

Universidad Nacional Autónoma de México

**FACULTAD DE MEDICINA**

Instituto Nacional de Perinatología

ANALISIS DEL TRIPLE MARCADOR SERICO Y SU  
CORRELACION EN EL ESTUDIO DE BIENESTAR  
MATERNOFETAL EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DEL  
EMBARAZO

Protocolo de estudio: Parte 1

**TESIS**

que para obtener el título de

**Gineco-Obstetra**

PRESENTA

Dr. Gerardo Zagal Reyes

Tutor:

Dr. Ricardo García Cavazos

México, D.F.      1995



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.

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA

Instituto Nacional de Perinatología

ANALISIS DEL TRIPLE MARCADOR SERICO Y SU  
CORRELACION EN EL ESTUDIO DE BIENESTAR  
MATERNOFETAL EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DEL  
EMBARAZO

Protocolo de estudio: Parte 1

  
**DR. SAMUEL KARCHMER K.**  
DIRECTOR GENERAL  
PROFESOR TITULAR

  
**DR. ERNESTO BUSTELAZO MORALES**  
SUB DIRECTOR GENERAL DE ENSEÑANZA  
Y EDUCACION PROFESIONAL

**TESIS**

que para obtener el título de

**Gineco-Obstetra**

PRESENTA

Dr. Gerardo Zagal Reyes

Tutor:

Dr. Ricardo García Cavazos

México, D.F. 1995

*A dios*

*A mis padres por su apoyo*

*A Martha por su entusiasmo, ayuda y cariño*

*A Esteban por su amistad y ayuda*

*Al INPer*

# Contenido

---

Introducción y antecedentes históricos . . . . .	1
Características de los marcadores bioquímicos . . . . .	2
ALFA-FETO PROTEINA (AFP) . . . . .	2
Caracterización bioquímica de la AFP . . . . .	2
Localización y rango de síntesis de AFP durante el desarrollo fetal . . . . .	2
Origen de la AFP en líquido amniótico en embarazos normales . . . . .	3
Origen de AFP en suero materno en embarazos normales . . . . .	3
GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA (hGC) . . . . .	3
ESTRIOL (UE3) . . . . .	3
Triple marcador y alteraciones cromosómicas . . . . .	4
SINDROME DE DOWN (SD) . . . . .	4
OTRAS ANEUPLOIDIAS . . . . .	6
DEFECTOS DEL TUBO NEURAL (DTN) Y TRIPLE MARCADOR . . . . .	8
TRIPLE MARCADOR Y COMPLICACIONES DURANTE EL EMBARAZO . . . . .	8
Oligohidramnios . . . . .	8
Bajo peso al nacer . . . . .	9
Preeclampsia . . . . .	9
Desprendimiento prematuro de placenta (DPPNI) . . . . .	9
Pérdida fetal y perinatal . . . . .	10
Placenta . . . . .	10
Retardo en el crecimiento intrauterino (RCIU) . . . . .	10
Variables que afectan el resultado de las pruebas . . . . .	12
PESO MATERNO . . . . .	12
RAZA . . . . .	12
DIABETES MELLITUS . . . . .	12
Otros marcadores . . . . .	13

<b>Hipótesis . . . . .</b>	<b>14</b>
<b>Justificación . . . . .</b>	<b>15</b>
<b>Objetivos . . . . .</b>	<b>17</b>
<b>Material y métodos . . . . .</b>	<b>18</b>
POBLACION DE ESTUDIO: . . . . .	18
ESPECIMEN: . . . . .	18
PRUEBAS: . . . . .	18
PROGRAMA: . . . . .	18
CONSIDERACIONES DEL TAMIZ BIOQUIMICO: . . . . .	18
DEPARTAMENTOS Y SERVICIOS QUE PARTICIPAN: . . . . .	19
ACTIVIDADES: . . . . .	19
PROGRAMA DE ACTIVIDADES PARALELAS AL PROGRAMA: . . . . .	19
<b>Discusión y conclusiones . . . . .</b>	<b>21</b>
<b>Referencias bibliográficas . . . . .</b>	<b>22</b>

# Introducción y antecedentes históricos

---

En la últimas décadas los logros obtenidos en el campo del 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.

Actualmente, estos estudios tienden a ser no invasivos, de bajo costo y con técnica relativamente sencillas para poder ser aplicados a la gran mayoría de mujeres sin factores de riesgo.

Los estudios de tamizaje bioquímico, son ejemplo de estos avances, que se aplican para identificar mujeres sanas menores de 35 años en la edad óptima para la procreación, con 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.

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, ésta 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 utilizan la AFP como marcador del estado de desarrollo fetal detectándose concentraciones anormalmente altas en líquido amniótico de fetos con anencefalia o espina bífida abierta.

Desde 1974 se estudia la concentración de AFP en suero materno. La que ha sido utilizada en programas de tamizaje para defectos del tubo neural (DTN), en los Estados Unidos, Reino Unido y otros países occidentales (1).

Merkatz y cols., en 1984 observaron la asociación de bajos niveles de AFP y un incremento en el riesgo de síndrome de Down (SD). Por otra parte, Bogart y cols. demuestran que ésta disminución de AFP se asocia a SD (2,3)

En cuanto al estriol sérico materno no conjugado (UE3), Canick y cols. en 1988, lo establecen como un marcador confiable para SD (4,5).

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 coriónica (HGC) durante el segundo trimestre del embarazo se asociaba a un pobre resultado perinatal. Estos autores sugirieron que cuando los niveles de AFP y HGC se encuentran 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. (7,8,9, 10)

Además de las alteraciones cromosómicas y los DTN, Gross y cols. en 1994, Beekhuis y otros, han encontrado relación de la preeclampsia, la muerte fetal intrauterina, el retardo en el crecimiento intrauterino (RCIU), el parto pretérmino, el oligoamnios, el desprendimiento prematuro de placenta (DPPNI), los cambios vasculares en la placenta, infecciones virales congénitas (citomegalovirus, parvovirus y herpes), con alteraciones en los niveles del triple marcador. (1,11,12,13)

En 1988, Wald y cols. propusieron combinar los niveles séricos de AFP, hCG y UE3 con la edad materna para detectar todos los embarazos con SD. Con base en los resultados se generó un modelo estadístico para predecir el riesgo de SD basados en los niveles séricos de estos tres análisis. Usando este modelo, en un estudio retrospectivo, se detectó 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 detectó el 68% de los casos de SD. El primer reporte de este estudio en Estados Unidos, fue publicado en 1992 por Haddow y cols, quienes al monitorear a más de 25,000 mujeres, identificaron 23 de 34 casos de SD (66%) (13.14.15.16.17.18.19).

## Características de los marcadores bioquímicos

---

### ALFA-FETO PROTEINA (AFP)

#### **Caracterización bioquímica de la 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 indicó 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 está relacionada con la albúmina. Los genes de estas proteínas están localizados en el cromosoma 4, y la AFP tiene un peso molecular (69 000 d) y una estructura molecular similar a la albúmina. su vida media es de 4 días en el adulto (como estimación en pacientes con AFP asociada a padecimientos, como Ca hepático) (21,22).

