



Universidad
Zaragoza

**Implicaciones clínicas tras la
introducción del test fetal no invasivo
(TFNI) en el diagnóstico prenatal
durante el periodo 2010-2019**

**Trabajo de Fin de Máster “Iniciación a la Investigación en
Medicina”**

Curso 2019-2020

Alumna: Marta Narvéez Salazar

Tutora: Jara Pascual Mancho

ÍNDICE:

1. RESUMEN:	3
2. ABSTRACT:	4
3. ABREVIATURAS:.....	5
4. INTRODUCCIÓN:	6
4.1. CONCEPTOS BÁSICOS DE DIAGNÓSTICO PRENATAL:	6
4.2. PROGRAMAS DE CRIBADO:	7
4.2.1. FACTORES QUE AFECTAN AL CRIBADO:	8
4.3. TEST FETAL NO INVASIVO (TFNI):	10
4.3.1. PRINCIPIOS BÁSICOS:.....	10
4.3.2. EFICACIA DIAGNÓSTICA:.....	12
4.3.3. ESTRATEGIAS DE CRIBADO:.....	12
4.3.4. FACTORES PREDICTORES DE FALLO DEL TFNI:.....	14
4.4. OTROS MARCADORES PREDICTORES DE CROMOSOMOPATÍAS:	15
4.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:	15
5. OBJETIVOS DEL ESTUDIO:	17
5.1. OBJETIVO PRINCIPAL:	17
5.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:.....	17
6. MATERIAL Y MÉTODOS:.....	18
6.1. DISEÑO DEL ESTUDIO:	18
6.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:	18
6.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES:	18
6.3.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:.....	18
6.3.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:	19
6.4. CONTEXTO CLÍNICO DEL ESTUDIO:.....	19
6.5. VARIABLES A ESTUDIO:.....	24
6.5.1. VARIABLES MATERNAS:.....	24
6.5.2. VARIABLES OBSTÉTRICAS (TÉCNICAS INVASIVAS):.....	24
6.5.3. VARIABLES OBSTÉTRICAS (TFNI):.....	25
6.6. RECOGIDA DE DATOS:	25
6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:	26
6.8. ASPECTOS ÉTICOS:.....	26
7. RESULTADOS:	29
7.1. PACIENTES INCLUIDAS:.....	29

7.2.	CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO:	29
7.3.	DISTRIBUCIÓN DE LAS TÉCNICAS INVASIVAS:.....	32
7.4.	TIPO DE INDICACIÓN PARA TÉCNICA INVASIVA:.....	35
7.5.	TIPO DE TÉCNICA APLICADA SOBRE LAS MUESTRAS:	38
7.6.	TIPO DE RESULTADO DE LAS TÉCNICAS INVASIVAS:.....	39
7.7.	RESULTADO EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ANEUPLOIDÍA:	40
7.8.	ERRORES DE MUESTRA:	42
7.9.	PÉRDIDAS GESTACIONALES TRAS TÉCNICA INVASIVA:	43
7.10.	ANÁLISIS DEL TFNI:	44
7.10.1.	MOTIVOS DE SOLICITUD Y RESULTADOS DEL TFNI:	44
7.10.2.	EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ DEL TFNI:.....	46
7.10.3.	EVALUACIÓN DE LA ESTRATEGIA DEL TFNI:.....	48
7.11.	RESULTADOS POSTNATALES:	48
8.	DISCUSIÓN:	50
8.1.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO:	59
8.2.	FORTALEZAS DEL ESTUDIO:.....	60
9.	CONCLUSIONES:	61
10.	BIBLIOGRAFÍA:	62
11.	ANEXOS:	68
11.1.	ANEXO I (APROBACIÓN DEL PROYECTO POR EL CEICA).....	68
11.2.	ANEXO II (APROBACIÓN DEL SERVICIO DE ADMISIÓN Y DOCUMENTACIÓN CLÍNICA DEL HUMS PARA LA REVISIÓN DE HISTORIAS CLÍNICAS).	69

1. RESUMEN:

Introducción: En Aragón, desde 2015 se implementó el uso del TFNI dentro del protocolo de diagnóstico prenatal, lo que nos permite tener una perspectiva de larga evolución para poder valorar los cambios acontecidos.

Objetivo: El objetivo principal del estudio consiste en evaluar el impacto sobre las TI tras la implantación del TFNI en nuestro centro en 2015.

Material y métodos: Se trata de un estudio descriptivo retrospectivo de la tasa de técnicas de diagnóstico prenatal invasivas durante dos periodos de tiempo definidos: primer periodo desde 2010 a 2014 y segundo periodo desde 2015 a 2019, tras la implementación en 2015 del TFNI. Se incluyeron todas aquellas pacientes que se sometieron a alguna TI, y se excluyeron todos aquellos casos en los que la realización de la TI fuese tras el diagnóstico de un aborto espontáneo, un óbito fetal o debido a un cribado genético oportunista.

Resultados: Se incluyeron un total de 3562 pacientes gestantes. Se objetivó una disminución en el número global de TI realizadas en el segundo periodo (OR=0,581 IC95% [0,49-0,68], $p<0,0001$), así como cambios en la proporción de estas técnicas entre ambos periodos, con un aumento de las BC en el segundo periodo (de 19,8% a 29,8%, OR=1,720 IC95% [1,46-2,02], $p<0,0001$). También se han observado diferencias estadísticamente significativas para la indicación de la TI ($p<0,0001$), para el tipo de técnicas aplicadas sobre la muestra ($p<0,0001$) y para los resultados en función del tipo de aneuploidía ($p<0,0001$).

Conclusiones: El hallazgo principal de nuestro estudio es la evidente reducción de la tasa de TI tras la introducción del TFNI en el año 2015, con una reducción de casi un 40% en gestaciones de alto riesgo, disminuyendo la tasa en función de los nacimientos de un 11,82% en el primer periodo (2010-2014) a un 5,66% en el segundo (2015-2019). Se han observado importantes cambios en la indicación para estas técnicas, así como cambios en los resultados obtenidos y el tipo de técnicas aplicadas.

Palabras clave: “TFNI”, “test fetal no invasivo”, “impacto clínico”, “técnicas invasivas”

2. ABSTRACT:

Introduction: In Aragón, since 2015 the use of NIPT has been implemented in the prenatal diagnosis. This establishment allows us to have a long-term perspective in order to assess the changes that have occurred.

Objective: The main objective of the study is to evaluate the impact on IT after the implementation of the NIPT in our centre in 2015.

Material and methods: It's a retrospective descriptive study of the rate of invasive prenatal diagnostic techniques during two defined periods of time: first period from 2010 to 2014 and second period from 2015 to 2019, after the implementation of NIPT in 2015. Those patients who underwent some IT were included, and they were excluded when the IT was performed after the diagnosis of a spontaneous abortion, a stillbirth or due to opportunistic genetic screening.

Results: 3562 pregnant patients were included. A decrease in the overall number of TI performed in the second period (OR = 0.581 IC 95% [0.49-0.68], $p < 0.0001$) was observed, as well as changes in the proportion of these techniques between both periods. , with an increase in BC in the second period (from 19.8% to 29.8%, OR = 1.720 IC 95% [1.46-2.02], $p < 0.0001$). Statistically significant differences have also been observed for the indication of IT ($p < 0.0001$), for the type of techniques applied on the sample ($p < 0.0001$) and for the results depending on the kind of aneuploidy ($p < 0.0001$).

Conclusions: The main finding of our study is the evident reduction in the IT rate after the introduction of NIPT in 2015, with a reduction of almost 40% in high-risk pregnancies, decreasing the rate based on the births of 11.82% in the first period (2010-2014) to 5.66% in the second (2015-2019). Important changes have been observed in the indication for these techniques, as well as changes in the results obtained and the type of techniques applied.

Keywords: "NIPT", "noninvasive prenatal testing", "clinical impact", "invasive techniques".

3. ABREVIATURAS:

BC: biopsia corial

TI: técnica invasiva

AC: amniocentesis

CCPT: cribado combinado de primer trimestre

TN: translucencia nugal

β -hCG: fracción β libre de la gonadotropina coriónica humana

PAPP-A: proteína plasmática placentaria A

TD: Tasa de detección

TFP: tasa de falsos positivos

TFN: tasa de falsos negativos

VPP: Valor predictivo positivo

VPN: Valor predictivo negativo

CRL: longitud cráneo-caudal

CFF-DNA: ADN fetal libre de células

RIC: Rango intercuartílico

CIR: Crecimiento intrauterino retardado

4. INTRODUCCIÓN:

4.1. CONCEPTOS BÁSICOS DE DIAGNÓSTICO PRENATAL:

Se estima que 3-6% de los fetos presentan algún tipo de defecto congénito. Sin embargo, solo el 2,5%-3% tienen un defecto congénito diagnosticable hasta la primera semana de vida, siendo posible diagnosticar algunos de ellos en el periodo prenatal (1).

Por tanto, el “diagnóstico prenatal” se define como el campo de la medicina que engloba el conjunto de pruebas diagnósticas realizadas durante la gestación para identificar la presencia de defectos congénitos o anomalías genéticas en el feto. Como parte del programa de atención prenatal de rutina en la mayoría de los países industrializados, el cribado prenatal se ofrece para la detección del síndrome de Down, otras aneuploidías como el síndrome de Edwards y Patau así como para la detección de malformaciones congénitas, siendo los protocolos variables en función de las políticas sanitarias de cada región (2).

El diagnóstico prenatal de las diferentes anomalías genéticas se puede llevar a cabo mediante dos tipos de técnicas:

- **Técnicas no invasivas:** fundamentalmente mediante la ecografía, que nos permite observar las estructuras fetales y diagnosticar los diferentes tipos de malformación estructural, así como la valoración de determinados marcadores ecográficos que nos permitan sospechar anomalías cromosómicas (sonograma genético).
- **Técnicas invasivas (TI):** obtención de una muestra de origen fetal, a través de la amniocentesis (a partir de la semana 14) o biopsia de vellosidades coriales (cuyo intervalo de realización es en las semanas 11-14), siendo posible aplicar múltiples técnicas para el diagnóstico genético. Se considera necesario la realización de estos procedimientos para el diagnóstico de certeza de cualquier anomalía genética. Sin embargo, no son pruebas inocuas y llevan asociado un riesgo de pérdida gestacional, por lo que deben indicarse en gestantes con un alto riesgo de tener un feto con una anomalía cromosómica, así como el estado de

portador/enfermo para diferentes enfermedades monogénicas y otras enfermedades genéticas.

Estas técnicas se remontan a mediados de los 60 con la implementación de la amniocentesis, y se realizaba fundamentalmente cuando la edad materna era igual o mayor a los 35 años. Además, el riesgo de padecer estas anomalías es multifactorial, lo que supone que puedan darse en gestantes sin riesgo conocido.

4.2. PROGRAMAS DE CRIBADO:

Actualmente, con el fin de evitar la realización de estas pruebas diagnósticas a la población de forma indiscriminada, y debido a los costes económicos y riesgos que supone, se han desarrollado nuevas estrategias de cribado (tamizaje o screening) gracias al empleo generalizado de la ecografía obstétrica y la detección de marcadores en suero materno, que pueden aplicarse universalmente a todas las gestantes.

Los programas de cribado más ampliamente utilizados calculan un riesgo de cromosomopatías específico para cada gestación en función de características maternas y fetales, incluyendo generalmente la edad y otros parámetros maternos, características fenotípicas del feto y marcadores bioquímicos en sangre materna (3). El objetivo principal de estos programas es la detección de la trisomía 21 (la aneuploidía más común, con una incidencia a nivel mundial de 0,1%) (4), siendo la detección de las trisomías 13 y 18, monosomías X y otras triploidías consecuencias beneficiosas de la realización de estos programas.

Sabemos que existen otras anomalías genéticas que son causa de graves discapacidades, como son las microdeleciones (que afectan entre el 1-2% de la población), para muchas de las cuales tenemos capacidad diagnóstica, pero aún no se dispone de un método de cribado para identificar el grupo de alto riesgo dentro de la población general al que realizarles TI.

Aunque es probable que en un futuro próximo puedan ser incluidas en un programa general de cribado de anomalías genéticas, en este momento el objetivo es buscarlas en fetos en los que por sus características podamos

obtener una mayor eficiencia de las pruebas necesarias para su detección (microarray) sin aumentar el riesgo de pérdidas fetales (lo que supondría un cribado oportunista de las mismas).

Dentro de las múltiples estrategias disponibles (Figura 1), el programa de cribado más ampliamente utilizado en España es el cribado combinado de primer trimestre (CCPT). Este método engloba parámetros ecográficos como la medida de la translucencia nucal (TN) y parámetros bioquímicos analizados en el suero materno, como la medida de la fracción β libre de la gonadotropina coriónica humana (β -hCG) y la proteína plasmática placentaria A (PAPP-A). Este test presenta una tasa de detección (TD) del 90% para la trisomía 21 y del 95% para las trisomías 18 y 13 con una tasa de falsos positivos (TFP) global del 5% en condiciones óptimas de realización del test (5,6). El Comité Nacional de Screening del Reino Unido recomienda que cualquier test de cribado para la trisomía 21 debería tener una TD de al menos el 75% con un TFP del 3% (7).

4.2.1. Factores que afectan al cribado:

Las trisomías 21, 18 y 13 están asociadas con un incremento en la edad materna, un incremento en la translucencia nucal fetal y niveles descendidos en suero materno de PAPP-A en los tres casos, y niveles descendidos de β -HCG en las trisomías 18 y 13, a diferencia de la trisomía 21 (que se encuentra elevada).

Existen diferencias en las mediciones en suero de los niveles de β -HCG y PAPP-A en función de las características maternas. Si no se realiza ningún ajuste en función de las mismas, se producen errores en la TD y TFP para la trisomía 21. Las características que más contribuyen a tal efecto es la etnia y el peso materno. De forma similar, se producirían errores en el cálculo del riesgo en mujeres con hábito tabáquico y aquellas con gestación a través de técnicas de fecundación in vitro, en las que el descenso de la PAPP-A podría malinterpretarse como un riesgo aumentado de trisomía 21 y su consiguiente aumento en la TFP. También hay que tener en cuenta los factores inherentes a la gestación, como la edad gestacional en el momento de la medición y su

relación con la longitud cráneo-caudal (CRL), ya que conforme aumenta la CRL, las concentraciones maternas de la PAPP-A en suero descienden, las concentraciones de β -HCG aumentan, y con una medición subóptima del CRL podría consecuentemente aumentar el riesgo específico para trisomía 21. Por lo tanto, es esencial tener en cuenta la edad gestacional, el peso materno, la etnia materna, el hábito tabáquico, el método de concepción y la tecnología utilizada para el análisis, así como la necesidad de realizar dicho análisis entre las semanas 9 y 13 de gestación (8).

Tabla 1. Rendimiento de los diferentes métodos de cribado (5).

