

# Pruebas bioquímicas en sangre materna para la identificación de fetos con riesgo de defectos cromosómicos y complicaciones asociadas al embarazo

DONATELLA GERULEWICZ-VANNINI,<sup>a</sup> ÉDGAR HERNÁNDEZ-ANDRADE<sup>b</sup>

## RESUMEN

La determinación de marcadores bioquímicos en sangre materna en el primer y/o segundo trimestre del embarazo, permite seleccionar mujeres con un mayor riesgo de alteraciones cromosómicas fetales. Es aplicable a todas las embarazadas independientemente de su edad y al combinar sus resultados con los hallazgos de ultrasonido, la tasa de detección puede llegar a ser mayor de 70%. Estas pruebas aplicadas a mujeres mayores de 35 años disminuyen el número de procedimientos invasivos y el riesgo de pérdida para los fetos sanos. Los valores alterados de cada uno de estos marcadores, pueden también sugerir la existencia de otras patologías fetales, particularmente alteraciones estructurales, del riesgo de parto pretérmino o muerte fetal, así como del riesgo materno de desarrollar complicaciones inherentes al embarazo como la preeclampsia.

**PALABRAS GUÍA:** Diagnóstico prenatal, marcadores séricos maternos, alteraciones cromosómicas, complicaciones asociadas al embarazo.

## INTRODUCCIÓN

La prevalencia de alteraciones cromosómicas es de aproximadamente 1 en 500 embarazos y muchos de estos fetos llegarán vivos al final del embarazo.<sup>1</sup> Para estas alteraciones no hubo posibilidad de diagnóstico prenatal hasta la década de los años 70, cuando se introdujo en la práctica clínica la amniocentesis para la realización del cariotipo fetal. Este procedimiento, por ser en aquella época un procedimiento costoso y riesgoso, se reservaba para aquellos embarazos con mayor riesgo de

cromosomopatía fetal, particularmente en las mujeres mayores de 35 años de edad. Sin embargo, el mayor número de niños con alteraciones cromosómicas nacía de mujeres de menor edad, las cuales estaban desprovistas de cualquier posibilidad de diagnóstico prenatal.

Con la observación de Merkatz<sup>2</sup> de la disminución de la alfa-feto proteína en sangre materna en los embarazos con fetos con síndrome de Down (SD) se inició la era del tamizaje bioquímico y con ella la posibilidad de individualizar el riesgo de alteraciones cromosómicas fetales aplicable a mujeres de todos los rangos de edad.

Desde entonces, han surgido siempre dudas sobre los beneficios que esta detección prenatal puede ofrecer; sin embargo, actualmente muchas mujeres y parejas solicitan esta información, tanto si desean o no actuar en base en los resultados, lo que hace que estas pruebas bioquímicas, y por ende no invasivas, sean cada día más justificadas y utilizadas.

<sup>a</sup> Departamento de Reproducción Humana, Hospital Sant Pau/Fundació Puigvert, Barcelona, España.

<sup>b</sup> Departamento de Medicina Fetal, Instituto Nacional de Perinatología, México, D. F. y Unidad de Medicina Fetal, Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Universidad Autónoma de Barcelona, España

### Correspondencia:

Dr. Edgar Hernández-Andrade, Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario Materno Infantil Vall d'Hebron, Pg Vall Hebron 129-139, 08035 Barcelona, Tel.: (+ 34 93) 489-3190, Fax: (+ 34 93) 489-3083.  
Correo electrónico: edherman@vhebron.net powerdoppler@hotmail.com

Recibido: 13 de junio de 2005.

Aceptado: 5 de septiembre de 2005.

## MÉTODOS

Se realizó una búsqueda en la base de datos *PubMed*, combinando las siguientes palabras clave: alteraciones cromosómicas, feto, tamizaje bioquímico, gonadotropina coriónica, estriol, proteína plasmática asociada al embarazo, alfa-feto proteína, inhibina, pruebas bioquímicas combinadas, síndrome de Down, trisomías 21, 18 y 13, doble, triple y cuádruple marcador y prueba integrada. Se seleccionaron los trabajos de las investigaciones originales de cada uno de los marcadores o de la combinación de ellos, en los cuales se calculó inicialmente su capacidad diagnóstica. Se seleccionaron también trabajos en los cuales el número de sujetos estudiados hiciera más robusta la prueba sugerida y se analizaron los trabajos en los que a pesar de tener un número adecuado de casos, hayan tenido resultados discordantes de los previamente reportados.

### Alfa feto proteína (AFP)

La AFP es la proteína más abundante en el feto y es análoga a la albúmina en el adulto. Es sintetizada sucesivamente en el saco vitelino y el hígado fetal. Los genes que codifican para su síntesis se localizan en el brazo largo del cromosoma 4.<sup>3</sup> Su producción máxima se alcanza entre las 13-14 semanas de gestación (concentración en sangre fetal 2-3 g/L). La AFP es normalmente secretada hacia el líquido amniótico, donde su concentración alcanza 1% de los valores en sangre fetal. AFP además, atraviesa la barrera placentaria por lo que también puede medirse en sangre materna. Diversas condiciones patológicas como los defectos abiertos del tubo neural, onfalocele, gastrosquisis, bandas amnióticas, desprendimiento de placenta y hemorragias fetomaternas, así como la realización de procedimientos invasivos, entre ellos la amniocentesis, la cordocentesis y la biopsia de vellosidades coriales, aumentan la concentración de AFP sérica materna.<sup>4</sup> En algunas raras condiciones, a la elevación de la AFP puede contribuir también su producción por fuentes maternas; así, Goldberg y cols.<sup>5</sup> informaron la elevación de AFP en presencia de un carcinoma

hepatocelular en una mujer embarazada. Además, los valores elevados de AFP en sangre materna pueden tener una alta relación con riesgo de muerte fetal.<sup>6</sup> Valores bajos de la concentración materna de AFP (0.5-0.8 MOM) se asocian a la presencia de alteraciones cromosómicas fetales (ACF); pero también han sido reportados por Chodirker y cols.<sup>7</sup> en cinco casos de síndrome de Williams. Estos estudios indican que ante la presencia de valores anormales de AFP, se debe realizar una valoración completa de la madre y del feto.