#### **Localización y rango de síntesis de AFP durante el desarrollo fetal**

La AFP es sintetizada por el feto en el hígado y en el saco vitelino, y es la proteína sérica predominante al inicio de la vida fetal, alcanzando una concentración, de aproximadamente, 300 mg/dl en el suero fetal al final del primer trimestre. Después, su concentración decrece progresivamente, pero el hígado fetal continua la producción de AFP en un rango constante, hasta aproximadamente las 30 semanas de gestación, después de las cuales su producción cae precipitadamente. La caída en la concentración de la AFP en el suero



fetal, en la fase de síntesis hepática constante, puede explicarse por el incremento del volumen de la circulación fetal, que disminuye la concentración de AFP(23).

### **Origen de la AFP en líquido amniótico en embarazos normales**

La orina fetal, normalmente tiene cantidades medibles de AFP, indicando que el riñón fetal ha permitido que una pequeña porción de AFP circulante 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. (24)

### **Origen de AFP en suero materno en embarazos normales**

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 (25).

### **GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA (hGC)**

La hGC es una glucoproteína que contiene galactosa y hexosamina, como las hormonas glucoprotéicas hipofisarias está constituida por las subunidades alfa y beta. La alfa hGC es muy semejante a la subunidad alfa de la LH, FSH y TSH difiriendo sólo en que tiene dos aminoácidos invertidos y le faltan tres aminoácidos en la terminal N. El peso molecular de la alfa-hGC es de 18 000 y el de la beta-hGC es de 28 000. La hGC es principalmente luteinizante y luteotrópica y tiene poca actividad de FSH. Los genes para ésta 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. (26)

### **ESTRIOL (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 adrenales, convertido a 16-alfa-hidroxi-DHEAS en el hígado fetal. 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(4).

## Triple marcador y alteraciones cromosómicas

### SINDROME DE DOWN (SD)

Se han publicado muchos estudios en que se usan combinaciones de marcadores séricos para identificar el riesgo de SD, como son hGC y AFP (Bogart y cols. 1987; Arab y cols. 1988; Crossley y cols, 1991), hGC, AFP y UE3 (Wald y cols. 19888; Norgar-Pedersen y cols. 1990). (3,27,28,29,4,31)

Sin embargo, la última combinación de marcadores parece ser la más efectiva con un rango de detección del 80% con un falso-positivo del 4.0%, pero hay pocas publicaciones usando tal combinación, (Haddow y cols. 1992; Phillips y cols. 1992; Wald y cols. 1992 y Cheng y cols. 1993). (25,32,33,34)

En la Tabla 1 y Gráfica 1 se muestran los márgenes de detección y falsos positivos de los autores anteriormente mencionados.

**TABLA 1. Márgenes de detección y falsos-positivos**

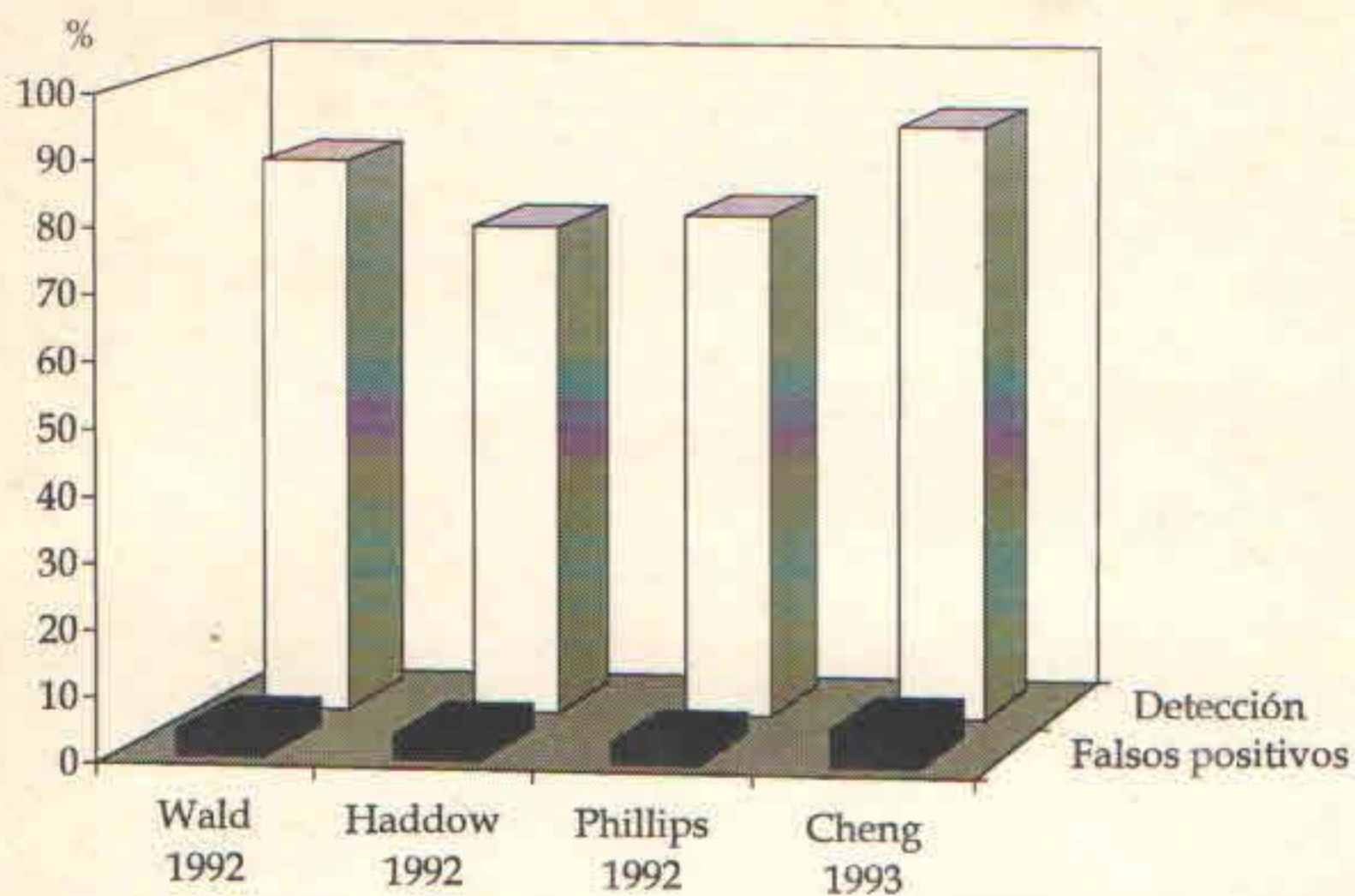
Autor	Detección (%)	Falsos Positivos (%)
Wald 1992	85	4.1
Haddow 1992	75	3.8
Phillips 1992	77	3.2
Cheng 1993	91	5.7