MÉTODO DE CRIBADO	TD (%)	TFP (%)
EM	30	5
Primer trimestre		
EM + TN fetal	75-80	5
EM + β -hCG + PAPP-A séricas	60-70	5
EM + TN fetal + β -hCG + PAPP-A séricas	85-95	5
Cribado combinado + hueso nasal o flujo tricúspideo o flujo en el ductus venoso	93-96	5
Segundo trimestre		
EM + AFP + hCG séricas (test doble)	55-60	5
EM + AFP + β -hCG séricas (test doble)	60-65	5
EM + AFP + hCG + uE3 séricas (test triple)	60-65	5
EM + AFP + β -hCG + uE3 séricas (test triple)	65-70	5
EM + AFP + hCG + uE3 + inhibina A séricas (test cuádruple)	65-70	5
EM + AFP + β -hCG + uE3 + inhibina A séricas (test cuádruple)	70-75	5
EM + TN fetal + PAPP-A séricas (11-13 semanas) + test cuádruple	90-94	5
Primer, segundo o tercer trimestre		
Análisis de ADN-Ic en sangre materna	>99	<0,1

TD: tasa de detección; TFP: tasa de falsos positivos; EM: edad materna; TN: translucencia nucal; β -hCG: fracción B libre de la gonadotropina coriónica humana; PAPP-A: proteína plasmática placentaria A; AFP: alfa fetoproteína; uE3: estriol no conjugado; ADN-Ic: ADN libre circulante. Recuadros: cribados realizados en nuestro centro.

La tasa diagnóstica de trisomías puede aumentarse hasta un 96% incluyendo algoritmos específicos como la inclusión del hueso nasal o la evaluación de ductus venoso en la ecografía de primer trimestre, con una TFP del 5%. Otra

estrategia consiste en incluir la frecuencia cardíaca fetal en el screening de primer trimestre, que tiene un impacto pequeño para la detección de trisomías 21 y 18 pero supone un incremento significativo en la detección de la trisomía 13. Aumentando únicamente un 0.1% la TFP, la TD de las trisomías 21, 18 y 13 puede aumentar hasta el 95% incluyendo estos algoritmos específicos. A diferencia de las trisomías 21 y 18, la trisomía 13 se asocia a taquicardia fetal, probablemente por las diferencias en las malformaciones cardíacas asociadas a cada síndrome o diferentes grados de retraso en el desarrollo.

Además, es un marcador importante para la distinción entre las trisomías 18 y 13, ya que presentan similitudes en el aumento de la TN, y el descenso de los valores de β -HCG y PAPP-A en suero materno (9,10).

4.3. TEST FETAL NO INVASIVO (TFNI):

Uno de los avances más reseñables en el campo del diagnóstico prenatal ha sido la introducción del análisis del ADN fetal libre de células (cff-DNA por sus siglas en inglés) en sangre materna, también conocido como “test fetal no invasivo” o TFNI, descubierto por Lo et al. en 1997 (11) convirtiéndose en un complemento fundamental en el cribado de aneuploidías.

4.3.1. Principios básicos:

Su descubrimiento se debe a la demostración de que una fracción importante de cff-DNA se libera en la circulación materna durante la apoptosis del trofoblasto placentario, lo que significa que, a diferencia del ADN aislado de las células fetales circulantes, el cff-DNA en realidad es de origen placentario (12) (Figura 1).

Según los cálculos realizados con anterioridad, la concentración de cff-DNA es casi 25 veces mayor que la concentración de ADN fetal extraído de las células sanguíneas nucleadas intactas, en un volumen similar de sangre materna. Además, el enfoque de usar cff-DNA es más sencillo y conlleva menos tiempo

que trabajar con ADN fetal, teniendo en cuenta que la mayoría del ADN libre circulante es de origen materno (13).

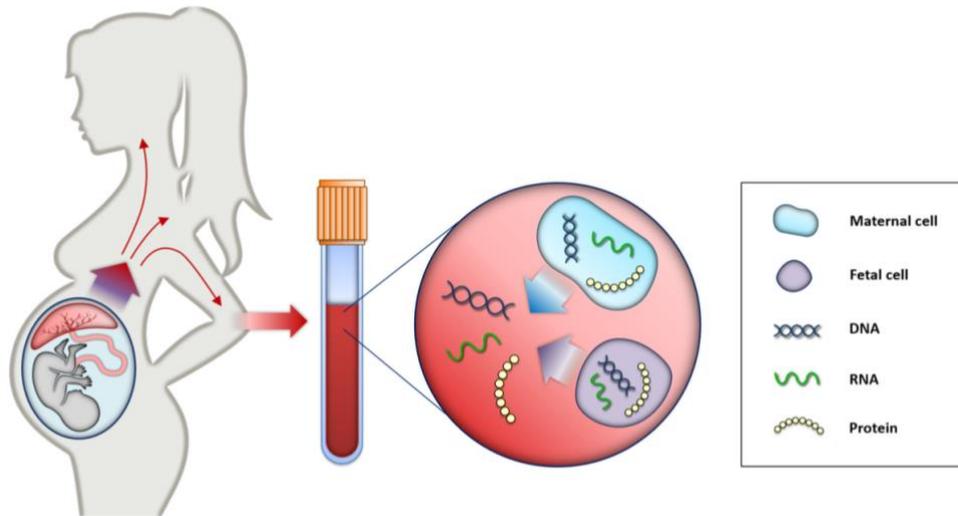


Figura 1. Principio del test fetal no invasivo (TFNI) (14).

El procedimiento que entendemos por TFNI actualmente, no podría realizarse sin las técnicas moleculares modernas actuales, lo que ha supuesto que esta técnica se incorporara por primera vez en la práctica clínica en 2011, posteriormente implantada por una gran parte de sistemas públicos de salud de forma progresiva en la última década (14).

La principal indicación del TFNI es el cribado de las trisomías 21, 18 y 13, y ha sido validada su eficacia por diferentes grupos de investigación (15). Los enfoques actuales se basan en el análisis de secuenciación masiva paralela NGS (Next-Generation Sequencing, por sus siglas en inglés) del genoma completo, de forma que se puede calcular una representación proporcional de cada cromosoma y se puede determinar la ploidía cromosómica (16). Sin embargo, ampliar el TFNI más allá de las trisomías 21, 18 y 13 al incluir la detección de cromosopatías sexuales y síndromes de microdelección, puede conducir a pruebas diagnósticas invasivas innecesarias y, potencialmente, a la interrupción del embarazo por condiciones fenotípicas relativamente leves o inciertas (17,18).

Dada la baja prevalencia, que se traduce en unos VPP bajos, el cribado de microdeleciones no se usa en programas de política sanitaria para la población general hasta que los estudios de validación clínica indiquen valor para los pacientes de bajo riesgo.

Aunque el cribado ampliado del TFNI ya está integrado en la práctica clínica, el Colegio Estadounidense de Obstetras y Ginecólogos (ACOG) no recomienda el cribado de rutina de cff-DNA para microdeleciones en este momento (19).

4.3.2. Eficacia diagnóstica:

La detección de cff-DNA tiene un rendimiento diagnóstico superior en comparación con las estrategias estándar de detección de aneuploidías. Los últimos metaanálisis realizados sobre el rendimiento de este test demuestra que en un embarazo único puede detectar el 99% de los fetos con trisomía 21, el 98% de aquellos con trisomía 18 y el 99% de aquellos con trisomía 13, con una TFP del 0.13%, así como otras aneuploidías de cromosomas sexuales, siendo la más frecuente la monosomía X (TD 95,8%, TFP 0,14%) (15,20).

Tabla 2. Metaanálisis realizado sobre el rendimiento diagnóstico del TFNI (Mackie *et al.* 19).

Test	Sensitivity	Specificity
Fetal sex	0.989 (95% CI 0.980–0.994)	0.996 (95% CI 0.989–0.998)
Rhesus D	0.993 (95% CI 0.982–0.997)	0.984 (95% CI 0.964–0.993)
Trisomy 21	0.994 (95% CI 0.983–0.998)	0.999 (95% CI 0.999–1.000)
Trisomy 18	0.977 (95% CI 0.952–0.989)	0.999 (95% CI 0.998–1.000)
Trisomy 13	0.906 (95% CI 0.823–0.958)	1.00 (95% CI 0.999–0.100)
Monosomy X	0.929 (95% CI 0.741–0.984)	0.999 (95% CI 0.995–0.999)

4.3.3. Estrategias de cribado:

Es importante evaluar las pruebas diagnosticas no solo por su efectividad clínica, si no por su coste-efectividad. El TFNI puede utilizarse en función de distintas estrategias; como test de screening de primera línea, estrategia de

cribado contingente en los resultados del test combinado del primer trimestre según el punto de corte, o una estrategia híbrida en la que el TFNI se ofrece a todas las pacientes mayores de 35, siendo las menores de 35 años sometidas al cribado tradicional (21,22).

Algunos países europeos como los Países Bajos y Bélgica (23), han implementado programas para ofrecer TFNI como prueba de detección primaria para la trisomía 21, sustituyendo a los programas de cribado combinado. Sin embargo, los FP al realizar el TFNI se deben a mosaicismos placentarios confinados, por lo que una prueba invasiva confirmatoria debería ir siempre a continuación de un resultado positivo del test (24).

Además, desde una perspectiva de política de sanidad pública el cribado primario con TFNI es un enfoque muy caro cuando solo se identifican entre un 5 y un 10% de casos adicionales en comparación con los identificados con los protocolos de cribado tradicionales. La principal ventaja del TFNI es la muy baja tasa de falsos positivos asociada con este enfoque. Sin embargo, solo mediante la utilización del TFNI como procedimiento secundario pueden los beneficios de una baja tasa de falsos positivos seguir siendo rentables para pacientes de bajo riesgo (25).

La estrategia contingente consiste en la realización del TFNI en función del riesgo calculado mediante el screening combinado del primer trimestre, que permitiría obtener una mayor tasa de detección y una tasa muy baja de pruebas invasivas, con un coste considerablemente menor que si lo utilizáramos de primera línea (26). Para ello, se deben establecer determinados puntos de corte de estos resultados, que clasifiquen cada gestación para el riesgo de aneuploidía (riesgo alto, intermedio o bajo), proponiendo la mayoría de las guías la realización de pruebas de diagnóstico invasivas en el grupo de alto riesgo, el TFNI en el grupo de riesgo intermedio, y no realizar más pruebas en aquellas gestaciones consideradas de bajo riesgo.

De este modo, la decisión de elegir entre prueba invasiva o TFNI está influenciado por el riesgo específico de cada paciente obtenido en el cribado combinado, pero depende también de la actitud de los padres a favor o en contra

de la terminación de gestaciones potencialmente afectadas de aneuploidía, existiendo múltiples diferencias culturales en cuanto a la finalización o continuación del embarazo y/o criar a un hijo con discapacidad (26). Por ello, los análisis de coste-efectividad que solo contemplan la indicación diagnóstica podrían no ser del todo válidos. Además, el TFNI podría ser una opción con un alto rendimiento diagnóstico para aquellas pacientes que no deseen someterse a pruebas invasivas y/o a terminación voluntaria del embarazo.

4.3.4. Factores predictores de fallo del TFNI:

Un problema potencial del TFNI es la tasa de fallo para ofrecer un resultado, lo que depende principalmente de la proporción relativa de ADN libre de células de origen fetal frente a origen materno. En las gestaciones afectas de trisomías, el ADN proviene de los cromosomas fetales extra, lo que resulta en una mayor proporción de ADN fetal que en las gestaciones no afectas. La proporción de ADN fetal (fracción fetal) debería ser de un 4% para alcanzar un estándar diagnóstico de calidad, si esta es inferior, la tasa de fallo del TFNI aumenta (27).

El factor predictor para fallo del TFNI más importante es el peso materno. Esta asociación inversa con la cff-DNA se podría atribuir a un efecto dilucional, que también afecta a otros productos fetoplacentarios, como la B-HCG y la PAPP-A. Otra posible explicación es que en las mujeres obesas existe un recambio acelerado de adipocitos, lo que supone un aumento en la cantidad de ADN libre de célula de origen materno en la circulación, resultado en una menor proporción de cff-DNA. Por tanto, la proporción de gestaciones con fracción fetal inferior al 4% es menor del 1% para una gestante de 60 kg y mayor del 50% si el peso es de 160kg (28).

Otro factor predictor importante son los niveles de PAPP-A y B-HCG en suero materno. La asociación lineal entre estos factores y la fracción de ADN fetal es una medida indirecta del tamaño de la placenta. Una fuente potencial de cff-DNA en la sangre materna es la apoptosis de origen placentario, que es proporcional al tamaño de la placenta. En las mujeres fumadoras, existe un menor desarrollo placentario, reflejado con niveles mas bajos de PAPP-A y B-HCG en suero, lo que supondría niveles mas bajos de fracción fetal. Sin embargo, es justo al

contrario, probablemente por los efectos de las sustancias del tabaco en la necrosis del sincitiotrofoblasto (28).

4.4. OTROS MARCADORES PREDICTORES DE CROMOSOMOPATÍAS:

Existen otra serie de marcadores que, por si mismos, pueden predecir un alto riesgo de cromosomopatías. Por ejemplo, una TN aumentada puede detectar al menos el 65% de los fetos con trisomía 21 con una TFP del 5%, siendo un papel clave en la detección temprana de aneuploidías comunes (ítem incluido en el cribado combinado del primer trimestre).

Los fetos con un mayor grosor de la TN tienen un mayor riesgo de anomalías estructurales cardíacas, así como microdelecciones y algunos trastornos monogénicos (síndrome de Noonan, síndrome de Smith-Lemli-Opitz), ninguno de los cuales puede ser detectado por TFNI.

Se ha estudiado la utilización del TFNI como prueba de cribado primaria en los fetos con una TN > percentil 99, concluyendo que este test pasaría por alto entre el 12 y el 19% de las anomalías genéticas, siendo más recomendable la realización directa de microarrays cromosómicos (29). De la misma forma, el hallazgo de alguna malformación estructural en el feto, antes de las 20 semanas de edad gestacional (sonograma genético) es motivo para la realización de una técnica invasiva para el diagnóstico de aneuploidías.

4.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

En España no se ha establecido un programa de cribado de cromosomopatías estandarizado para todas las comunidades autónomas, existiendo importantes variaciones en las pruebas diagnósticas utilizadas. La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) publicó en 2017 una actualización de la guía de recomendación en el cribado de estas anomalías (30).

En Aragón, desde 2015 se implementó el uso del TFNI y finalmente se instauró dentro del protocolo de diagnóstico prenatal de defectos congénitos como parte del cribado prenatal, a partir de 2016 (31).

El cribado poblacional de cromosomopatías en el sector II de Zaragoza se realizaba, hasta el año 2015, mediante el cribado combinado de primer trimestre, con un punto de corte de probabilidad de trisomía de 1/250 para la indicación de una prueba de diagnóstico prenatal invasiva. A partir del 2015 (Figura 2), se instauró de forma novedosa a nivel nacional un cribado contingente donde se incluía el test fetal no invasivo (TFNI), aplicable cuando el cribado combinado aportaba una probabilidad entre 1/50 y 1/1000, indicándose una prueba invasiva en valores mayores de 1/50. Dicha instauración desde el año 2015 nos permite tener una perspectiva de larga evolución para poder valorar los cambios acontecidos en el ámbito del diagnóstico prenatal a nivel poblacional y hace necesario este estudio clínico epidemiológico.



Figura 2. “Timeline” de las innovaciones en la sección de Diagnóstico Prenatal en nuestro centro.

