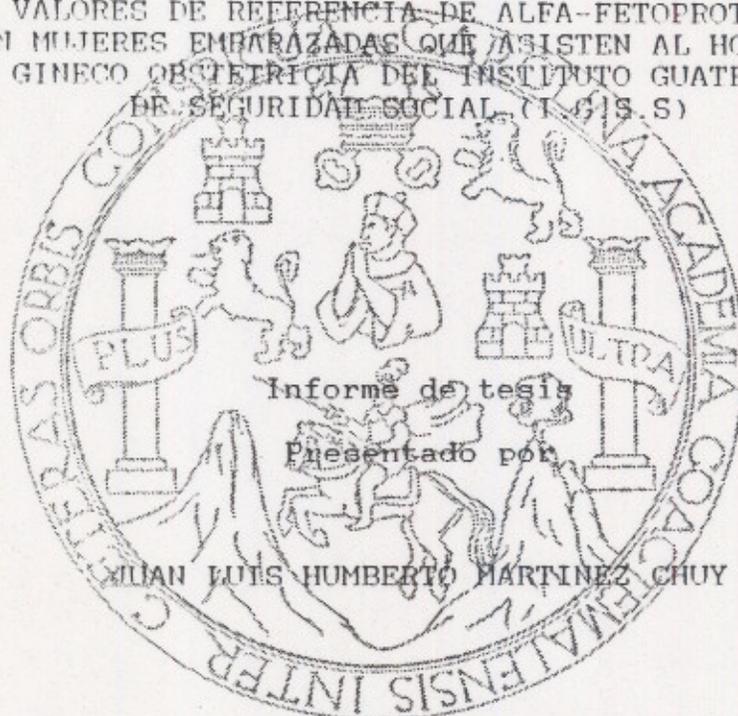


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

VALORES DE REFERENCIA DE ALFA-FETOPROTEINA
EN MUJERES EMBARAZADAS QUE ASISTEN AL HOSPITAL
DE GINECO OBSTETRICIA DEL INSTITUTO GUATEMALTECO
DE SEGURIDAD SOCIAL (I.G.S.S)



Para optar al título de
QUIMICO BIOLOGO

Guatemala. mayo de 1995.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06
T(1458)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LICDA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA
VOCAL II	LIC. GERARDO ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL IV	BR. JORGE LUIS GALINDO HERRERA
VOCAL V	BR. EDGAR ANTONIO GARCIA DEL POZO

TESIS QUE DEDICO

A Guatemala[.]

A Universidad de San Carlos de Guatemala

A Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

A Escuela de Química Biológica

AGRADECIMIENTOS

A Licda. Vivian Lucrecia Matta Ríos

Al personal Profesional y Técnico del Laboratorio Clínico del Hospital de Gineco Obstetricia del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (I.G.S.S.)

A Laboratorios Abbott División Diagnóstica

A todas las personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de este estudio.

INDICE

	PAGINA
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	2
III. ANTECEDENTES	4
IV. JUSTIFICACIONES.23
V. OBJETIVOS.24
VI. HIPOTESIS.25
VII. MATERIALES Y METODOS26
VIII. RESULTADOS30
IX. DISCUSION DE RESULTADOS.33
X. CONCLUSIONES35
XI. RECOMENDACIONES.36
XII. REFERENCIAS.37
XIII. ANEXOS48

I. RESUMEN

El presente estudio estuvo dirigido a establecer los valores de referencia para los niveles de Alfa-Fetoproteína materna en suero (AFPMS), en mujeres embarazadas comprendidas entre las semanas 14 a 23 de gestación, que asisten al Hospital de Gineco Obstetricia del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. Se analizaron muestras de 292 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión del estudio para establecer los rangos de referencia.

A partir del análisis estadístico se pudieron establecer los niveles de referencia para AFPMS, expresadas en términos de múltiplos de la mediana y se observó que estas muestran un incremento a medida que se avanza en edad gestacional aunque éste no es constante.

Basándose en los resultados obtenidos, se recomienda utilizar la determinación de AFPMS como prueba de tamizaje para la población de mujeres embarazadas, en la búsqueda de probables defectos del tubo neural y trisomías autosómicas fetales; tomando en cuenta al hacer la interpretación de las concentraciones, factores tales como la edad gestacional, edad, peso y antecedentes de la paciente. En caso de encontrar valores fuera del rango de referencia se recomienda seguir el protocolo de manejo de pacientes con valores anormalmente bajos o altos de AFPMS.

II. INTRODUCCION

La Alfa-Fetoproteína (AFP) es una glicoproteína, de las llamadas oncofetales, que se encuentra asociada con el desarrollo prenatal y con tumores de células hepáticas y germinales (1,2).

Aunque su papel fisiológico no ha sido bien dilucidado, en los últimos años su utilidad se ha limitado al tamizaje de poblaciones para el diagnóstico prenatal de defectos del tubo neural y trisomías autosómicas (3, 4).

Normalmente la AFP se encuentra en niveles muy bajos en adultos, sin embargo en mujeres embarazadas puede detectarse en la sangre a partir de la 12 semana de gestación (4). La causa más común del hallazgo de concentraciones elevadas de AFP en suero son: anencefalia, espina bífida, defectos de la pared ventral como onfalocele y hepatitis materna o hepatoma y errores en la estimación de la edad gestacional (2). Los niveles disminuídos se han asociado a trisomías autosómicas (4-6).

Existen varios factores que influyen y deben tomarse en cuenta en el momento de interpretar la concentración de AFP. Entre estos factores está el peso materno, ya que mujeres con sobrepeso presentan valores de AFP más bajos que las mujeres normales; la raza; pues mujeres de raza negra presentan valores 10 por ciento más altos que las pacientes de raza blanca y finalmente las pacientes diabéticas insulino dependientes quienes presentan valores 60 por ciento más

bajos que la población normal (7-10).

En este estudio, se pretende establecer los niveles de referencia para AFP materna en suero (AFPMS) para cada una de las semanas de gestación durante el período de la semana 14 a la 23. Esto permitirá hacer una correcta interpretación de los resultados de las pacientes y expresar los valores como múltiplos de la mediana para optimizar la ayuda en el diagnóstico prenatal de defectos del tubo neural o trisomías autosómicas (3,4).

III. ANTECEDENTES

1. Descripción de la Alfa-Fetoproteína:

La Alfa-Fetoproteína (AFP) es una glicoproteína del grupo de las llamadas proteínas oncofetales que están asociadas al desarrollo prenatal y tumores de células hepáticas y germinales (1,2). Esta glicoproteína pertenece a la familia de las 2-alfa-globulinas y está estructural, genética y quizás funcionalmente relacionada con la albúmina (2). Tiene un peso molecular aproximado de 70,000 daltons (1,3) y es sintetizada por el saco vitelino, el tracto gastrointestinal y el hígado (1,3,4).

Existe mucha homología en la secuencia de aminoácidos entre la alfa-fetoproteína y la albúmina, y los genes que codifican ambas proteínas han sido localizadas en las mismas áreas del cromosoma 4 (11,12).

El papel fisiológico de la AFP no ha sido del todo dilucidado, sin embargo esta proteína liga estradiol con alta afinidad y ha sido implicada en el control de la diferenciación sexual. Puede también funcionar como inmunosupresor o proteína ligada al suero (2).

2. Fisiología de la Alfa-Fetoproteína.

La concentración de AFP en sangre fetal se eleva desde el inicio de la gestación hasta un pico de 3 a 4 mg/ml alrededor de las 13 semanas. Luego los niveles descienden alcanzando valores de adulto sin embarazo (menor de 5 ng/ml) entre los cuatro meses post-parto. La AFP en la circulación

fetal es excretada a través de la orina fetal hacia el líquido amniótico donde alcanza concentraciones de 10 a 20 ug/ml en la 13 semana de gestación. La AFP también se encuentra en la sangre de la madre (3,4) donde puede ser exactamente detectada a partir de la 12 semana de gestación.

Presumiblemente alcanza la circulación materna por difusión a través de las membranas fetales y quizás también por transporte a través de la placenta. Los niveles séricos maternos de AFP se elevan logarítmicamente desde la 12 semana hasta llegar a la 32 semana pero con dos órdenes de magnitud por debajo de los niveles correspondientes en líquido amniótico (3,5).

Cuando el feto tiene un defecto de desarrollo prenatal, existe exudación del plasma fetal hacia el líquido amniótico encontrándose en éste concentraciones elevadas de AFP (5).

3. Utilidad clínica.

Normalmente la AFP se encuentra en niveles muy bajos en adultos, sin embargo puede elevarse en asociación con ciertos tipos de cáncer. Estos incluyen tumores testiculares y otros tipos de tumores de células germinales así como carcinoma hepatocelular primario y teratoblastomas (1,6).

En 1972, Brock y Sutcliffe (7), observaron que los niveles de AFP en líquido amniótico estaban elevados cuando el feto tenía un defecto de tubo neural abierto. Presumiblemente el aumento de AFP en líquido amniótico ocurre

por transudación capilar cuando el feto tiene un defecto del tubo neural (2).

La alfa-fetoproteína fue identificada en 1956 (13,14) y en el inicio de los años 70, las elevaciones en la concentración de AFP se encontraron en algunas mujeres con embarazos anormales. El establecimiento de grandes programas de tamizaje para defectos del tubo neural en la mitad de la década de los 70 permitieron conocer la asociación entre niveles elevados de AFP materna en suero (AFPMS) con un riesgo elevado de embarazos adversos (15).

