during pregnancy following intervention with complementary therapies. *J Affect Disord*; 142(1-3): 22-30.
- Ni, X., Hou, Y., Yang, R., Tang, X., Smith, R., and Nicholson, R.C. 2004. Progesterone receptors A and B differentially modulate corticotropin-releasing hormone gene expression through a cAMP regulatory element. *Cell Mol Life Sci*; 61: 1114-1122.
- Nodwell, A., Carmichael, L., Fraser, M., Challis, J., Richardson, B. 1999. Placental release of corticotrophin-releasing hormone across the umbilical circulation of the human newborn. *Placenta*; 20: 197-202.
- Obel, C., Hedegaar, M., Henriksen, T., Secher, N., Osen, J., Levine, S. 2005. Stress and salivary cortisol during pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*; 37: 818-826.
- O'Connor, T.G., Bergman, K., Sarkar, P., Glover, V. 2013. Prenatal cortisol exposure predicts infant cortisol response to acute stress. *Dev Psychobiol*; 55(2): 145-155.
- O'Donnell, K., Bugge Jensen, A., Freeman, L., Khalife, N., O'Connor, T., Glover, V. 2012. Maternal prenatal anxiety and downregulation of placental 11 $\beta$ -HSD2. *Psychoneuroendocrinology*; 30: 647-656.
- Ohtaki, T., Moriyoshi, M., Nakada, K., Nakao, T. 1999. Fecal estrone sulfate profile in sows during gestation. *J Vet Med Sci*; 61: 661-665.
- Orzechowski, K.M., Nicholas, S.S., Baxter, J.K., Weiner, S., Berghella, V. 2014. Implementation of a universal cervical length screening programme for the prevention of preterm birth. *Am J Perinatol*; 31(12): 1057-1062.

- O'Shaughnessy, P.J., Monteiro, A., Bhattacharya, S., Fraser, M.J., Fowler P.A. 2013. Steroidogenic enzyme expression in the human fetal liver and potential role in the endocrinology of pregnancy. *Mol Hum Reprod*; 19: 177-87.
- Osman, I., Young, A., Ledingham, M.A., Thomson, A.J., Jordan, F., Greer, I.A. *et al.* 2003. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod*; 9(1): 41-5.
- Palma-Gudiel, H., Córdoba-Palomera, A., Eixarch, E., Deuschle, M., Fañanas, L. 2015. Maternal psychosocial stress during pregnancy alters the epigenetic signature of the glucocorticoid receptor gene promoter in their offspring: a meta-analysis. *Epigenetics*; 10(10): 893-902.
- Pařízek, A., Koucký, M., Dušková, M. 2014. Progesterone, inflammation and preterm labor. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 139: 159-165.
- Partsch, C.J., Sippell, W.G., Mackenzie, I.Z., Aynsley-Green, A. 1991. The steroid hormonal milieu of the undisturbed human fetus and mother at 16-20 weeks gestation. *J Clin Endocrinol Metab*; 73: 969-974.
- Pasqualini, J.R. 2005. Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 97: 401-415.
- Pasqualini, J.R., Chetrite, G.S. 2016. The formation and transformation of hormones in maternal, placental and fetal compartments: biological implications. *Horm Mol Biol Clin Investig*; 27: 11-28.
- Pelissier P., Merlin E., Prieur F., David M., Malpuech G., Forest MG., *et al.* 2005. Adrenal hypoplasia congenita: four new cases in children. *Arch Pediatr*; 12: 380-384.

- Peña, C.J., Monk, C., Champagne, F.A. 2012. Epigenetic effects of prenatal stress on 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase-2 in the placenta and fetal brain. *PloS One*; 7: e39791.
- Pepe, G.J., Burch, M.G., Albrecht, E.D. 2001. Estrogen regulates 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase-1 and-2 localization in placental syncytiotrophoblast in the second half of primate pregnancy. *Endocrinology*; 142(10): 4496-4503.
- Petraglia F., Woodruff, T.K., Botticelli, G., Botticelli, G., Genazzani, A.R., *et al.* 1992. Gonadotropin-releasing hormone, inhibin and activin in human placenta: Evidence for a common cellular localization. *J Clin Endocrinol Metab*; 74: 1184.
- Petrocelli, T., Lye, S.J. 1993. Regulation of transcripts encoding the myometrial gap junction protein, connexin-43, by estrogen and progesterone. *Endocrinology*; 133: 284-290.
- Pieber D., Allport, V.C, Hills, F., Johnson, M., Bennet, P.R. 2001. Interactions between progesterone receptors isoforms in myometrial cells in human labour. *Mol Hum Reprod*; 7: 875-879.
- Pluchino, N., Russo, M., Genazzani, A.R. 2016. The fetal brain: role of progesterone and allopregnanolone. *Horm Mol Biol Clin Investig*; 27: 29-34.
- Pluess, M., Bolten, M., Pirk, K., Hellhammer, D. 2011. Maternal trait anxiety, emotional distress, and salivary cortisol in pregnancy. *Biol Psychol*; 83: 169-175.
- Qiu, J., Li, P., Dong, M., Xin, X., Tan, J. 2019. Personalized prediction of live birth prior to the first in vitro fertilization treatment: a machine learning method. *J Trans Med*; 17(1): 317.
- Raeside, J.I. 2017. A brief account of the Discovery of the fetal/ placental unit for oestrogen profuction in equine and human pregnancies: relation to human medicine. *Yale J Biol Med*; 90: 449-461.

