

A. Fortuny^{a,c}
 M.T. Farré^a
 A. Borrell^{a,c}
 E. Casals^{b,c}
 I. Mercadé^b
 A. Serés^a
 V. Cararach^{a,c}

^aUnitat de Consell Reproductiu i Diagnòstic Prenatal. Institut de Ginecologia, Obstetrícia i Neonatologia. Hospital Clínic de Barcelona. Seu Maternitat. Barcelona. ^bServicio de Bioquímica Clínica. Centre Diagnòstic Biomèdic. Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona. ^cFundació Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques A. Pi Suñer. Barcelona. España.

Estudio realizado en parte con subvención del Fondo de Investigaciones Sanitarias 1993-1994. Expediente 93/0702.

Correspondencia:

Dra. M.T. Farré.
 Major, 17. 25331 Tornabous. Lleida. España.
 Correo electrónico: 30393mfl@comb.es

Fecha de recepción: 9/3/04

Aceptado para su publicación: 6/5/04

Cribado bioquímico y ecográfico de aneuploidía fetal en el segundo trimestre de la gestación

Biochemical and ultrasonographic screening for fetal aneuploidy in the second trimester of pregnancy

RESUMEN

Objetivo: Estudio de la efectividad del cribado bioquímico y ecográfico en el segundo trimestre de la gestación para la detección prenatal de trisomía 21 en población de bajo riesgo de aneuploidía.

Método: Estudio prospectivo de intervención de 8.894 gestaciones únicas de bajo riesgo de aneuploidía. Se realizó ecografía y extracción simultánea de sangre materna para determinación de alfafetoproteína (AFP) y fracción β de la gonadotropina coriónica (β -hCG) entre las 14 y 18 semanas. Se consideró como criterio de riesgo para ofrecer amniocentesis una estimación de riesgo superior a 1/270 combinando la edad materna y los valores de marcadores bioquímicos, valores séricos de AFP $\leq 0,4$ múltiplos de la mediana (MoM), de β -hCG $\leq 0,2$ MoM (riesgo de trisomía 18), o pliegue nucal superior al percentil 95 para la edad gestacional.

Resultados: Las tasas de detección para la trisomía 21 fueron las siguientes: 65% para la bioquímica y edad materna (con un 11% de falsos positivos) y 45% para el pliegue nucal (con 5,3% de falsos

positivos). Los resultados obtenidos con la aplicación de los criterios de riesgo proporcionados indistintamente por cualquiera de ambos parámetros, bioquímica o pliegue nucal, mostraron una tasa de detección del 75% con una tasa del 14,9% de falsos positivos.

Conclusión: La aplicación simultánea e independiente de los marcadores bioquímicos (AFP y β -hCG) y del pliegue nucal para la estimación del riesgo de trisomía 21 en el segundo trimestre permitió detectar el 75% de fetos afectados, con una tasa de falsos positivos del 14,9%.

PALABRAS CLAVE

Cribado. Pliegue nucal. Marcadores bioquímicos. Trisomía 21.

ABSTRACT

Objective: To study the effectiveness of biochemical and ultrasonographic screening for trisomy 21 in the second trimester of pregnancy in a low-risk population.

258 Method: We performed a prospective interventional study in 8894 singleton pregnancies at low risk for aneuploidy. Dating ultrasound scan and simultaneous maternal blood sampling for determination of α -fetoprotein (α -FP) and chorionic gonadotrophin (β -hCG) was performed between weeks 14 and 18. The criteria for offering amniocentesis were a biochemical risk of 1/270 or above, serum α -FP levels < 0.4 MoM, β -hCG < 0.2 MoM (risk for trisomy 18), or nuchal fold thickness above the 95th percentile for gestational age.

Results: The detection rates for trisomy 21 were as follows: 65% with the use of biochemical markers plus maternal age (11% false positive rate) and 45% with the use of nuchal fold measurement (5.3% false positive rate). When either of both risk indicators was taken into account, the detection rates rose to 75% with a false positive rate of 14.9%.