Existe una discusión respecto de los beneficios del uso del UE3 como un marcador para el SD, según reportan Wald, Norgard-Pedersen, Haddoy y Macri, pero sólo este último ha reportado un detrimento en los efectos al incluir el UE3. Los datos reportados por 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 los márgenes de detección. (5,31,25,32)

Si el UE3 es excluido del tamiz y el riesgo calculado usando la edad materna, los niveles de AFP y hGC separadamente, sólo 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. (Tabla 2)

Los embarazos que no fueron detectados, hubieran podido ser identificados si sólo se hubieran utilizado la AFP y la hGC combinados con la edad materna. (35)

Gráfica 1: Márgenes de detección y falsos positivos para SD usando el triple marcador



Con datos de la Tabla 1

**TABLA 2. Rangos de detección usando la edad materna combinada con AFP y hGC con o sin UE3 para el mismo rango de falsos-positivos (RFP)**

RFP %	Edad+AFP+hGC %	Edad+AFP+hGC+UE3 %
4	52	75
5	63	75

Una diferencia que presenta el análisis de UE3 es su estabilidad en muestras almacenadas: En el segundo trimestre, UE3 forma tan sólo el 8% del total del estriol y solamente una pequeña parte de la hidrólisis del estriol conjugado proporciona un incremento del UE3: 1% de la hidrólisis del conjugado resultará en un incremento del 11% del UE3. Muchos autores, en estudios retrospectivos han usados muestras almacenadas a -20°C por largos periodos, y las muestras pueden ser congeladas y descongeladas varias veces, lo que da mejor resultado apoyado por los reportes de Goodburn, el cual no congeló las muestras antes del análisis, y es posible que debido a esto sus valores de UE3 estuvieran por debajo de la mediana.(35,6)

Herrow y cols. confirman los resultados de estudios previos, en los que el valor medio de hGC en embarazos afectados debe ser de alrededor de la percentila 90 y que sólo en pocos casos el valor de la hGC está por debajo del valor normal; que los valores de AFP están disminuidos al igual que los de UE3, encontrados por debajo de la percentila 10. (37)

La explicación más 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 (Thomas y cols. 1990; Nelson y cols. 1987 y Los y cols. 1979) y estas anomalías en la placenta incrementan el riesgo de un dudoso resultado perinatal (38,39,40)

Un estudio morfométrico 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 hGC. Por otro lado, la disminución en la perfusión causa infarto y cambios isquémicos, lo cual ha sido demostrado por exámenes histológicos; lo cual incrementa la hGC ya que el origen de ésta es puramente placentario. La perfusión reducida es un estímulo para la formación de tejido trofoblástico, por lo tanto, el incremento del volumen trofoblástico se asocia a altos niveles de AFP y hGC, lo cual es pronóstico de alto riesgo y mal resultado perinatal. (41, 42, 43, 1)

Ryal y cols. encontraron por medio de análisis estadísticos complejos, en orden de significancia, que los marcadores más útiles para detectar SD son beta-hGC libre, UE3, alfa hGC libre, AFP y lactógeno placentario humano (LPH). Los marcadores que no tuvieron ninguna significancia estadística para predecir embarazos afectados fueron el estriol total, el estradiol y la progesterona. En el mismo estudio, la hGC total presentó significancia estadística. Aunque también se demostró que al usar la combinación de hGC total y beta-hGC se podía reducir el rango de falsos-positivos. Sin embargo, la combinación de la alfa hGC y la hGC total probó ser la mejor prueba discriminadora. (44)

## OTRAS ANEUPLOIDIAS

En un estudio de más de 13,000 mujeres con embarazos únicos durante el segundo trimestre en el que se practicó búsqueda de AFP, se demostró un riesgo relativo de 11.6% para defectos cromosómicos en asociación con bajos niveles de AFP (MoM= 0.4). El riesgo relativo para muerte fetal fue de 3.3 en los casos de AFP bajo, para defectos congénitos mayores y complicaciones del recién nacido en asociación con AFP baja no correlacionó un riesgo relativo significativo. La sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo para defectos cromosómicos fue de 39.1, 96.5 y 2% respectivamente; estos mismos parámetros para muerte fetal fueron de 10.9, 96.3 y 1.3% . (45)

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 bajos. (46)

Existen muchos otros reportes que documentan niveles bajos de AFP con trisomía 18 y trisomía 13, otras aneuploidias también se asocian con bajos niveles de AFP, incluyendo

la trisomía 22, la triploidia y el síndrome de Turner, así como mosaicos y otros. En suma, los bajos niveles de AFP observados en asociación con muerte fetal se ha repetido en varios estudios, así como la asociación con mola hidatidiforme. (2,47)

Drugan y cols. en 1 154 pacientes a las que se les practicó amniocentesis por bajos niveles de AFP observaron que sólo el 46.2% de los defectos cromosómicos detectados seguidos de amniocentesis tuvieron trisomía 21, mientras que el 53.8% presentó otras trisomías autosómicas o desarreglos estructurales. Aunque el número de pacientes afectados fue pequeño, todas las pacientes con niveles bajos de AFP deben ser asesoradas y estudiadas, no solamente para SD, sino también para otras aneuploidias. Estos resultados coinciden con los de Milunski en 1992. (45,47)

Sin embargo, se debe enfatizar la necesidad de combinar el tamizaje de AFP con hGC y UE3, en la búsqueda de defectos cromosómicos. Esto representa el más significativo desarrollo en la prevención secundaria de alteraciones cromosómicas serias desde la introducción de la amniocentesis. (45)

La observación de que bajos niveles de AFP en el segundo trimestre del embarazo se asocia con SD y otras aneuploidias fetales ha cambiado el punto de vista de la Perinatología. En el pasado, la edad materna fue la principal determinante para el diagnóstico prenatal del SD por amniocentesis o biopsia de vellosidades coriales (BVC). (17)

El descubrimiento en la asociación de AFP llevó a la introducción del término 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 (hGC y U3) se mejora el rango de riesgo. Esto lleva a poder seleccionar a las pacientes de riesgo, para realizar otros procedimientos de diagnóstico prenatal. (48)

El trabajo sobre AFP se extendió a otros marcadores séricos maternos como lo son el UE3 y la hGC que combinados detectan el 70-80% de los embarazos afectados. (45)

Palomaki y cols. en 1992, establecieron la relación entre AFP bajo durante el segundo trimestre del embarazo y trisomía 18. Esta asociación ha sido observada por otros autores. Más recientemente, Bartels en 1993 confirmó bajos niveles de hGC y UE3 en la trisomía 18. Los protocolos de búsqueda con los tres marcadores diseñados para el SD son utilizables también en la búsqueda de trisomía 18. (49,50)

