

VNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Obstetricia, Ginecología y Pediatría

Relación de los parámetros del cribado
de aneuploidías del primer trimestre con
las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono
en la gestante.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADO POR

Ana María Muñoz Ledesma

[2012]

TESIS DOCTORAL



FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Obstetricia, Ginecología y Pediatría

Relación de los parámetros del cribado
de aneuploidías del primer trimestre con
las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono
en la gestante.

TESIS DOCTORAL
Ana María Muñoz Ledesma
[2012]

Bajo la dirección del Doctor D. Juan Luis Lanchares Pérez.



**UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

**DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA,
GINECOLOGÍA Y PEDIATRÍA.**

Avd^a Alfonso X El Sabio s/n 1 37007 - Salamanca
Tel . (34) 923 294540 Ext. 1851 Fax . (34) 923
294724 dpto.ogyp@usal.es

El Dr. Juan Luis Lanchares Pérez, Catedrático de Obstetricia,
Ginecología de la Universidad de Salamanca,

CERTIFICA que,

La presente Tesis Doctoral, titulada *"Estudio de la relación de parámetros del cribado bioquímico de aneuploidías del primer trimestre con algunas alteraciones del metabolismo de hidratos de carbono en la gestante"*, realizada por **Dña. Ana María Muñoz Ledesma**, licenciada en Medicina y cirugía, se ha desarrollado bajo mi dirección y reúne, a mi juicio, méritos suficientes de originalidad, metodología y rigor científico para que su autora pueda optar con ella al título de Doctor.

Por ello, autorizo la presentación de dicha Tesis Doctoral.

Fdo: Juan Luis Lanchares Pérez

En Salamanca a catorce de junio de dos mil doce.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Dr. Lanchares, director de la tesis, por su disposición, apoyo y ánimo durante la elaboración de esta tesis, así como por su interés y aportaciones decisivas para la misma; y al Dr. Peñalosa, por su involucración inicial y por dirigirme a la persona adecuada, el Dr. Lanchares.

Gracias Rosa por ayudarme en la dura tarea de obtener los datos que dan base a esta tesis. La organización sistemática de la información por su parte ha sido imprescindible. Pero lo más importante de todo, su ayuda siempre ha estado acompañada de una sonrisa y palabras de ánimo. Trabajar contigo es un lujo.

No puedo olvidarme de tantos compañeros que a lo largo de muchos años me han formado como ginecóloga, y me han ayudado a ser lo que soy hoy. Allí estaban siempre dispuestos a echar una mano cuando esbozaba las conjeturas iniciales sobre esta tesis. A pesar de que algunas de sus aportaciones luego no hayan podido ser utilizadas quiero tener una mención especial. Nacho y Ricardo, muchas gracias.

Y, por su puesto, gracias a mi familia. padres y hermanos. Vuestro afecto ha sido motor desde la infancia para llegar hasta aquí, tantas cosas no hubiesen sido posibles sin vosotros!! Gracias por animarme constantemente todos estos años a pesar de la distancia y por vuestro apoyo incondicional. Y un recuerdo muy especial a mi tío Javier Arce, por sus observaciones siempre acertadas en el desarrollo del trabajo.

Y a ti Manete gracias por tu insistencia y ánimo para que hiciese la tesis. Sin ti no lo habría conseguido. Perdona por aguantar mis enfados y malos días en la elaboración de este trabajo. Gracias de corazón y piensa que es nuestro cuarto.

Gracias a mis hijos Javier, Blanca y Nacho por intentar comprender que mamá tenía que trabajar y estudiar en casa. Cuando seáis mayores lo enteréis mejor. Gracias a ti Nacho porque tu nacimiento propició de forma definitiva el acometimiento de esta empresa. La parte mas dura de este trabajo y la revisión bibliográfica fue realizada durante la baja maternal tras tu nacimiento.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

- DM-** Diabetes mellitus
DG- Diabetes gestacional
DMG- Diabetes mellitus gestacional
DPG- Diabetes pregestacional
hPL- Lactógeno placentario
HCG- Gonadotropina coriónica humana
βHCG- Fracción β de la gonadotropina coriónica humana
PAPP-A- Proteína plasmática asociada al embarazo
DHEA- Dehidroepiandrosterona
IGFBP-4- Factor de crecimiento insulinoide 4
IGF- Factores de crecimiento insulinoideos
NDDG- Nacional diabetes data group
GEDE- Grupo Español de Diabetes y Embarazo
SEGO- Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia
AGL- Ácidos grasos libres
GLUT4- Glucosa transporter type 4. Proteína transportadora de glucosa de tipo 4
IRS-1- Insulin receptor substrate 1. Receptor de insulina sustrato 1
PPARG- Peroxisome proliferator-activated receptor gamma. Receptores gamma activados por proliferadores peroxisomales
TNF- Factor de necrosis tumoral (FNT)
ADA- American diabetes association
OMS- Organización mundial de salud
SDR- Síndrome del distress respiratorio
LCG- Linfocitos grandes granulares. Natural Killer
GnRH- Hormona liberadora de gonadotropinas
LH- Hormona luteinizante
FSH- Hormona foliculoestimulante
TN- Translucencia nual
FP- Falsos positivos
HN- Hueso nasal
DV- Ductus venoso
T21- Trisomía 21. Síndrome de Down
T13- Trisomía 13. Síndrome de Patau
T18- Trisomía 18. Síndrome de Edwards
IMC- Índice de masa corporal
LCR- Longitud craneo caudal
RCIU- Crecimiento intrauterino restringido
SOG- Sobrecarga oral de glucosa
OS- Grupo de pacientes con test de O'Sullivan negativo
OS+ Grupo de pacientes con test de O'Sullivan positivo
NODG- Grupo de pacientes sin diabetes gestacional
NOI- Grupo de pacientes sin intolerancia a hidratos de carbono
IDG- Grupo de paciente con intolerancia a hidratos de carbono
-

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	15
2. DIABETES Y EMBARAZO	19
2.1. Etiopatogenia.	25
2.2. Prevalencia e incidencia.	30
2.3. Cribado y diagnóstico.	31
2.4. Complicaciones.	34
2.5. Tratamiento.	35
3. HORMONAS PLACENTARIAS	37
3.1. PAPP-A.	41
3.2. B-hCG.	44
3.3. Marcadores bioquímicos.	46
4. MARCADORES ECOGRÁFICOS	49
5. DISCUSIÓN PREVIA	53
5.1. La diabetes gestacional.	55
5.2. Cribado bioquímico y hormonas placentarias.	57
5.3. Translucencia nucal; pliegue nucal.	61
6. ESTUDIO	63
6.1. Justificación del estudio.	65
6.2. Hipótesis.	66
6.3. Objetivos específicos.	67
6.4. Material y métodos.	68
6.4.1. Diseño del estudio.	68
6.4.2. Obtención y características generales de la muestra.	68
6.4.3. Grupos de estudio.	71
6.4.4. Variables de estudio.	72
6.4.5. Técnicas de determinación analítica y ecográfica de las variables Independientes.	75
6.4.6. Metodología del análisis estadístico.	79
6.5. Descripción estadística de la muestra.	86
6.5.1. Distribución en el par de estudio NODG vs DG.	88
6.5.2. Distribución en el par de estudio NOI vs IDG.	89
6.5.3. Distribución en el par de estudio OS- vs OS+.	89
6.6. Análisis estadístico de la variable PAPP-A.	91
6.6.1. Estadísticos de la variable PAPP-A.	91
6.6.2. Análisis de la PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG.	92
6.6.3. Análisis estratificado de la variable PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG.	93
6.6.4. Estudio de la fuerza de asociación: Análisis bivariante simple de la PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG.	99
6.6.5. Análisis de la PAPP-A en el par de estudio NOI vs IDG.	103

6.6.6. Análisis de la PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+.	104
6.6.7. Análisis estratificado de la variable PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+.	106
6.6.8. Estudio de la fuerza de asociación: Análisis bivariante simple de la PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+.	109
6.7. Análisis estadístico de la variable β -hCG.	111
6.7.1 Estadísticos de la variable β -hCG.	111
6.7.2. Análisis de la β -hCG por pares de estudio.	112
6.7.3. Análisis estratificado de la variable β -hCG en el par de estudio NODG vs DG.	113
6.8. Análisis estadístico de la variable TN (Translucencia Nucal).	117
6.8.1 Estadísticos de la variable TN.	117
6.8.2. Análisis de la TN por pares de estudio.	118
6.8.3. Análisis estratificado de la variable TN en el par de estudio OS- vs OS+.	119
7. HALLAZGOS DEL ESTUDIO Y CONCLUSIONES	123
7.1. Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional (par de estudio NODG vs DG).	125
7.1.1 Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en función de la edad de la gestante como variable clínica.	126
7.1.2. Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en función del peso de la gestante como variable clínica.	127
7.1.3. Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en gestantes con prueba bioquímica en la semana 13.	128
7.1.4. Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en gestantes de más de 70Kg con prueba bioquímica en la semana 13.	129
7.2. Asociación de la PAPP-A con la intolerancia a la glucosa (par de estudio NOI vs IDG).	132
7.3. Asociación de la PAPP-A con un resultado positivo en la prueba de despistaje (par de estudio OS- vs OS+).	133
7.4. Asociación de la β -hCG con las condiciones objeto de estudio.	134
7.5. Asociación de la TN con las condiciones objeto de estudio.	135
7.6. Conclusiones.	136
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es la alteración metabólica que más frecuentemente se asocia con el embarazo. Aproximadamente un 1% de las mujeres embarazadas presentan DM antes de la gestación y entre un 1-12%¹ dependiendo de la estrategia diagnóstica empleada, presentará DM en el transcurso del embarazo².

La diabetes gestacional (DG) es una intolerancia de los hidratos de carbono o disminución de su tolerancia, que aparece o se diagnostica durante la gestación independientemente de su tratamiento, del grado del trastorno metabólico y de su persistencia postparto².

Aproximadamente el 10% de las diabéticas embarazadas son pregestacionales y el 90% gestacionales³. La mayoría de estas pacientes son mujeres con predisposición genética o metabólica a la diabetes, incapaces de compensar de forma adecuada los efectos diabetógenos del embarazo.

Los efectos diabetógenos del embarazo son producidos por tres factores fundamentales:

- 1.- RESISTENCIA A LA INSULINA, compensada por un aumento de la secreción pancreática de insulina. Esta resistencia se relaciona con la presencia del lactógeno placentario (hPL) en la segunda mitad de la gestación, junto con otras hormonas hiperglucemiantes como cortisol, prolactina, progesterona y estriol, además de otras hormonas contrainsulares, que provocan un aumento de la degradación placentaria y renal de la insulina. Todo ello crea un estado de hiperglucemia e hiperinsulinemia compensatoria.
- 2.- AUMENTO DE LA LIPÓLISIS; los lípidos se transforman en ácidos grasos libres y glicerol. Los ácidos grasos no atraviesan la placenta, pero sí lo hacen el glicerol y los cuerpos cetónicos.
- 3.- ALTERACIONES DE LA GLUCONEOGÉNESIS; se produce una activación de la gluconeogénesis intrahepática y la aminogénesis renal, lo que puede llevar a estados de franca hipoglucemia, pues disminuye la glucemia y los aminoácidos plasmáticos.

La placenta se comporta como un verdadero órgano endocrino, elaborando dos tipos de hormonas polipeptídicas y esteroideas. Algunas de estas hormonas son utilizadas para el cribado bioquímico de aneuploidías del primer trimestre. Estas hormonas son la β -HCG -gonadotropina coriónica humana- y la PAPP-A -proteína plasmática asociada al embarazo- que son glicoproteínas sintetizadas por el sincitiotrofoblasto y parece que pueden participar en el metabolismo de los hidratos de carbono:

- 1.- La β -HCG promueve la síntesis de esteroides por medio de la inducción de su precursor DHEA. Los esteroides tienen influencia en el metabolismo de los hidratos de carbono, pues son hormonas contrainsulares que provocan hiperglucemias con su hiperinsulinismo compensatorio⁴.
- 2.- La PAPP-A es una proteasa de la proteína de unión del factor de crecimiento insulinoide-4 (IGFBP-4 proteasa) que actúa en la interfase materno-fetal degradando

a la IGFBP-4 y, como consecuencia, incrementa 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^{5,6}.

Descrito esto, podemos ver la relación que puede existir entre estas hormonas placentarias medidas en el cribado bioquímico de aneuploidías del primer trimestre y el metabolismo de los hidratos de carbono.

El *screening* de diabetes gestacional se realiza en la 24 semana cuando se inicia el periodo catabólico del embarazo. Teniendo en cuenta que el cribado bioquímico se realiza en el primer trimestre, estudiaremos los valores de las hormonas placentarias en las mujeres gestantes que desarrollan en el segundo trimestre de la gestación alguna alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono.

Si existiese una fuerte correlación, se podría predecir en el primer trimestre -periodo anabólico para el metabolismo de los hidratos de carbono- aquellas mujeres con riesgo de sufrir diabetes gestacional.

La respuesta insulínica está incrementada en la gestante a través de los cambios metabólicos que se producen como consecuencia de algunas hormonas placentarias como el cortisol, los estrógenos, los progestágenos y el lactógeno placentario. En la primera parte de la tesis revisaremos las funciones de las hormonas placentarias, hablaremos de cribado bioquímico y ecográfico de aneuploidías y describiremos la posible participación de las variables de estos cribados en el metabolismo de los hidratos de carbono en la gestante.

En la segunda parte del trabajo científico, desarrollaremos el estudio estadístico que nos ayudará a evaluar el grado de asociación entre los parámetros bioquímicos y ecográficos ante los factores de riesgo descritos en el desarrollo de diabetes gestacional, además de aportarnos información adicional sobre las probabilidades de riesgo de padecer la enfermedad.

2. DIABETES Y EMBARAZO

Durante el embarazo se producen importantes cambios en el metabolismo materno, de manera que se favorece una reserva nutricional al inicio de la gestación para favorecer el incremento de las demandas materno fetales de etapas más avanzadas del embarazo.

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica originada por un déficit absoluto o relativo de insulina que impide a las células utilizar correctamente la glucosa. En función del origen fisiopatológico del defecto y de si afecta a la secreción pancreática de insulina, a su acción a nivel periférico, o a ambas, podemos distinguir diferentes tipos de diabetes.

La clasificación clásica de *Priscilla White* (1949), basada en la edad de la paciente, comienzo y duración de la enfermedad, así como en la aparición de algunas complicaciones vasculares en la embarazada, se deriva de la necesidad de conocer, en lo posible, el grado de compromiso vascular para el momento del embarazo, a fin de facilitar la conducta obstétrica en cada caso:

- CLASE A-GESTACIONAL, o pregestacional que se controla con dieta, de cualquier tiempo de evolución y aparición a cualquier edad. El 90% de la diabetes en el embarazo. No signos diabetógenos fuera del embarazo. Se caracteriza por curva de tolerancia a la glucosa por lo general poco alterada y al pasar el embarazo desaparecen
- CLASE B- Preexistente al embarazo, APARICIÓN DESPUES DE LOS 20AA, con menos de 10 años de evolución.
- CLASE C- Preexistente al embarazo, APARICIÓN ENTRE LOS 10-19 AA, o evolución de 10 a 19 años.
- CLASE D- APARICIÓN ANTES DE LOS 10 AA, y más de 20 años de evolución.
- CLASE R- RETINOPATÍA PROLIFERATIVA.
- CLASE F- NEFROPATÍA CON PROTEINURIA superior a 500mgs/día.
- CLASE RF- cumple los criterios R y F.
- CLASE H- ENFERMEDAD CARDIACA ARTERIOSCLERÓTICA.
- CLASE T- TRASPLANTE RENAL PREVIO.
- [Las clase de la B a la R son el otro 10% de las diabética embarazadas].

Hoy en día se ha avanzado mucho en el diagnóstico del bienestar fetal, madurez pulmonar, cuidados neonatales y manejo de la propia diabetes. Estos avances hacen que en la actualidad esta clasificación no sea de gran ayuda; sin embargo, es la más usada y aceptada para definir la gravedad de cada caso en particular.

Priscilla White describe su clasificación pronóstica basándose en la edad del comienzo de la patología, la duración del trastorno y las complicaciones. El defecto más grande de esta clasificación es que no contempla la inestabilidad metabólica, que es el principal factor pronóstico en la gestante diabética insulino dependiente. En 1985, *Freinkel* modifica la clasificación de *White* así:

- CLASE A- DIABETES GESTACIONAL; A1 glucemias en ayunas < 105 mg/dl; A2 glucemias en ayunas entre 105 y 129 mg/dl (intolerante)
- CLASE B- glucemias en ayunas > 130 mg/dl; B1 si el diagnóstico es la primera vez (DMG); B2 inicio después de los 20 años y evolución menor de 10 años, persistiendo entre los embarazos (DM II)
- CLASE C-D-F-H-R: corresponde a los DM I y DM II

A pesar de que el concepto de diabetes gestacional (DMG o DG) como lo entendemos actualmente data de 1979, las primeras referencias que nos constan son del siglo XIX (*Bennewitz* 1824, *Duncan* 1882), y antes de 1979 ya se habían publicado estudios de cribaje, diagnóstico y mortalidad perinatal (*Hoet* 1954, *Wilkerson* 1957, *O'Sullivan* y *Mahan* 1964, *Pedersen* 1967, *Mestman* 1971). En la actualidad, la DMG se define como la intolerancia a la glucosa de gravedad variable con inicio o primer reconocimiento durante la gestación. Este concepto fue incluido en la clasificación diagnóstica de la diabetes mellitus (DM) por el *National Diabetes Data Group* (NDDG) en 1979 (NDDMG 1979), y por la *Organización Mundial de la Salud* (OMS) en 1980 (WHO 1985).

La clasificación publicada por la *Nacional Diabetes Data Group* (NDDG) y refrendada por la Organización mundial de la salud (OMS) en 1980-1985 se basaba en la combinación de distintos parámetros, manifestaciones clínicas, patogénesis y tratamiento. Así se obtenían dos tipos de paciente las a que conformaban la categoría clínica y las conformaban una categoría de riesgo estadístico. En 1995 la Asociación Americana de Diabetes (ADA) creó un comité de internacional de expertos creando modificaciones a la tabla de la NDDG y actualizándola según los nuevos conocimientos.

Según el *Nacional Diabetes Data Group* (NDDG) la diabetes mellitus se clasifica:

- 1.- DIABETES TIPO I o insulino dependientes.(Ia inmune, Ib idiopática)
- 2.- DIABETES TIPO II o no insulino dependientes.
- 3.- TIPOS ESPECIFICOS:
 - Defectos genéticos en la función de la célula beta:
 - Tipo MODY.
 - Por transmisión de DNA mitocondrial.
 - Defectos genéticos extrapancreáticos.
 - Enfermedades pancreáticas exocrino.
 - Endocrinopatías, infecciones congénitas.

- Tóxicos o fármacos.
- Síndromes genéticos.

4.- DIABETES TIPO III o DIABETES GESTACIONAL, en el que se centra el presente estudio.

Entendemos por diabetes gestacional (DG) a toda diabetes mellitus (DM) diagnosticada por primera vez durante la gestación, independientemente de su tratamiento y evolución posterior. Es decir la DG es la intolerancia a los hidratos de carbono o disminución de la tolerancia que aparece o se diagnostica durante el embarazo ⁷

Así, desde el punto de vista práctico existen dos DM en el embarazo:

1.- Inicio durante la gestación, o DIABETES GESTACIONAL; puede estar incluyendo pacientes con diabetes tipo I o II que no han sido diagnosticadas previamente a su embarazo. Existen dos categorías clínicas de diferente severidad, pronóstico y tratamiento:

- Gestacional propiamente dicha (CLASE A DE *WHITE*) Se manifiesta en el 2º o 3er trimestre del embarazo. Se diagnostica por una sobrecarga oral de glucosa de 100 gr alterada, o dos glucemias en ayuno elevadas. Es metabólicamente estable y de mejor pronóstico perinatal.
- Pregestacional no diagnosticada previamente. Se manifiesta precozmente en el embarazo, 1er o 2º trimestre. Presenta hiperglucemias de ayuno postprandiales elevadas en mayor cuantía. Metabólicamente inestable y es de mayor riesgo perinatal.

2.- La preexistente al embarazo actual denominada DIABETES PREGESTACIONAL (DPG). Incluye a todas las pacientes con una diabetes:

- DM TIPO I.
- DM TIPO II.
- Defectos genéticos de las células β : DM tipo MODY o DM de origen mitocondrial.
- Otros tipos de Diabetes.

Por tanto, la definición de la DG está encerrando distintas patologías; por ello, clínicamente es un tema controvertido tanto en el campo de la obstetricia como en el de la diabetes. La DG es el resultado de investigar la tolerancia de la glucosa en mujeres gestantes por otro lado sanas.

En un meta análisis del 2005⁸ la *Cochrane Database* puso de manifiesto, que a pesar de llevar 40 años estudiando esta patología todavía no existe consenso sobre la prevalencia e incidencia, diagnóstico y tratamiento.

Existen dudas de que la hiperglucemia leve, problema metabólico más común, sea responsable de los problemas en el desarrollo fetal atribuidos tradicionalmente a la DG.

En España el consenso se consiguió con la GEDE, *Grupo Español de Diabetes y Embarazo*, formado por distintas entidades, *Sociedad Española de Diabetes* (SED), *Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia* (SEGO) y *Asociación Española de Pediatría* (Sección de Neonatología). Dichos grupos de trabajo han conseguido protocolizar el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la diabetes gestacional, tanto pregestacional como gestacional propiamente dicha.

2.1. ETIOPATOGENIA.

La glucosa es la principal fuente energética fetal. Es transportada por mecanismo de difusión facilitada. Los niveles glucémicos del feto varían en función directa a los niveles glucémicos maternos.

Desde la concepción se inicia el aumento de la utilización de glucosa por parte del feto, alcanzando 6mg/kg/min al final de la gestación⁹. En el embarazo normal parecen asociarse estados de hipoglucemias leves en ayunas, hiperglucemias postprandiales e hiperinsulinemias. Esto pone a prueba la capacidad de la secreción de insulina del páncreas de la gestante para compensar estos diferentes estados metabólicos, pero esta secreción se puede encontrar disminuida por causas genéticas o adquiridas produciendo cifras anormales de glucemia.

Algunas de los cambios metabólicos que se producen durante el embarazo son:

- En relación a la glucosa: un aumento de la utilización de glucosa desde la concepción; por las necesidades fetales.
- En los aminoácidos: son transportados activamente para permitir la síntesis proteica adecuada.
- En los lípidos: pasan como ácidos grasos libres, AGL, y cuerpos cetónicos de acuerdo a niveles plasmáticos maternos. En el primer trimestre aumentan; en el segundo y tercer trimestre el aumento de AGL está relacionado con la insulinoresistencia.
- Con respecto a la insulina: podemos decir que en el transcurso del embarazo las insulinemias postprandiales aumentan progresivamente. En ayunas las insulinemias se elevan desde el segundo trimestre alcanzando cifras hasta un 30% superior al de mujeres no embarazadas¹⁰.
- Durante el embarazo se produce un aumento progresivo de hormonas y citoquinas producidas por la placenta, con distintas funciones:
 - Acción diabetógena leve; producida por: el estrógeno (con aumento del cortisol libre), la progesterona (con aumento de glucosa), la prolactina (que provoca hiperinsulinemia) y el cortisol (que provoca aumento de insulina).
 - Acción diabetógena mayor, es producida por: 1) el lactógeno placentario (hPL) con acción postreceptor (lipólisis materna y aumento de la resistencia periférica por alteración transportador GLUT4); y 2) El factor de necrosis tumoral (TNF), el cual aumenta en el tercer trimestre promoviendo la fosforilación de serina del sustrato del receptor de la insulina (IRS-1) y el incremento de la resistencia a la insulina¹¹.
- Aumento progresivo de los AGL, ácidos grasos libres, lo cual provoca un aumento de insulinoresistencia progresivo en el curso del embarazo.

En la DG se produce un descenso de la función pancreática β -celular, por lo que resulta escaso para las necesidades de la acción insulínica durante la gestación.

Estudios postparto de mujeres con diabetes gestacional han mostrado la existencia de defectos en la respuesta secretora de insulina¹² y un descenso de la sensibilidad de insulina¹³, lo que nos indica la presencia de anomalías del metabolismo de la glucosa características de la diabetes tipo II. Así, en mujeres con diabetes gestacional los cambios hormonales del embarazo pueden desenmascarar una susceptibilidad genética a la diabetes tipo II. Por ello la patogenia es muy similar a la DM tipo II, al producirse un desequilibrio entre la sensibilidad a la insulina y la función de las células β ¹⁴.

El metabolismo materno es *anabólico* en la primera mitad de la gestación, aumentando las reservas orgánicas de glucógeno y lípidos. Se produce un estado de hipoglucemia materna, y una disminución de la insulina y de sus necesidades. En esta etapa los altos niveles de estrógenos facilitan la acción de la insulina.

En la segunda mitad del embarazo se entra en una etapa *catabólica* para responder al aumento de las demandas originadas por el rápido crecimiento fetal. Se produce un incremento de la lipólisis generando un aumento de los ácidos grasos libres metabolizados a cuerpos cetónicos, la fuente de energía fetal. Hay también un aumento de las hormonas hiperglucemiantes, provocando un hiperinsulinismo compensatorio¹⁵.

Existe una situación de aumento de la resistencia periférica a la insulina, a nivel postreceptor, mediado por los altos niveles plasmáticos de hormonas diabetógenas. Este aumento se produce en segunda mitad del embarazo y es máxima en la semana 32. También observamos un aumento de las demandas energéticas y de insulina para producir el aumento corporal. Secundario a la insulinoresistencia aparece una disminución de tolerancia a la glucosa.

La alteración del metabolismo de los hidratos de carbono es especialmente intensa en la segunda mitad del embarazo. En la gestación normal existe una situación de insulinoresistencia compensada por aumento de la secreción pancreática de insulina. Cuando se rompe el equilibrio compensatorio es cuando surge la diabetes gestacional.

En la DG existe una resistencia a la insulina crónica que se suma a la fisiológica^{16,17}. Las causas probables de la resistencia a la insulina son las mismas que las observadas en la población general con alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono. Se han observado los mismos cambios en los mediadores bioquímicos en relación con la obesidad, resistencia insulínica e inflamaciones leves¹⁸. La insulina se sigue produciendo pero se produce una alteración a nivel del receptor o disminución del número de receptores. Los cambios en la sensibilidad a la insulina que se producen desde la concepción y posteriormente en la primera parte del embarazo se relacionaron de manera significativa con los cambios de peso materno y su gasto energético¹⁹. Este mecanismo es similar al de la diabetes tipo 2.

Los estudios sobre músculo esquelético y tejido adiposo han evidenciado la relación entre defectos postreceptor en la cascada de señales de la insulina y el descenso de la sensibilidad de la insulina en el embarazo. Parece haber defectos en la cascada de señales desencadenadas por la insulina durante el embarazo, en adición a otras

alteraciones adicionales en las mujeres con diabetes gestacional²⁰. Todas las embarazadas tenían una disminución en la expresión del sustrato del receptor de insulina-1 (IRS-1). La desensibilización o regulación por disminución de la proteína IRS-1 es paralela a la disminución de la capacidad de la insulina para inducir esa cascada de señales, lo que produce un desplazamiento del GLUT4 a la membrana de la superficie celular, facilitando el transporte de glucosa hacia el interior. La desensibilización o regulación por disminución de la proteína IRS-1 es paralela a la capacidad de la insulina para estimular la recaptación de 2-desoxiglucosa in vitro. Además, las mujeres con DG mostraban un descenso de capacidad de receptor β de la insulina²¹.

Otros casos de DG pueden ser por enfermedad autoinmune o diabetes monogénicas.

En cualquier caso, podemos decir que la DG representa una diabetes en evolución.

Así, en las gestantes diabéticas se ha encontrado un aumento de los factores de inflamación como factor de necrosis tumoral alfa, leptina, proteína C reactiva, un descenso en la concentración de factores antiinflamatorios como la adiponectina y manosa binding lectin (MBL)²², y un aumento de depósito de grasa en hígado y músculo^{23,24}. También se han encontrado alteraciones en los transportadores GLUT4, una disminución en la expresión del receptor PPAR γ , una sobreexpresión de glicoproteínas de membrana tipo 1^{25,26}, y otros cambios que también se detectan en la DM tipo II.

Las variaciones interindividuales en la sensibilidad a la insulina se deben a un importante componente genético, pero además están influenciadas por múltiples factores adquiridos entre los que se incluyen: edad, estado físico, dieta, tratamiento farmacológico, obesidad y distribución corporal de la grasa^{27,28,29}.

La resistencia a la insulina se define como un estado en el que los efectos biológicos de la insulina son menores de los esperados. Donde más se ve representada esta disminución de la función insulínica es en:

- La utilización de glucosa y síntesis de glucógeno por el músculo esquelético,
- La supresión de la producción endógena de glucosa, especialmente por el hígado^{30,31},
- Y la supresión de la lipólisis en el tejido adiposo.

La insulina desencadena diversas respuestas metabólicas pleiotrópicas, uniéndose y posteriormente activando un receptor específico de la membrana plasmática, con actividad tirosina-quinasa³². Los sustratos de este receptor, principalmente las proteínas IRS (*insulin receptor substrate*), son fosforilados en sus residuos de tirosina de forma que servirán como anclaje a proteínas adaptadoras que activarán distintas rutas de señalización.

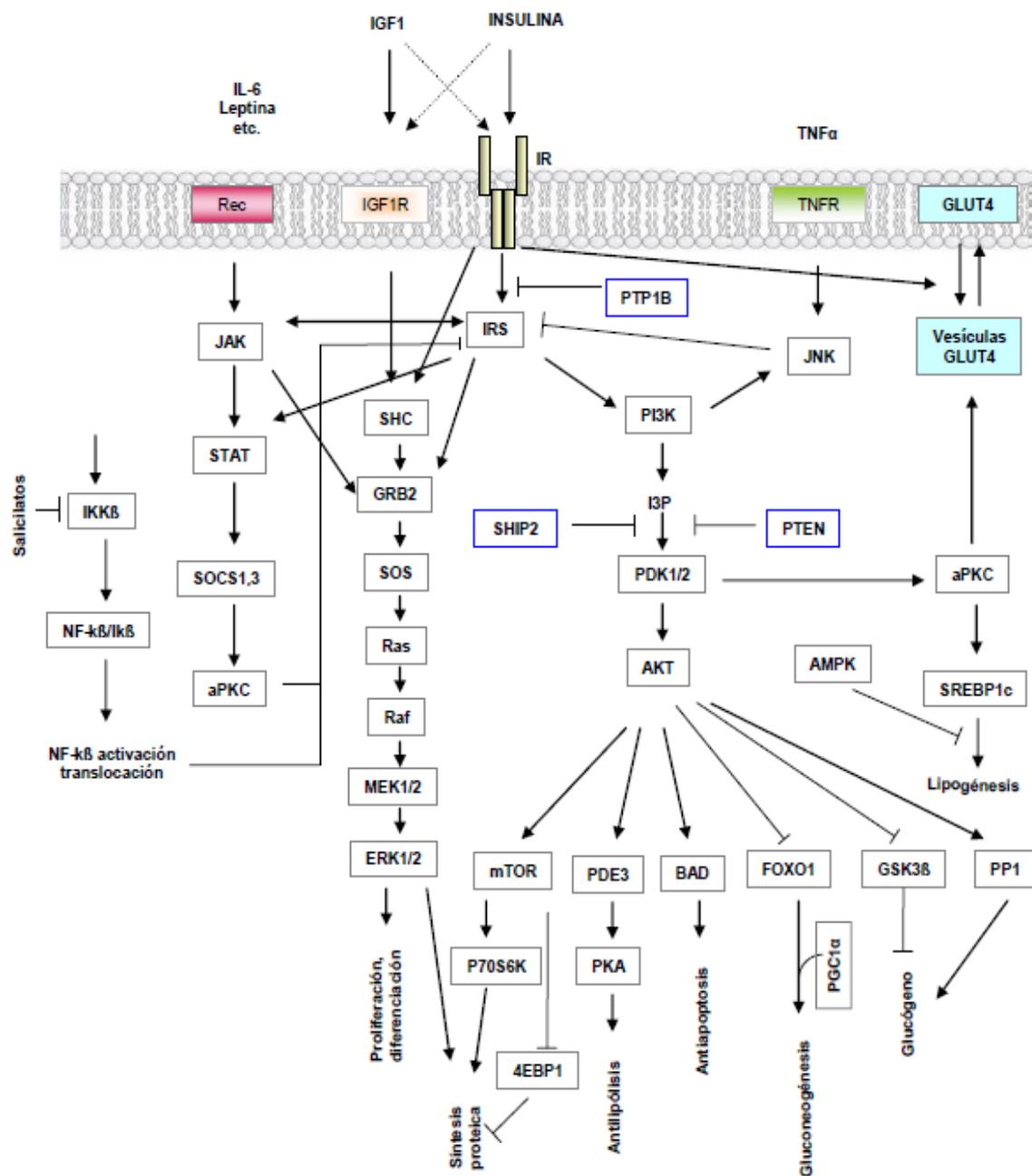
El bloqueo de uno o varios puntos de estas rutas de señalización constituye uno de los mecanismos de resistencia a la insulina. Por ejemplo, los efectos positivos en la señalización ejercidos por la fosforilación de tirosinas del propio receptor y de las proteínas IRS son bloqueados por la defosforilación de las cadenas laterales de tirosinas por tirosina-fosfatasas y por la fosforilación de treoninas y serinas, eventos que normalmente ocurren simultáneamente³³.

Un fallo en la señalización de insulina se puede producir también a través de una internalización o pérdida del receptor de insulina de la superficie celular y por degradación de las proteínas IRS⁴⁴. Los miembros de la familia de proteínas SOCS (*supresor of cytokine signalling*) participan en la degradación de IRS a través de la vía ubiquitin-proteasoma^{34,35}.

Se han descrito numerosas situaciones fisiopatológicas en las que puede producirse un bloqueo de estas rutas de señalización desencadenando algún grado de resistencia a la insulina, como obesidad, procesos inflamatorios o fenómenos de estrés oxidativo. Se especula que el estrés oxidativo parece provocar un aumento de apoptosis celular- β ³⁶.

Todas estas alteraciones en la señalización de la insulina pueden definir el modo en el que se produce la resistencia insulínica en el embarazo, y el mecanismo compensatorio de la mujer gestante a esta situación. Está descrito en la diabetes gestacional un inducción de los genes placentarios por el stress crónico e inflamatorio⁵⁹.

Figura 1: rutas de señalización de la insulina. Fuente: Cai Li, Bei B. Zhan; Merck Research Laboratory, Rahway, NJ, 2007.



2.2. PREVALENCIA E INCIDENCIA.

La incidencia de la DG es muy variable según la población, aunque se estima que tiene una prevalencia similar a una diabetes tipo II.