Conclusion: Simultaneous or independent use of biochemical markers (α -FP and β -hCG) and nuchal fold measurements to assess risk for trisomy 21 in the second trimester provided a detection rate of 75% with a false positive rate of 14.9%.

KEY WORDS

Screening. Nuchal fold. Biochemical markers. Trisomy 21.

INTRODUCCIÓN

Para el diagnóstico prenatal preciso de aneuploidía fetal es necesaria la obtención de células que permitan el estudio del cariotipo fetal. Debido al coste sustancial y a los riesgos potencialmente asociados a los procedimientos invasivos para la obtención de las muestras, se acepta que dichos estudios deben limitarse a las gestaciones con mayor riesgo de aneuploidía seleccionadas mediante diversos criterios, ya sean de carácter epidemiológico (edad materna), como de otros indicadores como los denominados «marcadores», bioquímicos y ecográficos.

En 1988¹ se describió el cribado bioquímico de la trisomía 21 en el segundo trimestre de la gestación. La combinación de marcadores bioquímicos en suero con la edad materna, en un cálculo de riesgo integrado, permite detectar alrededor del 65% de los fetos afectados de trisomía 21, seleccionando un 5% de gestaciones no afectadas¹⁻⁵, y la aplicación de programas poblacionales de cribado bioquímico han mostrado un claro impacto en la disminución de la prevalencia de trisomía 21 en nacidos vivos^{6,7}.

El pliegue nuchal como marcador ecográfico de aneuploidía de segundo trimestre fue descrito en 1985⁸. Estudios prospectivos y retrospectivos entre las semanas 15 y 20 de gestación, mostraron sensibilidades entre el 40 y el 75% en la detección de fetos afectados de trisomía 21 con una tasa de falsos positivos cercana al 2%⁹⁻¹³.

En 1993 se inició la implementación simultánea del cribado bioquímico y ecográfico de segundo trimestre en la Unidad de Diagnóstico Prenatal del Hospital Clínic de Barcelona, y en el presente estudio se analizan los resultados obtenidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio prospectivo de intervención se realizó entre marzo de 1993 y diciembre de 2001, e incluyó 9.401 gestaciones únicas consecutivas. Se realizó el estudio ecográfico y la extracción de sangre materna en el mismo día y dentro del período entre las 14 y 18 semanas.

El estudio ecográfico se realizó por vía transabdominal (HitachiEUB-415, Hitachi Medical Corporation; Eccocee SSA 340A/EA y Power-Vision 400, Toshiba Medical System, Tokyo, Japan), y la semana de gestación se estableció a partir del diámetro biparietal. La medición del pliegue nuchal se realizó en un corte transversal de la cabeza fetal en el que se observaban tálamos, *cavum* del *septum pellucidum* y cerebelo, y el tejido subcutáneo se valoró en la zona occipital, según la descripción Benacerraf et al⁸. Cuando se confirmó una edad gestacional comprendida entre las semanas 14 y 18,6, se procedió a la extracción de sangre para determinación de los marcadores bioquímicos en suero materno, alfafetoproteína (AFP) y fracción β de la gonadotropina coriónica (β -hCG) (Delfia, PerkinElmer®). Los valores obtenidos se convirtieron en múltiplos de la media-

na (MoM) establecidos previamente por nuestro laboratorio en las gestaciones no afectadas y para las correspondientes semanas de gestación. El cálculo para la estimación de riesgo de trisomía 21 se realizó mediante el software Delfia.

El genetista clínico de la Unidad informó previamente a la gestante del significado del cribado, explicando las limitaciones del estudio y opciones posibles, y obtuvo su consentimiento informado. Una vez obtenido el resultado, al final del proceso se transmitió el resultado informando sobre el significado de éste.

De acuerdo con los criterios preestablecidos en el protocolo de actuación, se ofreció la práctica de amniocentesis o biopsia corial transabdominal en cualquiera de las siguientes eventualidades: riesgo bioquímico estimado superior a 1/270 para edad materna a término, valores aislados de AFP \leq 0,4 MoM, β -hCG \leq 0,2 MoM (como indicadores de trisomía 18) o valores del pliegue nuczal superiores al percentil 95 para la edad gestacional.

