

11217

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

DETERMINACION DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD EN PARALELO DEL TRIPLE Y CUADRUPLE MARCADOR BIOQUIMICO EN SUERO MATERNO EN RELACION A RIESGO GENETICO Y COMPLICACIONES DEL TERCER TRIMESTRE EN EL EMBARAZO EN PACIENTES DEL INPer.

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA



T E S I S DIRECCION DE ENSEÑANZA

PARA OBTENER EL TITULO DE: ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA PRESENTA:

DRA. MARIA DEL ROSARIO ROBLEDO MALDONADO

RBA

PROFESOR TITULAR DE JOSÉ ROBERTO AHUED AHUED ASESOR: DR. RICARDO JUAN GARCIA CAVAZOS

Ricardo Juan Garcia Cavazos





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

INDICE

1.- INTRODUCCION

2.- PLANTEAMIENTO

3.- OBJETIVO

4.- MATERIAL Y METODOS

5.- RESULTADOS

6.- DISCUSION

7.- CONCLUSIONES

8.- BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

De los grandes retos de la Gineco-Obstetricia moderna es el de lograr una comunicación rápida y veraz sobre el estado fetal, en las últimas décadas los logros obtenidos en el campo del diagnostico prenatal han tenido gran trascendencia y se orientan a proporcionar detección temprana de alteraciones fetales y/o complicaciones maternas que ponen en riesgo al binomio mateno-fetal.

PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

ANTECEDENTES HISTORICOS

Los avances en el diagnostico prenatal, se han orientado a la detección temprana de alteraciones fetales y complicaciones de la madre que pongan en peligro el embarazo, tratando de que la información obtenido no implique riesgo para el binomio materno fetal.

Los estudios de tamizaje bioquímico, son ejemplo de estos avances que se aplican para identificar mujeres sanas menores de 35^a en la edad optima para la procreación, con el riesgo durante el embarazo de presentar un producto con alteraciones congénitas y/o genéticas, y que justifique el indicar otros

procedimientos diagnósticos, costosos y con riesgo para la continuidad del embarazo.

Diczfalusky en 1961 demostró que la placenta correspondía a un órgano endocrino incompleto, e introdujo el concepto de unidad feto placentaria, lo cual sentó las bases para una mejor comprensión del valor bioquímica de la unidad y la posibilidad de utilizar parámetros bioquímicas para conocer el estado fetal. (18,19).

En 1952, Beergstrand y Czar descubren la alfa-feto proteína (AFP), en plasma fetal que por electroforesis se ubica entre la albúmina y la proteína alfa 1, esta es sintetizada por el hígado fetal y el saco vitelino, su función es poco conocida, se sugiere que puede ser un precursor de la albúmina para ligar esteroides y bilirrubina, el nombre de alfa feto proteína se le adjudica en 1960.

En 1972 Brock y Sutcliff utilizaban la AFP como marcador del estado de desarrollo fetal detectándose concentraciones anormalmente altas en líquido amniótico de fetos con anencefalia o espina bifida abierta.

Desde 1974 se estudia la concentración de AFP en suero materno. La que ha sido utilizando en programas de tamizaje para defectos del tubo neural (DTN), en los Estados Unidos, Reino unido y otros países occidentales.

Merkatz y cols en 1984 observaron la asociación de bajos niveles de AFP y un incremento en el riesgo de síndrome de Down (SD). Bogart y cols. Demostraron que la disminución de AFP se asocia a SD.

Canick y cols. En 1988 establecen como marcador confiable al estriol sérico no conjugado (UE3), para SD.

Burton en 1992 estableció la relación entre alteraciones inexplicables de AFP y resultados adversos del embarazo, así como Gravett en 1992 y Tanaka en 1993, encontraron que elevaciones de hormona gonadotropina corionica (HCG) durante el segundo trimestre del embarazo se asociaba a un pobre resultado perinatal. Estos autores sugirieron que cuando los niveles de AFP y HCG se encontraban por arriba de 2 múltiplos de la mediana (MoM), la incidencia de compromiso fetal se incrementa; Walters en 1993, obtuvo una conclusión similar, pero utilizando los dos marcadores mencionados y UE3, el cual se encontraba disminuido.

Además de las alteraciones cromosómicas y de los DTN, Gros y cols, en 1994, Beekhuis y otros, han encontrado relación de la preeclampsia, la muerte fetal intrauterina, el retardo en el crecimiento intrauterina, parto pretérmino, oligohidramnios, desprendimiento prematuro de placenta normoincerta, cambios vasculares en la placenta, infecciones virales congénitas (citomegalovirus, parvovirus y herpes), con alteraciones en los niveles del triple marcador.

En 1988 Wald y cols. Propusieron combinar los niveles sericos de AFP, hCG y UE3 con la edad materna para detectar todos los embarazos con SD. Usando este modelo, en un estudio retrospectivo, se detecto el 80% de los embarazos con SD, con falso positivo de 5%. Este mismo modelo fue aplicado posteriormente en 12,603 embarazadas en una clínica de Londres y se detecto el 68% de los casos de SD. El primer reporte de este estudio en Estados Unidos, fue publicado en 1992 por Haddow y cols, quiénes al monitorear a mas de 25,000 mujeres, identificaron 23 de 34 casos de SD (66%).

La determinación de los valores de estos marcadores se realiza por el radioinmunoensayo en suero de sangre materna. La estimación de este riesgo se estima en unidades llamados múltiplos de la mediana (MOM), lo cual es estimado mediante la siguiente formula:

MOM = AFP (unidades de masa) x Vol.

Mediana (tipo.semana)^{xrazaxDMID}

CARACTERISTICAS DE LOS MARCADORES BIOQUIMICOS

ALFA FETO PROTEINA (AFP)

BIOQUIMICA DE AFP

La AFP fue descubierta en 1956 por Bergstrand y Czar quienes usaron la electroforesis para demostrar una banda extra en la región alfa-1 en el suero fetal. La presencia de esta banda indico que el feto estaba produciendo una alta concentración de proteína que ya no era producida en el adulto normal (20).

Se cree que la AFP esta relacionada con la albúmina. Los genes de esta proteínas están localizados en el cromosoma 4 y la AFP tiene un peso molecular de (69 000 Daltons) y una estructura molecular similar a la albúmina. Su vida media es de 4 días en el adulto. (21-22) . (23,24).

La AFP es sintetizada por el feto en el hígado y en el saco vitelino, con una vida media de 24hrs (4 del 2000). y es la proteína serica predominante al inicio de la vida fetal, alcanzando una concentración, de 300mg/dl aproximadamente en el suero fetal al final del primer trimestre, posteriormente va descendiendo sus concentraciones y el único que continua la producción de AFP es el hígado hasta la semana 30, y posteriormente caen sus concentraciones rápidamente.(25).(18,26,27,28).

La función de la AFP no se conoce, tiene una estructura similar a la albumina y su presencia temporal en la circulación fetal sugiere que es un experto en el transporte de estrógenos y bilirrubina.

La orina fetal, normalmente tiene cantidades medibles de AFP, indicando que el riñón fetal ha permitido que una pequeña porción de AFP circulante se escape, probablemente por filtración. El pico de concentración de la AFP se encuentra en el líquido amniótico alrededor de las 12 semanas de gestación, después de lo cual decrece su concentración, alrededor del 10% semanalmente, durante el segundo trimestre (29).

Los niveles de AFP en el suero de la mujer son considerablemente altos durante el embarazo. Hay puntos de evidencia disponibles, de que el feto es el recurso de esta adición de AFP y la derivación fetal de AFP normalmente alcanza la circulación materna por difusión entre la placenta y el amnios. Los niveles de AFP en sangre materna aumentan constantemente desde el inicio del embarazo (alrededor del 15% por semana de embarazo durante el segundo trimestre) hasta la semana 30 de gestación, después de lo cual decrecen progresivamente los niveles (30).

La concentración de AFP en el plasma fetal alcanza un máximo aproximadamente a la semana 12 de gestación común nivel de 2-3 g/l (o mg/dl) y van disminuyendo progresivamente, el líquido amniótico los niveles de AFP son paralelos a los del plasma fetal, pero es aproximadamente la 200ava parte de la concentración plasmática del feto.