5. OBJETIVOS DEL ESTUDIO:

5.1. OBJETIVO PRINCIPAL:

El objetivo principal de este estudio será evaluar las diferencias en la tasa de amniocentesis y tasa de biopsias coriales entre dos periodos de tiempo: previo (años 2010-2014) y posterior a la implementación del TFNI como prueba complementaria en el diagnóstico prenatal en el sector de salud II de Zaragoza en 2015 (2015-2019).

5.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:

Otros objetivos secundarios que se plantean son:

- Investigar si se producen diferencias en el motivo o indicación de las técnicas invasivas entre los dos periodos de tiempo.
- Analizar las diferencias en el tipo de patología genética diagnosticada entre ambos periodos.
- Evaluar la tasa de detección de la trisomía 21, así como otras anomalías genéticas como las trisomías 13 y 18 o las aneuploidias sexuales, y analizar si existen diferencias entre ambos periodos.
- Conocer la edad gestacional media al diagnóstico de la patología genética en ambos periodos y analizar sus diferencias.
- Realizar un análisis descriptivo sobre las características de los TFNI realizados desde el año 2015, tasas de detección y análisis de las estrategias de utilización.

6. MATERIAL Y MÉTODOS:

6.1. DISEÑO DEL ESTUDIO:

Estudio descriptivo retrospectivo de la tasa de técnicas de diagnóstico prenatal invasivas durante dos periodos de tiempo definidos: primer periodo desde 2010 a 2014 y segundo periodo desde 2015 a 2019, tras la implementación en 2015 de la detección de ADN fetal libre de células en sangre materna (TFNI). Se realiza un análisis adicional de las características de todos los TFNI realizado desde el año 2015 en nuestro sector.

6.2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

Se ha realizado una revisión bibliográfica de los últimos 10 años en las bases de datos de PubMed, Cochrane y Web of Science, utilizando los descriptores de codificación (thesaurus) correspondientes para cada base de datos empleada (MeSH y Major Topic para Pub-Med; Emtree y Major Focus para EMBASE) y se han utilizado operadores booleanos para añadir y/o eliminar términos del cuadro de búsqueda. También hemos recurrido a las diferentes guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO), así como el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG).

Se excluyeron aquellos trabajos sin acceso al texto completo o en idiomas distintos al inglés o al castellano. Se utilizaron las siguientes palabras claves: “NIPT”, “noninvasive prenatal testing” “prenatal diagnosis”, “combined first-trimester screening”, “invasive techniques” y “clinical impact”.

6.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES:

6.3.1. Criterios de inclusión:

Se incluyeron en el estudio a todas las mujeres mayores de 16 años (la Ley 41/2002, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, entiende que a partir de esta edad el menor tiene capacidad para prestar por sí mismo el consentimiento a una intervención médica), a las que se les haya realizado una

prueba invasiva para el diagnóstico prenatal de anomalías genéticas entre el 1 de enero de 2010 y 31 de diciembre de 2019.

6.3.2. Criterios de exclusión:

Se excluyeron todos aquellos casos en los que la realización de la técnica invasiva fuese tras el diagnóstico de un aborto espontáneo, un óbito fetal o debido a un cribado genético oportunista (previo a la realización de un cerclaje o tras la sospecha de corioamnionitis).

6.4. CONTEXTO CLÍNICO DEL ESTUDIO:

Actualmente en Aragón, y concretamente en el área de salud nº II de Zaragoza, el cribado de cromosomopatías está recogido en el protocolo autonómico titulado “Protocolo regional de diagnóstico prenatal de defectos congénitos. Nueva estrategia para la detección de aneuploidías fetales” (31), que incluye la introducción del TFNI en nuestra comunidad desde el año 2015.

En la estrategia de cribado de defectos congénitos que se presenta, el punto de partida es la realización a todas las gestantes del cribado combinado del primer trimestre (CCPT). Esta prueba consiste en la estimación individualizada del riesgo de tener un feto afecto de una aneuploidía (Síndrome de Down o de Edwards) mediante el cálculo de un índice de riesgo teniendo en cuenta unos factores de corrección (peso materno, raza, hábito tabáquico, presencia de diabetes, tipo de concepción, espontánea o fertilización “in vitro”, FIV). Para ello, se utiliza un programa estadístico diseñado para este fin llamado “Lifecycle Perkin Elmer”, basado en los estudios y protocolos de la “Fetal Medicine Foundation”. Se basa en tres factores fundamentales:

- Edad materna: en caso de ovodonación, se tendrá en cuenta la edad de la donante.
- Análisis bioquímico realizado entre las semanas 9 y 13 de gestación (idealmente en la semana 10) mediante la determinación de los niveles de PAPP-A y B-HCG libre.

- Ecografía entre las semanas 11+0 y 13+6 de la gestación (preferiblemente a lo largo de la semana 12), en la que se realiza la medición del CRL y el grosor de la TN.

El objetivo principal de este CCPT es clasificar a las gestantes en tres grupos en función del valor del índice de riesgo de tener un feto afecto de aneuploidía (trisomías 21 y 18):

- **Bajo riesgo (< 1/1000):** se considera que la gestante tiene un riesgo bajo. No se solicitan otras pruebas adicionales. Próximo control en la ecografía de la semana 20.
- **Riesgo intermedio (1/50 a 1/1000):** Se considera que hay un riesgo moderado de aneuploidía, aunque la gran mayoría de fetos de este grupo serán normales. Se ofrece en este caso la realización del TFNI.
- **Alto riesgo (> 1/50):** Se ofrece la realización de una prueba invasiva directamente, dada la posible presencia de otras anomalías cromosómicas no diagnosticables por la determinación de ADN fetal en sangre materna.

Tabla 3. Actuación en función del riesgo de aneuploidía y tipo de cribado (25).

	ALTO RIESGO	RIESGO INTERMEDIO		BAJO RIESGO
	> 1/50	1/50 a 1/300	1/300 a 1/1000	< 1/1000
CCPT	Biopsia Corial / Amniocentesis	TFNI (*)	TFNI (*)	ECO SEMANA 20
C 2º T	Amniocentesis	TFNI (*)	TFNI (*)	ECO SEMANA 20
SONOGRAMA GENETICO	Amniocentesis	Amniocentesis	TFNI (< 20S) Amniocentesis (> 20S)	Control habitual

(*) Cuando el TN es > P99 y/o cuando exista algún defecto congénito, siempre se ofrecerá técnica invasiva.

Sin embargo, estos valores de punto de corte son susceptibles de modificaciones en el futuro, ya sea por asuntos presupuestarios o por ajuste en los resultados del programa.

En ocasiones, si no se consigue la captación antes de la semana 14, se ofrece un cribado bioquímico de segundo trimestre (antes de la semana 19 de gestación), que tiene una TD del 65-75%. Este podrá ser el “triple test”, que consiste en la determinación de alfafetoproteína, β -HCG y estriol, o en el mejor de los casos, lo que se denomina el “cuádruple test” (que incluye además la medición de inhibina A) y es el que actualmente está en uso para nuestras pacientes de segundo trimestre desde octubre de 2014. Aunque tiene menor sensibilidad que el cribado de primer trimestre, está recogido en el protocolo autonómico y los puntos de corte utilizados para recurrir a una técnica invasiva son los mismos.

El programa de diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas y defectos congénitos concluye con la realización de la ecografía morfológica de las 20 semanas. El diagnóstico de anomalías estructurales puede producirse en cualquier momento del embarazo, incluido el tercer trimestre. La conducta a seguir en cada uno de ellos depende del tipo concreto de defecto y de la edad gestacional, lo que puede incluir la obtención de muestras fetales o placentarias, algunas formas de tratamiento fetal intrauterino y programación del parto.

Tabla 4. Procedimientos de cribado de aneuploidías comunes, incluidos en el protocolo regional de Aragón (32).

	1ª consulta de embarazo	CONTENIDO
CRIBADO COMBINADO DE PRIMER TRIMESTRE (De elección)	< 14 semanas < 84 mm CRL	Analítica semana 9-13 (idealmente 9-10) o CRL 45-83 mm para determinar β -HCG y PAPP-A Ecografía semanas 11-13+6 (idealmente 12-12+6): CRL + TN + morfología básica Marcadores secundarios ecográficos (hueso nasal e índice de pulsatilidad del ductus venoso) (*)
CRIBADO SEGUNDO TRIMESTRE	14 - 18+6 semanas	Extracción de sangre entre semanas 15+0 a 18+6 Triple: alfafetoproteína, β -HCG y estriol, o, idealmente, cuádruple (añadiendo inhibina A).
EDAD MATERNA Y DATOS ECOGRAFIA MORFOLOGICA (sonograma genético)	\geq 19 semanas	Cálculo de riesgo en función de la edad materna modificado por la presencia o ausencia de marcadores ecográficos y defectos congénitos (PROGRAMA ESPECÍFICO)

(*) El cálculo de riesgo del CCPT se realizará únicamente con la medida de CRL y TN. La presencia/ ausencia del hueso nasal y el IP DV sólo se utilizarán en la reevaluación de los casos de riesgo intermedio.

Por lo tanto, se dan una serie de situaciones, contempladas en este programa de diagnóstico de aneuploidías comunes, en las que se ofrece la realización del TFNI. Se resumen en las siguientes:

- Cribado Combinado de Primer Trimestre (CCPT) con riesgo comprendido entre 1/51 y 1/1.000 con ecografía normal.
- Cribado bioquímico de 2º trimestre con riesgos comprendidos entre 1/50 y 1/1000
- Cribado bioquímico de 2º trimestre triple (AFP, Estriol, β -HCG) con edad en el parto \geq 38 años.
- Cribado bioquímico de 2º trimestre cuádruple (AFP, Estriol, β -HCG, Inhibina A) con edad en el parto \geq 40 años.
- Sonograma genético con riesgo entre 1/300 y 1/1000 cuando la edad gestacional es menor o igual a 20 semanas.
- Edad \geq 35 años sin ningún tipo de cribado y edad gestacional < 20 semanas.

Por otro lado, las circunstancias en las que se ofrece una técnica invasiva (amniocentesis o biopsia corial), son las siguientes:

- Progenitor/es portadores o afectados de enfermedades genéticas (monogénicas).
- Progenitor/es portadores de enfermedades y alteraciones cromosómicas.
- Antecedente de nacido, aborto o IVE (interrupción voluntaria del embarazo) con cromosopatía. Cuando el antecedente es de trisomía 21, 13 o 18, puede indicarse TFNI si el resultado del cribado es bajo riesgo.
- Riesgo $\geq 1/50$ en el cribado combinado de 1º trimestre o en cribado bioquímico 2º trimestre.
- TFNI de alto riesgo para trisomía 21, 18 o 13.
- Hallazgos ecográficos: translucencia nucal $\geq P99$ (o $\geq 3,5$ mm) en la ecografía del 1º trimestre y/o existencia de defectos congénitos
- Sonograma genético de riesgo ($> 1/300$) en la ecografía de la semana 20. Si el riesgo está comprendido entre $1/300$ y $1/1000$ TFNI si la edad gestacional es > 20 semanas.

Durante el periodo 2010-2014 (primer periodo) las técnicas invasivas para estudio genético se realizaban si el cribado aportaba un riesgo de gestación afecta de trisomías mayor de $1/250$. Sin embargo, a partir de 2015 las técnicas invasivas se restringen a valores de riesgo mayores de $1/50$ por la implementación de un cribado contingente, donde el test fetal no invasivo se aplica en riesgos entre $1/50$ y $1/1000$. Este cambio en el protocolo marca dos periodos claramente diferenciados en la práctica clínica.

6.5. VARIABLES A ESTUDIO:

Se recogen como variables para estudio las siguientes:

6.5.1. Variables maternas:

Respecto a la realización de TI, se recoge la edad de la paciente (años cumplidos) y la fecha de realización de la técnica invasiva, perteneciendo al primer periodo (2010-2014) o al segundo periodo (2015-2019).

En cuanto a la realización del TFNI, se recoge la edad materna (años cumplidos), la fecha de realización del test desde el año 2015.

6.5.2. Variables obstétricas (técnicas invasivas):

Variable indicación: motivo por el que se realiza la prueba invasiva, variable cualitativa categorizada en:

- Cribado combinado positivo
- Presencia de marcadores ecográficos
- Hallazgo de malformación fetal por ecografía
- Antecedentes familiares genéticos
- Retraso de crecimiento intrauterino (CIR)
- TFNI con resultado patológico
- Edad materna
- Ansiedad materna
- Necesidad de una segunda TI por un resultado no concluyente en la primera
- Motivo desconocido
- Otros (en los que se agrupan diferentes indicaciones poco frecuentes)

Variable edad gestacional (variable cuantitativa en semanas cumplidas) a la que se realiza la prueba.

Variable resultados genéticos obtenidos en función de las diferentes técnicas de laboratorio aplicadas.

6.5.3. Variables obstétricas (TFNI):

Para el análisis del TFNI, se incluyen de la misma manera variable indicación, categorizada en:

- Edad materna elevada sin ningún screening previo.
- Resultado de riesgo intermedio en el screening (riesgo 1/51-250).
- Resultado de riesgo intermedio en el screening (riesgo 1/251-1000).
- Resultado de alto riesgo en el screening (riesgo $>1/50$) que rechaza la realización de TI.
- Hallazgo de malformación fetal que rechaza la realización de TI.
- Antecedente de aneuploidía.
- TFNI realizados sin indicación.
- Otros.

Además, se incluyen:

- Variable dicotómica para el tipo de riesgo (alto o bajo riesgo).
- Variable cuantitativa edad gestacional (en semanas cumplidas) en el momento de la realización del test.
- Tipo de gestación como variable categorizada (única, gemelar o gemelar de inicio).
- Tipo de screening realizado previamente: variable dicotómica (primer/segundo trimestre).
- Variable resultado del TFNI: cualitativa en función de las diferentes aneuploidías
- Variable confirmación TFNI dicotómica (confirmado o no confirmado mediante cariotipo o de forma postnatal).

6.6. RECOGIDA DE DATOS:

Se recogieron los datos de las gestantes retrospectivamente mediante la historia clínica electrónica y la base de datos de la sección de Genética Clínica. La información obtenida fue transcrita a una base de datos informatizada,

utilizando la aplicación IBM Statistics Process Social Sciences 25.0 para Mac, que permite su posterior análisis estadístico, previamente pseudonimizados (principio de confidencialidad de las pacientes). Para los datos agregados, se usará el programa Epidat 4.1. De forma agregada, se recogieron datos como el total de partos por periodos y años, el porcentaje de pérdidas gestacionales por técnica invasiva y el número de recién nacidos nacidos con trisomía 21. Estos datos fueron extraídos de los indicadores de calidad del servicio que se recogen anualmente de forma oficial por el jefe de sección de Diagnóstico Prenatal y Partos del Hospital Miguel Servet.

6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para el estudio estadístico, se evaluó la normalidad de todas las variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. En el análisis descriptivo, las variables cuantitativas son expresadas con la media y desviación estándar (variables de distribución normal) o con la mediana y rango intercuartílico (variables de distribución no normal) y las cualitativas dicotómicas mediante la frecuencia absoluta y porcentaje.

