
Cribado prenatal sérico materno para la detección de anomalías cromosómicas fetales: importancia clínica de la tasa de falsos positivos.

Francisco Álvarez-Nava¹, Marisol Soto¹, Trina Padrón¹, Alisandra Morales¹, Dameiro Villalobos², Alicia Rojas de Atencio¹, Minolfa Prieto¹ y María C. Martínez¹.

¹Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia y

²Centro Médico Paraíso. Maracaibo, Venezuela.

Palabras clave: Alfafetoproteína, anomalías cromosómicas fetales, diagnóstico prenatal, estríol no conjugado, gonadotropina coriónica humana y cribado sérico materno.

Resumen. El cribado sérico materno para identificar aneuploidías fetales se ofrece rutinariamente durante el segundo trimestre del embarazo en países desarrollados. El propósito de este estudio prospectivo fue evaluar la utilidad del cribado sérico materno entre las 15 y 20 semanas de gestación para detectar aneuploidías fetales y determinar la tasa de falso positivo (TFP). Se tomaron muestras de sangre de 1.062 mujeres entre 15 y 20 semanas de gestación. Se determinaron las concentraciones séricas de alfafetoproteína (AFP), fracción beta libre de la gonadotropina coriónica humana (β -hCG) y el estríol no conjugado (uE_3). Se establecieron las medianas para cada semana de gestación a partir de 200 embarazos simples cromosómicamente normales. Se calculó el riesgo para el segundo trimestre del embarazo usando la edad materna y diferentes combinaciones de AFP, β -hCG y uE_3 . Se consideraron como positivos los resultados del cribado calculados por la relación de verosimilitud que eran iguales o mayores a 1:270. Si la edad gestacional era confirmada por ultrasonido, se ofrecía asesoramiento genético y amniocentesis. Se detectaron diez anomalías cromosómicas fetales con el cribado sérico materno. El tamaño de la muestra no permite estimar una tasa de detección correcta, pero se encontró una TFP de 6,5%. Esta TFP tiene aplicación clínica. A un índice de corte de 1:270, los mejores resultados del cribado sérico materno fueron obtenidos usando la combinación de los tres marcadores bioquímicos analizados. Estos resultados confirman la eficacia del cribado sérico materno para las anomalías cromosómicas fetales con una TFP baja. La medición de AFP, β -hCG y uE_3 es una prueba prenatal efectiva.

Maternal serum screening: clinical importance of false-positive rate.*Invest Clín 2003; 44(3): 195 - 207*

Key words: Prenatal diagnosis, fetal chromosomal abnormalities, maternal serum screening, alpha-fetoprotein, free beta human chorionic gonadotropin, unconjugated estriol

Abstract. Maternal serum screening to identify fetal aneuploidies is now routinely offered during the second trimester of pregnancy in developed countries. The purpose of this prospective study was to assess the value of maternal serum screening between 15 and 20 weeks of gestation to detect fetal aneuploidies and to determine the false positive rate (FPR). Blood samples were collected from 1.062 pregnant women between 15 and 20 weeks of gestation. Samples were assayed for alpha-fetoprotein (AFP), free beta human chorionic gonadotropin (-hCG) and unconjugated estriol (uE₃). Medians were established at each week from 200 normal, singleton pregnancies. Second trimester risk was calculated using the maternal age and different combinations of AFP, -hCG and uE₃. Screening results calculated by likelihood ratio to be equal to or greater than 1:270 were considered positive. If the gestational age was confirmed by ultrasonography, genetic counseling and amniocentesis were offered. Ten fetal chromosomal abnormalities were detected with maternal serum screening. Sample's size does not allow a correct detection rate estimation, but false positive rate (FPR) was found to be 6,5%. This FPR has a clinical application. At a cut-off of 1:270, second trimester screening best results were obtained using a combination of all three biochemical markers. These results confirm the efficacy of maternal serum screening for fetal chromosomal abnormalities with a low FPR. The measurement of AFP, -hCG and uE₃ is an effective prenatal screening test.

Recibido: 25-04-2002. Aceptado: 10-04-2003.

INTRODUCCIÓN

Se conoce que la edad materna avanzada (= 35 años) predispone a la no disyunción cromosómica y por tal motivo se asocia al nacimiento de niños con cromosopatías (particularmente trisomías 21, 18 y 13). Antes de la década de los 80', ésta era la base para ofrecer técnicas invasivas de diagnóstico prenatal en una gestante de edad materna avanzada. Paradójicamente, el 80% de los niños con Síndrome de Down (SD) nacen de mujeres menores de 35 años,

por lo que usando sólo la edad de la mujer como único factor de riesgo para aneuploidías fetales solamente se detectaba el 20% de las mismas. Por lo tanto, fue necesario conseguir otros factores de riesgo para aumentar la tasa de detección sobre todo en mujeres menores de 35 años. No es sino a partir de 1984, cuando se observa que los niveles séricos maternos de alfafetoproteína (AFP) en el segundo trimestre de la gestación estaban disminuidos en casi un 25% en embarazos portadores de trisomía 21 con respecto a embarazos no afectados por este

trastorno (1). Esta medición junto con el riesgo que proporciona la edad materna permitió incrementar la tasa de detección en un 20% en mujeres de este grupo de edad (<35 años y sin ningún riesgo *a priori* para anomalías cromosómicas fetales). Posteriormente, grandes estudios retrospectivos y prospectivos han comprobado que en gestaciones con productos afectados por trisomía 21 los niveles séricos de gonadotropina coriónica humana (hCG) en suero materno estaban aumentados al menos dos veces más que el nivel alcanzado en aquellas pacientes no afectadas, y que los niveles séricos maternos de estriol no conjugado (uE_3) mostraban una disminución de un 25% en este tipo de trastorno fetal (2-6). Desde entonces, la medición de estos tres analitos (AFP, uE_3 y hCG en sus distintas fracciones), está ampliamente consolidada a nivel clínico, permitiendo alcanzar una tasa de detección del 60-70% con una tasa de falsos positivos del 5% (3-7).