Cuando existen defectos de cierre de la pared ventral del abdomen o defectos del tubo neural, encuentran niveles elevados de AFP en el 50% de los casos; el 25% de los fetos con trisomía 18 tienen esta afección, por lo cual se debe considerar al hacer el análisis y discriminación clínica. (51)

## DEFECTOS DEL TUBO NEURAL (DTN) Y TRIPLE MARCADOR

Los programas de búsqueda en suero materno de AFP en casos de DTN empezaron en el Reino Unido poco después de los primeros reportes de la asociación de niveles elevados de AFP con espina bífida abierta fetal en 1974. En 1977, se publicó el primer estudio que definía la sensibilidad y especificidad del tamiz de AFP para DTN abiertos. Se reportaron 18 648 embarazos únicos no afectados y 302 embarazos con DTN fetal (146 con anencefalia, 143 con espina bífida y 13 con encefalocele). por los resultados obtenidos expresados como múltiplos de la 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 y 85% para espina bífida abierta, pero el rango de falsos positivos, también aumento, a 8.2%. Los datos de detección citados para espina bífida son solamente para lesiones abiertas en aproximadamente el 20% de todos los casos de espina bífida abierta, el saco esta cubierto por una membrana gruesa (espina bífida cerrada), por ello, este defecto no es identificable midiendo AFP; esto indica que la detección de los defectos abiertos es confiable llevando a cabo el proceso de búsqueda adecuadamente. (52,53)

Por lo que respecta a los otros marcadores Burton en 1992, Beekhuis en 1992 y Walter en 1993, establecieron que los rangos de detección mejoraban al sumarlos a la prueba con AFP encontrando la AFP elevada, la HGC elevada y el UE3 disminuida, con sus respectivos múltiplos de la mediana (7,1,10)

## TRIPLE MARCADOR Y COMPLICACIONES DURANTE EL EMBARAZO

### **Oligohidramnios**

Existen varios reportes, tanto norteamericanos como holandeses, que describen una interesante asociación entre oligohidramnios y los niveles del triple marcador (TM), los cuales se encuentran de la siguiente manera, AFP aumentada, hGC aumentada y UE3 disminuida (54,55)

Esta patología se asocia a múltiples anormalidades en el embarazo, como son la preeclampsia, el parto pretérmino, el retardo en el crecimiento intrauterino (RCIU), anormalidades cromosómicas, anormalidades estructurales en el feto, muerte fetal, desprendimiento prematuro de placenta (DPPNI), etc. (54,55,7,56,,57,46,60,61,62,63,65)

Un dato muy importante es, que el riesgo de pérdida fetal o muerte perinatal es particularmente alto (90-95%) con elevaciones de AFP asociadas e inexplicables al oligohidramnios. Menos del 5-10% de los embarazos afectados con esta combinación durante el segundo trimestre resultan de un parto con un recién nacido viable. La mayoría terminan en abortos espontáneos, partos pretérminos o inmaduros, con fetos no viables por hipoplasia pulmonar, con o sin anormalidades cromosómicas. (7)

## **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 con bajo peso, esto representa un rango 5 veces mayor que el observado en pacientes con niveles normales de AFP. (56,57)

Brock y cols. fueron los primeros en observar la relación anteriormente mencionada. 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. (56)

Aproximadamente, el 15% de los embarazos destinados a un recién nacido con bajo peso son identificables por elevaciones de AFP durante el segundo trimestre, aunque la mayoría de estos embarazos, presentan niveles normales de AFP durante esa etapa de la gestación. (56)

## **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. (59)

Hamilton, en 1985, encontró una alta incidencia de preeclampsia en pacientes con niveles de AFP mayores o iguales a 2 MoM, así como Milunski en 1989, y Clayton-Hopkins en 1986. (46,60)

La preeclampsia se ha asociado a alteraciones en los otros marcadores, Chour-Dong y Chan en 1994 explicaron esta asociación; ellos encontraron elevaciones en la hGC y lo relacionaron con una respuesta secretora placentaria anormal en la preeclampsia. Consideraron la preeclampsia como una alteración trofoblástica, ellos encontraron que la hGC 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 hipoxia que induce un incremento del índice mitótico placentario, sobre todo del sincitiotrofoblasto que produce esta hormona. (61)

Muchos autores recomiendan en las pacientes con AFP elevada de manera inexplicable durante el segundo trimestre del embarazo, sin patología fetal y/o materna, repetir la determinación de AFP en el tercer trimestre, o bien, utilizar otros métodos diagnósticos. (46)

## **Desprendimiento prematuro de placenta (DPPNI)**

Se ha reportado una incidencia importante de DPPNI en pacientes con elevaciones de 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. (62,60)

### **Pérdida fetal y perinatal**

Es bien conocido que elevaciones de AFP se relacionan con pérdida fetal en 3-5% de pacientes y el 20% de todas aquellas con niveles de AFP  $\geq 5$  MoM. Burton reportó un rango de 4% de pérdida fetal en embarazos de más de 20 semanas en las que se conocía previamente que tenían un feto viable, comparado con el 0.5% de los controles. Se ha visto un incremento de muerte neonatal cuando se eleva la AFP, Robinson confirmó el hallazgo de un incremento de muerte fetal (óbito) con una elevación de la AFP  $\geq 4$  MoM, tenían un 245% de muerte fetal. Milunski reportó que estas pacientes tienen un riesgo de muerte fetal de 1:33, comparados con el riesgo de 1:122 en pacientes con niveles de AFP normales. (63,60)

Simpson y cols. sugieren que la capacidad para detectar embarazos con riesgo para complicaciones tardías del embarazo con historia clínica normal, exploración física, ultrasonido y amniocentesis normales, en la actualidad sólo se logra con determinaciones del triple marcador. (64)

### **Placenta**

Existen varias patologías placentarias que se asocian con elevaciones de AFP como son los corioangiomas, hemangiomas y hematomas, descritos por Perkes, quien también notó quistes placentarios en el 19% de las pacientes con elevaciones de AFP inexplicables, comparadas con el 2.3% de los controles. La degeneración hydatidiforme de la placenta de asocia a altos niveles de AFP. (65)

El 33% de las placentas con elevaciones de AFP inexplicables tienen lesiones vasculares, que consisten en infartos o trombos intervillosos. El 32% de las pacientes con aumentos de AFP inexplicables, no presentaron patología placentaria, y ninguna de esas pacientes, tuvo infantes de bajo peso, comparadas con las que sí tuvieron patología. (46)

Lachman, encontró que las elevaciones leves de AFP que regresaban a niveles normales presentan una hemorragia feto-materna transitoria y no recurrente. Esto se ha documentado con la técnica de Kleihauer-Bedke, estas pacientes tienen buen pronóstico. (66)

### **Retardo en el crecimiento intrauterino (RCIU)**

Gonon, en 1992, estableció la asociación entre elevaciones de AFP y hGC durante el segundo trimestre del embarazo y diferentes complicaciones de éste, como el RCIU. Este último se asoció en el 10.3% de las pacientes. La elevación de hGC en el segundo trimestre y mediciones subsecuentes elevadas, se relacionan más con RCIU. (67)



En síntesis, podemos señalar los siguientes datos enunciados en las tablas 3 y 4

**Tabla 3**

Ante una disminución inexplicable de AFP 0.5 MoM, existe posibilidad de pérdida gestacional, embarazo anembriónico, embarazo molar.

