



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

69  
24

APLICACION DEL TRIPLE MARCADOR EN UNA  
POBLACION MESTIZA MEXICANA

*Castelazo*  
DR. ERNESTO CASTELAZO MORALES  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

*[Signature]*  
DR. SAMUEL KARCHMER  
PROFESSOR TITULAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
E S P E C I A L I D A D E N  
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

P R E S E N T A :

DR. FELIPE GUTIERREZ ROJO

*[Signature]*  
TUTORES DR. RICARDO J. GARCIA CAVAZOS.  
DR. ERNESTO CASTELAZO MORALES  
PROF. TITULAR: DR. SAMUEL KARCHMER K.



INPer MEXICO, D. F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



1998.

262070



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.

**A Dios y a mis Padres por darme la oportunidad  
de conocer el milagro de la vida.**

**A mi esposa por su comprensión  
y apoyo incondicional.**

**A mi hijo Felipe Alejandro  
por enseñarme un motivo real para vivir.**

**A mi primo Jesús por brindarme  
su amistad y confianza.**

## INDICE .

Introducción.....	1
Características de los marcadores bioquímicos en la triple prueba: Alfa feto proteína .....	6
<i>Hormona Gonadotrofina Coriónica</i> .....	8
Estriol Libre no Conjugado.....	9
Objetivos.....	12
Hipótesis.....	12
Material y métodos.....	13
Diagrama de flujo para Diagnóstico Prenatal no invasivo aplicando la triple prueba.....	15
Resultados.....	16
Discusión.....	21
Conclusiones.....	24
Tablas.....	25
Gráficas.....	28
Bibliografía.....	31

## **INTRODUCCION Y ANTECEDENTES HISTORICOS:**

Uno de los grandes retos de la Gineco-Obstetricia moderna, es el de lograr una comunicación rápida y veraz sobre el estado fetal. Para ello se han aplicado herramientas en el abordaje del feto, utilizando métodos no-invasivos e invasivos con el fin de conocer el estado fetal y poder proporcionar el manejo terapéutico y seguimiento adecuado, así como proporcionar un asesoramiento a la pareja del estado fetal.

En el transcurso de los últimos años se ha introducido a la clínica un conjunto de recursos analíticos de tipo bioquímico, de los cuales se pretende valorar el grado de bienestar fetal. 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 bioquímico de la unidad y la posibilidad de utilizar parámetros bioquímicos para conocer el estado fetal ( 1,2 ).

Los logros obtenidos en el campo del diagnóstico prenatal han sido orientados a la detección temprana de alteraciones fetales y complicaciones maternas que ponen en riesgo el embarazo, siempre buscando la forma de obtener información sin poner en riesgo la gestación. Así surge el estudio de marcadores bioquímicos en suero materno donde actualmente se maneja la triple prueba ( Triple Marcador ) (1,3).

La detección prenatal de un feto con defectos congénitos, o bien el nacimiento de un hijo con malformaciones inesperadas, alteraciones metabólicas o alteraciones del crecimiento al provoca un fuerte impacto en la pareja y médico tratante . Afortunadamente existen herramientas diagnósticas para determinar los riesgos de recurrencia o bien la prevención secundaria ante dichos eventos, y en la mayoría de los casos son negativas, solo del 5 al 8 % de los casos son positivos ( 3,4,5 ).

Hacia 1974, en el Reino Unido se tiene el primer reporte de asociación entre niveles elevados de Alfa Feto Proteína en suero materno (AFPSM) y espina bífida abierta (EBA) o defecto del tubo neural (DTN), generándose el primer programa de tamizaje para defectos de tubo neural con la cuantificación de Alfa Feto Proteína. En 1977 , se genera el primer estudio colaborativo en el Reino Unido que define la sensibilidad y especificidad del tamiz para defecto abierto de tubo neural, expresados en Múltiplos de la Mediana, su corte considerado de 2.0 a 2.5 MoM para la población, seleccionando el corte dependiendo de la incidencia poblacional de estos defectos. Con el corte de 2.5 MoM se detecta el 75% de EBA con un rango de 3.3 % de falso positivo. Cuando el corte es a 2.0 MoM la detección aumenta hasta un 93% para anencefalia y de un 85% para EBA, incrementando los falsos positivos hasta un 8.2 %, es importante señalar que solo son detectados los casos de defecto abierto de tubo neural, algunos defectos denominados meningoceles o bien aquellos íntegros, no son captados por el estudio. El tiempo óptimo para llevar a cabo el estudio es entre la semana 16-18 de la gestación, entre la semana 19-21, la detección de anencefalia no cambia, pero el de EBA es menor. Para reducir la variabilidad de los resultados es

necesario, eliminar ciertos factores como : la determinación de la concentración por prueba de radioinmunoensayo o sea un excelente control de calidad, exactitud en la edad gestacional, ajuste del peso materno, raza, mujeres con diabetes insulino-dependiente a las cuales se les modifican las concentraciones de AFPSM comparativamente con la población general.

Merkatz, fue el primero en observar una elevación significativa de AFPSM en relación a bajos niveles de esta proteína y síndrome de Down, Los niveles menores a la concentración normal con un feto con trisomía 21 se asocia a síntesis hepática reducida de esta proteína. Además observó que el 25% de los embarazos con trisomía 21, presentaban valores menores a 0.4 MoM. Esta observación abre la primera oportunidad de estudiar a través de una prueba de tamizaje en suero materno la detección de riesgo para síndrome de Down. Mientras la amniocentésis como método de diagnóstico genético prenatal es recomendada en mujeres mayores de 35 años, la incidencia de niños con trisomía 21 se reporta de 20 a 25% de todos los niños con síndrome de Down, en cambio en las mujeres de menos de 35 años la incidencia es del 75-80% de todos los niños con trisomía 21. Este estudio de tamiz fue de gran interés en extender la oportunidad para la detección de defectos fetales en mujeres menores de 35 años sin el riesgo que implica la amniocentésis. Recientemente la adición de otros marcadores bioquímicos en el tamiz para cromosomopatías y defectos de tubo neural genera una importante dimensión en la prevención secundaria de defectos cromosómicos graves (3,5)

El Comité de Actividades Clínicas de la American College of Medical Genetics, divulgó recientemente su posición en relación a la utilización de marcadores bioquímicos múltiples conducentes al diagnóstico prenatal de cromosopatías ( 5). La prueba de triple marcador es de gran valor para pacientes con pérdidas gestacionales recurrentes, infertilidad previa, reproducción asistida, receptora de óvulo o embarazo normal, con un rango de detección de 80-90% para trisomía 21 y con 4-5% de falsos positivos a diferencia de solo calcular el riesgo con solo la edad materna donde solo se detecta el 43% de los casos. En mujeres mayores de 35 años se aplica la prueba, con ciertas reservas ya que son mayores los falsos positivos, recomendándose la amniocentesis diagnóstica aún en los casos negativos ya que el riesgo para otra cromosopatía es mayor (6 ).

