



Alfa fetoproteína como predictor temprano de desenlace perinatal adverso

Ricardo García-Cavazos, * Alinne Colín-Valenzuela, ** Salvador Espino y Sosa***

Nivel de evidencia: II-3

RESUMEN

Antecedentes: la alfa fetoproteína es una glucoproteína producida por el feto, que sirve como marcador en el suero materno para predecir algunos desenlaces perinatales adversos.

Objetivo: establecer la relación entre resultados perinatales adversos (obstétricos y neonatales) y las concentraciones de alfa fetoproteína en suero materno en unidades múltiples de la mediana (MoM).

Pacientes y método: estudio de cohorte, prospectivo, en el que se evaluaron los desenlaces perinatales de 283 mujeres embarazadas, a quienes se les determinó la concentración sérica de alfa fetoproteína entre las 15 y 20 semanas de gestación. La comparación de la alfa fetoproteína se realizó con la comparación de múltiplos de la mediana (MoM). El estudio se hizo en el Instituto Nacional de Perinatología, de agosto de 2007 a enero de 2008.

Resultados: el punto de corte de 1.5 U MoM incrementa el riesgo de parto pretérmino (RR: 1.77, IC 95%: 1.04-3.03), desprendimiento prematuro de placenta normoinsera (RR: 3.67, IC 95%: 1.59-8.49), acretismo placentario (RR: 3.67, IC 95%: 1.59-8.49) y restricción del crecimiento intrauterino (RR: 2.86, IC 95%: 1.74-4.68). Se encontró una mínima correlación negativa entre la concentración de alfa fetoproteína en múltiplos de la mediana y el peso del recién nacido ($r = -0.12$, $p = 0.047$) pero sin relación con las semanas de gestación al nacimiento.

Conclusiones: existe relación entre el resultado perinatal adverso y las concentraciones anormales de alfa fetoproteína. La evidencia de aumento en la concentración de alfa fetoproteína en fetos sin defectos congénitos debe orientar al clínico a otros desenlaces perinatales adversos e integrarlos a la asesoría de riesgo.

Palabras clave: alfa-fetoproteína, embarazo, desenlace perinatal, tamizaje.

ABSTRACT

Background: The alpha-fetoprotein (AFP) is a glycoprotein, which is produced by the human fetus. Previous studies have shown associations between elevated AFP levels and an increased risk of adverse perinatal outcomes.

Objective: To determine if abnormal AFP levels are associated with adverse perinatal outcomes. The AFP concentrations were calculated as Multiples of the medians (MoM).

Patients and method: A prospective cohort study, including 283 pregnant women, the maternal serum concentration of AFP was determined between 15 and 20 weeks of pregnancy, and the pregnancy was followed until term, when we search for the perinatal outcomes. The study was made in the Instituto Nacional de Perinatología, in Mexico City, from August 2007 to January 2008. For the analyses, the AFP concentrations were calculated as Multiples of the medians (MoM).

Results: The threshold of 1.5 MoM increases the risk for preterm delivery (RR: 1.77, IC 95%: 1.04-3.03), abruption placentae (RR: 3.67, IC 95%: 1.59-8.49), placenta accreta (RR: 3.67, IC 95%: 1.59-8.49) and for intrauterine growth restriction (RR: 2.86, IC 95%: 1.74-4.68) There was a weak relation between AFP concentration and birth weight ($r = -0.12$, $p = 0.047$) and no correlation with pregnancy weeks at birth.

Conclusions: There is a relation between adverse perinatal outcome and abnormal AFP levels. The evidence of an increase in the AFP concentration in fetuses without congenital defects should alert of clinician about the possibility of other adverse perinatal outcomes and those results must be included in the prenatal risk assessment.

Key words: alpha-fetoprotein, pregnancy, perinatal outcome, screening.