Los datos más relevantes en el seguimiento del resultado perinatal en gestantes no atendidas para asistencia obstétrica en nuestro centro se obtuvieron mediante una hoja de seguimiento previamente entregada a la gestante para ser remitida a nuestra unidad. De otro modo, si no se había recibido la hoja de seguimiento una vez finalizada la gestación, la información se obtuvo mediante consulta telefónica.

RESULTADOS

En el período de estudio se realizó el cribado en 9.401 gestantes, de las cuales en 507 (5,4%) no pudo completarse el estudio por distintos motivos. En 301 (3,2%) no se contaba con los datos de bioquímica y en 206 (2,1%) con los del pliegue nuczal, por lo que el grupo de estudio se redujo a 8.894 gestaciones.

La edad materna de la población estudiada estaba comprendida entre los 13 y los 44 años, con una media de 30,8 años. La distribución de la población estudiada y análisis de los resultados en función de los grupos de edad se muestran en la tabla 1. La edad gestacional en la que se realizó el cribado osciló entre las semanas 14 y 18, con una media de 15,3 semanas. Se obtuvieron 1.050 (10,7%) tests positivos para cribado bioquímico y 513 (5,2%) con

Tabla 1 Distribución de las gestantes según grupos de edad

Grupo edad (años)	N	%	Trisomía 21
< 35	6.735	75,7	10 (0,1%)
35-37	2.093	23,5	9 (0,4%)
> 37	66	0,7	1 (1,5%)
Total	8.894		20 (0,22%)

pliegue nuczal aumentado, de acuerdo con los criterios de riesgo previamente establecidos.

En 1.080 de las gestaciones consideradas de riesgo se aceptó la realización de procedimiento invasivo para el estudio del cariotipo basándose en la positividad de cualquiera de los criterios o de la coincidencia de ambos. Los estudios citogenéticos y de seguimiento neonatal revelaron 29 (0,34%) anomalías cromosómicas: trisomía 21 (20), trisomía 18 (3), trisomía 13 (1), triploidía (2), monosomía X (1), deleción del cromosoma 9 (1) y cromosoma *marker* (1). En las tablas 2 y 3 se detallan los resultados del cribado bioquímico y el valor del pliegue nuczal en todas las anomalías cromosómicas.

La tasa de detección para la trisomía 21, con la utilización de la edad materna y los marcadores bioquímicos fue del 65% (13/20), y del 45% con el pliegue nuczal aisladamente (9/20). Con el cribado simultáneo, considerando los tests positivos por uno u otro criterio, la tasa de detección fue del 75% (15/20). Los índices de falsos positivos fueron del 11,0, 5,3 y 14,9%, respectivamente. Las tasas de detección y de falsos positivos distribuidas según grupos de edad se detallan en la tabla 4.

DISCUSIÓN

La utilización de la edad materna avanzada como principal criterio para seleccionar las gestaciones con mayor riesgo de aneuploidía se instauró en los años setenta, coincidiendo con la difusión inicial de la amniocentesis genética como método de diagnóstico citogenético. Este criterio se aplicó de acuerdo con razonamientos de riesgo-beneficio, debido a que esta prueba invasiva conllevaba un riesgo de pérdida fetal cercano al 1%, que coincidía aproximadamente con el riesgo de trisomía 21 en este grupo de edad. Este método de cribado ha mostrado índices de detección para la trisomía 21 entre 25 y

Tabla 2 Resultados del cribado bioquímico y del pliegue nucal en todas las trisomías 21