Para el estudio de regresión logística univariante, se utiliza para las variables categóricas el test de Chi cuadrado (en las muestras paramétricas) o test exacto de Fisher (en las no paramétricas) y la T de Student o U de Mann-Whitney para variables cuantitativas normales o no normales respectivamente. Se considera la significación estadística con valores de p inferior a 0.05.

6.8. ASPECTOS ÉTICOS:

Este estudio se ha llevado a cabo de acuerdo con las leyes y normativas aplicables incluyendo los principios éticos recogidos en la Declaración de Helsinki.

Consideramos que no es necesario un consentimiento informado *ad hoc* para la participación de este estudio por las siguientes razones:

- Los datos se recogen de manera retrospectiva de las historias clínicas de las pacientes, algunas con un lapso de tiempo de hasta 10 años desde el procedimiento.
- La base de datos garantiza el anonimato, respetando así el principio de confidencialidad de las pacientes, a las cuales se les aplicará una codificación mediante un procedimiento de disociación reversible, para permitir la auditoria interna de la validez en la recogida de datos. Dicha codificación será a partir del atributo clave que es el número de historia clínica y la eliminación de otros atributos claves innecesarios como el nombre, apellidos, sexo y domicilio.

La codificación se realizó mediante la generación de una variable auto numérica aleatoria que será el código de identificación de cada registro o caso. Dicha variable se definirá mediante un algoritmo secreto y se generará una tabla vinculada en un fichero independiente donde se reflejará la correspondencia entra la nueva variable y el atributo clave (historia clínica) a través de una consulta, y que será de acceso restringido al equipo investigador.

- Todas las pacientes fueron informadas de forma verbal acerca de las opciones diagnósticas disponibles, así como de las ventajas e inconvenientes de las diferentes técnicas. En todos los casos se obtuvo un consentimiento informado, tanto del cribado de cromosomopatías, del cribado ecográfico y de la técnica diagnóstica elegida. Dicho consentimiento incluye una cláusula donde se informa a las pacientes de la posibilidad de uso de sus datos personales para fines de investigación, pudiendo revocar dicha cláusula en cualquier momento.
- Todo el procedimiento llevado a cabo se corresponde con la actuación seguida en la práctica clínica habitual instaurada en el servicio. Las pacientes no sufren modificaciones en el manejo clínico por ser incluidas en este estudio.

El estudio está aprobado por el CEICA (Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad de Aragón) el día 27/05/2020 (Nº acta 12/2020) así como

autorizado por el Servicio de Documentación Clínica del Hospital Miguel Servet para la revisión de las Historias Clínicas (Anexos I y II).

Por último, declaro que los participantes investigadores en este trabajo carecen de conflicto de intereses, y que no se ha necesitado financiación específica para su desarrollo.

7. RESULTADOS:

7.1. PACIENTES INCLUIDAS:

Se incluyeron un total de 3562 pacientes gestantes que acudieron a la sección de Diagnóstico Prenatal del Hospital Universitario Miguel Servet entre el 1 de enero de 2010 y el 31 de diciembre de 2019 y fueron sometidas a algún procedimiento invasivo para el diagnóstico de aneuploidías. De las 3562 pacientes incluidas, 2490 pertenecen al primer periodo del estudio (1 enero de 2010 - 31 de diciembre de 2014) y 1072 al segundo (1 de enero de 2015 – 31 de diciembre de 2019) (Figura 3).

Como análisis complementario, se incluyeron 2112 pacientes a las que se les realizó TFNI para cribado de anomalías cromosómicas, desde el 1 de enero de 2015 hasta el 31 de diciembre de 2019.

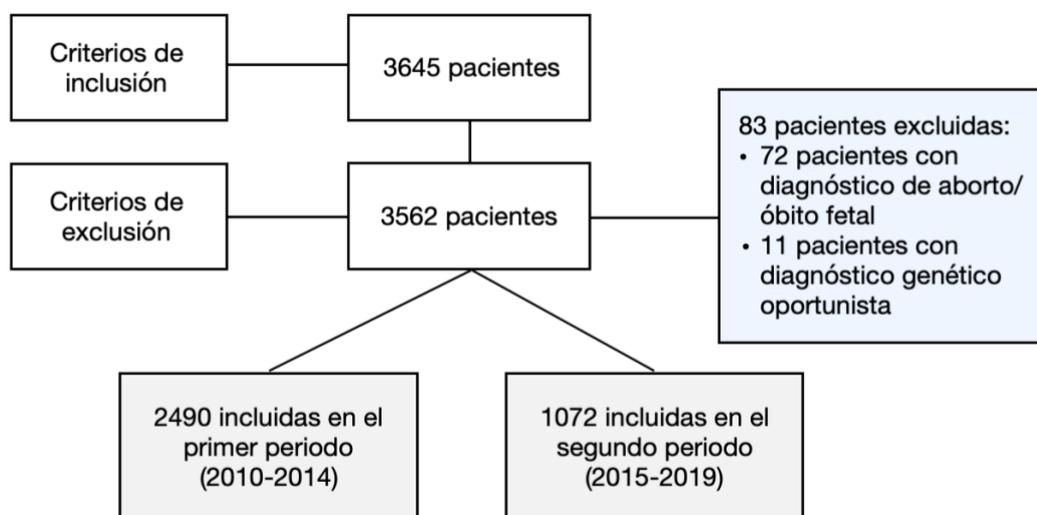


Figura 3. Diagrama de flujo de selección de pacientes.

7.2. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO:

Como características demográficas de las gestantes incluidas, la mediana de edad materna en el momento de la realización de TI es de 36 años (RIC 33-39 años), al igual que para las pacientes incluidas en el primer periodo. En el

segundo periodo, la mediana es de 35 años (RIC 31-38 años) con diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p < 0,0001$) (Figura 4, tabla 6).

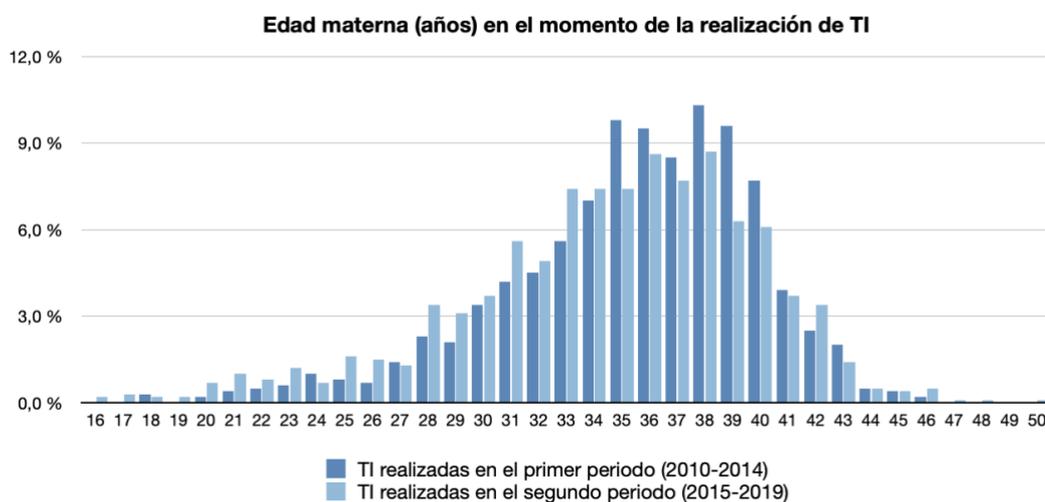


Figura 4. Edad materna (años) en el momento de la realización de TI.

Lo mismo ocurre con la edad gestacional, expresada en semanas, con una mediana de 16 semanas de forma global (RIC 15-17 semanas), con una mediana de 16 semanas (RIC de 15-16 semanas) en el primer periodo y mediana de 16 semanas (RIC de 13-20 semanas) en el segundo periodo, objetivándose diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 6, Figura 5).

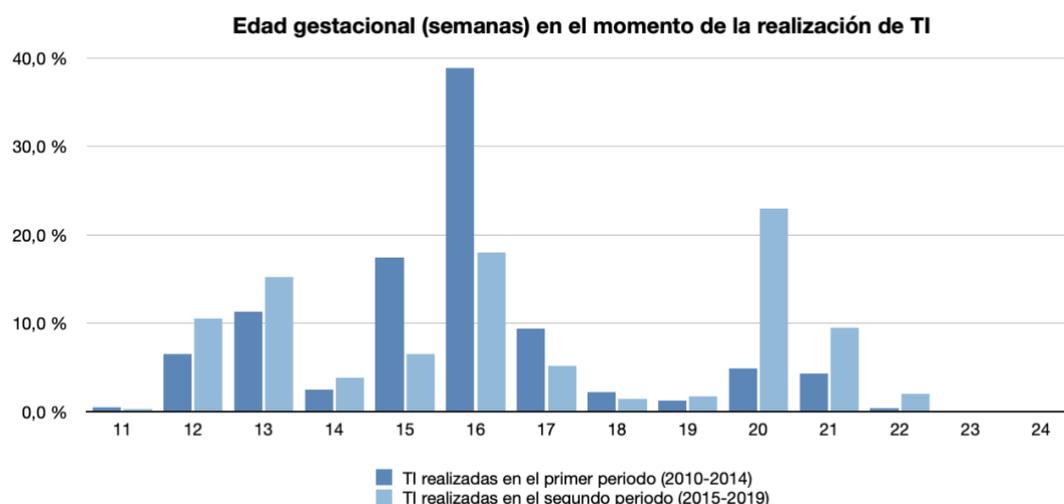


Figura 5. Edad gestacional (semanas) en el momento de la realización de TI.

Además, se observa un cambio en la edad gestacional a la que se realiza la amniocentesis. En el primer periodo, la mediana de la edad gestacional a la que se realiza es de 16 semanas, mientras que en el segundo periodo es de 19 semanas, con una diferencia de medias de -2,226 e IC95% (-2,47- [-1,97]), $p < 0,0001$ (Tabla 5).

Tabla 5. Edad gestacional (semanas) a la que se realiza la amniocentesis.

		N	Media	Desviación típica	t-student (varianzas desiguales)
EDAD GESTACIONAL (semanas)	PERIODO 1º	1930	16,7675	1,91054	<0,0001
	PERIODO 2º	753	19,0774	3,29223	

Como características fetales, se describe la tasa de fetos con translucencia nucal aumentada, recogida como como indicación principal para la realización de TI, con 264 fetos en el grupo total (7,4%), encontrándose un 2,3% en el primer grupo y un 19,2% en el segundo (OR=9,974 IC95% [7,37-13,48], $p < 0,0001$) (Tabla 6).

Tabla 6. Características demográficas maternas y fetales en gestaciones sometidas a técnicas de diagnóstico invasivas.

	TOTAL (2010-2019)	1º PERIODO (2010-2014)	2º PERIODO (2015-2019)	OR (IC 95%)	p
EDAD MATERNA (años)	36 (33-39)	36 (33-39)	35 (31-38)	-	<0,000 1
EDAD GESTACIONAL (semanas)	16 (15-17)	16 (15-16)	16 (13-20)	-	<0,000 1
TRASLUCENCIA NUCAL AUMENTADA	264/3562 (7,4%)	58/2490 (2,3%)	206/1072 (19,2%)	9,974 (7,37- 13,48)	<0,000 1

VARIABLES CUANTITATIVAS EXPRESADAS MEDIANA Y RANGO INTERCUARTÍLICO (DISTRIBUCIÓN NO NORMAL).
VARIABLES CUALITATIVAS EXPRESADAS EN PORCENTAJES.

7.3. DISTRIBUCIÓN DE LAS TÉCNICAS INVASIVAS:

De las 3562 pacientes incluidas, 2490 pertenecen al primer periodo del estudio y 1072 al segundo, con una disminución en el número global de TI realizadas en el segundo periodo (OR=0,581 IC95% [0,49-0,68], $p < 0,0001$). De ellas, 811 se sometieron a BC (22,8%) y 2751 a AC (77,2%) (Tabla 7).

Se han observado diferencias estadísticamente significativas en la proporción de estas técnicas entre ambos periodos, con un aumento de las BC en el segundo periodo (de 19,8% a 29,8%, OR=1,720 IC95% [1,46-2,02], $p < 0,0001$), y por consiguiente, una reducción en el número de AC (de 80,2% a 70,2%, OR=0,581 IC95% [0,49-0,68], $p < 0,0001$) (Tabla 7).

Tabla 7. Distribución de las técnicas invasivas realizadas.

	TOTAL (2010-2019)	1º PERIODO (2010-2014)	2º PERIODO (2015-2019)	OR (IC 95%)	P
TÉCNICAS INVASIVAS REALIZADAS	3562	2490/3562 (69,9%)	1072/3562 (30,1%)	0,581 (0,49- 0,68)	<0,0001
BIOPSIA CORIAL	811/3562 (22,8%)	492/2490 (19,8%)	319/1072 (29,8%)	1,720 (1,46- 2,02)	<0,0001
AMNIOCENTESIS	2751/3562 (77,2%)	1998/2490 (80,2%)	753/1072 (70,2%)	0,581 (0,49- 0,68)	<0,0001

Variables cualitativas expresadas en porcentajes.

Se describen las tasas de TI realizadas en función de los nacimientos, tanto por año individual como por periodo y el cómputo global en 10 años, observándose una drástica reducción en el segundo periodo, prácticamente a la mitad, de forma estadísticamente significativa (Tablas 8, 9, 10 y 11).

Tabla 8. Tasas de técnicas invasivas en los últimos diez años (2010-2019).

	Nacimientos	Tasa de técnicas invasivas (%)	Tasa biopsias coriales (%)	Tasa amniocentesis (%)
1º PERIODO (2010-2014)	21815	2490/21815 (11,41%)	492/21815 (2,25%)	1998/21815 (9,15%)
2010	4634	929/4634 (20,04%)	3/4634 (0,06%)	926/4634 (19,98%)
2011	4521	508/4521 (11,23%)	113/4521 (2,49%)	395/4521(8,73%)
2012	4217	423/4217 (10,03%)	148/4217 (3,50%)	275/4217 (6,52%)
2013	4159	355/4159 (8,53%)	145/4159 (3,48%)	210/4159 (5,04%)
2014	4284	275/4284 (6,41%)	83/4284 (1,93%)	192/4284 (4,48%)
2º PERIODO (2015-2019)	19607	1072/19607 (5,46%)	319/19607(1,62%)	753/19607(3,84%)
2015	4204	206/4204 (4,90%)	63/4204 (1,49%)	143/4204 (3,40%)
2016	4059	240/4059 (5,91%)	76/4059 (1,87%)	164/4059 (4,04%)
2017	3906	198/3906 (5,06%)	50/3906 (1,28%)	148/3906 (3,78%)
2018	3741	206/3741 (5,50%)	68/3741 (1,81%)	138/3741 (3,68%)
2019	3697	222/3697 (6,00%)	62/3697 (1,67%)	160/3697 (4,32%)
TOTAL (últimos 10 años)	41422	3562/41422 (8,59%)	811/41422 (1,95%)	2751/41422 (6,64%)

Variables cualitativas expresadas en porcentajes.

Tabla 9. Tasa de técnicas invasivas en función de los nacimientos.

