

Tesis Doctoral

**Diagnóstico prenatal del retraso de
crecimiento intrauterino mediante
marcadores bioquímicos:
IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP**

M^a. DOLORES GÓMEZ ROIG

Diagnóstico prenatal del retraso de crecimiento intrauterino mediante marcadores bioquímicos: *Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I)*, *Insulin-like Growth Factor Binding-Protein-I (IGFBP-I)*, Leptina, y Alfa-Fetoproteína (AFP)

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Facultad de Medicina

Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Radiología y Medicina Física

DIRECTOR: Dr. Josep M^a Laïlla i Vicens
Hospital Universitari Sant Joan de Déu (Barcelona)

AUTORA: M^a. Dolores Gómez Roig

Memoria de Tesis Doctoral para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía

Barcelona, Julio de 2002

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	5
RESUMEN.....	8
1 INTRODUCCIÓN	18
1.1 Retraso de crecimiento intrauterino.....	18
1.1.1 DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO ANTENATAL	18
1.1.2 MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS.....	20
1.1.3 PERFIL METABÓLICO DEL RCIU	22
1.1.4 CONTROL ENDOCRINO DEL CRECIMIENTO FETAL.....	22
1.1.5 INTERACCIÓN ENTRE EL EJE SOMATOTRÓPICO Y EL APORTE DE NUTRIENTES.....	24
1.1.6 FACTORES DE CRECIMIENTO AMNIÓTICOS	25
1.1.7 CONSECUENCIAS POSTNATALES DEL RCIU	25
1.1.8 CONDUCTA TERAPÉUTICA.....	26
1.2 Insulin-Like Growth Factors	27
1.2.1 IGF-I/ IGFBP-I EN EL SUERO MATERNO	28
1.2.2 IGF-I/ IGFBP-I EN EL FETO	29
1.2.3 IGF-I/ IGFBP-I EN LA PLACENTA	31
1.2.4 NIVELES CIRCULANTES DE IGF-I/ IGFBP-I EN CASOS DE PATOLOGÍA OBSTÉTRICA.....	31
1.3 Leptina	33
1.3.1 BASES GENÉTICAS	33
1.3.2 REGULACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE LEPTINA.....	34
1.3.3 MECANISMOS DE ACCIÓN Y ELIMINACIÓN.....	35
1.3.4 PAPEL DE LEPTINA EN FISIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA HUMANA	35
1.3.5 PRESPECTIVAS FUTURAS DE LA LEPTINA	39
1.4 Alfa-Fetoproteína	39
1.4.1 NIVELES DE AFP EN LA GESTACIÓN.....	39
1.4.2 LA AFP EN CASOS DE PATOLOGÍA OBSTÉTRICA	40
1.4.3 AFP Y OTRAS PATOLOGÍAS.....	41
1.5 Planteamiento del estudio.....	42
2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE TRABAJO.....	45
2.1 Hipótesis de trabajo	45
2.2 Objetivos	45

3	MATERIAL Y METODOLOGÍA	48
3.1	Diseño	48
3.2	Ámbito de estudio.....	49
3.3	Sujetos	49
3.4	Definición de las variables	54
3.5	Instrumentalización y material técnico utilizado.....	55
3.6	Personal investigador.....	56
3.7	Recogida de datos. Tiempos muestrales.....	56
3.8	Amniocentesis de diagnóstico prenatal	57
3.9	Protocolo de control y seguimiento.....	58
3.10	Análisis estadístico	60
4	RESULTADOS.....	63
4.1	Estudio descriptivo de la muestra.....	63
4.2	Objetivo de trabajo 1	71
4.3	Objetivo de trabajo 2	80
4.4	Objetivo de trabajo 3	84
5	DISCUSIÓN	90
5.1	Objetivo de trabajo 1	91
5.2	Objetivo de trabajo 2	98
5.3	Objetivo de trabajo 3	99
5.4	Valoración Final.....	101
6	CONCLUSIONES.....	105
7	ABREVIATURAS.....	107
8	BIBLIOGRAFÍA.....	110

AGRADECIMIENTOS

Al *Hospital Universitari Sant Joan de Déu de Barcelona*, donde me he formado como Médico Interno Residente de Ginecología y Obstetricia. Gracias a la gente que trabaja en este centro he podido realizar este estudio, mediante una Beca Fin de Residencia que me inició en este proyecto.

A todo el equipo del Servicio de Ginecología y Obstetricia del *Hospital Universitari Sant Joan de Déu de Barcelona*. Gracias a la colaboración diaria de los profesionales que me han acompañado durante todo este largo tiempo, ha sido posible el resultado final de este estudio. Agradezco profundamente la ayuda recibida de los médicos adjuntos, residentes, comadronas, enfermeras y auxiliares.

Al Dr. Borrás y Dra. Miró, al colaborar conmigo en la recogida muestral habitual.

Al Servicio del Laboratorio del *Hospital Universitari Sant Joan de Déu de Barcelona*. Al departamento de Hormonas y a su responsable: Dra. Carme Valls, por su ayuda imprescindible en el almacenaje y análisis de las muestras, y por compartir conmigo sus conocimientos y amistad durante un largo periodo de trabajo.

Al la Dra. Carme Ruiz de Villa, del Departamento de Estadística de la Universidad de Biología (Universidad de Barcelona), por su gran disponibilidad incondicional y su colaboración en la elaboración del estudio estadístico.

A todos los compañeros del *Hospital de l'Esperit Sant*, con los cuales he compartido agradables momentos de trabajo, coincidente con la práctica del estudio, y por su apoyo en la realización del mismo.

También, a todos mis más recientes compañeros de la *Fundació Sanitaria d'Igualada*, quienes me han apoyado desde el primer momento en la consolidación y finalización de este largo trabajo.

Al Dr. Jordi Ponce i Sebastià, por compartir conmigo un proyecto anterior, influyente de manera decisiva en el estudio actual, y por aportar sus conocimientos de manera continua desde el inicio del trabajo.

A mi director de Tesis. Al Profesor Josep M^a Lailla i Vicens, por su dirección y apoyo durante todo el desarrollo del estudio. A su influencia y motivación imprescindible en la realización del trabajo.

Al Fondo de Investigación Sanitaria de la Seguridad Social por financiar parcialmente este proyecto (Exp. 99/0611).

A mi marido y a mi hija, por su comprensión y apoyo demostrado día a día, en el tiempo dedicado a este trabajo a expensas de su dedicación personal.

A mis padres, por su influencia familiar y educacional decisiva en mi carrera profesional.

Finalmente, quiero dedicar este trabajo a todos mis compañeros con los que he compartido trabajo, tiempo y amistad.

RESUMEN

RESUMEN

Diagnóstico prenatal del retraso de crecimiento intrauterino mediante marcadores bioquímicos: *Insulin-like Growth Factor-I* (IGF-I), *Insulin-like Growth Factor Binding-Protein-I* (IGFBP-I), *Leptina*, y *Alfa-Fetoproteína* (AFP)

1. INTRODUCCIÓN

Retraso de crecimiento intrauterino (RCIU)

La definición de crecimiento normal precisa de criterios estadísticos que concreten la definición de "normalidad" en curvas poblacionales específicas. Se han postulado múltiples métodos de cribado gestacional del RCIU, todos ellos con baja sensibilidad intrínseca. Las tasas diagnósticas ecográficas no superan el 70-80%. Diferentes estudios intentan relacionar marcadores bioquímicos con el estado nutricional fetal, capaces de discernir de forma más precoz aquellos fetos que presentarán una situación más comprometida. Las hormonas implicadas en el control del crecimiento fetal difieren de las relacionadas con el crecimiento postnatal. Actualmente, es conocido el control fetal en orden a dos sistemas endocrinos: la insulina, y el sistema de las *Insulin-like Growth Factor* (IGF). La interacción entre el aporte de nutrientes y el eje endocrino somatotrópico es esencial. Fetos con RCIU presentan una mayor morbilidad y mortalidad. Se conoce que el RCIU tiene consecuencias ampliables postnatalmente, teniendo en la edad adulta cierta predisposición a desarrollar diabetes y enfermedad cardiovascular. Han sido muy diferentes los esquemas de prevención y tratamiento propuestos en el RCIU, aunque el único recurso del que disponemos actualmente es la finalización programada del embarazo.

***Insulin-Like Growth Factors* (IGF)**

Las IGF se sintetizan en múltiples tejidos como factores endocrinos, paracrinos y/o autocrinos. Las IGF son transportadas por proteínas específicas (IGFBP). Los niveles de IGFBP-I son influyentes en la función de la IGF-I. El principal regulador de la IGFBP-I es la insulina. En suero materno, los niveles de IGF-I no tienen correlación con los niveles en sangre de cordón, ni con el peso del recién nacido posterior. En sangre fetal, el papel predictivo de estos factores respecto al RCIU es discutido en el primer trimestre, y su correlación es más clara en la segunda mitad del embarazo. En casos de RCIU la IGF-I disminuye, y la IGFBP-I se eleva, en sangre de cordón. Los estudios realizados en líquido amniótico se basan en etapas tardías del embarazo, donde los niveles de IGF-1 y IGFBP-1 presentan una correlación inversa con el RCIU. La capacidad diagnóstica de la amniocentesis en la semana 35 de embarazo, para demostrar la presencia de RCIU leve (< 10 percentil) es limitada para la IGF-1 (65%) y la IGFBP-1 (60%). En casos de RCIU severo (<5 percentil) la sensibilidad conseguida por la IGF-1 es del 66.7% y hasta el 77.8% para la IGFBP-1. No existen estudios de IGF-1 y IGFBP-1, en líquido amniótico, en semanas tempranas del embarazo.

Leptina

El simple papel lipostático de la Leptina a pasado a ser un amplio complejo endocrino todavía por conocer. Es evidente el papel de la Leptina como factor implicado en el crecimiento y desarrollo fetal. La Leptina es sintetizada por la placenta, al igual que por múltiples tejidos fetales. Los trabajos realizados en la gestación, estudian la Leptina en suero materno y en sangre de cordón umbilical. Las embarazadas tienen mayores niveles séricos de Leptina, que se relacionan con el índice de masa corporal de la madre, pero no con el peso fetal. La Leptina, en sangre de cordón, si muestra una correlación directa con el peso fetal. Casos de RCIU tienen menores niveles de Leptina. Se ha confirmado la presencia de Leptina en líquido amniótico, planteando una posible correlación entre estos valores y los de sangre de cordón umbilical. Hasta el momento, no se conoce exactamente el comportamiento de la Leptina en líquido amniótico.

Alfa – Fetoproteína (AFP)

La Alfa-Fetoproteína es una glucoproteína sintetizada, predominantemente, por el hígado fetal normal, y aunque se desconoce su función, es la proteína sérica más importante en el embrión y en la primera etapa de la vida fetal. Cada vez mayor número de trastornos, a parte de los defectos del tubo neural, se asocian con la elevación de los niveles de AFP en suero materno: desprendimiento prematuro de placenta, estados hipertensivos del embarazo, RCIU, partos prematuros, y aumento de mortalidad perinatal. En líquido amniótico, no existen estudios concluyentes. Los ácidos grasos polinsaturados son esenciales para un desarrollo fetal correcto, y la AFP es la proteína transportadora de estos ácidos grasos en circulación fetal y materna durante el embarazo. La AFP es un modulador/modificador de varios factores de crecimiento durante la etapa embriogénica y fetal. Diferentes dominios de la AFP son similares a los receptores nucleares esteroideos y tiroideos, y estos receptores están relacionados con el *DNA-Hormone Response Elements* (HRE) implicado en el crecimiento, desarrollo, reproducción y homeostasis. Estudios en líquido amniótico demuestran la presencia de diferentes formas heterofuncionales de AFP: inhibidoras del crecimiento, estimuladoras del crecimiento, y no influyentes en el crecimiento fetal. La placenta es responsable de la circulación de AFP entre el compartimento fetal y materno. Alteraciones placentarias pueden producir un aumento de las áreas de transporte o una alteración de la barrera endotelial, favoreciendo el paso de AFP en los diferentes compartimentos. La AFP ejerce un papel anti-oncogénico en crecimientos tumorales estrógeno dependiente.

Planteamiento del estudio

Es conocido el comportamiento de la IGF-I, la IGFBP-I, y la Leptina en el RCIU, en el tercer trimestre gestacional y en el momento del nacimiento fetal. El disponer de la amniocentesis, como técnica de diagnóstico prenatal, permite estudiar estos marcadores bioquímicos en etapas más tempranas del embarazo, así como su implicación en la fisiopatología del RCIU.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE TRABAJO

Hipótesis de trabajo

El trabajo actual estudia la validación y ampliación de resultados obtenidos en nuestro ámbito poblacional sobre la asociación de ciertos marcadores bioquímicos en líquido amniótico de tercer trimestre y la severidad del RCIU. La hipótesis de nuestro trabajo es que la determinación de los marcadores bioquímicos IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP en etapas más tempranas del

embarazo, líquido amniótico de diagnóstico prenatal (segundo trimestre gestacional), puede mejorar el rendimiento diagnóstico y terapéutico del RCIU.

Objetivos

1. Determinar la relación existente de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP con el decalaje ponderal al nacer (medido en Múltiplos de la Desviación de la Media para cada edad gestacional, MDM), en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo (muestras de diagnóstico prenatal: LA-dp).
2. Conocer la correlación intrínseca existente entre los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, como factores implicados en el crecimiento fetal.
3. Calcular e ponderar la capacidad diagnóstica de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, en líquido amniótico del segundo trimestre (LA-dp), respecto a la severidad del RCIU al nacer.

3. MATERIAL Y METODOLOGÍA

Diseño

Estudio longitudinal y prospectivo. Continuación y ampliación del estudio: *Avaluació dels nivells en líquid amniòtic de IGF-I i IGFBP-I en fetus afectats per retard de creixement intrauterí (Dr. Jordi Ponce i Sebastià)*. Los CASOS RCIU se recogen por orden cronológico y sucesivo de aparición al conocer el peso fetal al nacer. En los CONTROLES se realiza un reclutamiento aleatorio y sucesivo en el mismo periodo temporal.

Ámbito de estudio

Hospital Universitario *Sant Joan de Déu* (Universidad de Barcelona), que abarca un sector de la Región Sanitaria de la *Costa de Ponent de l'Àrea Metropolitana de Barcelona*, con una cobertura de 350.000 habitantes. Se estima una cifra de 3.000 partos anuales. El tiempo del estudio es de 31 meses, desde Marzo de 1999 hasta Septiembre de 2001.

Sujetos

Gestantes con amniocentesis de diagnóstico prenatal (14-18 semanas). En el momento del parto se estudia el peso neonatal y se cuantifica los Múltiplos de la Desviación de la Media (MDM) para realizar a modo ilustrativo una clasificación poblacional en: CONTROL, RCIU LEVE <10 percentil (<10 PER), y RCIU SEVERO <5 percentil (<5 PER). La población final incluye un total de 121 gestantes.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN: CONTROL (n: 86): Peso fetal al nacer \geq al 10 percentil pero < 90 percentil, según nuestras curvas de referencia. CASO RCIU LEVE <10 PER (n: 18): Peso fetal al nacer \geq al 5 percentil, pero < 10 percentil. CASO RCIU SEVERO <5 PER (n: 17): Peso fetal al nacer < 5 percentil.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN: Negación de la paciente a participar en el estudio. Ingesta de fármacos que puedan interferir en el crecimiento fetal o marcadores bioquímicos. Alteraciones genéticas del potencial del crecimiento. Intercurrencia de patología diabética. Gestación múltiple. Imposibilidad del control gestacional o del parto en nuestro centro hospitalario.

Definición de las variables

Las variables objeto de estudio son: Peso neonatal cuantificado en Múltiplos de la Desviación de la Media (MDM). Marcadores bioquímicos: IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP.

Recogida de datos. Tiempos muestrales

Se define un tiempo muestral en las semanas 14 -18 de embarazo, en las que se realiza una amniocentesis de diagnóstico prenatal.

Protocolo de control y seguimiento

Todas las gestantes siguen su control en el mismo centro hospitalario, y en todos los casos se aplica el protocolo obstétrico asistencial existente en el Hospital Universitario *Sant Joan de Déu* de Barcelona. La amniocentesis de diagnóstico prenatal se practica en la población que por supuestos médico-legales actualmente reconocidos está indicada, entre las 14 y 18 semanas de embarazo.

Análisis estadístico

Estudio estadístico informatizado en SPSS-PC+. La comparación de grupos, en los que las variables medidas no siguen una distribución normal, se realiza mediante test no paramétricos: Test de U de Mann-Whitney (2 categorías), Test de Kruskal-Wallis (más de dos categorías). En el estudio de la relación existente entre las variables bioquímicas y el peso neonatal cuantificado en MDM se desarrolla un análisis de Correlación Ordinal de Spearman. Para la valoración de la capacidad diagnóstica de la prueba se calcula la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y capacidad global con sus correspondientes intervalos de confianza para el 95%. En todos los análisis estadísticos se toma como criterio de significación el valor $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS

Estudio descriptivo de la muestra

La población de estudio se clasifica, de manera ilustrativa, en 86 CONTROLES, 18 RCIU LEVE <10 PER, y 17 RCIU SEVERO <5 PER. Se trabaja una muestra randomizada y homogénea. El estudio de homogeneidad de la población según edad materna, sexo fetal, tipo de parto y parámetros de bienestar neonatal (Test de APGAR y PHAU) no obtienen diferencias significativas respecto la severidad del RCIU. Se observa una relación significativa entre el RCIU y el estado hipertensivo del embarazo, tabaquismo, e ingresos gestacionales requeridos.

Objetivo de trabajo 1:

Determinar la relación existente de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP con el decalaje ponderal al nacer (MDM), en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo (muestras de diagnóstico prenatal: LA-dp).

1.1. No se demuestra una correlación significativa entre la severidad del RCIU (MDM) i los niveles de IGF-I en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional (LA-dp). El valor medio de IGF-I para cada uno de los subgrupos poblacionales es: 285,4 ng/ml en el grupo

CONTROL, 326,1 ng/ml en el RCIU LEVE <10 PER, 277,3 ng/ml en el RCIU SEVERO <5 PER.

- 1.2. No se demuestra una correlación significativa entre la severidad del RCIU (MDM) i los niveles de IGFBP-I en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional (LA-dp). El valor medio de IGFBP-I para cada uno de los subgrupos poblacionales es: 64.314 ng/ml en el grupo CONTROL, 52.694 ng/ml en el RCIU LEVE <10 PER, 70.433 ng/ml en el RCIU SEVERO <5 PER.
- 1.3. No se encuentra una correlación significativa entre la severidad del RCIU (MDM) i los niveles de Leptina en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional (LA-dp). El valor medio de la Leptina para cada uno de los subgrupos poblacionales es: 16,9 ng/ml en el grupo CONTROL, 19,6 ng/ml en el RCIU LEVE <10 PER, 19,7 ng/ml en el RCIU SEVERO <5 PER.
- 1.4. Se demuestra una correlación inversa entre la severidad del RCIU (MDM) i los niveles de AFP en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional (LA-dp). El valor medio de AFP, en líquido amniótico de segundo trimestre, para cada subgrupo poblacional es: 18.886 ng/ml en el grupo CONTROL, 20.969 ng/ml en el RCIU LEVE <10 PER, 24.244 ng/ml en el RCIU SEVERO <5 PER.

Objetivo de trabajo 2:

Conocer la correlación intrínseca existente entre los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, como factores implicados en el crecimiento fetal.

- 2.1 Se demuestra una correlación directa entre la IGF-I y la IGFBP-I prenatal (LA-dp).
- 2.2 Se demuestra una correlación inversa entre la IGFBP-I y la AFP prenatal (LA-dp).
- 2.3 Se evidencia una falta de correlación entre los restantes factores implicados en el crecimiento fetal, en etapas tempranas del embarazo (Leptina y Sistema de las *Insulin-Growth Factor*).

Objetivo de trabajo 3:

Calcular i ponderar la capacidad diagnóstica de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, en líquido amniótico del segundo trimestre (LA-dp), respecto a la severidad del RCIU al nacer.

- 3.1 No se estudia la capacidad diagnóstica de la IGF-I, IGFBP-I, y Leptina, en líquido amniótico de segundo trimestre, al no poderse demostrar previamente una correlación significativa entre estos marcadores y la severidad del decalaje ponderal (MDM).
- 3.2 La AFP es el único marcador estudiado que cumple una correlación significativa e inversa con la severidad del decalaje ponderal (MDM). Se obtiene para dicho marcador:
 - En la sospecha de RCIU <10 PER: una sensibilidad del 65,7%, una especificidad del 56,9%, un valor predictivo positivo del 38,3 %, y un valor predictivo negativo del 80,3%. La capacidad global, en este caso para la AFP, es del 65,6% (IC 95%: 54,0-77,1).

- En la sospecha de RCIU <5 PER: una sensibilidad del 76,4%, una especificidad del 54,8%, un valor predictivo positivo del 21,6 %, y un destacable valor predictivo negativo del 93,4%. La capacidad global es del 70,6% (IC 95%: 55,6-85,6).

5. DISCUSION

Objetivo de trabajo 1:

Determinar la relación existente de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP con el decalaje ponderal al nacer (MDM), en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo (muestras de diagnóstico prenatal: LA-dp).

Se ha demostrado, en sangre de cordón umbilical, un aumento de la **IGF-I** y la **IGFBP-I** con la edad gestacional, y una correlación directa de la IGF-I e inversa de la IGFBP-I, con la adecuación del peso al nacer para cada edad gestacional.

En el líquido amniótico de 34-36 semanas y del momento del parto la IGF-I y la IGFBP-I muestran una correlación inversa con la adecuación del peso al nacer. Niveles elevados de IGFBP-I en líquido amniótico de 15-16 semanas también se han relacionado con RCIU, aunque estudios más recientes discuten esta teoría.

El presente estudio no demuestra relación de la IGF-I y la IGFBP-I, en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (14-18 semanas), y la severidad del RCIU al nacer (MDM). La ausencia de correlación significativa en el segundo trimestre gestacional es de gran interés clínico, al igual que se ajusta a los conocimientos existentes sobre la fisiopatogenia del RCIU. La falta de estudios prospectivos sobre las IGF, en líquido amniótico del segundo trimestre, permite hipotetizar una afectación de estos factores una vez ya se ha establecido el RCIU, no siendo buenos marcadores en etapas previas, cuando afectaciones del sistema endocrino-nutricional no han comprometido todavía al feto.

Es conocida una correlación directa entre la **Leptina** y el peso del recién nacido en sangre de cordón umbilical a término. Los casos de RCIU tienen niveles de Leptina disminuidos, aunque niveles superiores de ésta proteína también pueden observarse en casos de hipoxia concomitante, como mecanismo de adaptación al estrés fetal.

En líquido amniótico, los únicos trabajos publicados estudian gestaciones a término, donde también existe una correlación positiva entre los niveles de Leptina y el peso del recién nacido. No disponemos de bibliografía que permita obtener conclusiones respecto a la Leptina de líquido amniótico en etapas tempranas de la gestación.

Este estudio no demuestra una correlación existente entre la severidad del RCIU (MDM) i los niveles de Leptina en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional. Por dicho motivo, se considera a la Leptina representativa de los niveles de reserva grasa fetal y de su regulación nutricional, una vez instaurado el RCIU en etapas posteriores del embarazo. Por primera vez se asignan valores medios de Leptina, en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo.

Existen publicaciones sobre la elevación de la **AFP** en suero materno y una mayor incidencia de RCIU, secundario a posibles alteraciones placentarias.

En líquido amniótico, existen pocos estudios sobre la elevación de AFP y su papel pronóstico gestacional. No está clara la correlación de dicho marcador en líquido amniótico de segundo trimestre, y afectaciones como hipertensión, RCIU, y alteraciones placentarias.

Este trabajo demuestra una correlación inversa entre la severidad del RCIU (MDM) i los niveles de AFP en líquido amniótico del segundo trimestre. Los recién nacidos con mayor decalaje ponderal presentan niveles superiores de AFP en líquido amniótico en el tiempo del diagnóstico prenatal.

La afectación de la AFP, y no de los otros marcadores estudiados, puede deberse a que la AFP juega un papel determinante a nivel placentario. Se conoce que los ácidos grasos polinsaturados son esenciales para un desarrollo fetal correcto, y la AFP es la proteína transportadora de estos ácidos grasos en la circulación fetal y materna durante el embarazo, encontrando en el espacio intervelloso la mayor concentración de dicho ligando. Varios factores de origen trofoblástico (endotelinas, etc.) o de origen nutricional (ácidos grasos polinsaturados) forman parte de un complejo paracrino/autocrino implicado en el correcto desarrollo de la unidad feto-placentaria. Alteraciones en el equilibrio de este complejo endocrino pueden derivar patología placentaria y patología obstétrica secundaria.

En alteraciones placentarias, previas al debut fetal del RCIU, es decir, en etapas tempranas del embarazo, la AFP ya puede mostrar cambios en sus concentraciones. Alteraciones placentarias, que derivan en un RCIU, pueden producir un aumento de las áreas de transporte o una alteración de la barrera endotelial, favoreciendo el paso de AFP en los diferentes compartimentos.

Objetivo de trabajo 2:

Conocer la correlación intrínseca existente entre los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, como factores implicados en el crecimiento fetal.

Estudios recientes concluyen un papel interactivo de la Leptina, la IGF-I, y otros marcadores bioquímicos implicados en el crecimiento fetal. El estudio de estos parámetros, en líquido amniótico del segundo trimestre, demuestra una falta de correlación entre estos factores en etapas tempranas del embarazo (Leptina y Sistema de las *Insulin-Growth Factor*).

Es conocida la relación existente entre la IGF-I y su proteína transportadora.

La AFP, único marcador bioquímico con diferencias significativas en la severidad del RCIU, muestra una correlación inversa con la IGFBP-I, proteína conocida formalmente como proteína placentaria. Dicha correlación, entre ambos marcadores, podría explicar la elevación de la AFP en alteraciones placentarias preliminares a la patología del RCIU. El motivo por el cual es la AFP, y no la IGFBP-I, el factor más alterado queda por esclarecer. Una mayor expresión de la AFP en líquido amniótico podría explicar este mecanismo.

Objetivo de trabajo 3:

Calcular i ponderar la capacidad diagnóstica de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, en líquido amniótico del segundo trimestre (LA-dp), respecto a la severidad del RCIU al nacer.

Es conocido, en nuestro ámbito poblacional, que la capacidad global de la amniocentesis de tercer trimestre para demostrar la presencia de RCIU <10 PER es limitada tanto para la IGF-I (65%), como para la IGFBP-I (60%). En caso de RCIU <5 PER la capacidad global diagnóstica mejora para ambos parámetros: IGF-I (80%) y IGFBP-I (69%). La sensibilidad de los métodos ecográficos utilizados en el mismo momento gestacional para el RCIU <5 PER es del 46,7% (biometría abdominal) y del 61,5% (peso estimado por ecografía).

En la amniocentesis de diagnóstico prenatal, los marcadores bioquímicos: IGF-I, IGFBP-I, y Leptina, no muestran una correlación significativa con la severidad del decalaje ponderal (MDM). La AFP es el único marcador estudiado que cumple una correlación significativa e inversa con la severidad del decalaje ponderal (MDM).

La AFP en líquido amniótico de segundo trimestre presenta:

- ✓ Una capacidad global para demostrar la presencia de RCIU <10 PER limitada (65%).
- ✓ En caso de RCIU <5 PER una capacidad global diagnóstica que mejora (70%).
- ✓ Una sensibilidad para discriminar casos de RCIU <5 PER del 76,4%.
- ✓ Un valor predictivo negativo para descartar casos de RCIU <5 PER del 93,4%.

Estos resultados, con posible implicación clínica en el diagnóstico prenatal, merecen su consideración, sin olvidar que necesitamos un mayor número de estudios prospectivos para concluir que subpoblación de riesgo podría beneficiarse de una amniocentesis de diagnóstico prenatal que estudie la AFP como marcador precoz del crecimiento fetal, y evitar así innecesarios esfuerzos sanitarios de control y seguimiento.