RÉSUMÉ

Antécédents: l'alpha-foetoprotéine est une glycoprotéine produite par le fœtus, qui sert de marqueur sérique maternel pour la prédiction des effets indésirables périnatale.

Objectif: établir la relation des résultats périnataux indésirables (obstétricales et néonatales) avec des concentrations d'alpha-foetoprotéine dans les unités de SM-multiples de la médiane (MoM).

Patientes et méthode: une cohorte, une étude prospective qui a évalué les résultats périnataux de 283 femmes enceintes qui sont déterminés alpha-fœtoprotéine sérique entre 15 et 20 semaines de gestation. Comparaison des alpha-fœtoprotéine a été réalisée avec la comparaison des multiples de la médiane (MoM). L'étude a été menée à l'Institut national de périnatalogie, août 2007 to Janvier 2008.

Résultats: le seuil de 1,5 MoM U augmente le risque d'accouchement prématuré (RR: 1,77, IC 95%: 1,04 à 3,03), le décollement normoinsert (RR 3,67, IC 95%: 1,59 à 8,49), le placenta accreta (RR: 3,67, IC 95%: 1,59 à 8,49) et la restriction de croissance intra-utérin (RR: 2,86, IC 95%: 1,74 à 4,68). Il y avait une faible corrélation négative entre les multiples sérique alpha foetoprotéine de la médiane et le poids de naissance ($r = -0,12$, $p = 0,047$), mais rien à voir avec les semaines de gestation à la naissance.

Conclusions: il existe une relation entre les résultats périnataux indésirables et des niveaux anormaux de alpha-fœtoprotéine. Témoignage d'augmentation des concentrations de alpha-fœtoprotéine chez les fœtus sans anomalies congénitales devraient guider le clinicien à d'autres résultats périnataux indésirables et d'intégrer les conseils de risque.

Mots-clés: alpha-foetoprotéine, la grossesse, le résultat périnatal, le dépistage.

RESUMO

Antecedentes: a alfa-fetoproteína é uma glicoproteína produzida pelo feto, que serve como marcador sérico materno na predição de alguns resultados perinatais adversos.

Objetivo: estabelecer a relação de resultados perinatais adversos (obstétrica e neonatal) com concentrações de alfa-fetoproteína em unidades SM-múltiplos da mediana (MoM).

Pacientes e método: a coorte, estudo prospectivo que avaliou os resultados perinatais de 283 gestantes que estão determinados a alfa-fetoproteína sérica entre 15 e 20 semanas de gestação. Comparação de alfa-fetoproteína foi realizada com a comparação de múltiplos da mediana (MoM). O estudo foi conduzido no Instituto Nacional de Perinatologia, agosto de 2007 a janeiro de 2008.

Resultados: o corte de 1,5 MoM U aumenta o risco de parto prematuro (RR: 1,77, IC 95%: 1,04-3,03), descolamento normoinserta (RR 3,67, IC 95%: 1,59-8,49), placenta acreta placenta (RR: 3,67, IC 95%: 1,59-8,49) e restrição de crescimento intra-uterino (RR: 2,86, IC 95%: 1,74-4,68). Houve uma baixa correlação negativa entre a alfa-fetoproteína do soro múltiplos da mediana e peso ao nascer ($r = -0,12$, $p = 0,047$), mas sem relação com as semanas de gestação, no nascimento.

Conclusões: existe uma relação entre os resultados perinatais adversos e níveis anormais de alfa-fetoproteína. Evidências de aumento das concentrações de alfa-fetoproteína em fetos sem defeitos congênitos devem guiar o clínico para outros resultados perinatais adversos e integrar consultoria de risco.

Palavras-chave: alfa-fetoproteína, a gravidez, o resultado perinatal, o rastreio.

En los últimos años, la determinación de marcadores séricos maternos como parte del control prenatal representa una práctica rutinaria en algunos centros hospitalarios; sin embargo, el uso de todos ellos en la población general no es una práctica factible.