	Tasa de TI/nacimientos	Diferencia de proporciones	IC95%	p
PERIODO 1º	11,41%	0,062	0,056 - 0,067	<0,0001
PERIODO 2º	5,46%			

TI: técnicas invasivas

Tabla 10. Tasa de biopsias coriales en función de los nacimientos.

	Tasa de BC/nacimientos	Diferencia de proporciones	IC95%	p
PERIODO 1º	2,25%	0,007	0,004 - 0,009	0,009
PERIODO 2º	1,62%			

BC: biopsias coriales

Tabla 11. Tasa de amniocentesis en función de los nacimientos.

	Tasa de AC/nacimientos	Diferencia de proporciones	IC95%	p
PERIODO 1º	9,15%	0,055	0,050 - 0,060	<0,0001
PERIODO 2º	3,84%			

AC: amniocentesis

7.4. TIPO DE INDICACIÓN PARA TÉCNICA INVASIVA:

Respecto a las características de las técnicas descritas, se realiza un análisis del tipo de indicación para su realización. Existen diferencias estadísticamente significativas para esta variable de forma global ($p < 0,0001$) (Tabla 12).

Si analizamos cada una de las indicaciones por separado, existe una disminución en el segundo periodo de forma estadísticamente significativas para el cribado patológico (OR=0,535 IC95% [0,45-0,62], $p < 0,0001$), para la edad

materna (OR=0,050 IC95% [0,03-0,07], $p<0,0001$) y para la ansiedad materna ($<0,0001$) (Tabla 12).

Por otro lado, existe un aumento estadísticamente significativo en el segundo periodo para los marcadores ecográficos (OR=1,766 IC95% [1,41-2,19], $p<0,0001$), para las malformaciones fetales (OR=7,563 [6,14-9,30], $p<0,0001$), para los antecedentes familiares (OR=1,995 IC95% [1,53-2,59], $p<0,0001$), para el TFNI patológico (OR=46,966 IC95% [11,32-194,85], $p<0,0001$), para el CIR (OR=13,036 IC95% [5,80-29,28], $p<0,0001$) y para la ausencia de cribado de aneuploidías (OR=3,113 IC95% [1,07-8,99], $p=0,032$) (Tabla 12).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas para los motivos desconocidos (OR=1,162 IC95% [0,39-3,40], $p=0,488$), para la alteración/fallo de primera técnica invasiva (OR=0,929 IC95% [0,29-2,96], $p=0,581$) u otros (OR=1,105 IC95% [0,63-1,91], $p=0,409$) (Tabla 12).

Tabla 12. Indicaciones principales para la realización de TI.

	TOTAL (2010-2019)	1º PERIODO (2010-2014)	2º PERIODO (2015-2019)	OR (IC 95%)	P
INDICACIÓN PRINCIPAL TI					<0,0001
CRIBADO PATOLÓGICO	1404/2562 (39,4%)	1089/2490 (43,7%)	315/1072 (29,4%)	0,535 (0,45- 0,62)	<0,0001
MARCADORES ECOGRÁFICOS	375/3562 (10,5%)	219/2490 (8,8%)	156/1072 (14,6%)	1,766 (1,41- 2,19)	<0,0001
MALFORMACIÓN FETAL	508/3562 (14,3%)	153/2490 (6,1%)	355/1072 (33,1%)	7,563 (6,14- 9,30)	<0,0001
ANTECEDENTES FAMILIARES	245/3562 (6,9%)	135/2490 (5,4%)	110/1072 (10,3%)	1,995 (1,53- 2,59)	<0,0001
TFNI PATOLÓGICO	41/3562 (1,2%)	2/2490 (0,1%)	39/1072 (3,6%)	46,966 (11,32- 194,85)	<0,0001
EDAD MATERNA	785/3562 (22%)	762/2490 (30,6%)	23/1072 (2,1%)	0,050 (0,03- 0,07)	<0,0001
ANSIEDAD MATERNA	57/3562 (1,6%)	57/2490 (2,3%)	0/1072 (0%)	-	<0,0001
CIR	45/3562 (1,3%)	7/2490 (0,3%)	38/1072 (3,5%)	13,036 (5,80- 29,28)	<0,0001
DESCONOCIDO	15/3562 (0,4%)	10/2490 (0,4%)	5/1072 (0,5%)	1,162 (0,39- 3,40)	0,488
ALTERACIÓN/FALL O PRIMERA TI	14/3562 (0,4%)	10/2490 (0,4%)	4/1072 (0,4%)	0,929 (0,29- 2,96)	0,581
AUSENCIA DE CRIBADO	14/3562 (0,4%)	6/2490 (0,2%)	8/1072 (0,7%)	3,113 (1,07- 8,99)	0,032
OTROS	59/3562 (1,6%)	40/2490 (1,6%)	19/1072 (1,8%)	1,105 (0,63- 1,91)	0,409

Variables cualitativas expresadas en porcentajes. TI: técnicas invasivas CIR: crecimiento intrauterino retardado

7.5. TIPO DE TÉCNICA APLICADA SOBRE LAS MUESTRAS:

Al analizar el tipo de técnica aplicada sobre las muestras obtenidas, la más solicitada fue el cariotipo en un 78,9%. Se demostró un descenso estadísticamente significativo en el segundo periodo para la solicitud de cariotipo aislado como único análisis (de un 96% en el primer periodo a un 39% en el segundo, OR=0,026 IC95% [0,02-0,03], $p<0,0001$) y para la solicitud aislada de FISH/QF-PCR (OR=0,308 IC95% [0,14-0,68], $p=0,001$) (Tabla 13).

En contraposición, se observó un aumento para la solicitud de array-CGH del 1,4% en el primer periodo a un 57,3% (OR=94,034 IC95% [65,94-134,09], $p<0,0001$), así como en el estudio de mutaciones concretas (OR=6,559 IC95% [3,37-12,74], $p<0,0001$) (Tabla 13).

Tabla 13. Pruebas solicitadas sobre la muestra.

	TOTAL (2010-2019)	1º PERIODO (2010-2014)	2º PERIODO (2015-2019)	OR (IC 95%)	P
PRUEBAS SOLICITADAS					<0,0001
CARIOTIPO	2809/3562 (78,9%)	2391/2490 (96%)	418/1072 (39%)	0,026 (0,02-0,03)	<0,0001
SOLO FISH O QF-PCR	59/3562 (1,7%)	52/2490 (2,1%)	7/1072 (0,7%)	0,308 (0,14-0,68)	0,001
ARRAY + CARIOTIPO + (FISH O QF-PCR)	682/3562 (19,1%)	45/2490 (1,8%)	637/1072 (59,4%)	79,564 (57,83-109,46)	<0,0001
ESTUDIO DE MUTACIONES CONCRETAS	45/3562 (1,3%)	12/2490 (0,5%)	33/1072 (3,1%)	6,559 (3,37-12,74)	<0,0001

Variables cualitativas expresadas en porcentajes. FISH: Hibridación in situ fluorescente
QF-PCR: reacción en cadena de la polimerasa por fluorescencia cuantitativa.

7.6. TIPO DE RESULTADO DE LAS TÉCNICAS INVASIVAS:

De forma paralela, se realiza un análisis en función del resultado obtenido en las diferentes pruebas diagnósticas. Observamos diferencias estadísticamente significativas entre ambos periodos para el diagnóstico de aneuploidías en el cariotipo o FISH/QF-PCR y en el resultado global ($p < 0,0001$), pero no para el diagnóstico mediante array-CGH ($p = 0,345$) (Tabla 14).

Tabla 14. Resultados en función del tipo de prueba.

	TOTAL (2010-2019)	1º PERIODO (2010-2014)	2º PERIODO (2015-2019)	OR (IC 95%)	P
PATOLÓGICO ANEUPLOIDÍAS*	353/3561 (9,9%)	163/2490 (6,5%)	190/1071 (17,7%)	3,107 (2,48-3,88)	<0,0001
PATOLÓGICO ARRAY-CGH	45/682 (6,6%)	4/45 (8,9%)	41/637 (6,4%)	0,705 (0,24-2,06)	0,345
PATOLÓGICO GLOBAL	376/3556 (10,6%)	165/2485 (6,6%)	211/1071 (19,7%)	3,450 (2,77-4,29)	<0,0001

Variables cualitativas expresadas en porcentajes. *Cariotipo o FISH/QF-PCR patológico sin necesidad de recurrir al array-CGH.

Además, no existen diferencias estadísticamente significativas para el diagnóstico de VOUS (variables de significado incierto) en el array-CGH (Tabla 15).

Tabla 15. Resultados en función del array-CGH.

	TOTAL (2010-2019)	1º PERIODO (2010-2014)	2º PERIODO (2015-2019)	OR (IC 95%)	P
RESULTADOS ARRAY DE LOS SOLICITADOS					0,665
NORMAL	631/682 (92,5%)	41/45 (91,1%)	590/637 (92,6%)	1,225 (0,42- 3,56)	0,439
PATOLÓGICO	45/682 (6,6%)	4/45 (8,9%)	41/637 (6,4%)	0,705 (0,24- 2,06)	0,345
VOUS	6/682 (0,9%)	0/45 (0%)	6/637 (0,9%)	-	0,663

Variables cualitativas expresadas en porcentajes. VOUS: variantes de significado incierto.

7.7. RESULTADO EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ANEUPLOIDÍA:

Si dividimos el tipo de resultado de función de la aneuploidía, se objetiva un aumento en el número de diagnósticos para todas las trisomías comunes (trisomía 21 OR=3,171 IC95% [2,34-4,28], $p < 0,0001$; trisomía 18 OR=1,930 IC95% [1,10-3,36], $p = 0,016$; trisomía 13 OR=3,116 IC95% [1,07-9,00], $p = 0,032$). Asimismo, se observa este aumento en el diagnóstico de cromosopatías sexuales (OR=2,821 IC95% [1,41-5,61], $p = 0,003$), a expensas de un aumento significativo para el diagnóstico de monosomías X (OR=2,337 IC95% [0,97-5,63], $p = 0,048$), así como de las translocaciones balanceadas (OR=2,337 IC95% [0,97-5,63], $p = 0,048$), las microduplicaciones y microdelecciones (OR=4,670 IC95% [1,16-18,70], $p = 0,025$) y los mosaicismos (OR=3,047 IC95% [1,33-6,97], $p = 0,007$) (Tabla 16).

No se demostraron diferencias para el diagnóstico de triploidías ($p = 0,221$) u otras trisomías autosómicas ($p = 0,127$) (Tabla 16).

Tabla 16. Resultados en función del tipo de aneuploidía.

	TOTAL (2010-2019)	1º PERIODO (2010-2014)	2º PERIODO (2015-2019)	OR (IC 95%)	P
TIPO DE ANEUPLOIDÍA					<0,0001
TRISOMÍA 21	182/3561 (5,1%)	80/2490 (3,2%)	102/1071 (9,5%)	3,171 (2,34- 4,28)	<0,0001
TRISOMÍA 18	51/3561(1,4%)	28/2490 (1,1%)	23/1071 (2,1%)	1,930 (1,10- 3,36)	0,016
TRISOMÍA 13	14/3561 (0,4%)	6/2490 (0,2%)	8/1072 (0,7%)	3,116 (1,07- 9,00)	0,032
CR. SEXUALES	33/3561 (0,9%)	15/2490 (0,6%)	18/1071 (1,7%)	2,821 (1,41- 5,61)	0,003
XO	20/3561 (0,6%)	10/2490 (0,4%)	10/1071 (0,9%)	2,337 (0,97- 5,63)	0,048
XXY	8/3561 (0,2%)	3/2490 (0,1%)	5/1071 (0,5%)	3,888 (0,92- 16,30)	0,058
SUPERHEMBRA	5/3561 (0,1%)	2/2490 (0,1%)	3/1071 (0,3%)	3,494 (0,58- 20,94)	0,164
TRANSLOCACIÓN BALANCEADA	20/3561 (0,6%)	10/2490 (0,4%)	10/1071 (0,9%)	2,337 (0,97- 5,63)	0,048
TRIPLOIDIAS	14/3561 (0,4%)	8/2490 (0,3%)	6/1071 (0,6%)	1,748 (0,60- 5,05)	0,221
MICRODELECCION ES/MICRODUPLICA CIONES	9/3561 (0,2%)	3/2490 (0,1%)	6/1071 (0,5%)	4,670 (1,16- 18,70)	0,025
MOSAICISMO	23/3561 (0,6%)	10/2490 (0,4%)	13/1071 (1,2%)	3,047 (1,33- 6,97)	0,007
OTRAS (TRISOMÍAS AUTOSÓMICAS)	7/3561 (0,2%)	3/2490 (0,1%)	4/1071 (0,4%)	3,108 (0,69- 13,91)	0,127

Variables cualitativas expresadas en porcentajes.

7.8. ERRORES DE MUESTRA:

Para los errores de muestra al realizar cualquier TI, no se demostraron diferencias estadísticamente en el grupo global ($p=0,129$), pero si se observaron al desglosar el tipo de error, existiendo un mayor número de muestras contaminadas ($OR=10,532$ IC95% [2,27-48,82], $p<0,0001$), y un menor número de cultivos sin crecimiento ($OR=0,297$ IC95% [0,13-0,65], $p<0,0001$) en el segundo periodo (Tabla 17).

Tabla 17. Errores de muestra (TI).

	TOTAL (2010- 2019)	1º PERIODO (2010-2014)	2º PERIODO (2015-2019)	OR (IC 95%)	p
ERRORES DE MUESTRA	80/3562 (2,2%)	61/2490 (2,4%)	19/1072 (1,8%)	0,718 (0,42- 1,20)	0,129
MUESTRA INSUFICIENTE	8/3562 (0,2%)	5/2490 (0,2%)	3/1072 (0,3%)	1,395 (0,33- 5,84)	0,451
CONTAMINACIÓN	11/3562 (0,3%)	2/2490 (0,1%)	9/1072 (0,8%)	10,532 (2,27- 48,82)	<0,0001
CULTIVO NO CRECE	61/3562 (1,7%)	54/2490 (2,2%)	7/1072 (0,7%)	0,297 (0,13- 0,65)	<0,0001

Variables cualitativas expresadas en porcentajes

7.9. PÉRDIDAS GESTACIONALES TRAS TÉCNICA INVASIVA:

Se describe la tasa de pérdidas gestacionales entre ambos periodos, que aunque en valores absolutos son menores en el segundo periodo, no existen diferencias estadísticamente significativas para esta variable (Tabla 18)

Tabla 18. Pérdidas gestacionales tras realizar técnica invasiva.

	Pérdidas gestacionales	Diferencia de proporciones	IC95%	p
PERIODO 1º	0,602	0,003	-0,001 – 0,008	0,213
PERIODO 2º	0,280			

7.10. ANÁLISIS DEL TFNI:

Si analizamos las características del TFNI desde el año 2015, nos encontramos con un total de 2112 pruebas realizadas. Se realizó a gestantes con una mediana de 36 años (RIC 33-39 años), a las 13 semanas de edad gestacional (RIC 12-14 semanas). Un 89,2% de los test fueron realizados tras un cribado de screening de primer trimestre, y un 10,8% por screening del segundo trimestre (Tabla 19).