*Las alteraciones cromosómicas de importancia clínica se presentan con una frecuencia de cerca del 0.65% de todos los nacimientos, el 0.2% presentan rearrreglos estructurales no-balanceados. En los Estados Unidos nacen aproximadamente 24,000 niños con aneuploidias, solo una pequeña fracción es detectado prenatalmente. En México la incidencia de síndrome de Down es de 1:650 RN, y los defectos del Tubo Neural es de 4.1000 RN.*

En la última década los avances obtenidos en el diagnóstico 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 materno-fetal. Los estudios de inicio tienden a ser no-invasivos, de bajo costo y con técnicas relativamente sencillas para poder ser aplicadas a la población en general. Los estudios de tamizaje son ejemplo de estos avances que se define como : “ **La identificación dentro de una población de riesgo no**



**conocido, de individuos quienes tienen el suficiente riesgo de presentar una alteración, para recibir valoración, manejo, y el beneficio de pruebas diagnósticas definitivas para una alteración determinada.**

El trabajo de marcadores bioquímicos en suero materno se ha extendido en los últimos años, actualmente se cuenta con la triple prueba que incluye Alfa Feto Proteína ( AFP ), Estriol libre o no-conjugado ( uE3), y Hormona Gonadotrofina Coriónica (hCG), donde se ha estimado hasta 60% de los embarazos con Síndrome de Down con el 5% de falsos positivos y actualmente la trisomía 18 y la Monosomía del X (22,23,24). En 1992, Burton estableció la relación entre alteraciones inexplicables de AFP y resultados adversos del embarazo (13). En 1992, Gravett y Tanaka en 1993, encontraron que las elevaciones inexplicables de 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 encima de 2.0 MoM la incidencia de compromiso fetal se incrementa (21). Walters en 1993, obtuvo una conclusión similar, pero utilizando uE3, el cual se encontraba disminuido. Beekhuis y col. describen relación con preeclampsia, muerte fetal intrauterina, retardo del crecimiento intrauterino ( RCIU), el parto pretérmino, oligohidroamnios, desprendimiento prematura de placenta (DPPNI), cambios vasculares de la placenta e infecciones vírales congénitas ( citomegalovirus, parvovirus y herpes) con alteraciones de la triple prueba (19,20,21).

## CARACTERISTICAS DE LOS MARCADORES BIOQUIMICOS EN LA TRIPLE PRUEBA.

### ALFA-FETO PROTEINA (AFP).

La alfa feto proteína fue descrita por primera vez por Bergstrand y Czar, por medio de electroforesis ( movilidad electroforética ) en plasma fetal, demostraron una banda proteica extra entre la albúmina y la posición alfa-1. La presencia de esta banda indicó que el feto producía una proteína en altas concentraciones y que esta no se detectaba comúnmente en el adulto normal. La AFP es una glicoproteína con un peso molecular similar a la albúmina (67,000-70,000 Daltons), y es sintetizada por el saco vitelino (yolk-sac)-vesícula embrionaria y el hígado fetal, los genes que codifican para estas dos proteínas se localizan el cromosoma 4 Se han reportado tres casos de producción mínima o nula fetal de AFP resultado de la delección génica, similar a la analbuminemia. ( 9,11 )La estructura química de la AFP de origen fetal, es similar a la producida por células de hepatoma. Proteínas denominadas AFP-like, se encuentran en todas las especies de mamíferos, aves y en el tiburón. Esto se considera una evidencia de la existencia de sustancias precursoras que datan de 400 millones de años. La función de la AFP es poco conocida, su estructura similar a la albúmina y su presencia temporal en la circulación fetal sugiere que puede ser un precursor de la albúmina, principalmente con receptores para estrogénos y bilirrubina. (9,11,12).

La concentración de AFP en el suero fetal en el primer trimestre es de 300mg/dl, disminuyendo en la evolución del embarazo, sin embargo el hígado fetal sigue produciendo AFP en rango constante, hasta las 30 semanas aproximadamente, después de la cual cae precipitadamente, dicha caída puede interpretarse por el aumento del volumen circulante fetal y aumento del continente vascular por lo tanto una dilución de la AFP ( 1,7,13,15 ).

La concentración en el líquido amniótico de AFP, es proporcionada por la orina fetal la cual escapa por filtración. La mayor concentración de AFP en líquido amniótico es durante la 12ava semana, disminuyendo aproximadamente en un 10% por semana. Los procedimientos invasivos como la amniocentésis elevan las concentraciones de AFP en ambos compartimentos amniótico y suero materno lo cual dificulta la interpretación, por lo que no es recomendable practicar este estudio posterior a la punción. Es necesario dejar pasar de 10 días a 2 semanas para su cuantificación. La concentración de AFP en suero materno va en aumentando durante el embarazo desde sus inicios, elevándose en 15% por semana durante el segundo trimestre, hasta la semana 30 de la gestación para posteriormente disminuir ( 15, 16,17, 18).

La primera noticia del uso de la AFP como marcador del desarrollo fetal fue anunciado por Brock y Sutcliffe en 1972, los cuales describieron concentraciones anormalmente altas en líquido amniótico en fetos con defecto del tubo neural, especialmente anencefalia (Anc) extendiéndose a casos de espina bífida abierta (EBA)( 9,11). En 1974 Brock describe concentraciones elevadas de AFP en suero materno en casos de DTN 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 síndrome de Down (11,20,27).

La determinación de AFP en suero materno es útil para determinar sufrimiento fetal crónico de etiología diversa (25,28). Se ha reconocido que en mujeres que presentan elevación inexplicable de AFP, tienen un riesgo cuatro veces mayor de presentar productos de bajo peso al nacer de menos de 1500 gr. (29). Waller y col. en 1996 relacionaron a los neonatos pequeños para edad gestacional con valores de AFP entre 0.82 y 1.34 MoM, el riesgo fue de 4.7% entre las mujeres con niveles más bajos que tienen aproximadamente 2.3 veces mayor probabilidad de tener un hijo pequeño para la edad gestacional (28).

### **HORMONA GONADOTROFINA CORIONICA HUMANA ( hCG).**

La Hormona Gonadotrofina Coriónica (hCG), es una glicoproteína que presenta galactosa y hexosamina, esta constituida por dos subunidades alfa y beta. La subunidad alfa es similar al resto de hormonas glicoprotéicas producidas por la adenohipófisis, difiriendo en que presenta dos aminoácidos invertidos y le faltan tres en la porción terminal amino. El peso molecular de la subunidad alfa es de 18,000 Daltons . La subunidad beta presenta una secuencia de aminoácidos específica y única siendo la determinante de la especificidad de la hormona, su peso molecular es de 28,000 Daltons. Los genes que codifican para la síntesis de estas subunidades polipeptídicas se localizan en el cromosoma 18 y 19 respectivamente. Se sintetiza en el sincitiotrofoblasto bajo la influencia del citotrofoblasto el cual produce un polipéptido- factor liberador de hormona gonadotrofina coriónica (hCGRF). Su síntesis

es fundamental durante el primer trimestre para mantener el cuerpo lúteo necesario para la producción de progesterona y estradiol . Durante el embarazo los niveles de hCG presentan dramáticamente un pico hacia la semana 10 de la gestación con concentraciones que van de 100,000-200,000 IU/L. Al inicio del segundo trimestre los niveles caen hasta 20,000 UI/L o 20 IU/ mal en la semana 18 de la gestación. Bogart, 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 ente la semana 15-20, por lo que parece ser el mejor marcador en la prueba de tamiz para *síndrome de Down* (10).