Este método de cribado se realiza rutinariamente en aquellas sociedades donde sus servicios de salud están globalmente organizados, convirtiéndose en un estudio obligatorio y rutinario en el control obstétrico. Sin embargo, en Venezuela no se dispone de este estudio a gran escala, y la experiencia es muy limitada, por lo general referida a poblaciones de recursos económicos medios-altos. En este trabajo se presentan los resultados de un estudio prospectivo que tiene como objetivo determinar la aplicabilidad clínica del cribado sérico materno en el segundo trimestre en una muestra de la población de Maracaibo, Venezuela, haciendo énfasis en el porcentaje de falsos positivos que se obtiene con este tipo de cribado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Grupo de estudio

El grupo de estudio consistió de 1.062 pacientes que acudieron a la consulta de

diagnóstico prenatal de la Unidad de Genética Médica de la Universidad del Zulia (UGM-LUZ) y al control obstétrico de diferentes médicos de un centro médico privado de la ciudad de Maracaibo, Venezuela. El subgrupo de estudio de la UGM-LUZ representaba pacientes con alto a moderado riesgo de tener una anomalía congénita y/o enfermedad hereditaria debido a diversos factores de riesgo, siendo el principal factor de riesgo la edad materna avanzada. Este subgrupo pertenecía a un estrato socioeconómico medio-bajo. El segundo subgrupo (clínica privada) representaba un nivel socio-económico medio-alto, y aunque representaba la mayoría de las muestras analizadas, por lo general, no tenían riesgo *a priori* para cromosopatía (subgrupo de bajo riesgo). A un escaso número de estas pacientes se les practicó amniocentesis para cariotipo fetal a una edad gestacional similar al subgrupo anterior y bajo las mismas condiciones.

De todas las pacientes estudiadas se dispuso del cariotipo fetal o de la exploración del recién nacido en la que no se evidenciaron signos dismórficos sugestivos de cromosopatías. No se incluyeron en el estudio los casos en los que el feto murió en el transcurso de la gestación y no se disponía del resultado del cariotipo fetal. En el transcurso de tres meses posterior al nacimiento, se contactó personal o telefónicamente a la madre del niño y se le interrogó con relación a complicaciones obstétricas del segundo y tercer trimestre y del recién nacido.

Grupo testigo (Control)

El grupo control estuvo constituido por 200 mujeres embarazadas con 15 a 20 semanas de gestación que acudieron a la UGM-LUZ a quienes se les practicó amniocentesis para cariotipo fetal por diversas indicaciones, con resultado normal (46,XX o 46,XY). En todas ellas fue factible obtener suero materno, que una vez extraído, era

guardado a 4 °C hasta la determinación de la AFP, -hCG libre, y uE₃ lo cual se realizó en un plazo no mayor a 48 horas; o era almacenado en la seroteca a -20 °C para su posterior estudio. A partir de estas muestras se establecieron los valores de la mediana de los tres analitos para cada edad gestacional. Los valores de las tres pruebas fueron convertidos a múltiplos de la mediana (MoM) ajustados para cada semana gestacional. Se excluyeron de este grupo testigo los embarazos afectados por aneuploidías fetales, defectos del tubo neural o cualquier malformación diagnosticada prenatalmente o en el período neonatal. También se excluyeron embarazos gemelares o aquellas gestaciones que presentaron complicaciones en el segundo o tercer trimestres de gestación.

Edad gestacional

Se estimó la edad gestacional para el grupo testigo mediante ecografía tomando como único elemento de cálculo para ésta, la derivada del diámetro biparietal. Para el grupo de estudio, se estimó la edad gestacional a partir de la fecha de última menstruación (FUM) y en los casos dudosos o que daban positivos para el cribado, se realizó ecografía fetal y se tomó como edad gestacional la calculada a través del diámetro biparietal. La edad gestacional se expresó en semanas completas y no fracción de semana, es decir, quince semanas y tres días se expresaba como quince semanas.

Pruebas bioquímicas

La AFP y -hCG libre fueron medidas por Inmunoanálisis Enzimático de Micropartículas (MEIA) (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, EE.UU.). El promedio del coeficiente de variación interensayo de la AFP fue de 2,8% para rango de 23-248 ng/mL y para la -hCG fue de 4,3% para un rango de 26,9-292 IU/mL. El estriol libre o no conjugado (uE₃) fue medido utilizando la tecnología de Inmunoanálisis de Fluores-

cencia Polarizante (FPIA) de la casa comercial mencionada anteriormente. El coeficiente de variación interensayo fue de 5,9% para un rango de 0,75-2,15 ng/mL. Todas las mediciones fueron hechas en un mismo laboratorio.