6. VALORACIÓN FINAL

Los resultados concluidos sobre la IGF-I, IGFBP-I y Leptina se ajustan con la instauración tardía, ya en el tercer trimestre, de la afectación fetal del RCIU. Tras conocer el comportamiento de la AFP, estamos obligados a considerar un inicio fisiopatogénico diagnosticable en etapas tempranas del embarazo. La elevación de la AFP de segundo trimestre, en fetos que desarrollarán un RCIU, nos impulsa a estudiar el gran enigma de esta patología, considerando a la placenta un eslabón fundamental

7. CONCLUSIONES

- 1 Los marcadores IGF-I, IGFBP-I, y Leptina, en líquido amniótico de segundo trimestre gestacional (14-18 semanas) no alcanzan una correlación significativa con la severidad del decalaje ponderal para cada edad gestacional (MDM), mientras que la AFP sí muestra una correlación inversa con la severidad del RCIU.
- 2 La IGF-I y la IGFBP-I muestran una correlación directa entre ambas, en el segundo trimestre gestacional, mientras que la IGFBP-I muestra también una correlación inversa con la AFP de segundo trimestre. No se puede demostrar la existencia de correlación entre la Leptina y el Sistema de las *Insulin-Growth Factor*, como factores implicados en el crecimiento fetal en etapas tempranas del embarazo.

- 3 De los marcadores bioquímicos estudiados en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, únicamente la AFP demuestra un valor diagnóstico y pronóstico en la aparición del RCIU y su severidad. La AFP muestra una correlación inversa significativa, con una capacidad diagnóstica de RCIU <10 percentil limitada (capacidad global: 65%), que aumenta en casos de RCIU <5 percentil (capacidad global: 70%).
- 4 Valores elevados de AFP, en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, pueden contribuir en la detección precoz de aquella población con riesgo a desarrollar un RCIU. Dichos valores permitirían, así mismo, una prevención primaria del RCIU y una disminución de la morbi-mortalidad fetal atribuida a dicha patología. El valor predictivo negativo de la AFP de 93,4% en casos del RCIU <5 percentil permite descartar, al mismo tiempo, numerosas gestaciones con posible afectación fetal.

INTRODUCCIÓN

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Retraso de crecimiento intrauterino

1.1.1 DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO ANTENATAL

Las primeras referencias, realizadas en la literatura médica, sobre neonatos de bajo peso se remiten al año 1919, cuando se definió "prematuro" al recién nacido de peso menor de 2.500 gramos¹. No es hasta 1961, que la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce que muchos de estos prematuros no nacen antes de tiempo, sino que son recién nacidos de "bajo peso" al nacer². Aún así, la definición de la OMS incluye en casos de normalidad a niños constitucionalmente pequeños, y dos patologías diferentes: parto pretérmino y retraso de crecimiento intrauterino (RCIU).

La definición de crecimiento normal precisa de criterios estadísticos que concreten la definición de "normalidad" en curvas poblacionales específicas. Actualmente, definimos como RCIU a aquel recién nacido cuyo peso está situado por debajo del percentil 10 para su edad gestacional. De acuerdo con esta definición, es esperable una incidencia del RCIU del 10%, aunque en la práctica clínica ésta puede disminuir tras su corrección con el peso y fenotipo paternos³.

Algunos autores han sugerido como criterio definitorio del RCIU el 5 percentil, a favor de una estricta clasificación con mayor influencia negativa en la morbi-mortalidad fetal y perinatal⁴.

En un intento de homogeneizar los estudios sobre el RCIU, actualmente se realiza una cuantificación de la severidad del déficit ponderal compensado para cada edad gestacional y población geográfica. Se utiliza, en concordancia con estudios previos, múltiplos de desviación estándar⁵ para la media de peso en una edad gestacional

concreta, y dentro de unas curvas de normalidad elaboradas con la propia población de estudio.

Las curvas de crecimiento fetal no son extrapolables de una población a otra, ya que factores genéticos, climáticos, o socioeconómicos, pueden establecer diferencias entre los rangos de normalidad. Este trabajo utiliza las curvas del Área Metropolitana de Barcelona, basadas en las descritas por el Hospital Materno-Infantil del Valle de Hebrón, sobre una población de 6.622 niños nacidos en dicho centro durante los años 1992 y 1993⁶.

Durante la gestación se establece la sospecha clínica y ecográfica del RCIU, pero el diagnóstico definitivo sólo puede realizarse después del nacimiento. La definición de esta patología se establece con el peso en el momento del nacimiento, y una definición postparto no permite aplicar medidas correctoras en la morbi-mortalidad.

Se han postulado múltiples métodos de cribado gestacional del RCIU, todos ellos con baja sensibilidad intrínseca. Las medidas morfométricas maternas obtienen una sensibilidad del 50-60%⁷. La medida biométrica fetal por ecografía es el método más consensuado de presunción diagnóstica antenatal del RCIU (especialmente el perímetro abdominal y el peso fetal estimado). Existen curvas de normalidad de dichas medidas, pero las tasas diagnósticas no superan el 70-80%^{8 9}.

Es difícil establecer unos predictores de la evolución ponderal intraútero y del pronóstico neonatal. La monitorización ecográfica del crecimiento fetal permite una aproximación al contexto evolutivo del RCIU, si bien algunos autores^{10 11} creen precisa su complementación con otras mediciones dinámicas como los flujos Doppler umbilicales y fetales. Se ha establecido el papel pronóstico de la fluxometría Doppler de la arteria umbilical como marcador del estado hipóxico fetal, de la mala evolución neonatal posterior, y de la deficiente recuperación del peso en periodo neonatal (*catch up*). De entre muchas arterias fetales estudiadas, destaca el valor de la arteria cerebral media, interpretándose su vasodilatación como un mecanismo compensatorio y protector frente a un estado de hipoxia establecido¹².

En un intento de aproximación al medio interno fetal, se han utilizado las muestras de sangre fetal obtenidas por cordocentesis diagnóstica, con el fin de estudiar el equilibrio ácido-base intraútero, así como otros marcadores de hipoxia crónica como la eritropoyetina y eritroblastosis.

Hasta entonces, todos los marcadores pronósticos del RCIU se basan no en la propia patología del déficit ponderal, sino en las consecuencias hipóxicas que desencadena. Por dicho motivo, son múltiples los estudios que intentan demostrar marcadores bioquímicos relacionados con el estado nutricional fetal, capaces de discernir, de forma más precoz, aquellos fetos que presentarán en un futuro una situación más comprometida.

1.1.2 MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS

Existe una clara evidencia de que la regulación del crecimiento fetal difiere, en gran parte, del control del crecimiento postnatal. La regulación del crecimiento fetal es un proceso complejo, basado en la interacción existente entre factores genéticos y ambientales. Por dicho motivo, clasificamos los mecanismos etiopatogénicos del RCIU en:

1. Alteración de los factores genéticos, determinantes del crecimiento fetal, mayoritariamente en la primera fase gestacional (cromosomopatías, infecciones antenatales, y agentes teratógenos).
2. Alteración del mecanismo regulador del crecimiento fetal, secundario a una patología materna y/o patología placentaria. Pertenece a este apartado el RCIU idiopático, en el que no se identifica la noxa causante de la afectación final.

En el 60-70% de los casos de RCIU, no se conoce el agente causal, y únicamente en el 30-35% conocemos la etiología, predominando las patologías de afectación genética (10-15%)¹³.

El grupo idiopático, mayoritario del RCIU, es el motivo de nuestro estudio, en un intento de ampliar los escasos conocimientos existentes sobre el mecanismo regulador del crecimiento fetal.

En el periodo fetal es fundamental un correcto aporte de nutrientes al feto, basado en una cooperación materno-placentaria que asegura las necesidades de oxígeno y substratos al feto, junto a un correcto control endocrino (eje somatotrópico) que permite dicha cooperación¹⁴.

Ante una regulación incorrecta del crecimiento fetal, se producen casos de RCIU, en los que existe un aumento exponencial de la morbi-mortalidad fetal y/o perinatal respecto al grado del RCIU. Un mejor conocimiento de la regulación del crecimiento fetal permitiría una mayor intervención en estos casos.

De acuerdo con las características clínicas del recién nacido, se ha intentado establecer, históricamente, dos grupos de RCIU concordantes con la posible noxa causal y el momento de actuación¹⁵:

1. RCIU simétrico de todos los órganos, que se inicia en fases precoces del embarazo, y coincide con etiologías cromosómicas e infecciosas.
2. RCIU asimétrico, siendo el grupo más numeroso, de inicio más tardío y debido a causas nutricionales.

A pesar de esta clasificación, existen casos de RCIU intermedio que no se ajustan a un patrón definido y que comparten causas diferentes. Numerosas publicaciones^{16 17 18} discrepan con esta clasificación, al no correlacionar la evolución neonatal y los mecanismos etiopatogénicos propuestos. Actualmente, se acepta que un RCIU asimétrico, en etapas tempranas, puede derivar un RCIU simétrico en etapas tardías del embarazo.

1.1.3 PERFIL METABÓLICO DEL RCIU

Existen múltiples mecanismos por los cuales el feto se adapta a una disminución de oxígeno y/o sustratos suministrados desde la unidad materno-placentaria. Ante una situación de hipoxia, el feto utiliza una mayor concentración de oxígeno de la hemoglobina fetal (proceso limitado), disminuye los movimientos respiratorios, y realiza una redistribución de la circulación fetal, priorizando órganos como el sistema coronario, cerebro, glándulas adrenales y placenta. Estados de hipoglucemia fetal producen una acidosis metabólica secundaria a una mayor producción de lactato, un aumento del catabolismo y gluconeogénesis fetal, y un mayor paso de glucosa y aminoácidos del compartimento fetal al placentario. Tenemos fetos hipercápnicos, ante un fallo de eliminación de dióxido de carbono por la placenta y una inadecuada liberación de oxígeno. La presencia de más o menos hipoxemia, ante causas diferentes a las tóxicas o genéticas, refleja un mayor o menor grado de disfunción placentaria¹⁹.

La relación feto-placentaria existente es compleja. La placenta tiene prioridad en la utilización de sustratos para el correcto mantenimiento de su función. En casos de hipoglucemia extrema, la placenta utiliza la glucosa de la circulación fetal. El control de la placenta sobre el crecimiento fetal no se conoce todavía con detalle, a pesar de que recientes estudios la responsabilizan de la regulación del crecimiento fetal mediante factores como TGF-alfa, EGF, y hormona de crecimiento placentario que se encuentra disminuida en madres de hijos con RCIU²⁰.

La manera de aumentar el aporte de oxígeno y nutrientes en casos de RCIU no se conoce actualmente.

1.1.4 CONTROL ENDOCRINO DEL CRECIMIENTO FETAL

Las principales hormonas implicadas en el control del crecimiento fetal parecen ser diferentes a las relacionadas con el crecimiento postnatal. Actualmente, es conocido el control fetal en orden a dos sistemas endocrinos: la insulina, y el sistema de las *Insulin-like Growth Factor* (IGF).

La **Insulina** ha sido ampliamente estudiada, y es conocido su papel permisivo en el crecimiento fetal. Casos experimentales de agenesia pancreática producen casos de RCIU ante la ausencia de insulina, que no permite un correcto abastecimiento de glucosa y aminoácidos. Hijos de madres diabéticas tienen un mayor peso al nacer, debido a un aumento del transporte transplacentario de glucosa y a una hiperinsulinemia fetal. Datos recientes definen a la insulina como un factor promotor del crecimiento fetal a través de su influencia sobre los receptores de IGF-I, y como regulador directo de la secreción de IGF-I¹³.

La **IGF-I** es el principal factor endocrino-paracrino regulador del crecimiento fetal. El déficit homocigoto del gen de IGF-I y/o su receptor derivan casos de marcado RCIU. Cambios en el aporte de nutrientes en el feto influyen en la secreción de IGF-I, disminuyendo sus niveles en casos de desnutrición. La IGF-I influye en el transporte placentario de la glucosa a través de un aumento de la secreción de insulina. La insulina es el principal regulador de la IGF-I, y los niveles de la hormona de crecimiento (GH) también regulan la IGF-I, aunque en menor medida. Se ha comprobado la síntesis placentaria de IGF-I e IGF-II, y la posibilidad de la utilización de estos factores por la placenta a partir de su abastecimiento de la circulación fetal, existiendo una relación feto-placentaria en el control del crecimiento fetal¹⁹.

La **IGF-II** participa como inductor de la síntesis proteica, favoreciendo la mitogénesis y posterior crecimiento²¹. La IGF-II es un factor promotor del crecimiento local e intraútero, siendo clara su implicación en periodos preimplantatorios, etapas embrionarias y edades tempranas del embarazo. Niveles suprafisiológicos de esta hormona se relacionan con crecimientos tumorales²².

La **GH** no tiene un papel importante en la regulación del crecimiento fetal. Existe la presencia de la GH y de sus receptores en el feto, pero en menor concentración que en los adultos. La acción de la GH fetal está limitada por una inmadurez de sus receptores que limitan su acción en el hígado y su influencia en la secreción de IGF-I. La GH prenatal tiene un predominante efecto lipolítico y anti-insulínico. Niños con déficit de

GH tienen menor talla al nacer, pero muestran un mayor grado de fallo en su crecimiento postnatal²³.

El **Lactógeno Placentario** no se ha podido demostrar como factor de crecimiento fetal, a pesar de conocer su origen materno y mayor presencia en el compartimento fetal. Embarazos con déficit del gen de lactógeno placentario tienen fetos con crecimiento normal.

La **Hormona Tiroidea** tampoco se ha podido relacionar directamente con el control del crecimiento fetal. Algunas especies animales con hipotiroidismo fetal tienen hijos con RCIU, pero en otras especies y en humanos no se ha podido demostrar esta relación.

Una característica contemplada en casos de RCIU, es una alteración de la sensibilidad dentro de un amplio sistema endocrino, con una relativa resistencia a la insulina, IGF-I y GH^{24 25}. La regulación de las proteínas transportadoras de IGF (IGFBP) también parece estar alterada. El sistema de la IGFBP-I está en menor grado suprimido en casos de RCIU, influyendo en la biodisponibilidad de la IGF-I. Cierta grado de resistencia a la GH implica un posible fallo en el crecimiento postnatal entre algunos casos de RCIU.

1.1.5 INTERACCIÓN ENTRE EL EJE SOMATOTRÓPICO Y EL APORTE DE NUTRIENTES

La interacción entre el aporte de nutrientes y el eje endocrino somatotrópico (IGF-I, IGF-II, GH, insulina) es esencial en el control del crecimiento fetal²⁶. Las concentraciones maternas y fetales de estas hormonas están reguladas por el aporte de nutrientes, al mismo tiempo que tienen influencia sobre el paso de nutrientes entre la placenta y el feto favoreciendo el crecimiento fetal. Estados de ayuno materno producen una disminución de IGF-I, aumento de IGFBP-I, y una mayor concentración de insulina, lo que regula en mayor medida el crecimiento fetal al final del embarazo^{27 28}

29

La infusión de IGF-I en fetos animales, produce una disminución del catabolismo proteico, modifica la distribución de nutrientes favoreciendo el paso de glucosa, y disminuye la producción de lactato en la placenta.

En déficits del crecimiento, la relación entre el eje endocrino y el aporte de nutrientes está alterada, así como su efecto sobre la función placentaria. Los mecanismos de adaptación a situaciones restrictivas del entorno fracasan, dando lugar a casos de RCIU.

1.1.6 FACTORES DE CRECIMIENTO AMNIÓTICOS

Los fluidos fetales representan una fuente adicional de hormonas y nutrientes para el feto incluyendo la IGF-I e IGFBP-I. El mecanismo del control de su utilización es desconocido, aunque hay evidencia del papel de la IGF-I en la utilización enteral de nutrientes.

La pared intestinal expresa receptores de IGF-I en épocas tempranas del embarazo. Altas dosis de IGF-I, administradas enteralmente, aumentan la concentración de esta hormona en suero. Estudios en fetos con atresia esofágica, limitante de la ingesta de líquido amniótico, muestran menor peso al nacer respecto los controles. Estudios experimentales con compresión esofágica implican un desarrollo de RCIU, junto a un retraso en la maduración intestinal. La infusión de bajas dosis de IGF-I más allá de la ligadura previene la restricción del crecimiento y posibilita una normal maduración intestinal¹⁴.

1.1.7 CONSECUENCIAS POSTNATALES DEL RCIU

Fetos con RCIU presentan una mayor morbilidad y mortalidad³⁰. Se ha descrito un aumento del riesgo de muerte súbita en neonatos con RCIU³¹. En el periodo infantil se les atribuye un peor desarrollo cognitivo y neurológico³².

Actualmente, se conoce que la exposición de condiciones ambientales desfavorables, en un relativo pero crítico periodo de tiempo, perjudica la interrelación entre sistemas endocrinos, metabólicos y mecanismos de homeostasis cardiovascular. Dicha afectación tiene consecuencias a largo plazo en el feto y ampliables postnatalmente. La

denominación de este proceso recibe el nombre de *programming* y sus consecuencias determinarán un posible fallo de crecimiento postnatal, y ya en edad adulta, cierta predisposición a desarrollar enfermedad hipertensiva (HTA), enfermedad cardiovascular, estados de hiperfibrinogenemia, diabetes mellitus tipo 2 (DMNID), y síndrome X (HTA, DMNID e hiperlipidemia). Hay múltiples estudios que contribuyen al concepto de *programming*^{33 34 35 36}.

1.1.8 CONDUCTA TERAPÉUTICA

Han sido muy diferentes los esquemas de prevención y tratamiento propuestos para el RCIU. En el caso de conocerse la etiología, ésta determina la actuación médica. En la mayoría de los casos la causa se desconoce y el único recurso del que disponemos, en la práctica clínica, es la finalización programada del embarazo.

El reposo es el tratamiento más frecuentemente recomendado en el RCIU. Únicamente un estudio controlado y randomizado, que estudia el beneficio del reposo hospitalario, no demuestran beneficio en el crecimiento fetal. En casos de RCIU ya establecido, la utilidad de suplementos nutricionales es nula en mujeres con un buen estado nutricional previo. El consumo de aceite de pescado (ácido eicosapentanoico) reduce la producción de TXA2 y un aumento de PGI2, produciendo una vasodilatación y aumento de la perfusión útero-placentaria, sin conocer su utilidad actual en la prevención y/o tratamiento del RCIU³⁷.

La hiperoxigenación materna ha sido estudiada en múltiples estudios, pero muy pocos datos apoyan su eficacia. Es necesario mayor documentación ante complicaciones como hipoglucemias y trombocitopenias en neonatos³⁸.

Estudios randomizados no confirman el esperado efecto beneficioso de la aspirina sobre la función placentaria, ni en la prevención y tratamiento del RCIU instaurado³⁹.

Sustancias con efecto vasodilatador sobre las arterias uterinas y vasos de las vellosidades coriales, como betamiméticos y péptido natriurético atrial, no han podido demostrar su posible efecto terapéutico.

Una alternativa en el tratamiento del RCIU es la utilización de GH y IGF-I para favorecer el crecimiento fetal. La suplementación fetal enteral con estos tratamientos, mediante su administración en líquido amniótico, podría ser algo posible en la práctica clínica futura⁴⁰. Estudios experimentales demuestran que el tratamiento postnatal con IGF-I, en casos de RCIU, puede favorecer un correcto mecanismo de *catch-up* postnatal^{41 42 43}. No existen estudios en humanos, pero la utilización de estos factores de crecimiento constituye en la actualidad un campo prometedor en la investigación.

1.2 *Insulin-Like Growth Factors*

Las IGF son polipéptidos de cadena simple, que pertenecen a la familia de la proinsulina y la relaxina. La IGF-I y la IGF-II son las formas existentes en el ser humano. La IGF-I está formada en un 62% por una secuencia homóloga a la IGF-II. Cada una de estas IGF tienen un peso molecular de aproximadamente 7,5 kDa. La IGF-I está codificada en el brazo largo del cromosoma 12, y la IGF-II en el brazo corto del cromosoma 11.

Las IGF se sintetizan en la mayoría de los tejidos como factores endocrinos, paracrinos y/o autocrinos. El hígado es la principal fuente de IGF circulantes.

El efecto mitogénico que ejercen estos factores sobre las células, está mediado por dos tipos de receptores:

1. Receptor tipo 1. Similar, pero no idéntico, al receptor de la insulina. Tiene una gran afinidad por la IGF-I.
2. Receptor tipo 2. Se diferencia del tipo 1 por un simple monómero. Tiene una mayor afinidad por la IGF-II.

Ambos tipos de receptores se pueden encontrar en prácticamente todos los tejidos, incluida la placenta⁴⁴.

En la vida postnatal, la IGF-I tiene efecto anabólico (promotor del crecimiento) y efecto metabólico (inhibición de la proteólisis y favorecedor del consumo de glucosa). El papel postnatal de la IGF-II es más incierto, ya que sus niveles son mayores en la vida fetal, y se considera más como un factor local intraútero promotor del crecimiento fetal. Una mayor expresión de IGF-II se relaciona con posibles crecimientos tumorales⁴⁵.

Las IGF son transportadas por proteínas específicas (IGFBP). Se han identificado, en suero humano, 6 tipos de IGFBP (IGFBP-1 a 6). Estas proteínas transportadoras son los mayores reguladores de la acción de las IGF^{46 47}. Todas las proteínas transportadoras están formadas por 200-300 aminoácidos, junto a una secuencia señal de 20-40 aminoácidos. El peso molecular de estos péptidos oscila entre 25-31 kDa. La afinidad de las IGFBP por IGF está determinada por el estado de fosforilación, siendo las formas más fosforiladas las de mayor afinidad por las IGF. Estas formas fosforiladas disminuyen en los estados gestacionales^{48 49}.

La IGFBP-1 pertenece a la familia de proteínas transportadoras de alta afinidad, encargada de coordinar y regular la actividad biológica de IGF. Su peso molecular es de 25,3 kDa. Es una fosfoproteína sintetizada principalmente por el hígado y ampliamente distribuida en los espacios intra-extravasculares. El principal regulador de su síntesis es la insulina, la cual inhibe la transcripción del gen de IGFBP-I⁵⁰.

1.2.1 IGF-I/ IGFBP-I EN EL SUERO MATERNO

Los niveles de IGF-I en suero materno aumentan a medida que avanza la gestación. Después del parto los niveles de IGF-I descienden rápidamente. No existe correlación entre los niveles de esta proteína en suero materno y los encontrados en sangre de cordón umbilical a término, ni con el peso del recién nacido posterior^{51 52}. Es conocido que la producción fetal y materna de IGF-I es independiente, y que el paso de IGF-I a través de la barrera placentaria es improbable⁵³.

Los niveles circulantes de IGFBP-I en la madre se elevan tempranamente en el embarazo, alcanzando el pico máximo a las 12-13 semanas gestacionales, concentración que se mantiene alta hasta llegar a término. La mayor parte del incremento de IGFBP-I,

resulta de la secreción de la decidua endometrial, aunque menor porcentaje es sintetizado por el hígado materno bajo la influencia de niveles elevados de estrógenos y progesterona. Los niveles maternos de IGFBP-I en el momento del parto están inversamente relacionados con el peso del recién nacido⁵⁴.

1.2.2 IGF-1/IGFBP-1 EN EL FETO

La presencia de IGF y IGFBP en embriones preimplantatorios indica la influencia de estas proteínas sobre el desarrollo fetal, incluso de manera previa a su implantación⁴⁶.

La IGF-I se detecta en diferentes tejidos fetales a partir de las 9 semanas de embarazo. Durante el primer trimestre gestacional, las membranas fetales (corion y amnios) influyen en el desarrollo fetal mediante la secreción local de IGF-I. En el segundo trimestre, la IGF-I y la IGF-II son abundantes en muchos tejidos fetales (epitelio intestinal, pulmonar, renal, etc.)^{55 56 57 58 59 60}.

Los niveles de IGF-I en sangre fetal son menores que en adultos. La IGF-I, en este medio, aumenta a medida que avanza la gestación^{61 62}. La regulación intraútero de la IGF-I está influenciada por el transporte placentario de glucosa, el cual regula al mismo tiempo la secreción de insulina fetal¹⁴.

La IGF-I tiene un papel determinante en el desarrollo cerebral^{63 64}. La IGF-I está presente en el tejido neural mesenquimal indiferenciado, y los niveles de sus receptores están elevados en el SNC, en etapas tempranas del desarrollo.

En el periodo prenatal, la acción de la IGF-I en el crecimiento y desarrollo fetal es independiente de la GH, ya que casos con defecto de GH tienen recién nacidos con pesos normales.

Existe una relación directa entre los niveles de IGF-I en sangre de cordón umbilical y el peso del recién nacido en el momento del parto. Niveles bajos de IGF-I se han relacionado con casos de RCIU⁶⁵.

Se ha estudiado la IGF-I en líquido amniótico, en las 9-12 semanas de embarazo, siendo sus niveles menores que en sangre de cordón y aumentando, de la misma manera, a medida que avanza la gestación. Actualmente, no se conoce totalmente la función de la IGF-I en el primer trimestre de embarazo⁶⁶. La IGF-I es responsable de la proliferación celular y su diferenciación, de manera conocida, en estadios más avanzados del embarazo⁶².

La presencia simultánea de IGF-I e IGFBP-I en diferentes tejidos, indica que los sitios de acción de la IGF-I están determinados por la distribución de IGFBP-I^{67 68}.

En el primer trimestre gestacional, los niveles de IGFBP-I son más elevados en líquido celómico extra-embriónico, que en líquido amniótico y suero materno⁶⁹. A las 9-12 semanas de embarazo se produce una elevación marcada de IGFBP-I en líquido amniótico, siendo la IGFBP más abundante en este medio. A término, los niveles son menores que en el segundo trimestre⁷⁰.

Contrariamente a la IGF-I, la IGFBP-I en sangre de cordón umbilical presenta una correlación inversa con el peso del recién nacido^{71 72}. Niveles elevados de IGFBP-I en líquido amniótico se relacionan también con casos de RCIU. En esta patología obstétrica se produce una superproducción de IGFBP-I por la decidua, siendo esta proteína un factor implicado en el RCIU, al mismo tiempo que limita la acción de la IGF-I y/o inhibe la correcta invasión trofoblástica⁷³. Desde que se conoce a la decidua como la principal fuente de IGFBP-I, el líquido amniótico parece ser el medio más predictivo de su afectación, en casos de patología obstétrica⁴⁹.

En caso de hipoxia fetal, se han descrito variaciones de IGFBP-I, en sangre de cordón umbilical. Recién nacidos con sufrimiento fetal tienen valores elevados de IGFBP-I, siendo los casos de hipoxia crónica los más afectados^{74 75 76 77 78}. Los estudios realizados en líquido amniótico no son concluyentes^{74 79}.

Ambas, la IGF-I y la IGFBP-I, intervienen en el proceso de maduración pulmonar. Existe una correlación inversa entre los niveles de IGFBP-I en líquido amniótico y el índice lecitina-esfingomielina. La IGF-I está presente en el líquido traqueal de los niños

recién nacidos⁸⁰. La IGF-I existente en líquido amniótico también contribuye en la maduración gastrointestinal²⁴.

Los genes de las IGF y IGFBP se expresan en diferentes tejidos endocrinos fetales relacionados con la secreción de esteroides sexuales. La mutación del gen de la IGF-I produce un retraso en el desarrollo de los órganos sexuales primarios⁴⁶.

1.2.3 IGF-I/ IGFBP-I EN LA PLACENTA

La placenta humana es un órgano endocrino activo que sintetiza IGF-I, IGF-II y IGFBP-I en etapas tempranas del embarazo^{81 82}. La IGF-I favorece la infiltración trofoblástica de las arterias espirales maternas. Por el contrario, la secreción endometrial / decidua de IGFBP-I en el mismo estadio gestacional, protege al endometrio de la invasión trofoblástica, limitando la acción de la IGF-I^{83 84 85}.

La IGFBP-I es conocida, formalmente, como la proteína placentaria.

1.2.4 NIVELES CIRCULANTES DE IGF-I/ IGFBP-I EN CASOS DE PATOLOGÍA OBSTÉTRICA

En el **RCIU** los niveles circulantes de IGFBP-I en sangre materna y sangre de cordón umbilical se elevan. El ascenso de esta proteína es temprano, a las 16-24 semanas de embarazo. La fuente de dicho incremento puede deberse a una superproducción de la decidua endometrial, siendo ésta la responsable de una placentación anormal.