Uno de los marcadores más estudiados es la alfa fetoproteína, cuya producción se inicia en la cuarta semana de

gestación y alcanza concentraciones máximas en la décima segunda semana; contribuye por igual a la producción del saco vitelino, el tubo digestivo y el hígado fetales.¹⁻⁵ Un estudio en población mexicana encontró que la alfa fetoproteína es el marcador más específico en el escrutinio de desenlace perinatal adverso.⁶

Diversos estudios han relacionado a la alfa fetoproteína como marcador de defectos fetales según la edad gestacional. Se ha encontrado que concentraciones anormales de alfa fetoproteína medidas durante el desarrollo fetal se correlacionan con defectos estructurales congénitos, en gran parte como resultado de alteraciones genéticas o agresión teratogénica; también se ha reportado que las concentraciones anormales de alfa fetoproteína durante la gestación se vinculan con resultados perinatales adversos.⁷⁻¹⁰

La ventana óptima para el muestreo de la alfa fetoproteína en suero materno se encuentra entre las 15 y 20 semanas de gestación, durante ese tiempo las concentraciones de alfa fetoproteína en suero materno se incrementan en aproximadamente 12 a 15% por semana, habitualmente las concentraciones se encuentran entre 15 y 120 µg/L.

* Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional.

** Departamento de Biología de la Reproducción.

*** Coordinación de Investigación Clínica. Instituto Nacional de Perinatología, México, DF.

Correspondencia: Dr. Salvador Espino y Sosa. Dirección de Investigación, Instituto Nacional de Perinatología. Montes Urales 800, colonia Lomas de Virreyes, México 11000, DF. Correo electrónico: salvadorespino@gmail.com

Recibido: agosto, 2009. Aprobado: abril, 2010.

Este artículo debe citarse como: García-Cavazos R, Colín-Valenzuela A, Espino y Sosa S. Alfa fetoproteína como predictor temprano de desenlace perinatal adverso. Ginecol Obstet Mex 2010;78(5):268-274.

www.nietoeditores.com.mx

La medición de la concentración de alfa fetoproteína se realiza en unidades de masa (ejemplo: $\mu\text{g/L}$ para alfa fetoproteína en suero materno) y en unidades internacionales (IU/L). Sin embargo, la variabilidad en los resultados del estudio depende de factores que afectan las concentraciones de alfa fetoproteína, así como la estandarización y precisión del mismo, lo cual crea la necesidad de establecer “rangos normales” por cada semana de gestación y utilizar una unidad que considere estos factores, por lo que se establecen los múltiplos de la mediana (MoM).¹¹⁻¹³

Las concentraciones elevadas de alfa fetoproteína se han asociado con rotura prematura de membranas, parto pretérmino y bajo peso al nacimiento,^{14,15} preeclampsia, síndrome de HELLP¹⁶ y aborto espontáneo;¹⁷ las concentraciones anormalmente disminuidas de alfa fetoproteína se han relacionado con eventos como el aborto espontáneo y óbito.¹⁸

Este trabajo pretende adoptar, en la asesoría de riesgo, la interpretación de las concentraciones de alfa fetoproteína hacia otros desenlaces perinatales cuando se han descartado defectos del tubo neural y otras cromosomopatías.

PACIENTES Y MÉTODO

Estudio de cohortes prolectivo, prospectivo, en el que se realizaron determinaciones séricas de las concentraciones de alfa fetoproteína en mujeres con embarazos únicos, no complicados, de 15 a 20 semanas de gestación. Las pacientes fueron invitadas a participar en el estudio en la consulta externa del Instituto Nacional de Perinatología y se obtuvo su autorización mediante un consentimiento informado, previamente revisado por el comité de investigación y ética de la institución. La recolección de la muestra se llevó a cabo de agosto de 2007 a enero de 2008. Se registró la edad gestacional (corroborada por ultrasonido) y el peso materno al momento del estudio. No se incluyeron casos de pacientes con enfermedades previas. Se calculó la mediana por semana de edad gestacional y se determinaron los múltiplos de la mediana para cada concentración sérica de alfa fetoproteína.