Las concentraciones de AFP en el líquido amniótico alcanzan un máximo a la semana 12 de gestación de 20-25mg/l y disminuyen progresivamente a .2mg/l en el parto los niveles de AFP en el suero materno son aproximadamente la 300ava parte del nivel del líquido amniótico (una 50,000 veces del nivel del plasma fetal). La ventana optima para tomar la muestra del nivel serico materno ocurre entre la semana 15 a 20 de gestación. La fuente de la AFP serica materna es primariamente debido al paso en baja proporción a través del amnios; sin embargo hay probablemente un paso directamente del plasma fetal por la placenta al suero materno (31,32).

La AFP fue utilizado como un marcador del desarrollo y estado fetal desde 1972 por Broca y Sultcliff, los cuales encontraron que la AFP se encontraba en concentraciones elevadas en el líquido amniótico de fetos con anencefalia y espina bifida (80).

(23,24). En 1974 Brock describe concentraciones elevadas de AFP en suero materno en casos de defectos del tubo neural abierto, fue hasta 1984 cuando

Merkatz y confirmado por Cuckle en el mismo año determinaron el uso de AFP en suero materno como índice de riesgo aumentado para el síndrome de Down (24,33,34).

Las elevaciones anormales de AFP en el segundo trimestre en particular se han reportado en asociación con efectos adversos del embarazo, como aborto espontáneo, bajo peso al nacimiento, parto pretermo, muerte fetal y neonatal, oligohidramnios, preeclampsia, abrupto placentario y RPM (35,36).

La determinación de AFP en suero materno es útil para determinar sufrimiento fetal crónico de etiología diversa (37,38), se han reconocido que en mujeres que presentan elevación inexplicable de AFP, tienen un riesgo cuatro veces mayor de presentar productos de bajo peso al nacer al menos de 1500gr (39). Waller y col en 1996 relacionaron a los neonatos pequeños para la edad gestacional con valores de AFP entre .82 y 1.34 MoM, el riesgo fue de 4.7% entre las mujeres con niveles mas bajos que tienen aproximadamente 2.3 veces mayor probabilidades tener un hijo pequeño para la edad estacional (38).

GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA (hGC).

La hGC es una glucoproteína que contiene galactosa y hexosamina, como las hormonas glucoproteicas hipofisarias esta constituida por las subunidades alfa y beta. La alfa hCG es muy semejante a la subunidad alfa de la Lh, FSH y TSH difiriendo solo en que tiene dos amoniacidos invertidos y le faltan tres aminoacidos en la terminal N.

El peso molecular de la alfa -hGC es de 18000 y el de la beta hGC es de 28000 la subunidad beta presenta una secuencia de aminoácidos específica y única siendo la determinante de la especificidad de la hormona. La hGC es principalmente luteinizante y luteotropa y tiene poca actividad de FSH.

Se sintetiza en el sincitiotrofoblasto bajo la influencia del citotrofoblasto el cual produce un polipéptido-factor liberador de hormona gonadotropina corionica (hCGRF). Su síntesis es fundamental durante el primer trimestre para mantener el cuerpo luteo necesario para la producción de progesterona y estradiol. Durante el embarazo los niveles de hCG presentan drásticamente un pico hacia la semana 10 de la gestación con concentraciones que van desde 100,000-200,000 IU/L. al inicio del segundo trimestre los niveles caen hasta 20,000 UI/L o 20 IU/mol en la semana 18 de la gestación. Borgart, reporta inicialmente que los niveles elevados de hCG en suero materno (hCGSM) se asocian a síndrome de Down, la elevación es aproximadamente del doble de la concentración

encontrada en embarazos no afectados entre la semana 15-20, por lo que parece ser el mejor marcador en la prueba de tamiz para el síndrome de Down. (40).

Los genes para esta hormona se localizan en el cromosoma 18 y 19. Puede ser medida por radioinmunoanálisis e identificada en la sangre desde los 6 días de la concepción. Su presencia en la orina en los primeros días del embarazo es la base de diversas pruebas diagnósticas, y en ocasiones, puede ser identificada en la orina a los 14 días después de la concepción (41).

ESTRIOL LIBRE NO CONJUGADO (UE3).

Los niveles séricos maternos de UE3 han sido reportados en varios estudios, demostrándose su aplicación en los procedimientos de búsqueda (tamiz) de alto riesgo. El UE3 es un derivado del sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS), producido en las glándulas corteza suprarrenal fetal, convertido a 16 alfa hidroxil DHEAS en el hígado fetal para posteriormente ser metabolizado en la placenta. . El uso del UE3 en forma aislada es poco específico, que al combinarse con los otros marcadores mejora la sensibilidad de la prueba para el tamizaje. No se utiliza estriol sérico materno total porque se incluiría el componente producido por la madre (42).

En 1998 Canick demostró que los niveles de UE3 en suero materno (UE3SM) son más bajos que los encontrados en embarazos sanos. El estudio dio origen a determinar que concentraciones de .73 a 0.79 MoM se identifican en embarazos

con síndrome de Down cuya concentración se considera baja para la edad gestacional de 15 a 20 SDG. La explicación es orientada a especular sobre la inmadurez de los tejidos involucrados en su producción (43).

INHIBINA A

La inhibina A es una glucoproteína con una subunidad alfa y una subunidad beta B unidas por un enlace disulfuro.

Durante el embarazo la inhibina se produce en el cuerpo luteo y después en la placenta.(14,15,16,17).

Wald comparo las cifras de inhibina A en suero materno de 77 embarazos afectados con síndrome de Down, con las de 1355 de un grupo testigo. Las cifras de inhibina A serica en mujeres con fetos afectados por dicho síndrome tuvieron una MoM promedio de 1.79. Con una tasa de falsos positivos de 5%, el uso de AFP, HCG, UE3 e inhibina sericos dio una tasa de identificación de 70% para síndrome de Down.

Lambert en 1998 encontró en un estudio con 21 pacientes con trisomía 18, 10 casos de síndrome de Turner con hidrops y 12 casos de Turner sin hidrops se encontraron niveles significativamente reducidos en caso de trisomía 18

(0.88MoM). Y en síndrome de Turner sin hidrops 0.64MoM, en contraste los niveles de inhibina A se elevaron en casos de Turner con hidrops a 3.91 MoM. Esto en suma con el triple marcador lo cual aumenta la detección de los ya mencionados. (1,10,11).

Benn en 2001 menciona niveles de AFP elevados, hCG elevados uE3 normal o baja, e inhibina A elevada en casos de síndrome de Down y en defectos del tubo neural. (2).

En otro estudio se reportaron detecciones de síndrome de Down con triple marcador de 65.6 a 67.3 % y con cuádruple marcador aumento la detección a 72- 73.4%. (3).

En 1996 Spencer estudio 157 casos de sd de Down y 367 controles en los cuales encontró 61% de detección con triple marcador y de 68% al agregar un cuarto marcador la inhibina. (4).

Wald en 1996 encontró que la detección de síndrome de Down con el triple marcador fue del 59% y que aumento a 70% en casos del cuádruple marcador, agregando inhibina. (5).

En 1980 se incluye el estriol libre (UE3) y la gonadotropina corionica (hGC) el primero de ellos se asocia a Síndrome de Down en baja concentración y el

segundo se encuentra elevado. Wald, muestra que la edad materna, AFP, UE3 y HCG son predictores independientes de riesgo para Síndrome de Down y sugieren que si combinación requiere de un análisis y ajuste individual (81). En 1992 Haddow reporta la triple prueba con edad materna y determina que es efectiva y eficiente. (43).

La combinación del triple marcador serico (hCG, AFP, UE3), tiene un rango de detección del SD de 80% con un falso positivo de 5.0%.(44,45,46,47,49,48).

Goodburn y cols. Coinciden con los demás estudios, en los que se establece que los

Niveles de UE3 son bajos en embarazos afectados (0.64 múltiplos de la mediana [MoM] y que su inclusión eleva a los márgenes de detección.(50,48,30,51).