La asociación de AFP con ACF fue descrita inicialmente por Cukle y cols., en 1984,<sup>8</sup> quienes además propusieron un método para calcular el riesgo fetal de síndrome de Down (SD), combinando los valores séricos maternos de AFP con el riesgo basado en la edad materna. Sus resultados motivaron la realización de un estudio multicéntrico que determinara la eficacia de la medición rutinaria de la AFP sérica materna en embarazadas menores de 35 años, ya que para la época, a las de mayor edad se les realizaba directamente amniocentesis para determinar el cariotipo fetal. En este estudio, llevado a cabo en Inglaterra entre 1986 y 1987, en 77,273 mujeres se concluyó que al utilizar como punto de corte el riesgo que tiene una mujer de 35 años de ser portadora de un feto con SD (1:270) se pueden detectar 25% de los fetos afectados en mujeres menores de 35 años con una tasa de procedimientos invasivos (TPI) de 5%.<sup>9</sup>

### Gonadotropina coriónica

La gonadotropina coriónica (hCG, por sus siglas en inglés) es una glucoproteína compuesta por una subunidad alfa (sub- $\alpha$ ) de 92 aminoácidos (a.a.) idéntica a la de las hormonas LH, FSH, TSH y ACTH, y por una subunidad beta (sub- $\beta$ ) de 145 a.a., única de esta hormona y por ende la que le confiere su especificidad biológica. Estas subunidades están unidas entre sí por fuerzas iónicas e hidrofóbicas. Los genes que codifican para la producción de la sub- $\alpha$  se localizan en el cromosoma 6 y para la sub- $\beta$  en el cromosoma 19.<sup>10</sup>



Esta glucoproteína es sintetizada fundamentalmente por el sincitiotrofoblasto; sin embargo, otros tejidos como el hepático y el renal fetal, la hipófisis y los tumores de células germinales también la producen. La hCG proveniente de la hipófisis materna se encuentra por debajo del nivel mínimo de detección de las pruebas de diagnóstico y vigilancia del embarazo.

Luego de su síntesis placentaria, la hCG es liberada hacia el espacio intervelloso, desde el cual pasa a la circulación materna. Posteriormente, la molécula de hCG sufre un proceso de degradación metabólica hasta llegar a su producto final de secreción: el fragmento  $\beta$ -core, que es eliminado por el riñón. Sólo 22% de la hormona intacta aparece en la orina.<sup>11</sup> La hCG estimula la función del cuerpo lúteo, la diferenciación del cito al sincitiotrofoblasto, la esteroidogénesis adrenal fetal y placentaria, y la síntesis de testosterona por el testículo fetal.

La utilidad de esta hormona en la detección de ACF fue puesta de manifiesto en 1987, cuando Bogart y cols.<sup>12</sup> al reportar su elevación en sangre materna en embarazos con fetos con SD, sugirieron que su medición podía detectar hasta 76% de estos casos con una TPI de 4%. Desde entonces hCG se ha asociado a AFP en la identificación de ACF, constituyendo la prueba doble o doble marcador. En el año de 1989, Petrocik y cols.<sup>13</sup> mencionaron que la determinación de la subunidad beta (hGC- $\beta$ ) podría incrementar aún más la tasa de detección (TD) que tenía la molécula completa, lo cual fue confirmado un año más tarde por Macri y cols.,<sup>14</sup> quienes alcanzaron una TD para ACF de hasta 80%. Diversos estudios desde entonces han mencionado que la determinación de la hGC- $\beta$  es más efectiva que la de la molécula completa.<sup>15-17</sup> La sub- $\alpha$  no tiene la misma utilidad debido a su falta de especificidad.<sup>18</sup>

La hCG-hiperglucosilada, conocida también como antígeno trofoblástico invasor (ATI) es una variante de la molécula intacta de hCG sintetizada únicamente por la placenta, que presenta cadenas trirramificadas de tetrasacáridos unidas a sus cadenas glucoproteicas. Sus valores se encuentran elevados ante la presencia de ACF, por lo que buscando

determinar su sensibilidad para la detección de estas condiciones Cole y cols.<sup>19</sup> alcanzaron una TD de 80% midiendo los niveles de ATI en orina materna corregidos de acuerdo con la concentración de creatinina. Al combinar estos valores con otros datos, este mismo grupo de investigadores reportó TD aún mayores. Así, la combinación de ATI con fragmento  $\beta$ -core en orina, con valores de AFP en suero materno y edad materna, alcanza una TD de 90% con una TPI fija de 5%,<sup>20</sup> y al combinar ATI con datos obtenidos del estudio ecográfico, como la longitud del húmero y el pliegue nuchal, la TD se elevó a 91% con una TPI menor a 5%.<sup>21</sup> ATI parece así ser una nueva alternativa con alta tasa de detección para fetos con riesgo de cromosomopatías.