Análisis estadístico, estimación de riesgo estadístico y protocolos para la decisión de practicar Amniocentesis

El riesgo específico para SD para cada paciente se estimó utilizando el método de verosimilitud (*likelihood ratio*) al determinar la frecuencia gaussiana de los tres analitos basada en las medianas derivadas de la muestra del grupo testigo (3, 8, 9). Para eliminar la influencia de la edad gestacional, se expresó la concentración de los marcadores como MoM. Para cada muestra de suero materno, se calculó la relación de probabilidad a partir de los valores de los MoM de la AFP, -hCG libre, y uE₃. El riesgo individual para cada paciente se estimó al multiplicar la relación de probabilidad trivariada por el riesgo por edad materna (EM) para SD (3, 8, 9). El riesgo para SD se expresó como riesgo en el momento de tomar la muestra y no en el parto. Por ello, y debido a la muerte espontánea de fetos afectados que se produce en el transcurso de la gestación, se efectuó una corrección al alza sobre el riesgo para la EM del 29,1% en el segundo trimestre. Se valoraron tres métodos de cribado bioquímico materno en cada gestante: 1) riesgo por EM-AFP; 2) riesgo combinado EM-AFP- -hCG y 3) riesgo combinado EM-AFP- -hCG-uE₃ y se contrastó con el riesgo dado por la EM (método 4). Para los tres primeros métodos se tomó como nivel de corte un índice de riesgo igual o superior a 1 en 270 y se analizó la sensibilidad y la tasa de falsos positivos. Se define sensibilidad como el porcentaje de gestaciones afectadas de cromosopatía con un índice de riesgo igual o superior a 1 en 270 entre el total de los fetos afectados;

y se define como tasa de falsos positivos (TFP) al porcentaje de gestaciones no afectadas por cromosopatía con un índice de riesgo igual o superior a 1 en 270 (6). Se valoró la TFP para SD en el grupo de estudio.

La decisión de practicar cariotipo fetal a través de la obtención de Líquido Amniótico (LA) mediante amniocentesis (a partir de las 15 semanas) se tomó sobre la base de uno de los siguientes criterios clínicos: 1) EM igual o mayor de 35 años; 2) antecedentes de hijo previo con una alteración cromosómica; 3) progenitor portador de una translocación cromosómica; 4) hijo previo polimalformado sin diagnóstico; 5) hallazgos ecográficos sugestivos de cromosopatía o malformación fetal; 6) riesgo para aneuploidías fetales en el cribado bioquímico materno mayor de 1 en 270.

Se calcularon la mediana y el MoM de los tres marcadores séricos maternos y se usaron para comparación entre los distintos grupos; así como la EM y edad gestacional. Se determinó la significancia estadística por la prueba *t-Student* para datos no pareados de dos colas (*two-tailed unpaired t test*).

La información sobre el peso de la gestante, hábito de fumar y de consumir alcohol, así como los antecedentes de gravidez, paridad, diabetes insulino dependiente, consumo de medicamentos y enfermedades maternas intercurrentes, se obtuvo directamente de la paciente. Se efectuó corrección sobre los MoM de la AFP, -hCG y uE₃ para el peso, raza, hábito de fumar y diabetes insulino dependiente (10-13).

RESULTADOS

Del total de la muestra, el subgrupo de la UGM-LUZ representaba el 35,4% (376/1062). A un número importante (65,33%; 147/225) de estas pacientes se les practicó cariotipo fetal a través de amniocitos cultivados extraídos por amniocentesis entre las

15-20 semanas. El subgrupo de la clínica privada representaba la mayoría de las muestras analizadas (64,6%: 686/1062) pero como por lo general tenían bajo riesgo para aneuploidías fetales a un número menor se les practicó amniocentesis. (34,66%: 78/225)

En total se practicaron 225 amniocentesis (147 en UGM y 78 en el centro privado) y cariotipos fetales entre las 15 y 20 semanas de gestación de los cuales 10 presentaron los siguientes trastornos cromosómicos: cuatro trisomía 21 (incluyendo un caso de 48,YYY+21); cuatro trisomía 18; una monosomía del X y una deleción del brazo largo del cromosoma 14 [46,XY,del(14q)]. Tres fetos presentaron defectos del tubo neural (DTN), una anencefalia y dos espinas bífidas abiertas; los MoM de AFP de estos tres casos de DTN fueron 4,56; 3,7 y 2,25, respectivamente. Se determinó el nivel de AFP en LA y en todos los casos estaba muy por encima de 3 MoM para los niveles de AFP en LA y el cariotipo fetal fue normal. Con relación a otras malformaciones congénitas de etiología no cromosómica se presentaron durante el período evaluado (enero de 1999 a marzo de 2002) dos fetos con labio y paladar hendido aislados (cromosómicamente normales); tres displasias esqueléticas; estas últimas alteraciones se diagnosticaron sólo mediante ecografía.

En la Tabla I se muestran las medianas de AFP, -hCG y uE₃ por semana gestacional de las 200 muestras testigos y de las gestantes del grupo de estudio seleccionadas por no presentar aneuploidías fetales, malformaciones congénitas y/o complicaciones en el segundo o tercer trimestre del embarazo. En la Tabla II se muestra los MoM de los tres analitos de las pacientes afectadas con una aneuploidía fetal. Además, se muestra la comparación entre los cuatro métodos de cribado con relación al índice de riesgo para embarazos afectados con aneuploidías fetales en su conjunto.