#### **ESTRIOL LIBRE NO-CONJUGADO.**

El estriol libre no-conjugado es producto del Sulfato de Dihidroepiandroesterona (DHEAS), producida en la corteza suprarrenal fetal y convertida en 16 alfa-hidroxiDHEAS en el hígado fetal para posteriormente ser metabolizado en la placenta. La determinación cuantitativa en suero materno es poco específico cuando se traduce en forma aislada, pero al combinarse con los otros marcadores mejora la sensibilidad de la prueba de tamizaje. Este marcador de la función placentaria en el tercer trimestre (15) .En 1988 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 0.73 -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 (31).

La asociación de AFP elevada en el suero materno se relaciona con defectos abiertos del tubo neural y las bajas concentraciones con S. Down.

En 1980 se incluye el estriol libre (uE3) y la Gonadotropina Coriónica (hGC), el primero de ellos se asocia a S de Down en baja concentración y el segundo se encuentra elevado. Wald, muestra que la edad materna, AFP, uE3 y HGC son predictores independientes de riesgo para S de Down y sugiere que su combinación requiere de un análisis y ajuste individual (3) En 1992 Haddow reporta la triple prueba con edad materna y determina que es efectiva y eficiente (6).

La trisomía 18 síndrome de Edwards es una trisomía autosómica con una prevalencia de 1 /10 síndrome de Down y aproximadamente 1/8000 recién nacidos (15). La trisomía 18 es un defecto muy severo que representa múltiples anomalías congénitas que incluyen : cardiopatía congénita, defectos del tubo neural, anomalías faciales, onfalocele y defecto de extremidades. La mayoría muere in útero, cuando sobreviven al nacimiento su pronóstico es obscuro falleciendo generalmente en el periodo neonatal. Sin embargo, se han reportado casos de una mayor sobrevida. Carnick (1988), fue el primero que reportó 18 embarazos con trisomía 18 en el segundo trimestre asociados con patrón de triple prueba en suero materno determinando muy bajos niveles de los tres marcadores (31). Palomaki describe que del 60 al 80% de los casos positivos para trisomía 18 utilizando la triple prueba, solo el 0.5% (1:200) se confirma la trisomía 18. Cuando el tamiz es positivo es necesario corregir la edad gestacional por USG y especialmente tomando en cuenta solo el DBP. Se han

reportado casos en donde el estudio citogenético es normal, pero el feto presenta alteraciones metabólicas como el síndrome de Smith-Lemli-Opitz por deficiencia de sulfatasa esteroidea en la placenta lo que se asocia con bajas concentraciones de estriol libre(32).

La trisomía 13 síndrome de Patau, no puede ser detectado por el estudio de la triple prueba (4).

El síndrome de Turner, monosomía del cromosoma "X", puede ser detectado por la prueba de tamiz del triple marcador serico, se reporta por Knowles levemente disminuía la AFP, bajo el uE3 y elevada la hCG asociandose a síndrome de Turner con hidrops, en cambio con disminución de hCG, a síndrome de Turner sin hidrops (35).

Existen un gran número de patologías no genéticas que se asocian a concentraciones altas o bajas inexplicables de los marcadores séricos en sangre materna. Una de ellas corresponde al embarazo múltiple, donde los valores medios de las concentraciones se elevan substancialmente al doble. La elevación inexplicable de alfa feto proteína en el segundo trimestre y retardo del crecimiento intrauterino es asociada a patología placentaria, en especial a velloitis crónica y lesiones vasculares de infarto o trombosis intervellosa, aumentando la incidencia de RCIU (28). Por otra parte se ha estudiado, la elevación inexplicable de hCG asociada a complicaciones del embarazo cuando la concentración se encuentra por arriba de 2.5 MoM, presentando alto riesgo de hipertensión, RCIU y cuando se encuentra por arriba de 4.0 MoM el riesgo para parto pretérmino es mayor (33).

## OBJETIVO:

Analizar la triple prueba ( AFP, uE3, hCG ), como tamiz bioquímico en población mestiza mexicana abierta entre la semana 15-20 de la gestación para determinar, riesgo de cromosomopatía y defectos del tubo neural, correlacionando los valores de la mediana de cada marcador del programa AFPExpert ( Latina ), con los encontrados en nuestra población.

Fundamentar la importancia del tamiz bioquímico como prueba predictiva en la mujer embarazada en el segundo trimestre de la gestación.

Adquirir experiencia en la interpretación de los valores de los marcadores que permitan conocer y aplicar la prueba

## HIPOTESIS:

Establecer la correlación de la concentración normal de los tres marcadores ( AFP, uE3, hCG ), en suero materno en la población mestiza mexicana, con las proporcionadas por el programa AFP Expert y su relación con cromosomopatía y defectos del tubo neural.



## OBJETIVO:

Analizar la triple prueba ( AFP, uE3, hCG ), como tamiz bioquímico en población mestiza mexicana abierta entre la semana 15-20 de la gestación para determinar, riesgo de cromosomopatía y defectos del tubo neural, correlacionando los valores de la mediana de cada marcador del programa AFPExpert ( Latina ), con los encontrados en nuestra población.

Fundamentar la importancia del tamiz bioquímico como prueba predictiva en la mujer embarazada en el segundo trimestre de la gestación.

Adquirir experiencia en la interpretación de los valores de los marcadores que permitan conocer y aplicar la prueba.

## HIPOTESIS.

Establecer la correlación de la concentración normal de los tres marcadores ( AFP, uE3, hCG ), en suero materno en la población mestiza mexicana, con las proporcionadas por el programa AFP Expert y su relación con cromosomopatía y defectos del tubo neural.

## MATERIAL Y METODOS:

Se estudian trescientos cincuenta y siete pacientes divididas en dos grupos en relación a su edad (menores de 35 años y mayores de treinta y cinco años ) con producto único vivo entre la semana 15 y 20.6 de la gestación calculada por fecha de última menstruación (FUM) y /o ultrasonido. Se informa sobre la prueba de tamíz y la forma de aplicarse con los beneficios potenciales y las limitaciones de la prueba, usándose el consentimiento informado. Se llena hoja de captura que se anexa cubriendo los puntos fundamentales que se señalan en asterisco y que son importantes para el estudio y correlación

Se obtiene una muestra de 4 ml. de sangre venosa periférica en las condiciones de asepsia, colocándose la muestra en tubo de cristal (vacutainer) sin anticoagulante, se deja a temperatura ambiente hasta generar el coágulo y se centrifuga inmediatamente para obtener el suero el cuál pasa a refrigeración a 4oC.