Además, se realizó principalmente en gestaciones únicas (97,2% de las pruebas solicitadas), mientras que solamente se llevó a cabo en un 0,9% de gestaciones gemelares de inicio (un gemelo evanescente) y un 2% de gestaciones gemelares a término (Tabla 19).

7.10.1. MOTIVOS DE SOLICITUD Y RESULTADOS DEL TFNI:

En cuanto al motivo de solicitud del TFNI, la mayoría se realizaron por un riesgo en el CCPT de 251-1000 (62,6% de los casos), seguido de un riesgo de 51-250 (25,5%). Otras indicaciones y su frecuencia se describen en la tabla 19.

Respecto al resultado del mismo, un 97,1% de los casos fueron resultados de bajo riesgo para aneuploidías, con un 0,7% de resultados no concluyentes. Para los resultados patológicos, el más frecuente son las trisomías comunes en un 0,9% (trisomía 21, trisomía 18 y trisomía 13), un 0,3% para las cromosomopatías sexuales y un 0,1% para trisomías autosómicas raras (Tabla 19).

Tabla 19. Características basales del TFNI.

EDAD MATERNA (años)	36 (33-39)	GEMELARIDAD	
EDAD GESTACIONAL (semanas)	13 (12-14)	ÚNICOS	97,2 %
SCREENING PREVIO 1º TRIMESTRE	89,2 %	GEMELAR DE INICIO	0,9 %
SCREENING PREVIO 2º TRIMESTRE	10,8 %	GEMELAR	2 %
MOTIVO DE SOLICITUD		RESULTADO EN FUNCIÓN DEL RIESGO	
NO SCREENING PREVIO + EDAD MATERNA	3,1 %	BAJO RIESGO	98,6 %
SCREENING 50-250	25,5 %	ALTO RIESGO	1,4 %
SCREENING 251-1000	62,6 %	RESULTADO EN FUNCIÓN DE LA CATEROGIA	
ALTO RIESGO (>50) Y NIEGA TI	2,4 %	BAJO RIESGO	97,1 %
MALFORMACIÓN Y NIEGA TI	0,6 %	ALTO RIESGO TRISOMÍAS 21,18 Y 13	0,9 %
ANT. ANEUPLOIDIA	3,1 %	ALTO RIESGO DE CROMOSOMOPATÍAS SEXUALES	0,3 %
OTROS	1,8 %	ALTO RIESGO RAT	0,1 %
		NO CONCLUYENTE	0,7 %

VARIABLES CUANTITATIVAS EXPRESADAS MEDIANA Y RANGO INTERCUARTÍLICO (DISTRIBUCIÓN NO NORMAL).
 VARIABLES CUALITATIVAS EXPRESADAS EN PORCENTAJES. TI: TÉCNICA INVASIVA RAT: TRISOMÍAS AUTOSÓMICAS RARAS

7.10.2. EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ DEL TFNI:

Se realizó un análisis de la concordancia entre el resultado obtenido en el TFNI y el cariotipo de confirmación (mediante TI) o los resultados genéticos postnatales, obteniendo los diferentes parámetros de evaluación de una prueba diagnóstica (Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, tasa de falsos positivos y tasa de falsos negativos), que se describen en la Tabla 20. No hubo ningún caso de cromosomopatía no diagnosticada previamente al nacimiento, por lo que todos los TFNI con resultado de bajo riesgo fueron concordantes.

Se evaluó la asociación de la tasa de falsos positivos con las gestaciones gemelares (tanto gestaciones gemelares a término como gestaciones gemelares de inicio), de acuerdo con la literatura publicada. No se registró ningún TFNI con resultado de alto riesgo para gestaciones gemelares a término, y solamente una gestación de inicio gemelar (con gemelo evanescente) con resultado de alto riesgo, que resultó ser un falso positivo para el diagnóstico de aneuploidías. El total de falsos positivos de la muestra fue de 10 casos, correspondiendo el 90% a gestaciones únicas, y un 10% a gestaciones gemelares de inicio (Tabla 21).

Tabla 20. Parámetros diagnósticos del TFNI en función del tipo de aneuploidía.

	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN	TFP	TFN
TODAS	100 %	99,5 %	65,1 %	100 %	0,48 %	0 %
TRISOMÍA 21	100 %	100 %	100 %	100 %	0 %	0 %
TRISOMÍA 18	100 %	99,8 %	25 %	100 %	0,14 %	0 %
TRISOMÍA 13	100 %	99,9 %	50 %	100 %	0,04 %	0 %
CR. SEXUALES	100 %	99,7 %	28,5 %	100 %	0,24 %	0 %
RAT	100 %	99,9 %	66,6 %	100 %	0,04 %	0 %

CR: cromosopatías RAT: trisomías autosómicas raras VPP: valor predictivo positivo
VPN: valor predictivo negativo TFP: tasa de falsos positivos TFN: tasa de falsos negativos.

Tabla 21. Falsos y verdaderos positivos en función de la gemelaridad.

	ÚNICOS	GEMELAR DE INICIO	GEMELAR	TOTAL
FP	9	1	0	10
VP	19	0	0	19
TOTAL	28	1	0	29

FP: falsos positivos VP: verdaderos positivos

7.10.3. EVALUACIÓN DE LA ESTRATEGIA DEL TFNI:

De forma adicional, se evaluó la tasa de falsos positivos y de verdaderos positivos en función de la estrategia utilizada, para tratar de averiguar el punto de corte más eficiente. Se obtuvieron un total de 14 resultados positivos utilizando la estrategia de solicitud de TFNI con riesgo del CCPT de 51-250, con 10 de ellos verdaderos positivos (se confirma la enfermedad). Para la solicitud de TFNI con riesgo entre 251-1000, con un total de 5 resultados positivos, se confirman 2 de los mismos (un caso de trisomía 21 y un caso de monosomía X). Para las pacientes con un resultado de alto riesgo en el CCPT (riesgo de 1-50) que rechazaron la realización de TI, se realizó TFNI como alternativa diagnóstica, con un total 8 positivos, confirmándose la enfermedad en 6 de ellos. Solo se registra un caso de TFNI positivo cuando se diagnosticó una malformación por ecografía, y la paciente rechazó la realización de TI, tratándose de un VP, un caso de 47XXY (Tabla 22).

Tabla 22. Falsos y verdaderos positivos en función de la estrategia de solicitud del TFNI.

	SCREENING RIESGO INTERMEDIO (51-250)	SCREENING RIESGO INTERMEDIO (251-1000)	SCREENING RIESGO ALTO (1-50)	MALFORMACIÓN	ANT. ANEUPLOIDÍA
FP	4/14 (28,6%)	3/5 (60%)	2/8 (25%)	0/1 (0%)	1/1 (100%)
VP	10/14 (71,4%)	2/5 (40%)*	6/8 (75%)	1/1 (100%)**	0/0 (0%)

FP: falsos positivos VP: verdaderos positivos ANT: antecedente. *1 caso de trisomía 21 (síndrome de Down) y 1 caso de monosomía X (síndrome de Turner). **1 caso de 47XXY (síndrome de Klinefelter).

7.11. RESULTADOS POSTNATALES:

Por último, se ha descrito el porcentaje de recién nacidos vivos afectados de Síndrome de Down (trisomía 21), observándose un 0,071% y 0,069% para ambos periodos, respectivamente, sin hallarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos periodos (Tabla 23).

Tabla 23. Tasa de recién nacidos vivos con Síndrome de Down.

	RN afectados Síndrome de Down	Diferencia de proporciones	IC95%	p
PERIODO 1º	0,071	0,000	0,000 – 0,001	0,925
PERIODO 2º	0,069			

RN: Recién nacidos

8. DISCUSIÓN:

El hallazgo principal de nuestro estudio es la evidente reducción de la tasa de TI tras la introducción del TFNI en el año 2015, actualizando el protocolo de diagnóstico de aneuploidías en nuestro hospital, con una reducción de casi un 40% en gestaciones de alto riesgo, disminuyendo la tasa en función de los nacimientos de un 11,82% en el primer periodo (2010-2014) a un 5,66% en el segundo (2015-2019).

De la misma forma, en la literatura publicada se ha objetivado este marcado descenso en la tasa de TI, que va desde el 17% hasta el 76% dependiendo del país y la población a estudio (23,33–35). Esta disminución puede ser resultado de la aplicación del TFNI en función de diferentes estrategias, siendo la más popular la estrategia contingente en el cribado combinado de primer trimestre, que selecciona en función de los diferentes puntos de corte, a aquellas pacientes con un alto riesgo de aneuploidías, que se beneficiarían de la realización de una TI, ofreciendo como alternativa el TFNI a las que presentan un riesgo intermedio.

Además, se observa un cambio en la tendencia del tipo de TI, con un aumento en el número de BC realizadas y el descenso de la tasa de AC en el segundo periodo, aunque esta continúa siendo la TI más realizada actualmente (70,2% vs 29,8%).

Este cambio de patrón puede explicar las diferencias en cuanto a la edad gestacional a la que se realiza la TI entre ambos grupos, con un aumento de las TI realizadas en las semanas 12-13 (aumento relativo de BC) y semanas 20-21. En el segundo periodo, se realizan amniocentesis más tarde, con media en la semana 19 de edad gestacional, en comparación con el primer periodo (media en la semana 16) lo que sugiere que estas se realizan basándonos en el hallazgo de malformaciones, en vez de por el resultado del CCPT (Tabla 5).

Sin embargo, este descenso en las tasas de TI no es el primero que se observa en nuestro centro. Gracias a la introducción del CCPT en el año 2010, se consiguió una disminución de TI desde un 19,5% a un 11,5%, considerándose este un primer punto de inflexión importante para este estudio, que también se observa en el análisis lineal por años, durante el primer periodo (Tabla 8).

Ante un riesgo aumentado de cromosopatías típicas, muchas de las pacientes optan por el TFNI, demostrando que el pequeño riesgo de aborto espontáneo asociado con las TI es una preocupación importante para las mujeres embarazadas. La decisión de elegir entre TI o TFNI está influenciado por el riesgo específico de cada paciente obtenido en el screening combinado, pero también por actitudes de los progenitores a favor o en contra de la interrupción de gestaciones potencialmente afectas. En nuestra muestra, la tasa de recién nacidos vivos con síndrome de Down es muy baja, y no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos periodos, existiendo un aumento significativo de las trisomías 21 diagnosticadas prenatalmente en el segundo periodo (3,2 a 9,5%). Esto señala que nuestra población adscrita opta por la interrupción del embarazo ante el diagnóstico de trisomía 21 de forma invariable.

Durante el periodo descrito de 10 años, el campo del diagnóstico genético prenatal ha experimentado la implementación de una gran variedad de pruebas de detección y diagnóstico, incluida la detección de ADN libre de células o TFNI, microarrays cromosómicos, paneles de secuenciación de última generación y secuenciación completa del exoma (38), y más recientemente, la detección de microdeleciones fetales y trastornos de un solo gen (39). Entre todos estos avances, se podría considerar una de las más relevantes a nivel poblacional, la introducción del TFNI para las gestantes con un riesgo aumentado de anomalías cromosómicas. Además de la reducción en la tasa global de TI, la implementación del TFNI ha producido un importante cambio en las indicaciones de las pruebas de diagnóstico prenatal.

Nuestros resultados sugieren que el TFNI ha afectado a gran parte de las indicaciones para la confirmación de anomalías cromosómicas. Principalmente, se observan diferencias estadísticamente significativas en el número de TI realizadas por cribados de primer o segundo trimestre patológicos (reducción del 43,7% del total de las indicaciones en el primer periodo, a un 29,4% en el segundo). Esto es debido al cambio en el punto de corte para indicar este tipo de técnicas (en el primer periodo se realizaban TI a las pacientes con un riesgo $>1/250$, mientras que en el segundo periodo se realizan únicamente a las

pacientes con un riesgo $>1/50$). De esta forma, existe un porcentaje importante de gestantes que debido a la introducción del TFNI, no son sometidas a TI de primera línea, y se les ofrece la realización del mismo, evitando en muchas ocasiones cualquier prueba invasiva (sin disminuir la tasa de detección de las principales aneuploidías).

De la misma manera, hemos detectado una drástica reducción en la tasa de TI que se realizan debido a una edad materna avanzada o a la ansiedad de la paciente por padecer una alteración cromosómica, debido al cambio de protocolo en nuestro centro, que se vuelve más estricto con la indicación de TI por edad materna avanzada, hallazgos que son congruentes con otros estudios (41).

Los antecedentes familiares de cromosopatías (progenitores portadores/afectos de enfermedades monogénicas o cromosómicas, o el antecedente de gestaciones afectas de las principales trisomías) son una indicación frecuente para la realización de TI de primera línea. En nuestro análisis, se observa un incremento estadísticamente significativo de esta indicación en el segundo periodo. Posible causa de este cambio de tendencia es el aumento de la importancia del asesoramiento genético familiar que ha aumentado en el periodo de 10 años. Otros autores obtienen resultados similares en este punto, pero este tipo de estudios presentan problemas para determinar si estas indicaciones se encuentran incidentalmente cuando las pacientes son remitidas por otras indicaciones o si las remitimos a propósito por este motivo con mayor frecuencia en la era posterior al TFNI (42).

Al contrario, se ha observado un aumento estadísticamente significativo en la tasa de TI realizadas únicamente por marcadores ecográficos (especialmente la TN aumentada; OR 9,97 IC95% [7,37-13,48], $p<0,0001$). El aumento relativo de este tipo de indicaciones (especialmente en el caso de la TN aumentada) se podría deber fundamentalmente a la recomendación de realizar array-HCG tras la TI. Dicha recomendación se basa en la asociación de TN elevada a microdelecciones y a algunos trastornos de un solo gen, que permanecen siendo indetectables por TFNI y por cariotipo convencional, por lo que si no se realiza array-HCG se podrían infradiagnosticar un 12-19% de cromosopatías (29).

Debido a que en el primer periodo, el array no estaba generalizado y el TN no era indicación de array, no se daba especial importancia a la recogida de este dato pudiendo incurrir en un sesgo de información.

No se han visto cambios en la tasa de indicación de TI por otras indicaciones, que se presuponen ajenas a la introducción de una técnica novedosa (alteraciones o fallos de resultado en una primera técnica invasiva, o motivos no clasificados o desconocidos).

La introducción del TFNI coincide con un cambio en el tipo de técnicas genéticas aplicadas sobre las muestras obtenidas. Debido a los avances durante la década, se ha producido un cambio a favor de las nuevas técnicas diseñadas para el diagnóstico prenatal, como la tecnología array o el estudio de mutaciones concretas. Nuestro estudio demuestra una introducción activa del array de CGH (hibridación genómica comparada) desde el año 2015 en nuestro medio, con un aumento estadísticamente significativo de la misma, en detrimento de la realización de cariotipos como técnica aislada. En el primer periodo, la técnica por excelencia era el cariotipo (realizada en un 96% de los casos), realizándose únicamente un 1,8% de array-CGH. Con el paso de los años se ha invertido esta proporción, descendiendo la realización de cariotipos como técnica única a un 39%, pasando a ser la tecnología array-CGH la que complementó el cariotipo en un 59% de los casos (OR 79,564 IC95% [57,83-109,46], $p < 0,0001$). Este aumento también se objetiva en el caso del estudio de mutaciones concretas (OR 6,559 IC95% [3,37-12,74], $p < 0,0001$).