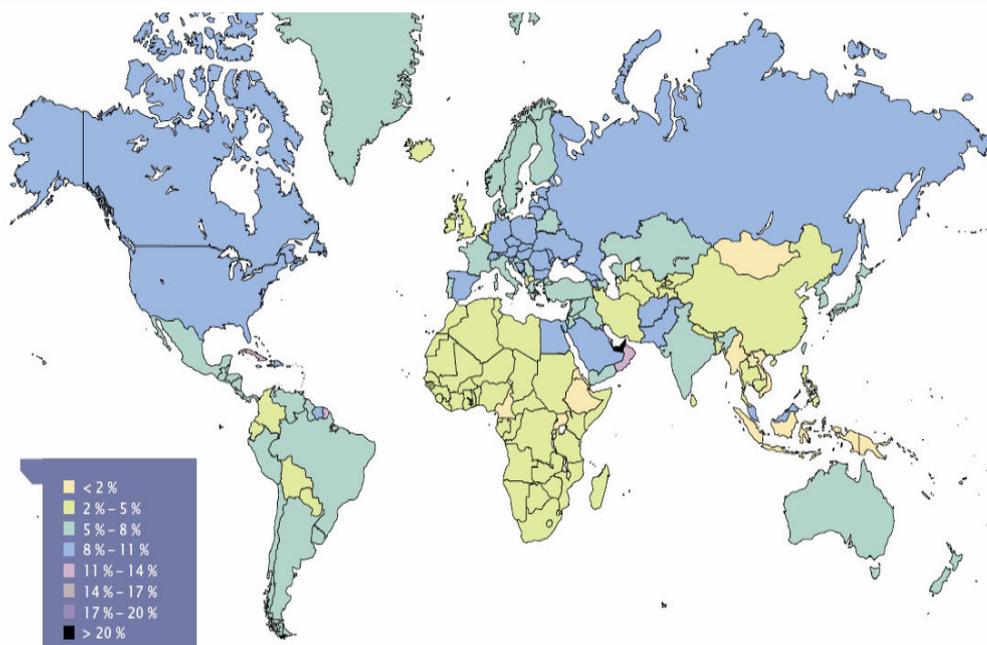
Se estima que la incidencia de la DG oscila entre 1-12% según la GEDE, aunque otros autores³⁷ amplían el rango de un 2-14%, con variaciones importantes entre diferentes áreas, incluso entre zonas aparentemente similares.³⁸

El que se asocie o no a distintos factores de riesgo influye en la incidencia; la etnia, la edad materna y el peso materno parecen ser los factores asociados que más influyen en la incidencia de la diabetes gestacional. Por esa razón la incidencia es variable, dependiendo en gran medida del perfil de las muestras estudiadas. Además de la etnia y la edad materna existen otros factores de riesgo asociados a la aparición de DG como antecedentes familiares de diabetes mellitus tipo II, antecedentes de DG previa y sobrepeso materno³⁹. Otros factores de riesgo son haber presentado en gestaciones previas CIR, macrosomía, aborto espontáneo, polihidramnios y muerte perinatal⁴⁰.

A nivel mundial se estima en la población caucásica una incidencia de un 2-3%⁴¹; por su parte, en la población americana, clasificando según grupos étnicos, se calculó un 0.4% para raza caucásica, un 1.5% para las afroamericanas, un 3-7.5% en las asiáticas, un 4.4% en la raza india y el 16% en las nativas americanas⁴².

La prevalencia de la DG depende, además, de los criterios diagnósticos utilizados, que difieren según los casos.

Figura 2: prevalencia de DM en el mundo. **Fuente:** International Diabetes Federation (<http://www.idf.org/e-atlas/home>).



2.3. CRIBADO Y DIAGNOSTICO.

La DG fue descrita originalmente por *O'Sullivan y Mahan*⁴³ en base a un criterio estadístico que incluía la presencia de dos o más mediciones de glucemia mayores a dos desviaciones estándar sobre la media, realizadas tras una sobrecarga oral de 100 gramos de glucosa, con determinaciones de glucemia en ayuno, a la hora, dos y tres horas post ingesta. De la observación posterior llamó la atención que aquellas pacientes diagnosticadas de esta forma tenían un riesgo aumentado de desarrollar diabetes mellitus tipo II en medio o largo plazo⁴⁴.

En nuestro estudio, el diagnóstico de diabetes gestacional se ha realizado siguiendo el protocolo de la SEGO y GEDE.

En la actualidad se recomienda hacer el cribado de DG mediante el test de O'Sullivan a las embarazadas que no sean diabéticas conocidas entre la semana entre la 24 y 28 de gestación, ya que es el momento de máxima rentabilidad diagnóstica, cuando se manifiestan los efectos diabetógenos del embarazo. El test de O'Sullivan consiste en medir la glucemia en plasma venoso a los 60 minutos de un test de sobrecarga con 50 g de glucosa. Puede realizarse en cualquier hora del día, independientemente de la hora de la última ingesta, pues no precisa ayunas para su realización. Es positivo cuando la glucemia es de ≥ 140 mg/dl o 7.8 mgr/dl y entonces precisa realizar posteriormente la prueba diagnóstico de DG, con sobrecarga oral de glucosa de 100gr⁴⁵. Con valores superiores a 200 mg/dl en el test de O'Sullivan se realiza ya el diagnóstico de diabetes gestacional. La sensibilidad del test de O'Sullivan se estima ente un 71-83% y la especificidad 78-87%.

Otras pruebas utilizadas son la determinación de glucemia basal y de glucemia al azar. Potencialmente son muy sencillas de realizar pero no existen datos concluyentes sobre reproducibilidad, sensibilidad y especificidad⁴⁶.

El diagnóstico de diabetes actualmente se realiza según los criterios de NDDG, con una sobrecarga oral de glucosa de 100gr y determinación de glucemia en plasma venoso (basal y a los 60, 120 y 180 minutos) realizado en la semana 28 de gestación.

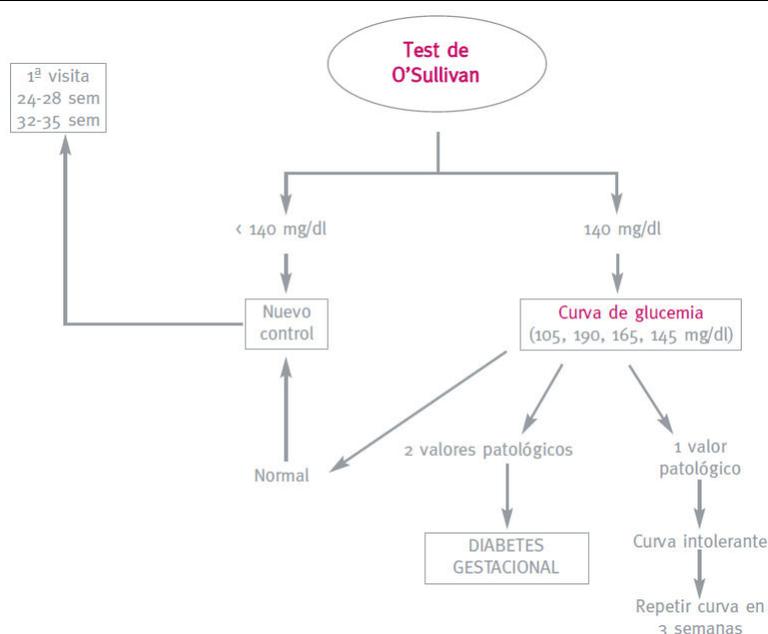
Durante años se discutió cuál era el criterio diagnóstico más eficaz de los descritos por las distintos grupos de trabajo (ADA, OMS, NDDG).

La GEDE estimó la *3th Workshop Conference on Gestacional Diabetes Mellitus*⁴⁷ tras desestimar los criterios de la *4th Workshop- Conference*⁴⁸ y la ADA⁴⁹, que se realizaron posteriormente. Es decir la sobrecarga oral de 100 mgr con los criterios diagnósticos de la NDDG.

Figura 3: cuadro comparativo de los diferentes valores diagnósticos de DG según NDDG, ADA y OMS. **Fuente:** Abizanda, M.; Diabetes y embarazo – Documentos clínicos Semergen.

Glucemia	SOG 100 g*		SOG 75 g**
	NDDG	ADA	OMS
Basal mg/dl	105	95	
1 h mg/dl	190	180	
2 h mg/dl	165	155	140
3 h mg/dl	145	140	

Figura 4: flujograma de diagnóstico de la DG. **Fuente:** Abizanda, M.; Diabetes y embarazo – Documentos clínicos Semergen.

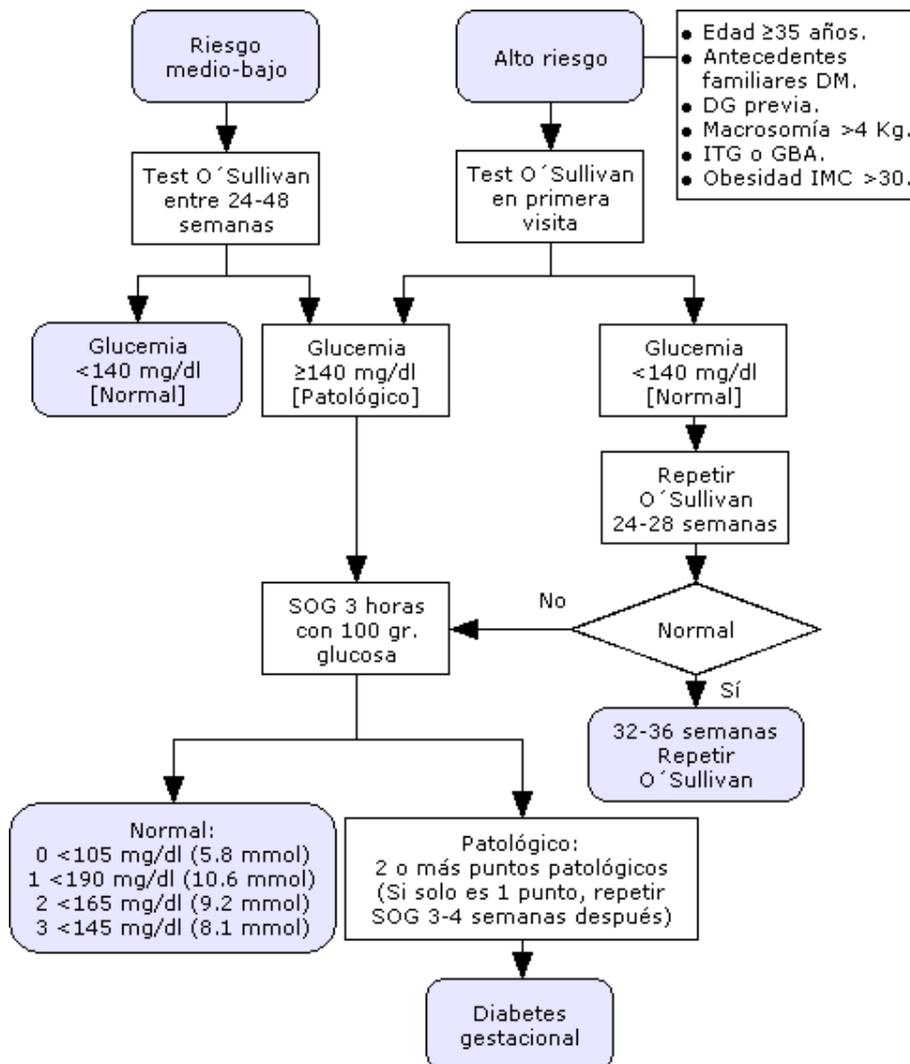


Hoy en día se puede recomendar practicar pruebas de detención en caso de:

- Antecedentes obstétricos adversos (muerte fetal intraútero, abortos, polihidramnios, defectos congénitos, parto pretérmino, macrosomía fetal previa, hipoglucemia o hipocalcemia neonatal).
- Síntomas sugestivos de Diabetes mellitus.
- Hiperglucemia aislada.
- Glucosuria de repetición.
- Antecedentes de infertilidad o diabetes familiar.
- Edad materna avanzada.

- Multiparidad.
- Candidiasis recurrente.
- Obesidad.

Figura 5: algoritmo para el diagnóstico de diabetes gestacional. Fuente: GEDE, 2006.



2.4.COMPLICACIONES.

Las hormonas de la placenta ayudan al desarrollo fetal. A su vez, esas mismas hormonas impiden la acción de la insulina en el cuerpo de la madre. Esto se define como resistencia insulínica de la madre. Esta resistencia impide que la madre use correctamente la insulina que produce, de forma que la glucosa se acumula en la sangre provocando estados de hiperglucemia. La DG en la gestante da lugar a una hiperactividad pancreática, provocando una mayor síntesis de insulina para controlar las glucemias; pero la insulina que se produce no puede disminuir los niveles de glucosa en sangre. La insulina no pasa por la placenta pero sí la glucosa, provocando hiperglucemia fetal. Esta hiperglucemia fetal hace que el páncreas del feto produzca más insulina. Al recibir el feto más energía de la que necesita para el crecimiento, el exceso de energía se convierte en grasa produciendo la macrosomía fetal, descrita en las madres con diabetes gestacional mal controlada.

La diabetes gestacional se asocia con un aumento de complicaciones materno-fetales. Algunos autores han discutido si el "no tratamiento" de mujeres con glucemias no muy elevadas no se asocia con el aumento de la morbimortalidad materno-fetal⁵⁰.

Los objetivos del diagnóstico de la DG son varios⁵¹:

- 1.- Evitar descompensaciones metabólicas en gestantes diabéticas.
- 2.- Evitar que se presenten las complicaciones obstétricas propias de la diabetes: trastornos hipertensivos, amenaza de parto pretérmino, infección de orina, infecciones vaginales e hidramnios.
- 3.- Evitar repercusiones en el embrión, en el feto y en el neonato.

Las repercusiones fetales consisten en alteraciones en la madurez, SDR (síndrome del distress respiratorio), alteraciones del crecimiento -como macrosomía fetal-, retraso de crecimiento o muerte intraútero. La repercusión neonatal consiste en hipocalcemia, policitemia, hiperbilirrubinemia y estados de hipoglucemias neonatal.

La meta para evitar las complicaciones tras el diagnóstico es conseguir un estado de euglucemia. En 2005 se planteó un estudio aleatorizado y otro de cohorte que confirmaban que la ausencia de control en DG aumentaba la mortalidad perinatal.^{52 53}

La hiperglucemia se asocia con malformaciones fetales, especialmente con el sistema nervioso central, como anencefalia o espina bífida; también con alteraciones en el sistema cardiovascular, como la cardiopatía del tipo transposición de los grandes vasos y miocardiopatías. A nivel esquelético se asocia con disgenesia sacra, y también puede producir alteraciones a nivel urogenital y digestivo. En la DG se ha descrito un aumento de las malformaciones fetales de un 3%, pero quizá la complicación más trascendente por su mayor impacto en las posibles complicaciones obstétricas es la macrosomía fetal.

2.5. TRATAMIENTO.

Existe consenso en el tratamiento de la diabetes gestacional. La prescripción de una dieta que limite la ingesta calórica y la práctica de ejercicio físico es la base del tratamiento para mantener glucemias dentro de límites aceptables.⁵⁴

Los objetivos terapéuticos se basan en mantener normoglucemias maternas, evitar estados de cetoacidosis y mantener una ganancia ponderal materna adecuada.

1.- Dieta.

Se aconseja un aporte calórico con una dieta de 35-38Kcal/kg de peso ideal pregestacional al día. La composición global de dicha dieta debe englobar un 45-40% de hidratos de carbonos, un 20% de proteínas, y un 25-30% de grasas preferiblemente monoinsaturadas.

Se recomienda una distribución calórica de 6 ingestas diarias y un ayuno nocturno no superior a 8 horas para evitar estados de hipoglucemias y disminuir cetogénesis.

2.- Ejercicio físico.

Ha demostrado su eficacia; pero debe ser moderado y diario. Evitar ejercicio intenso que aumente la necesidad de consumo de glucosa.

3.- Tratamiento adicional farmacológico.

Cuando a pesar de la dieta y el ejercicio no se consiguen los objetivos del control metabólico será necesario añadir tratamiento adicional. También puede valorarse el caso de macrosomía fetal sugestiva de hiperinsulinismo materno, que podría explicar algunos casos en los que no es suficiente la utilización de dieta controlada y ejercicio moderado.

Existen estudios que avalan los antidiabéticos orales, aunque la mayoría atraviesa la placenta, salvo algunas sulfanilureas como la glibenclamida^{55 56}. La insulina es el fármaco que ha demostrado una mayor reducción de la morbilidad maternofetal cuando se añade al tratamiento nutricional.

La insulina recomendada es la humana de origen biosintético. La ADA no recomienda los análogos de insulina de acción rápida. Normalmente las dosis de insulina requeridas para el control glucémico están entre 0.25 y 0.3 U/Kg de peso/día. Las pautas de dosis múltiples (3 dosis insulina regular y una o dos de insulina intermedia) son las que ofrecen mejores resultados. Se recomiendan controles de glucemias pre y postprandiales tres veces al día, en días alternos.

4.- Control obstétrico.

Se deben realizar revisiones seriadas, con seguimientos por parte del endocrino y del obstetra conjuntamente, valorando el bienestar materno y fetal y el crecimiento fetal armónico.

A los estudios ecográficos habituales se recomienda añadir uno entre la semana 28- 32 para detectar macrosomía fetal. Es decir, que según la SEGO, además de las tres ecografías obstétricas (primer trimestre, eco morfológica de las 20 semanas, eco tercer trimestre), se recomienda una intermedia previa a la de control de crecimiento fetal del tercer trimestre que se realiza sobre la semana 32-34, por lo que la gestante con diabetes gestacional debería tener un mínimo cuatro ecografías obstétricas. Hay que incluir en su estudio ecográfico el ecocardio fetal, para descartar malformaciones cardíacas fetales , especialmente miocardiopatía fetal asociada a la diabetes.

La finalización y la asistencia al parto de estas pacientes no deben diferir de las gestantes sin DG. Sin embargo, deben mantenerse los mismos objetivos de control metabólico intraparto que en la diabetes pregestacional (DPG), por lo que precisan monitorización glucémica, con perfusiones intravenosas de insulina si es preciso.

3. HORMONAS PLACENTARIAS

La placenta es un órgano presente en los mamíferos. Su formación comienza en la segunda semana de la fecundación y alrededor del tercer mes se considera que ha llegado a su forma definitiva, aunque va modificando su crecimiento y grosor.

La implantación del embrión humano se consigue gracias a la acción del sinciotrofoblasto. La actividad de ciertas proteinasas, factores de crecimiento, citocinas y leucocitos uterinos son los que consiguen regular la invasión del endotelio materno por parte del trofoblasto⁵⁷.

Tiene dos porciones; una porción fetal denominada corion frondoso y otra materna o decidua basal. Su función principal es mantener o preservar las necesidades del feto (funciones respiratorias, nutricionales y excretoras). Podemos definir las funciones placentarias como:

- Función de transferencia o intercambios de oxígeno, agua, y principios inmediatos por parte de la madre y, por parte del feto, dióxido de carbono y metabolitos como la urea, que se pueden realizar mediante difusión simple (agua), difusión facilitada (glucosa) y transporte activo (lípidos).
- Función respiratoria; se comporta como pulmón fetal.
- Función endocrina; lo que le confiere la categoría de glándula endocrina, pero incompleta, pues necesita al feto y a veces a la madre para producir los elementos básicos; por ello se llama unidad materno fetal placentaria.
- Función de barrera, al impedir el traspaso de moléculas grandes, pero sí moléculas pequeñas y anticuerpos.
- Función inmunológica.

La producción de hormonas placentarias se lleva a cabo por parte de toda la unidad, sintetizándose hormonas esteroideas y proteínicas polipeptídicas⁵⁸:

1.- ESTEROIDEAS.

- Estrógenos, estrona (E1), estradio (E2), y estriol (E3).
- Gestágenos; progesterona, pregnadiol y pregnantriol.
- Andrógenos.
- Corticoides.

2.- PROTEICAS.

- Gonadotropina coriónica (hCG).
- Lactógeno placentario (HPL).
- Tireotrofina Coriónica (hCT).
- Corticotrofina placentaria (hCC).

- Hormonas liberadoras e inhibidoras placentarias, hormona liberadora de gonadotropina, de corticotrofina, tirotrófina, de hormona de crecimiento, neuropeptido Y, inhibina y actina.
- Proteínas plasmáticas del embarazo.
 - Proteína específica del embarazo (SP1).
 - Proteína plasmática asociada al embarazo (PAPP-A).
 - Proteína placentaria 5 (PP-5).

La función inmunológica es muy importante. Algunos autores definen que la decidua del endometrio es un lugar inmunológicamente privilegiado. La placa basal de la placenta -con la capa de *Nitabuch* (zona de sustancia fibrinoide)- actúa de verdadera barrera, que separa inmunológicamente el medio materno del embrión y sus anejos. Otros estudios avalan que el edema tisular en la zona materna producido por los cambios hormonales son los responsables de la función inmunológica.

En cualquier caso, las hormonas del embarazo preparan a las células deciduales del endometrio para el proceso de aceptación del semialoinjerto. El papel inmunomodulador es producido por la existencia de hormonas, enzimas, factores de crecimiento y proteínas endometriales (gestágenos, HCG, SP1, PAPP-A, ILGF proteasa 4) produciendo todas una acción inmunosupresiva inhibiendo a los linfocitos T⁵⁹.

Los LGG son linfocitos grandes granulares que pertenecen a la estirpe familiar *natural killer*; se encuentran en la decidua y se infiltran en el endometrio y su vascularización en la fase de implantación cuando se produce la invasión trofoblástica. Estas células funcionan como supresoras produciendo factores solubles que dificultan la respuesta linfocitaria dependiente de la interleucina-2 y la elaboración de los linfocitos No-B y No-T.

Es decir, durante la gestación se ponen en entredicho las leyes que rigen el transplante inmunológico, ya que habitualmente el rechazo del embrión no se produce. Juegan un importante papel una serie de elementos y sustancias que inhiben o aíslan la acción de los mecanismos que ponen en marcha el reconocimiento o/y el rechazo de células embrionarias y de sus anejos (hormonas placentarias, migración, *natural killer*, factores génicos, etc.)⁶⁰.

3.1. PAPP-A

La proteína plasmática-A asociada al embarazo (PAPP-A) es una hormona sintetizada por la placenta, una enzima fijadora de zinc que forma parte de la familia de las metaloproteinasas. Fue descrita por *Lin* y colaboradores en 1976⁶¹.

La PAPP-A es la mayor de las glucoproteínas asociadas al embarazo, con un 17% de hidratos de carbono y un peso molecular de 750kDa. El gen que codifica para su síntesis se encuentra en el brazo largo del cromosoma 9. Su forma principal es dimerica y su estructura es idéntica a la α 2-macroglobulina de origen hepático, cuyo función principal es inhibir las proteasas y elastasas granulocitarias⁶².

Se produce principalmente en el sincitiotrofoblasto placentario, y puede ser medida desde la semana 6 hasta la 35, desapareciendo 2-3 días postparto. Algunos autores, como *Bischol* y cols. (1972) ya publicaron que también se podía sintetizar en la decidua, en el plasma seminal, en las células epiteliales de la rete testis y en el líquido folicular.

Actualmente está descrita su existencia en múltiples tejidos y órganos reproductores como las células de la granulosa y el líquido folicular ovárico, en la mucosa de la trompa, en el epitelio cervical, en el endometrio, en el testículo y en el líquido seminal; también está presente en órganos no reproductores como riñón o colon -pero en menor concentración que en la gestación- y en células como osteoblastos y musculares lisas del endotelio vascular^{63 64}.

El tiempo medio de detección en la gestación es alrededor del 33 día postovulación. Su concentración en sangre va aumentando continuamente hasta que la gestación llega a término.

Recientemente ha sido identificada como responsable de la fijación de las proteínas al factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) por lo que inhibe la acción y modula la actividad de los factores de crecimiento similar a la insulina 1 y 2 en varios fluidos biológicos⁶⁵. Más concretamente, se describe 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 e 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.

Esta definición explicaría la teoría subyacente al estudio a realizar. Al disminuir los valores de la PAPP-A disminuye la fijación de las proteínas al factor de crecimiento insulínico y su acción podría inducir un aumento de las glucemias basales provocando la diabetes gestacional.

La función biológica de la PAPP-A en la reproducción es aún desconocida. Algunos autores sugieren que tiene un papel importante en el fenómeno de reconocimiento

molecular asociado al crecimiento y función placentaria. La PAPP-A podría servir para inhibir la respuesta inmune materna hacia el esperma y el óvulo fertilizado⁶⁶ y, cuando la placenta está establecida, la PAPP-A se uniría a las microvellosidades del sincitiotrofoblasto para evitar el reconocimiento inmunológico materno⁶⁷. En la placenta de madres diabéticas se han descrito alteraciones del área y superficie vellositaria, así como proliferación citotrofoblástica con abundantes nudos sincitiales, y trombos y engrosamientos de la membrana basal trofoblástica. Dichos cambios vellositarios se deben a la inmadurez y mal control glucémico.

De nuevo con esta descripción podría explicarse la hipótesis del estudio. Al encontrarse la PAPP-A disminuida, la función de crecimiento modulador e inmunológico de las vellosidades se encuentra alterado, permitiendo la proliferación anómala de las vellosidades. Esta situación anatomopatológica persiste también en la preeclampsia, patología que se asocia también con niveles disminuidos de PAPP-A.

Actualmente se utilizan los niveles anormalmente bajos de PAPP-A en el primer trimestre para el diagnóstico del riesgo elevado de padecer síndrome de Down, observándose también que este marcador se encuentra alterado en otras aneuploidías, tanto autosómicas como sexuales.

Se estima, según distintos estudios publicados, que alrededor de un 70% de trisomías 13 y 18 presenta una concentración de PAAP-A inferior al percentil 5⁶⁸, de forma que una disminución de los valores circulantes se relaciona con una función placentaria anómala.

Distintas publicaciones asocian niveles séricos de PAPP-A bajos con la muerte fetal, la amenaza de aborto, parto pretérmino, crecimiento intrauterino retardado (CIR), diabetes gestacional, desprendimiento de placenta, trastornos hipertensivos del embarazo.⁶⁹

En el año 2002 el grupo de trabajo de *Gordon Smith*, de la *Universidad de Cambridge*, realizó un estudio multicéntrico con 8.839 pacientes, para evaluar la posible asociación entre el riesgo de desarrollar eventos adversos perinatales y su relación con la concentración en suero materno de la PAAP-A en el primer trimestre de embarazo. Mediante un estudio de cohortes prospectivo observaron cómo las mujeres que presentaban valores de PAAP-A por debajo del percentil 5 con edad gestacional 8-14 semanas tenían un riesgo elevado de CIR, parto pretérmino, preeclampsia (OR= 2,9; IC 95%, 1,6-5,5) y fetos muertos.

Este estudio llega a la conclusión de que la concentración de la PAPP-A, como proteína específica del trofoblasto que regula la función IGF, es altamente predictiva de posteriores complicaciones perinatales en la gestación. Esta observación implica que estos eventos adversos que aparecen al final del embarazo pueden ser determinados en el primer trimestre, cuando el control del sistema IGF es crítico para el correcto desarrollo placentario, y que mujeres con alto riesgo de desarrollar complicaciones perinatales, como la preeclampsia, pueden ser identificadas en etapas tempranas del embarazo⁷⁰.

Zwahlen y colaboradores⁷¹, describen una comparación de marcadores placentarios frente a no placentarios en mujeres que posteriormente desarrollaron patología obstétrica, observando una clara asociación de niveles bajos de la PAAP-A con la preeclampsia, y niveles elevados de inhibina A y activina A. Algo similar describió también *Spencer*⁷² y colaboradores en 2008, asociando también los niveles bajos de la hormona con la preeclampsia.

Quizás el estudio más relevante y completo sobre las hormonas placentarias y translucencia nugal asociado a complicaciones obstétricas sea el *FASTER TRIAL* (2004)⁸².

3.2. β –HCG

Es una hormona glicoproteica compuesta por 244 aminoácidos con una masa molecular de 26.7KdA. Es heterodimérica con dos subunidades unidas por enlaces no covalentes. No existe actividad biológica intrínseca de las subunidades separadas. Presenta:

- Una subunidad α idéntica a la de otras hormonas como la LH; FSH, TSH. Un solo gen codifica la subunidad en el cromosoma 6q12-q21
- Una subunidad β , que es única de la HCG; está compuesta por 145 aminoácidos y es codificada por seis genes altamente homólogos que se organizan en parejas invertidas en el cromosoma 19q13.32.

Es producida en la gestación por el embrión en desarrollo después de la concepción y posteriormente por el sincitiotrofoblasto⁷³.

La molécula completa de hCG se sintetiza en el sincitiotrofoblasto, pero es posible que la GnRH que se produce en el citotrofoblasto actúe de forma paracrina a nivel del sincitiotrofoblasto estimulando la secreción de HCG de modo análogo a la estimulación de la liberación hipofisaria de LH por parte de la GnRH hipotalámica. Además, se piensa que la interleuquina 6 que se produce en los trofoblastos también estimula la síntesis de HCG⁷⁴.

La HCG interactúa con el receptor LHCG y promueve el mantenimiento del cuerpo lúteo durante el inicio del embarazo, causando que éste secrete la hormona progesterona. Debido a su carga altamente negativa, la hCG podría repeler las células del sistema inmune de la madre protegiendo así el feto durante el primer trimestre. Se ha planteado la posibilidad de que la hormona podría establecerse como punto de enlace en la placenta para el desarrollo de la inmunotolerancia materna local. De este modo, la hCG podría facilitar la invasión trofoblástica, pues en el momento de la invasión trofoblástica en el endometrio por parte del blastocisto las células trofoblásticas sincitiales secretan gonadotropina coriónica en los líquidos maternos. Además, se relaciona con la diferenciación celular y la proliferación y podría activar la apoptosis⁷⁵.

Los niveles de β -hCG crecen exponencialmente desde el momento de la concepción, y se detecta desde el 6-12 día después de la ovulación. La gestante normalmente logra concentraciones en suero que pueden oscilar entre los 10 y los 50mIU/ml en la semana posterior a la concepción. Los valores máximos de dicha hormona se presentarían entre el segundo y el tercer mes de embarazo, seguido de un descenso y valores muy bajos a las veinte semanas después de la ovulación⁷⁶.

El papel más conocido es el rescate y mantenimiento del cuerpo lúteo, por la producción continua de progesterona. Actualmente el uso de los HCG es amplio:

- Marcador tumoral, ya que la subunidad β es secretada por algunos tumores como seminoma, coriocarcinoma, tumores de células germinales, molas

hidatiformes, teratoma con elementos de coriocarcinoma y tumor de células islotes.

- Fertilidad; es utilizado como inductor de la ovulación en sustitución de LH, hormona luteinizante. También es utilizada como apoyo del cuerpo lúteo para incrementar la producción de progesterona. En hombres se puede utilizar si tienen hipogonadismo para el estímulo de células de *Leyding* y síntesis de testosterona; a su vez, es necesaria para la espermatogénesis de las células de *Sertoli*.
- Pérdida de peso; distintos estudios, controvertidos en algunos casos y con resultados divergentes, valoran su papel y utilidad para provocar pérdida de peso. En la actualidad se desestima su uso y es denegado por la FDA.
- Adyuvante de esteroide anabólico; los esteroides imitan la testosterona natural del cuerpo estimulando el hipotálamo para la producción natural de GnRH, disminuyendo la LH y la síntesis de testosterona. Luego se administra hCG que ayuda a recuperar y mantener la producción de testosterona en los testículos al imitar la LH, provocando la producción y liberación de testosterona.⁷²

Existen varios estudios que establecen la relación de valores de β -hCG con patologías fetales como parto prematuro, preeclampsia, CIR y muerte fetal intraútero. El primero en describir esta asociación fue *Spencer* y cols en 1996⁷⁷.

Niveles bajos de proteínas placentarias en suero materno a las 10-14 semanas pueden ser un marcador de la inadecuada placentación, lo cual explicaría las patologías maternas que se asocian con niveles bajos de hCG.

***Nicolaides* y colaboradores⁷⁸ relacionaron directamente los niveles bajos de β -hCG con diabetes gestacional, describiendo diferencias significativas. Años más tarde se desarrollaron otros estudios sin significación estadística entre niveles de β -hCG con complicaciones perinatales^{79 80}.** Los estudios al respecto son contradictorios al tratar de establecer la relación de los niveles de la β -hCG en el primer trimestre con las múltiples patologías y complicaciones perinatales⁸¹, y menos concluyentes, en cualquier caso, que los que asocian la PAPP-A con dichas complicaciones.

En cualquier caso, la placenta tiene una función endocrina como ya hemos dicho, gracias a la liberación de esteroides que tienen acción hiperglucemiante, bloqueando la acción de la insulina en los órganos diana. Es lo que se define como resistencia insulínica. Por tanto, si las hormonas placentarias se encuentran disminuidas, la relación glucemia insulina que existe en la placenta podría encontrarse alterada también, pues la diabetes gestacional es producida, no por carencia de insulina, sino por los efectos bloqueadores de otras hormonas sobre la insulina que existe.

3.3. MARCADORES BIOQUÍMICOS

Se trata de determinadas sustancias de origen fetal, placentario o feto-placentario cuyas concentraciones en suero materno se modifican en presencia de anomalías cromosómicas o defectos estructurales⁸².

Cabe recordar que la concentración de los mismos varía específicamente para cada marcador y se encuentra en relación con:

- Edad gestacional,
- Número de fetos,
- Masa corporal materna,
- Raza,
- Consumo de tabaco,
- Diabetes insulino dependiente,
- Concepción del embarazo por técnicas asistidas,
- Sexo fetal.

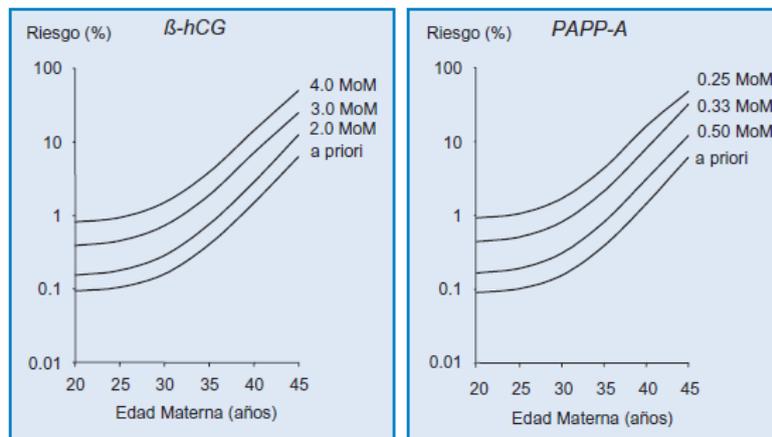
Los mismos se expresan a través del Múltiplo de la Mediana (MoM). Dicho valor se obtiene dividiendo la cifra sérica obtenida, entre la mediana para esa edad gestacional a la que se ha realizado la determinación.⁸³

Se ha demostrado que la β -hCG (fracción libre) y PAPP-A son los más útiles clínicamente en el cribado del primer trimestre, con mayor precisión entre la 9 y 11 semana. Los valores de la PAPP-A tienden a ser más bajos que la mediana de la población no afectada de aneuploidías, alrededor de 0.5 MoM, diferencia que tiende a desaparecer en el segundo trimestre⁸⁴. Al igual que en el segundo trimestre los niveles de β -hCG tienden a ser elevados en la T21, en niveles cercanos a 2 MoM para población euploide, y disminuye en T13 y T18. Los valores de la molécula completa de hCG no tiene el mismo comportamiento que la fracción libre.

El *SCREENING* DEL PRIMER TRIMESTRE, TEST COMBINADO, tiene un sensibilidad entre 80-90% con una tasa de falsos positivos (FP) de un 5% según *Nicolaides*. Si se añade al *screening* ecográfico el marcador del hueso nasal la sensibilidad sube a un 95%, con igual tasa de FP⁸⁵.

La evolución de los marcadores bioquímicos por edad en la trisomía 21 son descritos por *Nicolaides* y *Orlando*⁸⁶ en los siguientes gráficos:

Figura 6: riesgo de trisomía 21 en función de la edad materna a las 12 semanas de gestación (riesgo a priori) y efecto de las concentraciones séricas β -hCG (fracción libre) y PAPP-A. **Fuente:** Nicolaides, Kypros H.; Falcón, Orlando; La ecografía de las 11-13⁶ semanas - Fetal Medicine Foundation, Londres, 2004.



4. MARCADORES ECOGRÁFICOS

Los marcadores ecográficos de cromosomopatías no son propiamente alteraciones fetales, son signos fenotípicos que se observan con más frecuencia en los fetos aneuploides, pero que también están presentes en la población sana.

El grosor de la translucencia nuchal fetal en la ecografía de las 11 semanas se ha combinado con la edad materna para ofrecer un método eficaz de *screening* o cribado para la trisomía 21; con una tasa de técnicas invasivas del 5%, pueden identificarse alrededor del 75% de las trisomías. Si además se consideran la fracción libre de la subunidad beta de la gonadotropina coriónica humana y la proteína A plasmática asociada al embarazo entre las semanas 11 y 13.6, la tasa de detección de anomalías cromosómicas se sitúa entre el 85 y el 90%. En el año 2001 se encontró que en el 60–70% de los fetos con trisomía 21 el hueso nasal no es visible mediante ecografía entre las semanas 11 y 13.6 y que el examen del hueso nasal puede incrementar la tasa de detección de la ecografía del primer trimestre y la bioquímica sérica a más del 95%. Además de su papel en el cálculo del riesgo de trisomía 21, el aumento de la translucencia nuchal también puede identificar un elevado porcentaje de otras anomalías cromosómicas, y se asocia a anomalías mayores del corazón y los grandes vasos y a un amplio espectro de síndromes genéticos.