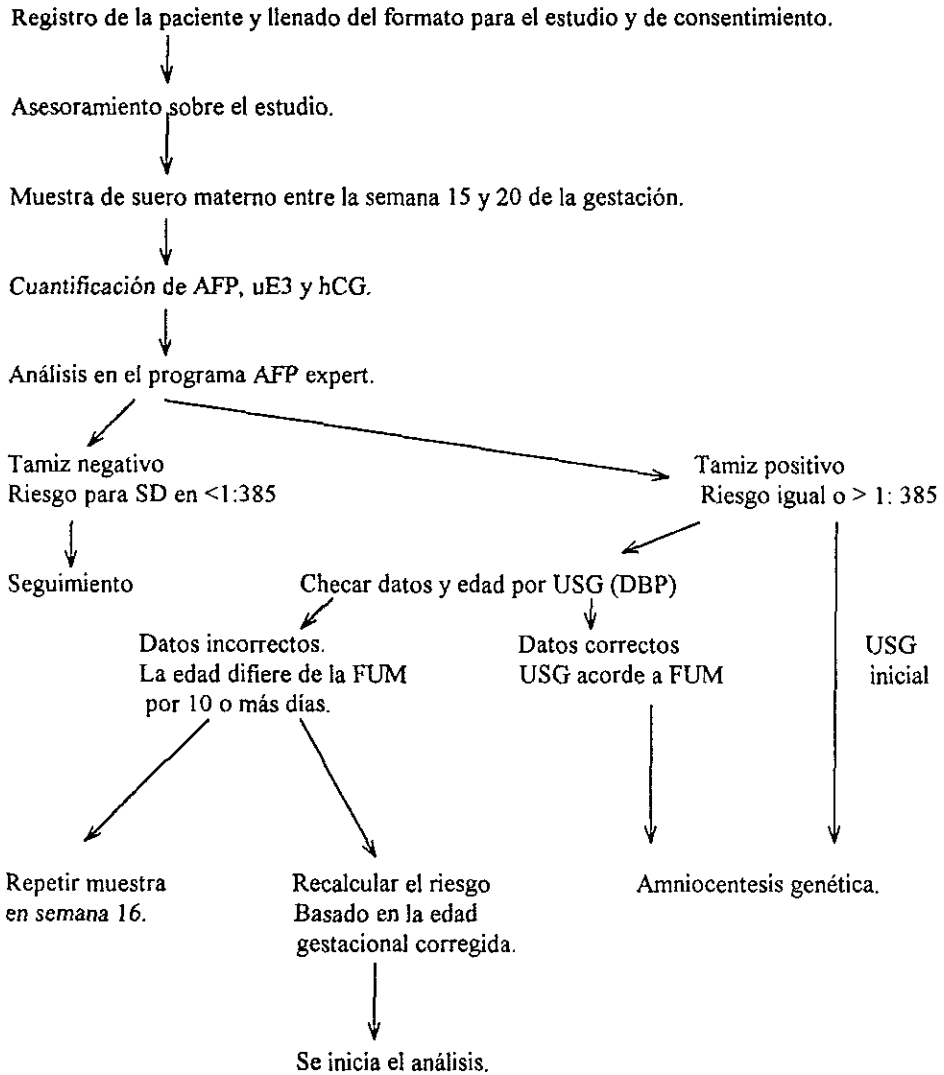
La muestra de sueros se analiza por radioinmunoensayo cuantificándose las concentraciones de cada marcador AFP , uE3, y hCG.

El reporte de las concentraciones se vacía en el software del programa AFP expert versión 4 04 de Benetech Medical System con corte de riesgo para síndrome de Down a término de 1:385, equivalente al riesgo de 35.5 años de edad. Además calcula la mediana para todos los marcadores en conjunto y por separado correlacionando edad gestacional con fecha de última menstruación y/o ultrasonido, edad materna, raza, peso y diabetes mellitus tipo I (insulino-dependiente). Calcula la mediana por semana y por día, y traduce los

múltiplos de la mediana (MoM) aplicando factores de corrección en relación a los datos anteriormente señalados y proporciona 8 diferentes formatos de presentación.

La triple prueba como tamiz bioquímico detecta grupos de riesgo, no es diagnóstica, no mide la presencia absoluta de la alteración y presenta alta sensibilidad y especificidad, lo que permite proporcionar un valor predictivo.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA DIAGNOSTICO PRENATAL NO INVASIVO  
APLICANDO LA TRIPLE PRUEBA.



## RESULTADOS:

En el presente estudio se analizan trescientos cincuenta y siete sueros, que se evalúan para defecto abierto de tubo neural, S. de Down y trisomía 18. El corte para DTN es de 1:1000 y para S. de Down de 1:385 a término, que equivale al riesgo para sólo la edad materna de 35.5 años.

De 357 sueros evaluados 69 se reportan como tamiz positivo que corresponde al 19.3%, en todos los casos se sugiere estudio citogenético en líquido amniótico siendo aceptado con consentimiento informado.

Para defecto abierto de tubo neural (DTN), se obtienen 11/357 casos positivos y 346 negativos lo cuál corresponde al 15.9% (ver tabla III), encontrando un caso con anencefalia (9%), un caso con higroma quístico cervical y cariotipo normal (9%) y un S de Klinefelter (47,XXY) (9%), lo cuál condiciona la detección de alteraciones en un 27.2% en total. La sensibilidad para DTN es del 100% y la especificidad del 97% con un Valor predictivo positivo del 9% y negativo del 100%. El caso con defecto abierto de tubo neural correspondió a Anencefalia con multisisio 2,4,1 de apertura, edad de materna de 41.5 años, y AFP de 2.13 MoM, uE3 de 0.43 MoM y hCG 0.42 MoM con riesgo calculado para DTN abierto de 1:551, y corte de 2.0 MoM para riesgo de DTN abierto. (ver Tabla III). Se han reportado elevaciones de AFP asociadas a defectos de pared e higromas quísticos como es el caso de paciente de 32.5 años con embarazo de 17.1 SDG y la AFP de 2.99 MoM, uE3

0.35 MoM y hCG 0.86 MoM con riesgo de 1:92 para DTN, detectándose el defecto linfático con cariotipo normal.

El tamizaje para S. de Down es realizado en 357 sueros, reportándose 42 casos positivos (11.7%) y 315 negativos (88.3%). Estos resultados se relacionan en dos grupos, tomando en cuenta < 35 años y > de ésta edad, lo que nos genera que <35 años corresponden a 247 pacientes y >35 años 110. De los 42 casos positivos, 16/42 son <35 años siendo (38%), comparativamente con >35 años, 26/42 casos positivos (62%) (ver Tabla I y II). En los casos positivos para S. de Down en <35 años se diagnóstico un caso con Trisomía 21 por estudio citogenético en líquido amniótico (6.2%) y otro caso, se reporta trisomía sexual compatible con S de Klinefelter (47,XXY) (ver Tabla I), con detección de (12.4%) de aneuploidías. Con sensibilidad de la prueba de 100%, especificidad de 95% y un valor predictivo positivo de 16% y negativo de 100%.

En >35 años, en 26 casos se detecta un S. de Down por diagnóstico prenatal en líquido amniótico, siendo (3.8 %). Cabe señalar que la detección fue mayor en las mujeres menores de 35 años. En el caso que se corrobora la trisomía la edad materna es de 28.4 años en la semana 18 de la gestación, con riesgo de 1:87 posterior al estudio que eleva el riesgo para 42.0 años. Se acepta el estudio citogenético que comprueba la trisomía, con AFP de 0.38 MoM, uE3 0.48 MoM y hCG 1.55 MoM que se determina con baja AFP y Estriol libre y elevación moderada de hCG. En otro caso el tamiz es positivo para S. de Down y DTN, riesgo para ambos, con riesgo de 1.57 para la trisomía y de 1:5 para DTN, en mujer de 30 años a las 19 SDG, con AFP de 5.90 MoM, uE3 0.28 MoM y hCG de 4.35 MoM. Tanto la AFP como la hCG se encuentran muy elevadas, con disminución de Estriol libre, se acepta la amniocentesis genética y el resultado es una aneuploidía de

sexocromosomas correspondiendo a S. de Klinefelter 47,XXY. La sensibilidad en este grupo es de 100%, la especificidad es de 92%, el valor predictivo positivo es de 37% y el negativo de 100%.