Natasa Tul, muestra un estudio en Eslovenia publicado en 2003, en el que se estudiaron 1136 mujeres con embarazo único entre la semana 10 y 14, se tomaron niveles séricos de BhCG libre, PAPP-A y inhibina A, encontrándose una asociación de PAPP-A sus valores bajos se asociaron a productos con bajo peso al nacimiento ($n=51$ 0.76 MoM con $p=0.002$) y valores bajos en pacientes con productos con alto peso al nacer ($n=120$, 1.12MoM $p=0.036$). En pacientes con diabetes gestacional ($n=27$) los niveles de BhCG libre, PAPP-A e inhibina A fueron significativamente mas bajos que en los controles, en mujeres con alteraciones hipertensivas ($n=56$) no hubo diferencias significativas entre los niveles de los marcadores . En mujeres con parto pretérmino (menor de 34

semanas) (n=17), los niveles de inhibina A fueron significativamente mas altos. (1.25 MoM p=0.015).

(82).

Si el UE3 es excluido del tamiz y el riesgo calculado usando la edad materna, los niveles de AFP y hCG separadamente, solo el 53% de los embarazos afectados pueden ser identificados con el mismo rango de falsos positivos, comparado con el 75% de detección o mayor si se usan los tres marcadores.

La explicación mas difundida para la elevación de la AFP en embarazos complicados es el incremento en la transferencia de AFP por la placenta anormal, a la circulación materna

Y estas anomalías en la placenta incrementan el riesgo de un dudoso resultado perinatal.

Un estudio morfológico placentario mostró un incremento en el volumen del parénquima y una mayor área de vellosidades en pacientes con elevaciones de la AFP y paralelamente se produce un aumento en la cantidad de hCG. Por otro lado, la disminución en la perfusión causa infarto y cambios isquémicos, lo cual ha demostrado por exámenes histológicos lo cual incrementa la hCG ya que el origen de esta es puramente placentario. La perfusión reducida es un estímulo para la formación de tejido trofoblástico, por lo tanto, el incremento del volumen

trofoblastico se asocia a altos niveles de AFP y hCG, lo cual es pronostico de alto riesgo y mal resultado perinatal.^{52,54,54,55}

Burton y cols. Evaluaron los resultados del embarazo en mujeres con niveles de AFP altos y bajos, de los cuales notaron que había un importante resultado estadístico para

pérdida fetal cuando los valores eran bajos⁵⁶.

Existen muchos otros reportes que documentan niveles bajos de AFP con trisomía 18 y trisomía 13 y otras aneuploidias también se asocian con bajos niveles de AFP, incluyendo la trisomía 21, la triploidia y el síndrome de Turner, así como mosaicos y toros. En suma los bajos niveles de AFP observado en asociación con muerte fetal se ha repetido en varios estudios, así como la asociaron con mola hydatidiforme^{57,58}.

El descubrimiento en la asociación de AFP llevo a la introducción del termino de búsqueda de riesgo para SD, en la cual, los niveles de AFP en una mujer y la edad materna son usados para calcular el riesgo de un embarazo afectado. Si a esto se suma la búsqueda combinada de otros marcadores (hCG y UE3) se mejora el rango de riesgo. Esto lleva a poder seleccionar a las pacientes de riesgo, para realizar otros procedimientos de diagnostico prenatal⁵⁹.

El trabajo sobre AFP se extendió a otros marcadores sericos maternos como lo son el UE3 y la ge que combinados detectan el 70-80% de los embarazos afectados. (60).

Bartels en 1993 confirmó bajos niveles de hCG y UE3 en la trisomía 18, los protocolos de búsqueda con los tres marcadores diseñados para el SD son también utilizables en la trisomía 18.

DEFECTOS DEL TUBO NEURAL

En 1977, se publicó el primer estudio que definía la sensibilidad y especificidad del tamiz de AFP para DTN abiertos. Se reportaron 18648 embarazos únicos no afectados y 302 embarazos con DTN (146 con anencefalia, 143 con espina bífida y 13 con encefalocele), por los resultados obtenidos expresados como múltiplos de mediana (MoM) no pueden separarse completamente los embarazos afectados de los no afectados con 2.5 de MoM, el 89% de los embarazos con anencefalia y 75% de los embarazos con espina bífida abierta pueden ser detectados con falsos positivos de 3.3 %. Si se toma 2 MoM para la detección, aumento a 93% para anencefalia a 8.2%. Los defectos abiertos del tubo neural son confiables llevando a cabo el proceso de búsqueda adecuadamente. (61,62).

OLIGOHIDRAMNIOS

Existen varios reportes, tanto norteamericanos como holandeses, que describen una interesante asociación entre oligohidramnios y los niveles del triple marcados los cuales encuentran AFP aumentada, hGC aumentada y UE3 disminuida. (63,64).

BAJO PESO AL NACER

La mayoría de los estudios en los que las pacientes embarazadas presentan elevaciones inexplicables de AFP, han demostrado una alta incidencia de recién nacidos de bajo peso, esto representa un rango 5 veces mayor que el observado en pacientes con niveles normales de AFP (65,66).

BROS y cols fueron los primeros en observar la relación anteriormente mencionado, encontraron que el 10.7% de las mujeres con niveles de AFP mayores o iguales de 2.3 MoM tuvieron niños de bajo peso al nacer (500g) en contraste con el 4.2% de las mujeres de la población general (65).

PREECLAMPSIA

Las elevaciones inexplicables de AFP según Walters y cols, se asocian con preeclampsia en el 13% de las pacientes comparado con el 1% de los controles (67).

La preeclampsia se ha asociado a alteraciones en los otros marcadores, Cour-Dong y Chan en 1994 explicaron esta asociación, ellos encontraron elevaciones en la hCG y lo relacionaron con una respuesta secretora placentaria anormal en la preeclampsia. Consideraron la preeclampsia como una alteración trofoblástica, ellos encontraron que la hCG total, alfa y beta, se encontraban significativamente elevadas en las pacientes preeclámpicas sobre todo, en las severas. Se considera que esto sucede por el efecto vasoconstrictor generalizado que produce la hipoxia que induce un incremento del índice mitótico placentario sobre todo del sincitiotrofoblasto que produce esta hormona (68).

DESPRENDIMIENTO PREMATURO DE PLACENTA NORMOINCERTA

Se ha reportado una incidencia importante del DPPNI en pacientes con elevaciones del AFP inexplicables, Purdie y cols, notaron un rango de 6.4% de DPPNI en 141 pacientes con AFP elevada de manera inexplicable, comparado con el 0.3% de los controles, lo mismo encontraron Milunski y Hamilton (69,70).

RETARDO EN EL CRECIMIENTO INTRAUTERINO

Gonon en 1992 estableció la asociación entre elevaciones de AFP y hCG durante el segundo trimestre del embarazo y diferentes complicaciones de este, como el RCIU. Este último se asoció en el 10.3% de las pacientes. La elevación de hCG en el segundo trimestre y mediciones subsiguientes elevadas, se relacionan más con RCIU. (71).

VARIABLES QUE AFECTAN LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS

PESO MATERNO

Se ha encontrado que las pacientes obesas tienen valores bajos de AFP, esto es por dilución ya que tienen un volumen sanguíneo aumentado. En este tipo de mujeres se debe valor el uso del factor de dilución dividido por la MoM sobre todo en mujeres más de 100kg. El factor de dilución es $1.555 - 0.00417 \times \text{peso materno (lb)}$. (72).

RAZA

Se han hecho estudios, principalmente en Norteamérica y el Reino Unido para determinar las diferencias entre los niveles de los marcadores, todos concuerdan en que existen niveles de variaciones de AFP y hCG en la raza asiática

(disminuidas) en los demás tipos de razas estudiada no hay variaciones significativas. No se encontró ningún reporte sobre hispanos. (73).

En 1996 Watt reporto diferencias en los marcadores sericos y cuádruple marcador en población asiática y se encontraron niveles mas altos en poblaron negra, por lo tanto se deben de reajustar los niveles de acuerdo a la raza. (6,13).

EMBARAZOS GEMELARES

EN 1996 Watt demostró que los niveles de inhibina se encontraban a niveles mas elevados en embarazos gemelares en comparación a embarazos únicos, por lo que se deben reajustar los niveles de acuerdo a si se trata de embarazo gemelar o único. (7,12).

DIABETES MELLITUS

Existen varios estudios que hablan de que al diabetes mellitas del tipo insulina dependiente altera los niveles sericos del triple marcados, principalmente AFP (78).