A diferencia del cariotipo, el array-CGH no requiere el cultivo de células, que implica una reducción en los tiempos, a la vez que evita la detección de errores mitóticos durante el cultivo celular. Además, el array-CGH también es útil en los casos en los que se haya obtenido material limitado. El mayor rendimiento del array-CGH en comparación con el cariotipo se debe en gran parte a la detección de ganancias y pérdidas submicroscópicas; su importancia se basa en el estudio de más de 300 regiones del genoma fetal causantes de reordenamientos recurrentes relacionados con síndromes genómicos conocidos, las triploidías, mosaicismos o disomías uniparentales (43).

El avance en la tecnología también podría justificar el aumento estadísticamente significativo que observamos en el diagnóstico para cualquiera de las alteraciones genéticas ($p < 0,0001$). Concretamente, derivado de la implementación del array-CGH, se observa un aumento del diagnóstico de mosaicismos (OR 3,047 IC95% [1,33-6,97], $p = 0,007$), microdelecciones o microduplicaciones (OR 4,670 IC95% [1,16-18,70], $p = 0,025$), o cromosopatías sexuales (OR 2,821 IC95% [1,41-5,61], $p = 0,003$) en el segundo periodo. Respecto al aumento de mosaicismos, este también se ha podido ver influenciado por el aumento proporcional de las biopsias coriales y la implementación del TFNI.

Como se ha comentado previamente, la principal indicación del TFNI es el cribado de las trisomías 21, 18 y 13 (estrategia de TFNI dirigido). Sin embargo, el TFNI tiene capacidad para la realización de un análisis completo del cariotipo (TFNI extendido). El estudio TRIDENT-2 (17) ofrece a las mujeres la opción de realizar un análisis de los cromosomas 21, 18 y 13 con o sin un informe de hallazgos adicionales. La gran mayoría (78%) de las mujeres optaron por que se informaran los hallazgos adicionales, lo que sugiere que las mujeres embarazadas quieren saber más sobre la salud del feto que solo la presencia de las trisomías comunes.

El debate sobre la utilidad del TFNI extendido en lugar del TFNI dirigido gira en torno a la falta de información sobre las características de la prueba, su alcance y sus limitaciones. Se necesita más investigación sobre la relevancia clínica de los hallazgos adicionales, así como sobre el impacto emocional en las mujeres, para apoyar la implementación del TFNI de todos los cromosomas para el cribado de patología fetal relevante y resultados adversos del embarazo.

En nuestro centro, aunque informamos del cribado de las trisomías comunes, el laboratorio encargado del procesamiento de muestras nos proporciona cualquier hallazgo observado en todo el genoma. Cuando se interroga a las pacientes sobre el deseo de conocer la información que respecta al genoma completo, la

mayoría de las pacientes aceptan la información de los hallazgos adicionales, aunque este dato no ha sido recogido de forma estandarizada. Este tipo de análisis nos ha permitido la detección de trisomías autosómicas raras (dos casos de trisomía 22).

Lo mismo ocurre con las cromosomopatías sexuales, en las que encontramos que su diagnóstico se aumenta considerablemente en el segundo periodo (prácticamente el doble), probablemente debido a la implementación del TFNI y su capacidad para arrojar un resultado extendido.

Los problemas relacionados con los errores en la muestra tras la realización de las diversas TI (muestra insuficiente, contaminación de la misma o falta de crecimiento en el cultivo), son determinantes para el proceso diagnóstico, siendo ocasional pero posible la falta de resultados concluyentes a pesar de haber asumido los riesgos de pérdida gestacional y los costes derivados de su realización. La tasa de errores en nuestra población a estudio se sitúa entorno al 2,2% en el periodo de 10 años descrito. Además, observamos que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos periodos cuando las evaluamos en conjunto ($p=0,129$) a pesar de objetivar una reducción (del 2,4% en el primer periodo a 1,8% en el segundo). Al analizar en función del tipo de error, se demuestra una reducción estadísticamente significativa de la tasa de cultivos con crecimiento insuficiente (OR 0,297 IC95% [0,13-0,65], $p<0,0001$), probablemente resultado de los avances en la realización de la técnica o el uso del array-HCG. El aumento de la contaminación de la muestra observada en el segundo periodo puede ser debido al aumento proporcional de la frecuencia de biopsias coriales.

Del análisis global de todos estos resultados, fundamentalmente por la introducción de nuevas técnicas en el segundo periodo, se traduce un aumento en la capacidad diagnóstica de cualquier aneuploidía (OR 3,450 IC95% [2,77-4,29], $p<0,0001$) a pesar de haber disminuido de forma significativa la realización de cualquier TI. No es posible establecer con firmeza los motivos por los que actualmente se diagnostica mayor porcentaje de cromosomopatías, debido al

carácter retrospectivo de nuestro estudio, aunque podemos deducir que sea derivado de una mejora de las técnicas y protocolos diagnósticos, con una indicación más estrecha para recurrir a los métodos invasivos.

Respecto al diagnóstico no invasivo, el TFNI ha demostrado tener mayor capacidad diagnóstica que cualquier otro método de cribado. Para la determinación del sexo y grupo/Rh fetal, el TFNI puede considerarse diagnóstico. Sin embargo, para el diagnóstico las diferentes aneuploidías, debido a la menor sensibilidad, especificidad y prevalencia, es necesario la confirmación de un resultado positivo mediante una TI (20). El último metaanálisis sobre el rendimiento de este test demuestra que en un embarazo único puede detectar el 99% de los fetos con trisomía 21, el 98% de aquellos con trisomía 18 y el 99% de aquellos con trisomía 13, con una TFP del 0.13%, así como otras aneuploidías de cromosomas sexuales, siendo la más frecuente la monosomía X (TD 95,8%, TFP 0,14%) (15). Estos resultados son congruentes con los nuestros, en los que observamos una detección del 100% para todas las aneuploidías (no se han registrado casos de cromosopatías de diagnóstico postnatal en el periodo descrito), con una TFP global del 0,48% (que va desde el 0% para la trisomía 21 al 0,24% para las cromosopatías sexuales agrupadas). Además, se objetivan valores próximos al 100% para todos los parámetros diagnósticos, exceptuando el valor predictivo positivo (VPP), que oscila entre el 25% para la trisomía 18 y el 100% para la trisomía 21.

La principal razón por la que se producen resultados discordantes es que el cf-DNA circulante se deriva principalmente de los citotrofbastos de las vellosidades coriónicas en la placenta, que no siempre es representativo del feto. Durante la embriogénesis temprana, el blastocisto da lugar a las células trofoblasto (formando las células del sincitiotrofoblasto y citotrofoblasto placentario), y el disco embrionario bilaminar, que forma el núcleo mesenquimatoso extraembrionario de las vellosidades coriónicas, el amnios y el embrión. Durante el desarrollo de estas extirpes, la no disyunción mitótica puede resultar en la presencia de líneas celulares normales y trisómicas de forma simultánea. Un mosaicismo placentario confinado ocurre cuando las células

trisómicas están confinadas al trofoblasto placentario o al núcleo de las vellosidades mesenquimales (o a ambas) y las células fetales son normales (46, XX o XY) (44,45), siendo la causa más frecuente de los FP. Por ello, es necesario la confirmación mediante TI tras un resultado positivo en el TFNI.

Otro fenómeno que contribuye a los casos discordantes son los gemelos evanescentes. Este hecho fue demostrado por Grömminger et al. (46) tras obtener un FP para trisomía 21 en el TFNI de una gestación de inicio gemelar, con un gemelo evanescente. Al nacer el gemelo superviviente, encontraron un feto papiráceo en la placenta, que se confirmó que era una mujer positiva para trisomía 21. Realizaron de nuevo el TFNI en semana 38, que no mostró indicios de trisomía, ya que el gemelo fallecido parecía no liberar más cff-DNA al torrente sanguíneo materno, siendo desconocido durante cuánto tiempo la placenta de un gemelo evanescente puede liberar cff-DNA a la sangre materna (hay estudios que demuestran que puede detectarse hasta 8 semanas después de la muerte) (47). Aunque este tipo de gestaciones tienen una baja prevalencia, son un factor a tener en cuenta para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas (48). En nuestra muestra, un 10% de los FP se debieron a gestaciones con gemelo evanescente, aunque no es una asociación estadísticamente significativa ($p=0,345$), probablemente debido a la baja prevalencia que requeriría un mayor tamaño muestral (0,9% del total). No hemos registrado ningún caso de resultado de alto riesgo en el TFNI en gestaciones gemelares.

Uno de los mayores problemas derivados de la realización del TFNI son los resultados no concluyentes en el TFNI, lo que depende principalmente de la proporción relativa de DNA libre de células de origen fetal frente a origen materno, que ocurre aproximadamente en un 1% de los casos (49), siendo nuestra tasa de resultados no concluyentes ligeramente menor (0,7%). Existen múltiples estudios que estudian su asociación con las diferentes características fetales y maternas, siendo el factor predictor más importante el peso materno. Otros factores descritos son los niveles séricos de β -hCG y PAPP-A, así como la etnia materna. No ha sido posible la evaluación de estos factores en nuestra muestra, debido a la inconsistente recogida de datos con este objetivo.

Es importante evaluar las pruebas diagnosticas no solo por su efectividad clínica, si no por su coste-efectividad. Cuando se introdujo el cribado en función de determinados marcadores en suero, se estableció una estrategia de cribado híbrida, ofreciendo amniocentesis a aquellas gestantes mayores de 35 años o aquellas menores de 35 con marcadores elevados en suero. Posteriormente, este cribado evolucionó a la estimación del riesgo individual de cada paciente basándose en los marcadores en suero y en marcadores ecográficos, independientemente de la edad materna. Con la implementación del TFNI en los diferentes sistemas de salud, la ACOG recomendó en un inicio que se utilizara una estrategia de cribado híbrida, en la que el TFNI se ofrecía a todas las pacientes mayores de 35, sometiéndose las menores de 35 años a los protocolos de cribado tradicional (21). Determinados países recurren al TFNI como prueba de cribado primaria, realizándola a todas las gestantes independientemente del riesgo del CCPT o de la edad. Desde una perspectiva de sanidad pública, la realización de TFNI tiene altos costes cuando solo se identifican entre un 5 y un 10% de casos adicionales en comparación con los identificados con los protocolos de cribado tradicionales. Sin embargo, la realización del TFNI como procedimiento secundario (cribado contingente en el resultado del CCPT) aporta los beneficios de una baja tasa de falsos positivos, convirtiéndose en rentable para las pacientes de bajo riesgo (25). Gracias a esta estrategia, disminuimos la TFP de un 5% a un 0,13% para la trisomía 21.

En nuestro medio, se trata de la estrategia más habitual, en la que se debe establecer un punto de corte para la realización de TI como primera opción, para la realización del TFNI o para no realizar pruebas adicionales. Este valor varía en función de la prevalencia de las cromosomopatías y de los objetivos de cada uno de los sistemas. Si evaluamos la petición del TFNI en función de diferentes estrategias en nuestro estudio, la realización de la prueba cuando el riesgo del CCPT está entre 51-250, se perderían dos diagnósticos de aneuploidías (un caso de trisomía 21 y un caso de monosomía X), con la realización de 537 pruebas, mientras que si realizamos el TFNI en un intervalo más amplio (riesgo 51-1000), detectamos todos los casos de cromosomopatías de nuestra muestra. Aplicar esta estrategia supone la realización de 1317 pruebas extra (un 62,6%

de los TFNI solicitados se encuentran en este intervalo). Si asumimos un coste aproximado para cada test de 700 euros, se traduce en un aumento del gasto en 921.000 euros (un total de 1.297.000 euros para la detección de todos los casos de alteraciones cromosómicas). Aunque el objetivo de este estudio no es realizar un análisis de coste-efectividad de la prueba en nuestro medio, observando los resultados de estudios diseñados para este fin, se deduce que la mayor detección de estas anomalías (con los gastos que supone la gestación y nacimiento de determinadas anomalías cromosómicas) y la importante reducción de las TI que supone su implementación (reducción de costes directos, pérdidas gestacionales, reducción del trabajo de laboratorio y procedimientos realizados por especialistas en medicina materno-fetal), el coste incremental parece razonable, aunque estos costes son dependientes del tipo de población y estrategia utilizada y pueden no ser extrapolables a cualquier muestra (50).

8.1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO:

Este estudio presenta limitaciones. Debido al carácter retrospectivo del mismo y análisis univariante no podemos establecer la causalidad de las importantes diferencias observadas entre ambos periodos. Además, la introducción del TFNI es próxima en el tiempo a la introducción de otras técnicas o estrategias para el diagnóstico prenatal (como el uso del array-HCG generalizado en el 2015 o la eliminación de la edad materna o ansiedad como indicación de TI en el primer periodo), convirtiéndose la genética en uno de los campos de la medicina que ha experimentado mayores cambios en esta década. Es por esto que no podemos atribuir todos los hallazgos observados exclusivamente a la introducción del TFNI, aunque nos proporciona diferentes puntos de partida para investigaciones futuras.

Por otro lado, el presente estudio se centra en patologías con muy baja prevalencia, aunque alta morbilidad, lo que podría suponer una falta de potencia estadística para alguno de los aspectos evaluados. Además, la falta de recogida de datos en algunas variables ha impedido la realización de un análisis más profundo, que a posteriori ha sugerido su importancia. Las diferentes bases de

datos construidas para este estudio han sido realizadas por parte de diferentes servicios y profesionales, que puede incurrir en un sesgo de información.

8.2. FORTALEZAS DEL ESTUDIO:

A pesar de estas limitaciones, también presenta puntos fuertes muy interesantes. Se trata de un estudio que abarca un gran periodo de tiempo (10 años), con un gran tamaño muestral, que atañe a las diferentes pruebas diagnósticas que se realizan en nuestro servicio y nos ha permitido obtener una visión completa de la evolución del diagnóstico prenatal en nuestro medio, facilitando su comprensión global y la planificación de las futuras líneas investigadoras.

Además, presenta un importante valor clínico, al demostrar la drástica reducción de TI tras la introducción del TFNI en nuestro centro, que retroalimenta positivamente la constante actualización y deseos de mejora.

Debido a la gran cantidad de recursos que se destinan para el diagnóstico prenatal, la relevancia que tiene la detección de las diferentes anomalías cromosómicas para la sociedad y la necesidad de contrastar los efectos que tienen determinadas innovaciones en este campo, la realización del presente estudio se considera necesaria.

Se necesita un mayor número de estudios para tratar de aumentar la efectividad del arsenal diagnóstico disponible, consiguiendo estrategias económicamente sostenibles.

9. CONCLUSIONES:

El hallazgo principal de nuestro estudio es la evidente reducción de la tasa de TI tras la introducción del TFNI en el año 2015, con una reducción de casi un 40% en gestaciones de alto riesgo, disminuyendo la tasa en función de los nacimientos de un 11,82% en el primer periodo (2010-2014) a un 5,66% en el segundo (2015-2019).