TABLA I
MEDIANAS DE LOS TRES MARCADORES SÉRICOS CON RELACIÓN A SEMANAS DE GESTACIÓN

Semanas de Gestación	Grupo Testigo			Grupo de Estudio*		
	AFP (ng/mL)	-hCG (IU/mL)	uE ₃ (ng/mL)	AFP (ng/mL)	-hCG (IU/mL)	uE ₃ (ng/mL)
15	30,27	45.666	1,48	31,09	48.982	1,51
16	39,63	41.560	1,67	39,29	41.560	1,78
17	48,83	32.806	1,81	49,30	33.204	2,33
18	55,88	23.800	2,27	54,22	25.072	2,45
19	66,55	21.372	2,71	68,88	23.366	2,57
20	71,28	18.325	3,04	74,78	19.884	3,18

*Gestaciones sin aneuploidías, malformaciones fetales y/o complicaciones obstétricas.

TABLA II
MÚLTIPLOS DE LA MEDIANA PARA LOS TRES MARCADORES SÉRICOS, EDAD DE LA GESTANTE E ÍNDICE DE RIESGO EN LAS ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS DETECTADAS

Aneuploidía Fetal	AFP (MoM)	-hCG (MoM)	uE ₃ (MoM)	EM	ÍR-1	ÍR-2	ÍR-3	ÍR-4
45,X	1,47	2,28	0,54	31	1:1302	1:570	1:270	1:651
47,XX + 21	0,67	2,30	0,66	40	1:60	1:30	1:20	1:78
47,XX + 21	0,69	1,97	0,74	42	1:36	1:30	1:16	1:47
47,XY + 21	0,68	1,58	0,64	41	1:60	1:31	1:20	1:78
48,YYY+21	2,15	1,96	0,34	31	1:2034	1:1142	1:270	1:651
47,XX + 18	>3,5	0,38	0,62	42	No aplicable			1:47
47,XX + 18	>3,5	0,32	0,67	38	No aplicable			1:100
47,XX + 18	>3,5	0,35	0,72	37	No aplicable			1:134
47,XY+t(14;18)	0,69	0,36	0,65	33	1:350	1:72	1:50	1:452
46,XY,14q	0,86	0,96	1,01	43	1:41	1:125	1:125	1:37

MoM: Múltiplos de la Mediana. EM: Edad Materna. IR-1, -2, -3, -4: Índice de Riesgo a través de los métodos 1, 2, 3 y 4, respectivamente (descritos en Materiales y Métodos).

Se detectaron cuatro casos de SD, ocurriendo todos en madres mayores de 35 años, excepto dos, uno de ellos era 48,YYY+21. De esta manera, se identificaron a través del triple marcador sérico materno dos fetos con SD en el grupo de bajo riesgo. La mediana de los MoM de AFP, -hCG y uE3 en tres casos con SD fetal (47,XX o XY + 21) fueron de 0,64,

1,75 y 0,74, respectivamente. Se observó diferencia significativa en los MoMs de los casos de SD fetal y los del grupo testigo si se toma en cuenta la edad gestacional para AFP ($p < 0,0001$, considerado altamente significativo); -hCG ($p < 0,0001$, considerado altamente significativo) y uE3 ($p < 0,005$, considerado muy significativo).

De los cuatro fetos con trisomía 18, se identificaron tres a través de la combinación de hallazgos ecográficos y edad materna avanzada. Se identificó mediante la prueba de cribado con los tres marcadores un feto con trisomía 18 producto de una translocación entre los cromosomas 14 y 18 [cariotipo 46,XY 14+ t(14q;18q)]; la madre tenía 31 años y los valores séricos expresados en MoM para AFP, -hCG y uE₃ en esta gestación fueron de 0,69; 0,36 y 0,65, respectivamente.

Se compararon los 10 casos con aneuploidías fetales y el grupo testigo con relación a edad materna y edad gestacional. El promedio de la edad materna fue de 37,8 ± 4,6 y de 36,2 ± 5,3 años para los casos de aneuploidías fetales y grupo testigo, respectivamente, sin diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,1$; para un intervalo de

confianza del 95%: -5,327 y 2,184). La edad promedio del subgrupo de bajo riesgo fue de 27,67 ± 4,01 años; observándose diferencia altamente significativa con relación al grupo de pacientes con aneuploidías fetales y al grupo testigo ($p < 0,0001$; para un intervalo de confianza del 95%: -12,864 y -7,394). Es de hacer notar que la mayoría de estas pacientes (bajo riesgo para aneuploidías fetales) pertenecían al subgrupo que iba a consulta rutinaria de control obstétrico y no fueron sometidas a amniocentesis. La edad gestacional promedio para los casos de aneuploidías, grupo testigo y subgrupo de bajo riesgo fue de 17,7 ± 0,9; 16,7 ± 0,7 y 16,2 ± 0,8 semanas, respectivamente, sin diferencia significativa.