El riesgo para trisomía 18 o S. de Edwards, se realiza en los mismos 357 casos, dando 16 casos positivos para riesgo de esta aneuploidía, correspondiendo al 4.48% de estos. No se detecta ninguno por estudio citogenético positivo 0/16 (ver Tabla IV). La sensibilidad es de 100% y la especificidad de 95.5% con un valor predictivo positivo de 16% y negativo de 100%.

Se analiza las concentraciones de los marcadores en el universo de estudio, que corresponden a 357 sueros, llevando a cabo la correlación comparativa de las concentraciones de nuestra población con las reportadas en el programa AFP expert, para los tres marcadores por separado y por semana de gestación en base a la mediana..

La Mediana de las concentraciones de AFP determinadas en ng/ml, utilizadas por el programa AFP expert y las encontradas en el estudio se enuncian a continuación.

AFP expert  
Gráfica no. 2

Semana	15	-----	33.0 ng/ml
"	16	-----	36.2 "
"	17	-----	41.5 "
"	18	-----	35.6 "
"	19	-----	50.5 "
"	20	-----	64.2 "

ESTUDIO TM:

Gráfica no. 1

Semana	15	-----	33.9	ng/ml
"	16	-----	37.7	"
"	17	-----	43.0	"
"	18	-----	49.1	"
"	19	-----	56.1	"
"	20	-----	64.1	"

La relación de concentraciones se analiza en la gráfica no. 2, no encontrando diferencia sustancial entre ambas

La mediana de las concentraciones para uE3 manejadas por el programa AFP expert y las de nuestro estudio se enuncian a continuación.(Ver gráficas 3 y 4).

AFP expert. Gráfica No 4.

Semana	15	-----	2.73	ng/ml
"	16	-----	3.51	"
"	17	-----	4.50	"
"	18	-----	5.78	"
"	19	-----	7.42	"
"	20	-----	9.52	"

Estudio TM

Semana	15	-----	1.27	ng/ml.
"	16	-----	1.65	"
"	17	-----	1.83	"
"	18	-----	2.10	"
"	19	-----	3.27	"
"	20	-----	3.59	"

El estriol libre o no conjugado representa el marcador menos sensible para la detección de riesgo de cromosomopatía, en nuestro estudio encontramos que las concentraciones del uE3 se encuentran por abajo de las manejadas por el programa AFP expert para mujeres hispanas, lo cuál en éste caso resulta fundamental para la aplicación de la triple prueba (ver gráfica 4).



La mediana de las concentraciones de hGC para el programa AFP expert y nuestro estudio son las siguientes (ver gráficas 5 y 6).

AFP Expert:

Semana 15	-----	32.6	mU/l
" 16	-----	26.5	"
" 17	-----	23.0	"
" 18	-----	20.9	"
" 19	-----	19.7	"
" 20	-----	18.9	"

Estudio TM

Semana 15	-----	26.6	mU/l
" 16	-----	19.6	"
" 17	-----	16.2	"
" 18	-----	13.2	"
" 19	-----	15.2	"
" 20	-----	14.0	"

El comportamiento de las concentraciones en ambos grupos de hCG es paralelo siguiendo un descenso de la semana 15 a la 20, tomando en cuenta que la concentración en nuestro estudio es menor.

## DISCUSION:

El tamiz en el suero materno para defectos del tubo neural, S. de Down y trisomía 18 ha demostrado ser efectivo y eficiente. Un buen número de patologías adicionales también pueden ser detectadas a través de éste tamiz como es el S. de Turner, el hidrops fetal no inmune, daño fetal y otras cromosomopatías, sin embargo no es apropiado utilizar esta prueba específicamente para detectar estas últimas patologías hasta cubrir más estudios que apoyen esta relación. La prueba de tamiz en suero materno es una prueba no diagnóstica que se aplica a la mujer en el segundo trimestre de la gestación y que permite tener beneficios potenciales y limitaciones del estado materno y fetal, pero es innegable el valor como prueba de tamiz.

El tamiz de la triple prueba o mejor conocida como la del triple marcador que incluye AFP, uE3 y hCG es hoy por hoy la prueba de elección y rutina en todas las mujeres embarazadas en especial las menores de 35 años.

Este estudio prospectivo confirma reportes previos que al aplicar el tamiz prenatal utilizando los marcadores en suero materno combinados con la edad materna es un método efectivo para identificar en la mujer riesgo de tener DTN y cromosomopatías.

De 357 sueros estudiados, 69 se reportan positivos lo cuál corresponde al 19.3% que se ubica o asigna como de alto riesgo. De éstos, 11 que corresponden al 3% son positivos para DTN, siendo el 9% falsos positivos.

Todos los embarazos con S. de Down son identificados tanto en mujeres mayores como menores de 35 años con un falso positivo de 95% lo cuál nos hace reflexionar el aumentar la muestra e investigar sobre los datos de registro de la paciente que determinen

edad gestacional incorrecta. Como resultado de ello, la indicación de amniocentesis es mayor principalmente a las mujeres mayores de 35 años.

El ultrasonido selectivo para calcular la edad gestacional viene a ser fundamental para eliminar la variante de edad gestacional por fecha de última menstruación, por lo cuál se recomienda el uso de ultrasonido previo a la prueba de tamiz, pudiendo eliminar de ésta manera un buen número de falsos positivos.

Al analizar el riesgo para Trisomía 18, encontramos tamiz positivo en 16 casos que al practicar la amniocentesis genética se descartó ésta alteración asociándose principalmente a patología genética y complicaciones perinatales como retardo en el crecimiento intrauterino, preeclamsia , polihidramnios y genopatía. Es reportado en la literatura un alto porcentaje de falsos positivos para trisomía 18 pero es orientador a otras patologías por lo cuál en éstos casos se recomienda repetir el estudio.

Existen diferencias importantes en las medianas entre grupos de diferentes raza y etnicidad que podría proporcionar un error sistemático para el cálculo de riesgo cromosómico si no se corrige apropiadamente dicha variación, es así que éste estudio nos demuestra el comportamiento en las concentraciones en los marcadores que en el caso de AFP y hGC es muy similar en relación al lo manejado por el programa AFP expert. Lo que sí llama la atención es el comportamiento de la concentración del uE3 que es estadísticamente menor que lo reportado para mujeres hispanas en el mismo programa lo que podría aumentar el cálculo de riesgo para aneuploidía, por lo cuál es necesario utilizar un factor de corrección adecuado.

El análisis de los resultados al aplicar la triple prueba en una población mestiza mexicana, de 357 pacientes para determinar el riesgo de defecto de tubo neural, trisomía 21

y 18, es fundamental ya que nos permite determinar y observar el comportamiento de las concentraciones de los tres marcadores en relación a lo manejado por el programa AFP expert para mujeres hispanas.