Los primeros estudios que asociaron las elevaciones no explicadas de AFP y bajo peso al nacer emanan de los programas de tamizaje en Gran Bretaña. En 1977 Brock y colaboradores encontraron que las mujeres con niveles de AFPMS equivalentes a 2.3 múltiplos de la mediana (M. de M.) tenían un 10.7 por ciento más de riesgo de dar a luz niños con defectos del tubo neural y bajo peso al nacer, comparados con una tasa de riesgo de 4.2 por ciento de la población con niveles normales de AFPMS (16). En los once años siguientes después de los reportes de Brock, investigaciones en Europa, Norte América y Asia reportaron datos de tamizaje en más de 225,000 mujeres, relacionando los valores de AFPMS con muerte perinatal, preclampsia, bajo peso al nacer, riesgo de parto prematuro, y retardo de crecimiento intrauterino, demostrando la utilidad de la prueba (10, 17-19). Dos reportes en 1980 examinaron niveles de AFPMS y su relación con retardo de

crecimiento, la incidencia de prematuros y embarazos múltiples. En estos estudios se encontró que un nivel de AFPMS elevado estaba asociado con un riesgo triplicado de bajo peso al nacer, riesgo que también correspondía a casos de niños prematuros y con retardo de crecimiento intrauterino (20).

La medición de la concentración de AFPMS ha sido ahora establecida como un medio de identificar en la población general, a las mujeres embarazadas que están en mayor riesgo de tener un feto con defecto de tubo neural abierto o defecto de pared ventral, a las mujeres con alto riesgo de tener mellizos o niños con síndrome de Down (2,4,6,8-10,21) y también como un índice de la función placentaria (31).

El uso de la prueba de AFP materna en suero como método de tamizaje para la detección temprana de anomalías fetales y cromosómicas se ha incrementado en los últimos años. Sin embargo existen otras enfermedades no obstétricas que pueden elevar las concentraciones de AFP, como hepatitis materna, hepatoma, hepatoblastoma y nefroblastoma (22).

Un nivel de AFPMS elevado fue definido por el Estado de California como todo valor que exceda 2.5 múltiplos de la mediana para edad gestacional determinada por la fecha del último periodo menstrual para embarazos no múltiples. Para gestaciones múltiples, hasta el 12 de febrero de 1987, un nivel de AFPMS era considerado si excedía 3.5 múltiplos de la mediana, sin embargo a partir de esta fecha se considera ele-

vado si excede 4.5 múltiplos de la mediana (23).

La causa más común de error al interpretar concentraciones elevadas de AFPMS son errores en la estimación de la edad gestacional.

Las variables que influyen en la determinación e interpretación de las concentraciones de AFPMS podemos dividir las en dos grupos: Factores biológicos y metodología de tamizaje. Entre los biológicos están: edad gestacional, peso materno, raza y diabetes. Entre los de metodología están: el ultrasonido, un segundo ensayo de AFPMS y el coeficiente de variación de la prueba. También pueden encontrarse concentraciones elevadas de AFPMS en casos de episodios de hemorragia feto-materna, niño de bajo peso al nacer, nefrosis congénita fetal del tipo Finnish y muerte in utero (2).

Se han asociado niveles disminuidos tanto en suero materno como en el líquido amniótico, en el síndrome de Down (trisomía 21) (24-26).

El significado clínico de los niveles elevados de AFP materna en suero son:

De origen fetal: Defectos del tubo neural (27) defectos de la pared ventral (27, 28), nefrosis congénita y atresia intestinal (27).

Otras condiciones: Subestimación de la edad gestacional, embarazo múltiple, muerte fetal (27,28), aborto, bajo peso al nacer, parto prematuro, hipotiroidismo fetal (29).

De origen materno: Hepatitis, malignidad como: hepatoma, tumor de células germinales, hepatoblastomas, nefroblastomas, carcinoma hepatocelular (30).

El significado clínico de niveles de AFPMS disminuídos son:

De origen fetal: Riesgo incrementado de síndrome de Down y otras trisomías autosómicas.

Otras condiciones: Sobreestimación de edad fetal, falso embarazo, embarazo molar.

Los valores bajos de AFP materna en suero obtenidos a través del tamizaje de rutina pueden ser valiosos para mejorar la detección prenatal de desórdenes tales como las trisomías autosómicas (24-26).

Otras condiciones que están asociadas con elevaciones de AFPMS, incluyen los desórdenes hipertensivos. Walter y col. encontraron que el 13 por ciento de las pacientes con elevaciones de AFPMS desarrollaron preclampsia comparada con un 1 por ciento del grupo control (32). Hamilton y col. encontraron que mujeres con elevaciones mayores de 2.0 múltiplos de la mediana tenían un 28 por ciento de probabilidad de desarrollar hipertensión inducida por el embarazo comparado con 16 por ciento encontrado en los controles ($p < 0.02$) (33).

Cuando la AFPMS se encuentra elevada y la concentración en líquido amniótico está disminuída, la asociación con daño perinatal es particularmente fuerte. En presencia

de esta combinación la agenesia renal debe ser excluida. Stirrat y col. reportaron seis embarazos asociados con oligohidramnios y elevaciones de AFPMS de 2.9 a 8.7 múltiplos de la mediana (34), 6 de estos embarazos terminaron en muerte perinatal. Dyer y col. reportaron 21 embarazos con oligohidramnios y AFPMS elevada en 2.5 a 12.0 múltiplos de la mediana, de estos casos solamente un niño sobrevivió (35).

Oligohidramnios y AFPMS han sido también asociados con gestaciones extrauterinas. Nelson y col. descubrieron embarazos abdominales asociados con oligohidramnios y AFPMS elevadas en más de 5.0 múltiplos de la mediana (36).

En el caso de embarazos gemelares aproximadamente la mitad de las mujeres con este tipo de embarazo tienen niveles de AFPMS mayores de 2.5 múltiplos de la mediana, de tal forma que la mitad de los mellizos pueden identificarse con el tamizaje de AFP (37,38). Redford y Whitfield encontraron que el 47 por ciento de embarazos gemelares tenían niveles de AFPMS entre 2.0 y 3.0 múltiplos de la mediana (39). Más tarde, Ghosh y col. encontraron una asociación entre embarazos gemelares con bajo peso al nacer y elevaciones de AFPMS de más de 5.0 múltiplos de la mediana (37). El elemento clave en el diagnóstico de estos casos es la determinación de los niveles de AFP en líquido amniótico (3,40). La interpretación de los niveles de AFP en líquido amniótico en embarazos gemelares ha creado confusión (39,41), Stiller y col. reportaron que las concentraciones de AFP en

líquido amniótico son dependientes de la anatomía de la membrana placentaria (41). En presencia de gemelos placentarios dicoriónicos, diamnióticos, la AFP en líquido amniótico y la acetil colinesterasa se encuentran en concentraciones independientes una de la otra (42).

Otra condición relacionada con AFPMS elevada es la fuerte asociación entre AFPMS y hemorragia materno-fetal (43-45). La fuerte relación entre sangrado vaginal y AFPMS elevada es un soporte para la hipótesis del paso transplacentario de AFP (46,47). Varias lesiones placentarias han sido asociadas con AFPMS elevadas, estas incluyen: corioangiomas, hematomas y hemangiomas (3,41).

Una de las condiciones que han sido poco estudiadas es el hipotiroidismo congénito; el cual ha sido también relacionado con elevaciones en los niveles de AFPMS durante el segundo trimestre. En este caso, se recomienda la medición de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) en líquido amniótico seguido de una terapia prenatal con tiroxina, cuando sea indicado (29).

Otras condiciones más raras que involucran aumento de la AFPMS incluyen lesiones estructurales no visibles por ultrasonido, tales como enfermedades dermatológicas como la epidermolisis bulosa (48) y lesiones renales como la nefrosis congénita (49). Una historia familiar puede ser sugestiva de estas condiciones. Una historia de abuso de drogas tales como cocaína puede estar asociada con elevaciones de AFPMS

como resultado de ruptura placentaria (15).

Niveles fuera de rango de AFPMS están asociadas con diabetes mellitus de la madre (10,50). La AFPMS puede estar disminuída en pacientes diabéticas pero su relación con otras pruebas diagnósticas como la hemoglobina glicosilada aún es controversial (50). Las reducciones en AFPMS pueden reflejar el mismo fenómeno que implica tasas normales de crecimiento embrionario en presencia de una diabetes materna pobremente compensada.

La interrelación postulada entre AFPMS y hemoglobina glicosilada tiene particular significancia en el uso de AFPMS como índice predictivo de defectos fetales y aberraciones cromosómicas (51,52). Se observa una tendencia a obtener valores bajos de AFPMS y hemoglobina glicolisilada en embarazos que exhiben retraso de crecimiento fetal, apoyando la hipótesis que efectos metabólicos que alteran a la madre se reflejan en un valor de AFPMS disminuído (50). La determinación de hemoglobina glicosilada en el segundo trimestre no es útil para el diagnóstico, ya que la hemoglobina glicosilada refleja el control de cuatro a ocho semanas antes, lo cual en este caso puede no ser indicativo de problemas de desarrollo que podrían haber ocurrido con anterioridad (53).

La principal causa patológica de los niveles altos de AFP materna en suero son los defectos del tubo neural. Los defectos del tubo neural son un grupo heterogéneo de malfor-

maciones que resultan de la falta de cierre del tubo neural durante la embriogénesis temprana (3).

Existen tres tipos de defectos del tubo neural: Anencefalia en la cual el cerebro no se desarrolla normalmente y que es invariablemente fatal. La segunda es la espina bífida, en donde la columna no se desarrolla normalmente. Pacientes que exhiben espina bífida presentan significativa morbi-mortalidad. Y la tercera y más rara es el encefalocele, el cual da como resultado un retardo mental y defectos neurológicos que algunas veces pueden llegar a ser fatales.