### **Fragmento beta-core ( $\beta$ -core)**

El fragmento  $\beta$ -core, producto final de la degradación de la hCG, está formado por dos cadenas polipeptídicas unidas por cuatro puentes disulfuro. Es detectable en la orina materna desde la semana ocho hasta el final del embarazo. La asociación de valores aumentados de fragmento  $\beta$ -core con ACF, ha mostrado resultados contradictorios con TD de 30% a 80%.<sup>22</sup> Una de las razones de esta variación parece ser el tiempo y las condiciones de almacenamiento de las muestras. La variación puede llegar a ser de 25% en la misma muestra evaluada en distintos tiempos. Se deben realizar más estudios para validar al fragmento  $\beta$ -core como un marcador confiable de ACF. Otros autores han señalado una relación significativa entre valores aumentados del fragmento  $\beta$ -core en el segundo trimestre y la presencia de restricción en el crecimiento intrauterino y/o preeclampsia.<sup>23</sup>

### **Estriol no conjugado ( $E_3^c$ )**

El estriol ( $E_3$ ) es un estrógeno sintetizado por la placenta a partir del 16-hidroxisulfato de dehidroepiandrosterona (16-OH-DHEA-S) de origen fetal. Aproximadamente 90% del  $E_3$  pasa a la circulación materna, donde se puede detectar desde la semana nueve de gestación a una concentración aproximada de 0.05 ng/mL, y aumenta progresivamente

hasta alcanzar 10 a 30 ng/mL al término del embarazo. El  $E_3$  tiene una vida media de 20 a 30 minutos. Al llegar al hígado materno es conjugado a través de una glucoronil-transferasa para aumentar su solubilidad, permitiendo su eliminación con la orina y la bilis. En plasma materno,  $E_3$  se encuentra en 91% en su forma conjugada y sólo en 9% en forma no conjugada ( $E_3^{nc}$ ).<sup>24</sup>

La reducción en los valores de  $E_3^{nc}$  se asocia a deficiencia de sulfatasa placentaria, anencefalia, enfermedad hipertensiva del embarazo, restricción en el crecimiento intrauterino, muerte fetal y SD.<sup>25,26</sup> Es recomendable, por lo tanto, realizar una valoración integral del embarazo en presencia de niveles inexplicablemente bajos de  $E_3^{nc}$  en el segundo y tercer trimestres.

La asociación entre niveles bajos de  $E_3^{nc}$  y ACF fue descrita originalmente por Canick y cols.,<sup>27</sup> en 1988. En ese mismo año, Wald y cols.<sup>28</sup> informaron que los niveles de  $E_3^{nc}$  eran independientes de los valores de AFP, lo que permitía combinarlos junto con hCG y la edad materna como método de selección de fetos con ACF, en el segundo trimestre del embarazo. Esto dio origen a la llamada prueba triple.

### **Inhibina-A (Inh-A)**

Las inhibinas, junto con las activinas, son hormonas glucoproteicas pertenecientes al grupo de los factores transformadores del crecimiento tipo beta (transforming growth factor-beta).

Las inhibinas están compuestas por dos subunidades ( $\alpha$  y  $\beta$ ) unidas a través de puentes disulfuro. Existe un solo tipo de subunidad- $\alpha$  y dos subunidades- $\beta$ , ( $\beta A$  y  $\beta B$ ). Según los tipos de subunidades que se unen entre sí, se distinguen dos tipos de inhibina: la inhibina-A (Inh-A) se forma por la unión de la subunidad- $\alpha$  con la subunidad- $\beta A$ ; y la inhibina B por la unión de la subunidad- $\alpha$  con la subunidad- $\beta B$ . En el embarazo, la Inh-A es producida inicialmente por el cuerpo lúteo y a partir de la semana ocho por el trofoblasto y en menor cantidad por las membranas fetales. La inhibina-B en el segundo trimestre no es producida por la placenta, sino en escasas

cantidades en las membranas y tejidos fetales, pero actúa localmente, sin pasar a la circulación materna y por esto no es útil en el diagnóstico prenatal.<sup>29,30</sup>

Durante el embarazo, los valores séricos maternos de Inh-A presentan dos fases de máxima concentración: la primera, en el primer trimestre en las 8-10 semanas de gestación con valores aproximados de 1.76  $\mu\text{g/L}$ ; y la segunda, a las 36-37 semanas de 5.68  $\mu\text{g/L}$ , disminuyendo radicalmente después del parto. De la degradación de la subunidad- $\beta$  resultan dos fragmentos (pro- $\beta A$  y pro- $\beta B$ ); y de la degradación de la subunidad- $\alpha$ , tres fragmentos (pro- $\alpha$ , pro- $\alpha N$  y pro- $\alpha C$ ). La isoforma pro- $\alpha C$  tiene niveles elevados en sangre y presenta una alta reactividad cruzada con la subunidad- $\alpha$  de la molécula completa en las pruebas de radioinmunoensayo (RIE).<sup>31</sup>

Los primeros estudios que señalaron correlación entre los niveles de Inh-A y ACF utilizaron RIE para su detección; sin embargo, al determinar esta inhibina inmunorreactiva se incluía tanto a la molécula completa, a la subunidad- $\alpha$  libre y a sus fragmentos de degradación, pero era un método sumamente inespecífico. El primer reporte al respecto fue publicado en 1992 por Van Lith,<sup>32</sup> quien tras la medición de esta inhibina inmunorreactiva en mujeres embarazadas con fetos afectados por SD en el segundo trimestre del embarazo, concluyó que al fijar un punto de corte arbitrariamente elegido en 2.4 MoM se podrían detectar 40% de los casos de SD, con 5% de falsos positivos. Así, se consideró por vez primera a la inhibina inmunorreactiva como un posible marcador útil para la detección de fetos portadores de SD en el segundo trimestre del embarazo. Sin embargo, Cukle,<sup>33</sup> poco tiempo después, notó la correlación significativa que guardan los niveles de inhibina con los de hGC y por ende el valor limitado de la inhibina inmunorreactiva en la detección del síndrome de Down, sobre la ya implementada prueba triple.