- RCOG. 2011. Reduced fetal movements (Green top 57). [https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg\\_57.pdf](https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_57.pdf).
- Reisch, N., Idkowiak, J., Hughes, B.A., Ivison, H.E., Abdul-Rahman, O.A., Hendon, L.G., *et al.* 2013. Prenatal diagnosis of congenital adrenal hiperplasia caused by P450 oxidoreductase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*; 98: 528-536.
- Reissland, P., Wandinger, K.P. 1999. Increased cortisol levels in human umbilical cord blood inhibit interferon alpha production of neonates. *Immunobiology*; 200: 227-233.
- Rhoades, R.A., Tanner, G.A. 1997. Fecundación, embarazo y desarrollo fetal. En *Fisiología médica*. Barcelona, Masson- Little, Brown. pp. 905-928.
- Roberts, J.S., Share, L. 1969. Effects of progesterone and oestrogen on blood levels of oxytocine during vaginal distention. *Endocrinology*; 84: 1076-1081.
- Rodríguez-Cortés, Y.M., Mendieta-Zerón, H. 2014. La placenta como órgano endocrino compartido y su acción en el embarazo normoevolutivo. *Rev Med Investig*; 2(1): 28-34.
- Rodríguez Valdés, R.F., Aguilar Fabrè, L., Hernández Montiel, H.L., Ricardo Garcell, J., Vega Malagón, G., Aguilar Fabrè, K. 2015. Influencia de la prematuridad sobre el sistema nervioso en la niñez y en la adultez. *Rev Cuba Neurol Neurocir*; 5(1): 40-48.
- Roger S., Smith, J.I., Shen, X., Engel, P.J., Bowman, M.E., McGrath, S. *et al.* 2009. Patterns of plasma corticotrophin- releasing hormone, progesterone, estradiol and estriol change and the onset of human labor. *J Clin Endocrinol Metab*; 94(6): 2066-2074.

- Rohen, J.W., Lütjen-Drecoll E. 2008. Concepción y etapa de blastema. En: Embriología funcional: una perspectiva desde la biología del desarrollo. 3ªed. Madrid. Editorial médica panamericana. pp.15-38.
- Romero-González B., Caparros-González R.A, González-Perez R., Delgado-Puertas P, Peralta- Ramírez M.I. 2018. Newborn infants' hair cortisol levels reflect chronic maternal stress during pregnancy. PLoS ONE; 13(7): e0200279.
- Rondó, P.H.C., Vaz, A.J., Moraes, F., Tomkins, A. 2004. The relationship between salivary cortisol concentrations and anxiety in adolescent and non-adolescent pregnant women. Braz J Med Biol Res; 37: 1403-1409.
- Rydahl, E., Eriksen, L., Juhl, M. 2019. Effects of induction of labour prior to post-term in low-risk pregnancies: a systematic review. JBI Database System Rev Implement Rep; 17(2): 170-208.
- Saccone, G., Simonetti, B., Berghella, V. 2016. Transvaginal ultrasound cervical length for prediction of spontaneous labour at term: a systematic review and meta-analysis. BJOG; 123(1): 16-22.
- Sandman, C.A., Glynn, L., Schetter, C.D., Wadhwa, P., Garite, T., Chicz-DeMet, A., Hobel, C. 2006. Elevated maternal cortisol early in pregnancy predicts third trimester levels of placental corticotropin releasing hormone (CRH): Priming the placental clock. Peptides; 27: 1457-1463.
- Schock, H., Surcel, H. M., Zeleniuch-Jacquotte, A., Grankvist, K., Lakso, H. A., Fortner, R. T., *et al.* 2014. Early pregnancy sex steroids and maternal risk of epithelial ovarian cancer. Endocr Relat Cancer; 21: 831-844.
- Schuler, H.G., Greven, M.P., Kowalewski, B., Döring, G.R. Özalp, B. Hoffmann. 2008. Placental steroids in cattle: hormones, placental growth factors or by products