Ante un aumento inexplicable de hGC 2,5 MoM , existe posibilidad de hipertensión (12.2%), RCIU (10.3), Parto pretérmino( 7%), Pérdida fetal ( 1.8).

**Tabla 4: Elevaciones no explicables de AFP mayores que 2.5 MoM**

<b>Fetal</b>	<b>Aumentada %</b>	<b>Normal %</b>
Bajo peso al nacer	15	7.2
RCIU	7	—
Daño fetal	20	3 al 15
Pérdida fetal tardía	4	0.5
Obito	6-9-24	8.1
Muerte neonatal	2.1	0.5
<b>Materno</b>	<b>Aumentada %</b>	<b>Normal %</b>
Sangrado transvaginal	—	—
Oligoamnios	—	—
Preeclamsia	13	1
Hipertensión	28	—
Desprendimiento placentario	6.4	0.3
Defectos congénitos	6.2	1.4
Corioangioma/hemangioma/ hematoma placentario	—	—
Quistes placentarios	—	—

**Tabla 4: Elevaciones no explicables de AFP mayores que 2.5 MoM**

Triploidias	—	—
Citomegalovirus y Parvovirus		
Indicador de patología placentaria	50	—

## Variables que afectan el resultado de las pruebas

Las variables que afectan la confiabilidad de los resultados en razón del programa de tamizaje para el triple marcador son:

### PESO MATERNO

Se ha encontrado que las pacientes obesas tienen valores de AFP bajos, esto es por dilución, ya que tienen un volumen sanguíneo aumentado. En este tipo de mujeres debe valor el uso del factor de dilución dividido por la MoM. sobre todo en mujeres de más de 100 Kg. El factor de dilución es  $1.555 - 0.00417 \times \text{peso materno (lb)}$ . (71)

### 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 leves variaciones de AFP y hGC en la raza asiática (disminuidas), en los demás tipos de razas estudiadas, no hay variaciones significativas. No se encontró ningún reporte sobre hispanos. (68)

### DIABETES MELLITUS

Existen varios estudios que hablan de que la Diabetes mellitus del tipo insulino dependiente altera los niveles séricos del triple marcador, principalmente AFP. (69)

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. (70)

Palomaki menciona en su estudio que la AFP presenta una gran variación mientras que los otros dos marcadores se modifican muy poco, por lo que propone utilizar estos dos como prueba de búsqueda en este tipo de pacientes. (70)

Existen otros factores que afectan los resultados de la prueba, como son tabaquismo, embarazos múltiples, y la edad de la paciente. (70).

## Otros marcadores

---

Se han reportado otros marcadores bioquímicos maternos como son el lactógeno placentario humano, la progesterona, anticuerpos contratiroglobulina, fosfatasa alcalina de los neutrófilos, CA-125, beta-glicoproteínas, etc. Sin embargo, los estudios realizados con estos marcadores utilizan muestras de población muy pequeñas. (50)

# Hipótesis

---

Con base en los resultados, establecer los parámetros de normalidad en concentración sérica de los tres marcadores en población mestiza mexicana.

# Justificación

---

En los Estados Unidos, en el Reino Unido, y en otros países occidentales, se realizan estudios de búsqueda de patologías del embarazo, como alteraciones cromosómicas, preeclampsia, DTN, RCIU, parto pretérmino, oligoamnios, muerte fetal, etc. utilizando marcadores séricos maternos en protocolos ya estudiados y todos coinciden en que el llamado triple marcador (AFP; UE3 y HGC) es un acertado estudio de tamizaje para establecer, según las combinaciones de éstos, en cuanto a parámetros bien establecidos las patologías previamente mencionadas.

El Comité de Actividades Clínicas (Clinical Practice Committee), del American College of Medical Genetics, divulgó recientemente su posición en relación a la utilización de marcadores múltiples conducentes al diagnóstico prenatal de las anomalías cromosómicas.

La determinación simultánea de los niveles séricos de alfa-feto proteína (AFP), estriol no conjugado (UE3) y hormona gonadotropina coriónica (HGC), ha demostrado una sensibilidad superior al estudio aislado de AFP en la detección de fetos con trisomía 21. Existe un acuerdo general en que éste debe ser el método recomendado a pacientes embarazadas menores de 35 años de edad. La utilización del "triple screening" en mujeres mayores de 35 años es, sin embargo, controvertido y no existe uniformidad de criterio. Aunque el uso de marcadores múltiples disminuiría significativamente el número de amniocentesis, un 10-15% de fetos con trisomía 21 no serían diagnosticados en pacientes de este grupo etario.

Es por eso que aparece como acertada la decisión del Comité de Actividades Clínicas del ACMG, de recomendar que no se reemplace la amniocentesis por marcadores séricos como método de detección de la trisomía 21 y otras anomalías cromosómicas en pacientes mayores de 35 años. Además, el Comité enfatiza la importancia de proveer a los pacientes estudiados con marcadores séricos múltiples, de un adecuado asesoramiento sobre las ventajas y limitaciones del método.

En México, no se cuenta con estudios de este tipo en nuestra población, de ahí la importancia de adquirir experiencia en la aplicación de los mismos en nuestro medio.

En cuanto a la implementación de un programa de detección utilizando este método que presenta ventajas muy importantes como son su bajo costo, su técnica sencilla y rápida, no invasivo y de bajo riesgo para el feto, resulta de gran utilidad, ya que otros son más caros, requieren de infraestructura, es de riesgo y sólo se indicarían o justificarían en casos específicos.

El poder establecer conceptos como es el embarazo de bajo y alto riesgo, es importante, porque en el caso de mujeres con edad materna (menor de 35 años) sin patología (sanas), sin antecedentes patológicos, es decir, de bajo riesgo, puedan contar con un mecanismo que

establezco por si solo la posibilidad de que estas pacientes, en realidad cursen con un embarazo de alto riesgo, según los criterios del tamiz del triple marcador.

# Objetivos

---

- Establecer los valores normales de la AFP, hGC y UE3 en suero materno de población mexicana (INPer) en mujeres embarazadas sanas de menos de 35 años con embarazo único.
- Fundamentar la importancia del tamiz bioquímica como prueba en la búsqueda de patologías en la mujer embarazada de bajo riesgo.
- Adquirir experiencia en la metodología necesaria en el uso del triple marcador.
- Utilizar el triple marcador como tamiz en un estudio prospectivo como indicador de bienestar materno-fetal en una población del INPer
- Evaluar la eficacia del triple marcador en un estudio de tamizaje en una población del INPer.