Entre los años 1995 y 1996 se desarrollaron nuevos métodos de laboratorio capaces de detectar específicamente a la inhibina A, a la inhibina B y a sus subunidades, entre ellos,



la prueba de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, por sus siglas en inglés) y estos métodos fueron nuevamente aplicados para detección de cromosomopatías. Lambert-Messerlian<sup>34</sup> y cols. avalándose en esta nueva tecnología, midieron cada una de las distintas formas bioquímicas circulantes de la inhibina (inhibina total, inhibina A dimérica y al precursor de la inhibina  $\alpha$ , o segmento pro- $\alpha$ C) en el segundo trimestre en el suero materno procedente de mujeres con fetos afectados por SD y determinaron que la inhibina A era la molécula más efectiva para discriminar estos casos, seguida por la inhibina total; concluyendo además que esta molécula podía ser tan buen marcador como la hCG, el marcador que, aislado, era el más efectivo hasta ese momento. Distintos estudios han reportado para la inhibina A tasas de detección de 37, 62 y 70%,<sup>35-37</sup> cuando se utiliza como marcador individual.

Valores aumentados de Inh-A en sangre materna en el segundo trimestre del embarazo se asocian con el desarrollo de restricción del crecimiento fetal, la enfermedad hipertensiva asociada al embarazo y la enfermedad trofoblástica gestacional.<sup>38</sup> Florio y cols.<sup>39</sup> sugieren que Inh-A puede resultar útil en el seguimiento postevacuación del embarazo molar.

#### **Proteína plasmática A asociada al embarazo (PPAE-A)**

La proteína plasmática-A asociada al embarazo (PPAE-A), es una metaloproteasa con peso molecular de 500 kDa, aislada por primera vez por Lin y cols.<sup>40</sup> en la sangre de mujeres embarazadas. El gen que codifica para su síntesis se encuentra en el brazo largo del cromosoma 9. En el embarazo es producida por la placenta y la decidua y secretada al compartimento materno. Recientemente ha sido identificada como una proteasa de la proteína de unión del factor de crecimiento insulinoide-4 (IGFBP-4 proteasa), que actúa en la interfase maternofetal degradando a la IGFBP-4 y por ende incrementando la biodisponibilidad de los factores de crecimiento insulinoideos (IGF) libres en la placenta, promoviendo así la invasión trofoblástica hacia

la decidua materna mediada por el IGF-II, y probablemente modulando la regulación que ejerce el IGF-I sobre la esteroidogénesis y sobre el transporte de glucosa y aminoácidos en las vellosidades placentarias.<sup>38</sup>

La disminución sérica materna de PPAE-A en el primer trimestre del embarazo se asocia a muerte fetal, parto pretérmino y restricción en el crecimiento, diabetes y a la presencia de algunos síndromes génicos como el Cornelia de Lange.<sup>39,41-43</sup> Altos niveles de PPAE-A se asocian a la aparición de enfermedad hipertensiva asociada al embarazo.

PPAE-A es el principal marcador de ACF en el primer trimestre del embarazo. Al combinar la medición de la translucencia nuchal, PPAE-A, hCG- $\beta$  y edad materna, se ha informado de una TD mayor a 80% de casos con síndrome de Down y 62% para anomalías de los cromosomas sexuales.<sup>44</sup>

### **PRUEBAS COMBINADAS PARA DIAGNÓSTICO PRENATAL**

#### **Prueba doble en el primer trimestre del embarazo**

En el primer trimestre la fracción beta de gonadotropina coriónica humana ( $\beta$ -hCG) y la proteína plasmática A asociada al embarazo (PPAE-A) (doble marcador) son los mejores marcadores séricos maternos para la selección de fetos con ACF. Utilizando únicamente PPAE-A, la TD es de 40%, con una TPI de 5%. En conjunto con la edad materna, la sensibilidad aumenta hasta 50% y agregando  $\beta$ -hCG a 60%. En fetos con síndrome de Down,  $\beta$ -hCG se encuentra elevada y PPAE-A reducida; en T-13 y T-18, ambas se encuentran disminuidas. Al combinar marcadores independientes (TN y tamizaje bioquímico) se alcanza una sensibilidad mayor a 85% con 5% de procedimientos invasivos.<sup>45,46</sup>