La IGF-I disminuye, en sangre de cordón, en el RCIU^{86 87 88}. También fetos con RCIU, que presentan muerte fetal intraútero o muerte postnatal, tienen niveles más elevados de IGF-I junto a niveles descendidos de PH. El ascenso de los niveles de IGF-I puede indicar un proceso terminal en la adaptación fetal o fallo placentario^{89 74}. El papel predictivo de la IGF-I en sangre fetal respecto el RCIU es discutido en el primer trimestre gestacional, en cambio, su correlación con el peso fetal es más clara en la segunda mitad del embarazo^{90 91}.

En líquido amniótico, existen resultados contradictorios respecto la IGFBP-I y el RCIU. Unos autores defienden una elevación de la IGFBP-I, ya en las semanas 15-16 del embarazo, y otros no correlacionan los niveles de IGFBP-I en el este tiempo gestacional con el peso fetal en el momento del parto⁹².

El trabajo realizado, en nuestro ámbito de estudio (FIS: 95/1365), motivo de la Tesis Doctoral "*Avaluació dels nivells en líquid amniòtic de IGF-I i IGFBP-I en fetus afectats per retard de creixement intrauterí*" del Dr. Jordi Ponce i Sebastià⁹³, demuestra:

1. Los niveles de IGF-I y IGFBP-I en líquido amniótico, en las semanas 34-36 de gestación, presentan una correlación con la adecuación de los pesos al nacer para cada edad gestacional. La relación es inversa para la IGFBP-I al igual que en sangre de cordón umbilical, mientras la proporcionalidad de IGF-I también es inversa, pero diferente a la relación directa relatada en sangre fetal.
2. Existe un excelente nexo de linealidad intrínseca entre la IGF-I y la IGFBP-I en dichas semanas de gestación.
3. La capacidad diagnóstica de la amniocentesis en la semana 35, para demostrar la presencia de RCIU leve (<10 percentil) es limitada para la IGF-I (65%) y la IGFBP-I (60%). En casos de RCIU severo (<5 percentil) la sensibilidad conseguida por la IGF-I es del 66,7% y hasta el 77,8% para la IGFBP-I.

No existen estudios de IGF-I y IGFBP-I en las semanas 15-16 de embarazo. La determinación de estos marcadores bioquímicos, de manera precoz, puede tener trascendencia en la práctica clínica como marcadores diagnóstico y pronóstico del RCIU.

Referente a otras patologías, niños con **delección parcial del gen de IGF-I**, de manera homocigota, presentan un RCIU severo, fallo de crecimiento postnatal y retraso mental moderado^{94 95}.

Estados hipertensivos del embarazo (EHE) muestran resultados contradictorios respecto a los niveles de IGF-I y IGFBP-I. Algunos estudios atribuyen las variaciones de IGFBP-I únicamente a aquellos casos de EHE asociados a RCIU⁹⁶.

La diabetes gestacional insulino-dependiente muestra niveles superiores de IGF-I en sangre de cordón umbilical, en casos de afectación de la glucemia materna, y de manera proporcional a la diferencia de peso fetal^{97 98}. La alteración de la secreción de IGFBP-I puede estar relacionada con fetos macrosómicos resultantes de una diabetes mellitus mal controladas durante el embarazo. La reducción de los niveles de esta proteína favorece la acción de la IGF-I sobre los tejidos fetales derivando un sobrecrecimiento fetal^{99 100}.

1.3 Leptina

La Leptina se identificó, por primera vez, por Friedman y sus colegas a finales de 1994¹⁰¹. Leptina deriva del griego *leptos* y significa delgado. Esta proteína se describió inicialmente como factor derivado de los adipocitos con receptores en el SNC y tejidos periféricos¹⁰². Desde su descubrimiento, más de 1.000 publicaciones han vinculado la Leptina con la fisiopatología y tratamiento de la obesidad.

1.3.1 BASES GENÉTICAS

La Leptina es un producto del *ob* gen, el cual se descubrió al estudiar la obesidad en un ratón afecto de déficit de gen *ob/ob* y consecuentemente de Leptina¹⁰³. El gen *ob* humano está situado en el cromosoma 7q31 y se expresa en las células del tejido adiposo, placenta, feto, glándula mamaria y ovario^{104 105 106 107}. La Leptina incluye 167 aminoácidos y su análisis estructural es similar al de las citoquinas. La Leptina se clasifica como citoquina tipo-1¹⁰⁸.

1.3.2 REGULACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE LEPTINA

Existe una fuerte relación entre los niveles séricos de Leptina y el peso corporal (expresado en índice de masa corporal ó % de grasa corporal). Las personas obesas muestran niveles superiores de Leptina^{109 110}.

Los niveles de Leptina reflejan el nivel de reserva grasa, al mismo tiempo que regulan el balance energético existente. En estados de ayuno disminuyen los niveles de Leptina, mientras que una mayor ingesta los aumenta¹¹¹. La producción de Leptina es mayor en la grasa subcutánea que en los depósitos grasos viscerales.

Las mujeres tienen mayores niveles de Leptina que los hombres, debido a su distribución de grasa corporal, y al efecto inductor de los estrógenos-progesterona combinado con el efecto supresor de los andrógenos sobre la Leptina¹¹².

La composición de la dieta y diferentes factores hormonales también regulan los niveles séricos de Leptina. Niveles superiores de insulina provocan aumentos en la concentración de Leptina^{113 114}. El isoproterenol y receptores agonistas beta3-adrenérgicos reducen la expresión de Leptina circulante¹⁰². Fumar tabaco, junto su estado hiperadrenérgico, se asocia con la disminución de Leptina^{115 116}, aunque estudios recientes asocian niveles superiores de Leptina con un bajo peso en fumadores crónicos^{117 118}. Otros estudios en cambio, no encuentran asociación entre factores determinantes de diferentes estilos de vida (presión arterial, ingesta de glucosa, insulina, colesterol, historia reproductiva, actividad física, alcohol, tabaco) y los niveles de Leptina tras ajustar los individuos según su grado de adiposidad y edad^{119 120}. Los glucocorticoides aumentan la producción de Leptina in vitro y en humanos^{121 122}. Diferentes citoquinas, factor necrótico tumoral alfa, interleuquina-1, e interleukina-6, también influyen en los niveles plasmáticos de Leptina¹⁰². Queda todavía por conocer qué factores influyen en las variaciones circadianas y pulsatilidad de la Leptina, que se han relacionado con las variaciones de estrógenos y LH¹²³.

1.3.3 MECANISMOS DE ACCIÓN Y ELIMINACIÓN

La Leptina actúa a través de múltiples isoformas de receptor, los cuales se encuentran en diferentes áreas cerebrales^{124 125}. Dichos receptores pertenecen a la familia de las citoquinas-I. Tras su receptor, la Leptina activa funciones transductoras y de transcripción, y modula la expresión de diferentes neuropéptidos hipotalámicos. El neuropéptido mejor estudiado es el neuropéptido Y del núcleo arcuato, el cual influye en el eje hipotálamo-pituitario-gonadal y, a través del núcleo paraventricular, en el eje tiroideo y adrenal^{126 127 128}. La Leptina atraviesa la membrana hemato-encefálica y actúa a nivel del hipotálamo (lugar crítico de la saciedad). Funcionalmente, destaca su papel regulador en el peso corporal y gasto energético, limitando la ingesta de alimentos y aumentando el gasto calórico¹²⁹.

Existe evidencia del efecto directo de Leptina sobre tejidos periféricos, ya que isoformas de receptor de Leptina se expresan en estos tejidos (pulmón, hígado, páncreas, etc.)^{130 131}. Su transporte saturable en suero, junto a su proteína transportadora, permite a la Leptina ejercer un amplio campo de funciones diferentes a un mero factor de saciedad circulante. Los receptores existentes en el hígado se encargan de metabolizar la Leptina, y su vía de eliminación corporal es renal.

1.3.4 PAPEL DE LEPTINA EN FISIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA HUMANA

1.3.4.1 Leptina en el embarazo, feto y neonato

Es evidente el papel de la Leptina como factor implicado en el crecimiento y desarrollo fetal. Se ha demostrado la expresión del *ob* gen, la producción de Leptina y la presencia de su receptor en la placenta, sugiriendo un importante papel en la señal materno-fetal^{132 133 134}. La placenta no es la única fuente de Leptina durante el embarazo, pues diferentes estudios demuestran la síntesis de esta proteína en diferentes órganos fetales, y no en adultos, lo que atribuye a la Leptina un papel en el crecimiento en el feto¹⁰¹.

Los trabajos realizados, hasta el momento, en la gestación, estudian la Leptina en suero materno y en sangre de cordón umbilical.

Las mujeres gestantes tienen mayores niveles séricos de Leptina respecto a las no gestantes. La Leptina en sangre materna aumenta a medida que avanza la edad gestacional, y se relaciona con el índice de masa corporal de la madre, pero no se correlaciona con el peso fetal^{135 136 137}.

La Leptina, en sangre de cordón, muestra una correlación directa con el peso fetal, su índice de masa corporal y su peso neonatal posterior (casos de RCIU tienen menores niveles de Leptina, mientras los macrosomas tienen niveles más elevados para su edad gestacional). Los niveles, en sangre de cordón, se elevan con el curso gestacional. Existen diferencias respecto al sexo fetal, siendo mayores los niveles de Leptina en hembras que en varones. Las diferencias entre la arteria y la vena de cordón umbilical son contradictorias^{138 139 140 141 142 143 144 145 146 147}.

Se ha confirmado la presencia de Leptina en líquido amniótico, planteando una posible correlación entre estos valores y los de sangre de cordón umbilical. Hasta el momento, no se conoce exactamente el comportamiento de la Leptina en líquido amniótico, pues todos los estudios se centran en etapas tardías del embarazo^{148 149 150}.

La Leptina se excreta por leche materna y junto a la sintetizada por el niño juega un papel en la regulación de su ingesta y crecimiento postnatal¹⁵¹.

La Leptina promueve la hematopoyesis y linfopoyesis del recién nacido¹⁵².

Los niveles de Leptina en casos de patología obstétrica son motivo de estudio actual.

En el **RCIU** la afectación de los niveles de sangre de cordón es significativa en casos de hipoxia o sufrimiento fetal^{153 137}.

En la **diabetes gestacional**, los niveles maternos de Leptina no muestran variaciones a igual porcentaje de grasa corporal; excepto los casos que precisan insulina, que sí presentan un mayor un mayor nivel de Leptina en sangre de cordón^{154 155 156}.

En los **EHE** los resultados en sangre materna, sangre de cordón y líquido amniótico son contradictorios^{157 158 159 160}.

El papel de la Leptina durante el embarazo y como factor regulador del crecimiento fetal queda por determinar, ante múltiples dudas, y tras conocer que los estudios realizados en animales no son extrapolables en humanos¹⁶¹.

1.3.4.2 Leptina en la infancia y pubertad

La Leptina regula, a nivel cerebral, los depósitos energéticos necesarios para asegurar un buen desarrollo puberal, mantener los ciclos menstruales femeninos y permitir una correcta función reproductiva. Personas con mutaciones, que inhabilitan los receptores de Leptina, presentan obesidad mórbida, persistencia del estado pre-puberal, y situaciones de hipogonadismo-hipogonadotrófico¹⁶².

1.3.4.3 Resistencia a la Leptina y obesidad humana

La administración de Leptina en ratones con déficit de esta proteína, por mutación del *ob* gen, ha abierto expectativas en el tratamiento de la obesidad humana secundaria a estados deficientes de Leptina¹⁶³. No obstante, estas personas con defectos en la producción de Leptina representan una minoría, y la mayoría de los casos de obesidad se atribuyen a niveles aumentados de Leptina secundarios a estados de resistencia a dicha proteína¹⁶⁴.

Las causas responsables de estados de resistencia a la Leptina y obesidad se clasifican en defectos a nivel del receptor/post-receptor de Leptina, señales periféricas como glucocorticoides, y resistencia en el paso de la barrera hemato-encefálica. En cambio, anomalías en las proteínas de transporte, o defectos en su catabolismo, no parecen ser las responsables de la obesidad; ya que la vida media de la actividad biológica de la Leptina circulante es la misma en personas delgadas y obesas^{101 108}.

1.3.4.4 Respuesta metabólica y neuroendocrina de la Leptina en la privación de alimentos

A la Leptina se le atribuye un papel anti-obesidad, aunque también interviene en mecanismos de adaptación energética en situaciones limitadas de ingesta. Niveles elevados de Leptina informan que los depósitos energéticos son suficientes, mientras que los niveles menores informan de depósitos energéticos limitados. La Leptina mantiene los niveles energéticos, inhibiendo la función termogénica de la hormona tiroidea, movilizando otras reservas de energía favoreciendo la secreción glucocorticoidea e inhibiendo la función gonadal. Esta proteína evita la demanda energética del embarazo y la lactancia.

1.3.4.5 Leptina y otras patologías

La implicación de la Leptina en la patogénesis de la hipertensión, en humanos, queda por demostrar ante la presencia de resultados contradictorios¹⁶⁵.

La diabetes mellitus Tipo 2 no presenta cambios séricos de Leptina al igual índice de masa corporal¹⁶⁶.

En mujeres con síndrome de ovario poliquístico, los niveles de Leptina no difieren de las mujeres normales, a pesar de que algún estudio si demuestra niveles superiores¹⁰².

Los niveles séricos de Leptina en pacientes con anorexia nerviosa, bulimia, y depresión son similares a las personas sin enfermedad con comparable índice de masa corporal.

Atletas de alto rendimiento, en estado amenorreico, se asocian con bajos niveles de Leptina, identificando el contenido graso existente e inhibiendo, a través de esta proteína, la ovulación si ciertas reservas energéticas no están presentes¹⁶⁷.

Los niveles de Leptina están elevados en pacientes con enfermedad renal terminal, lo que se asocia con estados de caquexia en dicha situación¹⁶⁸.

El hipertiroidismo no altera los niveles séricos de Leptina. En cambio, el hipotiroidismo si muestra niveles menores de Leptina, aunque su significado es desconocido.

1.3.5 PRESPECTIVAS FUTURAS DE LA LEPTINA

En un corto periodo de tiempo, desde su descubrimiento, los hallazgos existentes respecto la Leptina han cambiado considerablemente. Su papel simplemente lipostático a pasado a ser un amplio complejo endocrino todavía por conocer. Dicha complejidad incluye sus diferentes lugares de producción, la gran variedad de receptores y órganos diana, el número de sistemas neuroendocrinos con los que interacciona, y las diversas funciones fisiológicas en las que está implicada. Esta complejidad, concretamente en términos de funcionalidad, significa que el sistema de la Leptina es algo mucho más que un simple paso al desarrollo de nuevos agentes terapéuticos en el tratamiento de la obesidad.

1.4 Alfa-Fetoproteína

La Alfa-fetoproteína (AFP) es una glucoproteína clasificada dentro de la familia genética albuminoide (albúmina, AFP, proteína transportadora de la proteína D, y alfa-albúmina). La AFP está sintetizada, predominantemente, por el hígado fetal normal, aunque también es producida por el saco vitelino y el intestino. La principal fuente de AFP en líquido amniótico es la orina fetal. Las células hepáticas adultas sólo producen AFP en muy bajas concentraciones. La AFP tiene un peso molecular de 70.000, y aunque poco se conoce sobre su diversidad de funciones, es la proteína sérica más importante del embrión y de la primera etapa de la vida fetal. Se han descrito múltiples variantes moleculares de AFP, al igual que diferentes proteínas transportadoras y receptores moduladores de su biodisponibilidad.

1.4.1 NIVELES DE AFP EN LA GESTACIÓN

En condiciones normales, la AFP alcanza su mayor nivel, en suero fetal, hacia las 13-16 semanas de embarazo, pero la producción de AFP por el hígado fetal continúa

aumentando hasta la semana 20, momento a partir del cual, se mantiene constante hasta la semana 32.

En suero materno los niveles de AFP ascienden hasta la semana 32 gracias al intercambio existente en las membranas y transporte placentario.

En 1990, Thomas¹⁶⁹ caracteriza a la placenta como *AFP bridge*, siendo ésta la responsable de la circulación de AFP entre el compartimento fetal y materno. La concentración de AFP en suero materno se debe, en un 94%, al paso de la circulación fetal mediante difusión a través de la superficie placentaria, y en muy pequeño porcentaje al movimiento de la AFP del líquido amniótico. La concentración en suero fetal es unas 150 veces mayor que en líquido amniótico. Algunas proteínas cruzan las membranas fetales para pasar a la circulación materna, pero los niveles de AFP en suero materno son aproximadamente una milésima parte de los del suero fetal.

1.4.2 LA AFP EN CASOS DE PATOLOGÍA OBSTÉTRICA

La detección de AFP en el suero materno constituye la base de las pruebas de diagnóstico precoz, tanto para defectos del tubo neural (concentraciones elevadas) como del síndrome de Down (concentraciones bajas).

Los niveles de AFP en líquido amniótico y/o suero materno se elevan en circunstancias donde el tegumento fetal no está intacto y hay fuga de proteínas de los capilares al líquido. Los niveles de AFP también aumentan cuando la secreción renal es mayor, y siempre que la placenta aumente el número de vasos fetales de pared delgada¹⁷⁰.

Los ácidos grasos poli-insaturados (araquidónico y docosahexaenoico) son esenciales para un desarrollo fetal correcto, y la AFP es la proteína transportadora de estos ácidos grasos en circulación fetal y materna durante el embarazo, encontrado en el espacio intervelloso la mayor concentración de dicho ligando. Varios factores de origen trofoblástico (endotelinas, eicosanoides, hormonas esteroideas) o de origen nutricional (ácidos grasos polinsaturados) forman parte de un complejo paracrino/autocrino implicado en el correcto desarrollo de la unidad feto-placentaria. Alteraciones en el

equilibrio de este complejo endocrino pueden derivar patología placentaria y patología obstétrica secundaria.

La AFP es un modulador/modificador de varios factores de crecimiento durante la etapa embriogénica y fetal¹⁷¹. Diferentes dominios de la AFP son similares a los receptores nucleares esteroideos y tiroideos, y estos receptores están relacionados con el DNA-*Hormone Response Elements* (HRE) implicado en el crecimiento, desarrollo, reproducción y homeostasis¹⁷². Estudios experimentales en líquido amniótico demuestran la presencia de diferentes formas heterofuncionales de AFP: inhibidoras del crecimiento, estimuladoras del crecimiento, y no influyentes en el crecimiento fetal¹⁷³.

La presencia de niveles elevados de AFP en la interfase materno-fetal han hecho hipotetizar la existencia de un gen a este nivel para la AFP, el cual, al igual que la proendotelina-1, esta controlado por estados hipóxicos¹⁷⁴. La expresión del gen de la AFP está en discusión y/o estudio, ya que el RNA mensajero de AFP se encuentra en diferentes tejidos en etapas distintas de desarrollo. En corangiomas placentarios, encontramos niveles elevados de AFP en suero materno¹⁷⁵. Otro tipo de alteraciones placentarias puede producir un aumento de las áreas de transporte o una alteración de la barrera endotelial, favoreciendo el paso de AFP en los diferentes compartimentos.

Es importante mencionar que un número cada vez mayor de trastornos, a parte de los defectos del tubo neural, se asocian con la elevación de los niveles de AFP en suero materno: desprendimiento prematuro de placenta, EHE, RCIU, partos prematuros, y aumento de mortalidad perinatal¹⁷⁶. En líquido amniótico, no existen estudios concluyentes, y no se conoce la biología de estos valores elevados, ni los protocolos más apropiados para su tratamiento^{177 178 179}.

1.4.3 AFP Y OTRAS PATOLOGÍAS

Actualmente, la AFP es motivo de investigación en el campo oncológico, pues niveles elevados de AFP en gestantes menores de 27 años parece implicar una cierta protección frente el cáncer de mama en la postmenopausia. La AFP ejerce un papel anti-oncogénico en crecimientos tumorales estrógeno-dependientes. Un péptido de la AFP

denominado Péptido Regulador del Crecimiento (GRP), está relacionado en múltiples publicaciones con la regulación del crecimiento celular y tumoral^{180 181}.

La AFP está también relacionada con la regulación del crecimiento ovárico, placentario, uterino, hepático, fagocítico, en la médula ósea y células linfáticas.

1.5 Planteamiento del estudio

Son múltiples los estudios que intentan demostrar marcadores bioquímicos relacionados con el estado nutricional fetal, capaces de discernir de forma precoz aquellos fetos que presentarán en un futuro una situación patológica.

Es conocido el comportamiento de la IGF-I, la IGFBP-I, y la Leptina en el RCIU, en el tercer trimestre gestacional y en el momento del nacimiento fetal. Se confirma, en diferentes estudios, la capacidad predictiva de dichos marcadores en líquido amniótico y sangre de cordón umbilical, una vez ya establecida la patología.

El disponer de la amniocentesis como técnica de diagnóstico prenatal, de aceptación médica y poblacional, permite estudiar el diagnóstico precoz y la fisiopatología de patologías inciertas como el RCIU.

El obtener una serie correcta de RCIU, en una población ya predeterminada por la práctica de una amniocentesis de diagnóstico prenatal, implica una mayor dificultad en concluir resultados y la necesidad de un largo periodo de seguimiento gestacional. Por dicho motivo, este estudio requiere de una amplia población inicial, que posteriormente se perfila cumpliendo exactos criterios de selección para obtener una mayor potencia estadística en el análisis plurifactorial.

Se estudia el comportamiento de la IGF-I, la IGFBP-I, la Leptina y la AFP en líquido amniótico de diagnóstico prenatal. Se analizan los valores de estos marcadores respecto el déficit ponderal compensado (medido como Múltiplos de la Desviación de la Media para cada edad gestacional, MDM).

En el análisis de la IGF-I y la IGFBP-I se hace referencia a un estudio previo realizado en el mismo centro hospitalario. En 1998, Ponce⁹³ estudió ambos factores en líquido amniótico de tercer trimestre, en líquido amniótico en el momento del parto, y en sangre de cordón umbilical. En la discusión se realiza una comparación y ampliación de estos resultados.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE TRABAJO

2 Hipótesis y objetivos de trabajo

2.1 *Hipótesis de trabajo*

Estudios previos realizados en nuestro ámbito poblacional han demostrado una aceptable asociación de ciertos marcadores bioquímicos en líquido amniótico de tercer trimestre y la severidad del RCIU. El trabajo actual estudia la validación y ampliación de resultados conocidos, en etapas más tempranas del embarazo (segundo trimestre gestacional), para determinar el valor diagnóstico y pronóstico de los marcadores bioquímicos respecto a la aparición del RCIU.

La hipótesis de nuestro trabajo es que la determinación de los marcadores bioquímicos IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP en líquido amniótico de diagnóstico prenatal en etapas más tempranas del embarazo (segundo trimestre gestacional), puede mejorar el rendimiento diagnóstico y terapéutico del RCIU.

2.2 *Objetivos*

Los objetivos que se plantean son los siguientes:

1. Determinar la relación existente de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP con el decalaje ponderal al nacer (medido en Múltiplos de la Desviación de la Media para cada edad gestacional, MDM), en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo (muestras de diagnóstico prenatal: LA-dp).
2. Conocer la correlación intrínseca existente entre los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, como factores implicados en el crecimiento fetal.

3. Calcular i ponderar la capacidad diagnóstica de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, en líquido amniótico del segundo trimestre (LA-dp), respecto a la severidad del RCIU al nacer.

MATERIAL Y METODOLOGÍA

3 MATERIAL Y METODOLOGÍA

3.1 *Diseño*

Este estudio de investigación se plantea como continuación y ampliación de un estudio previo realizado en el mismo ámbito poblacional: FIS: 95/1365, motivo de la Tesis Doctoral "*Avaluació dels nivells en líquid amniòtic de IGF-I i IGFBP-I en fetus afectats per retard de creixement intrauterí*", realizada por el Dr. Jordi Ponce i Sebastià⁹³.

Es un trabajo derivado del proyecto de investigación: Valoración del nivel amniótico de IGF-I y IGFBP-I a las 14-18 semanas de gestación, como marcador precoz de retraso de crecimiento intrauterino, Dr. Laïlla, FIS: 99/0611; y de la Beca Fin de Residencia del *Hospital Universitari Sant Joan de Déu, 1998/1999: "Avaluació dels nivells de leptina en líquid amniòtic a les 16 setmanes de gestació, com a marcador precoç de retard de creixement intrauterí"*, M.D. Gómez Roig.

Se trata de un estudio longitudinal y prospectivo.

Los CONTROLES se recogen por orden cronológico y sucesivo de aparición al conocer el peso fetal al nacer. Al disponer de una amplia población de estudio, se analizan de manera aleatoria un número limitado de gestantes.

En los CASOS RCIU realizamos un reclutamiento aleatorio y sucesivo en el mismo periodo temporal. Ante la dificultad de obtener suficiente número de casos se incluyen en dicho grupo todos los RCIU existentes en la población de estudio.

3.2 *Ámbito de estudio*

La población de estudio se centra en gestantes controladas en el Hospital Universitario *Sant Joan de Déu de Barcelona* (Universidad de Barcelona). Este hospital incluye como área de referencia un Sector de la *Regió Sanitaria de la Costa de Ponent de l'Àrea Metropolitana de Barcelona*, con una cobertura de 350.000 habitantes. Se estima una cifra de 3.000 partos anuales en el periodo temporal de estudio. El tiempo de recogida de las muestras abarca 31 meses, desde Marzo de 1999 hasta Septiembre de 2001.

3.3 *Sujetos*

La población de estudio se basa en gestantes sometidas a amniocentesis de diagnóstico prenatal, por supuestos médico-legales actualmente reconocidos, entre las 14 y 18 semanas de embarazo.

La definición de las diferentes categorías poblacionales se basa en:

- **CONTROLES:** Gestantes escogidas aleatoriamente, y tienen un recién nacido con peso normal en el momento del parto según las curvas poblacionales de referencia.
- **CASOS RCIU:** Gestantes, que por orden cronológico y consecutivo, tienen un recién nacido con peso inferior al décimo percentil según las curvas poblacionales de referencia.

Inicialmente, se disponen de 1.045 amniocentesis, en las que se recoge la muestra de líquido amniótico para el análisis posterior de los marcadores bioquímicos. De estas 1.045 amniocentesis, sólo se pueden incluir en la valoración final de resultados 454 (43,4%) amniocentesis. Esta importante reducción de la población de estudio se debe a:

- 533 (51%) gestantes estudiadas en el diagnóstico prenatal finalizan su gestación en otro centro hospitalario.

- 58 (5,6%) de las amniocentesis se realizaron en un tiempo muestral diferente al definido inicialmente (14-18 semanas).

Entre las 454 gestantes, se seleccionan de manera aleatoria un número limitado de CONTROLES. Tras dicha selección se dispone de 214 gestantes, es decir un 47,1% de la muestra.

La población de estudio se vuelve a reducir tras la aplicación final de los criterios de exclusión.

En el momento del parto se estudia el peso neonatal definitivo y se cuantifica los Múltiplos de la Desviación de la Mediaⁱ (MDM)⁵ para realizar una clasificación poblacional ilustrativa en: CONTROL, RCIU LEVE < 10 percentil (<10 PER), y RCIU SEVERO <5 percentil (< 5 PER).

La población final en la que se basa el estudio incluye un total de 121 gestantes y toda una serie de patrones de crecimiento cuantificados en la variable continua MDM.

Tabla 1. Población de estudio.

GRUPOS POBLACIONALES		Nº SUJETOS (N = 121)	MDM (Múltiplos de la Desviación de la Media)	TABULACIÓN DEL PESO AL NACER
CONTROLES		86	> -1,22	90 - 10 percentil
CASOS	RCIU < 10 PER	18	-1,23 a - 1,60	9 - 5 percentil
	RCIU < 5 PER	17	< -1,61	< 5 percentil

Fuente y elaboración: propias.