Otras ventajas de la ecografía del primer trimestre incluyen la confirmación de la viabilidad fetal, el cálculo preciso de la edad gestacional, el diagnóstico precoz de anomalías mayores en el feto y la detección de embarazos múltiples. La ecografía precoz también proporciona la posibilidad de identificar de forma fiable la corionicidad, principal determinante de los resultados perinatales en los embarazos múltiples.

Nicolaides y Falcón describen en el protocolo de la ecografía de la semana 11-13 para la *Fetal Medicine Foundation* en 2004, los siguientes marcadores:

1.-TRASLUCENCIA NUCAL (TN) - Medición de un espacio sonoluscente econegetivo situado en la zona posterior de la nuca del feto; se realiza entre la semana 11-13.6 (LCR 45-84mm) en plano sagital medio y posición neutra fetal, visualizando sólo cabeza (75% pantalla) y tórax. Debe existir una distinción clara entre piel y amnios. Se determina con la medida de la máxima distancia con los calipers sobre las líneas (*on-to-on*).

La sensibilidad es del 75% de cromosomopatías con un 5% de FP, pero también se asocia a otras patologías.

2.-HUESO NASAL (HN) - Se visualiza con un corte sagital medio con el diencéfalo (tálamos) visible. Se realiza entre semana 11-13.6 y se recomienda obtener un 75% de la pantalla ocupada por el feto con una flexión de la cabeza de 45°. En la imagen de la nariz deben aparecer tres líneas distintas. La línea superior representa la piel y la inferior, que es más gruesa y más ecogénica que la piel, representa el hueso nasal.

La sensibilidad es del 65% en T21 con un 2% de FP.

3.- DUCTUS VENOSO (DV) - Corte parasagital derecho, con el feto ocupando el 75% de la pantalla. Se aplica el *doppler* color a velocidad alta y se visualiza una onda que será alterada cuando existe una onda atrial ausente o reversa.

La sensibilidad es del 75% en T21 y 5% de FP.

4.- REGURGITACIÓN MITRAL - Corte apical de cuatro cámaras. Se coloca ventana *doppler* sobre tricúspide incluyendo aurícula y ventrículo derecho. Se detecta insuficiencia si la regurgitación incluye 50% de sístole y mínimo de 60 cm/s.

La sensibilidad es del 50-65% de T21 y 5% FP.

5.- ANGULO FACIAL, FRONTOMAXILAR - Plano sagital medio. Angulo que forma la línea sobre la superficie superior del maxilar y otra con superficie externa del hueso frontal. Ángulo $<85^\circ$ en T21.

La sensibilidad es del 50% de T21.

No existe asociación significativa entre la TN fetal y las concentraciones séricas maternas de β hCG libre y PAPP-A, ni en embarazos normales sin patologías asociadas, ni en aquellos con trisomía 21. Los marcadores ecográficos y bioquímicos pueden combinarse para proveer un método de cribado más eficaz que cualquiera de ellos por separado.

5. DISCUSIÓN PREVIA

5.1. LA DIABETES GESTACIONAL.

Como se ha ido poniendo de manifiesto a lo largo de la exposición previa, la diabetes es una enfermedad metabólica que se caracteriza por elevados niveles de glucosa en sangre, secundaria a una alteración absoluta o relativa de la secreción de insulina y/o a una alteración de la acción de dicha hormona en los tejidos insulino-dependientes.

La diabetes gestacional se produce al disminuir la sensibilidad de los tejidos a la insulina. Esta disminución de sensibilidad es provocado por las hormonas ováricas y placentarias; en respuesta a ello, la madre debe segregar más insulina para mantener los niveles adecuados de glucosa. La mayoría de estas pacientes son mujeres con predisposición genética o metabólica a la diabetes, incapaces de compensar de forma adecuada los efectos diabetógenos del embarazo.

La incidencia varía según la población estudiada pero, en general, se mantienen entre un 5-12%. Entre los factores que contribuyen al riesgo de diabetes gestacional está el embarazo después de los 35 años, la obesidad y haber tenido un hijo previo con un peso superior a los 4 kilos. Cabe prever que el riesgo de diabetes gestacional aumentará en un futuro debido al aumento de la edad materna al parto, el incremento de la inmigración con mayor incidencia de diabetes gestacional y un aumento considerable de sobrepeso materno debido a cambios en la dieta.

Una definición simple de cribado es el "examen de personas asintomáticas para distinguir las que probablemente estén enfermas y las que probablemente no lo estén". Se trata de una actividad de prevención secundaria, es decir, que su objetivo es reducir la morbilidad o mortalidad prematura asociadas a la enfermedad, gracias a la mejora de su pronóstico. La OMS lo define como la aplicación sistemática de una prueba para identificar a individuos con un riesgo suficientemente alto de sufrir un determinado problema de salud como para beneficiarse de una investigación más profunda o acción preventiva directa⁸⁷.

El objetivo de un cribado es reducir la morbimortalidad de la enfermedad a estudio, gracias al tratamiento y seguimiento precoz. La diabetes tiene de por sí un test de cribado, el test de *O'Sullivan* que se realiza en la semana 24, en el momento en que empieza el estado catabólico de la gestación. Si el cribado es positivo se realiza la curva de glucosa con sobrecarga de 100 gr y determinación de glucemias en dos horas, en la semana 28.

Podría plantearse que los análisis para establecer el riesgo de diabetes gestacional se efectuasen en el primer trimestre, pues de esta manera serían más efectivas las medidas preventivas y el buen control metabólico desde el inicio de la gestación. El inconveniente es que en la primera mitad de la gestación se desarrolla un periodo anabólico promovido por el aumento de los depósitos grasas, hipoglucemias maternas, disminución de la insulina y sus necesidades, todo ello como consecuencia del aumento de estrógenos, progesterona y la acción de la insulina. Ante esta situación es difícil el diagnóstico precoz de la diabetes gestacional en el primer trimestre con las técnicas

actuales disponibles. Aunque si es cierto que se realiza el test de cribado en mujeres con factores de riesgos asociados de padecer DG.

5.2. CRIBADO BIOQUÍMICO Y HORMONAS PLACENTARIAS.

Durante la gestación se produce una gran cantidad de cambios hormonales para realizar la adaptación materna. Estos cambios se producen a nivel de todos los órganos, respiratorios, digestivos, metabólicos, endocrinos y cardíacos.

Estos cambios hormonales son diferentes en las gestaciones patológicas, los cuales pueden ser monitorizados y predecir o evaluar distintas patologías asociadas a la gestación, teniendo en cuenta por un lado los niveles hormonales y por otro la existencia de factores de riesgo materno.

La placenta y el amnios segregan hormonas y citoquinas que participan en la adaptación materna a la gestación, interactuando con el metabolismo materno.

Desde hace años se está estudiando la importancia y el impacto que tienen estas proteínas en las distintas patologías gestacionales. Así se están determinando métodos para evaluar la cantidad de hormonas en sangre materna, fetal y también en el medio intermedio, líquido amniótico. Estas hormonas, en mayor o menor cantidad, pueden ser parte de la respuesta de adaptación de la placenta y membranas a situaciones patológicas como la hipertensión, la insuficiencia placentaria que produce hipoxia fetal, malformaciones fetales, alteraciones metabólicas, etc.

Los cambios metabólicos provocan una adaptación por parte del tejido placentario, produciendo cambios epiteliales y celulares que pueden traducirse en mayor o menor proliferación trofoblástica según las patologías. Estos cambios a su vez se traducen en una variación en la síntesis de las hormonas y citoquinas que explicaría su utilización en el diagnóstico o pronóstico de patologías obstétricas.

La proteína plasmática asociada al embarazo tiene como función principal inhibir la elastasa evitando que la zona de implantación del trofoblasto traspase el endometrio. Su mayor o menor cantidad influirá en la proliferación trofoblástica. Igualmente, la hormona β -hCG promueve la síntesis de esteroides por medio de la inducción del precursor DHEA, y a su vez los esteroides son los que promueven la adaptación metabólica de la madre a las necesidades fetales⁸⁸.

En la diabetes gestacional se describen alteraciones placentarias en el área de la superficie vellositaria, proliferación citotrofoblástica, nudos sincitiales, trombos de fibrina y necrosis fibrinoide con engrosamiento de la membrana basal trofoblástica. Estas alteraciones pueden provocar también cambios en la secreción hormonal. Aunque la mayoría de los estudios avalan estos cambios morfológicos y anatomopatológicos en estados avanzados, no existen estudios precoces de placentas en el primer trimestre por lo que asumimos que los cambios se empiezan a producir en el estado anabólico del embarazo pero se manifiestan en el estado catabólico. En cualquier caso, la diabetes gestacional es una diabetes inducida por el embarazo donde las hormonas placentarias del embarazo reducen la capacidad de adaptación a la acción insulínica, es decir un estado de resistencia insulínica.

Desde el año 98 hasta la actualidad se han realizado avances significativos en el cribado de aneuploidías y más con respecto al síndrome de Down⁸⁹. El cribado o *screening* prenatal es el conjunto de pruebas no invasivas que nos permiten identificar con mayor probabilidad alteraciones cromosómicas.

Se han descrito signos ecográficos y rasgos fenotípicos sospechosos de aneuploidías, pero no diagnósticos. La asociación de estos hallazgos al cribado bioquímico (β -hCG y PAPP-A) dio lugar al desarrollo del Test Combinado del 1er trimestre⁹⁰. Esta combinación de marcadores ecográficos (TN) más marcadores bioquímicos realizados entre la semana 11-14 logra una tasa de detención del 75% (3% FP)⁹¹, si bien *Nicolaides* estima un tasa de detención mayor de hasta un 85-90%, con una tasa de FP del 1% además del 5% necesario en el cribado de la trisomía 21.

En 2004 el *International Down Syndrome Screening Group* (IDSSG) consensuó el cribado bioquímico y ecográfico, que se definió como TEST COMBINADO, teniendo en cuenta la PAPP-A, la β -hCG y la TN con las variables clínicas de edad y peso de la gestante. Estableció además la definición de TEST INTEGRADO como aquel en que se asociaban también cuatro marcadores bioquímicos del segundo trimestre pero con una tasa de detención similar, del 75%, y tasa de falsos positivos de alrededor del 3%.

Por tanto, hoy en día tenemos el valor de las hormonas placentarias en la mayoría de las gestantes. Desde hace años que diversos autores buscan la aplicación a la interpretación de los valores de estas hormonas en el primer trimestre con la evolución del embarazo y las complicaciones que pueden surgir en él⁶⁶.

Múltiples estudios han asociados valores bajos de PAPP-A con preeclampsia, CIR, abortos y parto pretérmino^{67,68,69}, generalmente para valores por debajo del percentil 10 y *p value* menor de 0.005.

Uno de los primeros artículos que describió la asociación de las hormonas placentarias con la diabetes gestacional fue escrito en 2000 por *Charas* y col⁷⁸. Describieron una asociación de los valores de las medianas de ambas hormonas placentarias (PAPP-A y β -hCG) con hipertensión gestacional y con diabetes gestacional. Se estipularon unos valores por debajo del percentil 10 en el 15% de mujeres con hipertensión y el 20 % en mujeres con diabetes gestacional. El estudio llegó a proponer que los trastornos del metabolismo eran los responsables de los niveles más bajos de hormonas placentarias, y que por ello las pacientes padecían diabetes gestacional. A pesar de las expectativas que generó este artículo, estudios posteriores han reevaluado dichos hallazgos y cuestionado las correlaciones detectadas. Otros estudios han establecido nuevas asociaciones con patologías⁹² como parto pretérmino y CIR y otras patologías perinatales.

Ciertos autores asocian un valor bajo de β -hCG -también por debajo del percentil 10- con pérdidas fetales y CIR^{93,94}. En contra, otros estudios describen valores elevados de hormona gonadotropina asociada a complicaciones perinatales contradiciendo las teorías previas^{95,96}.

Pero las anomalías en el trofoblasto juegan un papel central en el desarrollo de la diabetes gestacional y precede a los signos, y por eso se producen cambios en algunas hormonas placentarias como PAAP-A y β -hCG en aquellas pacientes con predisposición⁹⁷. Está descrito un aumento en el grosor de la placenta en pacientes con diabetes gestacional.

Si pudiéramos establecer una asociación entre estas hormonas y la diabetes tendríamos un método económico y ya sistematizado de diagnosticar precozmente la diabetes o un riesgo elevado de padecerla, con un enorme beneficio para las pacientes y una reducción significativa de costes para los sistema de salud.

Así el objetivo del trabajo es estudiar la capacidad predictiva de forma independiente que tienen las proteínas placentarias y el pliegue nucal en relación al desarrollo de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono. Específicamente, niveles anormalmente altos o bajos de proteínas plasmáticas en el primer trimestre en suero materno, podrían constituir marcadores de una inadecuada placentación y explicar la disminución de la PAPP-A en el grupo de estudio de DG.

Como problema de base para la utilización de estas hormonas encontramos que tienen una variación de concentración en el tiempo y, a su vez, según las distintas poblaciones estudiadas. Así surgió una medición más exacta y extrapolable a todas las poblaciones que evitará sesgos distintos a las unidades internacionales: los MoM, múltiplos de la mediana. También tenemos que tener en cuenta que estas hormonas y citoquinas son sintetizadas por la placenta pero ésta se ve afectada por múltiples variables, no solo la patológica que se estudia en ese momento. Es decir, nosotros podemos estudiar el impacto de las hormonas en el metabolismo de los hidratos de carbono pero a su vez las hormonas pueden estar en concentraciones distintas a la población general porque la gestante padece otras patologías como la hipertensión, CIR, alteraciones genéticas del embrión, etc.

Existen múltiples estudios en los últimos diez años que describen la asociación de los valores de las hormonas placentarias con patologías fetales. Desde el 93 se describen estudios de asociación de la PAPP-A⁹⁸ con patologías obstétricas. Pero los estudios más relevantes que asocian valores bajos de PAPP-A con diabetes gestacional empiezan en el año 2000 con *Nicolaides*. Diversas publicaciones describen el descenso del valor de la β -hCG y luego de la PAPP-A en complicaciones gestacionales como aborto, CIR, HTG o diabetes gestacional⁹⁹.

Dos años más tarde el estudio multicéntrico de la *Universidad de Cambridge* determinó que el valor de la PAPP-A en el primer trimestre era predictor de desarrollar complicaciones perinatales en el tercer trimestre. Determinó que esta proteína es específica del trofoblasto que regula la función IGF, crítico para el correcto desarrollo placentario. Por tanto, en el primer trimestre, que es cuando se produce el desarrollo placentario, se podrían determinar las complicaciones perinatales del segundo y tercer trimestre.

También se han estudiado otras hormonas asociadas a la PAPP-A, como el lactógeno placentario, con iguales interpretaciones¹⁰⁰. Quizás la menos estudiada y sin clara asociación es la β -hCG,. Aunque *Haddad et al*, describió que mujeres con niveles bajos de β -hCG por debajo del percentil 10 tienen un riesgo de aumentado de desarrollar CIR y los bajos niveles de esta hormona probablemente reflejan una degeneración en la función del trofoblasto que culmina con una insuficiencia placentaria y desarrollo de CIR¹⁰¹.

El estudio más amplio y más actual es *The FASTER Trial* que estudia la asociación de las mismas hormonas placentarias que nosotros y el pliegue nucal. Concluye con una asociación de bajos niveles de PAPP-A con múltiples complicaciones perinatales, aunque no es significativo en el caso de la diabetes gestacional. No establece una clara asociación de los valores de β -hCG y de la translucencia nucal como predictores de complicaciones perinatales posteriores.

5.3. TRANSLUCENCIA NUCAL; PLIEGUE NUCAL.

El examen ultrasonográfico de las 11-14 semanas ofrece la posibilidad de identificar la subpoblación con mayor riesgo de cromosopatías que el resto de la población general. Con alta sensibilidad y un relativo bajo costo.

Ha pasado más de una década desde que *Nicolaidis* y colaboradores publicaran el primer trabajo sobre la utilidad de la medición de la translucencia nucal fetal en el primer trimestre como método de *screening* para evaluar el riesgo de trisomía 21, 13 y 18.

Estos mismos investigadores son los que en la actualidad investigan la posibilidad de ampliar el *screening* de aneuploidías a otras patologías obstétricas como CIR, preeclampsia, parto prematuro y la diabetes gestacional.

Varios estudios ya avalan alguna asociación entre la medición de la translucencia nucal (concretamente su tamaño aumentado con respecto a la media) con el aumento de complicaciones perinatales, tras haber sido establecida su asociación con cardiopatías por *Hyett et al* 1997, 1999¹⁰².

El *Fetal Medicine* estableció que la translucencia nucal aumentada a las 11–13⁺⁶ semanas es un rasgo fenotípico común de las anomalías cromosómicas y de una gran variedad de malformaciones fetales y síndromes genéticos. La prevalencia de anomalías fetales y de resultados perinatales adversos aumenta exponencialmente con el grosor de la TN.

Puede asegurarse a los padres que la probabilidad de dar a luz a un recién nacido sin anomalías mayores es superior al 90% si la TN está entre los percentiles 95 y 99, alrededor del 70% para una TN entre 3,5–4,4mm, 50% para una TN entre 4,5–5,4mm, 30% para una TN entre 5,5–6,4mm y un 15% para una TN mayor o igual a 6,5mm. La gran mayoría de las anomalías fetales asociadas al aumento de la TN puede ser diagnosticada mediante una serie de investigaciones que se completan antes del final de la semana 14¹⁰³.

Figura 7: riesgo de trisomía 21 en función de la Translucencia Nucal. **Fuente:** *Nicolaidis, Kypros H.; Falcón, Orlando; La ecografía de las 11-13⁺⁶ semanas - Fetal Medicine Foundation, Londres, 2004.*

Translucencia nucal	Anomalías Cromosómicas	Cariotipo Normal Muerte Fetal	Normal Anomalías mayores fetales	Recién Nacido sano
< Percentil 95	0.2%	1.3%	1.6%	97%
Percentiles 95–99	3.7%	1.3%	2.5%	93%
3.5–4.4 mm	21.1%	2.7%	10.0%	70%
4.5–5.4 mm	33.3%	3.4%	18.5%	50%
5.5–6.4 mm	50.5%	10.1%	24.2%	30%
≥6.5 mm	64.5%	19.0%	46.2%	15%

6. ESTUDIO

6.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

La diabetes gestacional se considera la enfermedad metabólica más frecuente asociada al embarazo y constituye una causa importante de morbilidad y mortalidad materna y fetal.

Como prueba para la detección de diabetes gestacional, y conforme al consenso de GEDE y NDDG, se recomienda hacer el cribado de DG mediante el test de *O'Sullivan* a las embarazadas que no sean diabéticas conocidas entre la semana entre la 24 y 28 de gestación, puesto que es el momento de máxima rentabilidad diagnóstica, cuando se manifiestan los efectos diabetógenos del embarazo. El test de *O'Sullivan* consiste en medir la glucemia en plasma venoso a los 60 minutos de la toma de sobrecarga oral de glucosa de 50 gr. Si éste es positivo se realizará la sobrecarga oral de glucosa de 100gr.

Por tanto, el diagnóstico no se realiza antes del segundo trimestre, salvo en pacientes de riesgo en las cuales se indica realizar el cribado en el primer trimestre. Puede ocurrir que, cuando se realiza el diagnóstico y se inicia el tratamiento, el control metabólico sea ya difícil y se haya producido ya repercusión fetal y placentaria. Por ello, es un reto obstétrico intentar detectar pacientes de riesgo precozmente y tratar de disminuir las consecuencias de la enfermedad metabólica en madre y feto, por no mencionar las repercusiones económicas que a su vez acarrear dichas complicaciones al detectarse en un momento avanzado de la gestación.

El nivel en sangre de las 2 proteínas placentarias (PAPP-A y $\text{f}\beta\text{-hCG}$) varía significativamente en el transcurso del tiempo (entre las semanas 11 y 13) de acuerdo con la evidencia disponible. Las pruebas analíticas y hallazgos ecográficos del primer trimestre realizados a todas las pacientes podrían aportar información y ayudar a determinar un grupo de pacientes de riesgo con independencia de aquellas ya descritas por otros parámetros (antecedentes obstétricos de feto macrosómico, muerte fetal intraútero, antecedentes de DG, hidramnios, RCIU o edad materna avanzada o $\text{IMC} > 30$).

Procedemos por ello a presentar el estudio de los valores de varios parámetros bioquímicos y ecográficos -los utilizados para determinar el triple *screening* del primer trimestre- en una muestra de mujeres gestantes, observando las diferencias en estos parámetros en mujeres sanas y en mujeres que han desarrollado diabetes gestacional o intolerancia a la glucosa para tratar de determinar si alguno de los parámetros podría utilizarse como marcador precoz de dicha patología.

El trabajo consiste en realizar un estudio similar al realizado en el *Faster Trial* de USA o el estudio realizado por la Universidad de *Pavia* en 2011, pero sólo aplicado a la patología de diabetes gestacional¹⁰⁴ e introduciendo además variables clínicas como el peso, la edad de la gestante y la edad gestacional.

6.2. HIPÓTESIS.

La DG aparece por un retraso en la respuesta pancreática a la ingesta y un aumento de la resistencia periférica a la insulina. No se acompaña de manifestaciones clínicas maternas, pero se incrementan las complicaciones maternas y fetales. Además, existe una mayor predisposición a desarrollar Diabetes Mellitus tipo 2¹⁰⁵.

La diabetes gestacional se diagnostica en el segundo trimestre. **Intentaremos establecer si las hormonas y la Translucencia Nucal medidas en el *screening* de aneuploidías del primer trimestre pueden ser predictoras de tener más riesgo de padecer diabetes gestacional o alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono.**

Los valores de PAPP-A y fβ-hCG, y la Translucencia Nucal parecen tener según diversos estudios una tendencia diferente en gestantes sanas que en gestantes con DG. Podríamos utilizar el valor de estas variables, realizadas protocolariamente en todas las gestante sanas en el primer trimestre para el triple *screening* como predictores de tener más riesgo de padecer alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, sin coste añadidos al seguimiento normal del embarazo.

6.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

El presente estudio se centra en analizar la relación de determinadas condiciones – principalmente diabetes gestacional e intolerancia a la glucosa- con 3 variables o marcadores que podrían predecir o asociarse con su aparición:

- Nivel de la hormona PAPP-A en sangre.
- Nivel de hormona f β -hCG en sangre.
- Translucencia nuchal (NT).

Adicionalmente, combinaremos el comportamiento de los marcadores con los factores de edad y peso de la gestante y la edad gestacional en el momento de la determinación de los marcadores. De esta forma, se analiza estratificadamente la influencia de dichos factores y cómo se relacionan con los marcadores.

Por último, se evaluará la fuerza de la asociación entre las variables independientes y la condición sufrida, así como el poder predictivo en base al *Odds Ratio* (OR) de dichas variables como marcadores.

6.4. MATERIAL Y MÉTODOS.

6.4.1. *Diseño del estudio.*

El presente es un estudio de caso-control retrospectivo de base poblacional:

- La muestra seleccionada es aleatoria.
- Se dispone de datos que permiten seguir la evolución de cada gestante hasta la aparición de la condición objeto de estudio (diabetes gestacional, intolerancia a los hidratos de carbono o resultado positivo en la prueba de despistaje) en parte de ellos (los casos).
- Todos los casos fueron diagnosticados antes del estudio.
- Las gestantes que no presentaron la condición actúan como grupo de control.
- Obtenidos todos los casos y controles, se procede a analizar la incidencia, el tipo de exposición o presencia de determinados factores (variables independientes) y se investiga su asociación con la enfermedad o condición.

Salvo que se indique expresamente otra cosa, el nivel de significancia empleado en el análisis es $\alpha=0,05$ (nivel de confianza $[1-\alpha]=95\%$):

- Así pues, en los contrastes de hipótesis se rechaza la hipótesis nula (H_0) si el error de tipo I (α) es menor de 0,05. Se admite como estadísticamente significativa un *p value* igual o inferior a 0,05.
- Los intervalos de confianza (IC) que acompañan al cálculo de los *Odds Ratio* (OR) se estiman igualmente al 95% de nivel de confianza, conforme a lo que es habitual en este tipo de estudios.

El análisis estadístico se realiza con el paquete estadístico SPSS v.19.

Dados el tamaño de la muestra, la fidelidad de los datos y la ausencia de sesgo muestral, las pruebas de asociación e independencia se llevan a cabo mediante pruebas asintóticas.

6.4.2. *Obtención y características generales de la muestra.*

La muestra se extrajo del registro clínico disponible en un intervalo de tiempo determinado, compuesto por mujeres gestantes del Área Oeste de la provincia de Valladolid, pertenecientes a la población general, y cuyo embarazo fue seguido en el

Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid. La información se obtuvo de la base de datos del *Servicio de Análisis Clínicos* del hospital.

Se incluyeron inicialmente en el estudio todas las gestantes sometidas a:

- Triple *screening* del primer trimestre, con determinación de las proteínas placentarias y translucencia nocal (periodo de 1 Enero 2009 hasta 31 Julio 2010). A las gestantes se les tomó una muestra de sangre sin ayunas coincidiendo con la ecografía del primer trimestre entre las semanas 10 y 13 de gestación, tras el consentimiento verbal de la paciente para la realización de la prueba. Para agrupar a las gestantes por semana de gestación se ha redondeado, descartando el resto decimal. Siendo más precisos la prueba se realizó en el rango de [10,5-13,6] semanas.
- Test de *screening* con sobrecarga de 50g de glucosa a todas las gestantes previas descritas (periodo 1 Marzo 2009 hasta 31 Noviembre 2010). Las gestantes realizaron la prueba de *O´Sullivan* en el segundo trimestre (semana 24 de gestación). A lo largo del estudio se utilizan indistintamente los términos test de *screening*, prueba o test de *O´Sullivan* y test de despistaje para referirnos a esta prueba.
- Test de curva de glucosa con sobrecarga de 100gr en aquellas pacientes (periodo 1 Mayo 2009 hasta 30 Diciembre 2010) cuyo con test de *screening* fue positivo con un valor igual o superior a 140. La prueba se realizó en la semana 26-28 de gestación. La determinación de la glucosa fue basal y a los 60, 120 y 180 minutos.

Los pasos seguidos para la obtención de la muestra consistieron en:

- 1.- Recoger los valores de las hormonas placentarias PAPP-A y β -hCG en el primer trimestre de gestación entre las semanas 10-13 de las pacientes de la muestra poblacional.
- 2.- Recoger los datos del marcador ecográfico -translucencia nocal- medido en el primer trimestre de la gestación, entre la semana 10-13.
- 3.- Obtener los datos y resultados del test de *O´Sullivan* de las pacientes.
- 4.- Compilar los datos y resultados -valores de glucosa basal, a los 60, 120 y 180 minutos- de la prueba de sobrecarga 100g de glucosa de aquellas pacientes con resultado positivo en el test de *O´Sullivan*.
- 5.- Determinar aquellas pacientes diabéticas gestacionales -con dos valores de curva de glucemia superiores al corte-, aquellas intolerantes a hidratos de carbono -con un valor de curva superior al corte-, así como las pacientes sanas sin alteraciones en el metabolismo de hidratos de carbono.

Los datos disponibles en la base de datos para cada gestante, además de aquellos relacionados con los marcadores, fueron:

- Edad materna en el primer trimestre.
- Peso de la gestante en Kg en el primer trimestre.
- Edad gestacional en el momento del triple *screening* del primer trimestre.

Como hechos más significativos en relación a la muestra (que después se amplían en el apartado de descripción estadística de la muestra), podemos indicar que:

- De las 2.750 gestantes, 190 desarrollaron diabetes gestacional y, de ellas, el 22.54% eran mayores de 35 años (88 pacientes).
- El peso medio materno fue de 63.9 kg. El dato de peso no estuvo disponible en 100 de las gestantes.
- La edad media se situó en 32,69 años.
- El 36,9% de las gestantes pesó más de 70 kg en la semana de determinación de los parámetros bioquímicos.
- La muestra presentó 58 gestaciones gemelares (el 2,1%). De ellas, 7 desarrollaron diabetes gestacional (incidencia=12,06%).

A partir de la muestra inicial se procedió a la exclusión de pacientes de la muestra de acuerdo con los criterios especificados a continuación.

a) Criterios de no inclusión en la muestra.

Como criterios de no inclusión se fijaron los siguientes:

- Diabetes Mellitus.
- Diabetes gestacional en gestación anterior.
- Gestación múltiple no gemelar (3 pacientes).

b) Criterios de exclusión de la muestra.

Fueron excluidas 451 mujeres de la muestra (hasta quedar finalmente en 2.750 gestantes) por las causas que se detallan en la siguiente tabla:

Figura 8: causas de exclusión.

Sin prueba de O'Sullivan realizada: 411	Posibles causas: aborto tardío o IVE por cromosomopatía o alteraciones morfológicas mayores fetales, pérdida de paciente por traslado a otro centro, etc. Este grupo incluye 4 gestantes con datos de curva pero que fueron excluidas de la muestra por no tener realizada la prueba de O'Sullivan.
---	--

Gestantes sin curva de glucosa: 2	Mujeres con O'Sullivan positivo pero sin datos de la curva de glucosa.
Registros eliminados por errores en los datos de las pacientes: 13	Errores de afiliación tales como: errores en la edad, edad materna y edad gestacional. Por el contrario, están incluidas en la muestra 100 gestantes sin dato de peso.
Registros eliminados por curva incompleta: 21	Se realizó la prueba de sobrecarga oral de glucosa de 100gr pero las pacientes no la toleraron y no terminaron las 3 extracciones a pesar de varios intentos.
Registros eliminados por "curva precoz": 4	En estas pacientes se realizó la prueba de glucosa antes de la semana 26, sin que fuese repetida por el servicio médico.

Si bien hay representación de diferentes razas en la muestra, no se han detectado factores demográficos que puedan afectar la representatividad de la muestra, por lo que la muestra se ha estimado como sin sesgo en su obtención.

6.4.3. Grupos de estudio.

Los resultados de las pruebas a las que se someten las gestantes del estudio permiten clasificarlas en 4 grupos/muestras básicos:

- Gestantes con resultado negativo (<140) en la prueba de *O'Sullivan*. Se denomina grupo OS-.
- Gestantes con resultado positivo en la prueba de *O'Sullivan* (≥ 140) y curva de glucosa negativa (en los 4 valores). Se denomina grupo OS.
- Gestantes intolerantes, con 1 valor de la curva positivo. Se denomina grupo I.
- Diabéticas gestacionales, que será denominado como grupo DG.

Figura 9: grupos básicos de estudio.

Mujeres con resultado negativo (<140) en la prueba de O'Sullivan	Mujeres con OS positivo (≥ 140) y curva de glucosa negativa	Mujeres intolerantes, con un valor de la curva positivo	Mujeres diabéticas gestacionales
OS-	OS	I	DG

Así pues, la muestra total se divide en 4 muestras/grupos básicos independientes entre sí. Estos cuatro grupos básicos se combinan con sentido clínico para formar pares de estudio sobre los que efectuar el análisis estadístico. En cada par de estudio se analizan y comparan los grupos resultantes: una muestra (formada por 1 o más grupos básicos) actúa como grupo de control frente a los grupos restantes, cuyos miembros constituyen los casos en el estudio. Dichos pares y grupos de casos y controles se ilustran a continuación:

Figura 10: pares de estudio - grupos control frente a grupos de casos (representación 1).

	Grupo de Control	Grupo de casos
1ª PAR DE ESTUDIO:	Grupos básicos (OS-), (OS) e (I) Denominación del grupo de control: [NODG] Gestantes NO Diabéticas Gestacionales	Grupo básico (DG) Denominación del grupo de control: [DG] Gestantes Diabéticas Gestacionales
2ª PAR DE ESTUDIO:	Grupos básicos (OS-) y (OS) Denominación del grupo de control: [NOI] Gestantes No Intolerantes	Grupos básicos (I) y (DG) Denominación del grupo de control: [IDG] Gestantes Intolerantes y Diabéticas Gestacionales
3ª PAR DE ESTUDIO:	Grupo básico (OS-) Denominación del grupo de control: [OS-] Gestantes con resultado negativo en la prueba de O'Sullivan	Grupos básicos (OS), (I) y (DG) Denominación del grupo de control: [OS+] Gestantes con resultado positivo en la prueba de O'Sullivan

Figura 11: pares de estudio - grupos control frente a grupos de casos (representación 2)

Mujeres con resultado negativo (<140) en la prueba de O'Sullivan	Mujeres con OS positivo (>=140) y curva de glucosa negativa	Mujeres intolerantes, con un valor de la curva positivo	Mujeres diabéticas gestacionales
OS-	OS	I	DG
grupo control			grupo casos
par de estudio NODG vs DG			
grupo control		grupo casos	
par de estudio NOI vs IDG			
grupo control	grupo casos		
par de estudio OS- vs OS+			

Se consideró un cuarto par de estudio, aquel que compara sólo gestantes OS- y diabéticas gestacionales (DG). El análisis estadístico mostró que los resultados de este par de estudio son muy similares a los del par NODG vs DG, incluso a nivel estratificado. Por esa razón y para simplificar la exposición se omite el análisis de dicho par.

6.4.4. Variables de estudio.

a) Condición/efecto analizado en el estudio.

La condición o efecto a analizar varía con cada par de estudio:

- En el par de estudio NODG vs DG la condición o efecto objeto de estudio y asociación con las variables independientes es la diabetes gestacional.
- En el par de estudio NOI vs IDG la condición o efecto objeto de estudio y asociación con las variables independientes es la intolerancia a la glucosa,

definida por la existencia de, al menos, un valor positivo en la curva de glucosa (incluye, por tanto, las diabéticas gestacionales).

- En el par de estudio OS- vs OS+ la condición o efecto objeto de estudio y asociación con las variables independientes es un resultado positivo en la prueba de *O'Sullivan*.

Las gestantes sanas que actúan como grupo de control dependen también, obviamente, de la agrupación realizada en cada par de estudio:

- En el par de estudio NODG vs DG las gestantes sanas/control serán todas aquellas (incluidas las intolerantes a la glucosa) que no sean diagnosticadas con diabetes gestacional.
- En el par de estudio NOI vs IDG las gestantes sanas/control serán todas aquellas no diagnosticadas como intolerantes o diabéticas gestacionales, es decir las pacientes que arrojan un resultado negativo en el test de despistaje, o positivo pero con sobrecarga de 100gr negativa.
- En el par de estudio OS- vs OS+, las gestantes sanas/control serán todas aquellas con resultado negativo en la prueba de *O'Sullivan*.

Los criterios diagnósticos para definir la patología de diabetes gestacional son los definidos por la SEGO en 2004, revisados a su vez por la GEDE en marzo de 2006.

Según el criterio de GEDE y NDDG se considera que existe diabetes gestacional cuando al menos dos valores igualan o superan cierto límite en la sobrecarga de glucosa de 100g. Estos límites son:

- Basal: 105 mg/dl.
- 1 hora: 190 mg/dl.
- 2 horas: 165 mg/dl.
- 3 horas: 145 mg/dl.

Igualmente, se diagnostica diabetes gestacional cuando una mujer embarazada presente valores de glucemia basal superiores a 126 mg/dl en dos ocasiones, o glucemias >200 mg/dl acompañadas de síntomas de hiperglucemia, pero ninguna de las pacientes del estudio fueron incluidas de esta forma en el diagnóstico de diabetes gestacional.

Las mujeres con un solo valor de la curva alterado se diagnosticaron como intolerantes y habría debido repetírseles la prueba en tres semanas. No en todos los casos se realizó una segunda prueba a las gestante de la muestra que dieron 1 valor positivo en la prueba. No obstante, fueron clasificadas para el estudio como gestantes con intolerancia glucídica (I).

b) Marcadores/variables independientes.