- of trophoblast giant cell differentiation?. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*; 25: 429-436.
- Seaborn, T., Simard, M., Provost, P.R., Piedboeuf, B., Tremblay, Y. 2010. Sex hormone metabolism in lung development and maturation. *Trends Endocrinol Metab*; 21: 729-738.
- Sfakianaki, A. K., Norwitz, E. R. 2006. Mechanisms of progesterone action in inhibiting prematurity. *J Matern Fetal Neonatal Med*; 19: 763-772.
- Shao, X., Liu, Y., Liu, M., Wang, Y., Yan, L., Wang, H., *et al.* 2017. Testosterone represses estrogen signaling by upregulating miR-22: a mechanism for imbalanced steroid hormone production in preeclampsia. *Hypertension*; 69: 721-730.
- Sheiner, E., Sarid, L., Levy, A., Seidman D., Hallak M. 2005. Obstetric risk factors and outcome of pregnancies complicated with early postpartum hemorrhage: a population-based study. *J Matern Fetal Neonatal Med*; 18(3): 149-154.
- Shields, A.S, Wright, J., Paonessa, D.J., Gotkin, B.C., Howard, N.J., Hoeldtke, N.J. *et al.* 2005. Progesterone modulation of inflammatory cytokine production in a fetoplacental artery explant model. *Am J Obstet Gynecol*; 193: 1144-1148.
- Shin, Y.Y., Jeong, J. S., Park, M. N., Lee, J. E., An, S. M., Cho, W. S., *et al.* 2018. Regulation of steroid hormones in the placenta and serum of women with preeclampsia. *Mol Med Rep*; 17: 2681-2688.
- Sidey-Gibbons, J.A.M., Sidey-Gibbons, C.J. 2019. Machine learning in medicine: a practical introduction. *BMC Med Res Methodol*; 19: 64.
- Smith, R. 2007. Parturition; *N Engl J Med*; 356: 3.

- Smith, R., Mesiano, S., Chan, E.C., Brown, S., Jaffe, R.B. 1998. Corticotropin-releasing hormone directly and preferentially stimulates dehydroepiandrosterone sulfate secretion by human fetal adrenal cortical cells. *J Clin Endocrinol Metab*; 83: 2916-2920.
- Smith, R., Smith, J.I., Xiaobin, S., Engek, P.J., Bowman M.E., McGrath S.A., *et al.* 2009. Patterns of plasma corticotropin-releasing hormones, progesterone, estradiol, and estriol change and the onset of human labor. *J Clin Endocrinol Metab*; 94(6): 2066-2074.
- Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). 2018. Guía de asistencia práctica: control prenatal del embarazo normal. *Prog Obstet Ginecol*; 61(5): 510-527.
- Soma-Pillay, P., Nelson-Piercy, C., Tolppanen, H., Mebazza, A. 2016. Physiological changes in pregnancy. *Cardiovasc J Afr*; 27(2): 89-94.
- Sperandei S. 2014. Understanding logistic regression analysis. *Biochem Med (Zagreb)*; 24(1): 12-18.
- Spielberger, C.D., Sydeman, S.J. 1994. State-Trait anxiety inventory and state-trait anger expression inventory. En: maruish, M.E., Hillsdale, N.J. (eds), *The use of psychological testing for treatment planning and outcome assessment*. Lawrence Erlbaum Associates, pp. 292-321.
- Stallings, J., Fleming, A.S., Corter, C., Worthman, C., Steiner, M. 2001. The effects of infant cries and odors on sympathy, cortisol, and autonomic responses in new mothers and non postpartum women. *Parent Sci Pract*; 1: 71-100.
- Stewart, P.M., Newell-Price, J.D.C. 2017. Corteza suprarrenal. En: Melmed, S., Polonsky, P., Larsen, R., Kronenberg, H.M. (eds) *Williams Tratado de endocrinología (13ª ed)*, Elsevier. Cap 15, p. 490-455.