# Material y métodos

---

## POBLACION DE ESTUDIO:

- Pacientes embarazadas de menos de 35 años, con producto único, vivo entre la 15 y 18 semanas por FUM y USG.

## ESPECIMEN:

- Muestra de suero materno.

## PRUEBAS:

- Cuantificación en ug/l por radioinmunoensayo alfa fetoproteina (AFP)
- Hormona gonadotropina coriónica completa (HGC)
- Estriol no conjugado (UE3)

## PROGRAMA:

- AFP expert versión 4.04, Benetech Medical System
- Calcula la mediana para todos los marcadores en conjunto y por separado.
- Correlaciona edad gestacional, materna, raza, peso, FUM, diabetes.
- Calcula la mediana por semana y por día.
- Calcula los múltiplos de la mediana.
- Corrige MoM por edad gestacional, materna, raza, peso, diabetes y embarazo gemelar.
- Proporciona ocho diferentes formatos de presentación.

## CONSIDERACIONES DEL TAMIZ BIOQUIMICO:

- No es diagnóstica
- Detecta grupos de riesgo
- Puede registrar falsos positivos y negativos.
- No mide la presencia absoluta de la alteración.



- Proporciona especificidad.
- Proporciona sensibilidad.
- Permite el valor predictivo.

#### DEPARTAMENTOS Y SERVICIOS QUE PARTICIPAN:

- Genética
- Medicina fetal
- Endocrinología
- Gineco-Obstetricia
- Perinatología.

#### ACTIVIDADES (ver Esquema 1):

- Registro de información
- Análisis de información (ver Tabla 5), en caso necesario por el grupo multidisciplinario.
- Elaboración de reporte para historia clínica
- Seguimiento programado.
- Manejo y monitorización.

#### ACTIVIDADES PARALELAS AL PROGRAMA:

- Programa de comunicación para todo el personal clínico en relación al programa.
- Sistema de captura y almacenaje de datos.
- Sistemas de control en el análisis de las muestras.
- Sistema rápido de notificación y asesoramiento.
- Interacción del grupo multidisciplinario para el análisis de casos problema.
- Sistema de seguimiento y monitorización.

**Tabla 5: Resultados del tamiz bioquímico**

Marcadores			Patologías
AFP	UE3	hGC	
Bajo	Bajo	Alto	Trisomía 21
Bajo	Bajo	Alto	Edad gestacional sobre-estimada
Bajo	Muy bajo	Muy bajo	Trisomía 18
Muy bajo	Muy bajo	No	No embarazo
Varia	Muy bajo	Muy bajo	Pérdida fetal
No	Muy bajo	Alto	Turner (hidrops)
No	Muy bajo	Bajo	Turner
Muy alto	Muy bajo	Bajo	Anencefalia

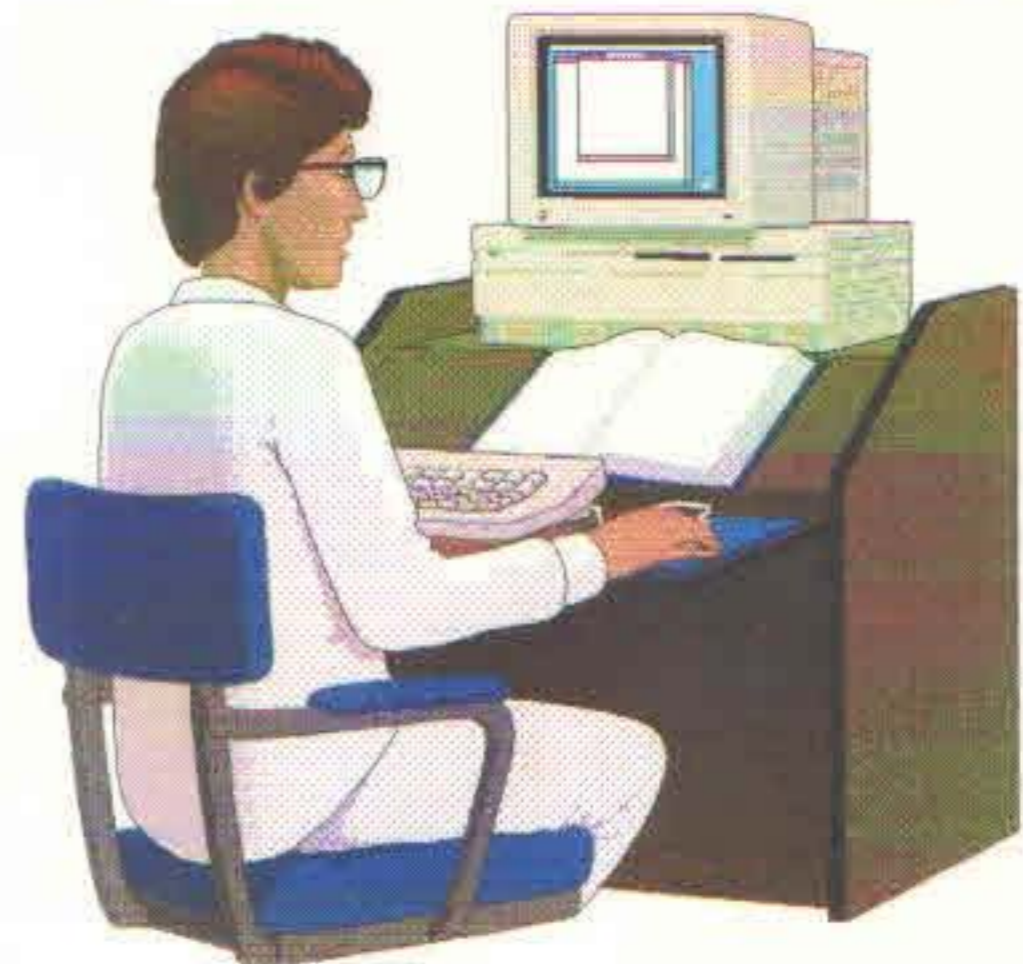
Fuente: Medetech Medical System.