Estas variables cuantitativas son los marcadores bioquímicos y ecográficos del triple *screening* medidos en la semana 10-13 de gestación, ampliamente tratados anteriormente. Serán evaluadas para establecer su asociación con la diabetes gestacional, con la intolerancia a hidratos de carbono y con un resultado positivo en el test de despistaje -dependiendo del par de estudio-, así como su capacidad predictiva respecto a tales condiciones. Las 3 variables se analizarán estadísticamente y de forma individualizada:

- **PAPP-A:** hormona placentaria medida entre la semana 10-13. Se mide en MoM -múltiplos de la mediana-, para que su distribución sea gaussiana, es decir adopte una distribución normal. Cada laboratorio calcula y actualiza periódicamente sus propias medianas para cada semana de gestación, para cada marcador y para la población que habitualmente atiende (así se evitan diferencias metodológicas o poblacionales). Los MoM de cada marcador se calculan dividiendo el valor individual del marcador por el valor de mediana poblacional para la edad gestacional expresada en días.
- **fβ-hCG:** hormona placentaria que se sintetiza en el sincitiotrofoblasto con pico entre 8-12 semanas, luego disminuye y se estabiliza a la semana 18. Se mide también en MoM en las semanas 10-13.
- **Translucencia o pliegue nucal (TN):** cúmulo fisiológico y transitorio de líquido en la región de la nuca fetal. La medición de la Translucencia Nucal (TN) tiene lugar en el mismo momento gestacional que las hormonas placentarias, medido 30-60 minutos antes de la extracción sanguínea.

c) Factores modificadores o variables clínicas.

Se toman en consideración determinadas variables como factores modificadores (o variables clínicas), ya que pueden tener una influencia significativa en la relación entre las variables independientes y la condición de las mujeres.

Se efectúa un análisis estratificado tomando en consideración los siguientes factores clínicos potencialmente modificadores:

- Edad materna. Se determina en el momento del triple *screening*, y viene medida en años (parte entera) y meses (parte decimal). Se definen los siguientes rangos:
 - Gestantes de hasta 25 años (≤ 25 años).
 - Gestantes entre 25 y 30 años (> 25 y ≤ 30 años).
 - Gestantes entre 30 y 35 años (> 30 y ≤ 35 años).
 - Gestantes entre 35 y 38 años (> 35 y ≤ 38).
 - Gestantes de más de 38 años (> 38 años).

- **Peso materno.** Medido en Kg, se determina también en el momento del triple *screening*. Respecto al peso se establecen los siguientes rangos:
 - Gestantes de hasta 50 Kg (≤ 50 Kg).
 - Gestantes entre 50 y 55 Kg (>50 y ≤ 55 Kg).
 - Gestantes entre 55 y 60 Kg (>55 y ≤ 60 Kg).
 - Gestantes entre 60 y 65 Kg (>60 y ≤ 65 Kg).
 - Gestantes entre 65 y 70 Kg (>65 y ≤ 70 Kg).
 - Gestantes entre 70 y 75 Kg (>70 y ≤ 75 Kg).
 - Gestantes entre 75 y 80 Kg (>75 y ≤ 80 Kg).
 - Gestantes de más de 80 Kg (>80 Kg).

Estas 2 variables clínicas son factores de riesgo bien establecidos en el desarrollo de la diabetes gestacional. Su consideración –a partir de un análisis estratificado de la muestra total- podría ayudar a establecer una mejor asociación entre alguna de las variables independientes y las condiciones objeto de estudio, así como proporcionar una mayor consistencia a los resultados obtenidos.

Por otra parte, los niveles de las variables independientes varían a lo largo del tiempo. Así, por ejemplo, el nivel de PAPP-A varía entre las semanas 10 y 13 en todos los grupos, por lo que el momento en que esta proteína se mide puede ser relevante. Por esta razón, se añade una variable más a las 2 anteriores, una variable “evolutiva”. Se trata de la semana de gestación (medida en el momento del triple *screening*) en la que se miden las 3 variables independientes. Esta variable podría interferir o distorsionar la relación entre las variables independientes (PAPP-A, β -hCG o TN) con las variables de patología (diabetes gestacional, intolerancia a la glucosa, etc.), más aún cuando sólo se mide una vez en cada gestante y por motivos ajenos a la detección de diabetes.

6.4.5. Técnicas de determinación analítica y ecográfica de las variables independientes.

a) Determinación hormonal.

Tras la realización de la ecografía de primer trimestre a todas las gestantes se les extrajo una muestra de sangre para la determinación de PAPP-A y β -hCG libre.

Protocolo de la obtención de muestras.

Las muestras se obtuvieron por punción de la vena cubital de un antebrazo libre de vías de infusión. Tras la extracción, las muestras permanecieron a temperatura ambiente en posición vertical hasta la retracción del coagulo y, a continuación, fueron centrifugadas durante un tiempo de 8 minutos a 4000 rpm.

En estas muestras se cuantificaron los marcadores bioquímicos para la posterior emisión del informe al facultativo peticionario.

Determinación de PAPP-A y β -hCG libre.

La cuantificación de PAPP-A y β -hCG libre se realizó en suero mediante un inmunoensayo de quimioluminiscencia en el sistema *Immolute 2000* (*Siemens Diagnostica*) utilizando reactivos proporcionados por dicha casa comercial. Los reactivos estaban calibrados frente a estándares alto y bajo para cada uno de los marcadores bioquímicos cuantificados en una matriz de suero no humano en solución tampón. Este material estándar proporciona una curva de calibración lineal.

Tecnología y principios del ensayo

El principio de quimioluminiscencia utiliza un sustrato que reacciona y alarga la duración de emisión de energía quimioluminiscente de forma continua al unirse con los restos de fosfatasa alcalina. Los ensayos con tecnología quimioluminiscente realizadas en este equipo utilizan un éster de fosfato de adamantil de dioxetano en solución tampón de 2-amino-2-metil-1-propanol, que utiliza el estimulador cloruro de polivinilbencil.

Las determinaciones bioquímicas se realizan mediante un ensayo de tipo sandwich con las siguientes etapas:

- 1.- Pipeteo de la muestra y los reactivos que contienen fosfatasa alcalina en la unidad de ensayo con la bola recubierta de anticuerpo específico de cada técnica.
- 2.- Incubación en el carrusel diseñado a tal fin, con una duración de 30 o 60 minutos a 37°C y donde las unidades de ensayo sufren un movimiento rotacional para conseguir una óptima homogenización de los componentes.
- 3.- Lavado para eliminar los residuos no unidos.
- 4.- Adición del sustrato quimioluminiscente (fosfato de adamantil dioxetano) que ese incubaba durante 10 minutos uniéndose a los restos de fosfatasa alcalina generando así una quimioluminiscencia continua. Esta señal continua, es proporcional a los restos de fosfatasa alcalina. La intensidad quimioluminiscente será convertida en concentración de antígeno utilizando en la curva de calibración almacenada.

El luminómetro tiene dos rasgos que contribuyen a la gran sensibilidad y rango dinámico:

- Un tubo fotomultiplicador altamente sensible que opera en un sistema contador de fotones.
- Un sistema automático de contaje con tres posiciones: negro para medir el contaje de fondo, un filtro que transmite 1/100 de luz emitida y posición abierta para la detección máxima de luz.

Determinación de PAPP-A.

Es aplicable todo lo anterior y, en este caso, el ciclo de incubación es de 30 minutos. El reactivo está compuesto por una solución de fosfatasa alcalina no humana conjugada con anticuerpo policlonal de conejo anti-PAPP-A en solución tampón; la bola de la unidad de reacción está recubierta de anticuerpos monoclonales de origen murino anti-PAPP-A.

Características analíticas y valores esperados

- Rango analítico: 0.025 mUI/mL (sensibilidad analítica) hasta 10 mUI/mL
- Efecto pro-zona: ninguno hasta 115 mUI/mL
- Valores esperados: establecidos por el propio laboratorio según los MoM obtenidos en esta por semana gestacional.

Calibración y control de calidad

Las determinaciones se han realizado en varias series analíticas, realizándose en cada una la calibración si era necesaria y el control de calidad interno.

La calibración se ha realizado con los calibradores proporcionados por las casa comercial constituidos por PAPP-A liofilizada en una matriz de suero no humana. La calibración se realiza a dos puntos con cuatro repeticiones para cada punto. La concentración del nivel bajo se aproxima a 8.73 mUI/mL y la del nivel alto a 54.4 mUI/mL.

El control de calidad se ha realizado con dos viales proporcionados por el fabricante que contienen dos concentraciones distintas de PAPP-A liofilizadas en una matriz de suero no humana. Se reconstituyeron siguiendo las instrucciones del fabricante y fueron utilizadas inmediatamente. El nivel bajo, para una concentración media de 0.46 mUI/mL y un nivel alto con una concentración media de 2.32 mUI/mL. La obtención de resultados normales en ambos controles (media \pm 2SD) junto con unos coeficientes de variación menores del 5% al utilizar lotes de controles de calidad diferentes a lo largo del estudio, han sido requisito necesario para la aceptación de los resultados de las muestras.

Fracción libre de β -hCG.

Es un ensayo secuencial inmunométrico con dos sitios de unión quimioluminiscente en fase sólida. La fase sólida (bola) esta recubierta por anticuerpo monoclonal murino anti- β -hCG libre. La fase sólida consiste en dos reactivos:

- Tampón de matriz proteica.
- Anticuerpo policlonal de cabra anti- β -hCG libre marcado con fosfatasa alcalina (de intestino bovino) en solución tampón.

En el primer ciclo de incubación la muestra del paciente y el tampón se incuban junto con la bola durante 30 minutos. Durante este tiempo, la β -hCG libre de la muestra del paciente se une al anticuerpo monoclonal murino anti β -hCG libre de la bola. La muestra no unida se elimina entonces mediante lavados por centrifugación.

En el segundo ciclo, el anticuerpo policlonal de cabra β -hCG libre marcado con fosfatasa alcalina se añade al tubo de reacción original y se incuba durante otros 30 minutos. El anticuerpo policlonal de cabra anti- β -hCG libre marcado enzimáticamente se une al β -hCG libre inmovilizada formando el complejo de anticuerpo tipo sándwich. El conjugado enzimático no unido se elimina mediante lavados por centrifugación. Finalmente, se añade el sustrato quimioluminiscente al tubo de reacción y la señal generada es directamente proporcional a la cantidad de enzima unida.

Características analíticas y valores esperados

- Rango analítico: 1 ng/mL (sensibilidad analítica) hasta 200 ng/mL
- Efecto pro-zona: ninguno hasta como mínimo 113735 ng/mL
- Valores esperados: los valores de normalidad en valores sanos, mujeres no embarazadas y post-menopáusicas se espera que sean menores al límite inferior de 2 ng/mL, los valores esperados en mujeres gestantes son los marcados por los MoM establecidos por semana gestacional.

Calibración y control de calidad

Las determinaciones se han realizado en varias series analíticas, realizándose en cada una la calibración si era necesaria y el control de calidad interno.

La calibración se ha realizado con los calibradores proporcionados por las casa comercial constituidos por β -hCG libre liofilizada en una matriz de suero no humana. La calibración se realiza a dos puntos con cuatro repeticiones para cada punto. La concentración del nivel bajo se aproxima a 1.5 ng/mL y la del nivel alto a 130 ng/mL.

El control de calidad se ha realizado con tres viales proporcionados por el fabricante que contienen tres concentraciones distintas de β -hCG libre liofilizadas en una matriz de suero no humana. Se reconstituyeron siguiendo las instrucciones del fabricante y fueron utilizadas inmediatamente. El nivel bajo, para una concentración media de 3.40 ng/mL, el medio de 22.2 ng/mL y un nivel alto con una concentración media de 79.7 ng/mL. La obtención de resultados normales en ambos controles (media \pm 2SD) junto con unos coeficientes de variación menores del 5% al utilizar lotes de controles

de calidad diferentes a lo largo del estudio, han sido requisito necesario para la aceptación de los resultados de las muestras.

b) Determinación de glucosa en las dos técnicas.

Protocolo de obtención de muestras.

Las muestras se obtuvieron por punción de la vena cubital de un antebrazo libre de vías de infusión.

Tras la extracción se realizó una medición cuantitativa de la glucosa en un equipo *point-of-care* (a la cabecera del paciente), con un equipo *Accutrend Check* con tiras proporcionadas por el fabricante. Si el resultado de esta prueba es igual o inferior a 140 mg/dL se procede a dar a la gestante una sobrecarga oral de glucosa (SOG) de 50 o 100gr de glucosa según la curva que queramos realizar, que la gestante deberá beber en un plazo aproximado de 5 minutos. La prueba se descarta en el caso que la gestante vomite, debiendo acudir nuevamente al laboratorio pasados unos días.

En el test de *O'Sullivan* a la gestante se le practica una segunda extracción pasada una hora de la ingestión de la sobrecarga; en caso de la curva larga, se realizaran extracciones a los 60, 120 y 180 minutos tras la sobrecarga.

Tras la extracción, las muestras permanecieron a temperatura ambiente en posición vertical hasta la retracción del coagulo y a continuación, fueron centrifugadas durante un tiempo de 8 minutos a 4000 rpm.

Determinación de Glucosa.

La cuantificación de glucosa se ha realizado en un equipo *Olympus AU2800* (*Olimpus Diagnostica, Ireland*).

Tecnología y principios del ensayo

La glucosa se fosforila con hexocinasa (HK) en presencia de trifosfato de adenosina (ATP) e iones de magnesio para producir glucosa-6-fosfato y bifosfato de adenosina (ADP). La 6-fosfato glucosa deshidrogenasa (G6P-DH) oxida específicamente el 6-fosfato de glucosa y produce 6-fosfato de gluconato con la correspondiente reducción de NAD⁺ a NADH. El aumento de absorbancia hasta 340 nm es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

Los reactivos están listos para su uso y pueden colocarse directamente en el instrumento.

Calibración y Control de calidad

La calibración se ha realizado a un punto con el calibrador proporcionado por la misma casa comercial. Los valores de glucosa del calibrador facilitado son atribuibles al Material de Referencia Normalizado (SRM) 965 del *Instituto de Normas y Tecnología* (NIST).

Los controles de calidad proporcionados por la misma casa comercial se han procesado al principio de la mañana siendo requisito indispensable para la aceptación de las series de muestras que los resultados de dichos controles estén situados en el rango de $\text{media} \pm 2\text{SD}$.

Características analíticas y valores esperados

- Rango analítico: 10 mg/dL (sensibilidad analítica) hasta 800 mg/dL.
- Efecto pro-zona: ninguno hasta 115 mUI/mL.
- Valores esperados: establecidos por el propio laboratorio según los MoM obtenidos en esta por semana gestacional.
- Sustancias interferentes:
 - Ictericia: interferencia inferior al 10% hasta 40 mg/dL de bilirrubina.
 - Hemólisis: interferencia inferior al 3% hasta 5 g/L de hemoglobina.
 - Lipemia: interferencia inferior al 10% hasta 700 mg/dL de Intralipid.

c) Translucencia nuchal.

La medición se realiza con plano sagital medio y en posición neutra fetal, con visualización cabeza (75% pantalla) y tórax solamente; y distinción clara entre la piel y el amnios. Es la medida de la máxima distancia con los calipers sobre las líneas (*on-to-on*).

El estudio ecográfico fue realizado por ecografista con Nivel III ecográfico de la SESEGO en equipos *Toshiba* modelo *Xario*, tanto por sonda abdominal como vaginal - en función de las características de la paciente, la posición fetal y el criterio del ecografista.

6.4.6. Metodología del análisis estadístico.

Se describe seguidamente la metodología seguida en el análisis estadístico.

a) Análisis descriptivo.

En primer lugar, se lleva a cabo un análisis descriptivo con el fin de caracterizar las muestras, estimar el valor de los principales estadísticos de las mismas y detectar la existencia de diferencias potencialmente significativas entre los grupos comparados dentro de cada par de estudio.

Dicho análisis se realiza de la forma que se detalla a continuación:

- Análisis descriptivo de la muestra total. Este análisis descriptivo incluye:
 - La frecuencia de los grupos objeto de estudio.
 - La distribución de frecuencias de la muestra total por semana de gestación en el momento de la prueba bioquímica.
 - La frecuencia y estadísticos por rangos de edad.
 - La frecuencia y estadísticos por rangos de peso.
 - La frecuencia en el número de fetos de las gestantes.
 - La incidencia de diabetes gestacional por grupos de edad.

- La incidencia de diabetes gestacional por rangos de peso.

- Análisis descriptivo de cada par de estudio, tal como se muestra en el siguiente cuadro:

Figura 12: análisis descriptivo por par de estudio.

análisis descriptivo de los pares de estudio	
1ª PAR DE ESTUDIO: (NODG vs DG)	<ul style="list-style-type: none"> • Incidencia de la diabetes gestacional (DG) por grupo de edad. • Incidencia de la diabetes gestacional (DG) por rango de peso. • Distribución de frecuencia de diabéticas gestacionales de acuerdo a la semana de gestación en la fecha de realización del triple screening o cribado bioquímico del primer trimestre.
2ª PAR DE ESTUDIO: (NOI vs IDG)	<ul style="list-style-type: none"> • Distribución de las gestantes NOI frente a las IDG por grupo de edad (incidencia de la intolerancia a la glucosa). • Distribución de las gestantes NOI frente a las IDG, o incidencia de la intolerancia a la glucosa, por rangos de peso. • Distribución de frecuencia de gestantes NOI y IDG de acuerdo a la semana de gestación en la fecha de realización del triple screening o cribado bioquímico del primer trimestre.
3ª PAR DE ESTUDIO: (OS- vs OS+)	<ul style="list-style-type: none"> • Distribución de las gestantes OS- frente a las OS+ por grupo de edad. • Distribución de las gestantes OS- frente a las OS+ por rango de peso. • Distribución de frecuencia de gestantes OS- y OS+ de acuerdo a la semana de gestación en la fecha de realización del triple screening o cribado bioquímico del primer trimestre.

- Análisis descriptivo de cada variable independiente (PAPP-A, β -hCG y TN):

- Media, mediana, intervalos de confianza de los parámetros centrales y rango intercuartílico.

- Análisis descriptivo de las variables independientes en cada par de estudio, tal como se muestra en el siguiente cuadro:

Figura 13: análisis descriptivo de cada variable independiente por par de estudio.

	Grupo Control (NODG, OS-, NOI)	Grupo de Casos (DG, OS+, IDG)
PAR DE ESTUDIO: (NODG vs DG) (OS- vs OS+) (NOI vs IDG)	<ul style="list-style-type: none"> • Media. • Mediana. • Intervalos de confianza de los parámetros de tendencia central (media y mediana). • Medidas de dispersión. • Rango intercuartílico. • Percentiles. 	<ul style="list-style-type: none"> • Media. • Mediana. • Intervalos de confianza de los parámetros de tendencia central (media y mediana). • Medidas de dispersión. • Rango intercuartílico. • Percentiles.

b) Análisis estratificado.

Se efectúa un análisis estratificado introduciendo los factores clínicos disponibles potencialmente modificadores (edad y peso), así como una variable potencialmente distorsionadora (semana de gestación en la prueba bioquímica).

El objetivo es detectar patrones de evolución, tendencias o divergencias, y valorar si, ante la presencia de alguno de dichos factores, la relación entre la variable independiente (PAPP-A, β -hCG o TN) y el efecto (diabetes o intolerancia) sufre algún tipo de modificación –i.e. si se intensifica o se atenúa.

Para ello se exploran analítica y gráficamente los parámetros de tendencia central (media y/o mediana) de los pares de estudio estratificados.

Se toman en consideración para un análisis de asociación estadística los subgrupos resultantes del análisis estratificado en los que se aprecian diferencias que sugieran que el factor modificador pueda tener algún tipo de incidencia en la relación entre la variable independiente y la condición, siempre que dichas diferencias sean consistentes con la evidencia clínica disponible.

c) Análisis de normalidad y contraste de hipótesis para establecer la existencia de asociación entre variable independiente y condición de la gestante.

Antes de determinar la existencia de diferencias significativas entre las muestras de los grupos de control y casos, se ejecuta el test de bondad de ajuste de *Kolmogorov-Smirnov* para muestras independientes. Se testea de esta forma la distribución de las muestras susceptibles de contraste de hipótesis para determinar la normalidad de su distribución y si procede un contraste de hipótesis paramétrico o no paramétrico. Consiste en un procedimiento estadístico de "bondad de ajuste" que permite medir el grado de concordancia existente entre la distribución de un conjunto de datos y una distribución teórica específica (en nuestro caso la distribución normal) y determinar si los datos provienen de una población que tiene dicha distribución teórica especificada.

Las pruebas de normalidad efectuadas en cada par de estudio en relación a cada una de las variables independientes se muestran en la siguiente tabla:

Figura 14: pruebas de normalidad efectuadas a los grupos de los pares de estudio.

variable independiente	par de estudio NODG vs DG			
	NODG		DG	
	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)
PAPP-A	5,991	0,000	2,120	0,000
β hCG	6,615	0,000	2,123	0,000
TN	6,535	0,000	1,842	0,002

variable independiente	par de estudio NOI vs IDG			
	NOI		IDG	
	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)
PAPP-A	5,923	0,000	2,323	0,000
β hCG	6,571	0,000	2,267	0,000
TN	6,453	0,000	1,934	0,001

variable independiente	par de estudio OS- vs OS+			
	OS-		OS+	
	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)
PAPP-A	5,473	0,000	3,239	0,000
β hCG	5,947	0,000	3,524	0,000
TN	5,787	0,000	3,683	0,000

Se llevan a cabo pruebas adicionales de normalidad cuando, como resultado del estudio estratificado, se detectan diferencias potencialmente significativas en determinados subgrupos dentro de cada par de estudio. En concreto, y a consecuencia de los resultados analíticos que más adelante se exponen, se realizan las siguientes pruebas de normalidad:

Figura 15: pruebas de normalidad efectuadas en subgrupos.

variable independiente: PAPP-A	par de estudio NODG vs DG			
	NODG		DG	
	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)
gestantes mayores de 35 años	3,510	0,000	1,395	0,041
gestantes mayores de 38 años	2,356	0,000	1,267	0,081
gestantes menores de 35 años	4,903	0,000	1,768	0,004
gestantes de más de 70 kg (en sem.gest. 10-13)	3,125	0,000	1,290	0,072
gestantes con prueba bioquímica en semana 13	2,553	0,000	0,714	0,687

variable independiente: PAPP-A	par de estudio OS- vs OS+			
	OS-		OS+	
	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)	Z de K-S	Sig.Asint. (bilat.)
gestantes con prueba bioquímica en semana 13	1,798	0,003	2,190	0,000

Las pruebas de normalidad efectuadas rechazan la asunción de la hipótesis nula (H_0) de que las distribuciones son normales, por lo que para todos los grupos comparados se ha ejecutado un contraste de hipótesis no paramétrico.

Tras las pruebas de normalidad, se procede al contraste de hipótesis, donde se explora la asociación entre la variable independiente y dependiente. Se trata de establecer si existen diferencias significativas entre los marcadores (variables independientes) de las gestantes sanas-control y las que desarrollan la condición (diabéticas gestacionales, intolerancia a la glucosa o resultado positivo en el test de despistaje).

Se emplea la prueba *U de Mann-Whitney* para determinar si dos muestras proceden de la misma población. La validez de su aplicación descansa en que:

- Las distribuciones no son normales.

- Las observaciones de ambos grupos son independientes.
- Cada muestra es, o puede ser, diferente en tamaño.
- Las observaciones son variables ordinales o continuas.

Para cada variable independiente se establece la hipótesis de igualdad en las distribuciones entre casos y controles y se ejecuta el correspondiente contraste para determinar si las muestras corresponden o no a la misma población. Si se descarta la hipótesis nula (H_0) concluiremos que existe, al nivel de significancia preestablecido, una diferencia significativa en el parámetro central (mediana) y en la distribución de la variable independiente (heterogeneidad de las muestras) y que, por tanto, pertenecen a poblaciones distintas. En tales casos estableceremos una asociación entre la variable independiente (PAPP-A, β -hCG o TN) y el efecto (diabetes o intolerancia a la glucosa, fundamentalmente).

El contraste de hipótesis se hace extensivo al análisis estratificado cuando se detecten diferencias potencialmente significativas en determinados subgrupos de la muestra.

d) Evaluación de la fuerza de asociación y poder predictivo.

Cuando los contrastes de hipótesis arrojan diferencias estadísticamente significativas se procede a reevaluar la asociación y estimar tanto la fuerza de la asociación como el valor predictivo de los marcadores o variables independientes respecto a la condición objeto de estudio.

La fuerza de la asociación se evalúa mediante un análisis bivariante simple de *Chi cuadrado* y la estimación del *Odds Ratio* (OR). Esta razón nos dará una medida de la fuerza de asociación entre el factor de riesgo y la condición:

- El factor de riesgo o exposición lo constituye presentar un valor de la variable independiente (PAPP-A, β -hCG o TN) en un determinado percentil (percentiles 1, 5, 10, 20, 50, 80, 90, 95 y 99).
- Por su parte, la condición será -dependiendo del par de estudio-: la diabetes gestacional, la intolerancia a la glucosa o un resultado positivo en el test de despistaje.

El OR, como medida de la fuerza de la asociación, es el cociente entre la proporción de individuos que presentan la condición y están expuestos al factor de riesgo, y la proporción de aquellos sanos también expuestos al factor; es decir, en nuestro caso ofrece la razón entre la proporción de gestantes que desarrollan la condición con un valor de la variable igual o inferior a un percentil considerado, y la proporción de las gestantes sanas que presentan también un valor igual o por debajo de dicho percentil. Muestra cuánto más probable es que las gestantes diabéticas (o intolerantes, según la condición estudiada) presenten un determinado nivel máximo de la variable independiente (PAPP-A, β -hCG o TN) frente a que lo hagan las no diabéticas.

Basándonos en *Jaeschke, Guyatt y Sackett* se tomará en consideración la siguiente escala a la hora de valorar la importancia de la fuerza de la asociación medida por el OR:

- OR >10, asociación muy fuerte.
- OR entre 5 y 10, asociación fuerte.
- OR entre 2 y 5, asociación moderada.
- OR >1 a <2, asociación débil.

Como parámetros de poder predictivo se estiman:

- La sensibilidad, la cual proporciona una medida de la capacidad del marcador para dar como casos positivos los casos realmente enfermos. En nuestro caso será la proporción de gestantes con la condición en las que el valor medido de la variable independiente se encuentra en un determinado percentil.
- La especificidad, la cual proporciona una medida de la capacidad de los marcadores para dar como casos negativos los casos realmente sanos; en nuestro caso será la proporción de gestantes sin la condición (o sanas) en las que el valor medido de la variable independiente se encuentra más allá del percentil considerado.
- Valor predictivo positivo (VPP), o probabilidad de desarrollar realmente la condición cuando el resultado de la prueba es positivo. En nuestro caso es la probabilidad de desarrollar diabetes, intolerancia u obtener un resultado positivo en la prueba de despistaje cuando el valor medido de la variable independiente se sitúa en un determinado percentil.
- Valor predictivo negativo (VPN), o probabilidad de no desarrollar realmente la condición cuando el resultado de la prueba es negativo. En nuestro caso es la probabilidad de no desarrollar diabetes, intolerancia u obtener un resultado positivo en la prueba de despistaje cuando el valor medido de la variable independiente se sitúa fuera de un determinado percentil.

Estos cuatro parámetros serán estimados, pero su relevancia es reducida debido a la baja incidencia de la diabetes gestacional y a que no se dispone de una prueba diagnóstica adicional y complementaria en la fecha de medición de las variables independientes. Como el poder predictivo de estos parámetros se ve fuertemente influenciado por la prevalencia de la enfermedad, estimaremos las razones de verosimilitud positiva y negativa, las cuales no se ven influenciados por dicha prevalencia de la enfermedad o condición:

- Razón de Verosimilitud +: es la relación de la probabilidad de un resultado positivo (valor de la variable independiente dentro de un determinado percentil) en gestantes con la condición frente a la probabilidad de un resultado positivo en gestantes sanas.

- *Razón de Verosimilitud* -: es la relación de la probabilidad de un resultado negativo (valor de la variable independiente fuera del percentil considerado) en gestantes con la condición frente a la probabilidad de un resultado negativo en gestantes sanas.

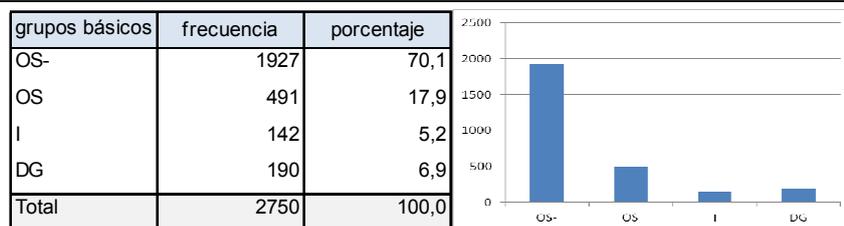
La *Razón de Verosimilitud* ofrece una medida similar al *Odds Ratio*, si bien la primera tiende a suavizar los valores de éste último, ya que emplea -tanto para las que sufren la condición como las sanas- cocientes de probabilidad de las expuestas frente al total, en lugar de proporciones entre expuestas y no expuestas.

6.5. DESCRIPCIÓN ESTADÍSTICA DE LA MUESTRA.

Comenzamos el análisis estadístico con una descripción de la muestra compuesta de 2.750 mujeres. La descripción se lleva a cabo de acuerdo de los parámetros disponibles.

Los valores obtenidos para los distintos parámetros (incidencia general de diabetes, incidencia de diabetes o intolerancia a la glucosa en función de la edad y del peso, etc.) son coherentes con la experiencia, evidencia, datos y estudios disponibles.

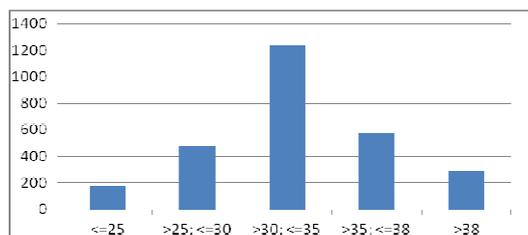
Figura 16: frecuencia de los grupos básicos objeto de estudio.



La tabla y el gráfico anteriores muestran que, en la muestra estudiada, la incidencia de la diabetes gestacional es de un 6,9%; una incidencia que podemos considerar normal y consistente con la literatura disponible, la cual estima la incidencia entre un 3 y un 12%.

Figura 17: frecuencia y estadísticos de edad y agrupación por edades.

	edad	agrup.edades
N	Válidos	2750
	Perdidos	0
Media	32,69	34,64
Mediana	33,11	35,00
Moda	34,03	35
Desv. tp.	4,58	
Varianza	20,96	
Rango	30,21	
Mínimo	14,42	
Máximo	44,63	
grupos de edad	frecuencia	porcentaje
<=25	177	6
>25; <=30	476	17
>30; <=35	1234	44,87
>35; <=38	574	20,87
>38	289	11
Total	2750	100,00



El 44,8% de las gestantes de la muestra se encuentran entre los 30-35 años de edad. La edad materna es un factor de riesgo importante en la diabetes gestacional o alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono. En el mundo desarrollado la edad materna está aumentando y con ello la incidencia de diabetes gestacional; varios estudios ponen el corte de edad en más de 35 años¹⁰⁶ para considerar la edad materna como riesgo¹⁰⁷.

En nuestra muestra poblacional hay un 11% de mujeres con edad superior a 38 años, con una incidencia de diabetes que asciende al 13.5%.

Figura 18: frecuencia y estadísticos de peso y agrupación por peso.

		peso.gestante	rangos.peso
N	Válidos	2650	2650
	Perdidos	100	100
Media		63,93	68,80
Error típ. de la media		0,22	,35
Mediana		61,90	65
Moda		60,00	60,000
Desv. típ.		11,32	
Varianza		128,13	
Rango		88,80	
Mínimo		32,00	50
Máximo		121	121

rangos peso	frecuencia	Porcentaje
<=50	166	6,04
>50; <=55	399	14,51
>55; <=60	562	20,44
>60; <=65	545	19,82
>65; <=70	360	13,09
>70; <=75	245	8,91
>75; <=80	141	5,13
>80 (hasta 121 kg)	232	8,44
Total	2650	96,36
Perdidos	100	3,64
Total	2750	100,00

Rango de Peso	Frecuencia
<=50	~166
>50; <=55	~399
>55; <=60	~562
>60; <=65	~545
>65; <=70	~360
>70; <=75	~245
>75; <=80	~141
>80 (hasta 121 kg)	~232

En nuestra muestra la media de peso materno es de 63,93Kg, con más de un 53% de gestantes en la franja de 55 a 70 kg, que puede mantener una media de 20-25 IMC para la talla media de la población. Existen múltiples estudios que asocian¹⁰⁸ el peso materno como factor de riesgo de diabetes gestacional. Esta muestra tiene una distribución de peso muy homogénea, solo un 13.5% tiene un peso superior a 75 kg. Un peso superior a 70 kilos para la media de talla poblacional, tendrá un IMC de 25-27, considerado como sobrepeso grado I por la OMS¹⁰⁹. Al tener dicha distribución el peso no actúa como sesgo de padecer diabetes gestacional por si solo, y no debilita el valor de los marcadores bioquímicos a estudio¹¹⁰.

6.5.1. Distribución en el par de estudio NODG vs DG.

Se describe el par de estudio NODG vs DG, mostrando la frecuencia de la diabetes gestacional (DG) de acuerdo al peso y edad de las gestantes.

Figura 19: incidencia de la diabetes gestacional (grupo DG) por grupos de edad (par de estudio NODG vs DG).

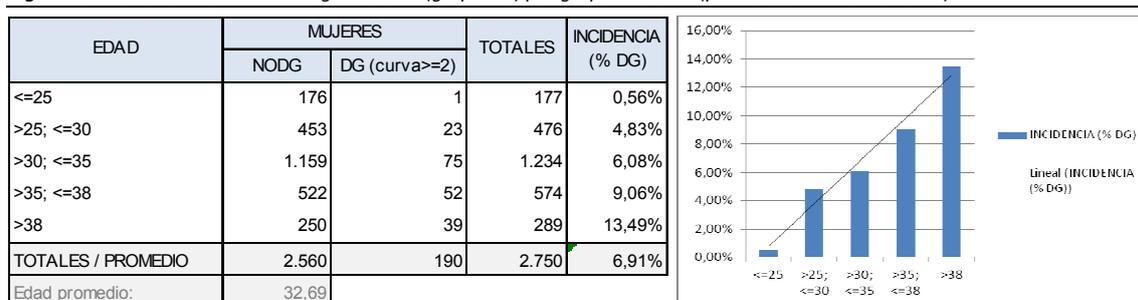
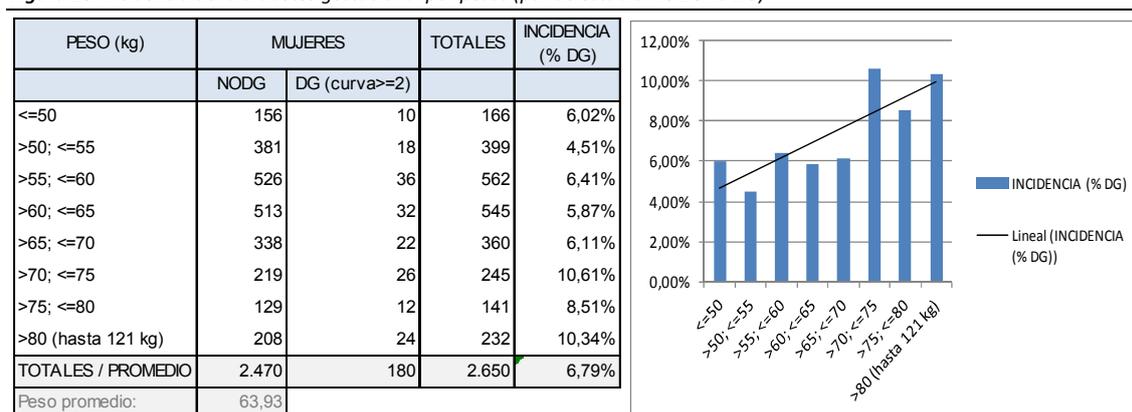


Figura 20: incidencia de la diabetes gestacional por pesos (par de estudio NODG vs DG).



Se aprecia cómo la incidencia de la diabetes gestacional aumenta con la edad y peso materno. Ambos factores están descritos como factores de riesgo. Existe una clara tendencia ascendente con la edad y peso maternos a padecer diabetes gestacional.