- Su, E.J., Cheng, Y.H., Chatterton, R.T., Lin, Z.H., Yin, P., Reierstad, S., *et al.* 2007. Regulation of 17-beta hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human placental endothelial cells. *Biol Reprod*; 77(3): 517-525.
- Tal, R., Taylor, H.S., Burney, R.O., Mooney, S.B., Giudice, L.C. 2000. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, *et al.* editors. *Endocrinology of pregnancy*. South Dartmouth (MA): Endotext.
- Thomas, M.P., Potter, B.V. 2013. The structural biology of oestrogen metabolism. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 137: 27-49.
- Thomson, M. 2013. The physiological roles of placental corticotropin releasing hormone in pregnancy and childbirth. *J Physiol Biochem*; 60: 559-573.
- Todd, A.L., Zhang, L.Y., Khambalia, A.Z., Roberts, C.L. 2017. Women's views about the timing of birth. *Women and Birth*; 30(2): 78-82.
- Toniolo, P., Koenig, K.L., Pasternack, B.S., Banerjee, S., Rosenberg, C., Shore, R.E., *et al.* 1994. Reliability of measurements of total, protein-bound, and unbound estradiol in serum. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 3(1): 47-50.
- Torres Martí J.M., Melero López A., López González M.A. 2012. Consideraciones generales y conceptos de edad perinatal. El feto en los distintos meses de embarazo. En *Medicina materno-fetal. Tratado de ginecología y obstetricia (TOMO 2)*. Editorial médica panamericana, versión electrónica, p1021-1025. <https://www-medicapanamericana.com.bucm.idm.oclc.org/visorebookv2/ebook/9788498357516>.
- Tresguerres, J.A.F. 2005. *Fisiología humana 3º ed.* McGraw-Hill. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/universidadcomplutense-ebooks/reader.action?docID=31953>.
- Tzingounis, V.A., Asku, M.F., Greenbaltt, R.B. 1978. Estriol in the management of the menopause. *JAMA*; 239: 1638-1641.

- Usandizaga, J.A., Escalante, J.M. 2011. Fisiología del embarazo. En: Usandizaga, J.A., Fuente, P.P., González, G.A. editores. Obstetricia y ginecología. Madrid: Marban. p. 96-129.
- Valsamakis, G., Papatheodorou, D.C., Chalarakis, N., Vrachnis, N., Sidiropoulou, E.J., Manolikaki, M. 2017. In pregnancy increased maternal STAI trait stress score showed decreased insulin sensitivity and increased stress hormones. *Psychoneuroendocrinology*; 84: 11-16.
- Van den Heuvel, M.I., Van Assen M.A.L.M., Glover, V., Claes, S., Van den Bergh, B.R.H. 2018. Associations between maternal psychological distress and salivary cortisol during pregnancy: a mixed-models approach. *Psychoneuro Endocrinology*; 96: 52-60.
- Vardo, J.H., Thornburg, L.L., Glantz, J.C. 2011. Maternal and neonatal morbidity among nulliparous women undergoing elective induction of labor. *J Reprod Med*; 56(1-2): 25-30.
- Vázquez, M.B., Pereira, B., Míguez, M.C. 2018. Psychometric properties of the spanish version of the pregnancy related anxiety questionnaire (PRAQ). *Span J Psychol*; 21: 64.
- Vining, R.F., McGinley, R., Rice, B.V. 1983. Saliva estriol measurements: an alternative to the assay of serum unconjugated estriol in assessing fetal-placental function. *J Clin Endocrinol Metab*; 56(3): 454-60.
- Vrachnis, N., Karavolos, S., Iliodromiti, Z., Sifakis S., Siristatidis C., Mastorakos G., *et al.* 2012. Review: Impact of mediators present in amniotic fluid on preterm labour. *In vivo*; 26(5): 799-812.

- Vrachnis, N., Malamas, F.M., Sifakis, S., Tsikouras, P., Iliodromiti Z. 2012b. Immune aspects and myometrial actions of progesterone and CRH in labour. *Clin Dev Immunol*; doi: 10.1155/2012/937618.
- Vogel, J., Gulmezoglu, A.M., Hofmeyr, G., Temmerman, M. 2014. Global perspectives on elective induction of labour. *Clin Obstet Gynaecol*; 57: 331-342.
- Wald, N.J., Cuckle, H.S., Densem, J.W., Nanchahal, K., Canick, J.A., Haadow, J.E. *et al.* 1988. Maternal serum unconjugated oestriol as an antenatal screening test for Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol*; 95: 334-341.
- Wan, J., Hu, Z., Zeng, K., Yin, Y., Zhao, M., Chen, M., *et al.* 2018. The reduction in circulating levels of estrogen and progesterone in women with preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*; 11: 18-25.
- Wang, W.S., Liu, C., Li, W.J., Zhu, P., Li, J.N., Sun, K. 2014. Involvement of CRH and hCG in the induction of aromatase by cortisol in human placental syncytiotrophoblasts. *Placenta*; 35: 30-36.
- Wapner, R., Thom, E., Simpson, J.L., Pergament, E., Silver, R., Filkins, K., *et al.* 2003. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. *N Engl J Med*; 341: 2001-2011.
- Webster S., Weedre R. 2015. *Embriología. Lo esencial de un vistazo*. Madrid: Editorial médica Panamericana. <https://www-medicapanamericana-com.bucm.idm.oclc.org/visorebookv2/ebook/9788498357813>.
- Weiss, B. 2002. Sexually dimorphic non-reproductive behaviors as indicators of endocrine disruption. *Environ Health Perspect*; 110: 387-391.
- Welberg, L.A., Thivikraman, K.V., Plotsky, P.M. 2005. Chronic maternal stress inhibits the capacity to up-regulate placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity. *J Endocrinol*; 186: 7-12.