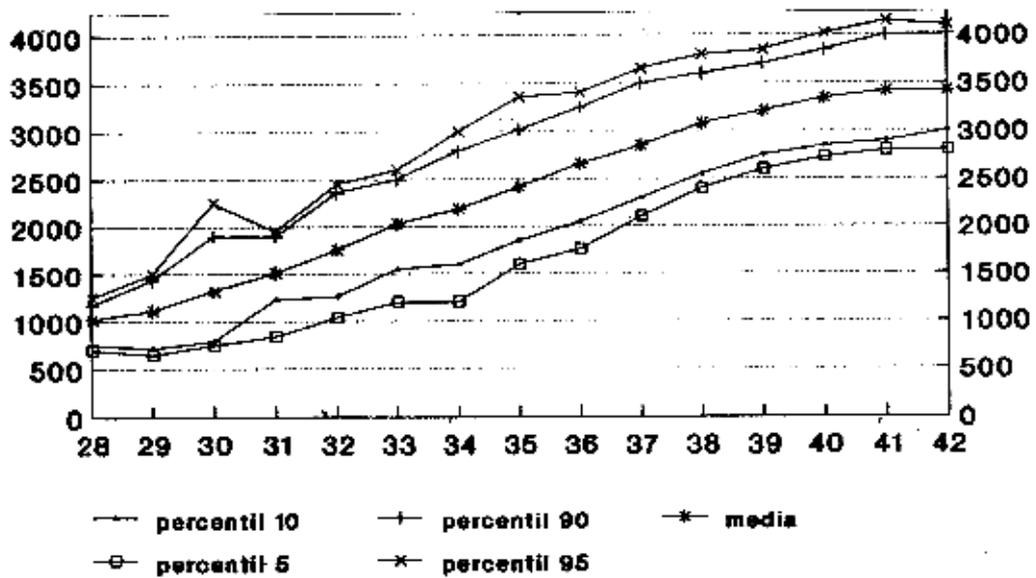
La transformación del parámetro peso-edad gestacional en MDM se realiza para aumentar la potencia estadística del estudio, convirtiendo una variable discreta (los 3 grupos poblacionales) en una variable continua. La MDM valora la diferencia existente

ⁱ Múltiplos de la Desviación de la Media:

$$\text{MDM} = (\text{peso neonato} - \text{peso medio para su edad gestacional}) / \text{desviación estándar}$$

del peso neonatal en gramos respecto la media poblacional, para dicha edad gestacional, teniendo en cuenta las diferencias existentes entre éstas. La variable continua cuantifica en MDM el déficit existente o la adecuación ponderal de cada neonato. Esta variable será la utilizada en el estudio estadístico respecto al resto de variables de interés.

Figura 1. Curva de pesos en el nacimiento para cada edad gestacional. Distribución percentilar.



Fuente y elaboración: González Bosquet E, Cerqueira MJ, Pérez Quintana M, Cuerda M, Cabero LI⁵.

Figura 2. Pesos neonatales para cada edad gestacional. Población del Hospital Materno Infantil del Valle Hebrón de Barcelona.

Semanas	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
Nº	17	25	35	23	41	58	116	115	174	438	871	1690	1724	1004	291
X	1024	1114	1322	1512	1755	2024	2186	2417	2661	2855	3083	3216	3344	3418	3485
DE	475	340	416	321	367	441	488	483	478	452	424	394	403	426	429
-ZDE	74	434	490	870	1021	1142	1210	1451	1705	1951	2235	2428	2538	2566	2627
-JDE	549	774	906	1191	1383	1583	1698	1934	2183	2403	2659	2822	2941	2992	3056
+JDE	1499	1454	1738	1833	2122	2465	2674	2900	3139	3307	3507	3610	3747	3844	3914
+2DE	1974	1794	2154	2154	2439	2906	3162	3383	3617	3759	3931	4004	4150	4270	4343
P2,5	550	600	640	670	900	1170	1100	1360	1600	2000	2250	2450	2600	2600	2650
P5	700	650	750	840	1040	1200	1200	1600	1760	2100	2400	2600	2730	2800	2800
P10	750	720	790	1230	1260	1550	1600	1850	2050	2300	2550	2750	2850	2900	3000
P25	1000	950	1010	1340	1500	1800	1900	2100	2450	2600	2800	2950	3080	3150	3200
P75	1100	1400	1460	1670	1970	2200	2450	2650	2950	3100	3350	3470	3600	3700	3750
P90	1170	1440	1900	1900	2360	2500	2800	3020	3250	3500	3600	3700	3850	4000	4000
P95	1250	1500	2250	1950	2450	2600	3000	3360	3400	3650	3800	3850	4020	4150	4100
P97,5	1290	1950	2350	2000	2570	2780	3380	3400	3630	3750	3950	4020	4200	4340	4450

Nº = número; X = media; DE = Desviación estándar; P = percentil.

Fuente y elaboración: González Bosquet E, Cerqueira MJ, Pérez Quintana M, Cuerda M, Cabero LI⁵.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Subgrupo CONTROL: Peso fetal al nacer igual o superior al décimo percentil pero inferior al noventa percentil, para cada una de las edades gestacionales, según las curvas de referencia de nuestra Área Metropolitana.
2. Subgrupo CASO RCIU LEVE < 10 PER: Peso fetal al nacer igual o superior al quinto percentil, pero inferior al décimo percentil.
3. Subgrupo CASO RCIU SEVERO < 5 PER: Peso fetal al nacer inferior al quinto percentil.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1. Negación de la paciente a participar en el estudio.
2. Ingesta de fármacos que puedan interferir en el crecimiento fetal o niveles de los marcadores bioquímicos estudiados (betamiméticos, corticoides, etc.).

3. Alteraciones genéticas del potencial del crecimiento (embriopatías, infecciosas, yatrogénicas, cromosomopatías).
4. Intercurrencia de la patología diabética y la gestación.
5. Gestación múltiple.
6. Imposibilidad del control gestacional o el parto en nuestro centro hospitalario.

El grupo RCIU que se propone en este estudio es aquel que dentro de la clasificación etiológica de dicha patología, se identifica como un fallo en el mecanismo regulador del crecimiento fetal.

Las gestantes excluidas, en nuestra población de estudio, se deben a:

1. Ingesta de fármacos que pueden interferir en el crecimiento fetal o en los niveles de los marcadores bioquímicos:
 - Tratamiento tocolítico y/o corticoides por amenaza de parto prematuro: 34 gestantes.
 - Diabetes gestacional controlada con dieta y/o insulínica: 24 gestantes.
 - Estado hipertensivo del embarazo y/o hipertensión crónica materna con tratamiento farmacológico: 18 gestantes.
 - Patología materna en tratamiento médico: 11 gestantes.
 - Rotura prematura de membrana con tratamiento antibiótico y/o tocolítico: 5 gestantes.
 - Síndrome antifosfolípido en tratamiento con ácido acetilsalicílico: 1 gestante.
2. Gestaciones gemelares: 9 gestantes.
3. Isoinmunización: 2 gestantes.

4. Varicela en primer trimestre: 1 gestante.
5. Anencefalia fetal: 1 gestante.

La validez y homogeneidad de la muestra estudiada se corrobora con la ausencia de diferencias significativas en la edad materna y el sexo fetal de la población de estudio.

El control gestacional de las gestantes en el mismo centro hospitalario y la aplicación de protocolos obstétricos de actuación contribuyen en la validez del estudio.

3.4 Definición de las variables

Las variables objeto de estudio son:

1. Peso neonatal cuantificado en Múltiplos de la Desviación de la Media (MDM)⁵:
$$\text{MDM} = (\text{peso neonato} - \text{peso medio para su edad gestacional}) / \text{desviación estándar.}$$
2. Marcadores bioquímicos:
 - IGF-I (ng/ml).
 - IGFBP-I (ng/ml).
 - Leptina (ng/ml).
 - AFP (ng/ml).

Para obtener una muestra homogénea y excluida de factores de confusión, se estudian variables determinantes como:

- Edad materna, antecedente de RCIU, diabetes, hipertensión arterial, anemia, tabaco, fármacos, tipo de parto, sexo fetal, semanas de gestación en los diferentes tiempos muestrales, y marcadores de bienestar neonatal: PH de arteria umbilical (PHAU), PH de vena umbilical (PHVU), Apgar en el 1º minuto de vida (APGAR 1), Apgar en el 5º minuto de vida (APGAR 5).

3.5 *Instrumentalización y material técnico utilizado*

IGF-I:

- Definición: Extracción de la muestra con alcohol-ácido para eliminar las interferencias de las proteínas de transporte con posterior determinación de IGF-I por radioinmunoanálisis (RIA) según el método comercial de Nichols Institute.
- Material tecnológico: Contador de Radiaciones Gamma. CLINIGAMMA LKB-WALLAC 1272.
- Variable: Continua (ng/ml).

IGFBP-I:

- Definición: Determinación directa de la muestra previa dilución, por análisis inmunoradiométrico (IRMA) según el método comercial de Diagnostic Systems Laboratories, Inc.
- Material tecnológico: Contador de Radiaciones Gamma. CLINIGAMMA LKB-WALLAC 1272.
- Variable: Continua (ng/ml).

LEPTINA:

- Definición: Determinación directa por análisis inmunoradiométrico (IRMA) según el método comercial de Diagnostic Systems Laboratories, Inc.
- Material tecnológico: Contador de Radiaciones Gamma. CLINIGAMMA LKB-WALLAC 1272.
- Variable: Continua (ng/ml).

AFP:

- Definición: Determinación directa automatizada por análisis inmunoenzimático (MEIA).
- Material tecnológico: Axsym.
- Variable: Continua (ng/ml).

3.6 Personal investigador

La primera recogida muestral, coincidente con la obtención de líquido amniótico para diagnóstico prenatal, se centraliza en los responsables de dicha técnica en el Hospital Universitario *Sant Joan de Déu de Barcelona* (M. Borràs, E. Miró).

El seguimiento y la aplicación del protocolo de actuación obstétrico es supervisado, en todo momento, por el investigador principal (M.D. Gómez Roig).

El análisis de las muestras se realiza por el personal técnico de laboratorio, bajo la supervisión directa de C. Valls, Médico Adjunto de Bioquímica, del departamento de Hormonas del Laboratorio del Hospital Universitario *Sant Joan de Déu de Barcelona*.

3.7 Recogida de datos. Tiempos muestrales

Se define un tiempo muestral:

- En las semanas 14 -18 de embarazo, en las que se practica una amniocentesis de diagnóstico prenatal, transabdominal ecoguiada por aguja fina. Se amplía la recogida de esta muestra en 1 ml. Dicha cantidad se utiliza para el estudio de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, y Leptina.

Con el fin de minimizar los costes del estudio, se congelan todas las muestras recogidas de líquido amniótico. Tras conocer el peso fetal en el momento del parto y poder

realizar la categorización poblacional definitiva, se inicia el análisis bioquímico selectivo de los casos incluidos en el estudio.

3.8 Amniocentesis de diagnóstico prenatal

La técnica de amniocentesis genética o de diagnóstico prenatal se basa en la obtención de líquido amniótico, antes de la semana 20 de gestación, para el posible estudio del cariotipo, de biología molecular, substratos bioquímicos o enzimáticos y estudios microbiológicos.

Previa a la práctica de una amniocentesis se realiza, de manera sistemática, la comprobación de la viabilidad fetal, y la determinación de la edad gestacional mediante ecografía.

Las indicaciones de una amniocentesis de diagnóstico prenatal, en el Hospital Universitario *Sant Joan de Déu de Barcelona*, son:

1. Gestantes con cribado bioquímico patológico en suero materno.
2. Antecedente familiar de patología hereditaria.
3. Edad materna superior o igual a 38 años.
4. Situación extrema de ansiedad materna.

Las indicaciones, que seleccionan nuestra población de estudio, se distribuyen de la siguiente manera:

- 42 (34,7%) gestantes con cribado patológico en suero materno.
- 38 (31,4%) gestantes con ansiedad materna patológica.
- 22 (18,1%) gestantes con edad superior o igual a 38 años.
- 11 (9%) gestantes con el antecedente de patología fetal.

- 6 (4,9%) gestantes con antecedentes familiares de patología.
- 2 (1,6%) casos con sospecha ecográfica de patología (translucencia fetal mayor a 3 mm, en la semana 12 de embarazo).

Todos los resultados genéticos de la población de estudio son normales, pues se considera el resultado cromosómico patológico como criterio de exclusión. Se descarta, de esta manera, los posibles RCIU secundarios a causas genéticas.

En el total de las 121 amniocentesis seleccionadas no se producen complicaciones inmediatas o tardías secundarias a la técnica.

3.9 Protocolo de control y seguimiento

Todas las gestantes incluidas en el estudio siguen su control obstétrico en el mismo centro hospitalario. En todos los casos, se aplica el protocolo obstétrico asistencial existente en el Hospital Universitario *Sant Joan de Déu de Barcelona*, siendo éste concordante con los protocolos de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia y el Protocolo de Seguimiento del Embarazo en Cataluña, del Departamento de Sanidad y Seguridad Social de la Generalidad de Cataluña, como continuación del protocolo establecido en la Atención Primaria.

La periodicidad de las visitas sucesivas, tras la recogida del primer tiempo muestral, viene determinada por las necesidades individuales de cada gestación, teniendo en cuenta los factores de riesgo asociados. Un embarazo normal requiere controles mensuales hasta la semana 36, momento a partir del cual dicha periodicidad disminuye. Una gestante con problemas médicos u obstétricos necesita una vigilancia más estrecha, y el intervalo de las visitas viene determinado por la naturaleza y gravedad del problema. En las visitas obstétricas se contempla:

- Actualización de la historia clínica.
- Exploración física general y obstétrica adecuada a la edad gestacional.

- Control ecográfico según periodo gestacional: en una gestación normal se practican tres ecografías (8-12 semanas de gestación, 18-20 semanas, 34-36 semanas).
- Pruebas de laboratorio que correspondan a cada visita.
- La reevaluación del riesgo en cada visita.
- Registros cardiotocográficos siempre que se requiera información adicional sobre el bienestar fetal.

Ante la sospecha clínica de RCIU, mediante una altura uterina disminuida, se confirma el diagnóstico con ecografía que evidencia un decalaje de 2 semanas o más entre la biometría ecográfica y la esperada por la fecha de la última regla, junto un decalaje progresivo en la curva de crecimiento. Se descarta la posibilidad de un error en la edad gestacional.

Ante el diagnóstico de RCIU se comprueba:

1. Estado materno: Exploración general y control analítico completo.
2. Estado fetal: Controles de bienestar fetal (movimientos fetales, NST, perfil biofísico si precisa), ecografías semanales (biometrías, placenta, líquido amniótico), Doppler semanal de cordón umbilical y arteria cerebral media, y amniocentesis si procede el estudio de madurez pulmonar fetal.

Por debajo de las 34 semanas se acelera la madurez pulmonar fetal, en previsión de una necesaria extracción fetal.

Los criterios que se siguen para la finalización de la gestación se basan en:

1. Gestación a término: Se indica la finalización de la gestación a partir de las 37 semanas, pero ante la ausencia de sufrimiento fetal se espera a que las condiciones obstétricas sean favorables (Bishop > 5).
2. Ante un crecimiento nulo o negativo se valora el Doppler fetal:

- Doppler normal o patológico: Se repite la ecografía en 1 semana, y si no hay crecimiento fetal se induce el parto previa maduración si procede.
- Doppler adiestático o revertido: No se repite la ecografía y se induce el parto previa maduración si procede.
- Oligoamnios con escaso o nulo crecimiento fetal: Se valora la madurez pulmonar mediante amniocentesis en gestaciones menores a 34 semanas. Si la madurez es negativa se administran corticoides para realizar una inducción a las 48-72 horas.
- Sospecha de sufrimiento fetal: Se finaliza la gestación independientemente de las semanas de embarazo.

3.10 *Análisis estadístico*

Se realiza la definición, clasificación de las variables, y su transformación estadística para su posterior análisis. Introducimos los datos en una matriz numérica que nos permite realizar el estudio estadístico informatizado en el programa *Statistics Process Social Sciences*, en su versión SPSS-PC+, en un procesador tipo IBM-PC. En todos los análisis se excluye, de manera automática, aquellos sujetos con valor desconocido (*missing*).

Se realiza un primer estudio descriptivo para conocer frecuencias, medidas de tendencia central (medias...), y medidas de dispersión (varianza, desviación típica...).

Las variables del estudio se clasifican en:

- Variables discretas: Antecedente RCIU, tabaco, ingreso materno, tipo caso, tipo parto, APGAR 1 min, APGAR 5 min, PHAU, PHVU.
- Variables continuas: Peso fetal, MDM, IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP.

En los contrastes de hipótesis para la inferencia poblacional se postula una significación estadística de $\leq 0,05$. En todos los casos se indica el valor exacto del p-valor.

En el contraste de variables que no siguen una distribución normal se utilizan test no paramétricos (teniendo en cuenta que la potencia de los mismos es análoga a la de los estudios paramétricos equivalentes):

- Test de U de Mann-Whitney: 2 categorías.
- Test de Kruskal-Wallis: Más de dos categorías.

Considerando el carácter cuantitativo y continuo de las variables bioquímicas y el peso neonatal cuantificado en MDM, se estudia la relación existente entre éstas mediante un análisis de correlación univariable: Correlación Ordinal de Spearman.

Para la valoración de la capacidad diagnóstica de la prueba se establecen tablas de contingencia de dos por dos, con el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y capacidad global con sus correspondientes intervalos de confianza para el 95%.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Estudio descriptivo de la muestra

La población de estudio se clasifica, de manera ilustrativa, en 86 CONTROLES, 18 RCIU LEVE < 10 PER, y 17 RCIU SEVERO < 5 PER.

Tabla 2. Población de estudio.

GRUPOS POBLACIONALES	FRECUENCIA	PORCENTAJE	PORCENTAJE ACUMULADO
CONTROLES	86	71,1	71,1
RCIU < 10 PER	18	14,9	86,0
RCIU < 5 PER	17	14,0	100,0
TOTAL	121	100,0	-

Fuente y elaboración: propias.

Se trabaja una muestra randomizada y homogénea.

Los resultados del estudio descriptivo concluyen:

- A. La edad media materna es de 33 años.
- B. Existe un solo caso con antecedente de RCIU (0,8%).
- C. El estado hipertensivo del embarazo está presente de forma leve en 7 gestantes (5,8%), y de forma grave en 1 gestante (0,8%).
- D. 27 gestantes fuman más de 5 cigarrillos/día durante el embarazo: (22,3%).
- E. 9 gestantes (7,5%) requieren ingreso hospitalario: 6 de ellas por RCIU, y 3 por patología diferente al RCIU.

F. Se asiste a un parto vaginal en 99 gestantes (81,8%), y a una cesárea en 22 gestantes (18,2%).

G. El sexo fetal se distribuye en 58 varones (47,9%) y 63 hembras (52,1%).

H. Un caso presenta una puntuación de APGAR a los 5 minutos patológico (≤ 4) (0,8%) y 12 casos tienen un PHAU $< 7,20$ (9,9%).

La variable MDM no asimila la normalidad en el test de Kolmogorov-Smirnov, ni la homogeneidad al test de Cochran, por lo que se utilizan pruebas no paramétricas en el estudio estadístico.

A. Estudio de la homogeneidad de la población según la edad materna.

Tabla 3. Edad - Severidad del RCIU (MDM). Prueba de Kruskal-Wallis.

EDAD – MDM	
Chi-cuadrado	24,200
Gl	21
Sign. Asintót.	0,283

Fuente y elaboración: propias.

La edad media materna es de 33 años. La edad materna y la severidad del RCIU (MDM) no muestran diferencias significativas, contribuyendo en la homogeneidad de la muestra. El factor edad no influye en la incidencia de RCIU, y por tanto, no modifica los resultados finales. Existen estudios que si relacionan la edad con la incidencia del RCIU, es decir en gestantes excesivamente jóvenes, o en edad reproductiva avanzada (mayor de 35 años)^{182 183}.

Estudio de la homogeneidad en función de los antecedentes personales de descendencia previa con RCIU.

Tabla 4. Antecedente RCIU - Severidad del RCIU (MDM). Prueba de U de Mann-Whitney.

ANTEC. RCIU - MDM	
U de Mann-Whitney	39,000
Z	-0,601
Sign. Asintót.	0,548

Fuente y elaboración: propias.

Existe un solo caso en nuestra población con antecedente de RCIU (0,8%). El antecedente personal de tener un hijo previo con RCIU no muestra diferencias respecto la severidad de RCIU. Este resultado no es valorable ante la mínima prevalencia de este posible factor influyente. La literatura afirma el aumento de incidencia de dicha patología en gestaciones con antecedente previo de RCIU, aunque no está claro si esto es debido a factores hereditarios o a la persistencia del agente causal^{184 185}.

B. Homogeneidad en función del Estado Hipertensivo del Embarazo y el RCIU (p = 0,001).

Tabla 5. EHE - Severidad del RCIU (MDM). Prueba de Kruskal-Wallis.

EHE – MDM	
Chi-cuadrado	14,103
GI	2
Sign. Asintót.	0,001(*)

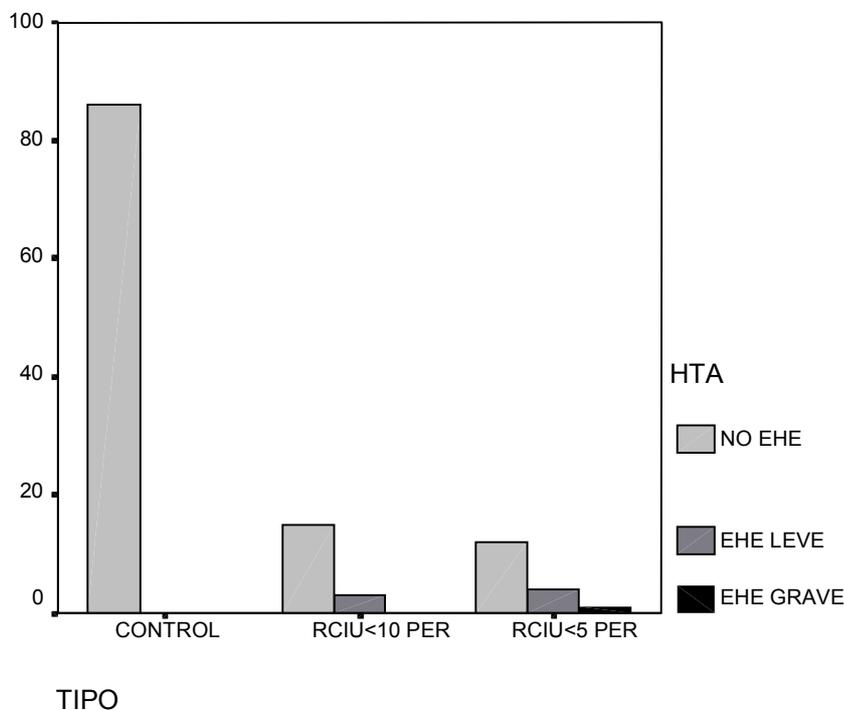
Fuente y elaboración: propias.

(*) Significación estadística (p≤0,05).

Se observa una relación significativa entre ambas variables.

El diagrama de barras de la Figura 3 muestra de manera ilustrativa la prevalencia de EHE en los diferentes subgrupos poblacionales.

Figura 3. Prevalencia del EHE en los diferentes subgrupos poblacionales.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

El estado hipertensivo del embarazo está presente de forma leve en 7 gestantes (5,8%), y de forma grave en 1 (0,8%). El Estado Hipertensivo del Embarazo se asocia más frecuentemente con el RCIU, de manera concordante con la literatura¹⁸⁶. Giudice¹⁸⁷ describe una elevación de IGFB-I en pre-eclampsia asociada a una patología restrictiva placentaria. Lewitt¹⁸⁸ y Wang¹⁸⁹ defienden la no-alteración de estos parámetros en estado hipertensivo y la única elevación de IGFBP-I, en suero materno y sangre de cordón, en casos asociados de RCIU. Respecto a la Leptina Kokot¹⁹⁰ atribuye variaciones en su concentración a cambios en el Índice de Peso Corporal, más que a la hipertensión en sí.

C. Homogeneidad en función del tabaquismo ($p = 0,04$).

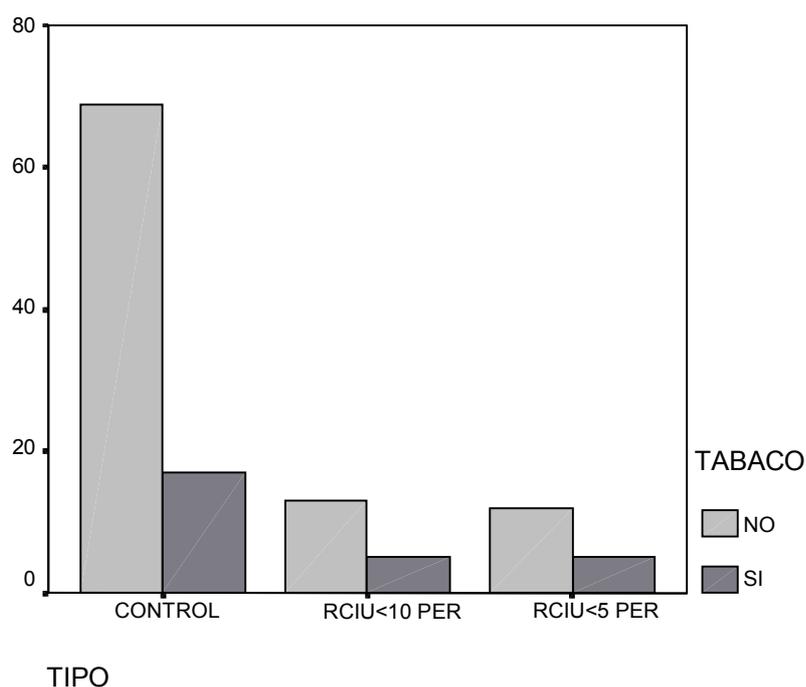
Tabla 6. Tabaco - Severidad del RCIU (MDM). Prueba de U de Mann-Whitney.

TABACO - MDM	
U de Mann-Whitney	942,000
Z	-2,036
Sign. Asintót.	0,042(*)

Fuente y elaboración: propias.

(*) Significación estadística ($p \leq 0,05$).

Figura 4. Prevalencia de las gestantes fumadoras en los diferentes subgrupos poblacionales.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

En el estudio, 27 gestantes fuman más de 5 cigarrillos/día durante el embarazo: (22,3%). Las gestantes fumadoras presentan mayor índice de RCIU. Son muchos los estudios que asocian al tabaco con una mayor incidencia de RCIU, incluso en el tabaquismo pasivo.

Dicha asociación es dosis dependiente^{191 192}. No hay publicaciones concluyentes sobre el tabaco y las IGF. Nicklas¹⁹³ demuestra el incremento de los niveles de Leptina en mujeres fumadoras, pero esto únicamente es demostrable en suero materno.

D. Homogeneidad en función del número de ingresos hospitalarios (p = 0,00).

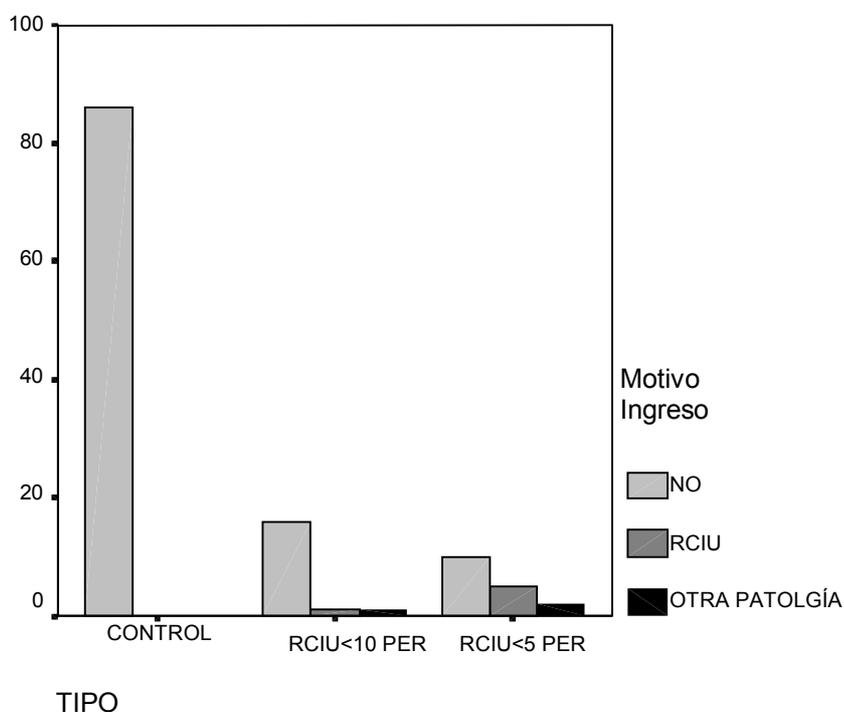
Tabla 7. Ingreso hospitalario - Severidad del RCIU (MDM). Prueba de Kruskal-Wallis.