#### **Prueba doble y triple en el segundo trimestre del embarazo**

La determinación de hCG y AFP en sangre materna ha constituido la llamada prueba doble del segundo trimestre para la identifi-

cación de ACF, la cual ha mostrado una TD de 58-65% con una TPI de 5%.<sup>47</sup> Wald y cols.<sup>48</sup> establecieron posteriormente que los niveles de  $E_3^{nc}$  en plasma materno, eran independientes de AFP y hCG, lo que permitía combinarlos para formar la prueba triple o triple test. Estos autores reportaron una TD de 60% manteniendo una TPI de 5% en mujeres menores de 35 años. Desde entonces, diversos estudios han confirmado la utilidad de la prueba triple en la identificación de fetos con SD. Goodburn y cols.<sup>49</sup> utilizaron un punto de corte de 1:200 y obtuvieron una TD de 75% con una TPI de 4%; los autores hacen notar que la exclusión del  $E_3^{nc}$  hubiera reducido la TD a 52% para la misma TPI. Kellner y cols.<sup>50</sup> usaron un punto de corte de 1:270 y reportaron una TD de 75% con el triple marcador y de 60% con el doble marcador, sin modificar la TPI. Huderer-Duric y cols.<sup>51</sup> describen una TD de 75% con un punto de corte de 1:100 y de 92% con un punto de corte de 1:300; y sugieren que la inclusión de  $E_3^{nc}$  incrementa la TD en 33% y reduce la tasa de procedimientos invasivos. Palomaky y cols.<sup>52</sup> mencionan que  $E_3^{nc}$  es el marcador individual más fuerte en fetos con trisomía 18.

Sin embargo, desde que la prueba triple fue propuesta, la adición del  $E_3^{nc}$  en su eficacia total ha sido cuestionada. Macri y cols.,<sup>53</sup> no encontraron diferencia entre los valores de  $E_3^{nc}$  en fetos con SD y en fetos sanos a la misma edad gestacional y mencionan una correlación entre AFP y  $E_3^{nc}$ , por lo que según ellos, el uso adicional del  $E_3^{nc}$  no mejora la TD. Evans y cols.,<sup>54</sup> reportan una TD similar con la prueba doble y con la prueba triple utilizando puntos de corte de 1:200, 1:270 y 1:350 y sugieren que carece de beneficio la utilización del  $E_3^{nc}$  como un tercer marcador. David y cols.,<sup>55</sup> evaluaron 9,353 pacientes con la prueba doble y 9,311 con la prueba triple, usando un punto de corte de 1:250; y concluyen que la prueba doble representa un mejor método de tamizaje en el segundo trimestre por la reducción de los costos. Si bien no ha habido una clara diferencia entre los beneficios que aporta la adición de estriol no conjugado, actualmente

la prueba triple es el estudio más utilizado para la identificación de ACF.

El análisis de  $E_3$  urinario ha sido últimamente utilizado en conjunto con el fragmento  $\beta$ -core de la hCG para la detección ACF,<sup>56</sup> informándose una TD entre 75% y 80% con una TPI de 5%.

### **Prueba triple en mujeres embarazadas mayores de 35 años**

En este grupo de mujeres la prueba triple ofrece una TD de 90% con una TPI de 25%. El mayor beneficio al aplicarlo en este grupo es la reducción del costo por procedimientos invasivos y en el número de pérdidas fetales relacionadas con el procedimiento. Haddow y cols.,<sup>57</sup> sugieren que la prueba triple es una opción viable para mujeres de 35 años o más, que no quieren someterse de inicio a una amniocentesis diagnóstica.

### **Prueba cuádruple**

En vista de los buenos resultados obtenidos con la medición de Inh-A con el método de ELISA, se ha sugerido incorporarla a la prueba triple como método rutinario de diagnóstico prenatal. Wald y cols.,<sup>58</sup> observaron un aumento en la TD de 59% a 70% con una TPI de 5% cuando se utilizó la prueba cuádruple. Haddow y cols.,<sup>57</sup> señalan que los niveles de Inh-A son 2.10 veces más altos en fetos con SD, y al mantener fija una TPI de 5% se obtiene una TD de 75%. Benn y cols.,<sup>59,60</sup> evaluaron la prueba cuádruple en 22,704 embarazos en el segundo trimestre, y reportaron una TD de 85.8% y una TPI de 8.2%. Los autores sugieren que la prueba cuádruple representa un progreso sobre la ya difundida prueba triple.

Uno de los argumentos más fuertes en contra de incluir a la Inh-A al triple marcador es que se duplica el costo. Sin embargo, hay autores que señalan que el beneficio de detectar más fetos con SD y de reducir la TPI, se refleja en una disminución total de los costos a corto (menor número de procedimientos invasivos) y a largo plazo (menor número de niños nacidos con SD).<sup>61</sup>

Por otra parte, Renier y cols.,<sup>62</sup> plantean que a pesar de que la Inh-A tiene niveles elevados



en sangre de mujeres portadoras de fetos con SD, su utilidad como cuarto marcador es limitada por su alta correlación con la hCG intacta. Lam y cols.,<sup>63</sup> encuentran una correlación de  $r = 0.73$ , ( $p < 0.001$ ) entre Inh-A y hCG en fetos con SD, y concluyen que agregar Inh-A a protocolos con hCG es de escaso valor. La utilidad de Inh-A en la detección de otras cromosomopatías parece ser limitada. A pesar de las opiniones en contra, diversos autores predicen que en el futuro cercano ésta será la prueba más utilizada para la detección de ACF.<sup>64</sup>

### Prueba integral

Wald y cols.,<sup>65,66</sup> han sugerido una prueba integral que incluye hCG- $\beta$ , PPAE-A y medición de la translucencia nuchal en el primer trimestre y hCG- $\beta$ , AFP y  $E_3^{nc}$  en el segundo trimestre del embarazo. Utilizando un punto de corte de 1:120, el autor reporta una TD de ACF de 85% con una TPI de 0.9%; o alternatively, una TD de 94% manteniendo fija una TPI de 5%. Además, al compararla con la prueba doble en el primer trimestre, la combinación de prueba doble y TN en el primer trimestre y la prueba cuádruple, refieren que esta prueba integral es el método más efectivo y seguro para el cálculo de riesgo en aquellas mujeres controladas desde el primer trimestre.<sup>67</sup>