En cuanto a la hGC Palomaki en 1994 encontró disminución en el 5% de los estudios realizados y en cuanto al estriol encontró reducciones del 8% en pacientes con esta patología (79).

En 1996 Wald reporto niveles disminuidos de inhibina A en casos de diabetes Mellitas insulina dependiente. (8).

TABAQUISMO

Existen otras pruebas que demuestran que el tabaquismo también altera el resultado de las pruebas. (79,9).

JUSTIFICACION

En base a los estudios anteriores es importante demostrar la sensibilidad y especificidad del triple y cuádruple marcador sérico en población mexicana en base a las medianas registradas, para síndrome de Down, defectos del Tubo Neural y complicaciones del tercer trimestre.

OBJETIVO

El objetivo del presente estudio consiste en comparar la sensibilidad y especificidad del triple y cuádruple marcador en relación al riesgo de aneuploidias y a complicaciones que se pueden presentar en el 3er trimestre del embarazo.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Indicar la sensibilidad y especificidad el triple marcador sérico en relación con la presencia de Síndrome de Down, Defectos del Tubo Neural y Síndrome de Edward's.

Determinar la sensibilidad y especificidad del cuádruple marcador sérico en relación con la presencia de síndrome de Down, defectos del tubo neural y síndrome de Edwards.

Indicar el riesgo de síndrome de Down, síndrome de Edwards y defectos del tubo neural en las pacientes estudiadas, a las que se realiza triple y cuádruple marcador que permita orientar a la pareja.

Establecer cual la prueba de tamiz que permite una mayor evidencia de riesgo genético a síndrome de Down, síndrome de Edwards y defectos del tubo neural y/o complicaciones tardías del embarazo

MATERIAL Y METODOS

Se estudian mujeres embarazadas en el segundo trimestre del embarazo habiendo considerado que existen 774 consultas de primera vez. Se invita a todas las pacientes de la consulta externa que cumplan con los requisitos y deseen y no tengan inconveniente en el estudio. Serán seleccionadas en forma aleatoria hasta obtener la muestra deseada iniciando desde el 2 de enero del 2003 hasta el 30 junio del 2003, con el objeto de obtener las medianas de la Inhibina A y poder correr en opérello el triple con el cuádruple marcador

Se toma una muestra de sangre venosa periférica 4cc sin anticoagulante y se extrae el suero para conservarse a -4 grados centígrados.

Se determinan la edad por fecha de última regla y por ultrasonido.

Se lleva a cabo determinación de:

Alfa feto proteína

HCG total

E3

Inhibina A.

Por radioinmunoensayo con Kit de AIMSA.

Las cuantificaciones de los marcadores bioquímicas se analizan en un programa de soft ware AFP expert press para determinar riesgo con edad materna y a termino de tratamiento.

Embarazo con un corte de 1:385 para síndrome de Down para 35 años, 1:1500 para síndrome de Edwards y 1:590 para defectos del tubo neural.

El resultado se anexa al expediente y se da seguimiento para registro de nacimiento y relación de complicaciones del embarazo.

Toda paciente con rango mayor al corte 1:385 se le ofrecerá amniocentesis diagnóstica y se registrara el resultado.

Se capturaran los datos en programa SPSS versión 10 para determinar la sensibilidad y especificidad y el índice de verosimilitud, del triple y cuádruple marcador sérico, y se determinara el riesgo genético hacia las diversas alteraciones genéticas señaladas con un nivel de confianza del 95%.

- **TIPO DE INVESTIGACION:** Observacional- No-Controlado

- **CARACTERISTICAS DEL ESTUDIO**

En relación al método de observación: longitudinal

En relación a la temporalidad: prospectivo, Serie de casos,
Aleatorizado

LUGAR Y DURACION

Se realizara en el Instituto Nacional de Perinatología y tendrá una
duración de

24meses .

- **UNIVERSO**

Pacientes embarazadas entre las 15-20 semanas

- **CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION**

Definición de participantes:

Criterios de Inclusión

Mujeres de cualquier edad

Mujeres que acudan a la consulta externa del Instituto Nacional de Perinatología para su control prenatal.

Mujeres entre 15 y 20 semanas de gestación.

Embarazos con producto único.

Mujeres sin patología de base con exámenes de laboratorio (biometría hemática, química sanguínea, examen general de orina,) normales de acuerdo a los parámetros institucionales establecidos.

Mujeres embarazadas del segundo trimestre de embarazo entre las 15 y 20 semanas de gestación.

Criterios de Exclusión

Mujeres con embarazos múltiples.

Mujeres fumadoras

Mujeres con USG anormal

Criterios de Eliminación

Mujeres que no se realicen las determinaciones séricas o no las reporten .

Mujeres que no cumplen con la edad gestacional y por error se practicaron el estudio

ANALISIS DE RESULTADOS

Se reunieron 380 pacientes a las cuales se les realizo triple y cuádruple marcador sérico entre la semana 15 y 20 de gestación. 36 pacientes correspondieron a la semana 15, 110 a la semana 16, 102 a la 17, 75 a la 18, 40 a la 19 y 17 a la semana 20, como se puede observar en los extremos de las semanas, 15 y 20, el numero de pacientes disminuye en relación al resto debido a la dificultad de la captación de las pacientes a estas edades gestacionales.

Los resultados se analizaron con una tabla de contingencia 2x2, y prueba de Fisher .

Así mismo se obtuvieron las medianas para inhibina A en población mexicana.

RESULTADOS

El estudio incluye a 380 pacientes embarazadas entre la semana 15 y 20 a las cuales se les realiza el estudio bioquímico de marcadores séricos que incluye la prueba de triple y cuádruple marcador con la siguiente distribución por edad gestacional:

semanas	n
15	36
16	110
17	102
18	75
19	40
20	17

Fue posible obtener un mayor numero de pacientes entre la semana 16 a 18, ya que la literatura reporta que son las semanas ideales.

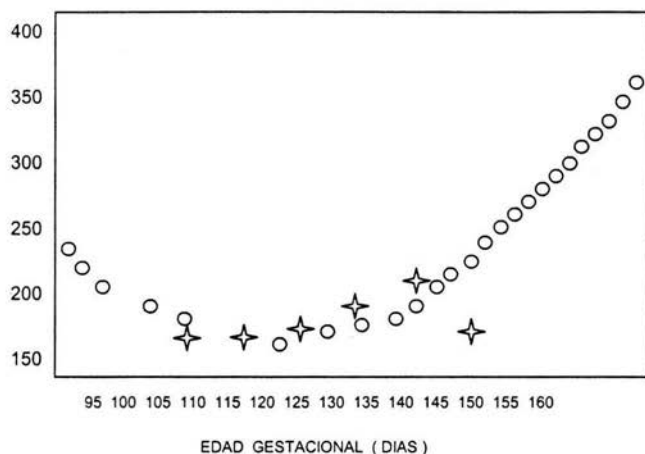
El primer resultado que fue necesario obtener para utilizar el programa de AFP expert para cuadruple marcador fue el obtener los valores de las medianas del cuarto marcador que corresponde a la inhibina A lo cual nos permitio alimentar el sistema de computo para poder lograr la interpretaci3n del cuadruple marcador.

En la tabla 1 se reportan los valores de las medianas de inhibina A obtenidos por el sistema active inhibin A ELISA tanto observados como esperados utilizando la formula de la ecuaci3n de regresi3n lineal $A * 1.000476 * ((EG - 120) * (EG - 120))$ con una $A = 178.1015000$. estos datos son fundamentales para el an3lisis del cu3druple marcador mostrando el comportamiento de la gr3fica de relaci3n a concentraci3n con edad gestacional (gr3fica 1).

RESULTADOS

EDAD GESTACIONAL			MEDIANA inh - A	
SEMANAS	DIAS	N°	ESPERADA	OBSERVADA
15	108	36	189.46	179.05
16	115	110	180.02	182.85
17	122	102	178.41	175.20
18	129	75	184.40	194.40
19	136	40	198.79	210.45
20	143	17	223.50	175.90

Tabla 1 Se observan las semanas de gestación el número de pacientes por semana y la mediana para inhibina A observada en población mexicana.



ECUACION DE LA REGRESION LINEAL

$$\text{MEDIANA DE LA INHIBINA } A = A * 1.000429 ** ((EG - 120) * (EG - 120))$$

$$A = 178.1015 000$$

GRAFICA 1. Distribución de las medianas de inhibina por edad gestacional en días.