Los defectos de tubo neural pueden ser clasificados como abiertos o cerrados. Un defecto de tubo neural abierto es aquel en el cual la lesión está directamente expuesta al ambiente circundante. Los defectos de tubo neural cerrado son aquellos en los cuales la lesión está cubierta por la piel o una membrana delgada. Esta diferenciación es importante ya que los defectos de tubo neural cerrado no son usualmente detectados por las pruebas de AFP. Aproximadamente el 80 por ciento de los casos de espina bífida se caracterizan por ser pacientes susceptibles a cirugías frecuentes, debilidad o parálisis de piernas, incontinencia urinaria y fecal, enfermedad renal crónica y algunos otros fallos renales en la tercera década de vida, así como hidrocefalia y retardo mental. El 99 por ciento de los casos de anencefalia son clasificados como defectos de

tubo neural abierto (3).

4. Métodos de cuantificación:

La AFP puede ser cuantificada por varios métodos entre ellos: radioinmunoensayo (6,54), inmunoensayo por fluorescencia (55), bioluminiscencia, quimiluminiscencia (56), y el inmunoensayo enzimático (57).

En 1983 la U.S. Food and Drug Administration (FDA) aprobó la liberación de sets diagnósticos para la medición de AFPMS y en líquido amniótico. Con esta aprobación las restricciones del uso de las pruebas de AFP fueron suprimidas. Sin embargo el tamizaje para AFP es una prueba de laboratorio que no debe realizarse aisladamente; los resultados son parte de un programa de pruebas completo que involucra la participación de obstetras, perinatólogos, genéticos y personal de laboratorio. Cierta número de técnicas sensibles y específicas de inmunoensayo pueden usarse para medir AFP. Los antisueros policlonales convencionales son altamente útiles para este propósito, ya sea marcados con fluoresceína o con I-125 (2).

La AFP materna está en suero en niveles de ng/ml y se miden normalmente sin dilución, mientras que la AFP presente en el feto en el rango de ug/ml deben ser diluidas antes de efectuar el ensayo. Alternativamente la AFP en plasma fetal puede ser medida por pruebas inmunológicas menos sensibles como la nefelometría o inmunolectroforesis (2).

Investigaciones recientes con anticuerpos monoclonales

con especificidad única para ligar sitios individuales en antígenos han sido sugeridos para mejorar la sensibilidad y especificidad de la determinación de AFP (58). En un estudio realizado para comparar la efectividad en cuanto a sensibilidad y especificidad de la prueba policlonal contra la monoclonal, permitió concluir que el ensayo monoclonal es menos sensible que el policlonal pero es más específico (11).

Se ha demostrado que el ensayo inmunoenzimático mejorado tiene ventajas sobre el RIA permitiendo optimizar el reporte en programas de tamizaje (57). La importancia está en que puede detectar valores en el primer trimestre del embarazo con niveles relativamente muy bajos de AFP ayudando en el tamizaje de embarazos con riesgo de síndrome de Down. (58 ,60, 61)

Otro ensayo utilizado para la detección de la AFPMS es el inmunoensayo tipo sandwich, que se realiza con inyección de flujo, en el cual se determina como producto final el 4-aminofenol, que se mide amperométricamente (62).

El ensayo AFP IMx (Abbott Diagnostics) está basado en la tecnología de inmunoensayo enzimático por micropartículas (MEIA). En esta prueba los reactivos AFP IMx y la muestra son añadidas a la celda de reacción en la siguiente secuencia:

- a. El electrodo/sonda dispensa la muestra, el diluyente y las micropartículas con la anti-AFP adherida que se ligan al pozo de incubación.
- b. La AFP se une con las micropartículas cubiertas de anti-

AFP formando un complejo antígeno-anticuerpo.

c. Una alícuota de la mezcla de reacción que contiene el complejo antígeno-anticuerpo se une a las micropartículas y se transfieren a la matriz de fibra de vidrio. Las micropartículas se ligan irreversiblemente a la matriz.

d. La matriz es lavada para remover material no adherido.

e. El conjugado anti-AFP-fosfatasa alcalina es dispensado en la matriz y se une con el complejo antígeno-anticuerpo.

f. La matriz es lavada nuevamente para remover material no ligado.

g. El sustrato 4-metilumbeliferil-fosfato es añadido a la matriz y el producto fluorescente es medido por la parte óptica del equipo IMx.

Los valores de referencia de AFP materna en suero se pueden expresar en dos formas: como múltiplos de la mediana, tomando como valor de referencia los valores entre 0.5 y 2.5 múltiplos de la mediana o como la media \pm desviación estándar, tomando los valores de +2 desviaciones estándar como elevados (2).

Es de hacer notar que los valores de AFPMS no deben dicotomizarse como "normales" o "elevados" sino expresarse como niveles dentro o fuera del rango de referencia (63).

Estadísticamente es aceptable el reporte de las medianas de AFPMS como múltiplos del valor de la mediana de la población normal para cada semana de la edad gestacional (64).

Esta forma de expresar los valores de AFP es consecuencia del ejemplar trabajo de investigación que estableció las relaciones entre las concentraciones de AFPMS y defectos del tubo neural publicados a finales de 1970 e inicio de los años 80 en Gran Bretaña (65,66). El enfoque de la distribución de los valores de AFP mostró discrepancias entre centros de investigación y ensayos comerciales tanto en valores bajos como elevados (67-69) recomendándose que cada laboratorio debe establecer sus valores de referencia para cada semana de gestación.

Los valores de referencia sugeridos para la metodología AFP IMx se calcularon en base a semanas gestacionales completas en ng/ml para las semanas 15 a 21 de gestación encontrándose los siguientes valores, recomendando que cada laboratorio establezca sus propios niveles, pudiendo tomar como base los datos de la siguiente tabla hasta tener suficientes determinaciones para estimarlos.

Semana gestacional	Número de muestras	Mediana
15	278	34.8
16	385	37.7
17	305	40.7
18	175	47.4
19	249	51.4
20	174	56.9
21	131	70.4

5. Control de calidad

El método de AFP IMx (Abbott Diagnostics) es susceptible de un control de calidad usando estándares comercialmente preparados y otro con un autocontrol (70). La necesidad de detectar una concentración de AFP en incremento hace crítica la reproducibilidad del ensayo utilizado. En un estudio realizado para evaluar el control de calidad con el método AFP IMx se utiliza una "regla de dos" ; es decir que si se encuentran más de dos muestras en cualquier ensayo con resultados diferentes a los ensayos previos en más de 2 ug/L esto se toma como un indicador de falla en el análisis. Aunque el control de calidad entre muestras previene errores significativos que pueden conducir a un mal diagnóstico en pacientes nuevos no ofrece siempre el control necesario para permitir confianza usando incrementos menores en concentraciones de AFP como indicadores tempranos de falla.

La comparación de resultados de AFP con resultados previos para el mismo paciente debería llegar a ser parte integral de la práctica formal del control de calidad en todos los departamentos de obstetricia y de marcadores tumorales (70).

6. Papel del ultrasonido y la amniocentesis en la evaluación de AFP materna en suero en concentraciones fuera de rango.

El protocolo de manejo de pacientes con niveles superiores a 2.5 múltiplos de la mediana indica que dichas pacientes deben ser sometidas a una prueba de ultrasonido

para evaluar la causa de un valor elevado de AFPMS (2,3).

El examen ultrasonográfico permite obtener una explicación de una concentración de AFPMS elevada en aproximadamente la mitad de los casos (23). Los diagnósticos que pueden realizarse por ultrasonido incluyen edad gestacional incorrecta, embarazo múltiple, muerte fetal, defectos de tubo neural abierto, defecto de pared abdominal, anormalidades placentarias, anormalidades renales y oligohidramnios entre otros (23). El diagnóstico prenatal óptimo también requiere el uso de amniocentesis en muchas pacientes. La amniocentesis puede obviarse si la edad gestacional es incorrecta (determinada ultrasonográficamente por diámetro biparietal o por longitud del fémur), si se descubre un embarazo múltiple o si los padres no desean consejería genética basada en información de cariotipo (23).

El ultrasonido juega un papel vital en la evaluación de pacientes con niveles elevados de AFPMS. Lindfors y col. (23) en un estudio realizado en el Estado de California encontraron que el ultrasonido colaboró en un 42 por ciento de los casos para evaluar y diagnosticar adecuadamente los casos con AFPMS elevada. Específicamente en el caso de defectos de tubo neural abierto, el ultrasonido tuvo una sensibilidad del 90 por ciento y el uso de amniocentesis complementario mejoró la sensibilidad de detección hasta un 100 por ciento.

En algunos casos el examen ultrasonográfico puede ser

difícil por varios factores, tales como movimientos fetales u oligohidramnios que pueden conducir a resultados equivocados; en estos casos la amniocentesis puede usarse para descartar el diagnóstico de espina bífida abierta (71).

Existen sin embargo algunas discrepancias en cuanto al seguimiento de pacientes con niveles elevados de AFPMS, a la necesidad de ultrasonido exclusivamente o amniocentesis. Whitehead y col. (72) en 1989 confirmaron que la sensibilidad del ultrasonido para detección de defectos de tubo neural sin amniocentesis es del 71 por ciento. Esto es apoyado por los trabajos de Nadel y col. (73) y Hogge y col. (74) quienes encontraron sensibilidades similares en estudios diferentes. Ambos afirman que deben someterse a ultrasonido y en algunos casos a amniocentesis las pacientes con niveles de AFPMS disminuídos. En estos casos se sugiere una modificación de la edad recomendada (35 años) para realizar una amniocentesis genética (75). Para ello se desarrolló una regresión logística usando los valores reportados de especificidad y sensibilidad de la detección de trisomías por medio de AFPMS y asumiendo una tasa constante de riesgo para optar a amniocentesis. De esta forma se concluyó que la amniocentesis genética para trisomía 21 debe ser recomendada en toda mujer con niveles bajos de AFPMS sin importar su edad, previo ultrasonido (76).

Estas pacientes con niveles bajos de AFPMS deben recibir consejería genética para conocer los posibles defectos y

problemas que pueden presentar sus bebés. En varios estudios se han evaluado los niveles de ansiedad de las parejas y madres que presentan bajos niveles de AFPMS y conocen los riesgos que esto implica (77,78). En ellos se ha encontrado que los niveles de ansiedad son mayores a los de un grupo control y que estos niveles no disminuyen después de la consejería; a menos que se realice una amniocentesis.