Casos	Edad materna	Edad gestacional	Riesgo bioquímico	Pliegue nucal	Seguimiento
1	28	14,0	713	3,1	Trisomía 21
2	29	16,4	3.583	3,5	Trisomía 21
3	29	15,1	31*	3,7*	IVE
4	31	14,4	780	3,1	Trisomía 21
5	31	15,5	59*	6,0*	IVE
6	32	14,1	37*	2,6	IVE
7	33	16,5	1.449	5,0*	IVE
8	33	14,6	164*	5,4*	IVE
9	34	15,6	35*	2,1	IVE
10	34	15,1	249*	4,8*	IVE
11	35	15,0	390	2,1	Trisomía 21
12	35	15,2	273	5,4*	IVE
13	35	15,4	114*	7,0*	IVE
14	36	15,1	22*	2,0	IVE
15	36	14,0	71*	3,0	Fallecimiento fetal 18 semanas
16	36	15,4	225*	3,5	IVE
17	36	15,4	64*	4,2*	IVE
18	37	14,5	698	3,0	IVE por canal A-V 20 semanas
19	37	14,6	242*	4,0*	IVE
20	38	14,0	251*	1,6	IVE

IVE: interrupción voluntaria de la gestación.

*Resultados positivos.

Tabla 3 Resultados del cribado bioquímico y del pliegue nucal en otras anomalías cromosómicas

Anomalía cromosómica	Edad materna	Edad gestacional	Riesgo bioquímico	Pliegue nucal	Seguimiento
Trisomía 18	27	14,6	961	15,0*	IVE
Trisomía 18	34	15,1	3.776	6,4*	IVE
Trisomía 18	34	14,0	364	4,3*	IVE
Trisomía 13	31	14,6	7.514	6,9*	IVE
45,X	36	14,1	15*	9,0*	IVE
Triploidía	31	15,1	10.388	2,1	IVE
Triploidía	36	15,6	1.968	2,0	IVE
Cromosoma <i>marker</i>	32	14,5	2.738	2,2	IVE
Deleción del cromosoma 9	32	14,0	219*	1,6	IVE

IVE: interrupción voluntaria de la gestación.

*Resultados positivos.

30% en función de la distribución de edad materna en la población estudiada, asumiendo una tasa de falsos positivos del 5%. Ello permitía, por tanto, detectar sólo entre un tercio y una cuarta parte de los fetos afectados, y se seleccionaron para amniocentesis el 5% de las gestaciones con cariotipo normal en poblaciones de gestantes en las que la proporción con edad de 35 o más años se situaba alrededor del 6-7%. En los últimos años, sin embargo, la proporción de gestantes de edad avanzada ha mostrado un

incremento considerable, de modo particular en poblaciones urbanas. Así, en estimaciones del año 2001, este porcentaje se ha elevado al 21% de la población de gestantes de Cataluña y al 26% para el área metropolitana de Barcelona.

La introducción, a principios de los años noventa, del cribado bioquímico de trisomía 21 demostró mayor precisión en la estimación del riesgo, y además permitió incluir a la población de gestantes más jóvenes. Con esta nueva estrategia se trataba esen-

Tabla 4 Tasa de detección (TD) y falsos positivos (FP) para bioquímica, pliegue nucal y cribado global según grupos de edad

Grupo edad	Global		Bioquímica		Pliegue nucal	
	TD (%)	FP (%)	TD (%)	FP (%)	TD (%)	FP (%)
< 35	70,0 (7/10)	10,1 (737/6325)	60,0 (6/10)	7,0 (441/6325)	50,0 (5/10)	4,9 (316/6325)
35-37	77,0 (7/9)	29,9 (624/2084)	66,6 (6/9)	32,8 (514/2084)	44,4 (4/9)	7,8 (153/2084)
> 37	100 (1/1)	36,9 (24/65)	100 (1/1)	56,1 (23/65)	0 (0/1)	6,6 (5/65)
Total	75,0 (15/20)	14,9 (1385/8874)	65,0 (13/20)	11,0 (978/8874)	45,0 (9/20)	5,3 (474/8874)

cialmente de modular el riesgo epidemiológico de trisomía 21, determinado por la edad materna, y con la introducción en el cálculo de otros índices de probabilidad (*likelihood ratios*), determinados en función de la variaciones en los valores individuales de AFP, de la β -hCG y del estriol no conjugado en suero materno al inicio del segundo trimestre. La predicción inicial basada en modelos matemáticos establecía una tasa de detección del 65% asumiendo un 5% de falsos positivos. Con ello se duplicaban las tasas de detección con relación al criterio previo de la edad materna avanzada, con la realización de prácticamente el mismo número de amniocentesis.