La determinación de alfa fetoproteína en suero materno se realizó por electroquimioluminiscencia, con el equipo Elicsys 1010 Roche®, con fundamento en el test inmunológico *in vitro* para la determinación cuantitativa de alfa fetoproteína en suero, con técnica de sándwich, con duración total de 18 minutos, que determina concen-

traciones en unidades de masa (UI/L) y se analizó en el programa AFP Expert para el cálculo de concentraciones en unidades MoM.

Se registró el seguimiento de las pacientes a lo largo del embarazo para evaluar los desenlaces perinatales y se anidaron análisis de casos y controles en la cohorte de seguimiento. La muestra se agrupó en casos y controles para su análisis de acuerdo con los desenlaces buscados: aborto, parto inmaduro, parto pretérmino, amenaza de parto pretérmino, rotura prematura de membranas, enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo, acretismo placentario, desprendimiento prematuro de placenta normoinsera, restricción en el crecimiento intrauterino, defectos al nacimiento y diabetes gestacional.

Se utilizó el programa SPSS versión 17 para el cálculo de los múltiplos de la mediana de las determinaciones, se compararon con prueba *t* de Student y U de Mann Whitney cuando resultó apropiado. Se calcularon los riesgos relativos e intervalos de confianza para puntos de corte específicos de unidades MoM. La correlación entre múltiplos de la mediana y variables continuas se realizó mediante prueba de correlación de Pearson, se interpretaron como estadísticamente significativos los estadísticos con *p* menor de 0.05 con hipótesis bilaterales. Se evaluó el peso de las variables para predecir el peso al nacimiento a través de la construcción de un modelo de regresión lineal.

RESULTADOS

Ingresaron al estudio 283 mujeres con embarazos de entre 15 y 20 semanas con seis días, la media de la edad materna fue de 28.3 años (DE 8). El 33.8% de las pacientes cursaba su primer embarazo y 90.1% tenía tres embarazos previos o menos.

Los casos de rotura prematura de membranas fueron los más frecuentes (46 casos), le siguieron en frecuencia: parto pretérmino, APP, restricción en el crecimiento intrauterino y diabetes gestacional. Cuadro 1

Se observaron cinco casos de tabaquismo que no mostraron influir de forma significativa en la concentración sérica de alfa fetoproteína ($p < 0.58$).

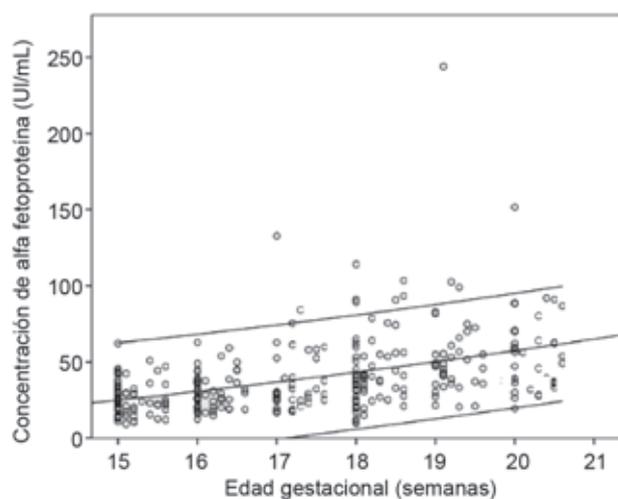
Las concentraciones de alfa fetoproteína en U/mL variaron a lo largo de las semanas, (Figura 1) lo que concuerda con la bibliografía.