Las discrepancias entre el uso de ultrasonido y AFPMS relacionados con otras pruebas de seguimiento ha inducido a varios investigadores a tabular las estimaciones del riesgo para defectos de tubo neural y defectos de pared ventral a partir de los exámenes de ultrasonido y de concentración de AFPMS. Thornton y col. (63) afirman que la amniocentesis representa un 0.5 a 1.0 por ciento de la tasa de abortos relacionados a procedimientos diagnósticos, mientras que la exactitud del ultrasonido se ha mejorado enormemente con la introducción del ultrasonido de alta resolución en tiempo real (63,79).

7. Factores a tomar en cuenta al realizar programas de tamizaje con AFP materna en suero

Existen varios factores que influyen en la determinación y la interpretación de los valores de concentraciones de AFPMS, entre estos el principal es la determinación exacta de la edad gestacional, la cual debe calcularse a partir de la fecha de la última menstruación o en su defecto por ultrasonido. Otro factor que influye es la diabetes materna, pues

se ha demostrado que las mujeres diabéticas insulino-dependientes muestran un 60 por ciento más de incidencia de niveles más bajos que la población normal. Además se ha observado un incremento de casi 10 veces en la frecuencia de defectos de tubo neural en estas pacientes diabéticas con respecto al resto de la población (10,50). La raza también tiene influencia, ya que mujeres de raza negra presentan un 10 por ciento más de concentración con respecto a las de raza blanca, oriental e hispana que no muestran diferencias significativas entre sí (9). Otro factor importante es el peso; pues las mujeres embarazadas con exceso de peso tienen valores promedio más bajos que las de peso normal, debiendo ajustar el valor de AFP para mejorar la ayuda diagnóstica de la prueba en este grupo de pacientes (3, 4).

IV. JUSTIFICACIONES

La utilidad de la cuantificación de Alfa-Fetoproteína materna en suero para el tamizaje de poblaciones en la detección temprana de anomalías fetales ha quedado demostrada. Es por ello que se hace necesaria la creación de un programa de tamizaje que ayude y oriente al obstetra en el manejo de pacientes que presentan niveles de Alfa-Fetoproteína fuera de los rangos de referencia, el cual estará dirigido a buscar el bienestar fetal o la necesidad de consejería genética para la madre.

Este programa implica inicialmente la necesidad del establecimiento de niveles de referencia para cada semana de gestación, los cuales servirán de guía para determinar qué pacientes necesitan un seguimiento especial y darán las pautas para la realización de otras pruebas diagnósticas que permitan establecer si existe algún tipo de anomalía fetal.

Aunque el presente estudio pretende establecer valores de referencia para la población que asiste al Hospital de Gineco-Obstetricia del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (I.G.S.S), estos valores podrán servir de guía para otras instituciones de salud que deseen implantar un programa de tamizaje en sus pacientes hasta obtener suficientes datos que les permitan establecer sus propios niveles de referencia.

V. OBJETIVOS

1. Establecer los valores de referencia para los niveles séricos de Alfa-Fetoproteína materna en mujeres embarazadas para cada una de las semanas del período comprendido entre las semanas 14 a 23 de gestación.
2. Evaluar la utilidad diagnóstica de la cuantificación de la Alfa-fetoproteína materna en suero para predecir defectos fetales relacionados con el tubo neural o trisomías autosómicas.
3. Elaborar un protocolo para el uso e interpretación de AFP materna en suero durante el embarazo para ser utilizado por el ginecobstetra.

VI. HIPOTESIS

Para el establecimiento de valores de referencia no es necesario plantear una hipótesis ya que el estudio no pretende comprobar un hecho sino únicamente conocer los rangos de referencia para los niveles séricos de AFPMS.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo de trabajo:

Todas las mujeres embarazadas que asisten al Hospital de Gineco Obstetricia del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (I.G.S.S.).

1. Muestra:

En la muestra se incluyeron a las pacientes comprendidas entre las semanas 14 a 23 de gestación. El tamaño de muestra fue calculado para una población infinita con un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0.05$), determinándose un tamaño de muestra mínimo de 27 pacientes para cada semana de gestación. Sin embargo se muestrearon un total de 292 pacientes a las cuales se les interrogó de acuerdo a una ficha de investigación (Anexo No.2) para evaluar si cumplían con los criterios de inclusión y de exclusión del estudio.

Criterios de inclusión:

- Mujeres comprendidas en alguna de las semanas 14 a 23 de gestación, edad definida por fecha de última menstruación o por ultrasonido.

Criterios de exclusión:

- Mujeres mayores de 35 años de edad.
- Mujeres diabéticas insulino dependientes.
- Mujeres de raza negra.
- Mujeres con embarazo múltiple.
- Mujeres con edad gestacional no establecida o dudosa.
- Mujeres que hayan sido sometidas a amniocentesis.

Se aplicó un factor de corrección para sobrepeso, multiplicando la concentración de AFPMS por el factor encontrado en el eje "Y", que corresponde al peso planteado en el eje "X" de la gráfica. (Anexo 1)

2. Unidades experimentales:

- Muestras de suero o plasma de mujeres embarazadas comprendidas entre las semanas 14 a 23 de gestación que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión del estudio.

B. Recursos

1. Humanos:

a. Investigador: Br. Juan Luis Humberto Martínez Chuy

b. Asesora: Licda. Vivian Lucrecia Matta Ríos

2. Institucionales:

a. Hospital de Gineco Obstetricia del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (I.G.S.S.):

a.1. Instalaciones y equipo de laboratorio

a.2. Archivo y registro de pacientes

b. Laboratorios Abbott. División Diagnóstica

b.1. Reactivos AFP-IMx

b.2. Estándares de AFP

c. Biblioteca del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP).

d. Biblioteca de la Facultad de Medicina de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

3. Físicos:

a. Equipo:

- Equipo IMx (Abbott Laboratories).

- Centrífuga

b. Cristalería:

- Tubos Vacutainer sin aditivos.

- Tubos de ensayo

- Viales para almacenar sueros

c. Reactivos:

- Kit de AFP-IMx (Abbott Laboratories) que contiene:

c.1. Micropartículas cubiertas de Anti-AFP (Monoclonal) en un buffer con estabilizadores de proteínas.

c.2. Conjugado Anti-AFP - Fosfatasa alcalina en buffer con estabilizadores de proteínas.

c.3. 4-metilumbeliferilfosfato 1.2 mM bufferado.

- Diluyente de muestra (suero bovino bufferado).

C. Procedimientos

1. Selección de pacientes:

Se solicitó la colaboración del personal médico del Hospital de Gineco Obstetricia para la selección de las pacientes, a las cuales al momento de tomarles la muestra se les cuestionó por medio de un instrumento de investigación para evaluar los criterios de selección (Ver Anexo 2.).

2. Toma de Muestra:

Se extrajeron de 3 a 5 cc de sangre por venipuntura, se dejó coagular y se centrifugó a 5,000 rpm por 5 minutos para separar el suero, tratando de evitar hemólisis. Alternativamente se pudo utilizar plasma con heparina, citrato o EDTA.

Se almacenaron los sueros en recipientes limpios a temperatura entre 0°C y 4°C hasta el momento de su análisis. Antes de analizar se dejó a temperatura ambiente y se mezcló adecuadamente para asegurar la consistencia en los resultados.

Al emplear un lote nuevo de reactivos se realizó una curva de calibración con los estándares de AFP en concentraciones de 0, 15, 50, 100, 200 y 350 ng/ml y se colocó en cada corrida de muestras tres controles (control alto, normal y bajo). Se analizaron las muestras de acuerdo a las instrucciones y recomendaciones del fabricante.

D. Diseño experimental:

Los resultados obtenidos se tabularon para cada una de las semanas de gestación en el período comprendido de la semana 14 a 23. Para cada serie de datos se calculó la mediana, la media y la desviación estándar, reportando los valores de dos formas:

- a. Múltiplos de la mediana (Rango de referencia entre 0.5 y 2.0 múltiplos de la mediana).
- b. Media \pm desviación estándar (Rango de referencia: Hasta \pm 2 desviaciones estándar)

Para verificar la utilidad de la prueba se hizo un seguimiento de las pacientes hasta el final del embarazo, tomando en cuenta cualquier anomalía en los recién nacidos relacionada con defectos del tubo neural o incidentes previsibles por medio de la determinación de AFPMS.

VIII. RESULTADOS

Se realizaron un total de 292 determinaciones para el establecimiento de los valores de referencia para los niveles de Alfa-Fetoproteína materna en suero durante las semanas 14 a 23 de gestación. Se excluyeron los valores de 3 mujeres embarazadas en las cuales se determinó posteriormente que eran casos de embarazos gemelares, (semana 17: 2 casos con valores de 194.21 y 203.70 ng/ml que corresponden a 4.59 y 4.82 M. de M. y en la semana 16: 1 caso con valor de 103.71 ng/ml que corresponde a 3.03 M. de M.)

Se calcularon la media, mediana y desviación estándar; los rangos, se establecieron de acuerdo a los valores de múltiplos de la media y de la mediana.

Pudo observarse que los valores obtenidos muestran un incremento en la concentración de Alfa-Fetoproteína a medida que se avanza en la edad gestacional y que este incremento no es constante para todas las semanas de gestación.

Se notó que los valores obtenidos son muy parecidos a los reportados en la literatura para otras poblaciones, utilizando la misma metodología de análisis (análisis inmunoenzimático por micropartículas).