- Whittle, W.L., Patel, F.A., Alfaidy, N., Holloway, A.C., Fraser, M., Gyomory, S. 2001. Glucocorticoid regulation of human and ovine parturition: the relationship between fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation and intrauterine prostaglandine production. *Biol Reprod*; 64(4): 1019-1032.
- Wingeier, M., La Marca-Ghaemmaghami, P., Zimmermann, R., Ehlert, U. 2017. Is salivary estriol detectable in very early pregnancy?. *J Matern Fetal Neonatal Med*; 30: 228-232.
- Wood, C.E., Keller-Wood, M. 2016. The critical importance of the fetal hypothalamus-pituitary- adrenal axis. *F1000Research*, 5, F1000 Faculty Rev-115.
- World Health Organization. 2011. WHO Recommendations for Induction of Labor. [http://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal\\_perinatal\\_health/9789241501156](http://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal_perinatal_health/9789241501156).
- Wu, X., Shen, H., Yu, L., Peng, M., Lai, W.S., Ding Y.L. 2007. Corticotropin-releasing hormone activates connexin 43 via activator protein-1 transcription factor in human myometrial smooth muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 293(6): 1789-1794.
- Xu, C., You, X., Liu, W., Sun, Q., Ding, X., Huang, Y., *et al.* 2015. Prostaglandin F2 $\alpha$  regulates the expression of uterine activation proteins via multiple signaling pathways. *Reproduction*; 149(1): 39-46.
- Yang, S., Kestens, Y., Dahhou, M., Daniel, M., Kramer, M.S. 2015. Neighbourhood deprivation and maternal psychological distress during pregnancy: a multilevel analysis. *Matern Child Health J*; 19: 1142.
- Yang, R., You, X., Tang, X., Gao, L., Ni, X. 2006. Corticotropin releasing hormone inhibits progesterone production in cultured human placental trophoblasts. *J Mol Endocrinol*; 37: 553-540.

- Yen, S.S.C. 1991. Endocrine-metabolic adaptations in pregnancy. In: Yen, S.S.C, Jaffe RB (eds) Reproductive Endocrinology. W.B. Saunders, Philadelphia. pp 936-981.
- Yoon, B.H., Romero, R., Jun, J.K., *et al.* 1998. An increase in fetal plasma cortisol but not dehydroepiandrosterone sulfate is followed by the onset of preterm labor in patients with preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol*; 179: 1107-1114.
- You, X., Yang, R., Tang, X., Gao, L., Ni, X. 2006. Corticotropin-releasing hormone stimulates estrogen biosynthesis in cultured human placental trophoblasts. *Biol Reprod*; 74: 1067-1072.
- Zabala, E., Wedgwood, K.C.A., Voliotis, M., Tabak, J., Spiga, F., Lightman, S.L. 2019. Mathematical modelling of endocrine systems. *Trends Endocrinol Metab*; 30(4): 244-257.
- Zbiri, S., Rozenberg, P., Goffinet, F., Milcent, C. 2018. Cesarean delivery rate and staffing levels of the maternity unit. *PLoS One*;13(11): e0207379.
- Zhu, P., Fangbiao, T., Hao, J., Sun, Y., Jiang, X. 2010. Prenatal life events stress: implications for preterm birth and infant birthweight. *Am J Obstet Gynecol*; 203(1): 34-41.
- Zijlmans, M.A.C., Beijers, R., Riksen-Walraven, M.J., de Weerth, C. 2017. Maternal late pregnancy anxiety and stress is associated with children's health: a longitudinal study. *Stress*; 1: 10.