Nuestro estudio muestra ser efectivo y eficiente en la detección de embarazos afectados con DTN y S. de Down. En los casos de tamíz positivo para DTN fue posible detectar el caso severo sin que se presentara ningún falso negativo lo que apoya la prueba de tamíz.

La elevación de AFP con ausencia de DTN puede ser indicador de otras patologías genéticas o perinatales como S de Klinefelter, higroma quístico cervical o muerte fetal como lo demuestra el estudio.

La combinación de los otros marcadores permite aplicar la prueba para la detección de riesgo para S. de Down y Trisomía 18 hasta en un 75%-90% según la literatura.

Nuestra muestra, aunque pequeña, es significativa ya que detecta todos los casos de S de Down.

## CONCLUSIONES:

El triple marcador continúa siendo una prueba de tamizaje para detección de cromosomopatía y/o defecto de tubo neural, así como para otras patologías genéticas o perinatales. Es necesario protocolizar el estudio que permita optimizar la información, analizar las concentraciones de los marcadores y aplicar un modelo basado en el riesgo individualizado para las alteraciones antes descritas. La eficiencia de la prueba es definida para embarazos únicos.

Aunque controversial, la indicación de éste estudio en mujeres mayores de 35 años, es aplicado con el criterio de la práctica médica, con la idea de obtener información sobre otra patología genética o de complicación perinatal, aunque la amniocentesis sea recomendada.

Las concentraciones de los tres marcadores comparados con los registrados para la población hispana son menores especialmente para el uE3.

Se recomienda indicar ésta prueba en mujeres menores de 35 años entre la semana 15 y 20 de gestación calculada por FUM y/o USG con una prueba de tamíz para DTN abierto, S. de Down y Trisomía 18., no se recomienda como rutina en mujeres mayores de 35 años y menos como una alternativa equivalente a la amniocentesis, sin embargo, puede ser ofrecida como con las limitantes de la prueba cuando no aceptan el riesgo de la amniocentesis.

**Tabla I. Triple Marcador Positivo (AFP, hCG, uE3) para Síndrome de Down en Mujeres menores de 35 años.**

Caso No.	Edad Materna (años)	Edad Gestacional (semanas)	AFP (MoM)	uE3 (MoM)	hCG (MoM)	Riesgo Trisomía 21	Resultado
1	27.1	17.0	0.67	0.10	1.41	1:294	Normal
2	27.2	17.2	0.65	1.67	1.37	1:299	Normal
3	27.1	17.0	0.65	0.36	1.37	1:231	Normal
4	27.3	16.5	0.48	0.17	1.50	1:133	Normal
5	30.0	19.0	5.90	0.28	4.35	1:57	47XXY
6	28.0	15.4	0.46	0.46	1.15	1:244	Normal
7	30.7	16.2	0.21	0.15	0.99	1:139	Normal
8	34.8	16.2	0.69	0.54	0.95	1:372	Normal
9	34.9	17.1	0.90	0.36	1.19	1:296	Normal
10	34.3	20.1	0.75	0.24	1.22	1:215	Normal
11	31.2	0.97	0.18	1.75	1.21	1:212	Normal
12	31.8	16.1	0.70	0.12	1.19	1:304	Normal
13	30.2	16.0	1.11	0.23	2.09	1:182	Normal
14	28.4	18.4	0.38	0.48	1.55	1:87	47XX+21
15	30.6	15.5	0.80	0.35	1.30	1:370	Normal
16	34.6	16.0	1.21	0.44	1.93	1:143	Normal

AFP: alfa-feto-proteína, uE3: Estriol no conjugado, hCG: hormona gonadotropina coriónica, MoM: Múltiplos de la mediana

**Tabla II. Triple Marcador Positivo (AFP, hCG, uE3) para Síndrome de Down en Mujeres Mayores de 35 años.**

Caso No.	Edad Materna (años)	Edad Gestacional (semanas)	AFP (MoM)	uE3 (MoM)	hCG (MoM)	Riesgo Trisomía 21	Resultado cariotipo
1	48.0	17.0	0.52	0.40	0.62	1:215	Normal
2	35.1	16.2	0.37	0.41	0.93	1:86	Normal
3	41.7	16.5	1.25	0.50	1.16	1:126	Normal
4	46.1	16.4	1.82	0.60	0.88	1:1177	Normal*
5	36.9	19.3	0.63	0.26	1.43	1:57	Normal*
6	42.6	20.1	0.93	0.28	1.05	1:64	Normal
7	39.0	17.0	0.97	0.35	1.37	1:86	Normal
8	43.1	17.2	0.77	0.57	0.65	1:139	Normal
9	42.6	19.3	1.07	0.36	1.00	1:93	Normal
10	40.5	20.6	0.74	0.31	2.13	1:10	Normal
11	32.3	17.8	0.88	0.23	0.94	1:125	Normal
12	35.4	17.5	0.93	0.21	0.60	1:29	Normal
13	35.6	16.1	0.51	0.55	0.80	1:210	Normal
14	43.8	18.0	0.67	0.30	0.50	1:135	Normal
15	39.8	19.2	0.68	0.29	0.88	1:109	Normal
16	37.1	16.2	1.24	0.38	1.39	1:211	Normal
17	35.7	15.5	0.83	0.21	0.99	1:355	Normal
18	36.8	16.1	1.28	0.37	1.41	1:226	Normal
19	41.7	15.0	1.20	0.08	1.19	1:101	47XY+21
20	36.8	16.1	1.28	0.37	1.41	1:226	Normal
21	36.6	15.5	0.78	0.19	0.94	1:278	Normal
22	41.7	20.0	0.82	0.56	1.31	1:44	Normal
23	42.5	15.1	1.10	0.37	0.62	1:365	Normal
24	36.5	15.0	1.17	0.38	1.32	1:239	Normal
25	38.2	20.4	0.92	0.25	1.24	1:124	Normal
26	35.4	17.8	0.94	0.21	0.60	1:29	Normal

AFP: alfa-feto-proteína, uE3: Estríol no conjugado, hCG: hormona gonadotropina coriónica.  
MoM: Múltiplos de la mediana. \* Obito.

Tabla III Triple Marcador Positivo (AFP, hCG, uE3) para Defectos de Tubo Neural.

Caso No.	Edad Materna (años)	Edad Gestacional (semanas)	AFP (MoM)	uE3 (MoM)	hCG (MoM)	Riesgo	Resultado
1	30.0	19.0	5.90	0.28	4.34	1:5	47XXY
2	30.0	17.4	2.12	0.70	0.90	1:564	Normal
3	36.1	17.3	2.90	0.81	0.68	1:109	Normal
4	32.3	17.0	2.30	0.52	0.88	1:551	Normal
5	41.5	20.6	2.13	0.43	0.42	1:551	Anencefalia
6	29.4	15.5	2.43	0.57	0.78	1:282	Normal
7	32.5	17.1	2.99	0.35	0.86	1:92	Higroma *
8	33.8	16.1	2.10	0.55	0.54	1:59	Normal
9	19.5	15.0	2.09	0.39	1.19	1:605	Normal
10	33.5	16.0	2.02	0.43	1.10	1:715	Normal
11	37.0	20.6	2.41	0.67	1.54	1:294	Normal

AFP: alfa-feto-proteína, uE3: Estríol no conjugado, hCG: hormona gonadotropina coriónica, MoM: Múltiplos de la mediana \* Higroma quístico.