En las siguientes tablas se concentran los datos de la edad gestacional en semanas y días, el cálculo de riesgo para síndrome de Down por edad materna observada y esperada, así como el riesgo calculado esperado y observado. De los casos positivos (riesgo positivo mayor a 1:385 tanto del triple como del cuádruple marcador).

TRIPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

EDAD G.	EDAD MATERNA		EDAD A RIESGO	
15	44	38.1	1 : 43	1 : 210
15.5	40.8	40.8	1 : 105	1 : 103
15.3	34.4	38.4	1 : 487	1 : 192
15.6	42.2	40.1	1 : 72	1 : 124
15.1	42.9	38	1 : 59	1 : 213
15.3	29.1	39.7	1 : 1060	1 : 137
15.2	41.8	42.2	1 : 79	1 : 71

TRIPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

EDAD G.	EDAD MATERNA		EDAD A RIESGO	
16.2	35.7	40.7	1 : 371	1 : 107
14.4	40.6	35.6	1 : 110	1 : 175
16.1	34.5	36.4	1 : 473	1 : 314
16.4	42.7	38.4	1 : 62	1 : 195
16.0	37.1	36.5	1 : 268	1 : 304
16.6	37.7	44.2	1 : 550	1 : 40
16.4	38.9	48.6	1 : 171	1 : 11
16.0	29.9	39.1	1 : 974	1 : 163
16.3	38.5	36.9	1 : 191	1 : 276
16.4	35.1	36.1	1 : 418	1 : 336
16.1	35.6	42.0	1 : 375	1 : 76
16.5	42.7	45.9	1 : 62	1 : 25
16.3	37.8	50.0	1 : 227	1 : 8

TRIPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

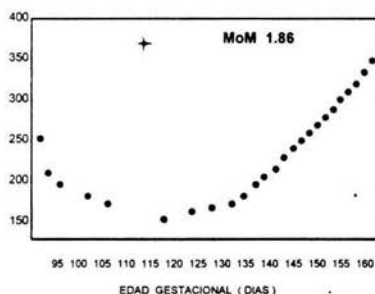
EDAD G.	EDAD MATERNA		EDAD A RIESGO	
17.1	40.5	37.5	1 : 113	1 : 244
17.2	34.2	37.0	1 : 505	1 : 274
17.5	43.4	37.7	1 : 51	1 : 230
17.3	37.5	41.7	1 : 224	1 : 80
17.2	33.3	38.0	1 : 596	1 : 212
17.4	35.1	37.3	1 : 417	1 : 252
17.0	40.0	44	1 : 130	1 : 10
17.1	28.4	42.9	1 : 1130	1 : 14

TRIPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

EDAD G.	EDAD MATERNA		EDAD A RIESGO	
18.5	38.7	36.9	1 : 182	1 : 279
18.2	35.0	40.1	1 : 426	1 : 124
18.1	33.9	38.7	1 : 536	1 : 179
18.6	31.6	43.9	1 : 784	1 : 44
18.6	29.3	45.7	1 : 1040	1 : 26

TRIPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

EDAD G.	EDAD MATERNA	EDAD A RIESGO	
19.4	35.9	36.4	1 : 359 1 : 313
19.4	39.5	42.2	1 : 146 1 : 72
19.1	33.5	36.7	1 : 575 1 : 295
20.3	30.5	48.8	1 : 909 1 : 11

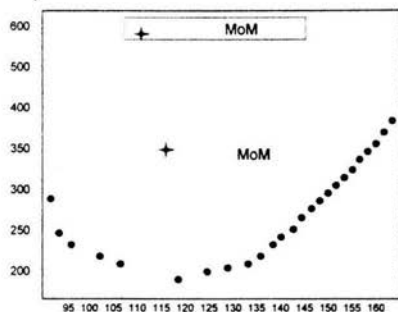


CUADRUPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

E.G	E. MATERNA	E. A RIESGO				
15	44	38.1	1 : 43	1 : 210	154.1	0.81
15.5	40.8	40.8	1 : 105	1 : 103	151.5	0.80
15.3	34.4	38.4	1 : 487	1 : 192	234.0	1.24
15.6	42.2	40.1	1 : 72	1 : 124	108.5	0.57
15.1	42.9	38	1 : 59	1 : 213	118.8	0.63
15.3	29.1	39.7	1 : 1060	1 : 137	162.6	0.86
15.2	41.8	42.2	1 : 79	1 : 71	357.8	1.86

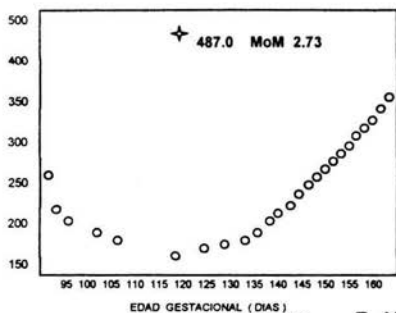
Se encontró un caso positivo para síndrome de Down, a la semana 15 con cuádruple marcador sérico, confirmado con amniocentesis.

CUADRUPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS



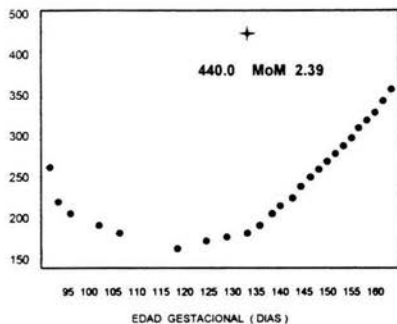
EDAD GESTACIONAL (DIAS) E. G. E. MATERNA E. A RIESGO INH-A

16.2	35.7	40.7	1 : 371	1 : 107	118.7	0.66
14.4	40.6	35.6	1 : 110	1 : 175	266.5	1.48
16.1	34.5	36.4	1 : 473	1 : 314	394.7	2.19
16.4	42.7	38.4	1 : 62	1 : 195	98.3	0.55
16.0	37.1	36.5	1 : 268	1 : 304	250.5	1.39
16.6	37.7	44.2	1 : 550	1 : 40	259.5	1.44
16.4	38.9	48.6	1 : 171	1 : 11	240.4	1.34
16.0	29.9	39.1	1 : 974	1 : 163	568.8	3.16
16.3	38.5	36.9	1 : 191	1 : 276	166.6	0.93
16.4	35.1	36.1	1 : 418	1 : 336	226.5	1.26
16.1	35.6	42.0	1 : 375	1 : 76	74.1	0.41
16.5	42.7	45.9	1 : 62	1 : 25	213.0	1.18
16.3	37.8	50.0	1 : 227	1 : 8	322.4	1.79



CUADRUPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

E.G.	E. MATERNA	E. A RIESGO	INH-A
17.1	40.5	37.5	1:113 1:244 152.4 0.85
17.2	34.2	37.0	1:505 1:274 95.9 0.54
17.5	43.4	37.7	1:51 1:230 267.1 1.50
17.3	37.5	41.7	1:224 1:80 85.8 0.48
17.2	33.3	38.0	1:596 1:212 199.9 1.12
17.4	35.1	37.3	1:417 1:252 139.1 0.78
17.0	40.0	44	1:130 1:10 487.0 2.73
17.1	28.4	42.9	1:1130 1:14 184.7 1.04




CUADRUPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

E.G.	E. MATERNA	E. RIESGO	INH-A
18.5	38.7	36.9	1 : 182 1 : 279 255.4 1.39
18.2	35.0	40.1	1 : 426 1 : 124 440.0 2.39
18.1	33.9	38.7	1 : 536 1 : 179 115.7 0.63
18.6	31.6	43.9	1 : 784 1 : 44 244.9 1.33
18.6	29.3	45.7	1 : 1040 1 : 26 247.4 1.34

Se obtuvo un caso positivo a síndrome de Down a la semana 18, con cuádruple marcador sérico, confirmado con amniocentesis.