De las 1.062 mujeres que fueron estudiadas, 32,86% (349/1062) resultaron positivas para el cribado (Tabla III). De éstas,

TABLA III
PROGRAMA DE CRIBADO PARA ANEUPLOIDÍAS FETALES MEDIANTE EL TRIPLE MARCADOR SÉRICO MATERNO EN EL SEGUNDO TRIMESTRE

		Totales
Mujeres Estudiadas		1.062
UGM-LUZ	376	
Clínica Privada	686	
Falsos Positivos		32,86% (349/1062)
Explicado por EMA	23,25% (247/1062)	
Subtotal	9,60% (102/1062)*	
Corregido por US y peso de la gestante	6,50% (69/1062)*	
Método 1	12,34% (131/1062)	
Método 2	5,38% (62/1062)	
Amniocentesis Practicadas (15-20 semanas)		445
Grupo Testigo	200	
Grupo de Estudio	225	
UGM-LUZ	(147)	
Clínica Privada	(78)	
Trastornos Cromosómicos Fetales		10
Detectados	4	
Trisomía 21	4	
Trisomía 18	2	
Otras		
Defectos del Tubo Neural		3

*Producto del Método 3. US: Ultrasonido.

23,25% (247/1062) tenía un cribado positivo previamente por edad materna avanzada y solamente 9,6% (102/1062) presentaron un cribado positivo con los tres analitos sin aneuploidías fetales detectadas (falsos positivos) posterior al cariotipo fetal o seguimiento neonatal. Este número se redujo a 69 casos posterior a la corrección por edad gestacional mediante ecografía, peso de la gestante, presencia de hábito tabáquico o diabetes insulino dependiente por lo que la TFP se calculó en 6,5%. Del grupo de pacientes que fueron sometidas a amniocentesis por alto riesgo *a priori* para anomalías cromosómicas fetales, 10 presentaron aneuploidías fetales y en todas las pruebas estaban positivas, es decir, el cribado detectó todos los casos de aneuploidías fetales. La relación caso diagnosticado/amniocentesis fue de 1:25 cuando se toman en cuenta todas las indicaciones para amniocentesis. Sólo hubo una pérdida fetal dentro de la semana siguiente a la amniocentesis.

DISCUSIÓN

Hemos encontrado en la población de gestantes con feto con SD diferencias significativas entre los valores de AFP, -hCG y uE₃ con relación al grupo control, a excepción de un caso. El promedio del MoM de la AFP en gestantes con SD fue de 0,68, que aunque muy cercano al de la mayoría de los trabajos publicados, es de un valor inferior (4-8, 13). Esto puede ser debido al bajo número de la muestra y/o al azar. Por otra parte, en nuestro estudio se encontró diferencia altamente significativa entre la mediana de MoM de la AFP en gestantes con SD y la mediana de MoM de las gestantes que sirvieron como testigos. De igual manera, hubo diferencia muy significativa entre el promedio de MoM de uE₃ de las gestantes con SD (0,68) cuando se comparó con el promedio de MoM (0,97) de los testigos. El

promedio de MoM de la -hCG fue de 1,95 para los casos de trisomía 21 y de 1,06 para los controles. Un solo feto con SD se comportó diferente del resto; esta diferencia solo fue aplicable al MoM de la AFP y no para -hCG y uE₃. El MoM de la AFP de este feto fue de 2,15 (Tabla II). El feto era portador de un cariotipo 48,XXY+21 y de atresia duodenal. Creemos que este hallazgo en el MoM de la AFP era producto de la atresia duodenal y no de la presencia de un cromosoma Y extra, ya que se conoce que la atresia duodenal aumenta los niveles de AFP en el LA y en el suero materno. Además, los fetos 47,XXY aparentemente no modifican los valores séricos maternos de AFP según lo reportado por las grandes series publicadas (1-8, 13).

Se detectaron tres fetos con trisomía 18 todos en mujeres mayores de 35 años y referidos por la detección ecográfica de anomalías congénitas. Así mismo, se detectó un feto con trisomía 18 producto de una translocación *de novo* entre los cromosomas 14 y 18 en una gestante de 33 años. Por supuesto, si se aplica la estrategia para detectar SD, no se hubiesen detectados ya que en el SD existe un aumento significativo de la -hCG y en la trisomía 18 existe una disminución marcada de esta proteína (5, 13-20), que en nuestro caso particular, el promedio de MoM de la -hCG fue significativamente menor (MoM 0,35) comparado con el grupo control (1,06). El promedio del MoM de uE₃ de las gestaciones con trisomía 18 difirió significativamente con el grupo control (MoM 0,67 y 0,96; respectivamente). Todos los casos de trisomía 18 tenían un MoM de AFP mayor de 3,5 debido a la presencia de DTN y defecto en la pared abdominal (onfalocele) a excepción del feto portador de la translocación 14;18 (Tabla II).

Aunque se cuestiona la utilidad del triple marcador sérico materno en la detección de otras aneuploidías cromosómicas

diferentes a las de SD, en nuestra serie se detectó un caso de monosomía 45,X en una mujer de 31 años. En esta gestación existían niveles altos de AFP (MoM 1,47) y de -hCG (MoM: 2,28) con una disminución marcada de uE3 (MoM: 0,54). Previa amniocentesis se identificó mediante ecografía hígroma quístico.

Con relación a la tasa de falsos positivos (TFP), la mayoría de los estudios parten de la premisa de una TFP fija en el 5% y analizar la capacidad de detección a un determinado nivel de corte que ocasionalmente se especifica. Por el contrario, este trabajo tiene como aporte significativo el resultado concluyente del porcentaje previsto de TFP para cada uno de los tres métodos analizados en el segundo trimestre en nuestra población. Para llegar a esta TFP real es necesario, por una parte, ajustar los valores para nuestra población, y por otra parte, corregir según ciertas variables que se ha comprobado que modifican la TFP, como lo son la edad gestacional calculada por ultrasonido y peso. Esta TFP real (corregida), posiblemente no se modificará en el grupo de gestantes de bajo riesgo por más que se aumente el volumen de la muestra o que disminuya la incidencia de las cromosopatías en las pacientes incluidas en este estudio.