INGRESO - MDM	
Chi-cuadrado	12,233
Gl	1
Sign. Asintót.	0,000(*)

Fuente y elaboración: propias.

(*) Significación estadística (p≤0,05).

Figura 5. Prevalencia de los ingresos en los diferentes subgrupos poblacionales.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

Requieren ingreso hospitalario 9 gestantes (7,5%): 6 de ellas por RCIU, y 3 por patología diferente al RCIU. Las gestantes con RCIU necesitan mayor ingreso hospitalario que las gestantes sin patología, hecho coincidente con la literatura. El motivo del ingreso en caso de RCIU se realiza para facilitar la monitorización materno-fetal y descartar la existencia de sufrimiento fetal. El único estudio randomizado realizado no demuestra un efecto beneficioso del reposo hospitalario en casos de RCIU¹⁹⁴.

E. Homogeneidad en función del tipo de parto.

Tabla 8. Tipo de parto - Severidad del RCIU (MDM). Prueba U de Mann-Whitney.

PARTO – MDM	
U de Mann-Whitney	987,000
Z	-0,685
Sign. Asintót.	0,492

Fuente y elaboración: propias.

Se asiste a un parto vaginal en 99 gestantes (81,8%), y a una cesárea en 22 gestantes (18,2%). No existen diferencias en la vía del parto en los subgrupos poblacionales. El aumento en la tasa de cesáreas en el RCIU es debido a un sufrimiento fetal, ante una insuficiencia placentaria precoz o tardía, que se agudizan en el momento del parto. Monleón¹⁹⁵ informa de una tasa de cesáreas en embarazos con RCIU del 32,2% en comparación con la tasa global del 16,6% en el Hospital la Fe de Valencia. Helland¹⁹⁶ demuestra un aumento en los niveles de IGFBP-I, en suero materno, en presencia de trabajo de parto. Estas variaciones son demostrables en sangre de cordón. No existen estudios sobre la Leptina y el trabajo de parto.

F. Homogeneidad en función del sexo fetal.

Tabla 9. Sexo fetal - Severidad del RCIU (MDM). Prueba U de Mann-Whitney.

SEXO – MDM	
U de Mann-Whitney	1699,500
Z	-0,662
Sign. Asintót.	0,508

Fuente y elaboración: propias.

El sexo fetal se distribuye en 58 varones (47,9%) y 63 hembras (52,1%). No existe influencia del sexo fetal en los subgrupos poblacionales. Varios estudios describen niveles mayores de Leptina, en sangre de cordón umbilical, en hembras respecto a los varones^{197 198}. Dichas diferencias no son publicadas para las IGF.

G. Homogeneidad en función de los parámetros de bienestar neonatal (Test de APGAR y PH de arteria umbilical).

Tabla 10. APGAR 5 min. ≤ 4 - Severidad del RCIU (MDM). Prueba U de Mann-Whitney.

APGAR 5 - MDM	
U de Mann-Whitney	15,000
Z	-1,288
Sign. Asintót.	0,198

Fuente y elaboración: propias.

Tabla 11. PHAU $< 7,20$ - Severidad del RCIU (MDM). Prueba U de Mann-Whitney.

PHAU - MDM	
U de Mann-Whitney	499,000
Z	-0,648
Sign. Asintót.	0,517

Fuente y elaboración: propias.

Entre los indicadores de calidad neonatal se considera la puntuación del test de Apgar, y el estudio ácido-base en sangre de cordón. Se establece un límite inferior de los niveles normales de PHAU $<7,20$ en casos de hipoxemia y $<7,00$ en casos de hipoxemia severa. La posibilidad de asociar tasa bajas de PHAU con puntuaciones bajas de Apgar es limitada. La realización del test de Apgar forma parte de la práctica perinatal desde hace muchos años. Una puntuación baja, menor de 4 al primer minuto, es útil para identificar a los recién nacidos con depresión importante, y el cambio de la puntuación a los 5 minutos es útil para verificar la eficacia de la reanimación y la asociación a posibles secuelas¹⁹⁹. El aumento de sufrimiento fetal en el trabajo de parto en fetos afectados de RCIU está demostrado. Un caso, en nuestra población de estudio, presenta un APGAR a los 5 minutos patológico (≤ 4) (0,8%) y 12 casos tienen un PHAU $< 7,20$ (9,9%). Los parámetros de bienestar neonatal (Test de APGAR y PHAU) no obtienen diferencias significativas respecto la severidad del RCIU.

La falta de casos de RCIU con signos de hipoxia es debido a una aplicación estricta del protocolo clínico dirigido, fundamentalmente, a evitar la aparición de consecuencia hipóxicas neonatales.

A continuación se exponen los resultados obtenidos a los objetivos planteados.

4.2 *Objetivo de trabajo 1*

Determinar la relación existente de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP con el decalaje ponderal al nacer (medido en Múltiplos de la Desviación de la Media para cada edad gestacional, MDM), en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo (muestras de diagnóstico prenatal: LA-dp).

4.2.1 *Demostrar la correlación existente de los niveles de IGF-I con el decalaje ponderal al nacer (MDM) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (LA-dp).*

✓ No se cumple la correlación.

Tabla 12. IGF-I del segundo trimestre (LA-dp) - Severidad del RCIU (MDM). Correlación de Spearman.

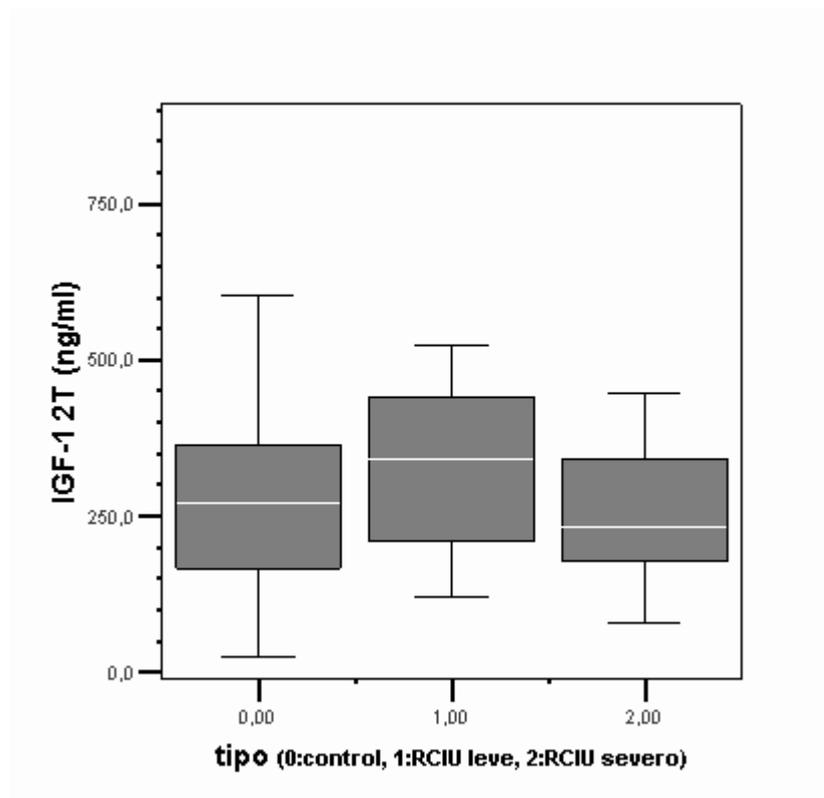
IGF-I (LA-dp) - MDM	
Coefficiente de correlación	-0,072
Sig. (bilateral)	0,448
N	115

Fuente y elaboración: propias.

No se obtiene significación estadística entre la IGF-I y la severidad del RCIU en líquido amniótico, en etapas tempranas del embarazo.

A modo descriptivo se representa el valor de la mediana de IGF-I para cada uno de los subgrupos poblacionales creados (CONTROL, RCIU LEVE<10 PER, RCIU SEVERO <5 PER).

Figura 6. Valor de la mediana de IGF-I del segundo trimestre en los diferentes subgrupos poblacionales.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

Tabla 13. Valor media / mediana de IGF-I (ng/ml) del segundo trimestre (LA-dp).

IGF-I LA-dp	MEDIA	MEDIANA	DESVIACIÓN TÍPICA
CONTROL	285,4	270,0	177,7
RCIU < 10 PER	326,1	342,0	132,9
RCIU < 5 PER	277,3	232,5	145,6

Fuente y elaboración: propias.

4.2.2 Demostrar la correlación existente de los niveles de IGFBP-I con el decalaje ponderal al nacer (MDM) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (LA-dp).

✓ No se cumple la correlación.

Tabla 14. IGFBP-I del segundo trimestre (LA-dp) - Severidad del RCIU (MDM). Correlación de Spearman.

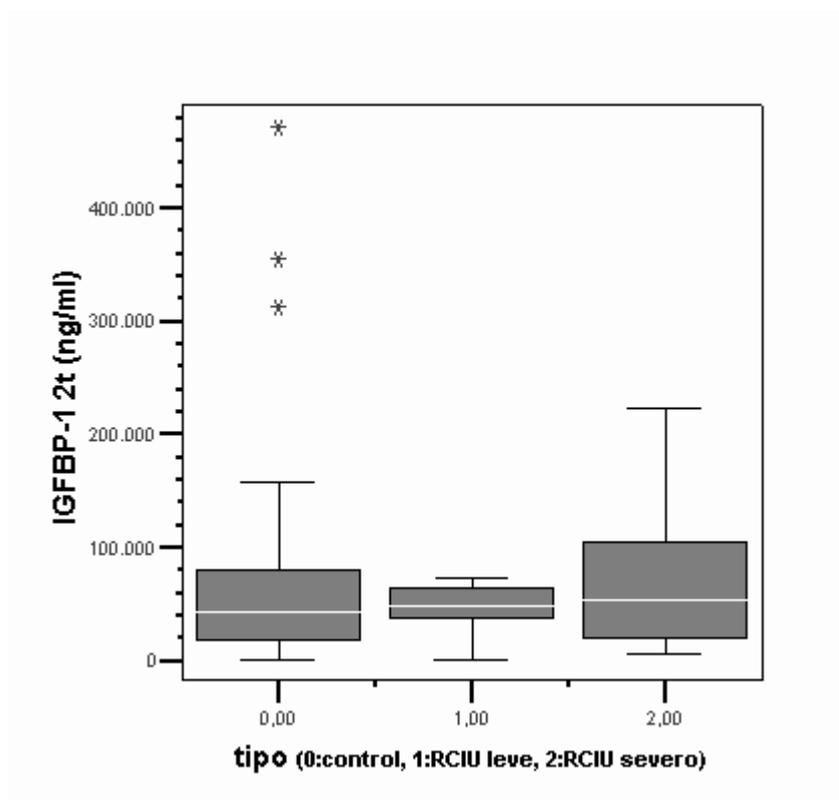
IGFBP-I 2T – MDM	
Coefficiente de correlación	-0,146
Sig. (bilateral)	0,132
N	108

Fuente y elaboración: propias.

No se obtiene significación estadística entre la IGFBP-I y la severidad del RCIU en líquido amniótico, en el segundo trimestre de gestación.

De forma análoga al resultado previo, se representa un gráfico comparativo del valor de la mediana de IGFBP-I (Figura 7), y una tabla de estadísticos descriptivos (Tabla 15) para cada uno de los subgrupos poblacionales.

Figura 7. Valor de la mediana de IGFBP-I del segundo trimestre en subgrupos poblacionales.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

Tabla 15. Valor media / mediana de IGFBP-I (ng/ml) del segundo trimestre (LA-dp).

IGFBP-I LA-dp	MEDIA	MEDIANA	DESVIACIÓN TÍPICA
CONTROL	64.314	43.500	79.265,2
RCIU < 10 PER	52.694	48.500	32.379,7
RCIU < 5 PER	70.433	52.650	64.445

Fuente y elaboración: propias.

4.2.3 Demostrar la correlación existente de los niveles de Leptina con el decalaje ponderal al nacer (MDM) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (LA-dp).

✓ No se cumple la correlación.

Tabla 16. Leptina del segundo trimestre (LA-dp) - Severidad del RCIU (MDM). Correlación de Spearman.

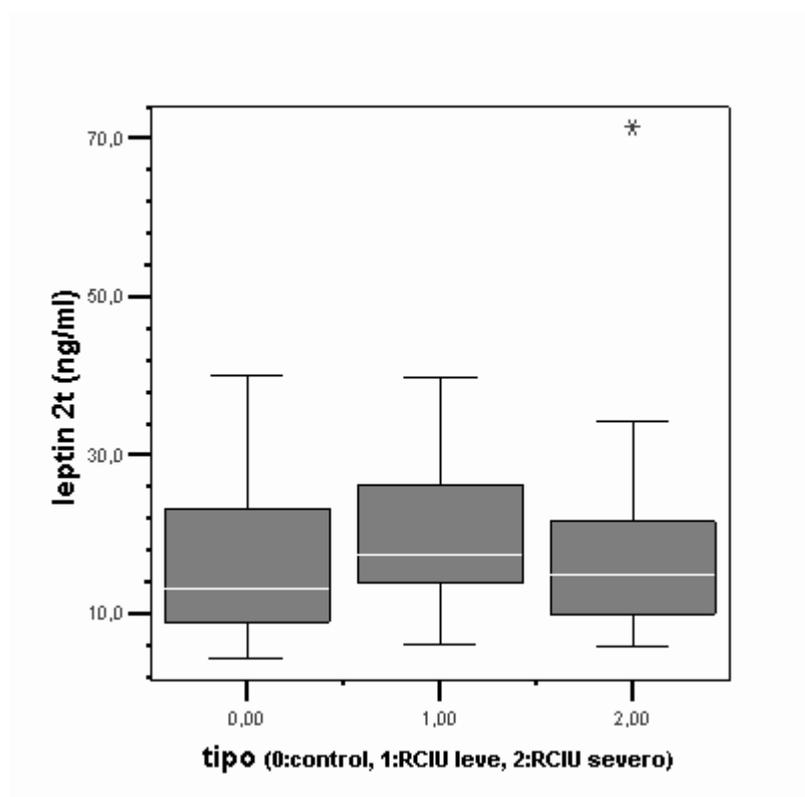
LEPTINA LA-dp – MDM	
Coefficiente de correlación	-0,128
Sig. (bilateral)	0,171
N	117

Fuente y elaboración: propias.

La Leptina y la severidad de RCIU, en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, no demuestran la correlación esperada.

El valor de la mediana de Leptina, para cada uno de los subgrupos poblacionales está representado en la Figura 8 y Tabla 17.

Figura 8. Valor de la mediana de Leptina del segundo trimestre en los subgrupos poblacionales.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

Tabla 17. Valor media / mediana de Leptina del segundo trimestre (LA-dp).

LEPTINA LA-dp	MEDIA	MEDIANA	DESVIACIÓN TÍPICA
CONTROL	16,9	13,1	10,5
RCIU < 10 PER	19,6	17,5	17,5
RCIU < 5 PER	19,7	14,8	16,5

Fuente y elaboración: propias.

4.2.4 Demostrar la correlación existente de los niveles de AFP con el decalaje ponderal al nacer (MDM) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (LA-dp).

- ✓ La correlación obtiene significación estadística ($p = 0,01$).

Tabla 18. AFP del segundo trimestre (LA-dp) - Severidad del RCIU (MDM). Correlación de Spearman.

AFP-LA-dp – MDM	
Coefficiente de correlación	-0,225
Sig. (bilateral)	0,013(*)
N	121

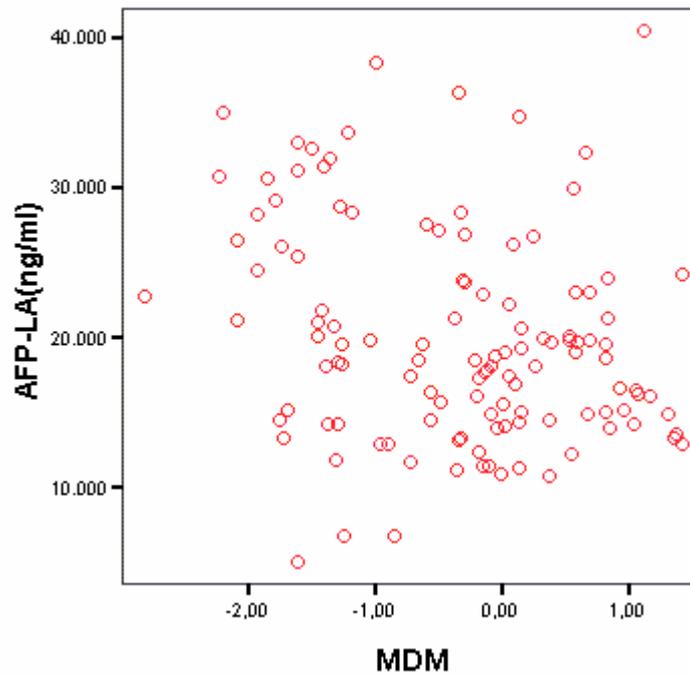
Fuente y elaboración: propias.

(*) Significación estadística ($p \leq 0,05$).

Se alcanza significación estadística entre la AFP y la severidad del RCIU en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional ($p = 0,013$).

En la Figura 9 se muestra, a modo informativo, el gráfico de dispersión de ambas variables.

Figura 9. Gráfico dispersión AFP del segundo trimestre - Severidad del RCIU (MDM).

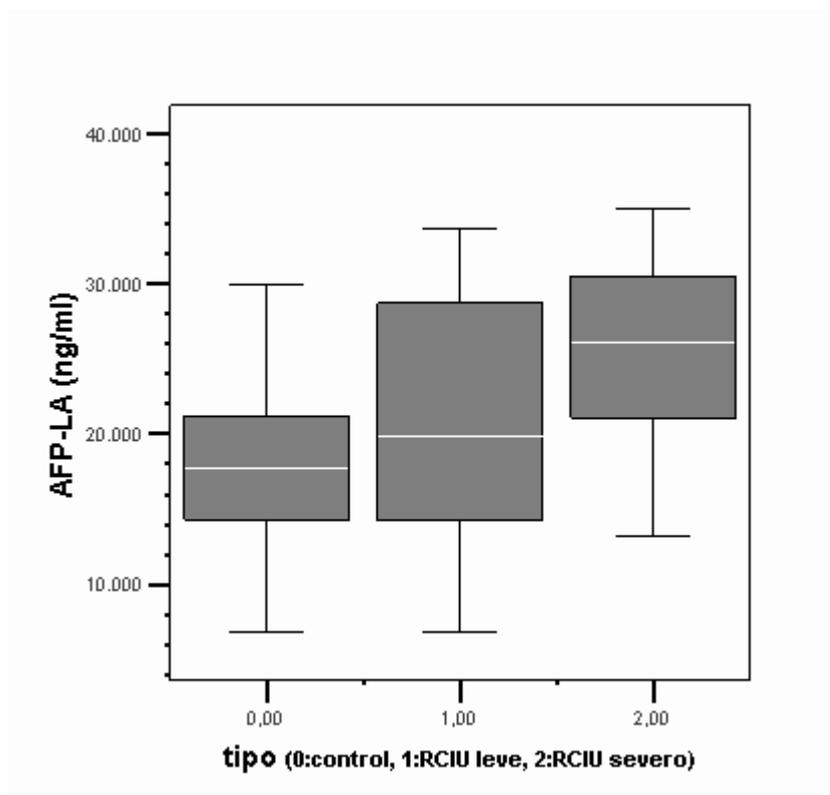


Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

El coeficiente de correlación en este caso no es muy elevado, pero la significación del mismo permite deducir que los niveles de AFP son mayores, en líquido amniótico de segundo trimestre, en relación con un mayor déficit ponderal.

Los valores de la mediana de AFP, en líquido amniótico de segundo trimestre, para cada subgrupo poblacional están representados en la Figura 10 y Tabla 19.

Figura 10. Valor de la mediana de AFP del segundo trimestre en los subgrupos poblacionales.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

Tabla 19. Valor media/mediana de AFP (ng/ml) del segundo trimestre (LA-dp).

AFP LA-dp	MEDIA	MEDIANA	DESVIACIÓN TÍPICA
CONTROL	18.886	17.759,5	6.489
RCIU < 10 PER	20.969	19.799	7.797,5
RCIU < 5 PER	24.244	26.120	8.106,8

Fuente y elaboración: propias.

4.3 Objetivo de trabajo 2

Conocer la correlación intrínseca existente entre los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP, como factores implicados en el crecimiento fetal.

Tabla 20. Correlación entre los diferentes marcadores bioquímicos del estudio. Correlación de Spearman.

MARCADOR BIOQUÍMICO	MDM	IGF-I LA-dp	IGFBP-I LA-dp	AFP LA-dp	LEPTINA LA-parto
LEPTINA LA-dp	Coef. Correl. Sig. (bilateral) N	0,058 0,540 112	-0,028 0,778 107	0,090 0,333 117	0,382 0,002(*) 66
IGF-I LA-dp	Coef. Correl. Sig. (bilateral) N		0,750 0,000(*) 105	-0,136 0,148 115	0,266 0,030(*) 67
IGFBP-I LA-dp	Coef. Correl. Sig. (bilateral) N			-0,288 0,003(*) 108	0,317 0,011(*) 64
AFP LA-dp	Coef. Correl. Sig. (bilateral) N				0,111 0,362 69

Fuente y elaboración: propias.

(*) Significación estadística ($p \leq 0,05$).

LEPTINA DEL SEGUNDO TRIMESTRE

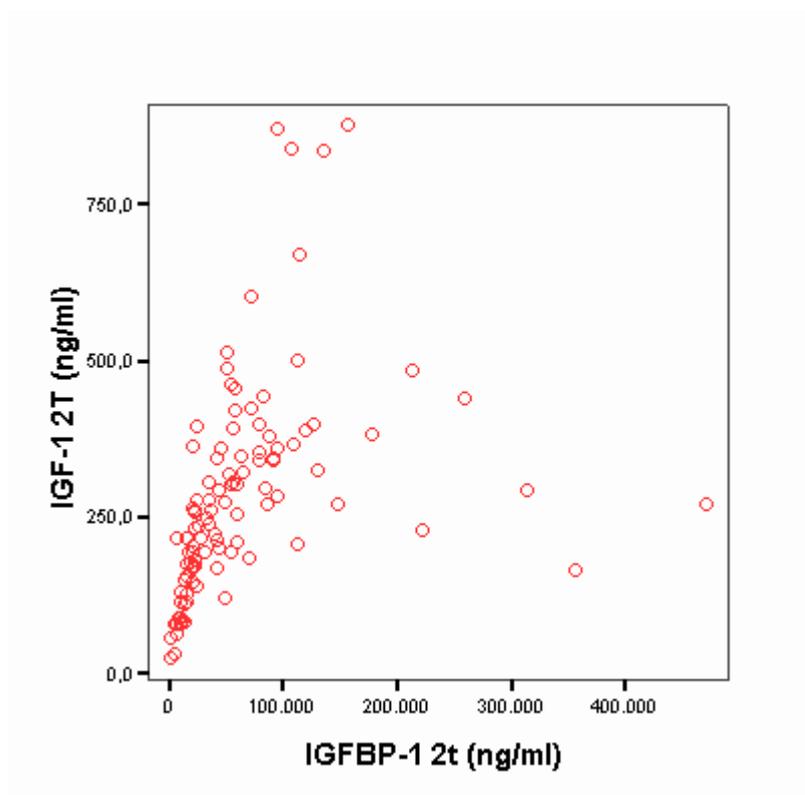
- ✓ No se cumple una correlación significativa entre la Leptina de diagnóstico prenatal y la IGF-I, la IGFBP-I y la AFP, en el mismo tiempo muestral.

IGF-I DEL SEGUNDO TRIMESTRE

- ✓ La IGF-I cumple una correlación directa con la IGFBP-I, en el segundo trimestre gestacional ($p=0,000$).

Se representa en la Figura 11, a modo informativo, el gráfico de dispersión de ambas variables bioquímicas.

Figura 11. Gráfico dispersión IGF-I/IGFBP-I del segundo trimestre.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

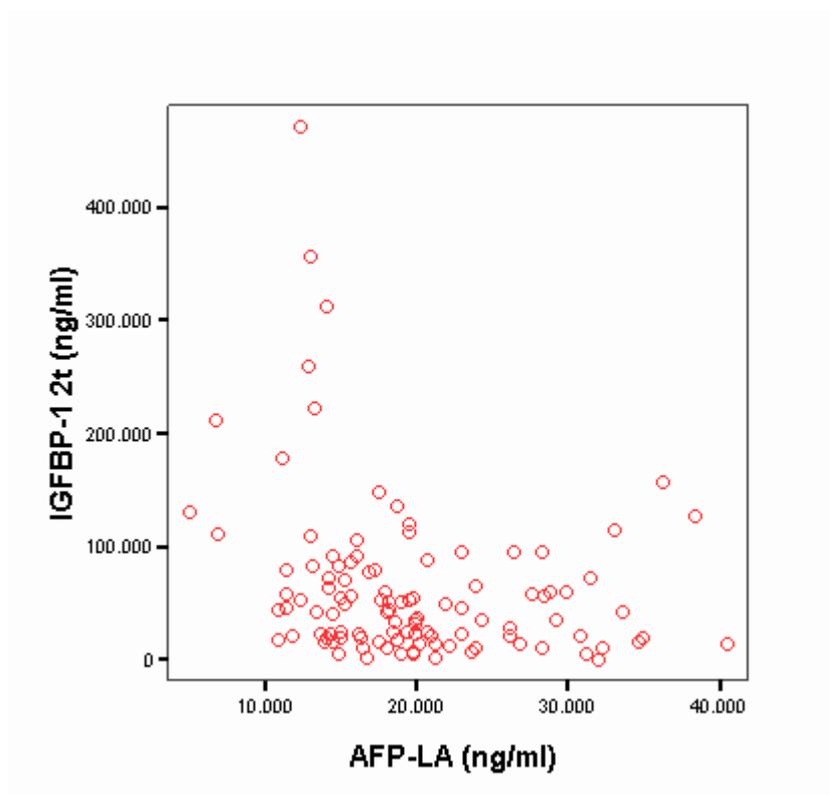
- ✓ La IGF-I no demuestra una correlación significativa con la Leptina y la AFP, en el segundo trimestre gestacional.

IGFBP-I DEL SEGUNDO TRIMESTRE

- ✓ La IGFBP-I muestra una correlación directa con la IGF-I ($p=0,000$), y una correlación inversa con la AFP del segundo trimestre gestacional ($p=0,003$).

Se representa en la Figura 12 el gráfico de dispersión de la IGFBP-I y la AFP.

Figura 12. Gráfico dispersión IGFBP-I/AFP del segundo trimestre.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

- ✓ La IGFBP-I no demuestra una correlación con la Leptina en el segundo trimestre gestacional.

AFP DEL SEGUNDO TRIMESTRE

- ✓ La AFP muestra una correlación inversa con la IGFBP-I del segundo trimestre ($p=0,003$).
- ✓ No se encuentra una correlación significativa entre la AFP y la Leptina, ni entre la AFP y la IGF-I de diagnóstico prenatal.

4.4 Objetivo de trabajo 3

Calcular y ponderar la capacidad diagnóstica de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina y AFP, en líquido amniótico del segundo trimestre (LA-dp), respecto a la severidad del RCIU al nacer.

- ✓ Los marcadores bioquímicos: IGF-I, IGFBP-I, y Leptina, en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, no alcanzan una correlación significativa con la severidad del decalaje ponderal (MDM).

Por dicho motivo no se estudia la capacidad diagnóstica de estos marcadores bioquímicos respecto a la severidad del RCIU al nacer.

- ✓ La AFP es el único marcador estudiado que cumple una correlación significativa (inversa) con la severidad del decalaje ponderal (MDM).