CUADRUPLE MARCADOR CASOS POSITIVOS

E.G.	E. MATERNA	E. A RIESGO	INH-A
19.4	35.9	36.4	1 : 359 1 : 313 1.70
19.4	39.5	42.2	1 : 146 1 : 72 0.74
19.1	33.5	36.7	1 : 575 1 : 295 1.73
20.3	30.5	48.8	1 : 909 1 : 11 0.55

- | | | | |
|-------------|--------------|---|-------------------|
| • TRIPLE | 37 POSITIVOS |  | Sx DE DOWN |
| • CUADRUPLE | 23 POSITIVOS | | |

CARIOTIPO POSITIVO PARA T 21 = 4

De los 380 pacientes se obtuvieron 37 pacientes con triple marcador sérico y 23 con cuádruple marcador de los cuales 4 se confirmaron positivos por amniocentesis.

En el analisis de la tabla de contingencia 2x2 en el triple marcador nos da una sensibilidad del 100% con una especificidad del 91% un valor predictivo positivo del 10% y un valor predictivo negativo del 100%, como lo muestra la tabla anexa.

En estos resultados se calculo un indice de verosimilitud para el triple marcador de 19.0 con una $p= 0.0001$.

VP	FP
4	33 = 37
F -	V -
0	343 = 343
4	376

TRIPLE

$$\frac{VP}{VP + FN} \times 100 = \frac{4}{4+0} \times 100 \% = \text{SENSIBILIDAD}$$

$$\frac{VN}{VU + FP} \times 100 = \frac{343}{343+44} \times 100 = 91.0\% \text{ ESPECIFICIDAD}$$

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \times 100 = \frac{4}{4+33} \times 100 = 10 \%$$

$$VPN = \frac{VN}{VN + FN} \times 100 = \frac{343}{343+0} \times 100 = 100 \%$$

En el análisis de contingencia 2x2 en el caso del cuadruple marcador tenemos una sensibilidad del 100% y una especificidad del 91%, con un valor predictivo positivo del 10% y un valor predictivo negativo del 100%.

En estos resultados se calculó el índice de verosimilitud para el cuadruple siendo de 23.1 con una p = 0.0001. como se muestra en la tabla anexa.

VP	FP	
4	19	= 27
F -	V -	
0	357	= 357
4	376	

CUADRUPLE

$$\frac{VP}{VP + FN} \times 100 = \frac{4}{4 + 0} \times 100 \% = \text{SENSIBILIDAD}$$

$$\frac{VN}{VN + FP} \times 100 = \frac{357}{357 + 19} \times 100 = 94.0\% \text{ ESPECIFICIDAD}$$

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \times 100 = \frac{4}{4 + 19} \times 100 = 17 \%$$

$$\boxed{VPN} = \frac{VN}{VN + FN} \times 100 = \frac{357}{357 + 0} = 1 \times 100 = 100 \%$$

Con estos resultados el cuadruple marcador con su índice de verosimilitud es de mayor valor predictivo ante la sospecha clínica con una disminución de falsos positivos lo que permite indicarla para detección de trisomía 21.

El seguimiento y el registro del desenlace y evolución del embarazo en las 380 pacientes estudiadas con el triple y el cuadruple marcador fue complicado rescatando información completa de solo 148 casos los cuales se analizan en relación a las siguientes complicaciones:

Amenaza de parto pretermino, preeclampsia, eclampsia, bajo peso al nacer, abrupto placentario, obito-perdida gestacional tardía.

En relación al análisis sobre complicaciones del embarazo como prueba pronostica del triple y cuádruple marcador los resultados son los siguientes:

No encontramos en las 148 pacientes estudiadas un solo caso que presento ruptura prematura de membranas y bajo peso de 1500gr a la semana 32 y transposición de grandes vasos en el feto majenandose en forma integral y actualmente con una evolución adecuada y el tamiz de triple y cuádruple marcador se registra negativo sin modificaciones importantes de los marcadores.

No se registran casos de obitos, bajo peso abrupto placentario.

De los 148 pacientes analizadas 10 de ellas presentaron un triple marcador positivo de las cuales 6/10 presentaron preeclampsia 2/10 amenaza de parto pretérmino y una con ambas lo cual permite identificar en forma importante asociación de riesgo ya que fueron falsos positivos para trisomía 21.

En el estudio para cuádruple marcador donde solo 6 de las 148 pacientes captadas presentaron estudio positivo 2/6 presentaron preeclampsia y 2/6 amenaza de parto prematuro aunque la muestra fue pequeña el resultado es orientador sobre los riesgos de complicación ante un estudio bioquímico positivo, en los 6 casos no se presento evidencia citogenética de Síndrome de Down.

Para el triple marcador el riesgo relativo para preeclampsia fue de 10.35 con IC de (4.46 a 24) y para el cuádruple el riesgo relativo de 9.46 con un IC (2.28 a 39.23).

Para Amenaza de Parto prematuro el triple marcador el riesgo relativo es de 13.8 con IC (2.16 a 87.93) y para el cuádruple marcador el riesgo relativo es de 102.1 con un IC (5.3 a 1932.3), la fuerza estadística es muy baja para poder obtener un valor predictivo se requiere una muestra mayor, en la literatura esta relación de asociación ha resultado conflictiva para el manejo de los resultados ya que existen diferencias importantes en los estudios o muestras pequeñas.

DISCUSION

Las pruebas de tamizaje para síndrome de Down con edad materna, alfafetoproteína, gonadotropina corionica y estriol libre (triple marcador) ha demostrado su valor y fuerza predictiva para el diagnóstico de aneuploidias y defectos del tubo neural , en la búsqueda de marcadores con mayor sensibilidad se ha estudiado a la inhibina A, una glicoproteína heterodimérica compuesta de una subunidad alfa y una beta, teniendo dos formas posibles , el dímero A y B.

estudios previos han mostrado que en el segundo trimestre los niveles sericos de inhibina A son alterados en embarazos afectados por Síndrome de Down. Resultados en estudios de casos y controles en población caucasica muestran que el suero en el segundo trimestre presenta elevación de la inhibina A en embarazos con Síndrome de Down de 2.1 y 2.2 MoM ⁸⁶. utilizando el triple marcador convencional (AFP, UE3, HCGT y edad materna), es posible detectar un 60% de fetos con Síndrome de Down comparativamente cuando se utiliza el cuádruple marcador que agrega inhibina A es posible detectar el 70% de los embarazos con un feto que presenta trisomía 21. si la edad gestacional se estima por ultrasonido la detección se eleva hasta un 77% con un IC de 95% de 69-85% comparado con el 67% con el triple marcador. La indicación de estos estudios de diagnostico prenatal no invasivos pueden reducir el numero de perdidas fetales posterior a una amniocentesis y se reducen los costos economicos dado que la prueba de tamiz bioquimico es mucho mas economica que un procedimiento de amniocentesis,. En este estudio hemos podido obtener las medianas para la inhibina A por semana que nos ha permitido generar la regresion lineal para la incorporación al programa de analisis estadístico como cuarto marcador para la detección de trisomía 21 y trisomía 18 en especial, en población mexicana.

Los resultados nos demuestran que ambas pruebas son efectivas y que la relación de falsos positivos en ambas es de cerca del 5%. Sí existe una diferencia en relación a los falsos positivos entre triple y cuádruple los positivos

verdaderos fueron detectados por ambas pruebas pero se eliminaron 14 casos de riesgo positivo del triple marcador al aplicar el cuádruple. Todo ello exclusivamente para trisomía 21.

Por lo cual es más recomendable utilizar el cuádruple marcador para el tamiz de trisomía 21 en la población mexicana.

Existen heterogeneidad en los diferentes grupos étnicos en relación a variaciones de los marcadores séricos por lo cual es importante especificar el ajuste por grupo étnico que presenta parámetros específicos principalmente entre mujeres blancas o negras.

El propósito de este estudio es determinar el método más efectivo para el tamizaje de síndrome de Down y la posibilidad de utilizarlo como rutina en todos los embarazos entre 15 y 20 semanas y con cualquier edad materna.