No se registraron valores extremos sin posibilidad biológica en las determinaciones de alfa fetoproteína; hubo

Cuadro 1. Unidades MoM para los desenlaces evaluados

Desenlace	Presente (MoM)	Ausente (MoM)	p*
Aborto (3/236)	0.586	1.13	0.25
Parto inmaduro (3/236)	1.2256	1.1233	0.49
APP (31/207)	1.1429	1.12	0.87
Parto pretérmino (39/200)	1.3318	1.0842	0.005
Rotura prematura de membranas (46/193)	1.2681	1.0904	0.01
EHIE (20/216)	1.3174	1.1137	0.07
Desprendimiento prematuro de placenta normoinserta (3/236)	1.7209	1.1171	0.03
Acretismo placentario (3/236)	1.6814	1.1176	0.043
Restricción en el crecimiento intrauterino (28/211)	1.4154	1.0861	0.002
Diabetes gestacional (25/214)	1.0796	1.1299	0.86
Malformación (12/224)	1.5948	1.1026	0.07
Muerte perinatal (5/234)	1.12	1.11	0.97

* U de Mann Whitney.

**Figura 1.** Concentraciones de alfa fetoproteína (U/mL) entre las 15 y 20 semanas de gestación.

medianas diferentes para edades gestacionales diferentes. (Cuadro 2)

La comparación de los múltiplos de la mediana entre diferentes desenlaces perinatales mostró diferencias significativas para: parto pretérmino, rotura prematura de membranas, desprendimiento de placenta normoinserta, acretismo placentario y restricción en el crecimiento intrauterino. (Cuadro 1)

El punto de corte de 1.5 U MoM incrementa el riesgo de parto pretérmino (RR: 1.77, IC 95%: 1.04-3.03), desprendimiento prematuro de placenta normoinserta

Cuadro 2. Medianas de la concentración de alfa fetoproteína por semanas cumplidas

Edad gestacional (semanas cumplidas)	Mediana (U/mL)
15	24.375
16	29.11
17	29.14
18	39.225
19	48.31
20	56.07

(RR: 3.67, IC 95%: 1.59-8.49), acretismo placentario (RR: 3.67, IC 95%: 1.59-8.49) y restricción en el crecimiento intrauterino (RR: 2.86, IC 95%: 1.74-4.68). En la Figura 2 se esquematiza la distribución de los casos de parto pretérmino y restricción en el crecimiento intrauterino.

Se encontró correlación negativa entre la concentración de alfa fetoproteína en múltiplos de la mediana y el peso del recién nacido ($r = -0.12$, $p = 0.047$). (Figura 3)

Hubo una influencia significativa de las concentraciones de alfa fetoproteína en el segundo trimestre del embarazo con el peso al nacimiento. Dividimos las pacientes en tres grupos de acuerdo con las unidades MoM en: menores de 0.75, de 0.75 a 1.5, mayores de 1.5, que mostró una diferencia de 240 g, sin observarse diferencias significativas entre los grupos. (Cuadro 3)

La comparación de las medias del peso de los recién nacidos mostró una diferencia de 250 g ($p = 0.04$) entre