Maymon y cols.,<sup>68</sup> señalan que la principal ventaja de esta prueba integral es la disminución en la TPI. Sin embargo, Canini y cols.,<sup>69</sup> reportan resultados contradictorios entre las pruebas del primero y segundo trimestre, y sugieren además, que no informar a los padres de los resultados obtenidos en el primer trimestre puede tener consecuencias éticas al no ofrecer las ventajas de una posible

terminación temprana del embarazo. Además, el tiempo entre las determinaciones es por lo menos de seis semanas, en las cuales la angustia de los padres aumenta.

Benn y cols.,<sup>70</sup> señalan que el cálculo del riesgo para ACF en el primer trimestre utilizando TN, PPAE-A y bien  $\beta$ -hCG o hCG, seguido por la realización de prueba cuádruple (AFP,  $E_3^{nc}$ , Inh-A y hCG- $\beta$  o hCG total) en el segundo trimestre (sólo en aquellas pacientes en las cuales el cálculo del riesgo no orienta de manera definitiva en la toma de una decisión), puede alcanzar tasas de detección de hasta 91%, con falsos positivos de 2.1%. Los autores mencionan que con este esquema, más de 60% de los fetos afectados serán ya detectados en el primer trimestre, requiriendo del cálculo de riesgo en el segundo trimestre menos de 20% de las embarazadas.

### CONCLUSIÓN

Toda mujer embarazada debe tener al menos la determinación de una prueba combinada de marcadores bioquímicos antes de la mitad del embarazo para la identificación de alteraciones cromosómicas fetales. La decisión de cuál prueba realizar debe basarse en la edad gestacional, recursos, experiencia en el asesoramiento y en las preferencias de cada paciente. La ventaja adicional de estos marcadores es que se pueden asociar al riesgo de presentar diversas complicaciones durante el embarazo. En presencia de valores anormales de cada marcador se debe realizar una evaluación minuciosa de la madre y del feto. Dos puntos requieren aún más estudio: la utilización de marcadores en embarazos múltiples y la evaluación de marcadores en orina materna.

## ABSTRACT

Maternal serum screening for chromosomal abnormalities in the first and second trimester of pregnancy, offers the possibility to identify cases with an increased risk for fetal chromosomal defects. The combination of the serum screening and ultrasound findings increases the detection rate for fetal chromosomal abnormalities up to 85%. This screening can be applied to all pregnant women disregarding their age, and in women over 35 years of age, the detection rate can reach 90%, thus reducing the number of invasive procedures and the related risk of miscarriage. Abnormal values of each individual biochemical marker can also be associated with several fetal structural abnormalities, growth restriction, preterm delivery or stillbirth and, in the mother to the risk of developing preeclampsia.

**KEY WORDS:** *Prenatal diagnosis, chromosomal abnormalities, maternal serum biochemistry, pregnancy-associated complications.*

## REFERENCIAS

1. Nicolaides KH. Screening for fetal chromosomal abnormalities: need to change the rules. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1994; 4: 353-4.
2. 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: 886-94.
3. Nikolic JA. Synthesis, structure and function of alpha-fetoproteins and their importance in medicine. *Glas Srp Akad Nauka [Med]* 1992; 42: 57-73.
4. Sebire NJ, Spencer K, Noble PL, Hughes K, Nicolaides KH. Maternal serum alpha-fetoprotein in fetal neural tube and abdominal wall defects at 10 to 14 weeks of gestation. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104: 849-51.
5. Goldberg I, Hod M, Katz I, Friedman S, Ovadia J. A case of hepatocellular carcinoma in pregnancy detected by routine screening of maternal alpha-fetoprotein. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1991; 70(3): 241-2.
6. Chandra S, Scott H, Dodds L, Watts C, Blight C, Van Den HM. Unexplained elevated maternal serum alpha-fetoprotein and/or human chorionic gonadotropin and the risk of adverse outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 775-81.
7. Chodirker BN, Greenberg CR, Giddins NG, Dawson AJ, Evans JA, Chudley AE. Low MSAFP levels and Williams syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 72(4): 448-50.
8. Cuckle HS, Wald NJ, Lindenbaum RH. Maternal serum alpha-fetoprotein measurement: a screening test for Down syndrome. *Lancet* 1984; 1(8383): 926-9.
9. Combining maternal serum alpha-fetoprotein measurements and age to screen for Down syndrome in pregnant women under age 35. New England Regional Genetics Group Prenatal Collaborative Study of Down Syndrome Screening. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 575-81.
10. Jameson JL, Hollenberg AN. Regulation of chorionic gonadotropin gene expression. *Endocr Rev* 1993; 14: 203-21.
11. Kato Y, Braunstein GD. Beta-core fragment is a major form of immunoreactive urinary chorionic gonadotropin in human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 1197-201.
12. Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987; 7: 623-30.
13. Petrocic E, Wassman ER, Kelly JC. Prenatal screening for Down syndrome with maternal serum human chorionic gonadotropin levels. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 16: 1168-73.





14. Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Cook EJ, Moore ND, Young JA et al. Maternal serum Down syndrome screening: free beta-protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163 (4 Pt 1): 1248-53.
15. Milunsky A, Nebiolo LM, Bellet D. Maternal serum screening for chromosome defects: human chorionic gonadotropin *versus* its free-beta subunit. *Fetal Diagn Ther* 1993; 8: 221-4.
16. Norgaard-Pedersen B, Alfthan H, Arends J, Hogdall CK, Larsen SO, Pettersson K et al. A new simple and rapid dual assay for AFP and free beta hCG in screening for Down syndrome. *Clin Genet* 1994; 45: 1-4.
17. Wenstrom KD, Owen J, Chu DC, Boots L. Free beta-hCG subunit *versus* intact hCG in Down syndrome screening. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 370-4.
18. Leuvering JH, Goverde BC, Thal PJ, Schuurs AH. A homogeneous sol particle immunoassay for human chorionic gonadotrophin using monoclonal antibodies. *J Immunol Methods* 1983; 60: 9-23.
19. Cole LA, Shahabi S, Oz UA, Rinne KM, Omrani A, Bahado-Singh RO et al. Urinary screening tests for fetal Down syndrome: II. Hyperglycosylated hCG. *Prenat Diagn* 1999; 19: 351-9.
20. Bahado-Singh RO, Oz U, Kovanci E, Cermik D, Flores D, Copel J et al. New triple screen test for Down syndrome: combined urine analytes and serum AFP. *J Matern Fetal Med* 1998; 7: 111-4.
21. Bahado-Singh R, Oz U, Shahabi S, Omrani A, Mahoney M, Cole L. Urine hyperglycosylated hCG plus ultrasound biometry for detection of Down syndrome in the second trimester in a high-risk population. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 889-94.
22. Cuckle HS, Canick JA, Kellner LH. Collaborative study of maternal urine beta-core human chorionic gonadotrophin screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1999; 19: 911-7.
23. Lee IS, Chung DY, Cole LA, Copel JA, Isozaki T, Hsu CD. Elevated serum nicked and urinary beta-core fragment hCG in preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 889-92.
24. Lindberg BS, Johansson ED, Nilsson BA. Plasma levels of nonconjugated oestrone, oestradiol-17beta and oestriol during uncomplicated pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1974; 32: 21-36.
25. Schleifer RA, Bradley LA, Richards DS, Ponting NR. Pregnancy outcome for women with very low levels of maternal serum unconjugated estriol on second-trimester screening. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1152-6.
26. Newby D, Aitken DA, Howatson AG, Connor JM. Placental synthesis of oestriol in Down's syndrome pregnancies. *Placenta* 2000; 21: 263-7.
27. Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95: 330-3.
28. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Canick JA, Haddow JE, et al. Maternal serum unconjugated oestriol as an antenatal screening test for Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95: 334-41.
29. Wallace EM, Riley SC, Crossley JA, Ritoe SC, Horne A, Shade M, et al. Dimeric inhibins in amniotic fluid, maternal serum, and fetal serum in human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 218-22.
30. Riley SC, Leask R, Balfour C, Brennand JE, Groome NP. Production of inhibin forms by the fetal membranes, decidua, placenta and fetus at parturition. *Hum Reprod* 2000; 15: 578-83.
31. Wallace EM, Harkness LM, Burns S, Liston WA. Evaluation of maternal serum immunoreactive inhibin as a first trimester marker of Down's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; 41: 483-6.
32. Van Lith JM, Pratt JJ, Beekhuis JR, Mantingh A. Second-trimester maternal serum immunoreactive inhibin as a marker for fetal Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1992; 12: 801-6.

33. Cuckle HS, Holding S, Jones R. Maternal serum inhibin levels in second-trimester Down's syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1994; 14: 387-90.
34. Lambert-Messerlian GM, Canick JA, Palomaki GE, Schneyer AL. Second trimester levels of maternal serum inhibin A, total inhibin, alpha inhibin precursor, and activin in Down's syndrome pregnancy. *J Med Screen* 1996; 3: 58-62.
35. Spencer K, Wallace EM, Ritoe S. Second-trimester dimeric inhibin-A in Down's syndrome screening. *Prenat Diagn* 1996; 16: 1101-10.
36. Wallace EM, Swanston IA, McNeilly AS, Ashby JP, Blundell G, Calder AA, et al. Second trimester screening for Down's syndrome using maternal serum dimeric inhibin A. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996; 44: 17-21.
37. Wenstrom KD, Owen J, Chu DC, Boots L. Elevated second-trimester dimeric inhibin-A levels identify Down syndrome pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 992-6.
38. Sun IY, Overgaard MT, Oxvig C, Giudice LC. Pregnancy-associated plasma protein A proteolytic activity is associated with the human placental trophoblast cell membrane. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5235-40.
39. Bersinger NA, Groome N, Muttukrishna S. Pregnancy-associated and placental proteins in the placental tissue of normal pregnant women and patients with preeclampsia at term. *Eur J Endocrinol* 2002; 147: 785-93.
40. Lin TM, Halbert SP, Spellacy WN, Berne BH. Plasma concentrations of four pregnancy proteins in complications of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1977; 128: 808-10.
41. Yaron Y, Heifetz S, Ochshorn Y, Lehavi O, Orr-Urtreger A. Decreased first trimester PAPP-A is a predictor of adverse pregnancy outcome. *Prenat Diagn* 2002; 22: 778-82.
42. Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1762-67.
43. Aitken DA, Ireland M, Berry E, Crossley JA, Macri JN, Burn J, et al. Second-trimester pregnancy associated plasma protein-A levels are reduced in Cornelia de Lange syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1999; 19: 706-10.
44. Spencer K, Tul N, Nicolaides KH. Maternal serum free beta-hCG and PAPP-A in fetal sex chromosome defects in the first trimester. *Prenat Diagn* 2000; 20: 390-4.
45. Avgidou K, Papageorgiou A, Bindra R, Spencer K, Nicolaides KH. Prospective first-trimester screening for trisomy 21 in 30,564 pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 1761-7.
46. Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Brogan K, Cameron AD, Connor JM. First-trimester combined ultrasound and biochemical screening for Down syndrome in routine clinical practice. *Prenat Diagn* 2004; 24: 774-80.
47. Spencer K. Second trimester prenatal screening for Down's syndrome using alpha-fetoprotein and free beta hCG: a seven-year review. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 1287-93.
48. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal screening for Down's syndrome. *J Med Screen* 1997; 4: 181-246.
49. Goodburn SF, Yates JR, Raggatt PR, Carr C, Ferguson-Smith ME, Kershaw AJ, et al. Second-trimester maternal serum screening using alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotrophin, and unconjugated oestriol: experience of a regional programme. *Prenat Diagn* 1994; 14: 391-402.
50. Kellner LH, Weiner Z, Weiss RR, Neuer M, Martin GM, Mueenuddin M, et al. Triple marker (alpha-fetoprotein, unconjugated estriol, human chorionic gonadotropin) *versus* alpha-fetoprotein plus free-beta subunit in second-trimester maternal serum screening for fetal Down syndrome: a prospective comparison study. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1306-9.