CONCLUSIONES

- EL TRIPLE MARCADOR PARA DETECCIÓN TRISOMIA 21 PRESENTA UNA SENSIBILIDAD DEL 100 % Y UNA ESPECIFICIDAD DEL 91 % VPP 10 % Y UN VPN 100 %
- ANTE ESTE RESULTADO ES NECESARIO GENERAR UN NUEVO CORTE PARA AUMENTAR EL VPP GENERAR RAZON DE VEROSIMILITUD POSITIVA Y NEGATIVA
- SE LOGRO OBTENER MEDIANAS DE INHBINA A Y DE REGRESION LINEAL PARA SU APLICACIÓN
- EL CUADRUPLE MARCADOR PARA DETECCIÓN DE TRISOMIA 21 PRESENTA UNA SENSIBILIDAD DEL 100 % Y UNA ESPECIFICIDAD DEL 94 % CON VPP 17 % Y VPN 100 %

- CABE SEÑALAR QUE EL CUADRUPLE REDUJO EL NUMERO DE FALSOS POSITIVOS POR LO QUE SU APLICACIÓN DISMINUIRA PROCEDIMIENTOS INVASIVOS
- SE ESPERA TENER EL REGISTRO DE TODOS LOS EMBARAZOS EN CUANTO A EL DESCENLACE GESTACIONAL PARA ANALIZAR LOS CASOS NEGATIVOS Y POSITIVOS CON COMPLICACION.

BIBLIOGRAFIA

1. - Lambert G.M. Saller D.N. Second trimester maternal serum inhibin A levels in fetal trisomy 18 and turner syndrome with and without hydrops. *Prenat Diagn* 1998;18:1061-1067.
- 2.- Benn, Gainey, Second Trimester Maternal serum analytes in triploid pregnancies: correlation with phenotype and sex chromosome complement. *Prenat Diagn* 2001;21:680-686.
- 3.- Cuckle H.S. Effect of maternal age curve on the predicted detection rate in maternal serum screening for Down Syndrome. *Prenat Diagn* 1998;18:1127-1130.
- 4.- Spencer K. Wallacet M. Second trimester dimeric inhibin A in Down's Syndrome screening. *Prenat Diagn* 1996;16:1101-1110.
- 5.- Wald N. Densem J. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin A as serum marker. *Prenat Diagn* 1996;16:143-153.
- 6.- Watt, Wald, Smith Effect of allowing for ethnic group in prenatal screening for Down's Syndrome. *Prenat Diagn* 1996;16:691-698.
- 7.- Watt, Wald Maternal serum inhibin A levels in twin pregnancies: implications for screening for Down's Syndrome. *Prenat Diagn* 1996;16:927-929.
- 8.- Wald, Watt, Maternal serum inhibin A in pregnancies with insulin dependent diabetes mellitus: implications for screening for Down's Syndrome. *Prenat Diagn* 1996;16:923-926.
- 9.- Feriman, Schmi, The effect to smoking in pregnancy on maternal serum inhibin A levels. *Prenat Diagn* 1999;19:372-374.
- 10.- Spencer, Liao, Maternal serum active A and inhibin A in trisomy 18 pregnancies al 10-14 weeks. *Prenat Diagn* 2001;21:571-574.
- 11.- Lambert, Saller Second trimester maternal serum progesterone levels in turner syndrome with and without hydrops and trisomy 18. *Prenat Diagn* 1999; 19:476-479.
- 12.- Goodwin, Sweenwy High maternal serum inhibin A levels following the loss of one fetus in a twin pregnancy. *Prenat Diagn* 2000;20:1015-1017.
- 13.- Yung Hang Lam Second trimester maternal serum inhibin A screening for fetal Down Syndrome in Asian Women. *Prenat Diagn* 1999;19:463-467.

- 14.- Raija Raty, Pertti Koskinen Prediction of pre-eclampsia with maternal mid trimester total rennin, inhibin A, AFP and Free beta hCG levels. *Prenat Diagn* 1999;19:122-127.
- 15.- Helen. L. Ross MD. Sherman Elias , MD, Estudio Serico para detector trastornos geneticos fetales. *Clin gynecol obstet. Temas Actuales* 1997;1:31-43.
- 16.- Prema P. Measurement of inhibina A: a modification to an enzyme-linked immunosorbent assay, *Prenat Diagn* 2001;21:638-641.
- 17.- GERALYN M. Lambert-Messerlian, Endocrine analytes in multiple marker screening
Clinic in Perinatol. 1998;4:963-981.
- 18.- Biachi DW: prenatal diagnosis by análisis of fetal cells in maternal blood. *J. Pediatr* 1995;127:847-856.
- 19.- Lantz, M.E. William F. Williams M. The effect of sample preparation and storage on maternal Triple Marker Screening. *Obst Gynecol* 1995;85:919-923.
- 20.- Gergstrand, C.G. Czar, B. Demonstration of new protein fraction in serum from the human fetus *Scndf J Clin Lab Invest* 1956;8:174.
- 21.- Harper, M.E., Dugaicyzk, A. Linkage of evolutionary-related serum albumin and AFP genes within human chromosome 4. *Am J Hum Genet* 1983;35:565-570.
- 22.- Rouslaht, E. Isolation and biochemical properties of AFP p. 9 Crandall. B.F: Breazier MAB (eds) *Presentation of neural tube defects: the role of AFP.* Academic Pres, San Diego 1978.
- 23.- Beekhuis, J.R. et al The influence of serum screening on the amniocentesis rate in women of advanced maternal age. *Prenat Diagn.* 1994;14:199-202.
- 24.- Arab. H. et al Maternal serum beta human chorionic gonadotropin combined with maternal serum AFP appraise superior for prenatal screening for DS than either test alone. *Am J Hum Gent* 1988;43:225-230.
- 25.- Tomassi, T.B. Structure and function of AFP. *Ann Rev Med* 1977;28:453-458.
- 26.- Jimenez Balderas E. Salamanca F. Estudio de malformaciones congenitas en nacimientos consecutivos. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 1985;42:744-748.

- 27.- Burton, Bk. Unexplained elevated maternal AFP and adverse perinatal outcome. Maternal serum screening. New York, Churchill Livingstone, 1992; 109-119.
- 28.- Kellnert LH, Weiss R, Weiner Z. et. al. the advantages of using triple marker screening for chromosomal abnormalities. Am J Obstet Gynecol 1995; 172:831-836.
- 29.- Second report of the U.K. Collaborative study on AFP in relation to NDT. Lancet 1979; 651.
- 30.- Haddow, H.E. Macri, J.N. The amnion regulates movement of fetally derived AFP in to maternal blood J blood J Lab Clin Med 1979; 94:344-450.
- 31.- Benetech Medical systems. AFP Expert. 4.0. 1996.
- 32.- Haddow JE, Macri JN, Munsun M The Amnion Regulates movement of fetally derived alpha-fetoprotein into maternal blood. J Lab Clin Med 1979; 94:344-47.
- 35.- Kantz UI, Chescheir , Cefalo: Unexplained Elevation of Maternal Serum Alpha-fetoprotein. AM J Obstet Gynecol 1992, 165:581-6.
- 36.- Benn PA, Horne D, Brigsnti S, Radis JF, Clive JM: Elevates second trimester alpha fetoprotein. Obstet and Gynecol 1996; 87:217-22.
- 37.- Van Lith JM. First Trimeser maternal serum alpha fetoprotein as a marker for fetal chromosomal disorders. Dutch Working party on prenatal diagnosis. Prenat Diag 1994 14:961-971
- 38.- Waller DK, Lusting LS. Cunningham Gc, et al. The Association Between Maternal Serum Alphe fetoprotein and Preterm Birth, Small for Getsational Age Infants, Preeclampsia and Placental Complications, Obst Gyenecol 1996; 88:816-22.
- 39.- Waller DK, Lusting LS, Smith AH, Alpha fetoprotein: A Biomarker for pregnancy outcome. Epidemiology 1993; 4:471-6.
- 40.- Bogart MH et al Human chorionic gonadotropin levels in pregnancies with aneuplidies fetus. Prenat Diagn 1987; 9 :379-384.