A continuación se presentan los resultados tabulados:

SEMANA	No. CASOS	MEDIANA	0.5 M de M	2.0 M de M
14	27	27.61	13.80	55.22
15	28	32.00	16.00	64.00
16	29	34.16	17.08	68.32
17	28	42.29	21.14	84.52
18	30	46.63	23.32	93.26
19	30	48.30	24.15	96.60
20	30	61.46	30.73	122.92
21	30	69.87	34.94	139.74
22	30	82.52	41.26	165.04
23	30	90.44	45.22	180.88

Los valores de concentración de Alfa-fetoproteína sérica materna deben reportarse como múltiplos de la mediana (M. de M) y para su cálculo debe dividirse el valor de AFP de la muestra dentro del valor de la mediana para la semana de gestación que corresponda. Un valor entre 0.5 y 2.0 M. de M. debe considerarse como dentro del rango de referencia.

Los valores de concentraciones de AFPMS pueden también expresarse como múltiplos de la media, utilizando para el cálculo la misma fórmula que para la mediana. Los resultados tabulados son los siguientes, incluyendo las desviaciones estándar.

SEMANA	MEDIA	- 2.0 DS	+ 2.0 DS
14	28.47	14.24	56.94
15	36.43	18.22	72.86
16	36.69	18.35	73.38
17	49.46	24.73	98.92
18	56.13	28.07	112.26
19	59.53	29.77	119.06
20	65.96	32.98	131.92
21	69.99	34.99	139.98
22	83.77	41.89	167.54
23	107.65	53.83	215.30

M. DE M. = MULTIPLE DE LA MEDIA

M. DE M. = [AFP] MUESTRA
 MEDIA [AFP] DE LA SEMANA

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio proporcionan el rango de concentraciones de referencia para AFPMS durante las semanas 14 a 23 de gestación.

Durante el muestreo y en el análisis de los datos obtenidos se tomaron en cuenta los datos proporcionados en la ficha de investigación y se realizó un seguimiento de las pacientes hasta el final del embarazo, buscando con ello evaluar la utilidad de la prueba.

Se encontraron varios casos que debieron ser rechazados o eliminados del estudio ya que aunque en la ficha cumplían con los criterios de inclusión y exclusión posteriormente se encontró que por diversos motivos (edad gestacional incorrecta, embarazo múltiple, hepatitis y edad de la paciente) no se llenaban los requerimientos indispensables para entrar en la categoría de "paciente normal" a tomar en cuenta para establecer los valores de referencia.

Entre las causas anteriormente mencionadas se encontraron 4 casos de edad gestacional incorrecta, 3 de embarazo múltiple, 1 caso de hepatitis materna y 1 caso de edad superior a la del límite del estudio. Todos estos casos fueron excluidos de la muestra y sus valores se tomaron en cuenta únicamente para verificar si se ubicaban fuera de los rangos de referencia, lo cual fue comprobado posteriormente.

Se observó que las concentraciones de AFPMS presentan un incremento a medida que se avanza en edad gestacional, aunque

este incremento no es constante, (Anexos 3 y 4) sin embargo esta afirmación no puede ser comprobada ya que se muestrearon pacientes diferentes para cada semana; de haberse hecho el análisis con las mismas pacientes en diferentes semanas, podría comprobarse si este incremento es constante.

En algunos casos ciertas pacientes mostraron concentraciones de AFPMS ligeramente elevadas o están en los límites de los rangos de referencia; estos casos, de acuerdo a la historia y evidencias clínicas durante el embarazo y después del parto no mostraron signos de anormalidad alguna, tomándose como pacientes con concentraciones elevadas de AFPMS inespecífica, en las cuales no puede encontrarse una explicación valedera que justifique este incremento.

Se expone también de igual forma el protocolo del manejo de pacientes con valores de AFPMS fuera de los rangos de referencia, el cual sirve como una guía del procedimiento a seguir en caso de encontrar este tipo de valores. (Anexo 5)

X. CONCLUSIONES

1. Los resultados de la determinación de AFPMS aunque se obtengan en ng/ml, deben expresarse como múltiplos de la mediana para hacer una interpretación correcta y evaluar la posibilidad de utilizar otras pruebas diagnósticas.
2. En la totalidad de casos de gestaciones múltiples encontrados en el estudio, se observaron concentraciones fuera de los rangos de referencia para AFPMS, por lo que se confirma que la cuantificación es útil para detectar este tipo de embarazos.
3. Al hacer la interpretación de los valores de AFPMS debe conocerse con certeza la edad gestacional de la paciente para evitar errores por sub o sobreestimación de la edad gestacional.

XI. RECOMENDACIONES

Es necesario implementar en los centros de asistencia obstétrica la determinación de la concentración de AFPMS para poder identificar casos, dentro de la población, de mujeres que podrían presentar en sus fetos anomalías congénitas, buscando de esta forma el bienestar fetal así como brindar asesoría genética a la madre.

Al momento de implementar la prueba debe conocerse con exactitud la edad gestacional de la mujer embarazada, ya sea por fecha de último periodo menstrual o por ultrasonido. De igual forma debe consignarse en la historia clínica de la paciente condiciones que podrían alterar los resultados de la prueba, tales como: edad de la madre, raza, presencia de enfermedades como diabetes, hepatitis y antecedentes de embarazos y partos anteriores, así como el peso, ya que si la paciente presenta sobrepeso debe aplicarse un factor de corrección. En caso de encontrar valores fuera de los rangos de referencia ya sea por arriba o debajo del rango establecido, debe procederse de acuerdo al protocolo de "manejo de pacientes con valores fuera de rango de referencia" (Anexo 5) el cual involucra otro tipo de procedimientos diagnósticos que podrían confirmar las causas de estos valores anormales.

XII. REFERENCIAS

1. Abbott Diagnostics. Educational Services. Alpha-Fetoprotein (AFP) Testing for Neural Tube Defects. Doc. Tec. Teleconference April 1986;1-10.
2. Canick, J., Carpenter, M., Bowers, G. Alpha-Fetoprotein in Testing for Fetal Integrity: Its Use and Implications. Laboratory Management 1986; 85-93.
3. Main D., Mennuti, M. Neural Tube Defects: Issues in Prenatal Diagnosis and Counselling. Obst. Gynecol. 1986; 67:1-16.
4. Davis, R.O., Cosper, P., Huddleston, J.F., Bradley, E.L., *et al.* Decreased Levels of Amniotic Fluid Alpha-Fetoprotein associated with Down Syndrome. Am. J. Obstet. Gynecol. 1985; 153:541-4.
5. Adams, M., Windham, G., James, L., Greenberg, *et al.* Clinical Interpretation of Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Concentrations during the Second Trimester. Am. J. Obstet. Gynecol. 1984;148:241-54.
6. Wu, J.T., Book, L., Sudar, K. Serum Alpha-Fetoprotein (AFP) Levels in Normal Infants. Int. Ped. Res. Found. 1981; 15:50-2.
7. Thomsen, S.G., Isager-Sally, L., Lange, A.P., Sanbrey, N. *et al.* Elevated Maternal Serum Alpha-Fetoprotein Caused by Midtrimester Amniocentesis: A Prognostic Factor. Obstetrics & Gynecology 1987;62:297-9.

8. Haddow, J.E., Kloza, E.M., Knight, G.J., Smith, D.E. Relation Between Maternal Weight and Serum Alpha-Fetoprotein Concentration during Second Trimester. Clin. Chem. 1981; 27:133-4.
9. Crandall, B.F., Lebherz, T.B., Schroth, P.C., Matsumoto, M. Alpha-Fetoprotein Concentrations in Maternal Serum: Relation to Race and Body Weight. Clin. Chem. 1983; 29:531.
10. Milunsky, A., Alpert, E., Kitzmiller, J., Younger, M. Prenatal Diagnosis of Neural Tube Defects. The Importance of Serum Alpha-Fetoprotein Screening in Diabetic Pregnant Woman. Am. J. Obstet. Gynecol. 1982; 142:1030-2.
11. Chan, D.W., Kelsten, M., Rock, R., Bruzek, D. Evaluation of a Monoclonal Immunoenzymometric Assay for Alpha-Fetoprotein. Clin. Chem. 1986; 32:1318-1322.
12. Minghetti, P.P., Harper, M.E., Alpert, E., et al. Chromosomal Structure and Localization of the Human Alpha-Fetoprotein gene. Ann. NY. Acad. Sci. 1983; 417:1-12.
13. Bergstrand, C.G., Czar, B. Demonstration of a new Protein Fraction in serum from the Human Fetus. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1956; 8:174-85.
14. Gitlin, D., Boesman, M. Serum Alpha-Fetoprotein, albumin and gamma-globulin in the human conceptus. J. Clin. Investigation. 1966; 45(11):1826-31.
15. Katz, V.L., Chescheir, N.C., Cefalo, R.C. Unexplained Elevations of Maternal Serum Alpha-Fetoprotein. Obstetrical and Gynecological Survey. 1990; 45(11):719-726.

16. Brook, D.J.H., Barron, L., Jelen, P. Watt, M., Scrimgeour, J.B. Maternal Serum Alpha-Fetoprotein measurements as an early indicator of low birthweight. *Lancet*. 1977; 2:267.
17. Burton, B. K.: Outcome of pregnancy in patients with unexplained elevated or low levels of maternal serum alpha-fetoprotein. *Obstet. Gynecol.* 1988; 72(5): 709.
18. Burton, B.K., Sowers, S.G., Nelson, L.H. Maternal serum alpha-fetoprotein screening in North Carolina: Experience with more than twelve thousand pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1983; 146(4): 439.
19. Evans, J., Stokes, I.M., Outcome of pregnancies associated with raised serum and normal amniotic fluid Alpha-Fetoprotein concentrations. *Br. Med. J.* 1984; 288:1494.
20. Brock, D.J.H., Barron, L. Watt, M. Serimgeour, J.B., The relation between maternal plasma alpha-fetoprotein and birth weight in twin pregnancies. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1979; 86:710.
21. Simpson, J.L., Baum, L.D., Marden R., Elias, S. et al. Maternal Serum Alpha-Fetoprotein screening: Low and High Values for detection of Genetic Abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1986; 155:593-7.
22. Gonsoulin, W., Mason, B., Carpenter, R.J.Jr., Colon cancer in pregnancy with elevated maternal serum alpha-fetoprotein level at presentation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1990; 163: 1172-3.