A pesar de que el número de la muestra evaluada no nos permite concluir sobre la tasa de detección, sensibilidad y valor predictivo positivo; la TFP encontrada en nuestro estudio permite evaluar la especificidad de la prueba, ya que esta última se define como el porcentaje total (100%) de la TFP. Así, una TFP real (corregida) encontrada en este estudio del 6,5% representa una especificidad de la prueba cercana al 95%. En este trabajo, entre más de mil mujeres estudiadas mediante el triple marcador sérico materno entre las 15 y 20 semanas; se detectaron cuatro casos con SD, usando un riesgo de 1:270 o más, dos de

ellas en mujeres sin ningún riesgo *a priori* para cromosopatías fetales. Estos resultados son preliminares pero provienen de un estudio prospectivo y estamos conscientes que se requiere de casos adicionales para su validación. Estos resultados son similares a otros estudios (3-7, 11, 17, 21-23).

El cribado bioquímico materno utilizando triple marcador sérico en mujeres embarazadas menores de 35 años sigue siendo el método bioquímico de elección. Sin embargo, la TFP en nuestro estudio para algunos autores podría considerarse alta. Para conseguir, en nuestro estudio una TFP menor del 5%, el nivel de corte adecuado se situaría en 1:100 que es el riesgo de una mujer de 38 años. Este hallazgo también ha sido encontrado por Sabriá et al. (1999) en un estudio similar pero analizando la -hCG y la Proteína Plasmática A Asociada al Embarazo (PAPP-A) en el primer trimestre en una población española. En Francia, la ley solo ampara como un derecho de la gestante de practicarse amniocentesis genética a la edad de 38 años (14). Es difícil cambiar el hábito en nuestra población. Es innegable el derecho que tiene la gestante de 35 años o más de practicarse estudios invasivos para cariotipo fetal; pero aún en este grupo de población, los resultados del triple marcador sérico materno pueden ser usados para el asesoramiento de estas mujeres con respecto a optar o no por la amniocentesis. En esta situación, la función del médico genetista juega un papel importante. Por ejemplo, en este trabajo se analizaron dos grupos de pacientes (con bajo y alto riesgo para anomalías cromosómicas fetales). Si separamos estos dos grupos, la TFP es menor en el grupo de bajo riesgo con relación al grupo de alto riesgo; esto se debe a que el grupo de alto riesgo está representado principalmente por mujeres mayores de 35 años que exceden *a priori* el nivel de corte de 1:270. Estos hallazgos son similares a los encontrados por otros auto-

res (3-7, 13, 17, 21-23). Se ha establecido que el triple marcador sérico materno debería ser aplicado a ambos grupos de edades (2, 3). Estamos de acuerdo con esta afirmación por varias razones; una de ellas estriba en que un grupo de pacientes en este estudio está representado por mujeres que han pospuesto su maternidad por motivos de mejoramiento educativo, profesional y/o económico; otro grupo está representado por mujeres con edad materna avanzada y problemas de infertilidad en el pasado; y un último grupo de gestantes no están de acuerdo con la indicación de la amniocentesis basado solo en el riesgo específico por la edad. Todas estas pacientes pueden usar esta prueba para clarificar la magnitud de su riesgo. Estas gestantes pueden estar dispuestas a aceptar la disminución en la tasa de detección de trisomía 21 (descrita por otros estudios en este grupo de gestante) con la finalidad de disminuir la probabilidad de tener un procedimiento invasivo para un resultado cromosómicamente normal (24).

Como se dijo anteriormente la TFP encontrada en este trabajo puede ser modificada por varios factores. Algunos autores consideran que la utilización del riesgo basado por uE_3 aumenta la TFP. Otros autores exponen que el riesgo calculado por uE_3 aumenta la tasa de detección y por consiguiente la relación costo beneficio inclina la balanza a realizar el triple marcador (AFP, $-hCG$ y uE_3) que un doble marcador (AFP y $-hCG$). En este estudio cuando se utilizó la edad materna junto con los valores de la AFP para calcular el riesgo para SD en mujeres menores de 35 años, la TFP fue de 12,5% (método 1). Cuando a este método se le añade el riesgo específico dado por la $-hCG$ (calculada a través de una función bivariada), la TFP disminuye a 5,8% (método 2). Si se le adiciona el riesgo dado por uE_3 (calculado por una función trivariada) la TFP aumenta levemente a

6,5% (método 3) (Tabla III). En consecuencia, la TFP por ambos métodos (2 y 3) es casi similar por lo que creemos que se debería seguir utilizando el uE_3 a pesar del leve aumento de la TFP y de los problemas metodológicos que surgen en su medición. Además, como se aprecia en la tabla II, en los tres casos de aneuploidías fetales en mujeres menores de 35 años, el único método que pudo detectarlas es aquel que combinó la relación de verosimilitud (*likelihood ratio*) de los tres analitos junto con el que proporciona la edad materna.