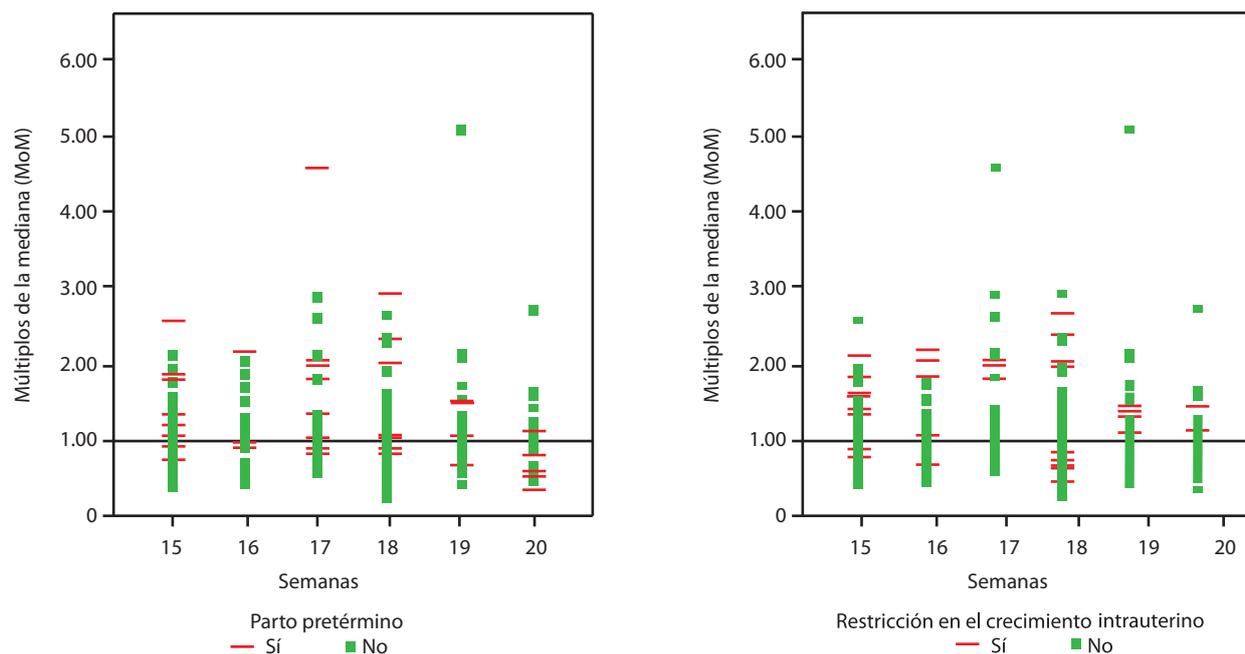


Figura 2. Distribución de los casos de parto pretérmino y restricción en el crecimiento intrauterino.

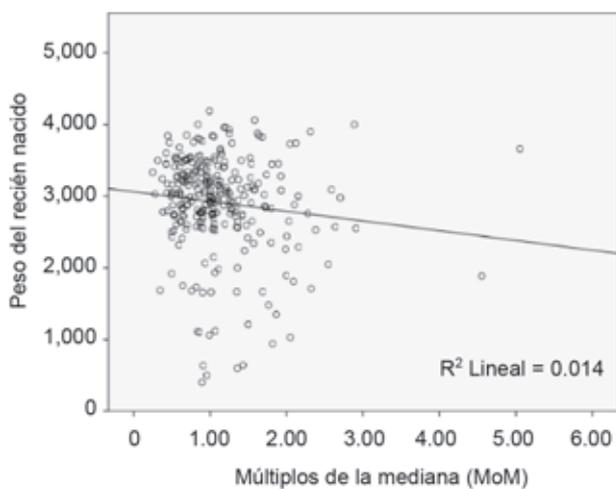


Figura 3. Correlación de la concentración de alfa fetoproteína en múltiplos de la mediana y el peso del recién nacido.

el grupo de concentraciones por debajo de 0.75 U MoM (3,057 g, IC 95%: 2,955 a 3,161 g) y por arriba de 1.5 U MoM (2,808 g, IC 95%: 2,592 a 3,025).

No se encontró correlación alguna con las semanas de gestación al nacimiento ($p = 0.26$).

Cuadro 3. Peso de los recién nacidos por grupo de comparación

Unidades MoM	n	Peso del recién nacido (g)	DE
< 0.75	75	3,057.9	446.8
0.75 a 1.5	153	2,872.9	726.8
> 1.5	52	2,808.3	777.5

$p = 0.07$ (ANOVA).