- 41.- Graham, G.W. Crossley, J.A. Variation in the levels of pregnancy specific beta 1 glycoprotein in maternal serum from chromosomally abnormal pregnancies. *Prenat Diagn* 1975;12:505-512.
- 42.- Benn, Horne D, briganti S et al. Prenatal diagnosis of diverse chromosome abnormalities in a population of patients identified by triple marker testing as screen positive for Down Syndrome. *Am J Obstet an Gynecol* 1995;173(2): 496-501.
- 43.- Elias, F, Simpson JE *Maternal serum screening* Ed. Churchill. Livingstone 1992 Cap 2-3 pp 25-58.
- 44.- Bogart, M.H. Goldbus, MS Jones, O.W. Human chorionic gonadotropin oestriol in pregnancies with Down Syndrome. *Br Obstet Gyneacol* 1988;95:334-341.
- 45.- Arab, H Seigal-Barlet, J. Maternal serum beta human chorionic gonadotropin combined with maternal serum AFP appraise superior for prenatal screening for DS than either test alone. *Am J Hum Genet* 1988;43:225-230.
- 46.- Crossley, J.A., Aitken, D.A. Prenat screening for chromosome abnormalities using maternal serum chorionic gonadotropin, AFP and age. *Prenat Diagn* 1991;11:83-101.
- 47.- Petrocik, E. Wassman, E.R. Prenatal screening for DS with maternal serum human chorionic gonadotropin. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161, 1168-1173.
- 48.- Nogard-Pedersen, P. Larsen, O. Maternal serum markers in screening for DS. *Clin. Genet* 1990;37:35-43.
- 49.- Canick, J.A., Knight, G.J. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down Syndrome. *Br J. Obstet Gyneacol* 1988; 95:330-333.
- 50.- Wald, N.J. Cuckle, H.S. Maternal serum unconjugated oestriol as an antenatal screening test for Down Syndrome. *Br J Obstet Gyneacol* 1988;95:334-341.
- 51.- Phillips, P.S. Elias, S. maternal serum screening, for fetal DS in women less than 35 years of age with AFP, HGC and UE3: A prospective two years study. *Obstet Gynecol* 1992;80:353-358.
- 52.- Boyd, P.A. Keeling, J.W. Raised maternal serum AFP in the absence of fetal abnormality placental findings: a quantitative morphometric study. *Prenat Diagn* 1986;6:369-373.

- 53.- Hay, D.L. Placental histology and the production of HCG and its subunits in pregnancy. Br J Obstet Gynecol 1988;95:1268-1275.
- 54.- Roberts, J.M. Taylor, R.N. New development in preeclampsia. Fetal Med Rev 1990;2:125-141.
- 55.- Beekhuis, J.R. Van Lith, M:M: Increased maternal serum AFP, HGC in compromised pregnancies other than neural tube defects or Down Syndrome. Prenatal Diagnosis 1992;12:643-647.
- 56.- Burton, B.K. Outcome of pregnancy in patients with unexplained elevated or low levels of AFP. Obstet Gynecol 1988;5:709.
- 57.- Merkatz, J.R. Nitkowsky, H.M.m Macri, J.N. and association between low maternal serum AFP and fetal chromosome abnormalities. Am J. Obstet. Gynecol 1984;148:886-894.
- 58.- DiMaio, M.S. Baumbarten, A. Screening for fetal DS in pregnancy by measuring maternal AFP levels, N Engl J Med 1987;317:242.
- 59.- Cuckle, M. Wald, N. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with DS using its age and serum AFP level. Br J Obstet Gynecol 1987;94:387.
- 60.- Milunsky, A. Nebiolo, L. screening for chromosome defects in the first and second trimester of pregnancy in Maternal Serum Screening Churchill ed 1992;75-86.
- 61.- Wald, N.J. , Brock, D.J.H. Prenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly by maternal AFP measurement. Lancet 1994;765-770.
- 62.- Report of U.K. Collaborative Study in relation to NTD: maternal AFP measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. Lancet 1977;1323-1328.
- 63.- Los, F.J. Hagenaars, A.A maternal serum markers in second trimester oligohidramnios. Prenat Diagn 1996;14:565-568.
- 64.- Los, F.J. Beekhuis, J. M. Origin of raised maternal serum AFP levels in second trimester oligohidramnios. Prenat Diagn 1992;121:39-45.
- 65.- Brock, D.J.H. Barron L. Maternal serum AFP measurement as an early indicator of low birth weight. Lancet 1977;1:267-269.

- 66.- Wald, N.J. Cuckle, M. Maternal serum AFP and low birth weight. Br J Obstet Gynecol. 1980;92:341-349.
- 67.- Walter, B.N.J. Lao, T: AFP elevations and proteinuric preeclampsia. Br J Obstet Gynecol 1985;2:341-349.
- 68.- Chaor-Dong, H. Chan, W. elevated serum HCG as evidence of secretory response in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1994;170:1135-1138.
- 69.- Purdie, D.W. John, J.L. Fetal growth achievement and elevated maternal serum AFP.Br J Obstet Gynecol 1987;90:433-440.
- 70.- Milunski, A. Jick, S.S. Predict values relative risk and overall benefits of high and low maternal serum AFP in singleton pregnancies. Am J Obstet Gynecol 1989;161:291-298.
- 71.- Gonen, R.Perez, R. The association between unexplained second trimester maternal serum hCG elevations and pregnancy complications. Obstet gynecol 1992;80:83-85.
- 72.- Drugan, A. Dvorin, E. The inadequacy of the current correction for maternal weight and maternal AFP interpretation. Obstet Gynecol 1989;74:698-700.
- 73.- Owen, P, Shierman, E. Genetics and epidemiology os NTD in Maternal Serum Screening Churchill ed, Livingstone 1992; 1:25.
- 74.- Macri, J.N. Kasturi, R.B. Maternal serum Down Syndrome screening: UE3 ins not useful. Am. J. Obstet Gynecol 1990;162:672-673.
- 75.- Katz, V.L. Cefalo, R.C. Elevated second trimester maternal serum AFP and cytomegalovirus infection. Obstet Gyenecol 1993;68:580-581.
- 76.- Burton, B.K. Unexplaine elevated maternal AFP and adverse perinatal outcome. Maternal serum screening, New York, Churchill Livinstone 1992;109-119.
- 77.- Salafin, C.M. Silvermann. L. Prenatal Pathology a term, associated with elevated mid trimestre maternal serum AFP contrations. Am J Obstet Gynecol 1993;158:1064-1066.
- 78.- Wald, N.J. Cuckle, H.S. Maternal serum AFP and diabetes mellitus. Br J Obstet Gynecol 1979;86:101-105.

- 79.- Palomaki, G.E., Knight, G.J. HGC and UE3 measurements in insulin dependent diabetic pregnant. *Prenat Diagn* 1994;14:65-68.
- 80.- Brock DJ Barron L. Maternal plasma alpha fetoprotein and low birthweight: a prospective study throughout pregnancy. *Br J Obst Gynecol* 1982;89:348-51.
- 81.- Bianchi DW prenatal diagnosis by analysis of fetal cells in maternal blood. *J Pediatr* 1995;127:847-856.
- 82.- Natasa Tul, Stanko Pusenjak, Josko Osredkar, Predicting complications of pregnancy with first-trimester maternal serum free-BhCG, PAPP-A and inhibin A. *Prenat Diagn* 2003;23:990-996.
- 83.- Allan K, Hascckshaw, Reapeat testing in antenatal screening for Down syndrome using dimeric inhibin A in combinacion with other maternal serum markers. *Prenat Diagn* 2001; 21:58-61.
- 84.- P.P. Thirrunavukarasu, G. Lambert-Messerlian, D.M. Robertson. Molecular weight forms of inhibin A, inhibin B and pro- C in maternal serum, amniotic fluid and placental extracts of normal and Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 2002; 22:1086-1092.
- 85.- Kevin Spencer, Adolfo W Liao, Harikleia Skentou. Maternal serum levels of total activin A in first trimester trisomy 21 pregnancies. *Prenat Diagn* 2001;21:270-273.
- 86.- Yung Hang Lam, Hoi Yin Tang, Second-trimester maternal serum Inhibin A Screening for fetal Down Syndrome in Asian Women. *Prenat Diagn*.1999; 19:463-467.
- 87.- Watt H.C. Wald N.J. The pattern of maternal serum inhibin A concentrations in the second trimester of pregnancy. *Prenat. Diagn*. 1998; 18:846-848.
- 88.- Wald N. James W. Prenatal Screening for Down's síndrome using inhibin A as a serum marker. *Prenat Diagn*. 1996;16:143-153.
- 89.- Wald N.J. Densem J.W. Four- Marker serum screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn*. 1994;14:707-716.
- 90.- Huang T. Alberman E. Using Down syndrome serum screening results to predict low birthweight. *Prenat Diagn* 20003;23:420-426.