Cuando se corrige la edad gestacional calculada por FUM, la TFP disminuye considerablemente en ambos grupos (mayores o menores de 35 años). Esto es digno de mencionar, ya que la ecografía aminora el grupo de gestante que equivocadamente se le asigna un alto riesgo para SD. Se recomienda la utilización de la medición del diámetro biparietal para determinar la edad gestacional en lugar de utilizar la longitud del fémur, la combinación de estos dos parámetros o la utilización de otros. Esto se debe a varios factores, la longitud del fémur puede estar afectada en fetos con SD y el diámetro biparietal no se encuentra comprometido en fetos con esta condición pero sí puede estar disminuido en fetos con defectos del tubo neural (DTN) lo que aumenta la sensibilidad de la prueba para detectar este grupo de condiciones nosológicas (25, 26).

Se podría obtener una mejora tanto en la tasa de detección como en la TFP al usar más o mejores marcadores séricos. Se han utilizado otros marcadores (inhibina, la -1 glicoproteína específica del embarazo (SP-1), actividad de la fosfatasa alcalina resistente a urea de leucocitos, etc.) pero no ha habido una mejoría sustancial con respecto a los tres marcadores tradicionales. Se han utilizado cuatro marcadores séricos en lugar de tres con excelentes resultados (27). Sin embargo, pocos estudios han validado

este trabajo; además, la relación costo-beneficio no parece dar factibilidad a la incorporación de otro marcador sérico. También se han realizado pruebas utilizando un triple marcador urinario (-core-hCG, estrógenos totales y -hCG) con iguales ventajas y desventajas que el anterior (28).

Uno de los objetivos actuales es adelantar el cribado para SD al primer trimestre y para ello se han estudiado distintos marcadores bioquímicos, habiéndose demostrado que los más apropiados para este trimestre son la -hCG y la PAPP-A (19, 23, 29). Sin embargo, este tipo de cribado es difícil aplicarlo en nuestra población debido a que un segmento significativo de la población acude tardíamente a la consulta de control obstétrico, y, este tipo de cribado, a diferencia del triple marcador sérico del segundo trimestre que utiliza AFP, no discrimina embarazos con alto riesgo para DTN. Este grupo de trastornos es de muy alta incidencia en nuestra población. Además, los marcadores séricos del primer trimestre poseen una mejor tasa de detección para cromosopatía en gestantes de alto riesgo (30-31) pero en mujeres menores de 35 años, su sensibilidad parece ser menor que el cribado practicado en el segundo trimestre (9, 32).

¿Cómo disminuir la TFP sin modificar el nivel de riesgo y/o la tasa de detección?. La combinación de la ecografía y el triple marcador sérico materno con la edad materna puede ofrecer un nivel óptimo de TFP con la ventaja de incrementar la tasa de detección. Esta combinación representa un importante reto para los servicios que prestan este tipo de consulta. Esto indudablemente posee, sobre todo en la población de bajo riesgo para aneuploidías fetales, un gran impacto en la relación costo-beneficio, pérdidas gestacionales, ansiedad en la gestante, en la pareja, en la familia e incluso en el médico tratante. Concluimos que una TFP cercana al 5% con el triple marcador sérico materno encontrada en este trabajo

representa un logro significativo ya que establece una alta especificidad y predice una sensibilidad similar a la de las grandes series publicadas; esto repercutirá en un mejor manejo clínico de las gestantes que consultan para control prenatal.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) a través del proyecto de investigación No. CC 0078-00.

Un agradecimiento muy especial a todas las pacientes que colaboraron con este proyecto. Agradecemos también al personal de la Unidad de Genética Médica en especial a las Licenciadas Karelis Urdaneta y Griselda García. Nuestro reconocimiento a los siguientes médicos: Leonardo Acosta, Elizabeth Acuña, Freddy Alaña, Guillermo Andrade, Deisy Barrios de Pirela, Elexis Briceño, Dilia Corzo, Eleonora Díaz de Schlesinger, María Guadalupe Martín, Roberto Osorio, Morela Simancas; de ellos dependió gran parte este trabajo. Gracias a la Srta. Johana Betancourt y Erika Ramírez por su asistencia.

REFERENCIAS

1. **Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE.** An association between low maternal serum alpha fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148: 886-894.
2. **Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Canick JA, Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE.** Maternal serum unconjugated oestriol as an antenatal screening test for Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95:334-341.
3. **Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE, Canick JA.** Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95:883-887.