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio confirman los hallazgos reportados por otros autores acerca de la asociación entre resultado perinatal adverso y concentraciones anormales de alfa fetoproteína en el segundo trimestre del embarazo.^{19,20} Este estudio también confirma el incremento en el riesgo de parto pretérmino, rotura prematura de membranas, desprendimiento prematuro de placenta normoinsera, acretismo placentario y restricción en el crecimiento intrauterino.

Se encontró una mínima correlación negativa entre las concentraciones de alfa fetoproteína y el peso del recién nacido. Algunos estudios sugieren que la diferencia en el

peso en relación con la concentración de alfa fetoproteína es secundaria a diferencias en las proporciones de parto pretérmino;^{21,22} en esta serie no observamos correlación significativa de las concentraciones con la edad gestacional ($r = -0.067$, $p = 0.26$), las edades gestacionales entre los grupos no mostraron diferencias (ANOVA, $p = 0.57$) y la concentración de alfa fetoproteína no predice adecuadamente la edad gestacional al nacimiento ($\beta = -0.067$, $p = 0.26$), en concordancia con otros trabajos que sugieren que la concentración de alfa fetoproteína en el segundo trimestre es una variable independiente predictora de bajo peso al nacimiento, independiente de la edad gestacional.²³

Observamos un incremento en la proporción de parto pretérmino a concentraciones elevadas de alfa fetoproteína, realizamos un punto de corte a 1.5 U MoM y se encontró una incidencia de 13.4% por debajo del punto de corte y de 25.4% por arriba del mismo ($p = 0.04$), esto ya lo habían reportado otros autores,^{24,25} y apoya la justificación para tomar en cuenta las concentraciones anormales de alfa fetoproteína como un factor de riesgo para parto pretérmino. Aún está por demostrarse la ventaja de las maniobras profilácticas dirigidas para este grupo de pacientes.

Los eventos de desprendimiento prematuro de placenta normoinserta mostraron diferencias significativas en las U MoM de alfa fetoproteína en el segundo trimestre, el punto de corte de 1.5 U MoM o más incrementa de forma significativa el riesgo del desenlace (RR: 3.67, IC 95%: 1.59 a 8.49), dado que las pacientes por debajo del punto de corte tuvieron una incidencia de 0.76%, en tanto que las pacientes que se encontraron por arriba de éste cursaron con una incidencia de 3.77%.

A pesar de los casos de desenlaces adversos, no tuvimos ninguna muerte fetal o neonatal temprana en nuestro grupo.

CONCLUSIONES

La alta frecuencia de desenlaces perinatales adversos puede explicarse por el hecho de que el estudio fue realizado en un hospital de concentración que trata principalmente embarazos de alto riesgo, los resultados de este estudio deben considerarse extrapolables a poblaciones similares. Deben realizarse estudios de riesgo en población general.

Las concentraciones inexplicablemente elevadas de alfa fetoproteína en el segundo trimestre deben tomarse como

factor de riesgo de bajo peso al nacimiento, parto pretérmino, desprendimiento prematuro de placenta normoinserta y acretismo placentario. La vigilancia en este grupo de pacientes debe individualizarse y deben desarrollarse protocolos de tratamiento durante el embarazo para este grupo de pacientes. La asesoría en este tipo de desenlaces debe formar parte de la asesoría de riesgo al interpretar el triple o cuádruple marcador sérico del segundo trimestre.