6.5.2. Distribución en el par de estudio NOI vs IDG.

Se describe el par de estudio NOI vs IDG, mostrando la frecuencia conjunta de la intolerancia a la glucosa y la diabetes gestacional (IDG) en función del peso y edad de las gestantes.

Figura 21: distribución por edades de las gestantes en el par de estudio NOI vs IDG (incidencia de la intolerancia a la glucosa).

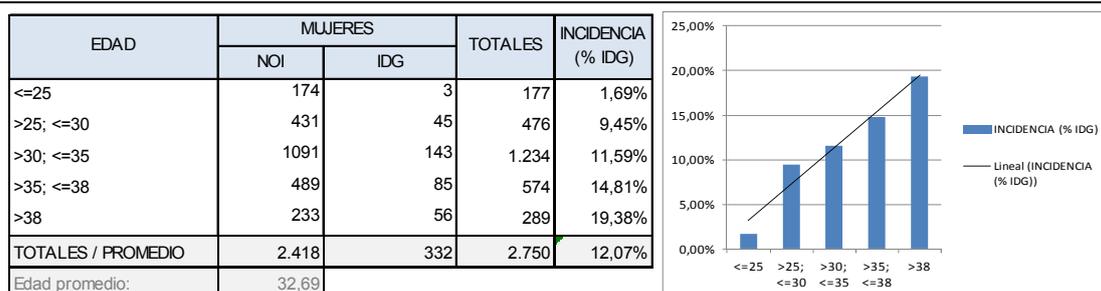
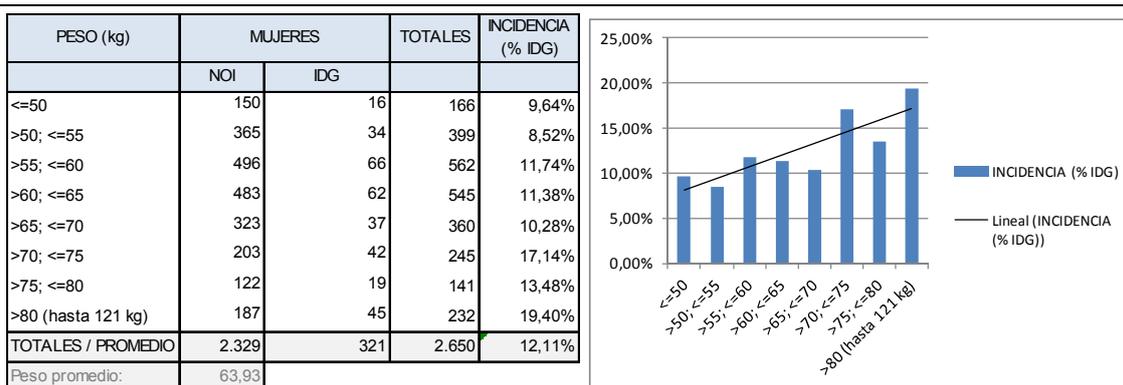


Figura 22: distribución por peso de las gestantes en el par de estudio NOI vs IDG (incidencia de la intolerancia a la glucosa).



Se observa una tendencia similar que la del primer par de estudio. La incidencia de mujeres con intolerancia a los hidratos de carbono (incluyendo gestantes DG) tiene una tendencia claramente ascendente por edad y peso materno.

La edad y el peso parecen claros factores de riesgo a la hora de padecer una alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono.

6.5.3. Distribución en el par de estudio OS- vs OS+.

Se describe el par de estudio OS- vs OS+, mostrando la frecuencia de resultado positivo en la prueba de *O'Sullivan* (OS) en función del peso y edad de las gestantes.

Figura 23: distribución por edades de las gestantes en el par de estudio OS- vs OS+ (incidencia de un resultado positivo en la prueba de despistaje).

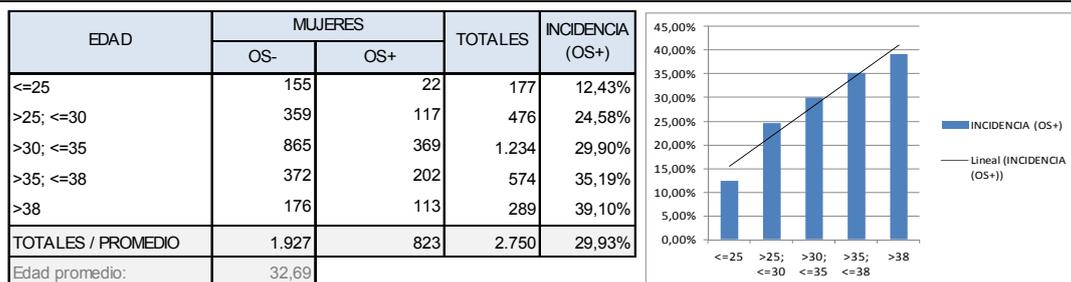
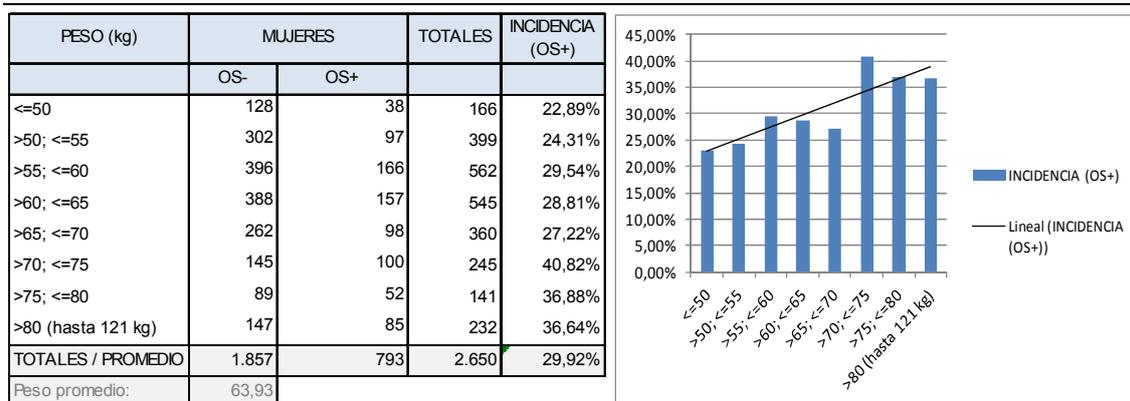


Figura 24: distribución por peso de las gestantes en el par de estudio OS- vs OS+ (incidencia de un resultado positivo en la prueba de despistaje).



Un resultado positivo en la prueba de *O'Sullivan* parece correlacionar positivamente con un peso elevado o una edad avanzada de la gestante, factores de riesgo en la alteración del metabolismo de los hidratos de carbono y de la diabetes gestacional. Hay que tener en cuenta que un resultado positivo en dicha prueba está relacionado con un posible trastorno en el metabolismo de los hidratos de carbono o predictor de alguna alteración futura.

6.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA VARIABLE PAPP-A.

Procedemos al análisis de la PAPP-A y su relación con los efectos a estudiar de acuerdo a los pares de estudio definidos, esto es:

- La diabetes gestacional en el par de estudio NODG vs DG.
- La intolerancia a la glucosa en el par de estudio NOI vs IDG.
- Un resultado positivo en la prueba de despistaje en el par de estudio OS- vs OS+.

Acometemos el análisis analizando la PAPP-A en cada una de los pares junto a una exploración y análisis estratificado en función de los 3 factores clínicos relevantes (edad, peso y semana de gestación en la prueba bioquímica).

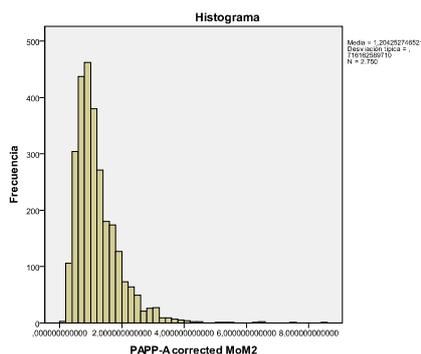
6.6.1. Estadísticos de la variable PAPP-A.

En las siguientes tablas se muestran los estadísticos de la variable PAPP-A para el conjunto de la muestra (2.750 gestantes):

Figura 25: estadísticos de la variable PAPP-A.

Descriptivos				Estadístico	Error típ.
PAPP-A corrected MoM2	Media			1,204252746	,0136566847
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior		1,177474346	
		Límite superior		1,231031147	
	Media recortada al 5%			1,136597009	
	Mediana			1,028254435	
	Varianza			,513	
	Desv. típ.			,7161625897	
	Mínimo			,1674834994	
	Máximo			8,433418858	
	Rango			8,265935359	
	Amplitud intercuartil			,7740687466	
	Asimetría			2,279	,047
	Curtosis			10,910	,093

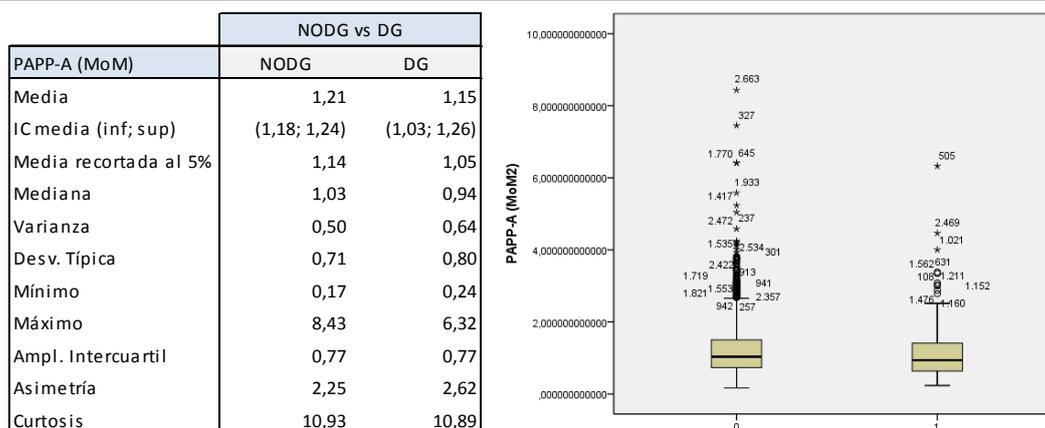
		Percentiles						
		5	10	25	50	75	90	95
Promedio ponderado (definición 1)	PAPP-A corrected MoM2	,4251561500	,5273284874	,7255584358	1,028254435	1,499627182	2,083918621	2,507897005
Bisagras de Tukey	PAPP-A corrected MoM2			,7255600791	1,028254435	1,499578059		



6.6.2. Análisis de la PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG.

El primer par de estudio que analizamos es el de NODG vs DG, es decir las no diabéticas gestacionales frente a las diabéticas gestacionales en relación a la PAPP-A. En la siguiente tabla se muestran los principales estadísticos de la PAPP-A en cada uno de los 2 grupos del par.

Figura 26: estadísticos y diagrama de cajas de la variable PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG (NODG=0; DG=1).



El valor de la mediana es de 1,03 entre las gestantes no diabéticas gestacionales (grupo NODG), por 0,94 entre las diabéticas gestacionales (DG).

a) Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional e Intervalo de Confianza de la mediana de la PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG.

Como consecuencia de la no normalidad de la distribución de las muestras, efectuamos un contraste no paramétrico para determinar la heterogeneidad en la distribución del valor de la PAPP-A y una diferencia estadísticamente significativa entre la mediana de las gestantes sanas y de las diabéticas gestacionales.

Figura 27: test de Mann-Whitney para el par de estudio NODG vs DG.

variable independiente	par de estudio NODG vs DG	
	Z	Sig.Asint. (bilat.)
PAPP-A	-2,404	0,016

Existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos NODG vs DG ($p=0,016$) para la variable PAPP-A, por lo que la PAPP-A entre sanas y diabéticas gestacionales se distribuye de forma distinta y sus medianas difieren.

Procedemos a estimar el intervalo de confianza de la mediana de la PAPP-A para reforzar la conclusión del test.

Figura 28: intervalo de confianza (IC) para la variable PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG.

variable; par de estudio	NODG			DG		
	mediana	lím. inferior	lím. superior	mediana	lím. inferior	lím. superior
PAPP-A; par de estudio NODG vs DG	1,034	1,011	1,054	0,939	0,864	1,006

Nivel de Confianza: 95%.

Estadístico para estimar el intervalo de confianza de la mediana: $h = (n - Z(n-1)^{1/2})/2$

Intervalo de confianza: $x_h \leq Me \leq x_{n-h+1}$

Se aprecia que los *Intervalos de Confianza* (a un nivel de significancia del 95%) difieren y no se solapan. Este resultado refuerza lo establecido en el contraste de hipótesis. No obstante, reevaluaremos la asociación posteriormente al estimar el *Odds Ratio*.

6.6.3. Análisis estratificado de la variable PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG.

A partir de esta exploración determinaremos si existen subgrupos dentro del par de estudio NODG vs DG que, por el patrón o tendencias potencialmente significativas que exhiben, merecen un análisis específico.

a) Análisis en función de la edad en el par de estudio NODG vs DG.

En ambos grupos (NODG y DG) la PAPP-A tiende a subir con la edad si bien, y de forma persistente, la PAPP-A es menor en las diabéticas gestacionales que en las gestantes sanas.

La literatura no se pone de acuerdo en el corte de edad de riesgo de padecer diabetes gestacional, pero el corte viene a situarse entre los 35 y 38 años.

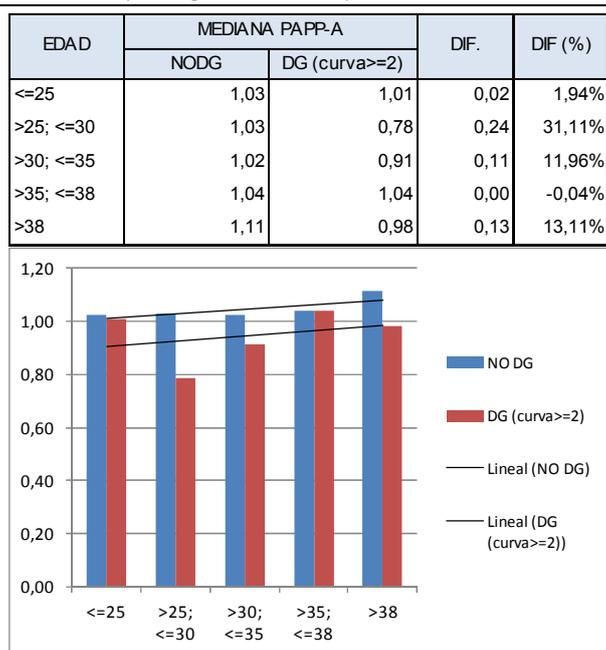
Se obtienen diferencias acusadas en el valor de la PAPP-A de las diabéticas gestacionales en mujeres de menos de 30-35 años (el fuerte incremento en el valor de

la PAPP-A en las gestantes diabéticas de menos de 25 años corresponde al valor de una sola gestantes diabética en este grupo, por lo que no es representativo).

La gráfica muestra también diferencias que podrían ser significativas en las mayores de 35 y 38 años.

Analizaremos la relación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en estos 3 subgrupos.

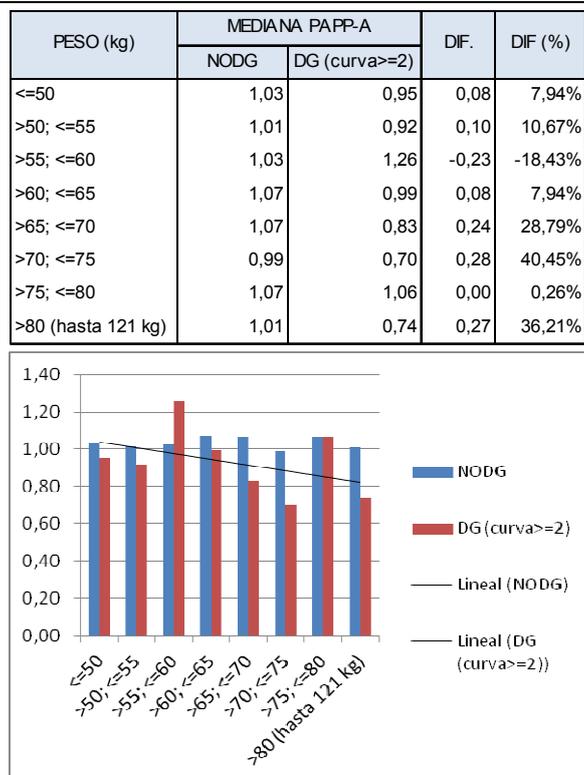
Figura 29: valor de la mediana de la PAPP-A por rangos de edad en el par de estudio NODG vs DG.



b) Análisis en función del peso en el par de estudio NODG vs DG:

En relación al peso se observa cómo las líneas de tendencia de la PAPP-A divergen de forma notable a medida que las gestantes tienen un mayor peso.

El peso medio de las gestantes de la muestra es de 63,9Kg. Un peso de 70Kg con una talla media de 1,60m corresponde a un IMC de 27 (un IMC de 25-27 es sobrepeso de grado 1 según la OMS). Teniendo en cuenta lo anterior y que la mediana de la PAPP-A muestra divergencias importantes a partir de los 70Kg, fijamos este peso como punto de corte para analizar la relación entre la PAPP-A y la diabetes gestacional en mujeres de mayor peso.

Figura 30: valor de la mediana de la PAPP-A por rangos de peso en el par de estudio NODG vs DG.

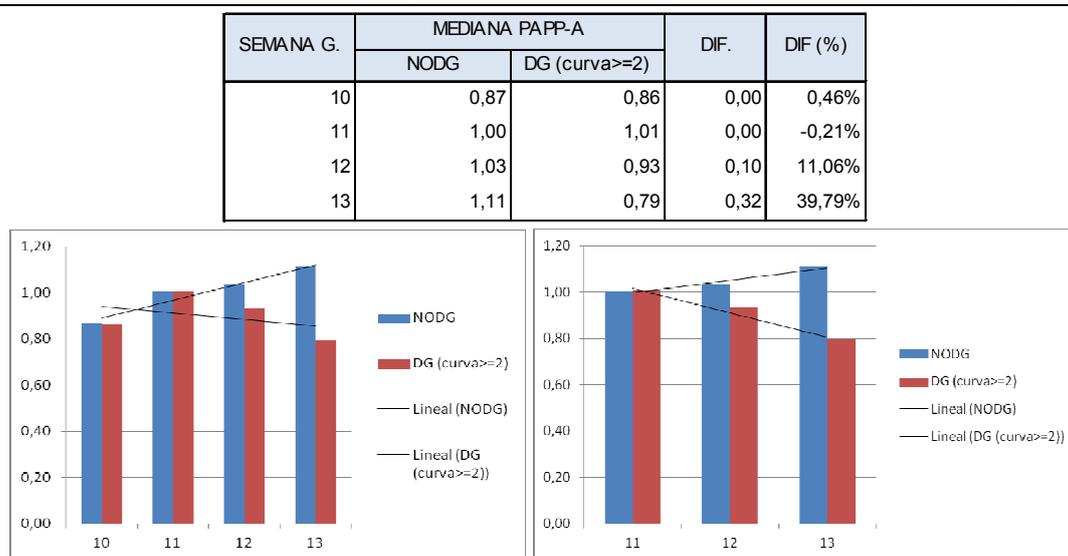
c) Análisis en función de la semana de la prueba bioquímica en par de estudio NODG vs DG.

Los valores de la mediana parecen divergir entre gestantes sanas y diabéticas a partir de un momento o edad gestacional.

Por tanto, la semana de gestación en que se mide la PAPP-A podría ser un factor confundente, y ser relevante a la hora de determinar la fuerza de la asociación con la diabetes gestacional y el poder predictivo de la PAPP-A como marcador.

La mediana de la PAPP-A en las gestantes sanas aumenta a mayor edad gestacional. Por el contrario, en las diabéticas gestacionales la PAPP-A muestra valores menores desde la semana 12 (tiende a caer), siendo la diferencia y caída en su valor aún más acusadas en la semana 13.

Dada la divergencia existente tomamos la semana 13 como punto de corte para estudiar diferencias en la PAPP-A entre gestantes sanas y diabéticas gestacionales.

Figura 31: valor de la mediana de la PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG en función de la semana de la prueba bioquímica.**d) Test U de Mann-Whitney y estadísticos.**

La exploración estratificada nos lleva a tomar en consideración los siguientes subgrupos de interés:

- Gestantes menores de 35 años.
- Gestantes mayores de 35 años.
- Gestantes mayores de 38 años.
- Gestantes de más de 70 Kg.
- Gestantes con prueba bioquímica realizada en la semana 13.

Analizamos a continuación si puede establecerse una asociación entre la PAPP-A y la diabetes gestacional en estos subgrupos y calculamos el intervalo de confianza de la mediana en las gestantes NODG y las gestantes DG en dichos subgrupos.

Figura 32: test de Mann-Whitney para los subgrupos de interés dentro del par de estudio NODG vs DG.

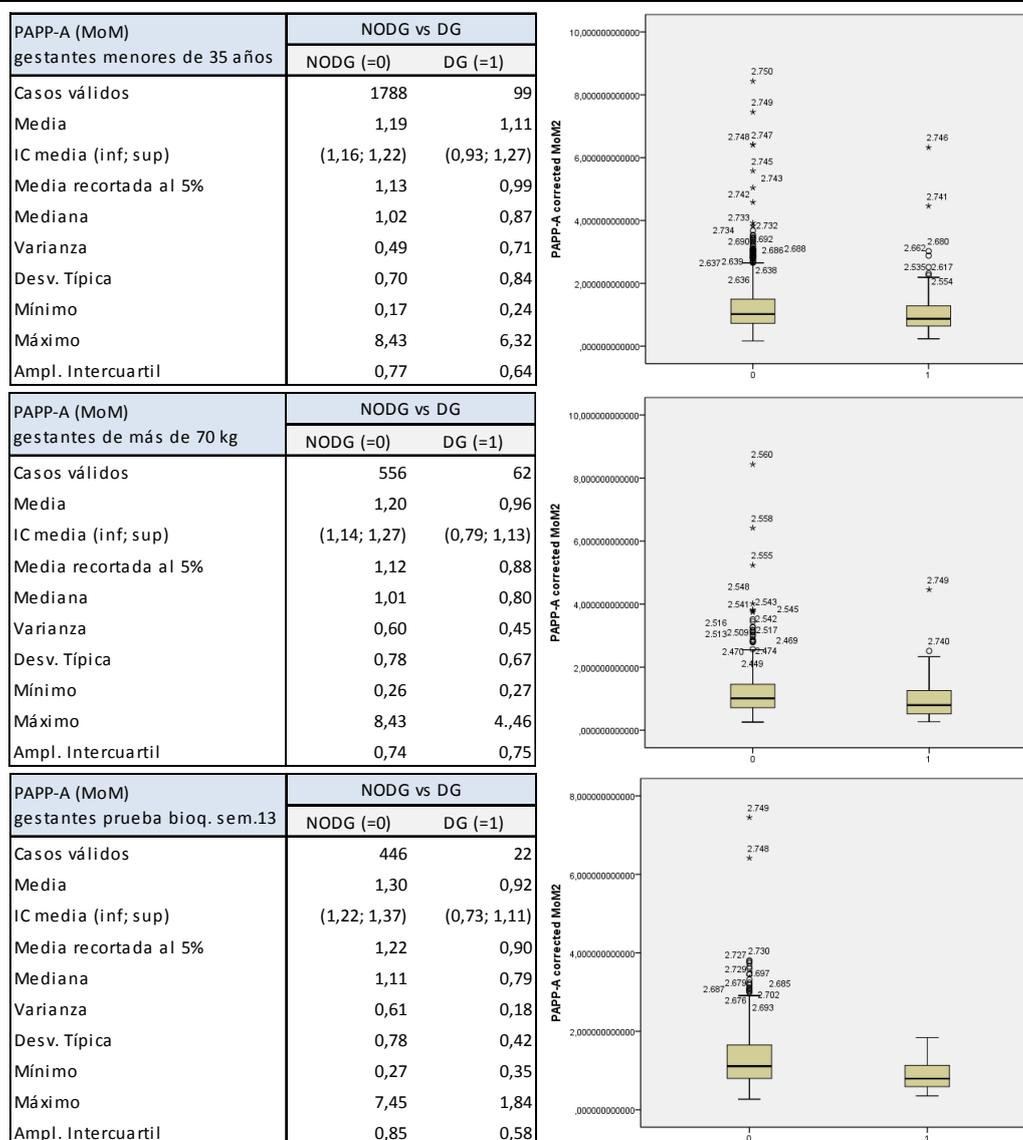
variable independiente: PAPP-A	par de estudio NODG vs DG	
	Z	Sig.Asint. (bilat.)
gestantes mayores de 35 años	-1,182	0,237
gestantes mayores de 38 años	-1,133	0,257
gestantes menores de 35 años	-2,420	0,016
gestantes de más de 70 kg (en sem.gest. 10-13)	-3,246	0,001
gestantes con prueba bioquímica en semana 13	-2,587	0,010

Existen diferencias estadísticamente significativas en el valor de la PAPP-A entre las gestantes NODG y DG en los subgrupos de gestantes menores de 35 años ($p=0,016$) gestantes de más de 70 Kg ($p=0,001$) y gestantes con prueba bioquímica en la semana 13 ($p=0,010$). El p value en estos subgrupos es menor que para la muestra completa de gestantes.

A pesar de que la edad es un factor de riesgo en la diabetes, la diferencia de la PAPP-A entre gestantes sanas y diabéticas gestacionales en mayores de 35 y 38 años no es estadísticamente significativo ($p[>35\text{años}]=0,237$; $p[>38\text{ años}]=0,257$).

En la siguiente tabla se muestra los estadísticos más relevantes de los subgrupos con diferencias estadísticamente significativas en la PAPP-A entre gestantes NODG y DG.

Figura 33: estadísticos de la PAPP-A en los subgrupos del estudio estratificado estadísticamente significativos.



Es de destacar que la diferencia en el valor de la mediana de la PAPP-A entre gestantes NODG y DG en estos subgrupos es sensiblemente mayor a la que existe para el conjunto de la muestra.

Entre las diabéticas gestacionales con prueba bioquímica en la semana 13 no se observan valores de la PAPP-A por encima de 1,84, mientras que un cuarto de las gestantes sanas toma valores por encima de dicho valor.

El número de valores atípicamente altos en las gestantes sanas parece sensiblemente alto. Y algo similar sucede en el subgrupo de gestantes de más de 70 años, tal como se aprecia en sus respectivos diagramas de cajas.

Figura 34: intervalo de confianza (IC) de la mediana para la PAPP-A en subgrupos de estudio estratificado estadísticamente significativos.

variable independiente: PAPP-A	NODG			DG		
	mediana	lím. inferior	lím. superior	mediana	lím. inferior	lím. superior
gestantes menores de 35 años	1,022	0,997	1,052	0,871	0,797	0,983
gestantes de más de 70 kg (en sem.gest. 10-13)	1,011	0,964	1,064	0,797	0,653	0,951
gestantes con prueba bioquímica en semana 13	1,113	1,053	1,189	0,795	0,617	1,102

Nivel de Confianza: 95%.

Estadístico para estimar el intervalo de confianza de la mediana: $h = (n-Z(n-1)^{1/2})/2$

Intervalo de confianza: $x_h \leq Me \leq x_{n-h+1}$

En los 3 subgrupos analizados las medianas difieren significativamente entre gestantes sanas y diabéticas gestacionales.

En los subgrupos de gestantes de menos de 35 años y de gestantes de más de 70 Kg de peso, la medianas de la PAPP-A y sus *Intervalos de Confianza* en las gestantes sanas tienen valores muy similares:

- En el subgrupo de mujeres menores de 35 años, la mediana de la PAPP-A en gestantes sanas es 1,022, mientras que en las diabética el valor es sensiblemente inferior, situándose en 0,871.
- En el subgrupo de mujeres de más de 70 Kg las diferencias son más acusadas: la mediana de la PAPP-A de las gestantes sanas se sitúa en 1,011, frente a un valor de 0,797 en las diabéticas gestacionales.

La mayor diferencia se aprecia en el subgrupo de gestantes que se hicieron la prueba bioquímica en la semana 13. Aquí, el valor de la mediana en las gestantes sanas arroja un valor de 1,113 frente a un valor de 0,795 en las diabéticas gestacionales. No obstante, los *Intervalos de Confianza* se solapan –a diferencia de lo que sucede en los otros 2 subgrupos-, a causa muy probablemente del tamaño de la muestra: tengamos en cuenta que de las mujeres sometidas a la prueba bioquímica en la semana 13 (n=488) sólo 22 fueron diagnosticadas posteriormente como diabéticas gestacionales.

6.6.4. Estudio de la fuerza de asociación: Análisis bivariante simple de la PAPP-A en el par de estudio NODG vs DG.

Procedemos a estudiar la fuerza o grado de la asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional, estimando el *Odds Ratio* (OR) para los percentiles más relevantes. Este ratio ofrece una medida de la probabilidad de que una gestante con diabetes gestacional se encuentre en un determinado percentil, frente a la probabilidad de que lo haga una gestante que no sufra tan condición.

El los percentiles 1 a 50, el OR compara la probabilidad de que una gestante que desarrollará diabetes gestacional tenga un valor de la PAPP-A menor o igual que el percentil considerado frente a la probabilidad de que lo haga una gestante no diabética. Por el contrario, en los percentiles 80 a 99 el OR compara la probabilidad de encontrar una diabética gestacional con un valor de la PAPP-A igual o por encima del percentil considerado frente a la posibilidad de encontrar a una no diabética gestacional. Si se toman los recíprocos del valor del OR en los percentiles 80 a 99, estaremos comparando la probabilidad de que una gestante no diabética gestacional obtenga un valor de PAPP-A por encima de del percentil frente a la probabilidad de que lo obtenga una diabética gestacional.

La propia estimación del *Odds Ratio* servirá para reevaluar la existencia de asociación entre la PAPP-a y la diabetes gestacional.

El análisis lo realizamos tanto para el conjunto de la muestra como para aquellos subgrupos del análisis estratificado que han mostrado diferencias significativa en el valor de la mediana entre las diabéticas gestacionales y las gestantes sanas, asociándose por tanto un menor valor de la PAPP-A en la prueba bioquímica con la posibilidad de desarrollar diabetes gestacional.

Se destacan en negrita los percentiles en los que el *p value* es estadísticamente significativo y, en dichos casos, se estiman los parámetros para valorar el poder predictivo de la PAPP-A como marcador en el desarrollo de diabetes gestacional: *sensibilidad* y la *especificidad* (relacionados con la validez del maracador/prueba), los *valores predictivos positivo y negativo* (que evalúan la seguridad de la prueba con valor clínico) y las *razones de verosimilitud positiva y negativa* (que tienen en cuenta la incidencia de la condición).

En el apartado de metodología estadística ya indicamos la escasa relevancia de la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos a causa de la baja prevalencia de la diabetes gestacional. Por esta razón, centraremos el análisis en la valoración del *Odds Ratio*. Por su parte, la *Razón de Verosimilitud* atenuará la fuerza expresada por el *Odds Ratio*.

Figura 35: Odds Ratios en el par de estudio NODG vs DG (muestra completa).

Var. Independiente: PAPP-A		Incidencia de Diabetes gestacional (NODG vs DG)									
percentil	valor PAPP-A (MoM)	OR (Odds Ratio)	IC (95%) inferior- superior		p value	sensibilidad	especificidad	VPP	VPN	R.V. +	R.V. -
PAPP-A <= perc. 1	<= 0,296	1,695	,506	5,681	,387						
PAPP-A <= perc. 5	<= 0,425	1,854	1,076	3,192	,024	8,42%	95,27%	11,68%	93,34%	1,78	0,96
PAPP-A <= perc. 10	<= 0,528	1,687	1,112	2,558	,013	15,26%	90,35%	10,51%	93,49%	1,58	0,94
PAPP-A <= perc. 20	<= 0,664	1,748	1,260	2,424	,001	29,47%	80,70%	10,18%	93,91%	1,53	0,87
PAPP-A <= perc. 50	<= 1,028	1,344	,998	1,810	,051						
PAPP-A >= perc. 80	>= 1,659	,865	,590	1,270	,460						
PAPP-A >= perc. 90	>= 2,084	,817	,482	1,385	,452						
PAPP-A >= perc. 95	>= 2,507	1,187	,629	2,239	,596						
PAPP-A >= perc. 99	>= 3,663	1,695	,506	5,681	,387						
Nº de gestantes NODG:	2560										
Nº de gestantes DG=	190										
TOTAL:	2750										

Tomando la muestra completa, un nivel bajo de PAPP-A (en los percentiles P5, P10 y P20) se asocia con una mayor probabilidad de desarrollar diabetes gestacional. Especialmente significativo es el percentil 20, con un *p value* igual 0,001.

En cuanto a la fuerza de la asociación, la probabilidad de que una diabética gestacional presente un nivel bajo de PAPP-A es entre 1,68 y 1,85 veces mayor (dependiendo del percentil) que la probabilidad de que una gestante que no desarrolle tal condición presente un valor de la PAPP-A en el mismo percentil.

Los *Intervalos de Confianza* –debido en gran medida al tamaño de la muestra- son amplios, lo que reduce sensiblemente la precisión de la estimación. El límite inferior del intervalo de confianza al 95% se aproxima a 1 en los 3 percentiles significativos, por lo que la validez y fuerza de la asociación deben tomarse con precaución.

En el percentil P1 la asociación también podría ser destacable, pero en este caso el resultado no es estadísticamente significativo ($p=0,387$).

En los percentiles altos 80, 90, 95 y 99, sin embargo un elevado nivel de PAPP-A no parece actuar como factor protector ni asociarse, por tanto, con una menor probabilidad de desarrollar diabetes gestacional.

La *Razón de Verosimilitud Positiva* (RV+) suaviza ligeramente el valor del OR. La *Razón de Verosimilitud negativa* (RV-) nos indica que la probabilidad de que el valor de la PAPP-A de una diabética gestacional se encuentre por encima del percentil P5, P10 o P20 es similar a la de las gestantes sanas.

Figura 36: Odds Ratios en el subgrupo de gestantes menores de 35; par de estudio NODG vs DG.

Var. Independiente: PAPP-A (gestantes de menores de 35 años)		Incidencia de Diabetes gestacional (NODG vs DG)									
percentil	valor PAPP-A (MoM)	OR (Odds Ratio)	IC (95%) inferior - superior		p value	sensibilidad	especificidad	VPP	VPN	R.V. +	R.V. -
PAPP-A <= perc. 1	<= 0,295	2,284	,518	10,073	,262						
PAPP-A <= perc. 5	<= 0,424	1,740	,818	3,700	,145						
PAPP-A <= perc. 10	<= 0,529	1,393	,762	2,548	,280						
PAPP-A <= perc. 20	<= 0,662	1,714	1,095	2,684	,017	29,29%	80,54%	7,69%	95,36%	1,51	0,88
PAPP-A <= perc. 50	<= 1,011	1,729	1,139	2,625	,009	62,63%	50,78%	6,58%	96,08%	1,27	0,74
PAPP-A >= perc. 80	>= 1,649	,703	,401	1,233	,217						
PAPP-A >= perc. 90	>= 2,024	,899	,445	1,814	,766						
PAPP-A >= perc. 95	>= 2,441	1,015	,403	2,559	,974						
PAPP-A >= perc. 99	>= 3,375	2,284	,518	10,073	,262						
Nº de gestantes NODG:	1788										
Nº de gestantes DG=	99										
TOTAL:	1887										

En el subgrupo de gestantes menores de 35 años, encontramos que la fuerza de asociación entre la PAPP-A y la diabetes gestacional es similar en el percentil 20 a los resultados obtenidos para la muestra completa. En este caso, además, el *Odds Ratio* para el percentil 50 es estadísticamente significativo y tiene un valor de 1,729.

La fuerza de la asociación no mejora en este subgrupo en comparación con la muestra total, a lo que hay que añadir la falta de indicios clínicos que nos hagan suponer la posibilidad de una correlación entre una edad por debajo de los 35 años y un bajo valor de la PAPP-A como factor de riesgo.