La aplicación del cribado bioquímico de segundo trimestre en los programas poblacionales de intervención bien ejecutados, ha confirmado las expectativas proporcionadas por los estudios retrospectivos y por los modelos de estimación matemática, comprobando que las tasas de detección estimadas se ajustaban a la realidad⁵⁻⁷. La experiencia de 5 años del programa de cribado en Cataluña muestra resultados coincidentes y la aplicación del programa poblacional de cribado de segundo trimestre establecido en Cataluña por la Dirección General de Salud Pública a partir del año 1996, con la aplicación de los marcadores descritos en nuestro estudio, ha puesto de manifiesto un notable aumento en la detección de la trisomía 21, desde el 38 (1992) al 80% (1997)⁷. En Francia, en un amplio estudio poblacional de cerca de un millón de gestantes de edad inferior a los 38 años, se obtuvo una detección del 71% de las trisomías 21, con un 6,4% de falsos positivos⁵. En el estudio belga, realizado en la región de Valonia, la aplicación poblacional supuso el aumento en la detección prenatal de la trisomía 21 del 17 al 56%⁶.

En el programa de cribado de segundo trimestre aplicado en nuestro centro, se utilizaron los 2 marcadores que habían mostrado mayor efectividad en

los modelos matemáticos basados en estudios retrospectivos, (AFP y β -hCG). Asimismo, la experiencia recogida en los 3 estudios poblacionales citados previamente⁵⁻⁷ se basó también en la aplicación de AFP y β -hCG, conocido como «doble test», a diferencia del inicialmente denominado «triple test» cuando además se incorpora el estriol no conjugado.

Los resultados en la presente serie muestran una tasa de detección del 65% (13/20 trisomías 21), con un 11% de falsos positivos. La elevada tasa de falsos positivos viene en gran parte determinada por la distribución de edades maternas en la población estudiada, con la inclusión de un 24,2% de edad superior a 35 años.

El pliegue nucal como marcador ecográfico de segundo trimestre ha mostrado ser más específico (tasa de falsos positivos del 0,1%⁹) que sensible (tasa de detección del 42%). En nuestro centro se inició el estudio de este marcador en el año 1991 y posteriormente se propuso la utilización de un punto de corte (*cut-off*) progresivo, en función de la edad gestacional^{14,15}. En el diseño de nuestro programa de cribado se incorporó la medición del pliegue nucal al cribado bioquímico, ya que las gestantes eran remitidas a la Unidad de Diagnóstico Prenatal al inicio del segundo trimestre de tal modo que, en la ecografía practicada entre las semanas 14 y 18 para datar la gestación, se incluía la medición del pliegue nucal. Con la utilización del percentil 95 para la correspondiente edad gestacional, el pliegue nucal permite detectar el 45% de los fetos afectados de trisomía 21 (con un 5% de falsos positivos). Con la aplicación clínica del cribado bioquímico-ecográfico en el segundo trimestre, se obtiene una detección del 75% de las trisomías 21 con el 15% de falsos positivos. Aunque la tasa de detección es particularmente favorable, la tasa de amniocentesis (retrospectivamente innecesarias) es más elevada que la comúnmente aceptada.

262 En la actualidad existe abundante evidencia acumulada para afirmar que el uso de la edad materna, como criterio único de selección de gestantes, es totalmente inadecuado. Una de las conclusiones adoptadas en el reciente congreso del grupo internacional para el cribado de la trisomía 21¹⁶ es la que concluye que «el uso aislado de la edad materna para valoración del riesgo de síndrome de Down debe ser abandonado». Sin duda, la introducción de los marcadores bioquímicos en suero materno de segundo trimestre ha supuesto una sustancial mejora en la efectividad de los métodos de cribado.