# Diagrama de flujo del Tamiz Bioquímico (Triple Marcador)



Suero materno

Embarazo único  
15-20 SDG  
Edad materna <35 años  
Otros (DM, peso)



Programa:  
AFP Expert Version 4.04  
Benetech Medical System

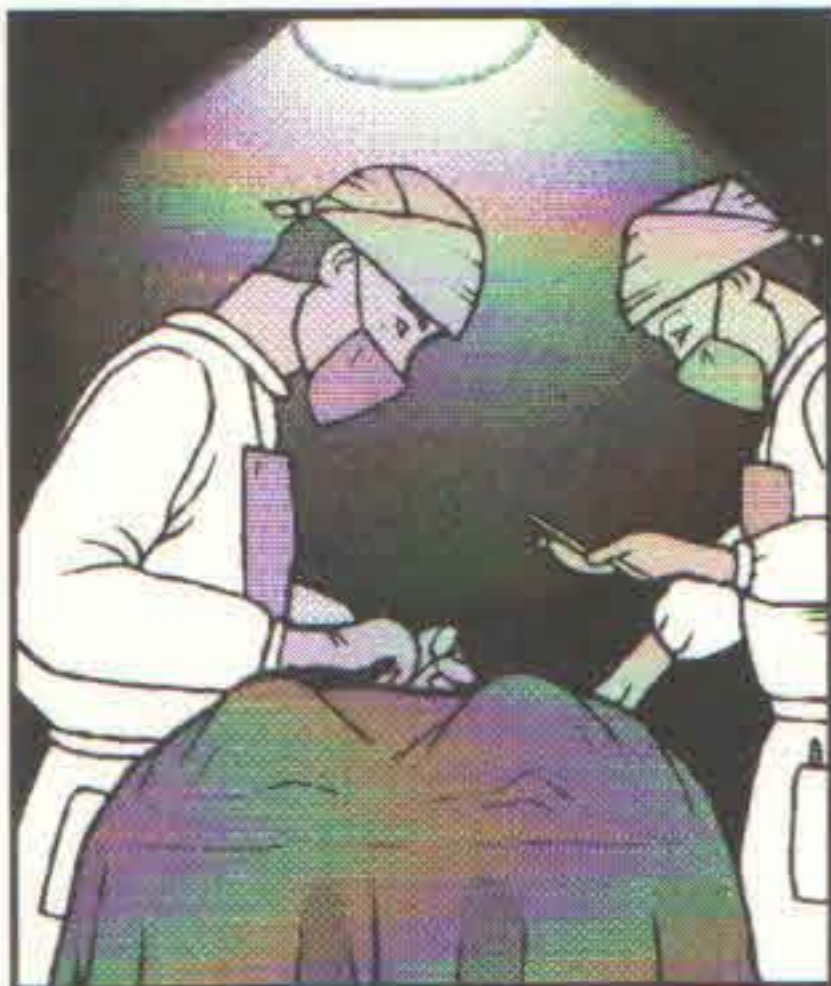
**RIESGO**



Riesgo Fetal y/o Materno  
con tamiz positivo



Grupo Médico  
Interdisciplinario



Otro  
procedimiento

## Discusión y conclusiones

---

Según la experiencia internacional, los valores normales de los marcadores del tamiz bioquímico (triple marcador) en mujeres embarazadas durante el segundo trimestre de gestación no varían de los reportados en diferentes poblaciones étnicas. Esperamos que en cuanto se aplique el programa podamos determinar si existe o no diferencia con los reportes internacionales en razón de la población mestiza mexicana.

# Referencias bibliográficas

---

1. Beekhuis, J.R., Van Lith, M:M: Increased maternal serum AFP, HGC in compromised pregnancies other than neural tube defects or Dow Syndrome. *Prenatal Diagnosis* 12, 643-647 (1992)
2. Merkatz, I.R., Nitkowsky, H.M., Macri, J.N. And association between low maternal serum AFP and fetal chromosome abnormalities. *Am. J. Obstet. Gyneacol.* 148, 886-894 (1984)
3. Bogart, M.H., Goldbus, M.S., Jones, O.W. Human chorionic gonadotropin levels in pregnancies with aneuploidies fetus. *Prenat Diagn* 9, 379-384 (1987)
4. Canick, J.A., Knight, G.J. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Donw's Syndrome. *Br J Obstet Gyneacol* 95,330-333 (1988)
5. Wald, N.J., Cuckle, H.S. Maternal serum unconjugated oestriol as an antenatal screening test for Down Syndrome. *Br J Obstet Gyneacol* 95,334-341 (1988)
6. Macri, J.N.,Kasturi, R.B. Maternal serum Down Syndrome screening: UE3 ins not useful. *Am. J. Obstet Gyneacol.* 162, 672-673 (1990)
7. Burton, B.K. Unexplained elevated maternal AFP and adverse perinatal outcome. *Maternal Serum Screening, New York, Churchill Livinstone, 109-119 (1992)*
8. Gravett, C.P., Buckmaster, J.G. Elevated second trimester maternal serum HGC concentrations and subsequent adverse pregnancy outcome. *Am J Med Genet* 44,485-486 (1992)
9. Tanaka, M.J., Natori, M. Fetal growth in patients with elevated maternal serum HGC levels. *Obstet Gynecol* 81,341-343 (1993)
10. Walters, C.P., Poor pregnancy outcome associated with elevated maternal serum AFP in combination with increased risk for Donw's syndrome. *Prenat Diagn* 13,221-222 (1993)
11. Gross, J.S., Owen, P.P., Lee, P.S. Adverse perinatal outcome in patients screen positives for NTD and fetal SD *Prenat Diagn* 34, 690-618 (1994)
12. Salafin, C.M., Silvermann, L. Prenatal pathology at term associated with elevated mid trimester maternal serum AFP concentrations. *Am J Obstet Gynecol* , 158, 1064-1066 (1993)

13. Katz, V.L., Cefalo, R.C. Elevated second trimester maternal serum AFP and cytomegalovirus infection. *Obstet Gynecol* 68, 580-581 (1993)
14. Younings, S., Gregson, N. The efficacy of maternal age for DS in Wessex. *Prenat Diagn* 11,419-425 (1991)
15. New England Regional Genetic Group Prenatal Collaborative Study of DS screening combining maternal serum AFP and measurements and age to screen for fetal DS in pregnant women on the age 35 *Am J Obstet Gynecol* 160,175-179 (1989)
16. Bogart, M.H., Pandia, M.R. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 7,623-630 (1987)
17. Wald, N.J., Cuckle, H.S. Maternal serum screening for DS in early pregnancy *B M J* 297,883-887 (1987)
18. Wald, N.J., Kennard, A. Antenatal maternal serum screening for DS. *B M J* 305,391-394 (1992)
19. Haddow, J.E., Palomaki, G.E. Prenatal screening for DS with use of maternal serum markers *N Engl. J Med* 327,588-592 (1992)
20. Gergstrand, C.G., Czar, B. Demonstration of a new protein fraction in serum from the human fetus *Scand J Clin Lab Invest* 8,174 (1956)
21. Harper, M.E., Dugaiczyk, A. Linkage of evolutionary-related serum albumin and AFP genes within human chromosome 4. *Am J Hum Genet* 35,565-570 (1983)
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 Press, San Diego 1978
23. Tomasi, T.B. Structure and function of AFP. *Ann Rev Med* 28,453-458 (1977)
24. Second report of the U.K. Collaborative study on AFP in relation to NDT. *Lancet* ii 651 (1979)
25. Haddow, H.E., Macri, J.N. The amnion regulates movement of fetally derived AFP in to maternal blood *J Lab Clin Med* 94,344-450 (1979)
26. Graham, G.W., Crossley, J.A. Variation in the levels of pregnancy specific beta-1-glicoprotein in maternal serum from chromosomally abnormal pregnancies. *Prenat Diagn* 12,505-512 (1975)