Figura 37: Odds Ratios en el grupo de gestantes de peso > 70 Kg; par de estudio NODG vs DG.

Var. Independiente: PAPP-A (gestantes > 70 Kg en semana 10 a 13 de gestación)		Incidencia de Diabetes gestacional (NODG vs DG)									
percentil	valor PAPP-A (MoM)	OR (Odds Ratio)	IC (95%) inferior - superior		p value	sensibilidad	especificidad	VPP	VPN	R.V. +	R.V. -
PAPP-A <= perc. 1	<= 0,294	1,807	,208	15,716	,587						
PAPP-A <= perc. 5	<= 0,403	3,596	1,527	8,466	,002	12,90%	96,04%	26,67%	90,82%	3,26	0,91
PAPP-A <= perc. 10	<= 0,497	2,808	1,423	5,539	,002	20,97%	91,37%	21,31%	91,20%	2,43	0,86
PAPP-A <= perc. 20	<= 0,633	2,280	1,292	4,024	,004	33,87%	81,65%	17,07%	91,72%	1,85	0,81
PAPP-A <= perc. 50	<= 0,991	2,098	1,209	3,642	,007	66,13%	51,80%	13,27%	93,20%	1,37	0,65
PAPP-A >= perc. 80	>= 1,630	,483	,214	1,088	,073						
PAPP-A >= perc. 90	>= 2,064	,437	,133	1,437	,161						
PAPP-A >= perc. 95	>= 2,474	,606	,141	2,602	,496						
PAPP-A >= perc. 99	>= 3,819	1,807	,208	15,716	,587						
Nº de gestantes NODG:	556										
Nº de gestantes DG=	62										
TOTAL:	618										

La fuerza de la asociación entre PAPP-A y diabetes gestacional es mayor en el subgrupo de gestantes de más de 70Kg de peso. En este caso la asociación es significativa en los percentiles 5, 10, 20 y 50.

La probabilidad de que una diabética gestacional presente un nivel bajo de PAPP-A llega a ser entre 3,6 y 3,26 veces mayor –en el percentil 5- que la probabilidad de que lo presente una gestante que no desarrollará tal condición. Dicha probabilidad decrece suavemente a medida que se consideran percentiles mayores.

Todos los percentiles estadísticamente significativos tienen un *p value* inferior a 0,01, por lo que su nivel de significancia supera el 99%.

Adicionalmente, y aún a pesar del bajo número de diabéticas gestacionales en esta submuestra, los límites del intervalo de confianza son sustancialmente superiores a los de la muestra completa y los del subgrupo de gestantes menores de 35 años, lo que da más fiabilidad y precisión al OR. Así, en el percentil 5 el límite inferior del OR se sitúa en 1,527 y el superior en 8,466.

Se observa, por otro lado, una mejora sustancial en la *Razón de Verosimilitud Negativa* (RV-) en el percentil 50.

Con respecto a los percentiles 80 a 99, observamos que el OR, aunque no estadísticamente significativo, muestra que la probabilidad de que una gestante sana tenga un valor alto de la PAPP-A es notablemente superior a la probabilidad de que lo presente una diabética gestacional (más del doble en el caso de los percentiles 80 y 90).

Figura 38: Odds Ratios en el grupo de gestantes con prueba bioquímica en la semana 13; par de estudio NODG vs DG.

Var. Independiente: PAPP-A (gestantes prueba bioq. semana 13)		Incidencia de Diabetes gestacional (NODG vs DG)									
percentil	valor PAPP-A (MoM)	OR (Odds Ratio)	IC (95%) inferior - superior		p value	sensibilidad	especificidad	VPP	VPN	R.V. +	R.V. -
PAPP-A <= perc. 1	<= 0,301	(sin casos DG)			,656						
PAPP-A <= perc. 5	<= 0,468		,918	,118	7,139	,935					
PAPP-A <= perc. 10	<= 0,546		2,138	,691	6,611	,178					
PAPP-A <= perc. 20	<= 0,689	2,984	1,235	7,210	,011	40,91%	81,17%	9,68%	96,53%	2,17	0,73
PAPP-A <= perc. 50	<= 1,099	2,789	1,072	7,258	,029	72,73%	51,12%	6,84%	97,44%	1,49	0,53
PAPP-A >= perc. 80	>= 1,723		,390	,090	1,700	,194					
PAPP-A >= perc. 90	>= 2,161	(sin casos DG)			,113						
PAPP-A >= perc. 95	>= 2,756	(sin casos DG)			,275						
PAPP-A >= perc. 99	>= 3,751	(sin casos DG)			,656						
Nº de gestantes NODG=	446										
Nº de gestantes DG=	22										
TOTAL:	468										

Cuando circunscribimos el análisis a las gestantes con la prueba bioquímica en la semana 13, la asociación entre la PAPP-A y la diabetes gestación es también sensiblemente superior a la que ofrece el conjunto de la muestra.

El OR en los percentiles 20 y 50 es de 2,984 y 2,789 con *p values* de 0,011 y 0,029 respectivamente. Es importante señalar que la significación estadística es elevada a pesar del reducido número de gestantes en la muestra y la proporción de diabéticas gestacionales (4,9% frente a 6,9% en el total de muestra).

La reducida muestra de mujeres diabéticas gestacionales penaliza probablemente el intervalo de confianza en su límite inferior, los cuales se aproximan a 1. Los límites superiores en ambos percentiles supera el valor 7,2.

Se observa, por otro lado, una mejora sustancial en la *Razón de Verosimilitud Negativa* (RV-) cuando la comparamos a la de los otros grupos analizados.

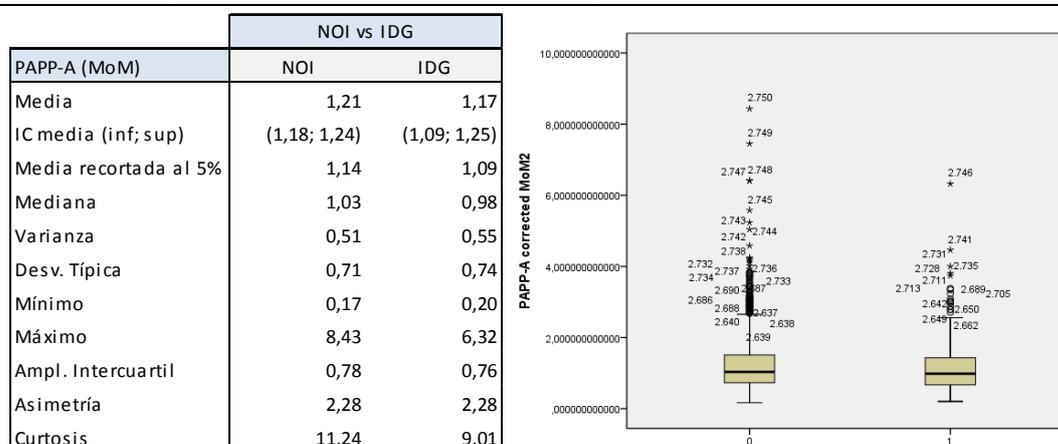
De las 22 diabéticas gestacionales, 20 tienen un valor de la PAPP-A por debajo del percentil 80, por 2 cuyo valor de PAPP-A se sitúa entre el percentil 80 y 90. En los percentiles 90, 95 y 99 (en los que el factor de exposición es poseer un valor de la PAPP-A por encima de esos percentiles), el *Odds Ratio* no puede calcularse debido a que no hay casos de diabetes gestacional entre las gestantes con valor de PAPP-A – medida en la semana 13- igual o por encima del percentil 90. Este hecho deja abierta la posibilidad de que un nivel elevado de PAPP-A (medido a partir de la semana 13) pueda constituir un factor de protección importante frente a la diabetes gestacional o asociarse fuertemente con la ausencia de tal condición.

6.6.5. Análisis de la PAPP-A en el par de estudio NOI vs IDG.

Analizamos a continuación el par de estudio NOI vs IDG, es decir las no intolerantes a la glucosa (aquellas con test de *O'Sullivan* negativo o con todos los valores negativos en la prueba de glucosa) frente al grupo de gestantes intolerantes (con un valor positivo en la prueba de glucosa) y diabéticas gestacionales (con al menos 2 valores positivos en la prueba de glucosa).

En la siguiente tabla se muestran los principales estadísticos de la PAPP-A en cada uno de los 2 grupos del par de estudio.

Figura 39: estadísticos y diagrama de cajas de la variable PAPP-A en el par de estudio NOI vs IDG (NOI=0; IDG=1).



El valor de la mediana es de 1,03 entre las gestantes no intolerantes a la glucosa (grupo NOI), por 0,98 entre las intolerantes a la glucosa (grupo IDG).

La diferencia entre los valores de la mediana en un grupo y otro es sensiblemente inferior a la existente entre no diabéticas y diabéticas gestacionales del par de estudio NODG vs DG.

a) Asociación de la PAPP-A con la intolerancia a la glucosa.

Como consecuencia de la no normalidad de la distribución de las muestras, efectuamos un contraste no paramétrico para determinar la heterogeneidad en la distribución del valor de la PAPP-A y diferencias estadísticamente significativas entre la mediana de las gestantes sanas (grupo NOI) y la de aquellas que son intolerantes a los hidratos de carbono (grupo IDG).

Figura 40: test de Mann-Whitney para el par de estudio NOI vs IDG.

variable independiente	par de estudio NOI vs IDG	
	Z	Sig.Asint. (bilat.)
PAPP-A	-1,466	0,143

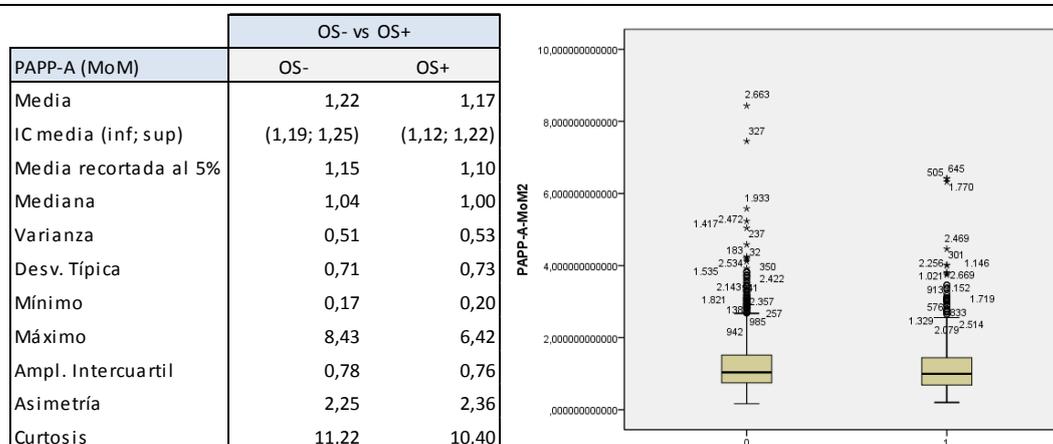
De acuerdo al test *U de Mann-Whitney* debemos descartar que exista una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de la PAPP-A entre las gestantes del grupo NOI y las del grupo IDG ($Z=-1,466$; $p=0,143$). La PAPP-A entre no intolerantes e intolerantes no se distribuye de forma distinta ni sus medianas difieren al nivel de significancia preestablecido del 95%, por lo que interrumpimos el análisis estadístico en este par de estudio.

6.6.6. Análisis de la PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+.

Procedemos a evaluar el par de estudio OS- vs OS+ y analizamos la existencia de asociación entre la PAPP-A y la condición definida para el grupo OS+, esto es, un resultado positivo en el test de despistaje o de *O'Sullivan*.

En la siguiente tabla se muestran los principales estadísticos de la PAPP-A en cada uno de los 2 grupos del par.

Figura 41: estadísticos y diagrama de cajas de la variable PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+ (OS-=0; OS+=1).



El valor de la mediana es de 1,04 entre las gestantes OS-, frente a un valor de 1,00 entre las OS+. La diferencia entre las medianas es la menor de las observadas entre grupos en los distintos pares de estudio.

Al igual que sucede en el par de estudio NOI vs IDG, la diferencia entre los valores de la mediana en un grupo y otro es sensiblemente inferior a la existente entre no diabéticas y diabéticas gestacionales del par de estudio NODG vs DG.

a) Asociación de PAPP-A con un resultado positivo en el test de despistaje e Intervalo de Confianza de la mediana para la PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+

Como consecuencia de la no normalidad de la distribución de las muestras, efectuamos un contraste no paramétrico para determinar la heterogeneidad en la distribución del valor de la PAPP-A y diferencias estadísticamente significativas entre la mediana de las gestantes OS- y la de las OS+.

Figura 42: test de Mann-Whitney para el par de estudio OS- vs OS+.

variable independiente	par de estudio OS- vs OS+	
	Z	Sig.Asint. (bilat.)
PAPP-A	-2,259	0,024

Existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos OS- vs OS+ ($p=0,024$) para la variable PAPP-A. La PAPP-A entre gestantes sanas (OS-) y aquellas con resultado positivo en el test de despistaje (OS+) se distribuye de forma distinta.

El *p value* en el par de estudio NODG vs DG es sensiblemente menor ($p=0,016$) que en el presente par de estudio. En base a esto, la significancia estadística de la asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional es mayor que la que parece existir entre la PAPP-A y un resultado positivo en la prueba de despistaje (gestantes OS+). Hay que tener además en cuenta que el número de diabéticas gestacionales en la muestra es muy inferior al de gestantes OS+.

Se muestra a continuación el *Intervalo de Confianza* de la mediana de la PAPP-A para las gestantes OS- y las gestantes OS+ a un nivel de confianza del 95%.

Figura 43: mediana e intervalos de confianza (IC) de la variable PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+.

variable; par de estudio	OS-			OS+		
	mediana	lím. inferior	lím. superior	mediana	lím. inferior	lím. superior
PAPP-A; par de estudio OS- vs OS+	1,037	1,011	1,063	0,995	0,957	1,041

Nivel de Confianza: 95%.

Estadístico para estimar el intervalo de confianza de la mediana: $h = (n - Z(n-1)^{1/2})/2$

Intervalo de confianza: $x_h \leq Me \leq x_{n-h+1}$

Los valores de las medianas están más próximos entre sí (1,037 en las OS- y 0,995 en las OS+) de lo que están las medianas de las no diabéticas gestacionales (=1,034) y

las diabéticas gestacionales ($=0,939$). Además, a un nivel de significancia del 95%, los intervalos de confianza de las medianas de los grupos OS- y OS+ se solapan.

El test de *Mann-Whitney* establece una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,024$) entre la distribución de la PAPP-A en las gestantes OS- y las OS+, pero el hecho de que las medianas estén tan próximas y sus intervalos se solapen arroja dudas respecto a que existan una diferencia significativa en sus medianas. El análisis posterior del *Odds Ratio* servirá para reevaluar la asociación entre la PAPP-A y un resultado positivo en el test de despistaje.

6.6.7. Análisis estratificado de la variable PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+.

A partir de esta exploración determinaremos si existen subgrupos dentro del par de estudio OS- vs OS+ que merezcan un análisis específico por el patrón o tendencias potencialmente significativas que exhiben.

a) Análisis en función de la edad en el par de estudio OS- vs OS+.

Al igual que sucede en el par NODG vs DG, la PAPP-A tiende a subir con el incremento de la edad en los 2 grupos, tanto en las gestantes OS- como en las OS+.

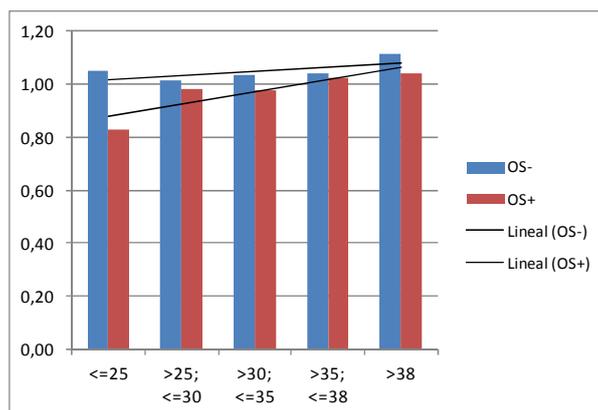
En las gestantes OS- el valor en todos los tramos permanece estable en torno a 1,05, si bien este grupo acusa un leve ascenso de la PAPP-A en el rango de gestantes mayores de 38 años.

El valor de la PAPP-A es persistentemente menor en las gestantes OS+ en todos los tramos de edad, aunque tiende a converger con el de las sanas a medida que la edad es más elevada.

En cualquier caso, no se aprecian diferencias significativas que requieran una análisis más exhaustivo y las divergencias son menores que en el par de estudio NODG vs DG.

Figura 44: valor de la mediana de la PAPP-A por grupos de edad en el par de estudio OS- vs OS+.

EDAD	MEDIANA PAPP-A		DIF.	DIF (%)
	OS-	OS+		
<=25	1,05	0,83	0,22	26,46%
>25; <=30	1,01	0,98	0,03	3,02%
>30; <=35	1,03	0,98	0,05	5,60%
>35; <=38	1,04	1,03	0,02	1,51%
>38	1,12	1,04	0,08	7,43%

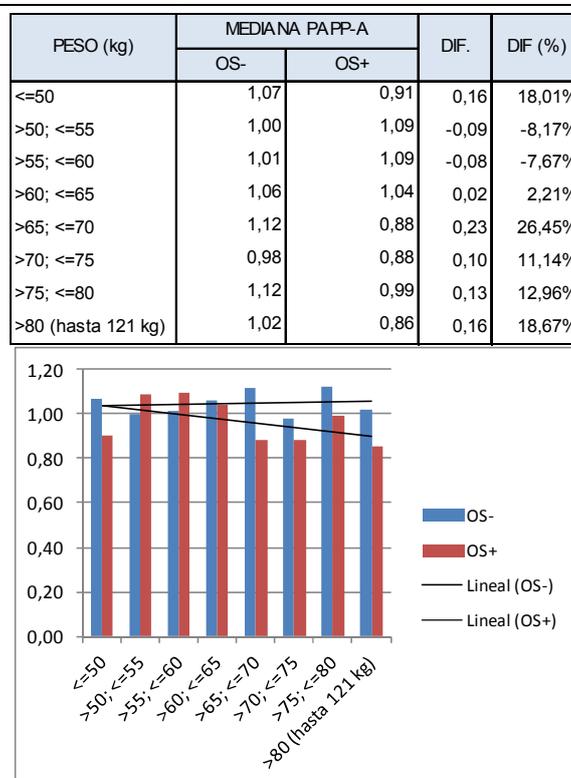


b) Análisis en función del peso en el par de estudio OS- vs OS+.

Como sucede en el par de estudio NODG vs DG, en relación al peso se observa cómo las líneas de tendencia de la PAPP-A divergen a medida que las gestantes tienen un mayor peso.

No se aprecia un patrón o tendencia (los valores en ambos grupos son más erráticos que en los del par NODG vs DG) que sugiera una correlación más fuerte que el observado en el par de estudio NODG vs DG.

Figura 45: valor de la mediana de la PAPP-A por rangos de peso en el par de estudio OS- vs OS+.



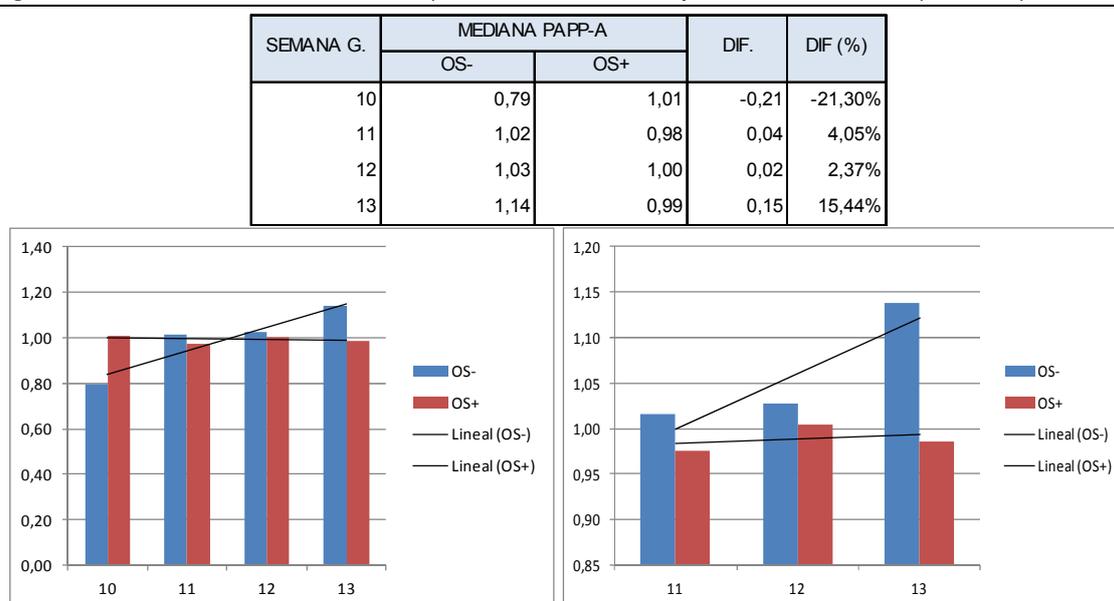
c) Análisis en función de la semana de la prueba bioquímica en el par de estudio OS- vs OS+:

El valor de la PAPP-A en las gestantes OS- mantiene una progresión al alza a medida que se avanza en la semana de gestación, especialmente en la semana 13 donde el valor de la mediana sube de 1,03 a 1,12.

En el grupo de casos (OS+) el valor de la PAPP-A se mantiene más o menos constante (en torno a 1,00) en todas las semanas de gestación, a diferencia de lo que sucede con las diabéticas gestacionales del par de estudio NODG vs DG, cuyo valor experimenta una fuerte caída especialmente en la semana 13.

Las divergencias parecen, en cualquier caso, menos significativas en este par que en el de NODG vs DG. No obstante, tomamos la semana 13 como punto de corte para estudiar la diferencias en la PAPP-A entre gestantes OS- y OS+.

Figura 46: valor de la mediana de la PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+ en función de la semana de la prueba bioquímica.



d) Test U de Mann-Whitney y estadísticos.

La exploración estratificada nos lleva a tomar en consideración el subgrupo de gestantes con prueba bioquímica realizada en la semana 13.

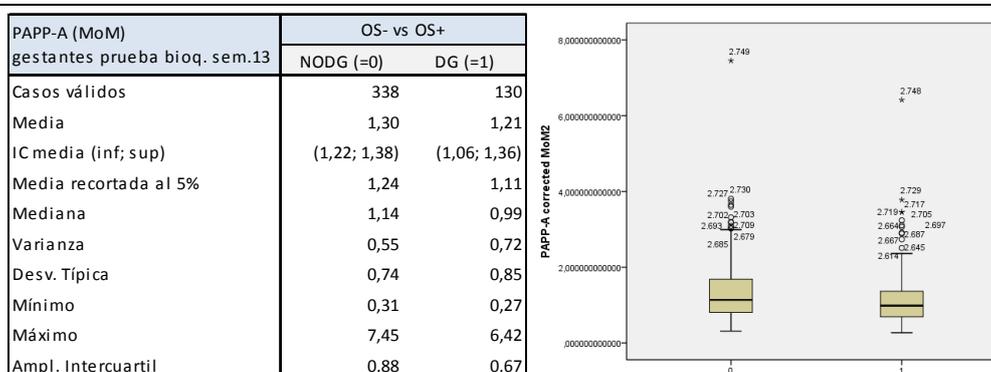
Analizamos a continuación si puede establecerse que existe una asociación entre la PAPP-A y un resultado positivo en la prueba de despistaje en dicho subgrupo y calcularemos el intervalo de confianza de la mediana para las gestantes OS- y las gestantes OS+.

Figura 47: test de Mann-Whitney para el subgrupo de interés dentro del par de estudio OS- vs OS+.

variable independiente: PAPP-A	par de estudio OS- vs OS+	
	Z	Sig.Asint. (bilat.)
gestantes con prueba bioquímica en semana 13	-2,296	0,022

Existen una diferencia estadísticamente significativa en el valor de la PAPP-A entre las gestantes OS- y OS+ para el subgrupo de gestantes con prueba bioquímica en la semana 13 ($p=0,022$). La significación estadística es, no obstante, menor que en el par de estudio NODG vs DG.

En la siguiente tabla se muestra los estadísticos de las gestantes OS- y Os+ con prueba bioquímica en la semana 13.

Figura 48: estadísticos de la PAPP-A para el subgrupo de interés dentro del par de estudio OS- (=0) vs OS+ (=1).**Figura 49:** intervalo de confianza (IC) de la mediana para el subgrupo de interés en el par de estudio OS- vs OS+.

variable independiente: PAPP-A	OS-			OS+		
	mediana	lím. inferior	lím. superior	mediana	lím. inferior	lím. superior
gestantes con prueba bioquímica en semana 13	1,138	1,062	1,250	0,986	0,928	1,131

Nivel de Confianza: 95%.

Estadístico para estimar el intervalo de confianza de la mediana: $h = (n - Z(n-1)^{1/2})/2$

Intervalo de confianza: $x_h \leq Me \leq x_{n-h+1}$

Las medianas difieren significativamente entre gestantes OS- y gestantes OS+, si bien los *Intervalos de Confianza* se solapan a un nivel de significancia del 95%.

6.6.8. Estudio de la fuerza de asociación: Análisis bivariante simple de la PAPP-A en el par de estudio OS- vs OS+.

Procedemos a valorar la fuerza de la asociación de la PAPP-A con un resultado positivo en la prueba de despistaje, estimando el *Odds Ratio* (OR) para los percentiles más relevantes.

Figura 50: Odds Ratios en el par de estudio OS- vs OS+; semana 13 de gestación.

Var. Independiente: PAPP-A (gestantes bioquímica en semana 13)		Incidencia de positivo en la prueba de despistaje (par de estudio OS- vs OS+)			
percentil	valor PAPP-A (MoM)	OR (Odds Ratio)	IC (95%) inferior - superior		p value
PAPP-A <= perc. 1	<= 0,301	(sin casos OS-)			,001
PAPP-A <= perc. 5	<= 0,468	2,083	,890	4,877	,085
PAPP-A <= perc. 10	<= 0,546	1,603	,848	3,029	,143
PAPP-A <= perc. 20	<= 0,689	1,394	,855	2,272	,181
PAPP-A <= perc. 50	<= 1,099	1,470	,978	2,210	,063
PAPP-A >= perc. 80	>= 1,723	,611	,352	1,059	,077
PAPP-A >= perc. 90	>= 2,161	1,154	,594	2,241	,672
PAPP-A >= perc. 95	>= 2,756	1,721	,726	4,080	,213
PAPP-A >= perc. 99	>= 3,751	2,625	,366	18,833	,319
Nº de gestantes OS=-	338				
Nº de gestantes OS+=	130				
TOTAL:	468				

Todos los *p values*, salvo el del percentil 1, se sitúan por encima del error de tipo I máximo preestablecido ($\alpha=0,05$), por lo que los resultados carecen de significancia estadística.

El análisis de la mediana había mostrado diferencias pequeñas en la mediana de los 2 grupos, y el intervalo de confianza de ambos se solapaba claramente. Aunque el test de *Mann-Whitney* puso de manifiesto que existe una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,022$) en la distribución de la PAPP-A entre gestantes OS- y gestantes OS+, la fuerza de la asociación -conforme al OR- es extremadamente débil, y debemos cuestionar la propia existencia de correlación. Los *Odds Ratios* son persistentemente bajos (salvo, en todo caso, los correspondientes a los percentiles 5 y 10). Además, el límite inferior del intervalo de confianza en todos los percentiles se sitúan claramente por debajo de 1.

En cuanto al percentil 1 ($p=0,001$), si bien el *Odds Ratio* no puede estimarse, queremos notar el hecho de que encontramos 4 gestantes OS+ (su valor esperado es 1), al tiempo que en dicho percentil no se encuentra ninguna gestante OS-, pese a que su valor esperado era de 3.

En los percentiles altos encontramos una proporción mayor de gestantes OS+ de las esperadas, lo que descarta la posibilidad de que un valor alto de PAPP-A pueda ser un predictor de resultado negativo en la prueba de *O'Sullivan*.

6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA VARIABLE B-hCG

Procedemos al análisis de la β -hCG y su relación con los efectos a estudiar de acuerdo a los pares de estudio definidos, esto es:

- La diabetes gestacional en el par de estudio NODG vs DG.
- La intolerancia a la glucosa en el par de estudio NOI vs IDG.
- Un resultado positivo en la prueba de despistaje en el par de estudio OS- vs OS+.

Acometemos el análisis analizando la β -hCG en cada una de los pares junto a una exploración y análisis estratificado en función de los 3 factores clínicos relevantes (edad, peso y semana de gestación en la prueba bioquímica).

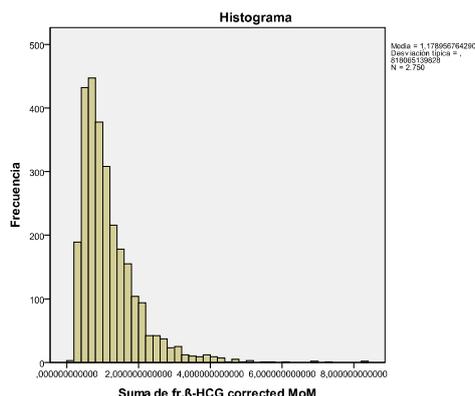
6.7.1. Estadísticos de la variable β -hCG.

En las siguientes tablas se muestran los estadísticos de la variable β -hCG para el conjunto de la muestra (2.750 gestantes):

Figura 51: estadísticos de la variable β -hCG.

Descriptivos			Estadístico	Error típ.	
Suma de fr. β -HCG corrected MoM	Media		1,178956764	,0155998901	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	1,148368073		
		Límite superior	1,209545454		
	Media recortada al 5%		1,089579099		
	Mediana		,9589700705		
	Varianza		,669		
	Desv. típ.		,8180651398		
	Mínimo		,1812523601		
	Máximo		8,345875546		
	Rango		8,164623186		
	Amplitud intercuartil		,8624219990		
	Asimetría		2,375		,047
	Curtosis		9,991		,093

		Percentiles						
		5	10	25	50	75	90	95
Promedio ponderado (definición 1)	Suma de fr. β -HCG corrected MoM	,3646797466	,4447555757	,6297744957	,9589700705	1,492196494	2,131984580	2,713737901
Bisagras de Tukey	Suma de fr. β -HCG corrected MoM			,6298531500	,9589700705	1,492111436		



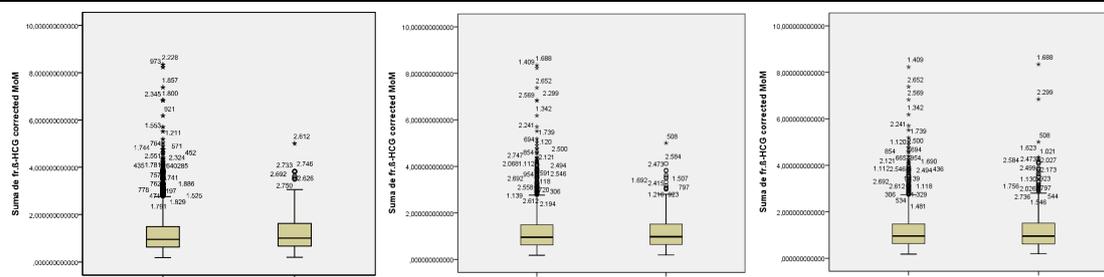
6.7.2. Análisis de la β -hCG por pares de estudio.

Los estadísticos de centralidad (media y mediana) exhiben valores muy próximos en los grupos de control y casos en cada par de estudio, al igual que los estadísticos de dispersión de las muestras (varianza y desviación estándar).

Figura 52: estadísticos de la variable β -hCG en los pares de estudio NODG vs DG, NOI vs IDG y OS- vs OS+.

β hCG (MoM)	NODG vs DG		NOI vs IDG		OS- vs OS+	
	NODG	DG	NOI	IDG	OS-	OS+
Media	1,17	1,21	1,18	1,18	1,18	1,17
IC media (inf; sup)	(1,14; 1,20)	(1,10; 1,32)	(1,15; 1,21)	(1,09; 1,26)	(1,14; 1,22)	(1,12; 1,23)
Media recortada al 5%	1,08	1,14	1,09	1,10	1,09	1,09
Mediana	0,95	1,00	0,96	0,98	0,96	0,96
Varianza	0,67	0,63	0,68	0,58	0,67	0,67
Desv. Típica	0,82	0,79	0,83	0,76	0,82	0,82
Mínimo	0,18	0,20	0,18	0,20	0,18	0,20
Máximo	8,34	5,00	8,35	5,01	8,23	8,35
Ampl. Intercuartil	0,86	0,97	0,86	0,88	0,85	0,90
Asimetría	2,42	1,58	2,46	1,58	2,35	2,45
Curtosis	10,43	3,37	10,61	3,26	9,36	11,57

Figura 53: diagramas de cajas de la β -hCG en pares de estudio NODG (=0) vs DG (=1), NOI (=0) vs IDG (=1) y OS- (=0) vs OS+ (=1).



a) Asociación entre la β -hCG y la condición de las gestantes.

Tal como se hizo para la PAPP-A, efectuamos en primer lugar un contraste de hipótesis para determinar si hay diferencias significativas en relación al valor central (media/mediana) y la distribución de las muestras de los grupos de cada par de estudio.

Como consecuencia de la no normalidad de la distribución de las muestras, efectuamos un análisis no paramétrico de la β -hCG para determinar la heterogeneidad en la distribución de su valor o diferencias estadísticamente significativas cuando se comparan entre sí los estadísticos de los grupos de cada par de estudio.

Empleamos el estadístico *U de Mann-Whitney*, apropiado en este caso por tratarse de 2 muestras independientes (cada grupo del par de estudio), de distinto tamaño y que no siguen una distribución normal.

Se contrastan entre sí los grupos de caso y control dentro de cada par de estudio.

Figura 54: test de Mann-Whitney por pares de estudio.

variable independiente	par de estudio NODG vs DG		par de estudio NOI vs IDG		par de estudio OS- vs OS+	
	Z	Sig.Asint. (bilat.)	Z	Sig.Asint. (bilat.)	Z	Sig.Asint. (bilat.)
β hCG	-0,963	0,335	-0,346	0,729	-0,260	0,795

No existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de ninguno de los pares de estudio en relación a la variable β -hCG. A un nivel de significancia del 95% no podemos establecer que el valor de la β -hCG se distribuya de forma distinta ni que difieran las medianas de los grupos de casos y control.

6.7.3. Análisis estratificado de la variable β -hCG en el par de estudio NODG vs DG.

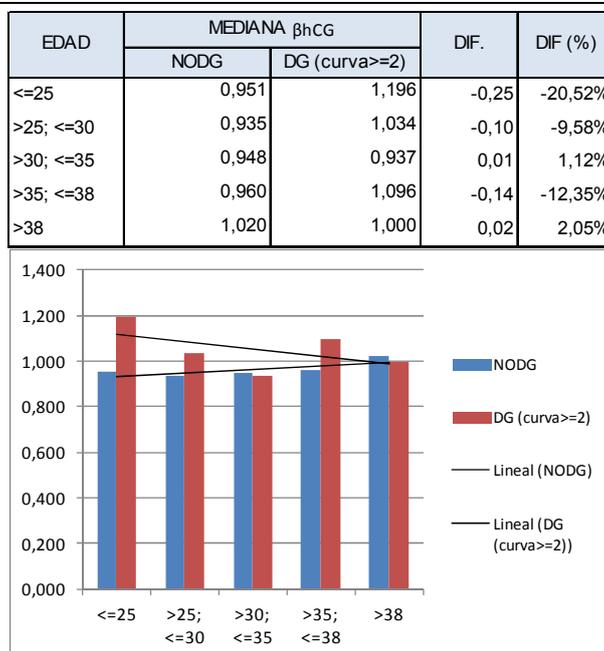
El test de *Mann Whitney* muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas en el valor de la mediana entre casos y controles en ninguno de los 3 pares de estudio. No obstante, exploramos la variable β -hCG en función de las variables clínicas en el par de estudio NODG vs DG, por cuyo *p value* arroja el menor valor de los tres en estudio. La razón de este análisis es evaluar cambios en la β -hCG en función de los factores modificadores y las posibles diferencias en su evolución entre los grupos comparados del par de estudio NODG vs DG.

a) Análisis en función de la edad en el par de estudio NODG vs DG.