Se analiza la capacidad discriminativa, como prueba diagnóstica, de los niveles de AFP en líquido amniótico de segundo trimestre, y se define como criterio de "sospecha de RCIU" los valores superiores al punto de la mediana ($AFP > 18.645$ ng/ml). Se calcula la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la prueba. Se realiza una diferenciación de la patología a diagnosticar: RCIU < 10 PER y RCIU < 5 PER, al considerar que las consecuencias hipóxico fetales y neonatales pueden aumentar en los casos más severos de RCIU.

1. RCIU < 10 PER

Se representa la incidencia de la patología y la distribución del test de AFP en líquido amniótico en una tabla de 2 por 2.

Tabla 21. RCIU <10 PER- AFP LA-dp.

N=121	RCIU <10 PER	NO RCIU < 10 PER
TEST POSITIVO	TP:23	FP:37
TEST NEGATIVO	FN:12	TN:49

Fuente y elaboración: propias.

Se obtiene, para la AFP respecto la sospecha de RCIU <10 PER, una sensibilidad del 65,7%, una especificidad del 56,9%, un valor predictivo positivo del 38,3 %, y un valor predictivo negativo del 80,3%.

Tabla 22. Capacidad diagnóstica de la AFP (LA-dp) para el RCIU <10 PER.

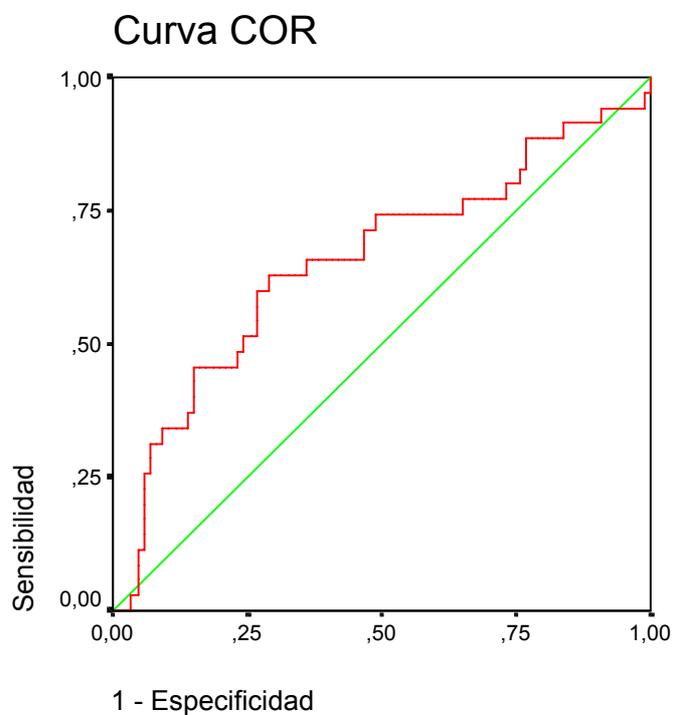
	Porcentaje	IC 95%
SENSIBILIDAD	65,7	(49,9 - 81,4)
ESPECIFICIDAD	56,9	(46,5 – 67,4)
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	38,3	(26,0 – 50,6)
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	80,3	(70,3 – 90,3)
CAPACIDAD GLOBAL	65,6	(54,0 – 77,1)

Fuente y elaboración: propias.

La curva ROC es una curva que representa la sensibilidad en función de los falsos positivos para distintos puntos de corte. El área bajo la curva evalúa el rendimiento global de una prueba considerando los valores entre 1 (prueba perfecta) y 0,5 (prueba inútil).

La capacidad global, en este caso para la AFP es del 65% (existe un 65% de probabilidad de que la prueba clasifique correctamente a la población).

Figura 13. Curva ROC AFP LA-dp - RCIU <10 PER.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

Tabla 23. Área bajo la curva ROC AFP LA-dp- RCIU <10 PER.

ÁREA	ERROR TÍP.	SIG. ASINTÓTICA.	INTERVALO DE CONFIANZA ASINTÓTICO AL 95%	
			Límite inferior	Límite superior
0,656	0,059	0,007	0,540	0,771

Fuente y elaboración: propias.

2. RCIU < 5 PER

Al igual que en la población anterior, se representa la incidencia del RCIU < 5 PER y la distribución del test de AFP en líquido amniótico de diagnóstico prenatal en una tabla de 2 por 2.

Tabla 24. RCIU <5 PER- AFP (LA-dp).

N=121	RCIU < 5 PER	NO RCIU < 5 PER
TEST POSITIVO	TP:13	FP:47
TEST NEGATIVO	FN:4	TN:57

Fuente y elaboración: propias.

Se obtiene, para la AFP respecto la sospecha de RCIU < 5 PER, una sensibilidad del 76,4%, una especificidad del 54,8%, un valor predictivo positivo del 21,6 %, y un importante valor predictivo negativo del 93,4%.

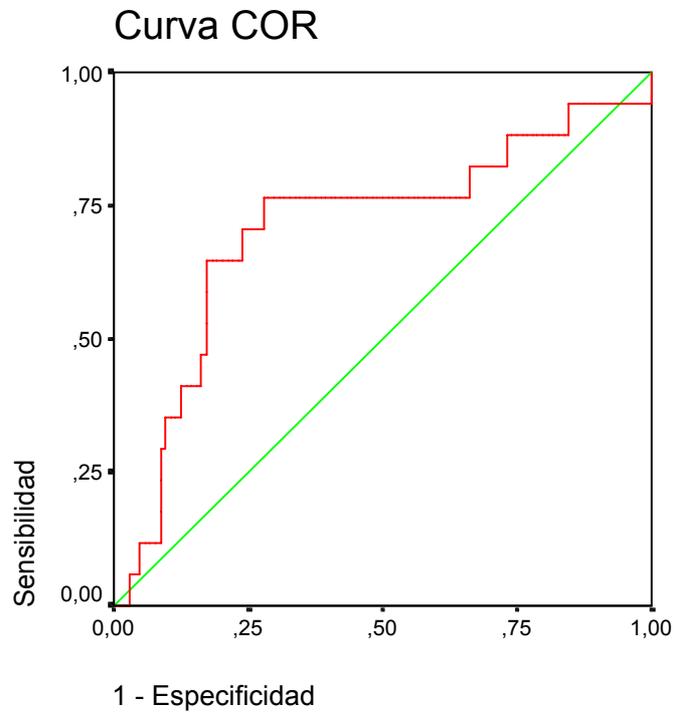
Tabla 25. Capacidad diagnóstica de la AFP (LA-dp) para el RCIU <5 PER.

	AFP	IC 95%
SENSIBILIDAD	76,4	(56,3 – 96,6)
ESPECIFICIDAD	54,8	(45,2 – 64,3)
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	21,6	(11,2 – 32,0)
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	93,4	(87,2 – 99,6)
CAPACIDAD GLOBAL	70,6	(55,6 – 85,6)

Fuente y elaboración: propias.

La capacidad global, en este caso para la AFP, mejora y es del 70% (existe un 70% de probabilidad de que la prueba clasifique correctamente a la población).

Figura 14. Curva ROC AFP LA-dp - RCIU <5 PER.



Fuente y elaboración: propias. SPSS-PC+.

Tabla 26. Área bajo la curva ROC AFP LA-dp- RCIU <5 PER .

ÁREA	ERROR TÍP.	SIG. ASINTÓTICA.	INTERVALO DE CONFIANZA ASINTÓTICO AL 95%	
			Límite inferior	Límite superior
0,706	0,077	0,007	0,556	0,856

Fuente y elaboración: propias.

DISCUSIÓN

5 DISCUSIÓN

El presente estudio prospectivo se realiza a partir de una población de gestantes sometidas a una amniocentesis de diagnóstico prenatal. Este criterio de inclusión comporta una mayor dificultad en la obtención final de resultados.

En este sentido, es necesaria la participación inicial de un gran número de gestantes, e invertir un amplio período temporal de 31 meses para completar el seguimiento gestacional y la recogida muestral de una población de estudio representante del déficit ponderal.

El control obstétrico de esta población implica el cumplimiento estricto de unos protocolos clínicos y de estudio.

A continuación, se procede a desarrollar la discusión de los resultados obtenidos en este estudio, siguiendo el orden establecido en los resultados de los objetivos planteados.

Cabe mencionar, que en la discusión de resultados, se hace referencia a la bibliografía existente sobre la materia, así como a la Tesis Doctoral: *Avaluació dels nivells en líquid amniòtic de IGF-I i IGFBP-I en fetus afectats per retard de creixement intrauterí*, realizada por el Dr. Jordi Ponce i Sebastià en 1998⁹³.

Con el fin de ampliar los conocimientos sobre la fisiopatogenia del RCIU, y en un intento de asignar una aplicación clínica a los hallazgos descubiertos sobre la IGF-I e IGFBP-I en el tercer trimestre gestacional, se decide iniciar el estudio de marcadores bioquímicos en un momento más temprano de diagnóstico prenatal.

5.1 *Objetivo de trabajo 1*

Determinar la relación existente de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina, y AFP con el decalaje ponderal al nacer (medido en Múltiplos de la Desviación de la Media para cada edad gestacional, MDM), en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo (muestras de diagnóstico prenatal: LA-dp).

5.1.1 Demostrar la correlación existente de los niveles de IGF-I con el decalaje ponderal al nacer (MDM) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (LA-dp).

✓ No se cumple la correlación.

5.1.2 Demostrar la correlación existente de los niveles de IGFBP-I con el decalaje ponderal al nacer (MDM) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (LA-dp).

✓ No se cumple la correlación.

Los estudios publicados sobre la IGF-I e IGFBP-I son, en su gran mayoría, estudios realizados en sangre de cordón umbilical.

Barrios²⁰⁰, en 1996, estudia gestaciones a término y prematuros (n:271, n:39), demostrando la existencia de una correlación inversa entre los niveles de IGF-I e IGFBP-I en sangre de cordón umbilical. A mayor edad gestacional aumenta la IGF-I y disminuye la IGFBP-I. Leger⁹¹, en el mismo año, estudia mediante cordocentesis gestaciones normales y casos de RCIU (n:166, n:64, 18-40 semanas) comprobando la disminución de IGF-I en los casos de RCIU. Langford⁶¹, en 1998, también realiza cordocentesis entre las semanas 18 y 38 del embarazo, determinando niveles de normalidad de la IGF-I y la IGFBP-I (n:91).

En el momento del parto Klauwer⁷¹, en 1997, también demuestra una correlación inversa entre la IGF-I y la IGFBP-I en sangre de cordón, al igual que una correlación directa de IGF-I y el peso del recién nacido.

En líquido amniótico, los estudios publicados, se centran más en la IGFBP-I. En 1992, Wathen⁶⁹ estudia los niveles de IGF-I y IGFBP-I en el primer trimestre gestacional (n:35), demostrando una correlación entre la IGF-I y la IGFBP-I. Este autor determina valores de IGFBP-I menores al inicio de la gestación respecto al segundo trimestre, que también describe él posteriormente⁷⁰ en 1993. Los valores de IGFBP-I observados en las semanas 9 y 10 del embarazo son de 35 y 45 µg/l respectivamente, mostrando un ascenso y pico de estas concentraciones en las 16 semanas de embarazo:145,2 mg/l. Posteriormente los niveles de IGFBP-I descienden siendo los valores a término menores que en el segundo trimestre gestacional: 27,1 mg/l (n:176).

Desde el conocimiento de estos factores, se han relacionado niveles elevados de IGFBP-I en líquido amniótico de segundo trimestre con retraso de crecimiento intrauterino. Hakala²⁰¹ ya defiende esta teoría en 1993 (n:148), al igual que Chevallier⁵⁰ en 1998 (n:58). Ambos autores atribuyen niveles elevados de IGFBP-I, en las 13-19 semanas de embarazo, como buen predictor del RCIU.

A pesar de esto, estudios más recientes ponen en duda los estudios anteriores sobre las IGF y el RCIU. Ohnishi²⁰² publica, en 1999, un estudio de la IGF-I en líquido amniótico de segundo trimestre (n:84 controles, 12 RCIU, 8 macrosomas) sin poder demostrar la relación de este factor con los diferentes patrones de crecimiento fetal. Verhaeghe J⁹², en el mismo año, también publica la falta de correlación entre la IGFBP-I en líquido amniótico de segundo trimestre y el RCIU (n:209, 14-20 semanas).

Ponce⁹³, en su Tesis Doctoral *Avaluació dels nivells en líquid amniòtic de IGF-I i IGFBP-I en fetus afectats per retard de creixement intrauterí* concluye:

1. Los niveles de IGF-I y IGFBP-I, en líquido amniótico de 34-36 semanas y en el momento del parto, se correlacionan con la adecuación del peso al nacer para cada edad gestacional. La direccionalidad de la relación es inversa para la IGF-I y la IGFBP-I. Fetus con mayor decalaje ponderal tendrán mayores niveles de ambos factores en líquido amniótico.

2. La IGF-I y la IGFBP-I tienen un incremento negativo en líquido amniótico entre las 35 semanas y el momento del parto.
3. Existe una correlación directa de los dos factores en líquido amniótico de 35 semanas y en el momento del parto, siendo los primeros resultados buenos predictores de los segundos.
4. La capacidad global como prueba diagnóstica de la amniocentesis en la semana 35, para demostrar la presencia de RCIU <10 percentil es muy limitada para la IGF-I (65%) y para la IGFBP-I (60%). Para discriminar el RCIU <5 percentil, la sensibilidad alcanzada por la IGFBP-I es del 66,7%, y hasta el 77,8% para la IGF-I.
5. La sensibilidad diagnóstica de los métodos ecográficos para su misma población, en la detección del RCIU, fue del 46,7% en el perímetro abdominal, y el 61,5% en el peso estimado por ecografía. Por dicho motivo los marcadores bioquímicos estudiados por Ponce merecen una importante consideración.

El presente estudio basa la recogida de muestras de líquido amniótico en las mismas premisas que el estudio anterior, en diferente tiempo gestacional, pero en el mismo ámbito poblacional. La muestra de estudio (86 CONTROLES y 35 RCIU) se aproxima en número a la estudiada por Ponce (30 CONTROLES y 40 RCIU en el análisis específico de los marcadores bioquímicos). El estudio estadístico sigue también el mismo patrón de aplicación.

En línea, con los escasos estudios publicados, se presentan los niveles medios de IGF-I / IGFBP-I en líquido amniótico de segundo trimestre que discriminan el grupo CONTROL: 285,4 ng/ml / 64.314 ng/ml, respecto el grupo de RCIU LEVE <10 PER: 326,1ng/ml / 52.694 ng/ml, y el RCIU SEVERO <5 PER: 277,3 ng/ml / 70.433 ng/ml.

De cara a valorar estos resultados los comparamos, sólo a modo informativo, con los obtenidos en el estudio de Ponce⁹³ realizado en etapas más tardías del embarazo (líquido amniótico de 35 semanas y momento del parto) (tabla 27 y tabla 28).

Tabla 27. Valor medio de la IGF-I (ng/ml), del tercer trimestre y momento del parto.

	IGF-I LA-35 sem	IGF-I LA-parto
CONTROL	165,2	92,5
RCIU < 10 PER	176,3	116,4
RCIU < 5 PER	266,9	136,7

Fuente: Ponce J⁹³. Elaboración: Propia.

Tabla 28. Valor medio de la IGFBP-I (ng/ml) del tercer trimestre y momento del parto.

	IGFBP-I LA-35 sem.	IGFBP-I LA-parto
CONTROL	10.700	5.600
RCIU < 10 PER	11.100	6.670
RCIU < 5 PER	19.010	8.100

Fuente: Ponce J⁹³. Elaboración: Propia.

A modo descriptivo, según los resultados existentes en etapas tardías del embarazo y los obtenidos en el estudio actual, podemos referenciar que los niveles de IGF-I e IGFBP-I descienden, en líquido amniótico, a medida que avanza la edad gestacional.

En el presente estudio **no se consigue demostrar una correlación entre la severidad del RCIU (medida en MDM) i los niveles de IGF-I y IGFBP-I en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional.**

Resulta difícil contrastar los resultados obtenidos con las escasas publicaciones existentes sobre este periodo gestacional, aunque hemos de destacar la coherencia observada con los últimos trabajos publicados en líquido amniótico de segundo trimestre.

A pesar de tener resultados negativos, son de gran valor clínico, al igual que coherentes con los escasos conocimientos existentes actualmente sobre la patogenia del RCIU iniciada en estadios posteriores del embarazo.

5.1.3 Demostrar la correlación existente de los niveles de Leptina con el decalaje ponderal al nacer (MDM) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (LA-dp).

- ✓ No se cumple la correlación.

Estudios sobre la Leptina y su papel mediador en el crecimiento fetal se han realizado, prácticamente en su totalidad, en sangre de cordón umbilical. Koistinen¹⁴⁴ publica, en 1997, uno de los primeros estudios demostrativos de la disminución de la Leptina en sangre de cordón, a término, en recién nacidos con RCIU (n: 28 controles, n: 13 RCIU). Jaquet²⁰³, en 1998, estudia gestaciones de 18-42 semanas. Este autor demuestra una elevación importante de los niveles de Leptina en sangre de cordón a partir de la semana 34, y correlaciona los valores de Leptina en el momento del parto con el peso fetal. Gómez¹⁴⁰, en 1999, y en la población de Barcelona (Hospital del Valle Hebrón), también confirma la correlación existente entre la Leptina en sangre de cordón y el peso del recién nacido (n:126, 30-42 semanas).

Estudios más recientes siguen trabajando la Leptina en sangre de cordón umbilical. Cetin¹³⁸, en el 2000, publica un estudio en etapas más tempranas del embarazo (19-41 semanas) demostrando la correlación de la Leptina y el peso fetal únicamente a partir de la semana 34 de embarazo (n:40 controles, n:25 RCIU, n:18 macrosomas). Debemos especificar que los casos de RCIU sólo constaban de muestras tardías gestacionales. Hytinantti¹⁵⁹, en el mismo año, también estudia este marcador en sangre de cordón, relacionando los niveles superiores de Leptina con casos con RCIU e hipoxia concomitante (n:10 RCIU, 24-32 semanas). Este mismo autor¹⁴⁸, publica un trabajo en gestantes diabéticas insulino-dependientes, en las que estudia la Leptina en sangre de cordón, junto la eritropoyetina en sangre y líquido amniótico como marcador de hipoxia fetal. Niveles superiores de eritropoyetina los asocia con niveles superiores de Leptina en casos de hipoxia fetal (n:25), como mecanismo de adaptación a situación de estrés fetal.

En líquido amniótico no existen trabajos recientes, y los únicos publicados son del mismo autor. Schubring¹⁵⁰, en 1996, estudia la Leptina en suero materno, sangre de

cordón, y líquido amniótico, en gestaciones de 38-42 semanas (n: 15). Concluye una correlación positiva entre los niveles de Leptina en sangre de cordón y peso del recién nacido, una ausencia de correlación entre el suero materno y el peso neonatal, y unos niveles relativamente elevados de Leptina en líquido amniótico (3,7ng/ml de media) independientes del suero materno y peso placentario. Schubring considera a la Leptina como un factor independiente del crecimiento fetal. Este autor publica¹⁴⁹, en 1997, un aumento en su población de estudio (n: 27), concluyendo los mismos resultados. No disponemos de bibliografía que permita obtener conclusiones respecto a la Leptina en líquido amniótico en etapas tempranas de la gestación.

Tras conocer el comportamiento de la Leptina en el momento del parto, nos situamos ante otro marcador similar a la IGF-I e IGFBP-I pendiente de validar su aplicación clínica en el diagnóstico y prevención del RCIU.

En el estudio actual no se puede demostrar una correlación entre la severidad del RCIU (MDM) i los niveles de Leptina en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional.

Por primera vez se intenta asignar valores medios gestacionales de Leptina, en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo: 16,9 ng/ml en los CONTROLES, 19,6 ng/ml / 19,7 ng/ml en casos de RCIU LEVE <10 PER / RCIU SEVERO <5 PER respectivamente.

5.1.4 Demostrar la correlación existente de los niveles de AFP con el decalaje ponderal al nacer (MDM) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal (LA-dp).

✓ Si se cumple la correlación.

La determinación de la AFP como marcador sérico de diagnóstico prenatal se inicia en 1980. En 1992 se inicia el estudio sobre la elevación de la AFP en suero materno y un incremento del riesgo obstétrico en una mayor incidencia de RCIU, EHE, partos pretérmino, éxitus fetal y abruptio placentae. Williams²⁰⁴ relacionó el aumento de estas

patologías con alteraciones placentarias concomitantes implicadas en la elevación de la AFP (n:201).

Actualmente, son múltiples los estudios que relacionan aumentos de los niveles de AFP en suero materno de segundo trimestre y el RCIU. Cusick²⁰⁵, en 1996 lo asocia con esta patología y un aumento de la mortalidad fetal (n:383). Cho²⁰⁶ en 1997 (n:16.445), y Yaron²⁰⁷ en 1999 (n:24.504), contribuyen a dicha correlación. Ochshron²⁰⁸, en el 2001, estudia la elevación de la AFP en suero materno en afectaciones placentarias de trombofilia (n:62). En el mismo año, Huerta-Enochian²⁰⁹ sigue comprobando la relación existente entre el RCIU y la AFP elevada en suero materno de segundo trimestre gestacional (n:113).

En líquido amniótico, se encuentran pocos estudios sobre la elevación de AFP y su papel pronóstico gestacional. Verspyck²¹⁰, en 1999, no encuentra correlación de dicho marcador en segundo trimestre, y afectaciones como hipertensión, RCIU, rotura prematura de membranas y alteraciones placentarias (n:587).

Al no disponer de suficientes estudios concluyentes, de la AFP en líquido amniótico y el RCIU, es interesante insistir en los conocimientos de esta proteína en campos obstétricos diferentes a los de la práctica actual.

Los resultados de este estudio **afirman una correlación inversa entre la severidad del RCIU (MDM) i los niveles de AFP en líquido amniótico del segundo trimestre gestacional (p=0.013)**. Los recién nacidos con mayor decalaje ponderal presentan niveles mayores de AFP en líquido amniótico en el tiempo del diagnóstico prenatal.

La afectación de la AFP, y no de los otros marcadores estudiados, puede deberse a que la AFP juega un papel determinante a nivel placentario. La AFP forma parte del complejo endocrino-nutricional (transporte de ácidos grasos polinsaturados) permitiendo un correcto desarrollo de la unidad feto-placentaria. En alteraciones placentarias, previas al debut fetal del RCIU, es decir, en etapas tempranas del embarazo, la AFP ya puede mostrar cambios en sus concentraciones. Alteraciones placentarias, que derivan en un RCIU, pueden producir un aumento de las áreas de

transporte o una alteración de la barrera endotelial, favoreciendo el paso de AFP en los diferentes compartimentos.

5.2 *Objetivo de trabajo 2*

Conocer la correlación intrínseca existente entre los niveles de Leptina, IGF-I, IGFBP-I, y AFP, como factores implicados en el crecimiento fetal.

Estudios recientes correlacionan diferentes factores del crecimiento fetal, como la Leptina y la IGF-I. Wiznitzer²¹¹, en el 2000, encuentra una correlación directa entre estos dos marcadores en sangre de cordón umbilical, al igual que con el peso del recién nacido (n:52). Symonds²¹², en el 2001, y tras una revisión de la literatura, concluye el papel interactivo de la Leptina, IGF-I, y otros marcadores en el crecimiento y desarrollo fetal.

Tras el estudio de estos marcadores bioquímicos en líquido amniótico de segundo trimestre y una posible implicación conjunta de todos ellos en la fisiopatología del RCIU se concluye:

- ✓ **Existe una correlación directa entre la IGF-I y la IGFBP-I prenatal ($p=0.00$).**
- ✓ **Existe una correlación inversa entre la IGFBP-I y la AFP ($p=0.003$) en líquido amniótico de diagnóstico prenatal.**

A pesar de estos resultados, se debe resaltar **la falta de correlación entre los factores implicados en el crecimiento fetal, en etapas tempranas del embarazo** (Leptina y Sistema de las *Insulin-Growth Factor*).

La relación demostrada, entre la IGF-I y su proteína transportadora, es coherente con lo ya conocido mostrándose, una vez más, la validez de las muestras utilizadas.

La AFP, único marcador bioquímico con diferencias significativas respecto la severidad del RCIU, presenta una correlación inversa con la IGFBP-I.

La IGFBP-I es conocida, formalmente, como la proteína placentaria. La correlación existente entre la IGFBP-I y la AFP podría explicar la elevación de la AFP, en alteraciones placentarias preliminares a la instauración del RCIU. El motivo por el cual es la AFP, y no la IGFBP-I, el factor más alterado queda por esclarecer, aunque una mayor expresión de la AFP en líquido amniótico puede corroborar a este mecanismo.

La elevación de la AFP en líquido amniótico de segundo trimestre, en casos de RCIU, es coherente con los estudios realizados en suero materno, y con el concepto de placenta como órgano intermediario entre el compartimento materno y fetal.

En la literatura actual, es conocido que la IGF-I favorece la infiltración trofoblástica de las arterias espirales maternas, y en cambio la secreción decidual de IGFBP-I en el mismo estadio gestacional, protege al endometrio de la invasión trofoblástica.^{83 84 85}. En casos de RCIU con niveles elevados de AFP y consecuentemente disminuidos de IGFBP, aunque no se reflejen en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, pueden influir en la cantidad y/o calidad de la vascularización placentaria derivando, en estadios más avanzados, patología obstétrica secundaria.

5.3 *Objetivo de trabajo 3*

Calcular y ponderar la capacidad diagnóstica de los niveles de IGF-I, IGFBP-I, Leptina y AFP, en líquido amniótico del segundo trimestre (LA-dp), respecto a la severidad del RCIU al nacer.

- ✓ Los marcadores bioquímicos: IGF-I, IGFBP-I, y Leptina, en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, no muestran una correlación significativa con la severidad del decalaje ponderal (MDM). Por dicho motivo no se estudia la capacidad diagnóstica de estos marcadores.
- ✓ La AFP es el único marcador estudiado que cumple una correlación significativa (inversa) con la severidad del decalaje ponderal (MDM), y al cual se atribuye una capacidad diagnóstica de la severidad del RCIU.

La capacidad discriminativa, de la AFP en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, como prueba diagnóstica de RCIU implica:

1. En casos de **RCIU <10 PER: una sensibilidad del 65,7%, una especificidad del 56,9%, un valor predictivo positivo del 38,3 %, y un valor predictivo negativo del 80,3%.**

La capacidad global, en este caso para la AFP, es del 65% (IC95%: 54,0-77,1).

2. En el **RCIU <5 PER: una sensibilidad del 76,4%, una especificidad del 54,8%, un valor predictivo positivo del 21,6 %, y un importante valor predictivo negativo del 93,4%.**

La capacidad global, en este caso para la AFP, es del 70% (IC95%: 55,6-85,6).

En comparación con los resultados obtenidos, el estudio de los marcadores bioquímicos en líquido amniótico de tercer trimestre⁹³ concluye:

1. Una capacidad global de la amniocentesis de 35 semanas, para demostrar la presencia de RCIU <10 PER. limitada tanto para la IGF-I (65%), como para la IGFBP-I (60%).
2. En caso de RCIU <5 PER., una capacidad global diagnóstica que mejora para ambos parámetros: IGF-I (80%) y IGFBP-I (69%).
3. La sensibilidad conseguida por la IGF-I y la IGFBP-I, para discriminar casos de RCIU severo es de 77,8% y 66,7% respectivamente.
4. En la misma población de estudio, la sensibilidad para el RCIU <5 PER, según los métodos ecográficos utilizados en el mismo momento gestacional, es del 46,7% (biometría abdominal) y del 61,5% (peso estimado por ecografía).