23. Lindfors, K., Gorczyca, D.P., Handson, F.W., Tennant, F.R., et al. The role of ultrasonography and amniocentesis in evaluation of elevated maternal serum alpha-fetoprotein. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 164:1571-6.
24. Knight, G.J., Palomaki, G.E., Hadow, J.E. Use of Maternal serum Alpha-Fetoprotein Measurements to Screen for Down's Syndrome. *Clinical Obstetrics & Gynecology.* 1988; 31:306-21.
25. Merkatz, I.R., Nitosky, H.M., Macri, J.N., Johnson, W.E. An Association between Low Maternal serum Alpha-Fetoprotein and Fetal chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1984; 148:886-91.
26. Mann, J.R., Lakin, G.E., Leonard, J.C., Rawlinson, H.A., et al. Clinical Application of Serum Carcinoembryonic Antigen and Alpha-Fetoprotein Levels in children with solid tumors. *Archives of Disease in Childhood.* 1978; 53:366-74.
27. Milunsky, A., Alpert, E. Results and benefits of a maternal serum alpha-fetoprotein screening program. *JAMA.* 1984; 252: 1438-42.
28. Burton, B.K. Alpha-Fetoprotein Screening. *Adv. Pediatr.* 1986; 181-96.
29. Hadow, J.E., Knight, G., Palomaki, G.E. Maternal serum alpha-fetoprotein in congenital hypothyroidism. *The Lancet.* 1991; 337:922.
30. Purves, L.R., Bersohn, I., Geddes, E.W., Serum alpha-fetoprotein and primary cancer of the liver in man. *Cancer.* 1970; 25:1261-70.

31. Khalil, F.Kh. Bonnet, D., Guibaud, S., Combet, A. *et al.* Alpha-Fetoprotein Levels in placenta, maternal and cord blood in normal and pathologic pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*. 1979; 54:117-119.
32. Walters, B.N.J., Lao, T., Smith, V., DeSwiet, M. Alpha-fetoprotein elevation and proteinuric pre-eclampsia. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1985; 92:341.
33. Hamilton M.P.R., Abdalla, H.I., Whitfield, C.R., Significance of raised maternal serum alpha-fetoprotein in singleton pregnancies with normally formed fetuses. *Obstet. Gynecol.* 1985; 65(4): 465.
34. Stirrat, G.M., Gough, J.D., Bullock, S., Wald, N.J., Cuckle, H.S. Raised maternal serum AFP, oligohidramnios and poor fetal outcome. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1981; 88:231.
35. Dyer, S.N., Burton, B.K., Nelson, L.H. Elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels and oligohydramnios: Poor prognosis for pregnancy outcome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1987; 157:336.
36. Nelson, L.H., Bensen, J. Burton, B.K., Outcomes in patients with unusually high maternal serum alpha-fetoprotein levels. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1987; 157:572.
37. Ghosh, A., Woo, J.S.K., Rawlinson, H.A., Ferguson-Smith, M.A. Prognostic significance of raised alpha-fetoprotein levels in twin pregnancies. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1982; 89:817.

38. Haddow, J.E., Kloza, E.M., Smith, D.E., Knight, G.J. Data from an alpha-fetoprotein pilot screening program in Maine. *Obstet. Gynecol.* 1983; 62(5):556.
39. Redford, D.H.A., Whitefield, C.R. Maternal serum alpha-fetoprotein in twin pregnancies uncomplicated by neural tube defect. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1985; 152:550.
40. American College of Obstetricians and Gynecologists. Prenatal Detection of Neural Tube Defects. Doc. Tec. 1986; No. 99.
41. Stiller, R.J., Lockwood, C.J., Belanger, K., Baumgarten, A., et al. Amniotic fluid alpha-fetoprotein concentration in twin gestations. Dependence on placental membrane anatomy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1988; 158:1088.
42. Holobrook, R.H.Jr., Krovoza, A.M., Schelley S., Ferguson, J.E. Biamnial elevated alpha-fetoprotein and positive acetilcholinesterase in twins one with anencephaly. *Perinat. Diag.* 1987; 7:653.
43. Hay, D.L., Barrie, J.U., Davison, G.B., et al. The relation between maternal serum alpha-fetoprotein levels and fetomaternal haemorrhage. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1979; 86:516.
44. Lachman, E., Hingley, S.M., Bates, G., Ward, A.M., et al. Detection and measurement of fetomaternal haemorrhage: Serum alpha-fetoprotein and the Kleuhaver technique. *Br. Med. J.* 1977; 1:1377.
45. Los, F.J., De Wolf, B.T.H.M., Huisges, H.J. Raised maternal transfusion. *Lancet.* 1979; 2:1210.

46. Haddow, J.E., Knight, G.J., Kloza, E.M., Palomaki, G.E. Alpha-Fetoprotein, Vaginal bleeding and pregnancy risk. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1986; 93:589.
47. Lidbjork, G., Kjessler, B., Johansson, S.G.O. Alpha-Fetoprotein (AFP) in maternal serum and human chorionic gonadotrophin (hCG) in urine in 77 patients with vaginal bleeding in early pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* (Suppl.) 1977; 69:54.
48. Price, T., Katz, B.L. Obstetric concerns of epidemolysis bullosa. *Obstet. Gynecol. Surv.* 1988; 43:445.
49. Persson, P.H., Kullander, S., Gennser., Greenert, L., et al. Screening for fetal malformations using ultrasound and measurements of alpha-fetoprotein in maternal serum. *Br. Med. J.* 1983; 286:747.
50. Martin, A.O., Dempsey, L.M., Minogue, J., Maternal serum alpha-fetoprotein levels in pregnancies complicated by diabetes: Complications for screening programs. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1990; 163:1209-16.
51. Pedersen, J.F., Molsted-Pedersen, L. Early fetal growth delay detected by ultrasound marks increased risk of congenital malformation in diabetic pregnancy. *Br. Med. J.* 1981; 283:269-71.
52. Tchobroutsky, G., Breart, G.L., Rambaud, D.C., Henrion R. Correlation between fetal defects and early growth delay observed by ultrasound. *Lancet.* 1985; 1:706-7.

53. Wald, H.J., Cuckle, H., Borcham, J., Stirrat, G.M., et al. Maternal Serum Alpha-Fetoprotein and Diabetes Mellitus. Br. J. Obstet. Gynaecol. 1979; 86:101-5.
54. Chan, D.W., Kelsten, M., Rock, R., Bruzek, D. Evaluation of a monoclonal immunoenzymometric assay for alpha-fetoprotein. Clin. Chem. 1986; 32:1318-22.
55. Kricka, L.J. Luminescent immunoassays. J. Int. Fed. Clin. Chem. 1989;1:24-7.
56. Thorpe, G.H.G., Bronstein, I., Kricka, L.J., Edwards, B., et al. Chemiluminiscent enzyme immunoassay of alpha-fetoprotein based on an adamantyl dioxetane phenyl phosphate substrate. Clin. Chem. 1989; 35:2319-21.
57. Jay, L. Bock, M.D. Evaluation of a sensitive immunoenzymetric assay for maternal serum. Alpha-fetoprotein screening. Am. J. Clin. Pathol. 1990; 93:352-356.
58. Bellet, D.H.; Wanos, J.R., Isselbacher, K.J., et al. Serum alpha-fetoprotein levels in human disease: Perspective from a highly specific monoclonal radioimmunoassay. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1984; 81:3869-73.
59. Barkai, G., Shaki, R., Pariente, C., Goldman, B. First Trimester alpha-fetoprotein levels in normal and chromosomally abnormal pregnancies. Lancet. 1987; 2:389.
60. Brambati, B., Simoni, G., Bonacchi, I., Piceni, L. Fetal chromosomal aneuploidies and maternal serum alpha-fetoprotein level in first trimester. Lancet. 1986; 2:165-66.

61. Cuckle, H.S., Wald, N.J., Barkai, G. *et al.* First-trimester biochemical screening for Down's Syndrome. *Lancet*. 1988; 2:851-2.
62. Yan X., Halsall, B., Heineman, W.B., Heterogeneous Enzyme Immunoassay of alpha-fetoprotein in Maternal Serum by flow-injection amperometric detection of 4-aminophenol. *Clin. Chem.* 1990; 36(11): 1941-44.
63. Thornton, J.G., Lilford, R.J., Newcombe, R.G. Tables for estimation of individual risks of fetal neural tube and ventral wall defects, incorporating prior probability, maternal serum alpha-fetoprotein levels, and ultrasonographic examination results. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 164:154-60.
64. Parvin, C.A., Gray, D.L., Kessler. Influence of assay method differences on multiple of the median distributions: Maternal serum alpha-fetoprotein as an example. *Clin. Chem.* 1991; 37(5): 637-42.
65. Wald, N.J., Cuckle, H.S. Maternal serum AFP measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. Report of the first U.K. Collaborative study on AFP in relation to neural tube defects. *Lancet*. (1977; ii:1323-32.
66. Wald, N.J., Cuckle, H.S., The quality control of alpha-fetoprotein reagents and assay for the antenatal screening and diagnosis of open neural tube defects. Report of a workshop sponsored by the National Institute of Child Health

- and Human Development (NICHD). Bethesda, M.D. USA. Clin. Chem. Acta. 1980; 105:9-24.
67. Merkatz, I.R., Nitowsky, H.M., Macri, J.N., Johnson, W.E. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. Am. J. Obstet. Gynecol. 1984; 148:886-94.
68. Simpson, J.L., Baum, L.D., Marder, R., Elias, S. *et al.* Maternal serum alpha-fetoprotein screening: Low and High values for detection of genetic abnormalities. Am. J. Obstet. Gynecol. 1986; 155:593-7.
69. Knight, G.J., Palomaki, G.E., Haddow, J.E. Maternal serum alpha-fetoprotein: a problem with a test kit. N. Engl. J. Med. 1986; 314:516.
70. McGing, P., Forde, H., Hughes, P., VaConaill, D. Reporting Cumulative Results Provides Precise Quality Control for Alpha-Fetoprotein assays. Clin. Chem. 38(10):2160-1.
71. Lindfors, K.K., McGahan, J.P., Tennant, F.R., Hanson, F.W. Midtrimester screening for open neural tube defects: correlation of sonography with amniocentesis results. A.J.R. 1987; 149:141-5.
72. Whitehead, N., MacMahon, W., Fernhoff, P., Priest, J. Follow-Up of elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels: Ultrasonography only or amniocentesis? Am. J. Obstet. Gynecol. 1991; 164(6:1)1688-9.
73. Nodel, A.S., Green, J.K., Holmes, L.B., Frigoletto, F.D., *et al.* Absence of need for amniocentesis in patients with

elevated levels of maternal serum alpha-fetoprotein and normal ultrasonographic examination. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323:557-61.