Los valores de la mediana de la β -hCG oscilan en ambos grupos sin mostrar una tendencia definida, y pueden considerarse estables en torno a 0,95-1,00. En el grupo de menores de 25 años sólo hay una diabética gestacional, por lo que el elevado valor de la mediana en ese grupo para las diabéticas gestacionales no es representativo.

De acuerdo al contraste de *Mann-Whitney*, la β -hCG no muestra diferencias estadísticamente significativas entre sanas y diabéticas gestacionales por lo que, ante la ausencia de divergencias en función de la edad, no consideramos necesario un análisis adicional.

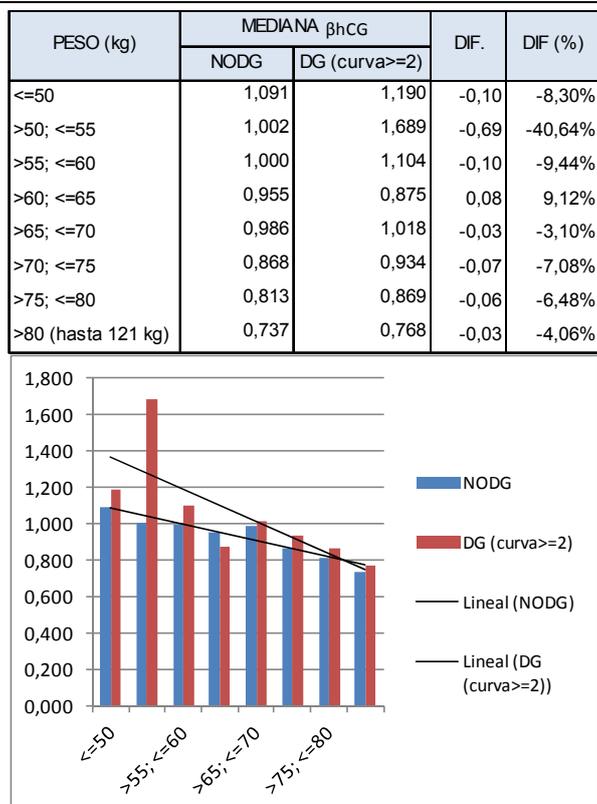
Figura 55: valor de la mediana de la β -hCG por grupos de edad en el par de estudio NODG vs DG.



a) Análisis en función del peso en el par de estudio NODG vs DG.

La β -hCG muestra una clara tendencia a decrecer con el aumento del peso tanto entre las gestantes sanas como entre las diabéticas gestacionales.

No se aprecian divergencias potencialmente significativas. De acuerdo al test de *Mann-Whitney* la β -hCG no muestra diferencias estadísticamente significativas entre sanas y diabéticas gestacionales por lo que, ante la ausencia de divergencias en función del peso, no consideramos necesario un análisis adicional.

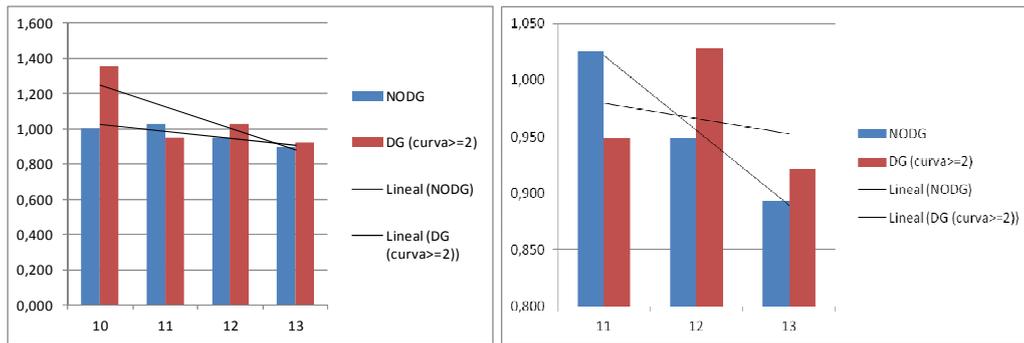
Figura 56: valor de la mediana de la β -hCG por rangos de peso en el par de estudio NODG vs DG.

b) Análisis en función de la semana de la prueba bioquímica en el par de estudio NODG vs DG.

La mediana muestra una ligera tendencia a decrecer con el paso de las semanas de gestación, pero sin exhibir una tendencia bien definida. Sin embargo, no se aprecian divergencias entre las tendencias de casos y controles en función de la semana de realización de la prueba bioquímica.

Figura 57: valor de la mediana de la β -hCG en el par de estudio NODG vs DG en función de la semana de la prueba bioquímica.

SEMANA G.	MEDIANA β hCG		DIF.	DIF (%)
	NODG	DG (curva>=2)		
10	1,000	1,358	-0,36	-26,33%
11	1,025	0,948	0,08	8,07%
12	0,949	1,028	-0,08	-7,69%
13	0,893	0,922	-0,03	-3,10%



6.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA VARIABLE TN (TRANSLUCENCIA NUCAL).

Procedemos al análisis de la TN y su relación con los efectos a estudiar de acuerdo a los pares de estudio definidos, esto es:

- La diabetes gestacional en el par de estudio NODG vs DG.
- La intolerancia a la glucosa y la diabetes gestacional en el par de estudio NOI vs IDG.
- Un resultado positivo en la prueba de despistaje en el par de estudio OS- vs OS+.

Acometemos el análisis analizando la TN en cada una de los pares junto a una exploración y análisis estratificado en función de los 3 factores clínicos relevantes (edad, peso y semana de gestación en la prueba bioquímica).

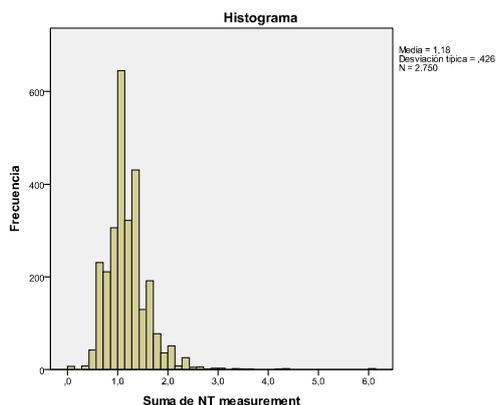
6.8.1. Estadísticos de la variable TN.

En las siguientes tablas se muestran los estadísticos de la variable TN para el conjunto de la muestra (2.750 gestantes):

Figura 58: estadísticos de la variable TN.

Descriptivos			Estadístico	Error típ.	
Suma de NT measurement	Media		1,182	,0081	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	1,166		
		Límite superior	1,198		
	Media recortada al 5%		1,155		
	Mediana		1,100		
	Varianza		,181		
	Desv. típ.		,4260		
	Mínimo		,1		
	Máximo		6,0		
	Rango		5,9		
	Amplitud intercuartil		,5		
	Asimetría		2,330		,047
	Curtosis		16,492		,093

		Percentiles						
		5	10	25	50	75	90	95
Promedio ponderado (definición 1)	Suma de NT measurement	,600	,700	,900	1,100	1,400	1,700	1,900
Bisagras de Tukey	Suma de NT measurement			,900	1,100	1,400		



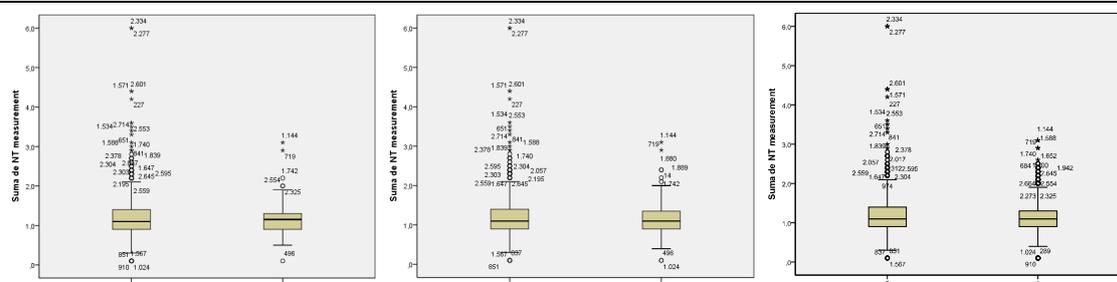
6.8.2. Análisis de la TN por pares de estudio.

Los estadísticos de centralidad (media y mediana) exhiben valores muy próximos en los grupos de control y casos en cada par de estudio, al igual que los estadísticos de dispersión de las muestras (varianza y desviación estándar).

Figura 59: estadísticos de la variable TN en los pares de estudio NODG vs DG, NOI vs IDG y OS- vs OS+.

TN (Translucencia Nuca)	NODG vs DG		NOI vs IDG		OS- vs OS+	
	NODG	DG	NOI	IDG	OS-	OS+
Media	1,18	1,17	1,18	1,16	1,19	1,16
IC media (inf; sup)	(1,17; 1,20)	(1,11; 1,22)	(1,17; 1,20)	(1,12; 1,20)	(1,17; 1,21)	(1,13; 1,18)
Media recortada al 5%	1,16	1,15	1,16	1,14	1,16	1,13
Mediana	1,10	1,15	1,10	1,10	1,10	1,10
Varianza	0,18	0,15	0,19	0,14	0,19	0,15
Desv. Típica	0,43	0,38	0,43	0,38	0,43	0,39
Mínimo	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Máximo	6,00	3,10	6,00	3,10	6,00	3,10
Ampl. Intercuartil	0,50	0,40	0,50	0,48	0,50	0,40
Asimetría	2,38	1,25	2,45	0,97	2,71	1,09
Curtosis	16,99	4,68	17,45	3,11	20,28	2,57

Figura 60: diagramas de cajas de la TN en el par de estudio NODG (=0) vs DG (=1), NOI (=0) vs IDG (=1) y OS- (=0) vs OS+ (=1).



a) Asociación entre la TN y la condición de las gestantes.

Tal y como se hizo para las otras variables, en primer lugar efectuamos un contraste de hipótesis para determinar si hay diferencias significativas en relación al valor central (media/mediana) y la distribución de las muestras de cada par de estudio propuesto.

Como consecuencia de la no normalidad de la distribución de las muestras, efectuamos un análisis no paramétrico de la TN para determinar la heterogeneidad en la distribución de su valor o diferencias estadísticamente significativas cuando se comparan entre sí los estadísticos de los grupos de cada par de estudio.

Empleamos el estadístico *U de Mann-Whitney*, apropiado en este caso por tratarse de 2 muestras independientes (cada grupo del par de estudio), de distinto tamaño y que no siguen una distribución normal.

Contrastamos entre sí los grupos de caso y control dentro de cada par de estudio:

Figura 61: test de Mann-Whitney por pares de estudio.

	par de estudio NODG vs DG		par de estudio NOI vs IDG		par de estudio OS- vs OS+	
variable independiente	Z	Sig.Asint. (bilat.)	Z	Sig.Asint. (bilat.)	Z	Sig.Asint. (bilat.)
TN	-0,058	0,954	-0,390	0,696	-1,635	0,102

No existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de ninguno de los pares de estudio en relación a la variable TN. A un nivel de significancia del 95% no podemos establecer que el valor de la TN se distribuya de forma distinta ni que difieran las medianas de los grupos de casos y control.

6.8.3. Análisis estratificado de la variable TN en el par de estudio OS- vs OS+.

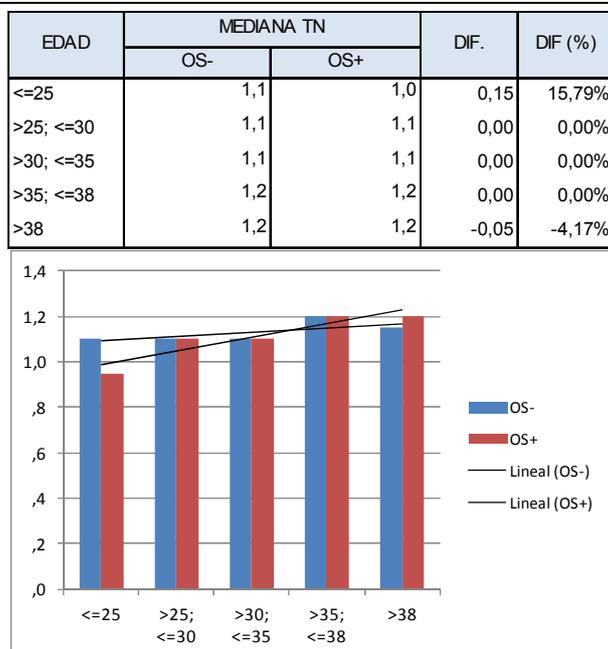
El test *U de Mann Whitney* muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas en el valor de la mediana entre casos y controles en ninguno de los 3 pares de estudio. No obstante, exploramos la variable TN en función de las variables clínicas en el par de estudio OS- vs Os+, par cuyo *p value* arroja el menor valor de los 3 en estudio. La razón de este análisis es evaluar cambios en la TN en función de los factores modificadores y las posibles diferencias en su evolución entre los grupos comparados.

a) Análisis en función de la edad en el par de estudio OS- vs OS+.

Los valores de la mediana de la TN muestran una tendencia ascendente en los 2 grupos.

No se aprecian diferencias potencialmente significativas entre gestantes con resultado positivo y resultado negativo en la prueba de *O'Sullivan* a lo largo de los grupos de edad.

Figura 62: valor de la mediana de la TN por grupos de edad en el par de estudio OS- vs OS+.



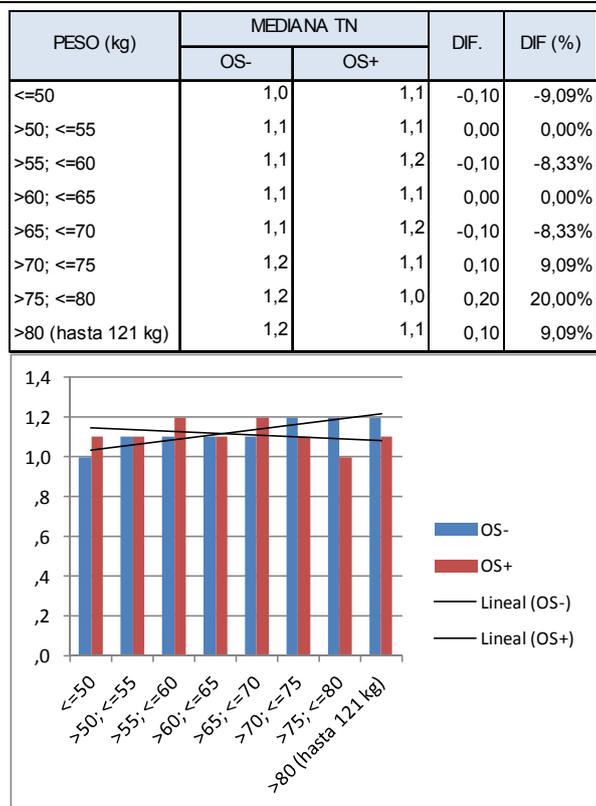
b) Análisis en función del peso en el par de estudio OS- vs OS+.

La TN muestra valores mayores a medida que aumenta el peso en las gestantes.

La tendencia parece bien definida entre las gestantes con resultado negativo en la prueba de *O'Sullivan*.

Entre las gestantes con resultado positivo en dicha prueba, la medición de la TN no muestra tendencia, oscilando levemente entre los diversos rangos de peso.

No se aprecian divergencias potencialmente significativas en la tendencia de ambos grupos en función del peso.

Figura 63: valor de la mediana de la TN por rangos de peso en el par de estudio OS- vs OS+.

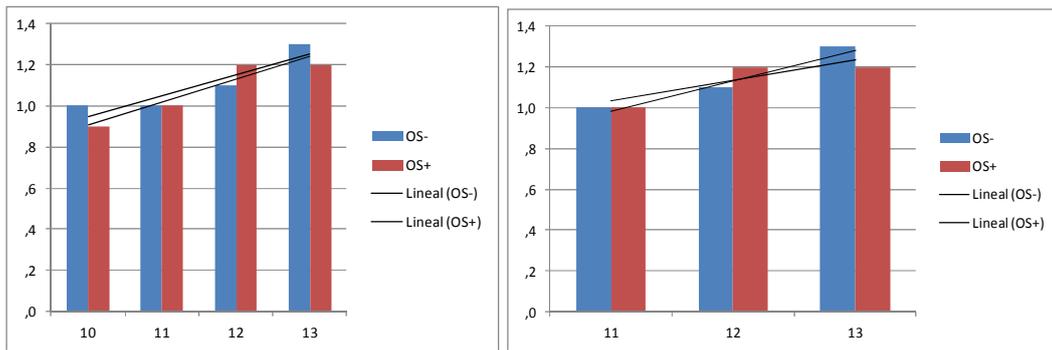
c) Análisis en función de la semana de la prueba bioquímica en el par de estudio OS- vs OS+.

La mediana muestra una tendencia a crecer con el paso de las semanas de gestación tanto en gestantes con resultado negativo como en gestantes con resultado positivo en la prueba de despistaje.

No se aprecian divergencias potencialmente significativas entre ambos grupos en función de la semana de gestación.

Figura 64: valor de la mediana de la TN en el par de estudio OS- vs OS+ en función de la semana de la prueba bioquímica.

SEMANA G.	MEDIANA TN		DIF.	DIF (%)
	OS-	OS+		
10	1,0	,9	0,10	11,11%
11	1,0	1,0	0,00	0,00%
12	1,1	1,2	-0,10	-8,33%
13	1,3	1,2	0,10	8,33%



7. HALLAZGOS DEL ESTUDIO Y CONCLUSIONES

7.1. ASOCIACIÓN DE LA PAPP-A CON LA DIABETES GESTACIONAL (PAR DE ESTUDIO NODG vs DG).

190 gestantes desarrollaron diabetes gestacional de un total de 2.750 (una incidencia del 6,9%). Otras 142 gestantes (5,2%) mostraron intolerancia a la glucosa y 491 (17,9%) dieron positivo en el test de despistaje. El resto –esto es, 1.927 mujeres o un 70,1%- dio negativo en dicho test.

La incidencia de diabetes gestacional en gestantes de más de 38 años alcanzó el 13,49%; y en mujeres de más de 70Kg de peso la incidencia se situó en el 10,03%, evidenciándose, como era de esperar, que tanto el peso como la edad constituyen factores de riesgo.

El estudio establece una asociación entre la PAPP-A (medida en el cribado bioquímico del primer trimestre) y la diabetes gestacional ($p=0,016$): la PAPP-A es menor en las diabéticas gestacionales que en las gestantes sanas.

Tanto para la muestra completa como cuando analizamos determinados subgrupos -en función de edad, peso y semana de gestación en la prueba bioquímica- el valor de los parámetros de centralidad (media y mediana) son sistemáticamente menores en las diabéticas gestacionales. Por otra parte, las distribuciones de la PAPP-A en las gestantes sanas tienen una dispersión mayor en la parte alta, mostrando valores atípicamente altos -véanse, a tal fin, los diagramas de cajas de los subgrupos comparados en función de edad, peso y semana de gestación con diferencias estadísticamente significativas.

El valor de la mediana para la muestra total se sitúa en 1,03MoM. **En el caso de las gestantes sanas (gestantes NODG) la mediana arroja un valor de 1,03MoM. En las diabéticas gestacionales (gestantes DG), la mediana se sitúa en 0,94MoM.**

Respecto al *Intervalo de Confianza* (IC) de las medianas de cada grupo (gestantes NODG frente a DG), los intervalos respectivos no se solapan a un nivel de confianza del 95%. El IC de las DG es de [0,864-1,006]MoM y en las NODG el IC es de [1,011-1,054]MoM. Muy probablemente el reducido número de gestantes DG respecto al total de la muestra afecte a la amplitud del IC de su mediana.

Cuando se analiza la **fuerza de la asociación** entre la PAPP-A y la diabetes gestacional, se observa que **es significativa en los percentiles P5 (OR=1,85; $p=0,024$), P10 (OR=1,68; $p=0,013$) y P20 (OR=1,74; $p=0,001$).** No obstante, en los percentiles P5 y P10 el límite inferior del intervalo de confianza del *Odds Ratio* (OR) se sitúa en 1,07 y 1,11, respectivamente -muy cerca del valor 1 en el que se descartaría una influencia de la PAPP-A-, por lo que la validez y fuerza de la asociación debe tomarse con precaución, si bien hay que tener en cuenta que la baja incidencia de diabetes gestacional resta potencia al estudio. El límite inferior del intervalo de confianza en el percentil 20 es ligeramente mayor, y se sitúa en 1,26, más elevado que en los anteriores. El OR del percentil P1 arroja un valor (OR=1,65) similar a los otros 3

percentiles, pero no es estadísticamente significativo ($p=0,387$) y el límite inferior del IC se sitúa en 0,506.

Aunque la fuerza de la asociación es débil (de acuerdo con nuestra escala de referencia), el OR sugiere que es más probable observar un valor bajo de PAPP-A (cuando se encuentra en los percentiles 1 a 20) en una gestante DG que en una gestante sana.

En cuanto a los percentiles altos, el análisis del OR parece descartar que un valor alto de la PAPP-A pueda ser un factor de protección o asociarse con una menor probabilidad de desarrollar diabetes gestacional cuando comparamos sanas y diabéticas sin considerar los factores potencialmente modificadores (peso, edad y semana de gestación en la prueba bioquímica).

7.1.1. Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en función de la edad de la gestante como variable clínica.

La edad constituye un factor de riesgo en la diabetes gestacional y hemos establecido previamente que un valor bajo de PAPP-A se asocia con la diabetes gestacional. Por tal motivo, podríamos esperar que la correlación de la PAPP-A con la diabetes gestacional se mantenga, o incluso se refuerce, al introducir la edad como factor de riesgo.

Cuando se analiza la muestra por rangos de edad, se observa que la PAPP-A en las diabéticas gestacionales es siempre menor que en las gestantes sanas en todos los rangos de edad, al tiempo que la PAPP-A muestra una tendencia ascendente con la edad tanto en gestantes sanas como en diabéticas gestacionales.

La mediana de la PAPP-A en las diabéticas gestacionales presenta un valor menor que en las gestantes sanas cuando se toman en consideración las gestantes mayores de 35 y 38 años. En concreto, las diabéticas gestacionales mayores de 38 años tienen una PAPP-A que se sitúa en 0,98MoM, frente a un valor de 1,11MoM en las gestantes sanas mayores de 38. Sin embargo, y aunque las medianas difieren, el estadístico de *Mann-Whitney* no establece una diferencia estadísticamente significativa entre la distribución del valor de la PAPP-A de las diabéticas gestacionales y las gestantes sanas mayores de 35 y 38 años ($p=0,237$ para mayores de 35 años y $p=0,257$ para mayores de 38).

Por el contrario, la PAPP-A sí presenta una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,016$) en su distribución cuando se comparan diabéticas gestacionales y gestantes sanas menores de 35 años. La mediana de las diabéticas es 0,87MoM, frente a un valor en las gestantes sanas de 1,02MoM. Los Intervalos de Confianza (IC) no se solapan a un nivel de confianza del 95%: en las diabéticas gestacionales éste es [0,797-0,983]MoM por [0,997-1,052]MoM en las gestantes sanas. Éstas últimas, además, muestran una dispersión mayor en la cola derecha de su distribución, con valores atípicamente altos.

En cuanto a la fuerza de la asociación, los resultados obtenidos al calcular el *Odds Ratio* (OR) muestran que la misma es débil de acuerdo a la escala de referencia. El OR es estadísticamente significativo en los percentiles P20 (OR=1,71; p=0,017) y P50 (OR=1,72; p=0,009). No obstante, el límite inferior del intervalo de confianza se sitúa en 1,09 y 1,13, respectivamente -muy cerca del valor 1 en el que debe descartarse una influencia de la PAPP-A-, por lo que la validez y fuerza de la asociación debe también tomarse con precaución. El resto de percentiles no presenta valores estadísticamente significativos.

7.1.2. Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en función del peso de la gestante como variable clínica.

Los resultados del estudio son consistentes con el hecho de que el peso constituya un factor de riesgo en la diabetes gestacional^{111,112}.y la observación de un valor menor de la PAPP-A en las diabéticas gestacionales.

Cuando se introduce el peso como factor, se observa cómo las líneas de tendencia de la PAPP-A de sanas y diabéticas gestacionales divergen notablemente a medida que las gestantes presentan un mayor peso.

En las gestantes sanas encontramos que el valor de la mediana de la PAPP-A oscila levemente en torno a 1 en todos los rangos de peso, manteniendo un valor estable con independencia del peso. Sin embargo, en las diabéticas gestacionales el valor de la mediana tiende a caer a medida que se incrementa el peso (a partir de los 55Kg), con la excepción del grupo de diabéticas gestacionales entre 75 y 80Kg, rango en el que la PAPP-A presenta un valor anormalmente alto –sin que encontremos un motivo aparente- respecto al resto de rangos de peso, aunque levemente inferior al de las gestantes sanas. **En cualquier caso, la tendencia es claramente descendente a medida que aumenta el peso en las diabéticas gestacionales.**

Entre las mujeres de más de 70Kg de peso, las diabéticas gestacionales presentan una mediana de la PAPP-A de 0,80MoM frente a un valor de 1,01MoM en las gestantes sanas, siendo la diferencia estadísticamente significativa (p=0,001). Los respectivos *Intervalos de Confianza* (IC) de las medianas no se solapan y, a un nivel de confianza del 95%, el de las diabéticas gestacionales es [0,653-0,951]MoM, mientras que el de las gestantes sanas se sitúa en [0,964-1,064]MoM.

Al evaluar a las gestantes de más de 70Kg encontramos que la asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional se ve reforzada cuando se estima el *Odds Ratio* –moderado, no obstante, en la escala empleada. Con *p values* entre 0,007 y 0,002 en los percentiles 5 a 50, el OR llega a alcanzar un valor de 3,59 en el percentil 5 (p=0,002), indicando que la probabilidad de que una diabética gestacional presente un valor de la PAPP-A por debajo del percentil 5 es más de 3 veces mayor que la probabilidad de que lo presente una gestante que no desarrollará tal condición. El resto de percentiles (para las gestantes de más de 70Kg) presenta ORs más discretos.

Aunque sin significancia estadística, sí son consistentes (salvo el P99) con el OR de los percentiles 5 a 50. Así, la probabilidad de que una gestante sana presente un valor elevado de PAPP-A (en los percentiles 80, 90 y 95) llega a ser 2 veces mayor que la probabilidad de que lo presente una diabética gestacional.

Los Intervalos de Confianza del OR apuntan a una asociación entre moderada y fuerte de la PAPP-A con la diabetes gestacional en mujeres de más de 70Kg, especialmente en el percentil 5, en el cual -con un IC de [1,527-8,466]MoM- la probabilidad de que una diabética gestacional presente un valor de la PAPP-A por debajo del percentil 5 podría llegar a ser 8 veces superior que la probabilidad de que lo presente una gestante que no desarrollará tal condición.

Observando los diagramas de cajas, las gestantes sanas presentan muchos más valores atípicamente altos en la PAPP-A que las diabéticas gestacionales.

7.1.3. Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en gestantes con prueba bioquímica en la semana 13.

Es algo bien establecido que el valor de la PAPP-A en sangre evoluciona a lo largo de la gestación.

El análisis gráfico ha puesto de evidencia que el valor de la mediana de la PAPP-A aumenta y es muy similar en gestantes sanas y en diabéticas gestacionales en las semanas 10 y 11; y que su valor sigue subiendo en las semana 12 y 13 en las gestantes sanas. Sin embargo, **a partir de la semana 12 el valor de la mediana comienza a divergir entre gestantes sanas y diabéticas gestacionales, cayendo el valor de la mediana en éstas últimas. En la semana 13, la divergencia se hace más acusada: sigue subiendo en las sanas y cae marcadamente en las diabéticas gestacionales.**

La mediana de la PAPP-A en las gestantes sanas con prueba bioquímica en la semana 13 es de 1,11MoM por 0,79MoM en las diabéticas gestacionales (p=0,01), lo que representa la mayor de las diferencias encontradas a lo largo del estudio. A pesar de esta diferencia, los *Intervalos de Confianza* (IC) de las respectivas medianas son relativamente amplios y se solapan $-[0,617-1,102]$ MoM en las DG frente a $[1,053-1,189]$ MoM en las gestantes sanas-, en buena medida a causa del escaso número de diabéticas gestacionales (22 casos) en este subgrupo de análisis.

En los percentiles 20 y 50 la asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional es estadísticamente significativa (con *p values* de 0,011 y 0,029 respectivamente) y moderada, con un OR entre 2,98 y 2,78. El percentil 10, si bien no es estadísticamente significativo arroja un OR de 2,13, coherente con los percentiles 20 y 50.

La reducida muestra de diabéticas gestacionales penaliza muy probablemente el límite inferior de los intervalos de confianza en los percentiles 20 y 50, los cuales se

aproximan a 1. Los límites superiores en ambos percentiles superan los 7,2MoM, valor para el cual la correlación habría de catalogarse como fuerte, sugiriendo una asociación fuerte.

De las 22 diabéticas gestacionales, 20 tienen un valor de la PAPP-A por debajo del percentil 80, mientras que sólo 2 tienen un valor de PAPP-A entre el percentil 80 y 90. En los percentiles 90, 95 y 99 el *Odds Ratio* no puede calcularse, debido a que no hay casos de diabetes gestacional. De hecho, entre las diabéticas gestacionales no se observan valores de la PAPP-A por encima de 1,84MoM cuando, por el contrario, un cuarto de las gestantes sanas presenta una PAPP-A superior a dicho valor. **Esto apunta a la posibilidad de que un nivel elevado de PAPP-A -medido en la semana 13 y sucesivas- pueda constituir un factor de protección importante frente a la diabetes gestacional o asociarse fuertemente con la ausencia de tal condición.**

7.1.4. Asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional en gestantes de más de 70Kg con prueba bioquímica en la semana 13.

No se ha podido realizar un trabajo de inferencia estadística en este subgrupo debido al reducido número de gestantes que reunían estos 2 requisitos (14 en total), pero hemos de dejar constancia de varios hechos relevantes que apuntan a que la PAPP-A correlacione positiva y fuertemente con una menor probabilidad de desarrollar diabetes gestacional cuando presenta valores altos.

Cuando se toma en consideración toda la muestra, sin estratificación o selección de gestantes en función de las variables clínicas, el número de diabéticas gestacionales en los percentiles altos de la PAPP-A es consistente con lo que se esperaría encontrar si la PAPP-A no se asociase con la diabetes gestacional.

Figura 65: presencia de DG en los percentiles altos para la muestra completa, gestantes de más de 70 Kg de peso y gestantes con prueba bioquímica en la semana 13.

		gestantes DG (total=190 casos) muestra completa		
percentil PAPP-A	encontradas	esperadas	% sobre total DG	
Percentil 90 (2,08 MoM)	16	19	8%	
Percentil 95 (2,50 MoM)	11	9,5	6%	
Percentil 99 (3,66 MoM)	3	1,9	2%	
		gestantes DG (total=62 casos) gestantes > 70Kg		
percentil PAPP-A	encontradas	esperadas	% sobre total DG	
Percentil 90 (2,06 MoM)	3	6,1	5%	
Percentil 95 (2,47 MoM)	2	3,1	3%	
Percentil 99 (3,81 MoM)	1	0,6	2%	

percentil PAPP-A	gestantes DG (total=22 casos) gestantes con prueba bioq. en semana 13		
	encontradas	esperadas	% sobre total DG
Percentil 90 (2,16 MoM)	0	2,2	0%
Percentil 95 (2,75 MoM)	0	1,1	0%
Percentil 99 (3,75 MoM)	0	0,2	0%

Sin embargo, y atendiendo a los datos de la tabla anterior, **los porcentajes de DG en los percentiles superiores decrecen de forma notable en los casos de diabéticas gestacionales con peso superior a 70Kg y en diabéticas con prueba bioquímica en las semana 13.** De hecho, sólo una diabética gestacional de más de 70Kg (de un total de 43) mostró un valor de PAPP-A superior a 2,00MoM de entre todas las que se hicieron la prueba bioquímica en las semanas 12 o 13.¹¹³¹¹⁴

En la siguiente tabla se muestra el número de casos con PAPP-A superior a 2,00MoM considerando las diabéticas gestacionales sin restricción de peso y aquellas con peso de más de 70Kg, agrupadas conforme a la semana en que se realizaron la prueba bioquímica.

Figura 66: Acumulado por semana de gestación en la fecha de la prueba bioquímica de las gestantes DG con PAPP-A >2,00MoM.

muestra/subgrupo	gestantes DG con valor de la PAPP-A \geq 2MoM											
	con prueba bioquímica en semana \geq 10			con prueba bioquímica en semana \geq 11			con prueba bioquímica en semana \geq 12			con prueba bioquímica en semana =13		
	casos	DG muestra	%	casos	DG muestra	%	casos	DG muestra	%	casos	DG muestra	%
gestantes DG (muestra: todas)	19	190	10%	19	187	10%	9	128	7%	0	22	0%
gestantes >70Kg	3	62	5%	3	62	5%	1	43	2%	0	14	0%

Entre las diabéticas gestacionales con prueba bioquímica en la semana 13 no encontramos ninguna con valores superiores a 2,00MoM (el valor máximo encontrado en este subgrupo fue de 1,84MoM). Y entre las diabéticas de más de 70Kg observamos que el número de aquellas con PAPP-A superior a 2,00MoM cae en la semana 12 a uno (PAPP-A=2,33MoM), y a cero en la semana 13. Lo mismo se observa para las diabéticas gestacionales sin restricción de peso, pero los datos se atenúan en este caso.

Como hemos dicho antes, el número de diabéticas gestacionales con peso de más de 70Kg y prueba bioquímica en la semana 13 es muy escaso en la muestra disponible. Aún así, la evaluación de los casos ofrece **indicios de que la asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional podría ser fuerte en este subgrupo de gestantes, y que valores altos de la PAPP-A (a partir de 2,00MoM) difícilmente se encontrarán en gestantes de más de 70Kg que desarrollarán diabetes gestacional, siempre que la prueba bioquímica se efectúe en semanas más avanzadas de gestación (13 y sucesivas).** La importancia de este indicio radica en que el número de diabéticas gestacionales de más de 70Kg representa un tercio del total.

7.2. ASOCIACIÓN DE LA PAPP-A CON LA INTOLERANCIA A LA GLUCOSA (PAR DE ESTUDIO NOI vs IDG).

En el presente estudio también se ha evaluado la asociación de la PAPP-A con el desarrollo de intolerancia a la glucosa (incluidas las diabéticas gestacionales) al abordar el par de estudio de gestantes NOI frente a gestantes IDG.

El análisis descriptivo de cada grupo arroja diferencias leves en media y mediana de la PAPP-A (mediana en NOI=1,03MoM; mediana en IDG=0,98MoM).

El contraste de hipótesis efectuado para evaluar diferencias en las distribuciones respectivas de la PAPP-A no resultó estadísticamente significativo ($p=0,143$), **por lo que no puede establecerse una asociación entre la PAPP-A y esta condición.**

7.3. ASOCIACIÓN DE LA PAPP-A CON UN RESULTADO POSITIVO EN LA PRUEBA DE DESPISTAJE (PAR DE ESTUDIO OS- vs OS+).

A priori, podríamos conjeturar que al no existir una diferencia estadísticamente significativa en el valor de la PAPP-A entre no intolerantes (NOI) e intolerantes a la glucosa o hidratos de carbono (IDG), tampoco debiera existir diferencia entre las gestantes OS- y OS+, pues el grupo OS+ ahora está clínicamente menos definido que el grupo IDG del anterior par analizado (el grupo OS+ incluye también a gestantes que dieron positivo en el test de despistaje sin mostrar posteriormente intolerancia a la glucosa ni desarrollar diabetes). Hay que tener en cuenta, no obstante, que el grupo control OS- está ahora formado por gestantes más homogéneas y con riesgo mínimo de desarrollar intolerancia a la glucosa, y que en este par de estudio el número de casos (gestantes OS+) es sensiblemente mayor al de casos IDG, por lo que diferencias pequeñas pueden ser más significativas gracias a un mayor poder del test.