Sin embargo, el progreso ha seguido y la más reciente incorporación del cribado durante el primer trimestre, combinando los marcadores bioquímicos PAPP-A (*Pregnancy Associated Placental Protein-A*) y fβ-hCG (fracción libre de la subunidad beta de la hCG), y ecográficos (translucencia nuchal) se ha mostrado como el método de elección en el futuro inmediato, con lo que el cribado de segundo trimestre

probablemente permanezca en el futuro sólo para los casos en que la primera consulta prenatal se realice más allá del primer trimestre.

En cualquier caso es evidente que, hasta que no se disponga de tests diagnósticos no invasivos, deberemos recurrir a la selección previa de las gestaciones de riesgo con las estrategias que muestren mayor eficacia y contribuyan en mayor medida a minimizar la realización de procedimientos diagnósticos invasivos innecesarios.

CONCLUSIÓN

El cribado del síndrome de Down en el segundo trimestre de la gestación mediante marcadores bioquímicos y ecográficos aplicados en una población con el 24,2% de gestantes mayores de 35 años, permite detectar el 75% de fetos afectados con una tasa de falsos positivos del 14,9%.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Br Med J* 1988;297:883-7.
2. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Pulkkinen A, Canick JA, et al. Prenatal screening for Down syndrome with use of maternal serum markers. *N Engl J Med* 1992;327:588-93.
3. 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;176:1045-51.
4. Roberts D, Walkinshaw SA, McCormack MJ, Ellis J. Prenatal detection of trisomy 21: combined experience of two British hospitals. *Prenat Diagn* 2000;20:17-22.
5. Muller F, Forestier F, Digneon B. Second trimester trisomy 21 maternal serum marker screening. Results of a countrywide study of 854902 patients. *Prenat Diagn* 2002;22:925-9.
6. Verloes A, Gillerot Y, Van Maldergem L, Schoos R, Herens C, Jamar M, et al. Major decrease in the incidence of trisomy 21 at birth in south Belgium: mass impact or triple test. *Eur J Hum Genet* 2001;9:1-4.
7. Prats R, Armelles M, Salleras L, Fortuny A. Catalonia: the effect of the screening and prenatal diagnosis program on Down's syndrome trends. *Down's Screening News* 2002;9:32-3.
8. Benacerraf BR, Barss VA, Laboda L. A sonographic sign for the detection in the second trimester of the fetus with Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151:1078-9.
9. Lynch L, Berkowitz GS, Chitkara U, Wilkins L. Ultrasound detection of Down syndrome: is it really possible? *Obstet Gynecol* 1989;73:267-70.
10. Crane JP, Gray DL. Sonographically measured nuchal skinfold thickness as a screening tool for Down syndrome: results of a prospective clinical trial. *Obstet Gynecol* 1991;77:533-6.

11. Watson WJ, Miller RC, Menard K, Chescheir NC, Katz VL, Hansen WF, et al. Ultrasonographic measurement of fetal nuchal skin to screen for chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:583-6.
12. Granjean H, Sarramon M, and the AFDPHE Study Group. Sonographic measurement of nuchal skinfold thickness or detection of Down syndrome in the second-trimester fetus: a multicenter prospective study. *Obstet Gynecol* 1995;85:103-6.
13. Borrell A, Costa D, Martínez JM, Delgado RD, Casals E, Ojuel J, et al. Early midtrimester fetal nuchal thickness: Effectiveness as a marker of Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:45-9.
14. Borrell A, Costa D, Martínez JM, Delgado RD, Farguell T, Fortuny A. Criteria for fetal nuchal thickness cut-off: a reevaluation. *Prenat Diagn* 1996;17:23-9.
15. Braithwaite J, Morris R, Economides DL. Nuchal translucency measurements: frequency distribution and changes with gestation in a general population. *Br J Obstet Gynecol* 1996; 103:1201-4.
16. International Down's Syndrome Screening Group (IDSSG) Position Statement. *Down's Syndrome News*. London, 2004; 11-6.