4. **Nørgaard-Pedersen B, Larsen SO, Arends J, Svenstrup B, Tabor A.** Maternal serum markers in screening for Down syndrome. *Clin Genet* 1990; 37:35-43.
5. **Heyl PS, Miller W, Canick JA.** Maternal serum screening for aneuploid pregnancy by alpha-fetoprotein, hCG and unconjugated estriol. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 1025-1031.
6. **MacDonald ML, Wagner RM, Slotnick RN.** Sensitivity and specificity of screening for Down syndrome with alpha-fetoprotein, hCG, unconjugated estriol, and maternal age. *Obstet Gynecol* 1991; 77: 63-68.
7. **Phillips OP, Elias S, Shulman LP, Andersen RN, Morgan CD, Simpson JL.** Maternal screening for fetal Down syndrome in women less than 35 years of age using alpha-fetoprotein, hCG, and unconjugated estriol: a prospective 2-year study. *Obstet Gynecol* 1992; 80:353-358.
8. **Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG.** Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Br J Obstet Gynaecol* 1987; 94: 387-402.
9. **Berry E, Aitken DA, Crossley JA, Macri JN, Connor JM.** Screening for Down's syndrome: changes in marker levels and detection rates between first and second trimesters. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104: 811-817.
10. **Canick JA, Panizza DS, Palomaki GE.** Prenatal screening for Down's syndrome using AFP, uE₃ and hCG: effect of maternal race, insulin-dependent diabetes and twin pregnancy. *Am Hum Genet* 1990; 47: A270.
11. **Palomaki GE, Panizza DS, Canick JA.** Screening for Down's syndrome using AFP, uE₃ and hCG: effect of maternal weight. *Am Hum Genet* 1990; 47:72-82.
12. **Burton BK, Nieb B.** Effect of maternal race and weight (wt) on hCG and uE₃ levels in the mid-timester. *Am J Hum Genet* 1991; 49:A212.
13. **Haddow JE, Palomaki G, Knight G, Williams J, Pulkkinen A, Canick J, Saller D, Bowers GB.** Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N Engl J Med* 1992; 327: 588-593.
14. **Muller F, Aegerter P, Boue A.** Prospective maternal serum human chorionic gonadotropin screening for the risk of fetal chromosome anomalies and subsequent fetal and neonatal deaths. *Prenat Diagn* 1993; 13:29-43.
15. **Spencer K, Mallard AS, Coombes EJ, Macri JN.** Prenatal screening for trisomy 18 with free beta human chorionic gonadotropin a marker. *Br Med J* 1993; 307:1455-1458.
16. **Palomaki GE, Haddow JE, Knight GJ.** Risk based prenatal screening for trisomy 18 using alpha-fetoprotein, unconjugated oestriol and human chorionic gonadotropin. *Prenat Diagn* 1995; 15: 713-723.
17. **Sabria J.** Screening bioquímico del segundo trimestre. Nuestra experiencia. *Prog Diag Prenat* 1998; 4: 147-153.
18. **Smith K, Lowther G, Maher E, Hourihan T, Wilkinson T, Wolstenholme J.** The predictive value of findings of the common aneuploidies trisomies 13, 18 and 21, and numerical sex chromosome abnormalities at CVS: experience from the ACC U.K. collaborative study. *Prenat Diagn* 1999; 19:817-826.
19. **Spencer K, Heath V, Flack N, Ong C, Nicolaides KH.** First trimester maternal serum AFP and total hCG in aneuploidies other than trisomy 21. *Prenat Diagn* 2000; 20:635-639.
20. **Oehshorn Y, Kupfermine M, Wolman I, Orr-Urteger A, Jaffa A, Yaron Y.** First trimester PAPP-A in the detection of non-Down síndrome aneuploidy. *Prenat Diagn* 2001; 21:547-549.
21. **Crandall BF, Hanson FW, Keener S, Matsumoto M, Miller W.** Maternal serum screening for -fetoprotein, unconjugated oestriol and human chorionic gonadotropin between 11 and 15 weeks of pregnancy to detect fetal chromosome abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 1864-1869.
22. **Palomaki GE, Knight GJ, Mccarthy JE, Haddow JE, Donhowe JM.** Maternal serum screening for Down syndrome in the

- United States: a 1995 survey. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 1046-1051.
23. **Sabriá J, Cabrero D, Aleixandre RN, Vila I, Bach C.** Cribaje bioquímico y bioquímico ecográfico de las cromosopatías en el primer trimestre. Falsos positivos. *Prog Diag Prenat* 1999; 11:20-26.
24. **Wøjdemann KR, Larsen SO, Shalmi A, Sundberg K, Christiansen M, Tabor A.** First trimestre screening for Down's syndrome and assisted reproduction: no basis for concern. *Prenat Diag* 2001; 21: 563-565.
25. **Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Kennard A.** Maternal serum screening for Down's syndrome: the effect of routine ultrasounds can determination of gestational age and adjustment for maternal weight. *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99: 51-53.
26. **Reynolds T, Penney M, Hughes H.** Ultrasonic dating of pregnancy results in significant errors in Down syndrome screening which may be minimised by use of biparietal diameter based means. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 872-879.
27. **Wald NJ, Densem JW, Smith D, Klee GG.** Four-marker serum screening for Down's syndrome. *Prenat Diag* 1994; 14:707-716.
28. **Cuckle HS, Iles RK, Sehmi K, Chard T, Oakey RE, Davies S, Ind T.** Urinary multiple marker screening for Down's syndrome. *Prenat Diag* 1995; 15:745-751.
29. **Niemimaa M, Suonpaa M, Perheentupa A, Seppala M, Heinonen S, Laitinen P, Ruokonen A, Ryyanen M.** Evaluation of first trimestre maternal serum and ultrasound screening for Down's syndrome in Eastern and Northern Finland. *Europ J Hum Genet* 2001; 9: 404-408.
30. **Wald NJ, Kennard A, Hackshaw AK.** First trimester serum screening for Down's syndrome. *Prenat Diag* 1995; 15:1227-1240.
31. **Haddow JE, Palomaki G, Knight G, Williams J, Miller WA, Johnson A.** Screening of maternal serum for Down's syndrome in the first trimester. *N Engl J Med* 1998; 338:955-961.
32. **Forest JC, Massé J, Rousseau F, Moutquin JM, Brideau Na, Bélanger M.** Screening for Down's syndrome during the first and second trimesters: impact of risk estimation parameters. *Clin Biochem* 1995; 28: 443-449.