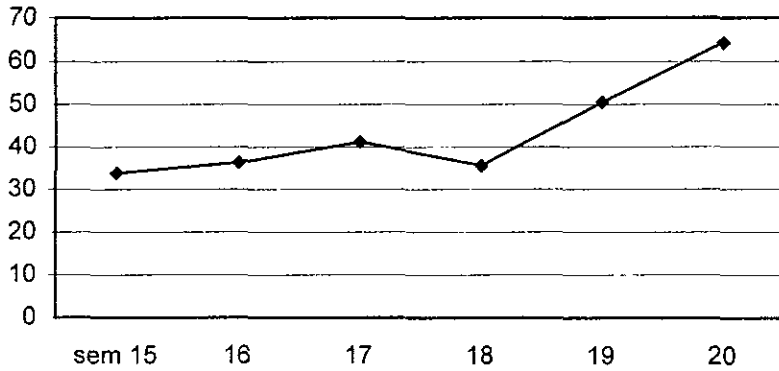
Tabla IV. Triple Marcador Positivo (AFP, hCG, uE3) para Trisomía 18.

Caso No.	Edad Materna (años)	Edad Gestacional (semanas)	AFP (MoM)	uE3 (MoM)	hCG (MoM)	Resultado
1	38.1	15.6	0.58	0.60	0.14	Normal
2	27.0	16.5	0.71	0.41	0.57	Normal
3	26.9	17.2	0.51	0.51	0.22	Normal
4	38.6	18.4	0.50	0.29	0.27	Normal
5	38.8	16.1	0.63	0.37	0.47	Normal
6	29.3	18.0	0.72	0.50	0.38	Normal
7	31.3	17.5	0.66	0.10	0.52	Normal
8	31.3	16.1	0.54	0.54	0.52	Normal
9	35.1	20.6	0.74	0.30	0.44	DELECIÓN **
10	37.2	19.1	0.62	0.56	0.49	Normal
11	34.1	17.2	0.67	0.40	0.36	Normal
12	33.2	16.0	0.55	0.24	0.40	Normal
13	31.3	18.2	0.70	0.26	0.38	GENOPATIA*
14	31.1	18.3	0.75	0.36	0.53	Normal
15	33.2	18.1	0.64	0.32	0.46	Normal
16	28.1	18.3	0.52	0.44	0.25	Normal

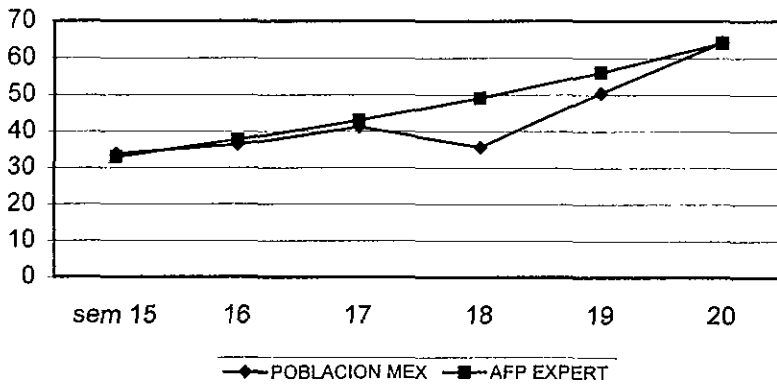
AFP: alfa-feto-proteína, uE3: Estríol no conjugado, hCG: hormona gonadotropina coriónica, MoM: múltiplos de la mediana. \*\* Delección del cromosoma 5 \* Genopatía (hipertelorismo, cuello corto, micrognatia, dolicocefalo, clinodactilia, 46 XX).



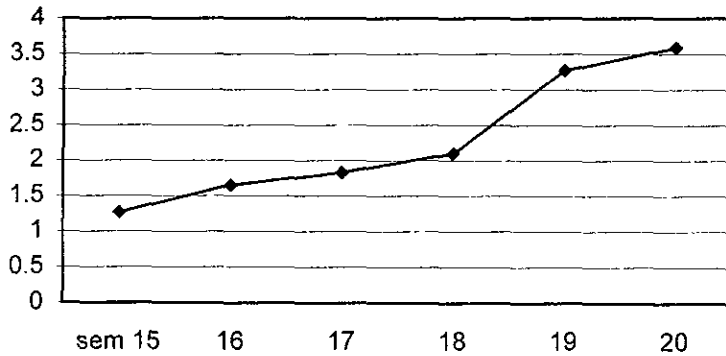
**Gráfica 1**  
**Mediana de la Concentración de AFP**  
**(ng/mL)**



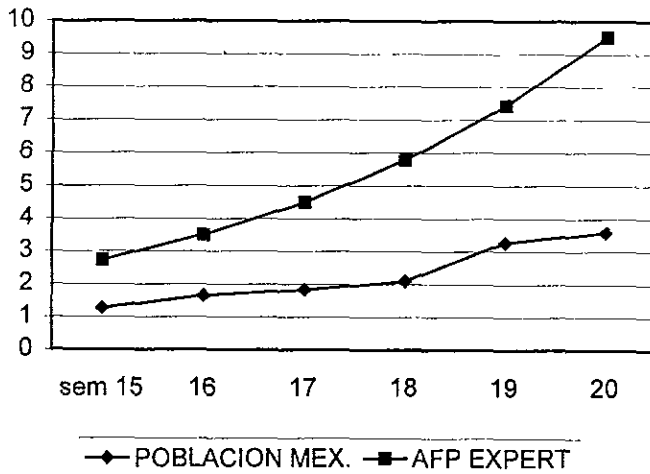
**Gráfica 2**  
**Mediana de la Concentración de AFP**  
**comparación entre AFP expert y**  
**población mexicana**  
**(ng/mL)**



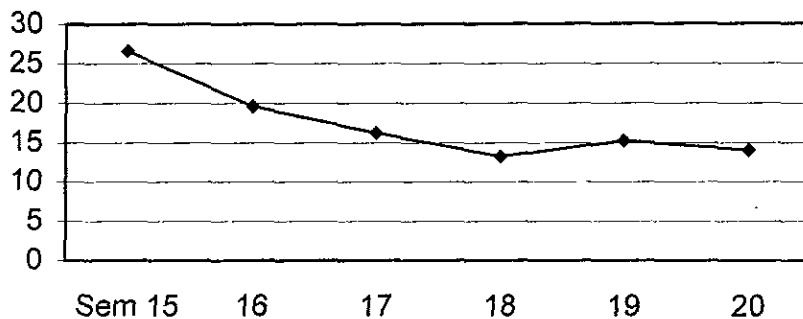
**Gráfica 3**  
**Mediana de la Concentración de uE3**  
**(ng/mL)**