74. Hogge, W.A., Thiagarajah, S., Ferguson, J.E., Schnatterly, P.T. The role of ultrasonography and amniocentesis in the evaluation of pregnancies at risk for neural tube defects. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1989; 161:520-4.

75. Ganiats, T.G., Berry, Ch.C., Fullerston, J.T. Effect of normal MSAFP screening on maternal age for genetic amniocentesis. *J. Clin. Epidemiol.* 1990. 43:1143-48.

76. Diagnostic and Therapeutic Technology assesment. Maternal serum alpha-fetoprotein testing and Down's syndrome. *JAMA.* 1988; 260:1779-82.

77. Keenan, K.L., Bausso, D., Goldkrand, J. and Butler, W.J. Low level of maternal serum alpha-fetoprotein: Its associated anxiety and the effects of genetic counselling. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 164:54-6.

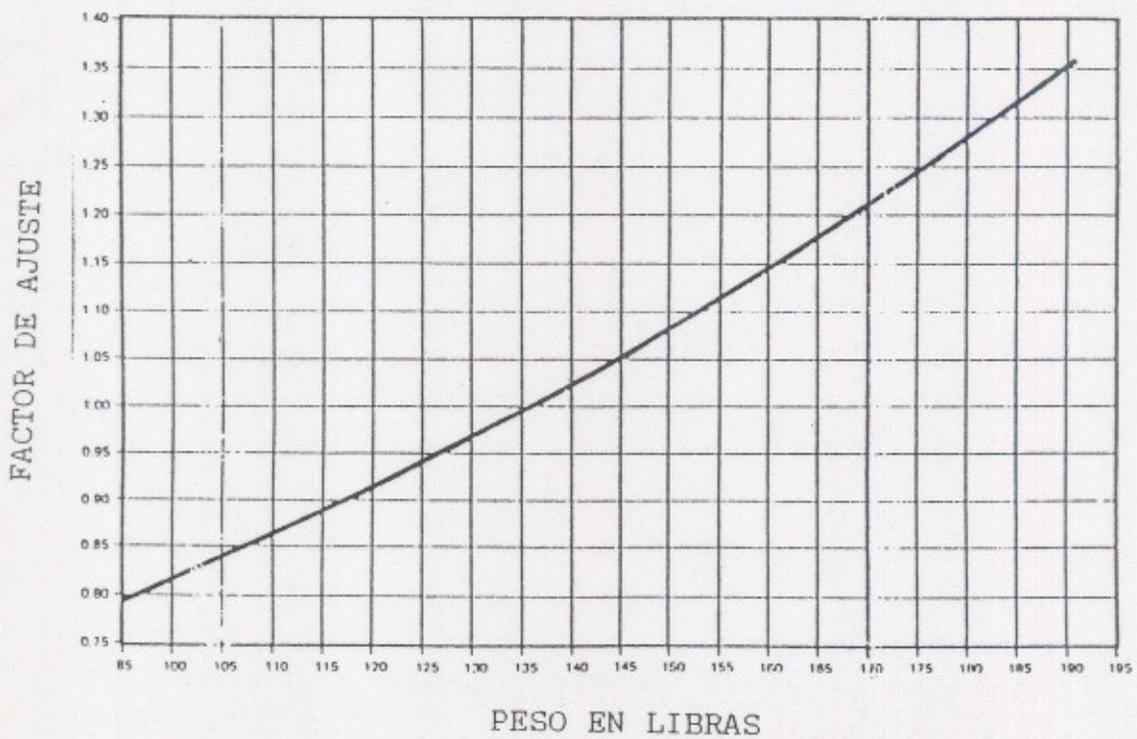
78. Spielburger, C.D. Gorsuch, R.L., Lughene, R.E. Manual for the State trait anxiety inventory. Palo Alto, California: Consulting Psychologist Press. 1970.

79. Wald, N.J., Cuckle, H.S., Boreham, J. Alpha-Fetoprotein screening for open spina bifida: effect or routine biparietal diameter measurement to estimate gestational age. *Rev. Epidemiol. Sante Publique.* 1984; 32:62-9.

XIII. ANEXOS

ANEXO 1

TABLA PARA CORRECCION DE CONCENTRACION
DE ALFA-FETOPROTEINA DE ACUERDO AL PESO CORPORAL



FACTOR DE AJUSTE DE ACUERDO A PESO MATERNO

ANEXO 2

FICHA DE INVESTIGACION

FICHA DE INVESTIGACION

ESTABLECIMIENTO DE VALORES DE REFERENCIA PARA NIVELES DE
ALFA-FETOPROTEINA MATERNA EN MADRES ENTRE LAS SEMANAS
14 A 23 DE GESTACION

Número: _____

NOMBRE: _____

DIRECCION: _____ TELEFONO: _____

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: _____

FECHA DEL ULTIMO PERIODO MENSTRUAL: _____

ESTATURA: _____ mt. PESO: _____ lbs. No. DE EMBARAZOS: _____

PACIENTE DIABETICA: SI: _____ NO: _____
Indique tipo de diabetes y tratamiento que recibe: _____

PACIENTE SOMETIDA A AMNIOCENTESIS: SI: _____ NO: _____
Si respondió afirmativamente indique: Fecha: _____ Lugar: _____
Motivo: _____ Resultados: _____

EMBARAZOS ANTERIORES:

PARTO PREMATURO: _____ NEFROSIS CONGENITA: _____

NIÑO CON SINDROME DE DOWN: _____ NIÑO CON ESPINA BIFIDA: _____

NIÑO CON BAJO PESO AL NACER: _____ EMBARAZO MULTIPLE: _____

ABORTO: _____ NIÑO CON ANENCEFALIA: _____

MUERTE IN UTERO: _____ EMBARAZO MOLAR: _____

OTROS (Especifique): _____

RESULTADOS

SEMANA DE GESTACION	FECHA DE TOMA DE MUESTRA	AFP (ng/mL)
14	_____	_____
15	_____	_____
16	_____	_____
17	_____	_____
18	_____	_____
19	_____	_____
20	_____	_____
21	_____	_____
22	_____	_____
23	_____	_____

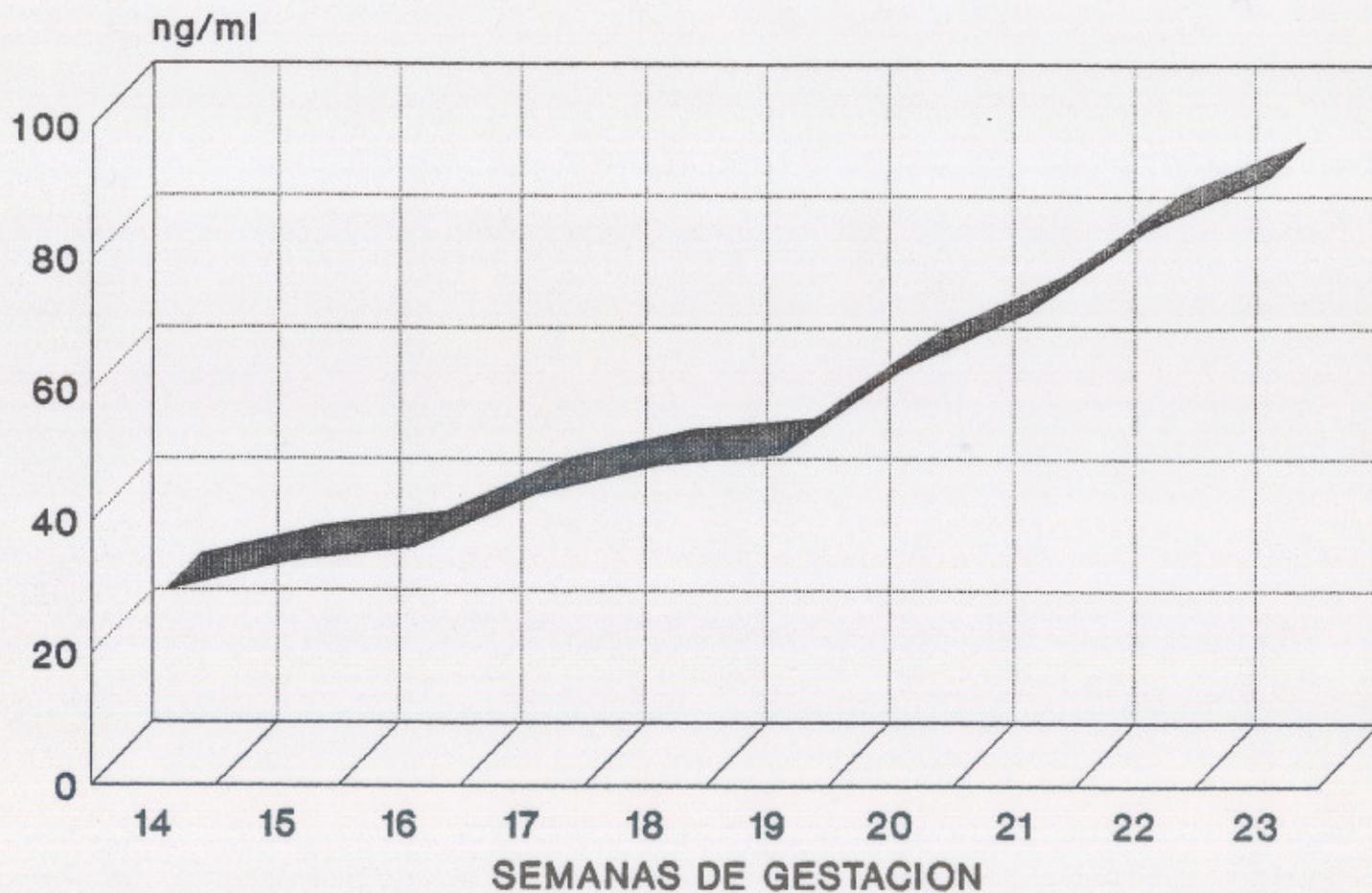
OBSERVACIONES: _____

ANEXO 3

GRAFICA DE CONCENTRACIONES DE AFPMS PARA
CADA SEMANA DE GESTACION (EXPRESADAS COMO MEDIANAS)