El contraste de hipótesis efectuado muestra que existen diferencias estadísticamente significativas en la distribución de la PAPP-A en gestantes OS- y gestantes OS+ ($p=0,024$). Ahora bien, la diferencia en el valor de la mediana es pequeño (1,04MoM en las OS- frente a un valor de 1,00MoM en las gestantes OS+) y los intervalos de confianza de las medianas se solapan con claridad (NS=95%), con límites superiores muy próximos entre sí. Estas circunstancias arrojan **dudas respecto a que existan una diferencia significativa en sus medianas y en las distribuciones respectivas de PAPP-A**, máxime cuando el *p value* empeora notablemente respecto a los obtenidos en el par de estudio de NODG vs DG y no se obtienen valores estadísticamente significativos de *Odds Ratio* (OR).

El *Intervalo de Confianza* de la mediana del grupo OS- es [1,011-1,063]MoM y el de las gestantes OS+ es [0,957-1,041]MoM.

El comportamiento de la PAPP-A ante las variables modificadoras de peso, edad y semana de gestación en la prueba bioquímica es consistente con el evidenciado en el par de estudio NODG vs DG, si bien los patrones mostrados son más débiles.

7.4. ASOCIACIÓN DE LA β -hCG CON LAS CONDICIONES OBJETO DE ESTUDIO.

El estudio de inferencia llevado a cabo no muestra una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de la β -hCG entre los grupos de los distintos pares de estudio ($p=0,335$ para el par de estudio NODG vs DG).

En el caso del par de estudio NODG vs DG, el grupo de gestantes sanas (grupo NODG) tiene un valor de mediana de la β -hCG de 0,95MoM, frente a un valor de 1,00MoM el grupo de las diabéticas gestacionales. En los otros 2 pares de estudio las diferencias son aún menores.

Justo al contrario que con la PAPP-A, en los 3 pares de estudio las gestantes con la condición muestran siempre una mediana de β -hCG ligeramente superior a la del grupo de control.

Cuando se analiza la muestra por rangos de edad, el valor de la mediana oscila en ambos grupos (gestantes NODG y DG) con valores próximos a 1,00MoM sin mostrar una tendencia definida.

En el análisis estratificado por peso, la β -hCG exhibe una tendencia clara en ambos grupos (gestantes NODG y DG) a decrecer con el incremento del peso de las gestantes.

Cuando se analiza el par de estudio NODG vs DG desde la perspectiva de la semana de realización de la prueba bioquímica, la mediana en ambos grupos muestra una ligera tendencia a decrecer en las gestantes de la semana 11-12, pero sin exhibir una tendencia bien definida.

7.5. ASOCIACIÓN DE LA TN CON LAS CONDICIONES OBJETO DE ESTUDIO.

El estudio de inferencia estadística llevado a cabo muestra con claridad que no existe una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de la TN entre los grupos de los distintos pares de estudio ($p=0,954$ para el par de estudio NODG vs DG).

En el caso del par de estudio NODG vs DG, el grupo de gestantes sanas (grupo NODG) tiene un valor de mediana de la TN de 1,10, frente a un valor de 1,15 el grupo de las diabéticas gestacionales. En los otros 2 pares de estudio las diferencias no existen y la mediana en todos los grupos es de 1,10.

Cuando se analiza la muestra por rangos de edad, el valor de la mediana en ambos grupos muestra una tendencia positiva a medida que se incrementa la edad.

En el análisis estratificado por peso la TN exhibe una tendencia levemente ascendente dentro del grupo de gestantes sanas, mientras que la mediana en el grupo de diabéticas muestra valores que oscilan en torno a 1,10.

Cuando se analiza el par de estudio desde la perspectiva de la semana de realización de la prueba bioquímica, la mediana en ambos grupos muestra una clara tendencia creciente, pero sin que ninguno de los grupos muestre valores persistentemente mayores que el otro.

7.6. CONCLUSIONES.

La etiología de la diabetes gestacional es compleja. Probablemente en la actualidad no se conocen todos los mecanismos involucrados en su aparición.

Hemos querido aportar más luz al debate científico que existe al respecto, evaluando de forma específica el comportamiento y posible asociación de las hormonas placentarias del cribado bioquímico (PAPP-A y β -hCG) y la Translucencia Nucal (TN) con las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono en las gestantes, y muy especialmente con la diabetes gestacional. En la primera parte de este trabajo hemos dado cuenta de los mecanismos por los cuales estos tres marcadores podrían estar alterados como consecuencia de la transformación placentaria que se produce en la diabetes. A continuación procedemos a presentar las conclusiones más relevantes que se desprenden de los hallazgos del estudio.

El estudio establece una asociación estadísticamente significativa ($p=0,016$) de la PAPP-A (medida en el cribado bioquímico del primer trimestre) con la diabetes gestacional. La PAPP-A –estimada por su mediana- es menor en las diabéticas gestacionales (0,95MoM) que en las gestantes sanas (1,03MoM). De acuerdo al *Odds Ratio* estimado es más probable observar un valor bajo de PAPP-A (cuando se encuentra en los percentiles 5 a 50) en las primeras que en las segundas.

También se ha podido establecer una asociación estadísticamente significativa entre la PAPP-A y aquellas gestantes con resultado positivo en el test de *O'Sullivan* (grupo OS+) frente a las que arrojaron un resultado negativo en dicha prueba (grupo OS-), si bien dicha asociación es más débil ($p=0,024$) que la existente respecto a las diabéticas gestacionales.

Sin embargo, no ha quedado establecida una diferencia estadísticamente significativa de la PAPP-A en las gestantes con alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono (grupo IDG) -entendiendo dicha alteración como un valor al menos positivo en la curva de glucosa- frente a las gestantes catalogadas como no intolerantes (grupo NOI).

En cuanto a la β -hCG y la TN, si bien se detectan diferencias entre los grupos analizados, las mismas no son significativas a un nivel de significancia del 95%.

Se describen como factores de riesgo de diabetes gestacional tanto la edad materna como el peso materno desde el primer trimestre **Cuando se introducen en el análisis dichos factores de riesgo –peso y edad-, los resultados son consistentes y refuerzan la asociación previamente establecida entre PAPP-A y diabetes gestacional**, entendida dicha consistencia como la persistencia de un valor medio de la PAPP-A menor en las diabéticas gestacionales que en las gestantes sanas a medida que aumenta el peso o la edad de las gestantes.

La obesidad ($IMC > 30$) es factor de riesgo independiente para desarrollar diabetes (riesgo promedio 20%). En relación con esto, resultan especialmente relevantes los

resultados obtenidos entre las gestantes de mayor peso: **a partir de los 65-70kg (IMC 25-27) y a medida que aumenta el peso, los valores medios de la PAPP-A divergen con claridad entre gestantes sanas y diabéticas gestacionales, y en el subgrupo de gestantes de más de 70kg (IMC >30) la asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional se intensifica notablemente ($p=0,001$) con un valor de la mediana en las diabéticas gestacionales de 0,80MoM por 1,01MoM en las gestantes sanas.**

Se sabe que la PAPP-A aumenta en condiciones normales con la edad gestacional en el primer trimestre, para permanecer luego estable en el segundo trimestre. Pero no sabemos a ciencia cierta qué sucede ni cómo evoluciona la PAPP-A en las diabéticas gestacionales a partir de la semana 13, pues los protocolos actuales y el triple *screening* no están recomendados por encima de la semana 13.6 de gestación. **El análisis efectuado evidencia que la mediana de la PAPP-A es sensiblemente inferior en las gestantes diabéticas cuando aquella es medida en la semana 13 de gestación (0,79MoM frente a 1,11MoM en las gestantes sanas; $p=0,01$). A partir de la semana 12 el valor de la mediana en las diabéticas gestacionales desciende y su caída se pronuncia en la semana 13, mientras que en las gestantes sanas el valor crece ininterrumpidamente desde la semana 10 en adelante.** Este hecho lleva a pensar en la posibilidad de que la diferencia en el valor de la PAPP-A entre gestantes sanas y DG pudiera seguir incrementándose en semanas posteriores (de la 14 en adelante) hasta revelar una fuerte asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional. Faltan datos de mediciones en semanas posteriores así como mediciones adicionales en cada gestante a lo largo del periodo del cribado bioquímico para corroborar esta posibilidad. No obstante, esta hipótesis requeriría un estudio específico y amplio del comportamiento de la PAPP-A a partir de la semana 14 en gestantes sanas frente a pacientes con diabetes gestacional.

Debe tenerse en cuenta con respecto a lo anterior que en embarazos diagnosticados con cromosomopatías la concentración de la PAPP-A es baja, y disminuye significativamente entre la 6 y la 13 semana, alcanzando el valor más bajo a las 11 semanas. Sin embargo, su desviación respecto a la normalidad va disminuyendo conforme avanzan las semanas de gestación hasta hacerse mínimo en el segundo trimestre. En la diabetes gestacional podríamos estar presenciando un patrón de comportamiento distinto en esta hormona. Éste es el único estudio hasta donde conocemos que describe el comportamiento de la PAPP-A en las distintas semanas de gestación en pacientes con diabetes gestacional.

El peso y la semana de realización de la prueba bioquímica son factores que cuando se analizan combinadamente podrían reforzar aún más la correlación de la PAPP-A con la diabetes gestacional. De especial interés resulta el subgrupo de gestantes de más de 70Kg de peso con prueba bioquímica en la semana 13 aunque, debido al pequeño tamaño de la muestra, el estudio no ha podido llegar a conclusiones estadísticamente significativas. **El estudio ofrece indicios claros de que la asociación de la PAPP-A con la diabetes gestacional podría ser fuerte en este subgrupo de gestantes, especialmente en los percentiles altos. Valores elevados de PAPP-A (a partir de 2,00MoM) difícilmente se encontrarán en gestantes de más de 70Kg que desarrollarán diabetes gestacional, siempre que la prueba bioquímica se efectúe en semanas avanzadas de gestación (semana 13).**

Dadas las complicaciones materno-fetales que se asocian con la diabetes gestacional, un diagnóstico precoz puede favorecer la evolución de la gestación y disminuir los riesgos maternos y fetales respectivamente. Se necesitan todavía muchos estudios para demostrar el valor de la PAPP-A en el metabolismo de los hidratos de carbono, pero como nosotros hemos descrito, y otros autores previamente, parece que la PAPP-A puede tener un valor predictivo a bajas concentraciones en las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono. Debemos de ser conscientes del valor que puede tener esto si se demostrase su utilidad como predictor, pues los valores de las hormonas placentarias se determinan hoy en día a casi a todas las gestantes y su interpretación podría favorecer la evolución de la gestación, sin un aumento del coste por embarazada.

CONCLUSIONES NUMERADAS

- 1.- Existe asociación ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA entre valores bajos DE PAAP-A Y LA DIABETES GESTACIONAL.
- 2.- Existe asociación ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA entre los valores de la PAAP-A y gestantes con test de cribado (O'Sullivan) positivo frente a las test de cribado negativo.
- 3.- Se detectan diferencias en las gestante diabéticas en los valores de la β HCG y la Translucencia nucal pero NO EXISTE ASOCIACIÓN ESTADISTICA de estos valores con las mujeres con diabetes gestacional.
- 4.- Existe relación ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA cuando asociamos los factores de riesgo de diabetes gestacional, peso y edad materna, con el comportamiento de la hormona en las pacientes con diabetes gestacional frente a las gestantes sanas.
- 5.- La ASOCIACIÓN DE LA PAPP-A es mucho mayor en el subgrupo de gestante con peso > 70 Kilos.
6. En la gestante sana la PAPP-A crece desde la semana 10, sin embargo en la gestante diabética parece que el comportamiento de la hormona es inverso, y desciende a partir de la semana 12 y su caída es más pronunciada en semana 13.
- 7.- Será difícil encontrar valores elevados de PAPP-A en diabetes gestacional en mujeres con peso superior a 70 kilos y por encima de la semana 13 de gestación.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 GEDE, (Grupo Español de diabetes y embarazo) Guía asistencial de diabetes mellitus y embarazo,(3era edición) Vol 22 Núm 1- enero-marzo 2006.
- 2 Ben-Haroush A, Yogev Y, Hod M. Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 2004; 21(2): 103-113.
- 3 American Diabetes Association. Report of the expert Committee in the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2002; 25:5-20
- 4 The physiology of the placenta: Role of the placenta in the feto-maternal exchange processe. The endocrinal function. Universités de Fribourg, Laussane et Berne (Suisse) last revision 10-2007.
- 5 Miell JP, Langford KS, Jones JS, Noble P, Westwood M, White A, Nicolaides KH. J The maternal insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding protein response to trisomic pregnancy during the first trimester: a possible diagnostic tool for trisomy 18 pregnancies. *Clin Endocrinol Metab.* 1997 Jan
- 6 Oxvig C, Sand O, Kristensen T, Gleich GJ, Sottrup-Jensen L.. Circulating human pregnancy-associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem.* 1993;268:12243-6
- 7 Metzger BE, Coustan DR(1998) Summary and recommendations of the Fourth International Workshop- Conference on Gestacional Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 21 Suppl 2: B161-167
- 8 Tuffel DJ, West J, Walkinshaw SA, (2005) Treatments for gestacional diabetes and impaired glucosa tolerante in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2:CD003395
- 9 Rosa Araya F. *Rev. Med. Clin. Condes* (2009) 20(5) 614-629
- 10 Vivaldi TP, Kettel M. Ebocity A. et al. Mechanism of Cellular Insulinoreistence in Human Pregnancy. *Am y Obst. Gynecol*, 170.635-41 (1994)
- 11 Kirwan JP., Heugel-De Manzon S, Lepercq J, et al. TNF is a Predictor of Insulin Resistance in Human Pregnancy. *Diabetes*, 51:2207-13 (2002)
- 12 Ward WK, Johnson CLW, Beard JC, et al: Abnormalities of islet b-cell function, insulin action and fat distribution in women with histories of gestacional diabetes, relationship to obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 61: 1039 (1985)
- 13 Catalano PM, Bernestein IM, Wolfe RR, Srikanta S, Tyzbir ED, Sims EAH (1986) Subclinical abnormalities of glucose metabolism in subjects with previous gestacional diabetes *Am J Obstet Gynecol* 155: 1255-1263
- 14 DeFronzo, R.A. Pathogenesis of type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus: a balanced overview. *Diabetologia* 35, 389-97 (1992).
- 15 Freinkel N; Phelps RL, Metzger BE. The mother in pregnancies complicated by diabetes. En: Rifkin H, Porte D, eds. *Diabetes Mellitus. Theory and practice.* New York: Elisevier;1990. p. 634-50
- 16 Catalano PM, Bernestein IM, Wolfe RR, Srikanta S, Tyzbir ED, Sims EAH (1986) Subclinical abnormalities of glucose metabolism in subjects with previous gestacional diabetes *Am J Obstet Gynecol* 155: 1255-1263
- 17 Catalano PM, Tyzbir ED, Sims EAH, (1990) Incidente and signficance of islet cell antibodies in women with previous gestacional diabetes *Diabetes Care* 13: 478-482

- 18 Catalano PM, Tyzbit ED, Wolfe RR, Calles J, Roman NM, Amini SB, Sims EAH(1993) Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subject and women with gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 172: 1464-1470
- 19 Catalano PM, Roman- Drago N, Amini SB, Sims EAH: Longitudinal changes in body composition and energy balance in lean women with normal and abnormal glucose tolerance during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 179:156, 1998
- 20 Friedman JE, Ishizuka T, Shao J, et al: Impaired glucose transport and insulin receptor tyrosine phosphorylation in skeletal muscle from obese women with gestational diabetes. *Diabetes* 48: 1807,1999
- 21 Shao J, Catalano PM, Yamashita H, Ruyter I, Smith S, Youngren J, Friedman JE. Decreased insulin receptor tyrosine kinase activity and plasma cell membrane glycoprotein-1 overexpression in skeletal muscle from obese women with gestational diabetes mellitus (GDM): evidence for increased serine/threonine phosphorylation in pregnancy and GDM. *Diabetes*.2000 Apr;49(4):603-10..
- 22 Lopez -Bermejo A. Fernandez-Real J.M., Garrido E, Roura R. Brich R, Generó P, Bach C., Cabrero D, Kihora S., Funahashi T, Verahell J, Ricart W (2004) Material soluble tumour necrosis factor receptor type 2 (sTNFR2) and adiponectin are both related to blood pressure during gestation and infant's birth weight. *Clin Endocrinol (Oxf)* 61: 544-552
- 23 Kautzky-Willer A, Prager R, Waldhausl W, Pacini G, Thomaseth K, Wagner OF, Ulm M, Strelci C, Ludwik B, 1997, Pronounced insulin resistance and inadequate beta-cell secretion characterize lean gestational diabetes during and after pregnancy. *Diabetes Care* 20:1717-1723
- 24 Kautzky-Willer A, Krggak M, winzer C, PacciniG, Tura A, Farhon S, Wagner O. Brabant G, Horn R, Stingl H, Schneider B, Waldhousl W, Roden M . 2003. Increased intramyocellular lipid concentration identifies impaired glucose metabolism in women with previous gestational. *Diabetes* 52.244-251
- 25 Catalano PM, Kirwan JP, Haugel de Mouzon S, King J (2003) Gestacional Diabetes and Insulin resistance: Role in short and long term implications for mother and fetus. *J.Nutr* 133, 1674S-1683S
- 26 Catalano PM, Nizielski SE, Shao J, Preston L, Qiao L, Friedman JE (2002) Downregulated IRS-1 and PPARgamma in obese women with gestacional diabetes: relationship to FFA during pregnancy. *Am J Physiol* 282: E522-E533
- 27 Chen, M., Bergman, R.N., Pacini, G. & Porte, D., Jr. Pathogenesis of age-related glucose intolerance in man: insulin resistance and decreased beta-cell function. *J Clin Endocrinol Metab* 60, 13-20 (1985).
- 28 Kahn, S.E. et al. Effect of exercise on insulin action, glucose tolerance, and insulin secretion in aging. *Am J Physiol* 258, E937-43 (1990).
- 29 Chen, M., Halter, J.B. & Porte, D., Jr. The role of dietary carbohydrate in the decreased glucose tolerance of the elderly. *J Am Geriatr Soc* 35. 417-24 (1987)
- 30 Cnop, M. et al. The concurrent accumulation of intra-abdominal and subcutaneous fat explains the association between insulin resistance and plasma leptin concentrations : distinct metabolic effects of two fat compartments. *Diabetes* 51, 1005-15 (2002).
- 31 Dinneen, S., Gerich, J. & Rizza, R. Carbohydrate metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 327, 707-13 (1992).
- 32 Kido, Y., Nakae, J. & Accili, D. Clinical review 125: The insulin receptor and its cellular targets. *J Clin Endocrinol Metab* 86, 972-9 (2001)
- 33 Zick, Y. Insulin resistance: a phosphorylation-based uncoupling of insulin signaling. *Trends Cell Biol* 11, 437-41 (2001).

- 34 Rui, L., Yuan, M., Frantz, D., Shoelson, S. & White, M.F. SOCS-1 and SOCS-3 block insulin signaling by ubiquitin-mediated degradation of IRS1 and IRS2. *J Biol Chem* 277, 42394-8 (2002).
- 35 Zhande, R., Mitchell, J.J., Wu, J. & Sun, X.J. Molecular mechanism of insulin-induced degradation of insulin receptor substrate 1. *Mol Cell Biol* 22, 1016-26 (2002).
- 36 Gestational Diabetes Induces Placental Genes for Chronic Stress and Inflammatory Pathways. Tatjana Radaelli, Ali Varastehpour, Patrick Catalano and Sylvie Hauguel-de Mouzon. *Diabetes* December 2003. vol 52 no 12, 2951-2958
- 37 Cerqueira MJ, Cabero L. Diabetes y Gestación. En: Cabero L, ed. Riego elevado obstétrico. Barcelona: Ed Masson;1996.p.169-89
- 38 American Diabetes Association. Gestacional Diabetes Mellitas. *Diabetes Care* 2002;25(Suppl 1):S94-6
- 39 Berger H, Crane J, Farine D, Armson A, De la Ronde S, Keenan-Lindsay, Leduc L, Reid G, Van Aerde J; Maternal–Fetal Medicine Committee; Executive and Council for de Society of Obstetricians and Gynecologist of Canada (2002) Screening for gestational diabetes mellitus *JOGC* 24:894-912
- 40 Brody SC, Harris R, Lohr K (2003) Screening for gestational diabetes: a summary of the evidence for the US. Preventive Services Task Force. *Obstet Gynecol* 101:380-392
- 41 American Collage of Obstetricians and Gynecologist: ACOG Practice Bulletin: Clinical management guidelines for obstetricians-gynecologist: number 30, September 2001:gestational diabetes (2001) *Obstet Gynecol* 98: 525-538
- 42 Dooley SL, Metzger BE, Cho NH (1991) Gestacional diabetes mellitas. Influence of race on disease prevalence and perinatal outcome in a US population. *Diabetes* 40 (suppl 2): 25-29.
- 43 O'Sullivan JB, Mahan CM: Criteria for the oral glucose tolerance test in pregnancy. *Diabetes* 1964; 13: 278-85.
- 44 O'Sullivan JB: Diabetes Mellitus after GDM. *Diabetes* 1991; 40: 131-5.
- 45 Screening for gestational diabetes mellitus: Recommendation statement. Rockville, MD. US Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2008; 148:759-765.
- 46 Berger H, Crane J, Farine D, Armson A, De la Ronde S, keenon-Lindsay L, Reid G, Van Aerde J; Maternal–Fetal Medicine Committee; Executive an Council for de Socitey at Obstetricias and Council for de Society of Obstetricias and Gynecologist of Canada (2002) Screening for gestational diabetes mellitus. *JOEC* 24: 894-912
- 47 Metzger BE and The Organizing Committee. Summary and Recommendations of the Third International Workshop–Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1991; 40 (Suppl. 2)
- 48 Metzger BE, Coustan DR and The Organizing Committee. Summary and Recommendations of the Fourth International Workshop–Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1998; 21 (suppl.2): B161-B167.
- 49 American, Diabetes, Association. Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2000; 23: S77-S78
- 50 Brody SC; Harris R, Lahr K(2003) Screening for gestacional diabetes a summary of the evidence for the US Preventive services Task Force. *Obstetric Gynecolol* 101; 380-392
- 51 Protocolo de SEGO. Asistencia a la gestante diabeticas 2004

- 52 Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, McPhee AJ, Jeffnes WS, Robinson JS (2005). Australian Carbohydrate intolerante study in Pregnant Women (ACHOIS) Trial Group, *N Engl J Med* 352:2477-2486.
- 53 Langer O, Yogev Y, Most O, Xenakis EM (2005) Gestacional Diabetes, the consequences of not treating. *Am J Obstetric Gynecol* 192:989-997.
- 54 Allen SR(2003) Gestacional diabetes: a review of the reatment options, *Treat Endocrinol* 257-365
- 55 Elliott BD; Schenker S, Langer O, Jonson R, Prihoda T (1994) Comparative placental trasport of oral hypoglycemic agents in humans: a model of human placental drugs transfer. *Am J OBstet Gynecol* 171: 653-660
- 56 Langer L, Conway DL, Berkus MA. Comparison of glyburide and insulin in women with gestational diabetes mellitus. *N Eng J Med* 2000, 343:1134-1138.
- 57 Milstone DS, Redline RW, O'Donnell PE, Davis VM, Stavrakis G. E-selectin expression and function in a unique placental trophoblast population at the fetal-maternal interface: regulation by a trophoblast-restricted transcriptional mechanism conserved between humans and mice. *Dev Dyn.* 2000 Sep;219(1):63-76.
- 58 Lorenzo Abad Martinez, Rafael Comino Delgado, Guillermo Lopez Garcia,. *Endocrinología e inmunología de la gestación* , tema 6 de "Obstetricia y Ginecologica" 2004, 69-79
- 59 S.C.Yen,S; Jaffe, R, y Babierir, Robert I. *Endocrinología de la Reproducción* , fisiología, fisiopatología y manejo clínico (4ª edic) Edit. Panamericana.
- 60 Tatjana Radaelli, Ali Varastehpour, Patrick Catalano and Sylvie Hauguel-de Mouzon *Gestational Diabetes Induces Placental Genes for Chronic Stress and Inflammatory Pathways.* *Diabetes* December 2003 vol. 52 no. 12 2951-2958
- 61 Lin TM, Galbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, Gall S. Human pregnancy associated plasma proteins during postpartum period. *Am J Obstet Gynecol.* 1976;124(4):382-7.
- 62 Oxvig C, Sand O, Kristensen T, Kristensen L, Sottrup-Jensen L.. Isolation and characterization of circulating complex between human pregnancy-associated plasma protein-A and proform of eosinophil major basic protein. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1201: 415-23
- 63 Sjoberg J, Wahlstrom T, Grudzinskas JG, Sinosich MJ. Demonstration of pregnancy-associated plasma protein like material in the fallopian tube. *Fertil Steril* 1986; 45(4):517-21.
- 64 Khosravi J, Diamandi A, Krishna RG, Bodani U, Mistry J, Khaja N.. Pregnancy associated plasma protein-A: ultrasensitive immunoassay and determination in coronary heart disease. *Clin Biochem.* 2002;35:531-8.
- 65 Laursen L, Overgaard M, Søe R, Boldt H, Sottrup-Jensen L, Giudice L, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) cleaves insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-5 independent of IGF: Implications for the mechanism of IGFBP-4 proteolysis by PAPP-A. *FEBS Lett.* 2001;504:36-40.
- 66- Bischof P, Rapin Ch, Weil A, Herrman W. Is pregnancy associated plasma protein-A a tumor marker? *Am J Obstet Gynecol.* 1982; 143(4):379-81.
- 67 Isaka K, Bischof P, Binding of Is pregnancy associated plasma protein-A to placental subfractions. *Arch Gynecol* 1986;237(3):117-26.
- 68Sabriá 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;11:20-6.

- 69 Brameld KJ, Dickinson JE, O'Leary P, Bower C, Goldblatt J, Hewitt B, Murch A, Stock R. First trimester predictors of adverse pregnancy outcomes Aust N Z J Obstet Gynaecol 2008 Dec;48(6):529-35.
- 70 Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy associated plasma protein A the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia and stillbirth. J Clin. Endocrinol Metab 2002;87(4):1762-7.
- 71 Zwahlen M, Gerber S, Bersinger NA. First trimester markers for preeclampsia: placental vs non-placental protein serum levels. Gynecol Obstet Invest, 2007; 63(1):15-21
- 72 Spencer K, Cowans NJ, Nicolaides KH. Low levels of maternal serum PAPP-A in the first trimester and the risk of preeclampsia. Prenat Diagn, 2008 Jan,28(1):7-10.
- 73, Laphorn AJ; Harris DC, Littlejohn A, Lustbader JW, Canfield RE, Machin KJ, Morgan FJ, Isaacs NW Crystal structure of human chorionic gonadotropin. Nature 369(June 1994) (6480) pp 455-61
- 74 Cunningham FG. Hormonas placentarias. En: MacDonald PC, Gant N, Leveno KJ. Eds. Williams Obstetricia. Ed: Masson, Barcelona;1996.135
- 75 Cole LA. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. Reprod Biol Endocrinol. 2010 Aug 24;8:102.
- 76 Laphorn AJ, Harris DC, Littlejohn A, Lustbader JW, Canfield RE, Machin KJ, Morgan FJ, Isaacs NW (June 1994). «Crystal structure of human chorionic gonadotropin». Nature 369 (6480): pp. 455–61
- 77 Spencer K, Souter V, Tul N, Sniders RJM, Nicolaides KH, A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. Ultrasound Obstet Gynecol 1999;13:231-7
- 78 Charas Y.T, Ong, C. Y. T., Liao, A. W., Spencer, K., Munim, S. and Nicolaides, K. H. (2000), First trimester maternal serum free β human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 107:1265–1270.
- 79 Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy associated plasma protein A the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia and stillbirth. J Clin Endocrinol Metab 2002;87(4):1762-7.
- 80 Spencer K, Cowans NJ, Nicolaides KH. Low levels of maternal serum PAPP-A in the first trimester and the risk of preeclampsia. Prenat Diagn, 2008 Jan,28(1):7-10.
- 81 Gordon C. S. Smith, Emily J. Stenhouse, Jennifer A. Crossley, David A. Aitken, Alan D. Cameron, J. Michael Connor. Early Pregnancy Levels of Pregnancy-Associated Plasma Protein A and the Risk of Intrauterine Growth Restriction, Premature Birth, Preeclampsia, and Stillbirth The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism April 1, 2002 vol. 87 no. 4 1762-1767
- 82 Bach, Ca; Torrent, Sa; Cabrero, Db; Sabrià, Ja. Cribado bioquímico-ecográfico de las aneuploidías en el primer trimestre. Metodología y resultados Prog Obstet Ginecol. 2004;47:5-19. - vol.47 núm 01
- 83 Canick JA, Lambert-Messerlian GM, Palomaki GE, Neveux LM, Malome FD, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, Saade GR, Berkowitz RL, Dar P, Dugoff L, Craig SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, for the First and Second Trimestre Evaluation of Risk (FASTER) Trial Research Consortium. Comparison of Serum Markers in First- Trimester Down Syndrome Screening. Obstet Gynecol 2006 Nov; 108(5): 1192–1199.
- 84 Screening del primer trimestre de la gestación, Revisión médica de Clínica las Condes 2008; 19 (3) 165-176

- 85 Protocolo de diagnóstico de anomalías congénitas fetales en Cataluña 2008.
- 86 Kypros H, Nicolaides, Orlando Falcón, Ecografía de la 11-13.6 semana. Fetal Medicine Foundation, Londres, 2004
- 87 Documento marco sobre cribado poblacional. Ponencia de cribado poblacional de la comisión de salud pública
- 88 Serlin DC, Lash RW. Diagnosis and management of gestational diabetes mellitus. *Am Fam Physician*. 2009 Jul 1;80(1):57-62.
- 89 Sebire NJ, Snijders RJ, Hughes K, Sepulveda W, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Br J Obstet Gynaecol*. 1996; 103: 999-1003.
- 90 Spencer K. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies in the first trimester using free beta-hCG and PAPP-A, combined with fetal nuchal translucency thickness. *Prenat Diagn*. 2000; 20: 91-5.
- 91 Sherod C, Sebire NJ, Soares W, Snijders RJ, Nicolaides KH. Prenatal diagnosis of trisomy 18 at the 10-14-week ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1997; 10: .387-90.
- 92 Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock JA, Désilets VA, Johnson JA, Langlois S, Summers A, Wyatt P; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Genetics Committee. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J Obstet Gynaecol Can*, 2008 Oct;30 (10);918-49
- 93 Persistent low levels of beta-hCG in a patient with recurrent pregnancy loss., Vu J, Meyer C, Porto S. *Obste Gynecol* 2009 Feb;113(2 Pt 2):518-9.
- 94 Van Ravenswaaij R, Tesselaar-van der Goot M, de Wolf S, Van Leeuwen-Spruijt M, Visser GH, Schielen PC. First-trimester serum PAPP-A and β -hCG concentrations and other maternal characteristics to establish logistic regression-based predictive rules for adverse pregnancy outcome. *Prenat Diagn*. 2011 Jan ;31(1):50-7.
- 95 Goetzinger KR, Singla A, Gerkowicz S, Dicke J, M. Gray D, L. Odibo A, O. Predicting the risk of pre-eclampsia between 11 and 13 weeks' gestation by combining maternal characteristics and serum analytes, PAPP-A and free β -hCG. *Prenat Diagn* 2010 Dec;30(12-13):1138-42.
- 96 Nataša Tull,*, Stanko Pušenjak¹, Joško Osredkar², Kevin Spencer³, Živa Novak-Antolič¹ Predicting complications of pregnancy with first-trimester maternal serum free- β hCG, PAPP-A and inhibin-A Prenatal Diagnosis. Volume 23, Issue 12, pages 990–996, 15 December 2003
- 97 Yuval Yaron-a, Yifat Ochshornb, Sigal Heifetz-d, Ofer Lehavib, Yaron Sapirc, Avi Orr-Urtregera, c First Trimester Maternal Serum Free Human Chorionic Gonadotropin as a Predictor of Adverse Pregnancy Outcomes *Fetal Diagn Ther* 2002;17:352-356
- 98 Johnson MR, Riddle AF, Grudzinkas JG, Sharma V, Collins WP, Nicolaides KH. Reduced circulation placental protein concentrations during the first trimester are associated with preterm labour and low birth weight. *Human Reprod*. 1993; 8(11):1942-7.
- 99 David Krantz, Laura Goetzl, Joe Leigh Simpson, Elizabeth Thom, Julia Zachary, Terrence W. Hallahan, Richard Silver, Eugene Pergament, Lawrence D. Platt, Karen Filkins. Association of extreme first-trimester free human chorionic gonadotropin- β , pregnancy-associated plasma protein A, and nuchal translucency with intrauterine growth restriction and other adverse pregnancy outcomes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, Volume 191, Issue 4, Pages 1452-1458
- 100 Pederson JF, Sorensen S, Ruge S. Human placental lactogen and pregnancy associated plasma protein A in first trimester and subsequent fetal growth. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995;74 (7):505-8.

- ¹⁰¹ Haddad B, Abirached F, Louis-Sylvestre C, Le blond J, Paniel BJ, Zorn JR. Predictive value of early human chorionic gonadotrophin serum profiles for fetal growth retardation. *Hum Reprod* 1999; 14 (811):2872-5.
- ¹⁰² Hyett J, Perdu M, Sharland G, Snijders R, Nicolaides KH. Using fetal nuchal translucency to screen for major congenital cardiac defects at 10–14 weeks of gestation: population based cohort study. *BMJ* 1999;318:81–5.
- ¹⁰³ Kypros H.Nicolaides; Orlando Falcón. La ecografía de las 11–13+6 semanas. *Fetal Medicine Foundation*, Londres, 2004
- ¹⁰⁴ Lorraine Dugoff, John C.Hobbins David Luthy , Christine H. Comstock, Gary Hankins, Richard L. Berkowit, Irwin Merkatz, Sabrina D. Craigo, Ian E. Timor-Tritsc, Steven R. Car, Honor M. Wolfe John Vidaver, Mary E. D'Alton, First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: A population-based screening study (The FASTER Trial) *American Journal of Obstetrics & Gynecology* Volume 191, Issue 4 , Pages 1446-1451, October 2004
- ¹⁰⁵ Guia NICE 2008. Gestational Diabetes and Pregnancy.
- 106 Brady SC; Harris R, Lahr K (2003) Screening for gestational diabetes: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Obstet Gynecol* 101:380-392
- 107 Febres Balestrini, Freddy; Zimmer, Eveline; Guerra, Celina; Zimmer, Elizabeth; Gil, Judith. Nuevos conceptos en diabetes mellitus gestacional: evaluación prospectiva de 3.070 mujeres embarazadas / New concept in gestational diabetes mellitus: prospective evaluation of 3.070 pregnancy woman. *Rev Obs. Ginecología Venezuela*. 60(4):229-36, dic. 2000.
- 108 Cadergen MI(2004) Maternal obesity and the risk of adverse pregnancy outcome. *Obstet and Gynecology* 103:219-224
- 109 Obesidad y embarazo, Protocolos asistenciales en obstetricia de la SEGO. PROSEGO, marzo 2011
- 110 Andreasen KR, Andersen ML, Schantz AL (2004) Obesity and pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 83; 1022-1029
- 111 Bartha JL, Cerqueira MJ, González González NL, Jáñez M, Mozas J, Ramírez García O y cols; Grupo Español para el Estudio de la Diabetes y el Embarazo. Diabetes y embarazo. Guía Asistencial 2006. *Prog Obstet Ginecol*. 2007;50:249-64.
- 112 Zhang C, Solomon CG, Manson JE, Hu FB. A prospective study of pregravid physical activity and sedentary behaviors in relation to the risk for gestational diabetes mellitus. *Arch Intern Med*. 2006;166:543-8.
- 113 Weiss JL, Malone FD, Emig D, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, et al; FASTER Research Consortium. Obesity obstetric complications and cesarean delivery rate-a population based screening study. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190:1091-7.
- 114 Santamaría Lozano, Ricardo. Obesidad en la embarazada: Cuestión de salud. Cuestión social. Salamanca, 2011.