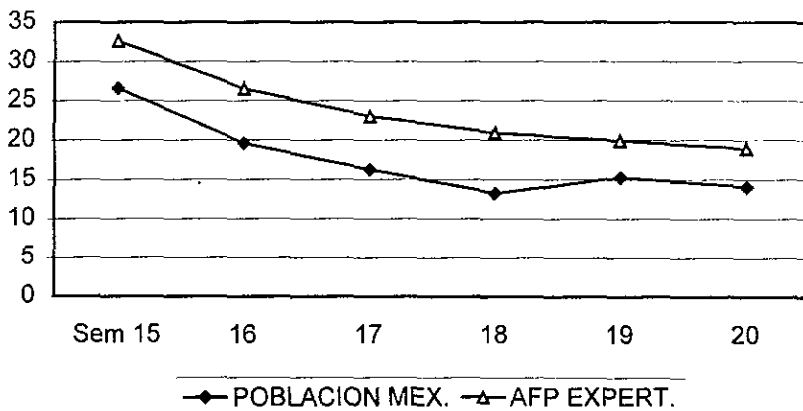
**Gráfica 4**  
**Mediana de la Concentración de uE3**  
**comparación AFP expert y población mexicana**  
**(ng/mL)**



**Gráfica 5**  
**Mediana de la Concentración de hCG**  
**mIU/L**



**Gráfica 6**  
**Mediana de la Concentración de hCG**  
**comparación entre AFP expert y población mexicana**  
**(mIU/L)**



## ***REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:***

1. Bianchi DW: Prenatal diagnosis by analysis of fetal cells in maternal blood. *J Pediatr* 127:847-856, 1995.
2. Lantz, M.E, William F, Williams M. The effect of sample preparation and storage on maternal Triple-Marker Screening. *Obstet Gynecol.* 1995; 85: 919-923.
3. Wald NJ. et al. First trimester biochemical screening for Down syndrome. *Ann Med* 1994;26:23-29.
4. Benn P, Home 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 and Gynecol* 1995; 173(2): 496-501.
5. Wenstrom KD, Desai. et al. Comparison of multiple-marker screening with amniocentesis for the detection of fetal aneuploidy in women > 35 years old. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:1287-1292.
6. Elías F, Simpson JE. *Maternal serum screening*. Ed. Churchill. Livingstone 1992. Cap. 2-3, p.p. 25-58.
7. Jimenez- Balderas E. Salamanca F. Estudio de malformaciones congénitas en 105,825 nacimientos consecutivos. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 42:744-748. 1985
8. Bartels, L. et al. Maternal serum HGC in pregnancies with fetal aneuploidy. *Am J Hum Genet* 37, 261, 1990.
9. Beekhuis, J. R. et al. The influence of serum screening on the amniocentesis rate in women of advanced maternal age. *Prenat Diagn.* 14(3):199-202, 1994.
10. Bogart, MH et al. Human chorionic gonadotropin levels in pregnancies with aneuploidies fetus. *Prenat Diagn* 9, 379-384. 1987.
11. 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 Genet* 43, A225-230, 1988.

12. Selafin C. M. et al. Prenatal pathology at term associated with elevated mid trimester maternal serum AFP concentrations. *Am J Obstet Gynecol*. Vol. 158. pp:1064-1066, 1993.
13. Burton, Bk. Unexplained elevated maternal AFP and adverse perinatal outcome. *Maternal serum screening, New York, Churchill Livinstone, 109-119. 1992.*
14. Dick, PT. Periodic heat examination, 1996 update: Prenatal screening for and diagnosis of Down syndrome. Canadian Task Force on the periodic heat examination. *Can Med Assoc J* 154(4):465-479, 1996.
15. Kellner 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.
16. Kellner LH, Weiner Z, Weiss RR, et al. Triple marker (alpha fetoprotein, unconjugated estriol, human chorionic gonadotropin) versus alpha-fetoprotein plus free-beta subunit in second-trimester maternal serum screening for fetal Down syndrome: A prospective comparison study. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;173 (4). 1306-1309.
17. Norgaard p. B. et al. A new simple and rapid dual assay for AFP and free Beta HGC in screening for Down syndrome. *Clin Genet*:45: 1-4. 1994.
18. Shohat M. et al. Down syndrome prevention program in a population with an older maternal age. *Obstet Gynecol* 85(3):368-373, 1995.
19. Walters C. Poor pregnancy outcome associated with elevated maternal serum AFP in combination increased risk for Down's syndrome. *Prenat Diagn*. Vol. 13 No. 21. pp: 2212-22.1 1993.
20. Beekhuis, J. R. et al. Increased maternal serum AFP, HGC in compromised pregnancies other than neural tube defects or Down Syndrome. *Prenat. Diagn*.12, 643-647 1992.
21. Tanaka M. J. Fetal growth in patients with elevated maternal serum HGC levels. *Obstet Gynecol* 81, 341-343. 1993.
22. Haddow J. E. et al. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *The New England Journal Of Medicine*. Aug. 27. 588-593. 1992.

23. Macri, J. N. et al. Maternal serum Down Syndrome screening: UE3 ins not useful. *Am J Obstet Gynecol.* 162, 672-673. 1990.
24. Owen P. et al. Maternal serum screening for fetal Down syndrome in women less than 35 years of age using Alpha-fetoprotein, HGC, and unconjugated estriol: a prospective 2 year study. *Obstetrics and Gynecology.* Vol. 80.3. September. 353-358. 1992.
25. Van Lith JM. First trimester maternal serum alpha-fetoprotein as a marker for fetal chromosomal disorders. *Dutch Working party on prenatal diagnosis.* *Prenat Diag* 14:961-971, 1994.
26. Brock DJ. Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 2(770):197-199, 1972.
27. Merkatz, et al. Association between low maternal serum AFP and fetal chromosome. *Am J Obstet Gynecol.* 148, 886-894. 1984.
28. Waller DK, Lusting LS, Cunningham Gc, et al. The Association Between Maternal Serum Alpha-fetoprotein and Preterm Birth, Small for Gestational Age Infants, Preeclampsia and Placental Complications. *Obstet Gynecol* 1996; 88:816-22.
29. Waller DK, Lusting LS, Smith AH. Alpha-fetoprotein: A Biomarker for pregnancy outcome. *Epidemiology* 1993;4:471-6.
30. Boyd PA. Why might maternal serum alpha-fetoprotein high in pregnancies in which the fetus is normally formed? *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99:93-5.
31. Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ: Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988;95:330-333.
32. Merksamer R, Israel N, Dar H. Unconjugated estriol as maternal serum marker for the detection of Down Syndrome Pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 1996;11:99-105.
33. Gonen R, Perez R, David M, Dar H, Merksamer R, Sharf M: The association between unexplained second trimester maternal serum hGC elevation and pregnancy complications. *Obstet Gynecol* 1992; 80:83-86.

34. Santolaya FJ, Burd LI, Burton BK. Clinical significance of low levels of second -trimester maternal serum Human Chorionic Gonadotropin. *Fetal Diagn Ther* 1994;9:362-366.

35. Knowles S, Flett P. Multiple marker screen positivity in the presence of hidrops fetalis. *Prenat Diagn* 1994; 14:403-405.

36. Shipp TD, Wilkins-Haug L. The association of early- onset fetal growth restriction, elevated maternal serum alpha-fetoprotein, and the development of severe pre-eclampsia. *Prenat Diagn* 1997; 17 (4) 305-309.