AFPMS

MEDIANAS PARA CADA SEMANA

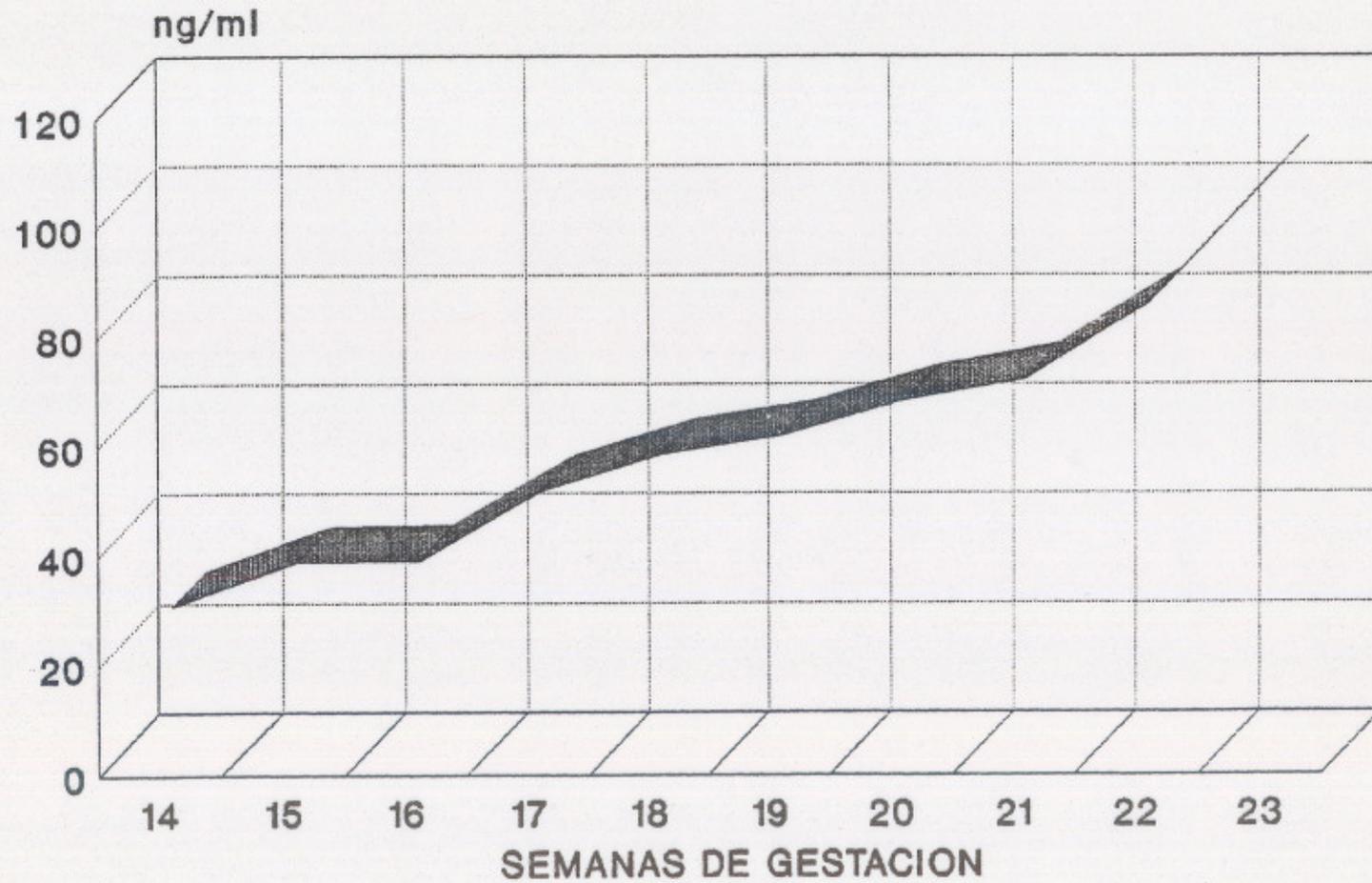


ANEXO 4

GRAFICA DE CONCENTRACIONES DE AFPMS PARA
CADA SEMANA DE GESTACION (EXPRESADAS COMO MEDIAS)

AFPMS

MEDIAS PARA CADA SEMANA

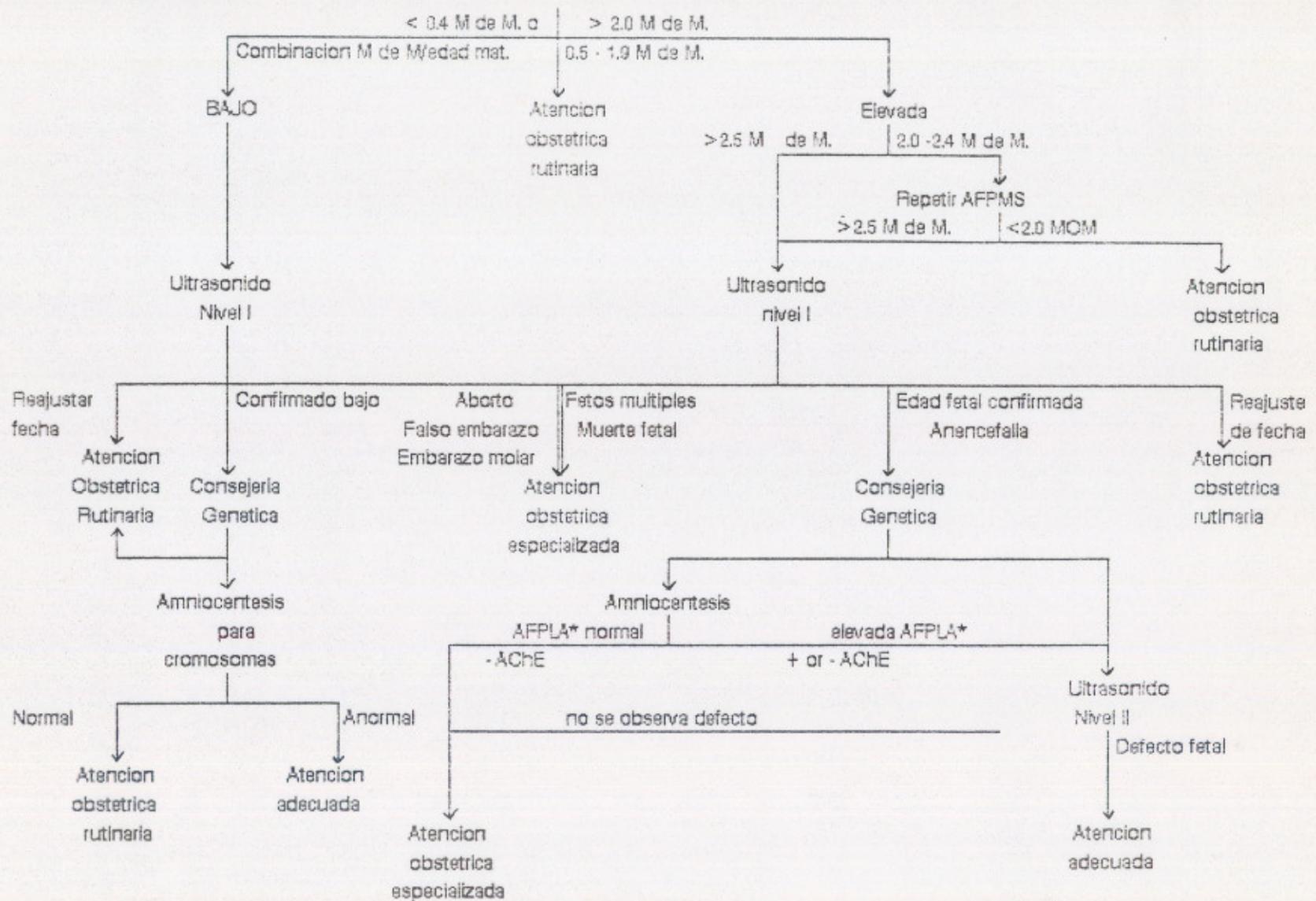


ANEXO 5

PROTOCOLO DE MANEJO DE PACIENTES CON VALORES FUERA
DEL RANGO DE REFERENCIA

PROTOCOLO DE TAMIZAJE DE AFP MATERNA EN SUERO

AFPMS TAMIZAJE



Juan Luis Humberto Martínez Chuy
Autor

Licda. Vivian Lucrecia Matta Ríos
Asesor

Lic. Gerardo Arroyo C.
Director