REFERENCIAS

1. Mizejewski GJ. Levels of alpha-fetoprotein during pregnancy and early infancy in normal and disease states. *Obstet Gynecol Surv* 2003;58:804-826.
2. Lau HL, Linkins SE. Alpha-fetoprotein. *Am J Obstet Gynecol* 1976;124:533-554.
3. Gitlin D. Normal biology of alpha-fetoprotein. Part I. Biology of alpha-fetoprotein. *Ann N Y Acad Sci* 1975;259:7-16.
4. Haddow JE, Macri JN, Munson M. The amnion regulates movement of fetally derived alpha-fetoprotein into maternal blood. *J Lab Clin Med* 1979;94:344-347.
5. Gitlin D, Perricelli A, Gitlin GM. Synthesis of alpha-fetoprotein by liver, yolk sac, and gastrointestinal tract of the human conceptus. *Cancer Res* 1972;32:979-982.
6. Salazar R, Ibarra AL, Iduma M, Leyva R. Especificidad de marcadores bioquímicos del segundo trimestre de embarazo. *Ginecol Obstet Mex* 2007;75:608-614.
7. Gitlin D, Boesman M. Serum alpha-fetoprotein, albumin, and gamma-G-globulin in the human conceptus. *J Clin Invest* 1966;45:1826-1838.
8. Clarke PC, Gordon YB, Kitau MJ, et al. Alpha-fetoprotein levels in pregnancies complicated by gastrointestinal abnormalities of the fetus. *Br J Obstet Gynaecol* 1977;84:285-289.
9. Thomas RL, Blakemore KJ. Evaluation of elevations in maternal serum alpha-fetoprotein: a review. *Obstet Gynecol Surv* 1990;45:269-283.
10. Hernández L, Rodríguez A, Hernández J, Rodríguez L. Niveles bajos de alfafetoproteína en suero materno como indicador de riesgo perinatal. *Rev Cubana Obstet Ginecol* 1997;23:108-114.
11. Wilkins-Haug L. Unexplained elevated maternal serum alpha-fetoprotein: what is the appropriate follow-up? *Curr Opin Obstet Gynecol* 1998;10:469-474.
12. Baschat AA, Harman CR, Farid G, et al. Very low second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein: Associations with high birth weight. *Obstet Gynecol* 2002;99:531-536.
13. Cho S, Durfee KK, Keel BA, Parks LH. Perinatal outcomes in a prospective matched pair study of pregnancy and unexplained elevated or low AFP screening. *J Perinat Med* 1997;25:476-483.
14. Simpson JL, Palomaki GE, Mercer B, et al. Associations between adverse perinatal outcome and serially obtained second- and third-trimester maternal serum alpha-fetoprotein measurements. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1742-1748.

15. Waller DK, Lustig LS, Cunningham GC, et al. The association between maternal serum alpha-fetoprotein and preterm birth, small for gestational age infants, preeclampsia, and placental complications. *Obstet Gynecol* 1996;88:816-822.
16. Pahal GS, Jauniaux E. Maternal serum biochemical screening for pregnancy complications other than aneuploidy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1997;9:379-386.
17. Huang T, Owolabi T, Summers AM, et al. The identification of risk of spontaneous fetal loss through second-trimester maternal serum screening. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:395-403.
18. Krause TG, Christens P, Wohlfahrt J, et al. Second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein and risk of adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 2001;97:277-282.
19. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, et al. Quad screen as a predictor of adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 2005;106:260-267.
20. Smith GC, Shah I, Crossley JA, et al. Pregnancy-associated plasma protein A and alpha-fetoprotein and prediction of adverse perinatal outcome. *Obstet Gynecol* 2006;107:161-166.
21. Gordon YB, Lewis JD, Leighton M, et al. Maternal serum alpha-fetoprotein levels as an index of fetal risk. *Am J Obstet Gynecol* 1979;133:422-424.
22. Smith ML. Raised maternal serum alpha-fetoprotein levels and low birth weight babies. *Br J Obstet Gynaecol* 1980;87:1099-1102.
23. Mariona FG, Hassan MM, Syner FN, et al. Maternal serum alpha-fetoprotein (MSAFP) and fetal growth. *J Perinat Med* 1984;12:179-183.
24. Katz VL, Chescheir NC, Cefalo RC. Unexplained elevations of maternal serum alpha-fetoprotein. *Obstet Gynecol Surv* 1990;45:719-726.
25. Crandall BF, Robinson L, Grau P. Risks associated with an elevated maternal serum alpha-fetoprotein level. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:581-586.