La AFP, en líquido amniótico del segundo trimestre, presenta al igual que los parámetros de la IGF-I y la IGFBP-I, estudiados en las 35 semanas de gestación:

- 1. Una capacidad global para demostrar la presencia de RCIU <10 PER limitada (65%)**
- 2. En caso de RCIU <5 PER, una capacidad global diagnóstica que mejora (70%).**
- 3. Una sensibilidad para discriminar casos de RCIU <5 PER del 76,4%, similar a parámetros bioquímicos de tercer trimestre⁹³.**

Estos resultados, con posible implicación clínica en el diagnóstico prenatal, merecen su consideración, sin olvidar que los estudios realizados sobre factores bioquímicos en líquido amniótico demuestran, por el momento, un amplio intervalo de confianza sobre un limitado número de casos. Por dicho motivo, sin desmerecer estos resultados, se necesita un mayor número de estudios prospectivos para concluir que subpoblación de riesgo precisa de una amniocentesis de diagnóstico prenatal para determinar esta patología, y evitar así innecesarios esfuerzos sanitarios de control y seguimiento.

Finalmente, se realiza una valoración final en referencia a la hipótesis del estudio.

5.4 Valoración Final

El conocimiento de la fisiopatología del RCIU implica la necesidad de estudiar aquellos cambios o factores influyentes en el crecimiento fetal, capaces de discernir de forma más precoz aquellos fetos que presentarán en un futuro una situación más comprometida.

La valoración de los marcadores bioquímicos, estudiados en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, respecto la severidad del RCIU, concluye unas hipótesis de comportamiento para dichas variables:

IGF-I, IGFBP-I

Al considerar una alteración inicial placentaria, anterior a la afectación fetal del RCIU, concuerda la falta de alteración de la IGF-I en etapas tempranas del embarazo, al tratarse más de un factor celular fetal (el hígado fetal es su principal productor) que placentario. No se puede deducir lo mismo para la IGFBP-I, ya que ésta destaca por su producción y secreción decidual.

Se demuestra una correlación inversa entre la IGFBP-I y la AFP, contribuyendo a un posible papel de ambos factores en situaciones de patología placentaria. El hecho de que la AFP muestre correlación con el RCIU, y no la IGFBP-I, puede ser debido a mayor o menor expresión, de sus concentraciones, en el medio de estudio.

LEPTINA

Es evidente el papel de la Leptina como factor implicado en el crecimiento y desarrollo fetal. En este estudio se considera a la Leptina representativa de una afectación fetal, de los niveles de reserva grasa fetal y de su regulación nutricional, al no encontrar alteraciones de este parámetro previas al RCIU.

AFP

En el periodo fetal es fundamental un correcto aporte de nutrientes al feto, junto un correcto control endocrino (eje somatotrópico: IGF-I, IGF-II, GH, insulina). Tras este estudio se considera a la AFP como un factor necesario en una “cooperación nutricional-endocrina”.

Desde del punto de vista endocrino, la AFP presenta dominios similares a los receptores esteroideos y tiroideos, y estos están relacionados con "*DNA-hormone response elements*" (HRE) que afecta al crecimiento, desarrollo, reproducción y homeostasis. A nivel nutricional la AFP se comporta como proteína transportadora de los ácidos grasos polinsaturados, esenciales en un desarrollo fetal correcto.

La afectación, en etapas tempranas del embarazo, de la AFP y no otros marcadores estudiados puede deberse a que la AFP juega un papel determinante en el ámbito placentario, formando parte de este “complejo endocrino-nutricional” implicado en el

correcto desarrollo de la unidad feto-placentaria. En alteraciones placentarias, previas al debut fetal del RCIU, es decir en el segundo trimestre donde se desconoce la instauración de la noxa causal, la AFP ya puede mostrar cambios en sus concentraciones. Alteraciones placentarias, que derivan en un RCIU, pueden producir un aumento de las áreas de transporte o una alteración de la barrera endotelial, favoreciendo el paso de AFP en los diferentes compartimentos.

Los fluidos fetales representan una fuente adicional de hormonas y nutrientes para el feto, aunque el mecanismo del control de su utilización es desconocido. Hay evidencia del papel de la IGF-I en la utilización enteral de nutrientes. Tras aislar un péptido de AFP regulador del crecimiento, en el campo oncológico, y demostrar que en líquido amniótico existen diferentes formas hetero-funcionales de AFP: crecimiento inhibitorio, crecimiento estimulador, y no influyentes en el crecimiento fetal, podemos plantear en un futuro la utilidad de alguna fracción de AFP como tratamiento alternativo del RCIU, en el ámbito amniótico.

Se conoce la hipótesis de que el consumo de aceite de pescado (ácido eicosapentanoico) reduce la producción de TXA₂, un aumento de PGI₂, y una vasodilatación junto un aumento de la perfusión útero-placentaria, sin conocer su utilidad actual en la prevención y/o tratamiento del RCIU. La AFP participa indirectamente en este proceso insistiendo en su posible actividad futura terapéutica.

Los resultados concluidos sobre la IGF-I, la IGFBP-I y la Leptina son coherentes con la instauración tardía, ya en el tercer trimestre, de la afectación fetal del RCIU. Tras conocer el comportamiento de la AFP estamos obligados a considerar un inicio fisiopatogénico diagnosticable en etapas tempranas del embarazo. La elevación de la AFP del segundo trimestre, en fetos que desarrollarán un RCIU, nos impulsa a seguir estudiando el gran enigma de esta patología, considerando a la placenta un eslabón fundamental.

CONCLUSIONES

6 CONCLUSIONES

Se exponen a continuación las conclusiones obtenidas según los objetivos del estudio.

- 1 Los marcadores IGF-I, IGFBP-I, y Leptina, en líquido amniótico de segundo trimestre gestacional (14-18 semanas) no alcanzan una correlación significativa con la severidad del decalaje ponderal para cada edad gestacional (MDM), mientras que la AFP sí muestra una correlación inversa con la severidad del RCIU.
- 2 La IGF-I y la IGFBP-I muestran una correlación directa entre ambas, en el segundo trimestre gestacional, mientras que la IGFBP-I muestra también una correlación inversa con la AFP de segundo trimestre. No se puede demostrar la existencia de correlación entre la Leptina y el Sistema de las Insulin-Growth Factor, como factores implicados en el crecimiento fetal en etapas tempranas del embarazo.
- 3 De los marcadores bioquímicos estudiados en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, únicamente la AFP demuestra un valor diagnóstico y pronóstico en la aparición del RCIU y su severidad. La AFP muestra una correlación inversa significativa, con una capacidad diagnóstica de RCIU <10 percentil limitada (capacidad global: 65%), que aumenta en casos de RCIU <5 percentil (capacidad global: 70%).
- 4 Valores elevados de AFP, en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, pueden contribuir en la detección precoz de aquella población con riesgo a desarrollar un RCIU. Dichos valores permitirían, así mismo, una prevención primaria del RCIU y una disminución de la morbi-mortalidad fetal atribuida a dicha patología. El valor predictivo negativo de la AFP de 93,4% en casos del RCIU <5 percentil permite descartar, al mismo tiempo, numerosas gestaciones de posible afectación fetal.

ABREVIATURAS

7 ABREVIATURAS

AFP	Alfa-fetoproteína.
ANTECED RCIU	Antecedente obstétrico de retraso de crecimiento intrauterino.
COEF CORREL	Coefficiente de Correlación.
CONTROL	Población de estudio que pertenece al grupo Control.
EHE	Estado hipertensivo del embarazo.
ERROR TÍP	Error típico.
FN	Falso negativo.
FP	Falso positivo.
GH	Hormona de Crecimiento.
GI	Grados de libertad.
HRE	<i>Hormone response elements.</i>
IC	Intervalo de confianza.
IGF	<i>Insuli-like Growth Factor.</i>
IGF-I	<i>Insulin-like Growth Factor-I.</i>
IGF-I 2T	<i>Insulin-like Growth Factor-I</i> de segundo trimestre.
IGFBP	<i>Insulin-like Growth Factor Binding-Protein.</i>
IGFBP-I	<i>Insulin-like Growth Factor Binding-Protein-I.</i>
IGFBP-I 2T	<i>Insulin-like Growth Factor Binding-Protein-I</i> segundo trimestre.
LA	Líquido amniótico.
LA-35 sem	Líquido amniótico de 35 semanas de embarazo.
LA-dp	Líquido amniótico de diagnóstico prenatal (14-18 semanas).
LA-parto	Líquido amniótico del momento del parto.
LEPTIN 2T	Leptina de segundo trimestre.
LH	Hormona Luteinizante.
MDM	Múltiples de la Desviación Estándar de la Media.
N	Número de casos.
NST	<i>Non Stress Test.</i>

OMS	Organización Mundial de la Salud
PGI2	Prostaciclina.
PHAU	PH de arteria umbilical.
RCIU	Retraso de crecimiento intrauterino.
RCIU <5 PER	Población que pertenece al grupo RCIU <5 percentil.
RCIU <10 PER	Población que pertenece al grupo RCIU <10 percentil.
ROC	<i>Receiver Operating Characteristics.</i>
SIGN	Significación.
SIGN ASINTÓ	Significación asintótica.
SNC	Sistema Nervioso Central.
SPSS	<i>Statistics Process Social Sciencies.</i>
TN	Test negativo.
TP	Test positivo.
TXA2	Tromboxano A2.

BIBLIOGRAFÍA

8 BIBLIOGRAFÍA

¹ Bernstein I, Gabbe SG. Intrauterine growth restriction. In: Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, Annas GJ, eds. *Obstetrics: normal and problem pregnancies*. 3d Ed. New York: Churchill-Livingstone, 1996:863-886.

² Dunn PM. The search for perinatal definitions and standards. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1985;319:7-16.

³ Gardosi J, Chang A, Kalyan B, Sahota D, Symonds EM. Customized antenatal growth charts. *Lancet* 1992;339:283-290.

⁴ McCormick MC. The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity. *N Engl J Med* 1985;312:82-90.

⁵ Ponce J, Martí L, Vela A, Lailla JM. Average deviation multiples estimation as a continuous variable for quantifying the growth retardation clinical and statistic impact. *J Perinat Med* 2001;29 (Suppl 1):531.

⁶ González Bosquet E, Cerqueira MJ, Pérez Quintana M, Cuerda M, Cabero Ll. Relación entre el peso de nacimiento y la edad de gestación en una población de recién nacidos del Hospital Materno Infantil del Valle de Hebrón. *Prog Obst Gin* 1995;38:162-167.

⁷ De la Fuente P. Crecimiento intrauterino retardado del feto (CIR). En: Cabero Roura Ll. *Protocolos asistenciales en Ginecología y Obstetricia*. Madrid: Ed. Comunicación y Servicio, 1994;1:109-114.

⁸ Cabero Roura Ll. Retardo de crecimiento intrauterino. En: Cabero Roura Ll. *Perinatología*. Barcelona: Salvat Editores S.A., 1986;1:281-316.

- ⁹ Larsen T, Larsen JF, Petersen S, Greisen G. Detection of small-for-gestational-age fetuses by ultrasound screening in high risk population: a randomised controlled study. *Br J Obstet Gynecol* 1992;99:469-474.
- ¹⁰ Carrera JM, Mortera C, Alegre M, Salvador MJ, Torrent M, Carreras E, Esteve E. Velocimetría Doppler en el control del crecimiento fetal. En: Carrera JM y cols. *Doppler en Obstetricia. Hemodinamia perinatal*. Barcelona: Ediciones Científicas y Técnicas S.A., 1992:309-321.
- ¹¹ Snijders R, Hyett J. Fetal testing in intra-uterine retardation. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1997;9:91-95.
- ¹² Mari G, Deter RL. Middle cerebral artery flow velocity waveforms in normal and small for gestational age fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1262-1270.
- ¹³ Gluckman PD, Breier BH, Oliver M, Harding J, Basset N. Fetal growth in late gestation. A constrained pattern of growth. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1990;367:105-110.
- ¹⁴ Oliver MH, Bloomfield FH, Harding JE, Breier BH, Basset NS, Gluckman PD. The maternal, fetal and postnatal somatotrophic axes in intrauterine growth retardation. *Biochem Soc Trans* 1999;27(2):69-73.
- ¹⁵ Chamberlain G. Small for gestational age. *BMJ* 1991;302:1592-1596.
- ¹⁶ Crane JP, Kopta MM. Comparative newborn anthropometric data in symmetric versus asymmetric intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1980;138:518-522.
- ¹⁷ Vik T, Vatten L, Jacobsen G, Bakketeig LS. Prenatal growth in symmetric and asymmetric small for gestational age infants. *Early Hum Dev* 1997 25;48:167-176.
- ¹⁸ Clapp JF. The clinical significance of asymmetric intrauterine growth retardation. *Pediat Ann* 1996;25:223-227.

- ¹⁹ Gluckman PD, Cutfield W, Harding JE, Milner D, Jensen E, Woodhall S, Gallaher B, Bauer M, Breier BH. Metabolic consequences of intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Suppl* 1996 Oct;417:3-6.
- ²⁰ Alsat E, Marcotty C, Gabriel R, Igout A, Frankenne F, Hennen G, Evain-Brion D. Molecular approach to intrauterine growth retardation: an overview of recent data. *Reprod Fertil Dev* 1995;7:1457-464.
- ²¹ Guevara-Aguirre J. Insulin-like growth factor I--an important intrauterine growth factor. *N Engl J Med* 1996;335:1389-1391.
- ²² D'Ercole AJ. Insulin-like growth factors and their receptors in growth. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996;25:573-590.
- ²³ Escalada J, Sanchez-Franco F, Velasco B, Cacicedo L. Regulation of growth hormone (GH) gene expression and secretion during pregnancy and lactation in the rat: role of insulin-like growth factor-I, somatostatin, and GH-releasing hormone. *Endocrinol* 1997;138:3435-3443.
- ²⁴ Gluckman PD, Harding JE. The physiology and pathophysiology of intrauterine growth retardation. *Horm Res* 1997;48 Suppl 1:11-16.
- ²⁵ Chatelain PG, Nicolino M, Claris O, Salle B, Chaussain J. Multiple hormone resistance in short children born with intrauterine growth retardation? *Horm Res* 1998;49 (Suppl 2):20-22.
- ²⁶ Woodall SM, Breier BH, Johnston BM, Gluckman PD. A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth. *J Endocrinol* 1996;150:231-242.
- ²⁷ Muaku SM, Beauloye V, Thissen JP, Underwood LE, Fossion C, Gerard G, Ketelslegers JM, Maiter D. Long-term effects of gestational protein malnutrition on

postnatal growth, insulin-like growth factor (IGF)-I, and IGF-binding proteins in rat progeny. *Pediatr Res* 1996;39:649-655.

²⁸ Monaco MH, Donovan SM. Moderate food restriction reduces serum IGF-I and alters circulating IGF-binding protein profiles in lactating rats. *J Endocrinol* 1997;152: 303-316.

²⁹ Lee WH, Gaylord TD, Bowsher RR, Hlaing M, Moorehead H, Liechty EA. Nutritional regulation of circulating insulin-like growth factors (IGFs) and their binding proteins in the ovine fetus. *Endocr J* 1997;44:163-173.

³⁰ Vilar J, de Onis M, Kestler E, Bolanos F, Cerezo R, Berendes H. The differential morbidity of the intrauterine growth retardation syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:151-157.

³¹ Oyen N, Skjaerven R, Little R, Wilcot A. Fetal growth retardation in Sudden Infant death syndrome babies and their sblings. *Am J Epid* 1995;142:84-90.

³² Low JA, Handley-Derry MH, Burke SO, Peters RD, Pater EA, Killen HL, Derrick EJ. Association of intrauterine fetal growth retardation and learning deficits at age 9 to 11 years. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1499-1505.

³³ Barker DJ. The intrauterine origins of cardiovascular and obstructive lung disease in adult life: The Mark Daniels lecture 1990. *J. Royal Coll Phys. London* 1991;25:129-133.

³⁴ Barker DJ, Martyn CN, Osmond C, Hales CN, Fall CH. Growth in utero and serum cholesterol concentration in adult life. *BMJ* 1993;307:1524-1527.

³⁵ Williams S, George I, Silva P. Intrauterine growth retardation and blood pressure at age seven and eighteen. *J Clin Epid* 1992;45:1257-1263.

- ³⁶ Osmond C, Barker JD, Winter PD, Fall CH, Simmonds SJ. Early growth and death from cardiovascular disease in women. *BMJ* 1993;307: 1519-1524.
- ³⁷ Kramer MS. Balanced protein/energy supplementation in pregnancy. In: Neilson JP, Crowther CA, Hodnett ED, et al. *Pregnancy and Childbirth Module of The Cochrane Database of Systematic Reviews*. The Cochrane Library, Issue I, 2002.
- ³⁸ Ribbert LS, Van Lingen RA, Visser GH. Continuous maternal hyperoxygenation in the treatment of early fetal growth retardation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1988;156:681-685.
- ³⁹ Uzan S, Beaufilet M, Breart G, Bazin B, Capitant C, Paris J. Prevention of fetal growth retardation with low-dose aspirin: findings of the EPREDA trial. *Lancet* 1991;337:1427-1431.
- ⁴⁰ Harding JE, Bauer MK, Kimble RM. Antenatal therapy for intrauterine growth retardation. *Acta Paediatr Suppl* 1997;423:196-200.
- ⁴¹ Muaku SM, Thissen JP, Gerard G, Ketelslegers JM, Maiter D. Postnatal catch-up growth induced by growth hormone and insulin-like growth factor-I in rats with intrauterine growth retardation caused by maternal protein malnutrition. *Pediatr Res* 1997;42:370-377.
- ⁴² Schoknecht PA, Ebner S, Skottner A, Burrin DG, Davis TA, Ellis K, Pond WG. Exogenous insulin-like growth factor-I increases weight gain in intrauterine growth-retarded neonatal pigs. *Pediatr Res* 1997;42:201-207.
- ⁴³ Tarantal AF, Hunter MK, Garbosky SE. Direct administration of insulin-like growth factor to fetal rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Endocrinol* 1997;138:3349-3358.

- ⁴⁴ Wangs HS, Chard T. The role of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein I in the control of human fetal growth. *J Endocrinol* 1992;132:11-19.
- ⁴⁵ Chard T. Insulin-like growth factors and their binding proteins in normal and abnormal human fetal growth. *Growth Regul* 1994;4:91-100.
- ⁴⁶ Han VK. The ontogeny of growth hormone, insulin-like growth factors and sex steroids: molecular aspects. *Horm Res* 1996;45:61-66.
- ⁴⁷ Ranke MB, Elmlinger M. Functional role of insulin-like growth factor binding proteins. *Horm Res* 1997;48 Suppl 4:9-15.
- ⁴⁸ Westwood M, Gibson JM, White A. Purification and characterization of the insulin-like growth factor-binding protein-1 phosphoform found in normal plasma. *Endocrinol* 1997;138:1130-1136.
- ⁴⁹ Martina NA, Kim E, Chitkara U, Wathen NC, Chard T, Giudice LC. Gestational age-dependent expression of insulin-like growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1) phosphoisoforms in human extraembryonic cavities, maternal serum, and decidua suggests decidua as the primary source of IGFBP-1 in these fluids during early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1894-1898.
- ⁵⁰ Chevallier B, Lagarde A, Degrelle H, Belaisch-Allart J, Giraudet P, Gallet JP. Insulin-like growth factor binding protein 1 level in amniotic fluid: correlation with birth weight. *Biol Neonate* 1998;73:404-406.
- ⁵¹ Holland MD, Hossner KL, Williams SE, Wallace CR, Niswender GD, Odde KG. Serum concentrations of insulin-like growth factors and placental lactogen during gestation in cattle. I. Fetal profiles. *Domest Anim Endocrinol* 1997;14:231-239.

- ⁵² Holmes RP, Holly JM, Soothill PW. A prospective study of maternal serum insulin-like growth factor-I in pregnancies with appropriately grown or growth restricted fetuses. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:1273-1278.
- ⁵³ Bauer M, Parvizi N. Pulsatile and diurnal secretion of GH and IGF-I in the chronically catheterized pig fetus. *J Endocrinol* 1996;149:125-133.
- ⁵⁴ Hills FA, English J, Chard T. Circulating levels of IGF-I and IGFBP-I throughout pregnancy: relation to birthweight and maternal weight. *J Endocrinol* 1996;148:303-309.
- ⁵⁵ MacDonald RS. The role of insulin-like growth factors in small intestinal cell growth and development. *Horm Metab Res* 1999;31:103-113.
- ⁵⁶ Hill DJ, Hogg J, Petrik J, Arany E, Han VK. Cellular distribution and ontogeny of insulin-like growth factors (IGFs) and IGF binding protein messenger RNAs and peptides in developing rat pancreas. *J Endocrinol* 1999;160:305-317.
- ⁵⁷ Batchelor DC, Hutchins AM, Klempt M, Skinner SJ. Developmental changes in the expression patterns of IGFs, type 1 IGF receptor and IGF-binding proteins-2 and -4 in perinatal rat lung. *J Mol Endocrinol* 1995;15:105-115.
- ⁵⁸ Cheung CY, Johnson DD, Reyes V. Ontogeny of insulin-like growth factor-I and -II gene expression in ovine fetal heart. *J Soc Gynecol Investig* 1996;3:309-315.
- ⁵⁹ Deleu S, Pirson I, Coulonval K, Drouin A, Taton M, Clermont F, Roger PP, Nakamura T, Dumont JE, Maenhaut C. IGF-1 or insulin, and the TSH cyclic AMP cascade separately control dog and human thyroid cell growth and DNA synthesis, and complement each other in inducing mitogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 1999;149:41-51.
- ⁶⁰ Lindenbergh-Kortleve DJ, Rosato RR, van Neck JW, Nauta J, van Kleffens M, Groffen C, Zwarthoff EC, Drop SL. Gene expression of the insulin-like growth factor system during mouse kidney development. *Mol Cell Endocrinol* 1997;132:81-91.

- ⁶¹ Langford K, Nicolaides K, Miell JP. Maternal and fetal insulin-like growth factors and their binding proteins in the second and third trimesters of human pregnancy. *Hum Reprod* 1998;13:1389-1393.
- ⁶² Spencer JA, Chang TC, Jones J, Robson SC, Preece MA. Third trimester fetal growth and umbilical venous blood concentrations of IGF-1, IGFBP-1, and growth hormone at term. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1995;73:F87-90.
- ⁶³ Sherrard RM, Richardson NA, Sara VR. Localisation of insulin-like growth factor-I (IGF-I) immunoreactivity in the olivocerebellar system of developing and adult rats. *Brain Res Dev Brain Res* 1997;98:102-113.
- ⁶⁴ Anlar B, Sullivan KA, Feldman EL. Insulin-like growth factor-I and central nervous system development. *Horm Metab Res* 1999;31:120-125.
- ⁶⁵ Wiznitzer A, Reece EA, Homko C, Furman B, Mazor M, Levy J. Insulin-like growth factors, their binding proteins, and fetal macrosomia in offspring of nondiabetic pregnant women. *Am J Perinatol* 1998;15:23-8.
- ⁶⁶ Nonoshita LD, Wathen NC, Dsupin BA, Chard T, Giudice LC. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins (IGFBPs), and proteolyzed IGFBP-3 in embryonic cavities in early human pregnancy: their potential relevance to maternal-embryonic and fetal interactions. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1249-1255.
- ⁶⁷ Chard T. Insulin-like growth factors and their binding proteins in normal and abnormal human fetal growth. *Growth Regul* 1994;4:91-100.
- ⁶⁸ Delmis J, Drazancic A, Ivanisevic M, Suchanek E. Glucose, insulin, HGH and IGF-I levels in maternal serum, amniotic fluid and umbilical venous serum: a comparison between late normal pregnancy and pregnancies complicated with diabetes and fetal growth retardation. *J Perinat Med* 1992;20:47-56.

- ⁶⁹ Wathen NC, Wang HS, Cass PL, Campbell DJ, Chard T. Insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-1 in early human pregnancy. *Early Hum Dev* 1992;28:105-110.
- ⁷⁰ Wathen NC, Egembah S, Campbell DJ, Farkas A, Chard T. Levels of insulin-like growth factor-binding protein-1 increase rapidly in amniotic fluid from 11 to 16 weeks of pregnancy. *J Endocrinol* 1993;137:R1-4.
- ⁷¹ Klauwer D, Blum WF, Hanitsch S, Rascher W, Lee PD, Kiess W. IGF-I, IGF-II, free IGF-I and IGFBP-1, -2 and -3 levels in venous cord blood: relationship to birthweight, length and gestational age in healthy newborns. *Acta Paediatr* 1997;86:826-833.
- ⁷² Osorio M, Torres J, Moya F, Pezzullo J, Salafia C, Baxter R, Schwander J, Fant M. Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF binding proteins-1, -2, and -3 in newborn serum: relationships to fetoplacental growth at term. *Early Hum Dev* 1996;46:15-26.
- ⁷³ Hamilton GS, Lysiak JJ, Han VK, Lala PK. Autocrine-paracrine regulation of human trophoblast invasiveness by insulin-like growth factor (IGF)-II and IGF-binding protein (IGFBP)-1. *Exp Cell Res* 1998;244:147-156.
- ⁷⁴ Crawford RA, Hills FA, Farkas A, Chard T. Elevated levels of insulin-like growth factor binding protein-1 in fetal distress. *Br J Obstet Gynaecol* 1995;102:538-540.
- ⁷⁵ Hills FA, Crawford R, Harding S, Farkas A, Chard T. The effects of labor on maternal and fetal levels of insulin-like growth factor binding protein-1. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1292-1295.
- ⁷⁶ Tapanainen PJ, Bang P, Wilson K, Unterman TG, Vreman HJ, Rosenfeld RG. Maternal hypoxia as a model for intrauterine growth retardation: effects on insulin-like growth factors and their binding proteins. *Pediatr Res* 1994;36:152-158.

- ⁷⁷ Tapanainen PJ, Bang P, Muller HL, Wilson K, Rosenfeld RG. Hypoxia-induced changes in insulin-like growth factors and their binding proteins in pregnant rats. *Horm Res* 1997;48:227-234.
- ⁷⁸ Tazuke SI, Mazure NM, Sugawara J, Carland G, Faessen GH, Suen LF, Irwin JC, Powell DR, Giaccia AJ, Giudice LC. Hypoxia stimulates insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) gene expression in HepG2 cells: a possible model for IGFBP-1 expression in fetal hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:10188-10193.
- ⁷⁹ Hills FA, Gunn LK, Hardiman P, Thamaratnam S, Chard T. IGFBP-1 in the placenta, membranes and fetal circulation: levels at term and preterm delivery. *Early Hum Dev* 1996;44:71-76.
- ⁸⁰ Miyazaki E, Ohshiro K, Taira Y, Puri P. Altered insulin-like growth factor I mRNA expression in human hypoplastic lung in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg* 1998;33:1476-1479.
- ⁸¹ Bauer MK, Harding JE, Bassett NS, Breier BH, Oliver MH, Gallaher BH, Evans PC, Woodall SM, Gluckman PD. Fetal growth and placental function. *Mol Cell Endocrinol* 1998;140:115-120.
- ⁸² Han VK, Bassett N, Walton J, Challis JR. The expression of insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding protein (IGFBP) genes in the human placenta and membranes: evidence for IGF-IGFBP interactions at the feto-maternal interface. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2680-2693.
- ⁸³ Giudice LC. Multifaceted roles for IGFBP-1 in human endometrium during implantation and pregnancy. *Ann N Y Acad Sci* 1997;828:146-156.
- ⁸⁴ Liu L, Brinkman A, Blat C, Harel L. IGFBP-1, an insulin like growth factor binding protein, is a cell growth inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;174:673-679.