51. Huderer-Duric K, Skrablin S, Kuvacic I, Sonicki Z, Rubala D, Suchanek E. The triple-marker test in predicting fetal aneuploidy: a compromise between sensitivity and specificity. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 88: 49-55.
52. Palomaki GE, Haddow JE, Knight GJ, Wald NJ, Kennard A, Canick JA, et al. Risk-based prenatal screening for trisomy 18 using alpha-fetoprotein, unconjugated oestriol and human chorionic gonadotropin. *Prenat Dian* 1995; 15: 713-23.
53. Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Cook EJ, Sunderji SG, Larsen JW. Maternal serum Down syndrome screening: unconjugated estriol is not useful. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 672-3.
54. Evans MI, Chik L, O'Brien JE, Chin B, Dvorin E, Ayoub M, et al. MOMs (multiples of the median) and DADs (discriminant aneuploidy detection): improved specificity and cost-effectiveness of biochemical screening for aneuploidy with DADs. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 1138-47.
55. David M, Merksamer R, Israel N, Dar H. Unconjugated estriol as maternal serum marker for the detection of Down syndrome pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 1996; 11: 99-105.
56. Kellner LH, Canick JA, Palomaki GE, Neveux LM, Saller DN, Jr., Walker RP et al. Levels of urinary beta-core fragment, total oestriol, and the ratio of the two in second-trimester screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1997; 17: 1135-41.
57. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Foster DL, Neveux LM. Second trimester screening for Down's syndrome using maternal serum dimeric inhibin A. *J Med Screen* 1998; 5: 115-9.
58. Wald NJ, Densem JW, George L, Muttukrishna S, Knight PG. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker. *Prenat Diagn* 1996; 16: 143-53.
59. Benn PA, Fang M, Egan JF, Horne D, Collins R. Incorporation of inhibin-A in second-trimester screening for Down syndrome. *Obstet Gynecol* 2003; 101: 451-4.
60. Benn PA. Advances in prenatal screening for Down syndrome: II first trimester testing, integrated testing, and future directions. *Clin Chim Acta* 2002; 324: 1-11.
61. Wenstrom KD, Owen J, Chu D, Boots L. Prospective evaluation of free beta-subunit of human chorionic gonadotropin and dimeric inhibin A for aneuploidy detection. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 887-92.
62. Renier MA, Vereecken A, Van Herck E, Straetmans D, Ramaekers P, Buytaert P. Second trimester maternal dimeric inhibin-A in the multiple-marker screening test for Down's syndrome. *Hum Reprod* 1998; 13: 744-8.
63. Lam YH, Tang MH. Second-trimester maternal serum inhibin-A screening for fetal Down syndrome in Asian women. *Prenat Diagn* 1999; 19: 463-7.
64. Lambert-Messerlian GM, Canick JA. Clinical application of inhibin-A measurement: prenatal serum screening for Down syndrome. *Semin Reprod Med* 2004; 22: 235-42.
65. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999; 341: 461-7.
66. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Rudnicka A. SURUSS in perspective *BJOG* 2004; 111: 521-31.
67. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Rudnicka A. SURUSS in perspective (double dagger). *Semin Perinatol* 2005; 29: 225-35.
68. Maymon R, Bergman M, Segal S, Dreazen E, Weinraub Z, Herman A. Sequential first and second trimester screening tests: correlation of the markers' levels in normal *versus* Down syndrome-affected pregnancies. *Prenat Diagn* 2001; 21: 1175-7.
69. Canini S, Prefumo F, Famularo L, Venturini PL, Palazzese V, De Biasio P. Comparison of first trimester, second

trimester and integrated Down's syndrome screening results in unaffected pregnancies. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 600-3.

70. Benn P, Wright D, Cuckle H. Practical strategies in contingent sequential screening for Down syndrome. Prenat Diagn 2005; 25 (8): 645-52.