Además, se observa un cambio en la tendencia del tipo de TI, con un aumento relativo en el número de BC realizadas y el descenso de la tasa de AC en el segundo periodo, aunque esta continúa siendo la TI más realizada actualmente (70,2% vs 29,8%). Este cambio de patrón puede explicar las diferencias en cuanto a la edad gestacional a la que se realiza la TI entre ambos grupos, con un aumento de las TI realizadas en las semanas 12-13 y 20-21.

Podemos concluir que se han producido importantes cambios en la indicación de las técnicas invasivas entre ambos periodos, con la desaparición de indicaciones como la edad o la ansiedad materna, y el aumento de las TI solicitadas por marcadores ecográficos o malformaciones diagnosticadas por ecografía.

Se han observado diferencias en el tipo de patología genética diagnosticada, probablemente debido a las innovaciones introducidas en los últimos años, con un aumento del diagnóstico de mosaicismos, cromosomopatías sexuales, microdelecciones y microduplicaciones, así como un aumento para las trisomías comunes (trisomía 21, 18 y 13), con un aumento en el diagnóstico global en el segundo periodo.

Este estudio nos sitúa ante unos puntos de partida para la realización de futuras investigaciones y la mejora del rendimiento en el diagnóstico prenatal de nuestro entorno.

10. BIBLIOGRAFÍA:

1. Isaza C et al, Intramed fundacion G, Hunter AGW, Harris J, Sulston J, Hamamy H, et al. EUROCAT Special Report: Prenatal Screening Policies in Europe. 2011;9(1):1–5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12509754>
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S089152450300110X>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2868287&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2200>
2. Bayón Yusta J, Orruño Aguado E, Portillo Villares M, Asua Batarrita J. Cribado prenatal para la detección del síndrome de Down mediante el análisis de ADN fetal en sangre materna. Minist Sanidad, Serv Soc e Igualdad Serv Evaluación Tecnol Sanit del país Vasco Inf Evaluación Tecnol Sanit OSTEBA. 2016; Disponible en: http://www.ogasun.ejgv.euskadi.eus/r51-catpub/es/k75aWebPublicacionesWar/k75aObtenerPublicacionDigitalServlet?R01HNoPortal=true&N_LIBR=051918&N_EDIC=0001&C_IDIOM=es&FORMATO=.pdf
3. Summers AM, Langlois S, Wyatt P, Douglas Wilson R, Douglas Wilson R, Allen V, et al. Prenatal Screening for Fetal Aneuploidy. J Obstet Gynaecol Canada. 2007;29(1):146–61.
4. Mao R, Zielke CL, Zielke HR, Pevsner J. Global up-regulation of chromosome 21 gene expression in the developing Down syndrome brain. Genomics. 2003;81:457–67.
5. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Cribado y diagnóstico precoz de anomalías genéticas. Prog Obstet Ginecol 2018;61(6):605-629
6. Nicolaidis KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: Results and estimation of the potential impact of individual risk-oriented two-stage first-trimester screening. Ultrasound Obstet Gynecol. 2005;25:221–6.
7. National Screening Committee Policy. Down's Syndrome Screening.

Compiled by the National Screening Committee. 2006.
<http://www.library.nhs.uk/screening>.

8. Kagan KO, Wright D, Spencer K, Molina FS, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A: Impact of maternal and pregnancy characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:493–502.
9. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free β -hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Hum Reprod.* 2008;23(9):1968–75.
10. Santorum M, Wright D, Syngelaki A, Karagiotti N, Nicolaides KH. Accuracy of first-trimester combined test in screening for trisomies 21, 18 and 13. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;49:714–20.
11. Dennis Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CWG, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997;350(9076):485–7.
12. Alberry M, Maddocks D, Jones M, Abdel Hadi M, Abdel-Fattah S, Avent N, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: Confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn.* 2007;27(5):415–8.
13. Norwitz ER, Levy B. Noninvasive prenatal testing: the future is now. *Rev Obstet Gynecol.* 2013;6(2):48–62.
14. Pös O, Budiš J, Szemes T. Recent trends in prenatal genetic screening and testing. *F1000Research.* 2019;8.
15. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;50:302–14.
16. Chitty LS, Lo YMD. Noninvasive prenatal screening for genetic diseases using massively parallel sequencing of maternal plasma DNA. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(9):23–85.
17. van der Meij KRM, Siermans EA, Macville MVE, Stevens SJC, Bax CJ,

- Bekker MN, et al. TRIDENT-2: National Implementation of Genome-wide Non-invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands. *Am J Hum Genet.* 2019;105:1–11.
18. Wapner RJ, Babiarz JE, Levy B, Stosic M, Zimmermann B, Sigurjonsson S, et al. Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: Detection of fetal microdeletion syndromes. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(3):332–9.
 19. Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, Committee on Genetics and the S for M-FM. Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2016;127(5):123–37.
 20. Mackie FL, Hemming K, Allen S, Morris RK, Kilby MD. The accuracy of cell-free fetal DNA-based non-invasive prenatal testing in singleton pregnancies: a systematic review and bivariate meta-analysis. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2017;124(1):32–46.
 21. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee opinion no. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2012;120:1532–4.
 22. Sainz JA, Torres MR, Peral I, Granell R, Vargas M, Carrasco P, et al. Clinical and Economic Evaluation after Adopting Contingent Cell-Free DNA Screening for Fetal Trisomies in South Spain. *Fetal Diagn Ther.* 2020;1–8.
 23. Oepkes D, Page-Christiaens GCL, Bax CJ, Bekker MN, Bilardo CM, Boon EMJ, et al. Trial by Dutch laboratories for evaluation of non-invasive prenatal testing. Part I—clinical impact. *Prenat Diagn.* 2016;36(1):1083–90.
 24. Dondorp W, De Wert G, Bombard Y, Bianchi DW, Bergmann C, Borry P, et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: Challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2015;23(1):1438–50.
 25. Evans MI, Sonek JD, Hallahan TW, Krantz DA. Cell-free fetal DNA screening in the USA: A cost analysis of screening strategies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(1):74–83.
 26. Gil MM, Revello R, Poon LC, Akolekar R, Nicolaides KH. Clinical

- implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: Cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;47:45–52.
27. Sparks AB, Struble CA, Wang ET, Song K, Oliphant A. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: Evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206:319–33.
 28. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: Relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1):26–32.
 29. Miranda J, Paz y Miño F, Borobio V, Badenas C, Rodriguez-Revenga L, Pauta M, et al. Should cell-free DNA testing be used in pregnancy with increased fetal nuchal translucency? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020;55(5):645–51.
 30. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Control Prenatal del embarazo normal. Protocolo actualizado en Mayo de 2017 [Internet]. 2017. p. 1–26. Disponible en <http://www.gapsego.com>.
 31. González de Agüero Laborda R, Lerma Puertas D. Protocolo regional de diagnóstico prenatal de defectos congénitos. Nueva estrategia para la detección de aneuploidías fetales. Protocolo regional de la Comunidad Autónoma de Aragón. 2016. p.1-18.
 32. Homs JT, García Á, González I, Alcaine MJ, Rodríguez A, Miramar D. DIAGNÓSTICO PRENATAL DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS FETALES Y DEFECTOS CONGÉNITOS. 2017. p. 1–31.
 33. Bjerregaard L, Stenbakken AB, Andersen CS, Kristensen L, Jensen CV, Skovbo P, et al. The rate of invasive testing for trisomy 21 is reduced after implementation of NIPT. *Dan Med J.* 2017;64(4):53–9.
 34. Lichtenbelt KD, Schuring-Blom GH, van der Burg N, Page-Christiaens GCML, Knoers N V., Schielen PCJI, et al. Factors determining uptake of invasive testing following first-trimester combined testing. *Prenat Diagn.*

- 2013;33:328–33.
35. Warsof SL, Larion S, Abuhamad AZ. Overview of the impact of noninvasive prenatal testing on diagnostic procedures. *Prenat Diagn.* 2015;35:972–9.
 36. Lassey SC, Reiff ES, Dobson L, Bromley B, Wilkins-Haug L, Bartz D, et al. The influence of noninvasive prenatal testing on gestational age at time of abortion for aneuploidy. *Prenat Diagn.* 2017;37(7):635–9.
 37. Natoli JL, Ackerman DL, Mcdermott S, Edwards JG. Prenatal diagnosis of Down syndrome: A systematic review of termination rates (1995-2011). *Prenat Diagn.* 2012;32:142–53.
 38. Vora NL, Powell B, Brandt A, Strande N, Hardisty E, Gilmore K, et al. Prenatal exome sequencing in anomalous fetuses: New opportunities and challenges. *Genet Med.* 2017;19(11):1207–16.
 39. Hayward J, Chitty LS. Beyond screening for chromosomal abnormalities: Advances in non-invasive diagnosis of single gene disorders and fetal exome sequencing. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2018;23(2):94–101.
 40. Williams J, Rad S, Beauchamp S, Ratousi D, Subramaniam V, Farivar S, et al. Utilization of noninvasive prenatal testing: impact on referrals for diagnostic testing. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(1):102–6.
 41. Kim SM, Kim HH, Han YJ, Choi JS, Ryu HM, Yang S, et al. Change in rates of prenatal tests for chromosomal abnormality over a 12-year period in women of advanced maternal age. *Obstet Gynecol Sci.* 2018;61(4):453–60.
 42. Stevens BK, Noblin SJ, Chen HY, Czerwinski J, Friel LA, Wagner C. Introduction of cell-free DNA screening is associated with changes in prenatal genetic counseling indications. *J Genet Couns.* 2019;28(1):692–9.
 43. Lichtenbelt KD, Knoers NVAM, Schuring-Blom GH. From karyotyping to array-CGH in prenatal diagnosis. *Cytogenet Genome Res.* 2011;135(3–4):241–50.
 44. Tjoa ML, Cindrova-Davies T, Spasic-Boskovic O, Bianchi DW, Burton GJ. Trophoblastic oxidative stress and the release of cell-free fetoplacental

- DNA. *Am J Pathol.* 2006;169:400–4.
45. Kalousek DK, Vekemans M. Confined placental mosaicism. *J Med Genet.* 1996;33:529–33.
 46. Grömminger S, Yagmur E, Erkan S, Nagy S, Schöck U, Bonnet J, et al. Fetal Aneuploidy Detection by Cell-Free DNA Sequencing for Multiple Pregnancies and Quality Issues with Vanishing Twins. *J Clin Med.* 2014;3:679–92.
 47. Curnow KJ, Wilkins-Haug L, Ryan A, Kirkizlar E, Stosic M, Hall MP, et al. Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(79):1–9.
 48. Hartwig TS, Ambye L, Sørensen S, Jørgensen FS. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT) – a systematic review. *Prenat Diagn.* 2017;37(6):527–39.
 49. Chan N, Smet ME, Sandow R, da Silva Costa F, McLennan A. Implications of failure to achieve a result from prenatal maternal serum cell-free DNA testing: a historical cohort study. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2018;125(7):848–55.
 50. Song K, Musci TJ, Caughey AB. Clinical utility and cost of non-invasive prenatal testing with cfDNA analysis in high-risk women based on a US population. *J Matern Neonatal Med.* 2013;26(12):1180–5.

11. ANEXOS:

11.1. ANEXO I (Aprobación del Proyecto por el CEICA).



**Informe Dictamen Favorable
Trabajos académicos**

C.P. - C.I. PI20/275

27 de mayo de 2020

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 27/05/2020, Acta Nº 12/2020 ha evaluado la propuesta del Trabajo:

Título: Implicaciones clínicas en el periodo 2010-2019 tras la introducción del test fetal no invasivo (TFNI) en diagnóstico prenatal.

Alumna: Marta Narvárez Salazar

Tutora: Jara Pascual Mancho

Versión protocolo: V 1.0 de 15/05/2020

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y los principios éticos aplicables.
- El Tutor/Director garantiza la confidencialidad de la información, la obtención de los permisos necesarios para el acceso a los datos, el adecuado tratamiento de los datos en cumplimiento de la legislación vigente y la correcta utilización de los recursos materiales necesarios para su realización.

3º. Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE a la realización del proyecto.**

Lo que firmo en Zaragoza

GONZALEZ
HINJOS MARIA -
DNI 03857456B

Firmado digitalmente
por GONZALEZ HINJOS
MARIA - DNI 03857456B
Fecha: 2020.06.01
12:12:37 +02'00'

María González Hinjos
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

11.2. ANEXO II (Aprobación del Servicio de Admisión y Documentación clínica del HUMS para la revisión de historias clínicas).

**SERVICIO DE ADMISIÓN Y DOCUMENTACIÓN CLÍNICA DEL HUMS
UNIDAD DE DOCUMENTACIÓN CLÍNICA Y ARCHIVO**

F-14_ZZ(E)M_DC
Revisión C
Página 1 de 1

SOLICITUD DE ACCESO A HISTORIAS CLÍNICAS CON FINES DE INVESTIGACIÓN POR PARTE DE PROFESIONALES PERTENECIENTES AL HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET

D./D. MARTA MARIÁNEZ SALDAR NIF 48151267-P

Necesita acceder a información contenida en Historias Clínicas del Hospital Universitario Miguel Servet y cuya relación se detalla en anexo, para llevar a cabo el proyecto de investigación sobre IMPlicACIONES CLíNICAS EN EL PERíODO 2010-2019 TAMBIÉN LA INTRODUCCIÓN DEL TEST FETAL NO INVASIVO (TNI) EN DIAGNÓSTICO PRENATAL (Título del trabajo)

y con el objetivo de TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
(Tesis doctoral, Artículo, trabajo fin de grado, etc)

La realización de este trabajo se realiza bajo la dirección de los siguientes profesionales

Dra JARA BOSQUÉ MANCHO
(Nombres de director/es de Tesis, Tutor de Residentes, profesionales que van a tutorizar)

y la autorización de CEICA GONZALEZ HINJOS Firmado digitalmente por GONZALEZ HINJOS MARIA - DNI 038574568 Fecha: 2020.05.22 13:20:22 +02'00'
(Comisión de Investigación del Centro, CEICA, etc.) MARIA - DNI 03857456B

COMPROMISO DEL SOLICITANTE:

El solicitante declara que los datos aportados en esta solicitud son correctos y se compromete al uso adecuado de la información que recabe de las historias clínicas revisadas, de conformidad con lo dispuesto en Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

La falta de la debida custodia o secreto de identificación personal de acceso, el uso de la información para cualquier otro fin que no sea el expresado o el quebranto de la confidencialidad de la información recogida, dará lugar a la exigencia de responsabilidades administrativas/civiles/penales que correspondan según infracción/falta/delito cometido conforme al marco legislativo vigente.

Zaragoza, a 13 de 05 de 2020

Fdo.: 
(Solicitante)

Fdo.: 
(Centro Organismo, Departamento Investigador)

salud
servicio aragonés de salud
HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET
DIRECCIÓN GENERAL MIGUEL SERVET
Director del Hospital Universitario Miguel Servet
ZARAGOZA

Autorizado; Fecha: 13.5.2020

Fdo.: 
Responsable U. Documentación Clínica y Archivo

Unidad de Documentación Clínica y Archivo del HUMS. Teléfono: 976-76-66-60. Fax: 976-76-66-61 e-mail: jazarom@salud.aragon.es

Fdo.: Juan Ramon Portillo del Olmo