- ⁸⁵ Hamilton GS, Lysiak JJ, Han VK, Lala PK. Autocrine-paracrine regulation of human trophoblast invasiveness by insulin-like growth factor (IGF)-II and IGF-binding protein (IGFBP)-1. *Exp Cell Res* 1998;244:147-156.
- ⁸⁶ Cianfarani S, Germani D, Rossi L, Argiro G, Boemi S, Lemon M, Holly JM, Branca F. IGF-I and IGF-binding protein-1 are related to cortisol in human cord blood. *Eur J Endocrinol* 1998;138:524-529.
- ⁸⁷ Holmes R, Montemagno R, Jones J, Preece M, Rodeck C, Soothill P. Fetal and maternal plasma insulin-like growth factors and binding proteins in pregnancies with appropriate or retarded fetal growth. *Early Hum Dev* 1997;49:7-17.
- ⁸⁸ Ostlund E, Bang P, Hagenas L, Fried G. Insulin-like growth factor I in fetal serum obtained by cordocentesis is correlated with intrauterine growth retardation. *Hum Reprod* 1997;12:840-844.
- ⁸⁹ Bocconi L, Mauro F, Maddalena SE, De Iulio C, Tirelli AS, Pace E, Nicolini U. Insulinlike growth factor 1 in controls and growth-retarded fetuses. *Fetal Diagn Ther* 1998;13:192-196.
- ⁹⁰ Lassarre C, Hardouin S, Daffos F, Forestier F, Frankenne F, Binoux M. Serum insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in the human fetus. Relationships with growth in normal subjects and in subjects with intrauterine growth retardation. *Pediatr Res* 1991;29:219-225.
- ⁹¹ Leger J, Noel M, Limal JM, Czernichow P. Growth factors and intrauterine growth retardation. I. Serum growth hormone, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, and IGF binding protein 3 levels in normally grown and growth-retarded human fetuses during the second half of gestation. *Pediatr Res* 1996;40:94-100.
- ⁹² Verhaeghe J, Coopmans W, van Herck E, van Schoubroeck D, Deprest JA, Witters I. IGF-I, IGF-II, IGF binding protein 1, and C-peptide in second trimester amniotic fluid

are dependent on gestational age but do not predict weight at birth. *Pediatr Res* 1999;46:101-108.

⁹³ Ponce J. *Avaluació dels nivells en líquid amniòtic de la IGF-I i la IGFBP-I en fetus afectats per retard de creixement intrauterí (Tesi Doctoral)*. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona, 1998.

⁹⁴ Woods KA, Camacho-Hubner C, Barter D, Clark AJ, Savage MO. Insulin-like growth factor I gene deletion causing intrauterine growth retardation and severe short stature. *Acta Paediatr Suppl* 1997;423:39-45.

⁹⁵ Woods KA, Camacho-Hubner C, Savage MO, Clark AJ. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. *N Engl J Med* 1996;335:1363-1367.

⁹⁶ Wang HS, Lee JD, Cheng BJ, Soong YK. IGF-binding protein 1 and IGF-binding protein 3 in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynecol* 1996;103:654-659.

⁹⁷ Di Biase N, Napoli A, Caiola S, Buongiorno AM, Maroccia E, Sabbatini A, Fallucca F. IGF-1 levels in diabetic pregnant women and their infants. *Ann Ist Super Sanita* 1997;33:379-382.

⁹⁸ Yan-Jun L, Tsushima T, Minei S, Sanaka M, Nagashima T, Yanagisawa K, Omori Y. Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins (IGFBP-1, -2 and -3) in diabetic pregnancy: relationship to macrosomia. *Endocr J* 1996;43:221-231.

⁹⁹ Roth S, Abernathy MP, Lee WH, Pratt L, Denne S, Golichowski A, Pescovitz OH. Insulin-like growth factors I and II peptide and messenger RNA levels in macrosomic infants of diabetic pregnancies. *J Soc Gynecol Investig* 1996;3:78-84.

¹⁰⁰ Culler FL, Tung RF, Jansons RA, Mosier HD. Growth promoting peptides in diabetic and non-diabetic pregnancy: interactions with trophoblastic receptors and serum carrier proteins. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1996;9:21-29.

- ¹⁰¹ Trayhurn P, Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV. Leptin: fundamental aspects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23 (Suppl 1):22-28.
- ¹⁰² Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet* 1998; 7:737-742.
- ¹⁰³ Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. *Ann Intern Med* 1999;130:671-680.
- ¹⁰⁴ Henson MC, Swan KF, O'Neil JS. Expression of placental leptin and leptin receptor transcripts in early pregnancy and at term. *Obstet Gynecol* 1998;92:1020-1028.
- ¹⁰⁵ Senaris R, Garcia-Caballero T, Casabiell X, Gallego R, Castro R, Considine RV, Dieguez C, Casanueva FF. Synthesis of leptin in human placenta. *Endocrinol* 1997 Oct;138:4501-4504.
- ¹⁰⁶ Hauguel-de Mouzon S, Leperq J. Placental leptin and pregnancy pathologies. *Gynecol Obstet Fertil* 2001;29:534-537.
- ¹⁰⁷ Schubring C, Blum WF, Kratzsch J, Deutscher J, Kiess W. Leptin, the ob gen product, in female health and disease. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000 ;88:121-127.
- ¹⁰⁸ Sabogal JC, Munoz L. Leptin in obstetrics and gynecology: a review. *Obstet Gynecol Surv* 2001;56:225-230.
- ¹⁰⁹ Van Gaal LF, Wauters MA, Mertens IL, Considine RV, De Leeuw IH. Clinical endocrinology of human leptin. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23 (Suppl 1):29-36.
- ¹¹⁰ Jensen MD, Hensrud D, O'Brien PC, Nielsen S. Collection and interpretation of plasma leptin concentration data in humans. *Obes Res* 1999;7:241-245.

- ¹¹¹ Ruige JB, Dekker JM, Blum WF, Stehouwer CD, Nijpels G, Mooy J, Kostense PJ, Bouter LM, Heine RJ. Leptin and variables of body adiposity, energy balance, and insulin resistance in a population-based study. The Hoorn Study. *Diabetes Care* 1999;22:1097-1104.
- ¹¹² Baumgartner RN, Waters DL, Morley JE, Patrick P, Montoya GD, Garry PJ. Age-related changes in sex hormones affect the sex difference in serum leptin independently of changes in body fat. *Metabolism* 1999; 48:378-384.
- ¹¹³ Coleman RA, Herrmann TS. Nutritional regulation of leptin in humans. *Diabetologia* 1999;42:639-646.
- ¹¹⁴ Bradley RL, Cheatham B. Regulation of ob gene expression and leptin secretion by insulin and dexamethasone in rat adipocytes. *Diabetes* 1999; 48:272-278.
- ¹¹⁵ Mantzoros CS, Varvarigou A, Kaklamani VG, Beratis NG, Flier JS. Effect of birth weight and maternal smoking on cord blood leptin concentrations of full-term and preterm newborns. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:2856-2861.
- ¹¹⁶ Donahue RP, Zimmet P, Bean JA, Decourten M, DeCarlo Donahue RA, Collier G, Goldberg RB, Prineas RJ, Skyler J, Schneiderman N. Cigarette smoking, alcohol use, and physical activity in relation to serum leptin levels in a multiethnic population: The Miami Community Health Study. *Ann Epidemiol* 1999;9:108-113.
- ¹¹⁷ Nicklas BJ, Tomoyasu N, Muir J, Goldberg AP. Effects of cigarette smoking and its cessation on body weight and plasma leptin levels. *Metabolism* 1999;48:804-808.
- ¹¹⁸ Eliasson B, Smith U. Leptin levels in smokers and long-term users of nicotine gum. *Eur J Clin Invest* 1999;29:145-152.

- ¹¹⁹ De Silva A, De Courten M, Zimmet P, Nicholson G, Kotowicz M, Pasco J, Collier GR. Lifestyle factors fail to explain the variation in plasma leptin concentrations in women. *Nutrition* 1998;14:653-657.
- ¹²⁰ Tamura T, Goldenberg RL, Johnston KE, Cliver SP. Serum leptin concentrations during pregnancy and their relationship to fetal growth. *Obstet Gynecol* 1998; 91:389-395.
- ¹²¹ Bradley RL, Cheatham B. Regulation of ob gene expression and leptin secretion by insulin and dexamethasone in rat adipocytes. *Diabetes* 1999; 48:272-278.
- ¹²² Berneis K, Vosmeer S, Keller U. Effects of glucocorticoids and of growth hormone on serum leptin concentrations in man. *Eur J Endocrinol* 1996; 135:663-665.
- ¹²³ Mantzoros CS. Role of leptin in reproduction. *Ann NY Acad Sci* 2000;900:174-183.
- ¹²⁴ Hakansson ML, Brown H, Ghilardi N, Skoda RC, Meister B. Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus. *J Neurosci* 1998;18:559-572.
- ¹²⁵ Kielar D, Clark JS, Ciechanowicz A, Kurzawski G, Sulikowski T, Naruszewicz M. Leptin receptor isoforms expressed in human adipose tissue. *Metabolism* 1998; 47:844-847.
- ¹²⁶ Wauters M, Considine RV, Van Gaal LF. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol* 2000;143:293-311.
- ¹²⁷ Kiess W, Muller G, Galler A, Reich A, Deutscher J, Klammt J, Kratzsch J. Body fat mass, leptin and puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13 (Suppl 1):717-722.
- ¹²⁸ Widmaier EP, Long J, Cadigan B, Gurgel S, Kunz TH. Leptin, corticotropin-releasing hormone (CRH), and neuropeptide Y (NPY) in free-ranging pregnant bats. *Endocrine* 1997; 7:145-150.

- ¹²⁹ Jequier E, Tappy L. Regulation of body weight in humans. *Physiol Rev* 1999;79:451-480.
- ¹³⁰ Barr VA, Lane K, Taylor SI. Subcellular localization and internalization of the four human leptin receptor isoforms. *J Biol Chem* 1999; 274:21416-424.
- ¹³¹ Uotani S, Bjorbaek C, Tornoe J, Flier JS. Functional properties of leptin receptor isoforms: internalization and degradation of leptin and ligand-induced receptor downregulation. *Diabetes* 1999;48:279-286.
- ¹³² Reis FM, Florio P, Cobellis L, Luisi S, Severi FM, Bocchi C, Picciolini E, Centini G, Petraglia F. Human placenta as a source of neuroendocrine factors. *Biol Neonate* 2001;79:150-156.
- ¹³³ Ashworth CJ, Hoggard N, Thomas L, Mercer JG, Wallace JM, Lea RG. Placental leptin. *Rev Reprod* 2000;5:18-24.
- ¹³⁴ Hassink SG, de Lancey E, Sheslow DV, Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, Considine RV, Opentanova I, Dostal K, Spear ML, Leef K, Ash M, Spitzer AR, Funanage VL. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development?. *Pediatrics* 1997;100:E1.
- ¹³⁵ Kratzsch J, Hockel M, Kiess W. Leptin and pregnancy outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2000;12:501-505.
- ¹³⁶ Tamas P, Sulyok E, Szabo I, Vizer M, Ertl T, Rascher W, Blum WF. Changes of maternal serum leptin levels during pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 1998;46:169-171.
- ¹³⁷ Schubring C, Englaro P, Siebler T, Blum WF, Demirakca T, Kratzsch J, Kiess W. Longitudinal analysis of maternal serum leptin levels during pregnancy, at birth and up to six weeks after birth: relation to body mass index, skinfolds, sex steroids and umbilical cord blood leptin levels. *Horm Res* 1998;50:276-283.

- ¹³⁸ Cetin I, Morpurgo PS, Radaelli T, Taricco E, Cortelazzi D, Bellotti M, Pardi G, Beck-Peccoz P. Fetal plasma leptin concentrations relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr Res* 2000;48:646-651.
- ¹³⁹ Shaarawy M, el-Mallah SY. Leptin and gestational weight gain: relation of maternal and cord blood leptin to birth weight. *J Soc Gynecol Investig* 1999;6:70-73.
- ¹⁴⁰ Gomez L, Carrascosa A, Yeste D, Potau N, Rique S, Ruiz-Cuevas P, Almar J. Leptin values in placental cord blood of human newborns with normal intrauterine growth after 30-42 weeks of gestation. *Horm Res* 1999;51:10-14.
- ¹⁴¹ Ertl T, Funke S, Sarkany I, Szabo I, Rascher W, Blum WF, Sulyok E. Postnatal changes of leptin levels in full-term and preterm neonates: their relation to intrauterine growth, gender and testosterone. *Biol Neonato* 1999;75:167-176.
- ¹⁴² Tome MA, Lage M, Camina JP, Garcia-Mayor RV, Dieguez C, Casanueva FF. Sex-based differences in serum leptin concentrations from umbilical cord blood at delivery. *Eur J Endocrinol* 1997;137:655-658.
- ¹⁴³ Helland IB, Reseland JE, Saugstad OD, Drevon CA. Leptin levels in pregnant women and newborn infants: gender differences and reduction during the neonatal period. *Pediatrics* 1998;101:E12.
- ¹⁴⁴ Koistinen HA, Koivisto VA, Andersson S, Karonen SL, Kontula K, Oksanen L, Teramo KA. Leptin concentration in cord blood correlates with intrauterine growth. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3328-3330.
- ¹⁴⁵ Matsuda J, Yokota I, Iida M, Murakami T, Yamada M, Saijo T, Naito E, Ito M, Shima K, Kuroda Y. Dynamic changes in serum leptin concentrations during the fetal and neonatal periods. *Pediatr Res* 1999;45:71-75.

- ¹⁴⁶ Tarquini B, Tarquini R, Perfetto F, Cornelissen G, Halberg F. Genetic and environmental influences on human cord blood leptin concentration. *Pediatrics* 1999; 103:998-1006.
- ¹⁴⁷ Yura S, Sagawa N, Mise H, Mori T, Masuzaki H, Ogawa Y, Nakao K. A positive umbilical venous-arterial difference of leptin level and its rapid decline after birth. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:926-930.
- ¹⁴⁸ Hytinen TK, Koistinen HA, Teramo K, Karonen SL, Koivisto VA, Andersson S. Increased fetal leptin in type I diabetes mellitus pregnancies complicated by chronic hypoxia. *Diabetologia* 2000;43:709-713.
- ¹⁴⁹ Schubring C, Kiess W, Englaro P, Rascher W, Dotsch J, Hanitsch S, Attanasio A, Blum WF. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1480-483.
- ¹⁵⁰ Schubring C, Kiess W, Englaro P, Rascher W, Blum W. Leptin concentrations in amniotic fluid, venous and arterial cord blood and maternal serum: high leptin synthesis in the fetus and inverse correlation with placental weight. *Eur J Pediatr* 1996;155:830.
- ¹⁵¹ Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, De Johnston J, Lancey ED, Hassink SG, Funanage VL. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1810-1813.
- ¹⁵² Mikhail AA, Beck EX, Shafer A, Barut B, Gbur JS, Zupancic TJ, Schweitzer AC, Cioffi JA, Lacaud G, Ouyang B, Keller G, Snodgrass HR. Leptin stimulates fetal and adult erythroid and myeloid development. *Blood* 1997;89:1507-1512.
- ¹⁵³ Henson MC, Castracane VD. Leptin in pregnancy. *Biol Reprod* 2000;63:1219-1228.

- ¹⁵⁴ Maffei M, Volpe L, Di Cianni G, Bertacca A, Ferdeghini M, Murru S, Teti G, Casadidio I, Cecchetti P, Navalesi R, Benzi L. Plasma leptin levels in newborns from normal and diabetic mothers. *Horm Metab Res* 1998; 30:575-580.
- ¹⁵⁵ Gross GA, Solenberger T, Philpott T, Holcomb WL Jr, Landt M. Plasma leptin concentrations in newborns of diabetic and nondiabetic mothers. *Am J Perinatol* 1998;15:243-247.
- ¹⁵⁶ Lepercq J, Cauzac M, Lahlou N, Timsit J, Girard J, Auwerx J, Hauguel-de Mouzon S. Overexpression of placental leptin in diabetic pregnancy: a critical role for insulin. *Diabetes* 1998;47:847-850.
- ¹⁵⁷ Mise H, Sagawa N, Matsumoto T, Yura S, Nanno H, Itoh H, Mori T, Masuzaki H, Hosoda K, Ogawa Y, Nakao K.. Augmented placental production of leptin in preeclampsia: possible involvement of placental hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3225-3229.
- ¹⁵⁸ McCarthy JF, Misra DN, Roberts JM. Maternal plasma leptin is increased in preeclampsia and positively correlates with fetal cord concentration. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:731-736.
- ¹⁵⁹ Hytinantti TK, Koistinen HA, Teramo K, Karonen SL, Koivisto VA, Andersson S. Increased leptin concentration in preterm infants of pre-eclamptic mothers. *Arch Dis child Fetal Neonatal Ed* 2000;83:F13-16.
- ¹⁶⁰ Williams MA, Havel PJ, Schwartz MW, Leisenring WM, King IB, Zingheim RW, Zebelman AM, Luthy DA. Pre-eclampsia disrupts the normal relationship between serum leptin concentrations and adiposity in pregnant women. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1999; 13:190-204.
- ¹⁶¹ Reitman ML, Bi S, Marcus-Samuels B, Gavrilova O. Leptin and its role in pregnancy and fetal development. *Bochem Soc Trans* 2001;29:68-72.

- ¹⁶² Holness MJ, Munns MJ, Sugden MC. Current concepts concerning the role of leptin in reproductive function. *Mol Cell Endocrinol* 1999;157:11-20.
- ¹⁶³ Lonnqvist F, Nordfors L, Schalling M. Leptin and its potential role in human obesity. *J Intern Med* 1999;245:643-652.
- ¹⁶⁴ Jequier E, Tappy L. Regulation of body weight in humans. *Physiol Rev* 1999;79:451-480.
- ¹⁶⁵ Kokot F, Adamczak M, Wiecek A, Cieplak J. Does leptin play a role in the pathogenesis of essential hypertension? *Kidney Blood Press Res* 1999;22:154-160.
- ¹⁶⁶ Lewandowski K, Horn R, O'Callaghan CJ, Dunlop D, Medley GF, O'Hare P, Brabant G. Free leptin, bound leptin, and soluble leptin receptor in normal and diabetic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:300-306.
- ¹⁶⁷ Mathiak K, Gowin W, Hebebrand J, Ziegler A, Blum WF, Felsenberg D, Lubbert H, Kopp W. Serum leptin levels, body fat deposition, and weight in females with anorexia or bulimia nervosa. *Horm Metab Res* 1999;31:274-277.
- ¹⁶⁸ Kokot F, Wiecek A, Adamczak M, Ulman I, Spiechowicz U, Cieplak J, Mesjasz J. Pathophysiological role of leptin in patients with chronic renal failure, in kidney transplant patients, in patients with essential hypertension, and in pregnant women with preeclampsia. *Artif Organs* 1999; 23:70-74.
- ¹⁶⁹ Thomas RL, Blakemore KJ. Evaluation of elevations in maternal serum alpha-fetoprotein. *Obstet Gynecol Surv.* 1990;45:269.
- ¹⁷⁰ Cunningham, Mac Donald, Gant, Leveno, Gilstrap. *Williams Obstetricia* 4^a Ed. Diagnóstico prenatal y técnicas invasivas de monitorización fetal. Cap 41:925-1043.
- ¹⁷¹ Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein binding proteins: implications for transmembrane passage and subcellular localization. *Life Sci* 1995;56:1-9.

- ¹⁷² Mizejewski GJ. An apparent dimerization motif in the third domain of alpha-fetoprotein: molecular mimicry of steroid/thyroid nuclear receptor superfamily. *Bioessay* 1993, 15:427-432.
- ¹⁷³ Mizejewski GJ. Separation of the estrogen-activated growth-regulatory forms of alpha-fetoprotein in mouse amniotic fluid. *Biol Reprod* 1990, 42:887-898.
- ¹⁷⁴ Benassayag C, Mignot TM, Haourigui M, Civel C, Hassid J, Carbonne B, Nunez EA, Ferre F. High polyunsaturated fatty acid, thromboxane A2 and alpha-fetoprotein concentrations and the human feto-maternal interface. *J Lipid Res* 1997, 38:71-81.
- ¹⁷⁵ Thomas RL, Blakemore KJ. Chorioangioma: a new inclusion in the prospective and retrospective evaluation of elevated maternal serum alpha-fetoprotein. *Prenat Diagn* 1990;10:691-696.
- ¹⁷⁶ Crandall BF, Robinson L, Grau P. Risks associated with an elevated maternal serum alpha-fetoprotein level. *Am J Obstet Gynecol* 1991,165:581.
- ¹⁷⁷ Huerta-Enochian G, Katz V, Erfurth S. The association of abnormal alpha-fetoprotein and adverse pregnancy outcome: does increased fetal surveillance affect pregnancy outcome?. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1549-1553.
- ¹⁷⁸ Verspyck E, Degre S, Hellot MF, Descargues G, Philippe C, Labadie G, Benichou J, Lemoine JP, Marpeau L. Amniotic fluid alpha-fetoprotein is not a useful biological marker of pregnancy outcome. *Prenat Diagn* 1999;19:1031-1034.
- ¹⁷⁹ Ochshorn Y, Kupferminc MJ, Eldor A, Wolman I, Lessing JB, Yaron Y. Second trimester maternal serum alpha-fetoprotein is elevated in women with adverse pregnancy outcome associated with inherited thrombophilias. *Prenat Diagn* 2001;21:658-661.

- ¹⁸⁰ Eisele LE, Mesfin FB, Bennett JA, Andersen TT, Jacobson HI, Soldwedel H, MacColl R, Mizejewski GJ. Studies on a growth-inhibitory peptide derived from alpha-fetoprotein and some analogs. *J Pept Res* 2001;57:29-38.
- ¹⁸¹ Vakharia D, Mizejewski GJ. Human alpha-fetoprotein peptides bind estrogen receptor and estradiol, and suppress breast cancer. *Breast Cancer res Treat* 2000 ;63:41-52.
- ¹⁸² Verrier M, Spears W, Ying J, Kerr GR. Patterns of birth weight in relation to gestational age, maternal age, parity, and prenatal care in Texas triethnic population, 1984 through 1986. *Tex Med* 1993; 89:51-56.
- ¹⁸³ Launer LJ, Villar J, Kestler E, de Onis M. The effect of maternal work on fetal growth and duration of pregnancy: a prospective study. *Br J Obstet Gynecol* 1990; 97:62-70.
- ¹⁸⁴ Kramer MS. Determinants of low birth weight: methodological assessment and meta-analysis. *Bull World Health Organ* 1987,65:663-737.
- ¹⁸⁵ Beattie RB, Whittle MJ. The etiology of intrauterine growth retardation. *Curr Obstet Gynecol* 1993; 3:183-189.
- ¹⁸⁶ Spinillo A, Capuzzo E, Piazzzi G, Nicola S, Colonna L, Iasci A. Maternal high-risk factors and severity of growth deficit in small for gestational age infants. *Early Hum Dev* 1994; 38:35-43.
- ¹⁸⁷ Giudice LC, Martina NA, Crystal RA, Tazuke S, Druzin M. Insulin-like growth factor binding protein-1 at the maternal-fetal interface and insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-II, and insulin-like growth factor binding protein-1 in the circulation of women with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:751-757.

- ¹⁸⁸ Lewitt MS, Scott FP, Clarke NM, Baxter RC. Developmental regulation of circulating insulin-like growth factor-binding proteins in normal pregnancies and in pre-eclampsia. *Prog Growth Factor Res* 1995;6:475-480.
- ¹⁸⁹ Wang HS, Lee JD, Cheng BJ, Soong YK. IGF-binding protein 1 and IGF-binding protein 3 in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynecol* 1996;103:654-659.
- ¹⁹⁰ Kokot F, Adamczak M, Wiecek A, Cieplik J. Does leptin play a role in the pathogenesis of essential hypertension?. *Kidney Blood Press Res* 1999;22:154-160.
- ¹⁹¹ Yerushalmy J. The relationship of parent's cigarette smoking to outcome of pregnancy. Implications as to the problem of inferring causation from observed causes. *Am J Epid* 1971;93:443-456.
- ¹⁹² Rubin DH, Krasilnikoff PA, Leventhal JM, Weile B, Berget A. Effect of passive smoking on birth weight. *Lancet* 1986; 2:415-417.
- ¹⁹³ Nicklas BJ, Tomoyasu N, Muir J, Goldberg AP. Effects of cigarette smoking and its cessation on body weight and plasma leptin levels. *Metabolism* 1999;48:804-808.
- ¹⁹⁴ Fabre E, González de Agüero R, de Agustin JL. Morbilidad y mortalidad perinatal. Mortalidad perinatal. Análisis de la situación actual en España. XIV Congreso Nacional de Medicina Perinatal. Libro de ponencias. Santander 1993;13-45.
- ¹⁹⁵ Monleón J, Mínguez J, Perales A.. Asistencia al parto en casos de crecimiento intrauterino retardado. *Prog Obstet Ginecol* 36:40-48.
- ¹⁹⁶ Helland IB, Reseland JE, Saugstad OD, Drevon CA. Leptin levels in pregnant women and newborn infants: gender differences and reduction during the neonatal period. *Pediatrics* 1998;101:E12.

- ¹⁹⁷ Baumgartner RN, Waters DL, Morley JE, Patrick P, Montoya GD, Garry PJ. Age-related changes in sex hormones affect the sex difference in serum leptin independently of changes in body fat. *Metabolism* 1999; 48:378-384.
- ¹⁹⁸ Tome MA, Lage M, Camina JP, Garcia-Mayor RV, Dieguez C, Casanueva FF. Sex-based differences in serum leptin concentrations from umbilical cord blood at delivery. *Eur J Endocrinol* 1997;137:655-658.
- ¹⁹⁹ Fabre E, Pérez hiraldo MP, González de Agüero R, de Agustin JL. Limitaciones de los estudios del equilibrio ácido-base fetal intraparto. *Prog Obstet Gin* 1995;38(Supl 1):S38-S56.
- ²⁰⁰ Barrios V, Argente J, Pozo J, Hervas F, Munoz MT, Sanchez JI, Hernandez M. Insulin-like growth factor I, Insulin-like growth factor binding proteins, and growth hormone binding protein in Spanish premature and full-term newborns. *Horm Res* 1996;46:130-137.
- ²⁰¹ Hakala-Ala-Pietila TH, Koistinen RA, Salonen RK, Seppala MT. Elevated second-trimester amniotic fluid concentration of insulin-like growth factor binding protein-1 in fetal growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:35-39.
- ²⁰² Ohnishi Y, Yamashiro C, Yanagihara T, Hata T. Hepatocyte growth factor concentration in the early second-trimester amniotic fluid does not predict fetal growth at birth. *Hum Reprod* 1999;14:2625-2628.
- ²⁰³ Jaquet D, Leger J, Levy-Marchal C, Oury JF, Czernichow P. Ontogeny of leptin in human fetuses and newborns: effect of intrauterine growth retardation on serum leptin concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1243-1246.
- ²⁰⁴ Williams MA, Hickok DE, Zingheim RW, Luthy DA, Kimelman J, Nyberg DA, Mahony BS. Elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels and midtrimester

placental abnormalities in relation to subsequent adverse pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1032-1037.

²⁰⁵ Cusick W, Rodis JF, Vintzileos AM, Albini SM, McMahon M, Campbell WA. Predicting pregnancy outcome from the degree of maternal serum alpha-fetoprotein elevation. *J Reprod Med* 1996;41:327-332.

²⁰⁶ Cho S, Durfee KK, Keel BA, Parks LH. Perinatal outcomes in a prospective matched pair study of pregnancy and unexplained elevated or low AFP screening. *J Perinat Med* 1997;25:476-483.

²⁰⁷ Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, O'Brien JE, Hallak M, Johnson MP, Evans MI. Second-trimester maternal serum marker screening: maternal serum alpha-protein, beta-human chorionic gonadotropin, estriol, and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:968-974.

²⁰⁸ Ochshorn Y, Kupferminc MJ, Eldor A, Wolman I, Lessing JB, Yaron Y. Second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein (MSAFP) is elevated in women with adverse pregnancy outcome associated with inherited thrombophilias. *Prenat Diagn* 2001;21:658-661.

²⁰⁹ Huerta-Enochian G, Katz V, Erfurth S. The association of abnormal alpha-fetoprotein and adverse pregnancy outcome: does increased fetal surveillance affect pregnancy outcome?. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1549-1553.

²¹⁰ Verspyck E, Degre S, Hellot MF, Descargues G, Philippe C, Labadie G, Benichou J, Lemoine JP, Marpeau L. Amniotic fluid alpha-fetoprotein is not a useful biological marker of pregnancy outcome. *Prenat Diagn* 1999;19:1031-1034.

²¹¹ Wiznitzer A, Furman B, Zuili I, Shany S, Reece EA, Mazor M. Cord leptin level and fetal macrosomia. *Obstet Gynecol* 2000;96:707-713.

- ²¹² Symonds ME, Mostyn A, Stephenson T. Cytokines and cytokine receptors in fetal growth and development. *Biochem Soc Trans* 2001;29:33-37.