27. 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* 43,A225-230 (1988)
28. Crossley, J.A., Aitken, D.A. Prenat screening for chromosome abnormalities using maternal serum chorionic gonadotropin , AFP and age. *Prenat Diagn* 11,83-101 (1991)
29. Petrocik, E., Wassman, E.R. Prenatal screening for DS with maternal serum human chorionic gonadotropin . *Am J Obstet Gynecol* 161, 1168-1173 (1989)
30. Muller, E., Boué, A. A single chorionic gonadotropin assay for maternal serum screening for DS. *Prenat Diagn* 10, 389-398 (1990)
31. Nogard-Pedersen, P., Larsen, O. Maternal serum markers in screening for DS. *Clin Genet* 37,35-43 (1990)
32. 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* 80,353-358 (1992)
33. Cheng, E. Y., Luthy, D.A. A prospective evaluation of a second trimester screening test for fetal DS using maternal AFP, HGC and UE3. *Obstet Gynecol* 81.72-76 (1994)
34. Wald, N.J., Kennard, A. Antenatal maternal serum screening for DS: results of a demonstration project. *Br Med J* 305,391-394 (1992b)
35. Goodburn, S.F., Yates, J.R.W. second trimester maternal serum screening using AFP and unconjugated estriol: experience of a regional program. *Prenat Diagn* 14,391-402 (1994)
36. Crossley, J.A., Aitken, D.A. Second trimester unconjugated oestriol levels in maternal serum from chromosomally abnormal pregnancies using and optimized assay. *Prenat Diagn* 13,271-280 (1993)
37. Herrow, M., Leporrier, N. Screening for fetal DS with maternal serum HGC and oestriol: A prospective study. *Prenat Diag* 12,887-892 (1992)
38. Thomas, R.L., Blackmore, K.J. Evaluation of elevation in maternal serum AFP: A review. *Obstet Gynecol Surv* 45,269-283 (1990)
39. Nelson, L.H., Bensen, J. Outcomes in patient unusually high maternal serum AFP levels. *Am J Obstet Gynecol* 157,572-576 (1987)

40. Loss, F.J., Dewolf, B.T.H.M. Raised maternal serum AFP levels an spontaneous fetomaternal transfusion. *Lancet* i1210-1212 (1979)
41. Boyd, P.A.; Keeling, J.W. Raised maternal serum AFP in the absence of fetal abnormality placental findings: a quantitative morphometric study. *Prenat Diagn* 6,369-373 (1986)
42. Hay, D.L. Placental histology and the production of HGC and its subunits in pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 95, 1268-1275 (1988)
43. Roberts, J.M., Taylor, R.N. New development in preeclampsia. *fetal Med Rev* 2,125-141 (1990)
44. Ryall, R.G., Staples, A.J. Improved performance in a prenatal screening programme for DS incorporating serum-free hGC subunit analyses. *Prenat Diagn* 12, 252-262 (1992)
45. Milunsky, A., Nebiolo, L. Screening for chromosome defects in the first and second trimester of pregnancy in Maternal Serum Screening. Churchill ed. 75-86 (1992)
46. Burton, B.K. Outcome of pregnancy in patients with unexplained elevated or low levels of AFP. *Obstet Gynecol* 5,709 (1988)
47. DiMaio, M.S., Baumbarten, A. Screening for fetal DS in pregnancy by measuring maternal AFP levels, *N Engl j Med* 317, 242 (1987)
48. 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* 94, 387 (1987)
49. Palomaki, G.E., Panizza, D.S. Screening for DS using AFP, UE3 and hGC: *Am J Hum Genet* 47,282 (1990)
50. Bartels, I., Thile, M. Maternal serum hGC in pregnancies with fetal aneuploidy. *Am J Med Genet* 37,261 (1990)
51. Palomaki, G.E., Knight, E.H. Prospective intervention trial of a screening protocol to identify fetal trisomy 18. *Prenat Diagn* 12, 925-930 (1992)
52. Wald, N.J., Brock, D.J.H. Prenatal diagnosis of spina bifida and anencephaly by maternal AFP measurement. *Lancet* 765-770 (1974)
53. 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* 1323-1328 (1977)



54. Los, F.J., Hagenaaars, A. A maternal serum markers in second trimester oligohidramnios. *prenat Diagn* 14,565-568
55. Los, F.J., Beekhuis, J.M. Origin of raised maternal serum AFP levels in second trimester oligohidramnios. *Prenat Diagn* 121,39-45 (1992)
56. Brock, D.J.H., Barrón L. Maternal serum AFP measurement as and early indicator of low-birth-weight. *Lancet* 2,267-269 (1977)
57. Wald, N.J., Cuckle, M. Maternal serum AFP and Low-birth-weight. *Br J Obstet Gynecol*, 92,341-349 (1980)
58. Ghosh, A. Tang, M.H.Y. Justification of maternal serum screening in a population with low incidence of NTD. *prenat Diagn* 6,83-88 (1986)
59. Walter, B.N.J., Lao, T: AFP elevations and proteinuric preeclampsia. *Br J Obstet Gynecol*. )2,341-349 (1985)
60. 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* 161, 291-298 (1989)
61. Chaour-Dong, H. Chan, W. Elevated serum HGC as evidence of secretory response in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 170,1135-1138 (1994)
62. Purdie, D.W., John, J.L. fetal growth achievement and elevated maternal serum AFP. *Br J Obstet Gynecol* 90,433-440 (1987)
63. Robinson, L., Crau, P. Pregnancy outcome after increasing maternal serum AFP levels. *Obstet Gynecol* 74,17-21 (1989)
64. Simpson, J.L., Andersen, R.N. Third trimester maternal serum AFP normative dates and potential utility in predicting adverse obstetric outcome. *Am J Hum Genet* 45 (supl): A270 (1989)
65. Perkes, E.A., Bain, R.S. Second trimester placental changes associated with elevated maternal serum AFP. *Am J Obstet Gynecol* 144,935-942 (1982)
66. Lachman, E. Hingley, S.M. Detection and measurements of feto-maternal hemorrhage: serum AFP and Kleihauer-Bedke technique. *Br Med J* i,1377 (1977)
67. Gonen, R., Pérez, R. The association between unexplained second trimester maternal serum hGC elevations and pregnancy complications. *Obstet gynecol* 80,83-85 (1992)

68. Owen, P., Shierman, E. Genetics and epidemiology os NTD in Maternal Serum Screening. Churchill ed, Livingstone, 1-25 (1992)
69. Wald, N.J., Cuckle, H.S. maternal serum AFP and diabetes mellitus. Br J Obstet Gynecol 86,101-105 (1979)
70. Palomaki, G.E., Knight, G.J. HGC and UE3 measurements in insulin dependent diabetic pregnant. Prenat Diagn 14,65-68 (1994)
71. Drugan, A. Dvorin, E. The inadecuancy of the current correction for maternal weight and maternal AFP interpretation. Obstet Gynecol 74,698-700 (1989)