

M.D. Gómez^a
S. Ferrero^a
C. Valls^b
J. Ponce^a
E. Miró^a
M. Borrás^a
J.M. Laïlla^a

^aServicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Universitario Sant Joan de Déu. Esplugues. Barcelona. ^bDepartamento de Hormonas. Laboratorio. Hospital Universitario de Sant Joan de Déu. Esplugues. Barcelona. España.

Es un trabajo derivado de los proyectos de investigación:
1. FIS 99/0611: Valoración del nivel amniótico de IGF-I y IGFBP-I a las 14-18 semanas de gestación, como marcador precoz de retraso de crecimiento intrauterino. Prof. Josep M.^a Laïlla i Vicens.
2. Beca Fin de Residencia del Hospital Universitario Sant Joan de Déu de Barcelona, 1998/1999: Valoración de los niveles de leptina en líquido amniótico a las 16 semanas de gestación, como marcador precoz de retraso de crecimiento intrauterino. M.D. Gómez Roig.

Correspondencia:

Dra. M.D. Gómez Roig.
Servicio de Obstetricia y Ginecología.
Hospital Universitario Sant Joan de Déu.
Passeig Sant Joan de Déu, 2.
08950 Esplugues. Barcelona. España.
Correo electrónico: lolagomez@eresmas.com

Fecha de recepción: 1/10/03
Aceptado para su publicación: 3/3/04

Diagnóstico prenatal del retraso de crecimiento intrauterino mediante marcadores bioquímicos

Biochemical markers in the prenatal diagnosis of intrauterine growth retardation

RESUMEN

Objetivo: Determinar la relación y capacidad diagnóstica de la IGF-I (*insulin-like growth factor I*), IGFBP-I (*insulin-like growth factor binding protein I*), leptina, y alfa-fetoproteína (AFP) en líquido amniótico de 14-18 semanas con el desajuste ponderal del feto al nacer.

Sujetos y métodos: Estudio longitudinal y prospectivo. Gestantes con amniocentesis de 14-18 semanas. 86 controles, 18 RCIU (retraso de crecimiento intrauterino) < percentil 10, y 17 RCIU < percentil 5.

Resultados: No se demuestra una correlación significativa entre el RCIU y la IGF-I, la IGFBP-I, y la leptina. La AFP cumple una correlación inversa con la severidad del RCIU; en el RCIU < percentil

10 presentó: sensibilidad (S), 65,7%; especificidad (E), 56,9%; valor predictivo positivo (VPP), 38,3%; valor predictivo negativo (VPN), 80,3%, y una capacidad global del 65,6%. En el RCIU < percentil 5 se obtuvo: S, 76,4%; E, 54,8%; VPP, 21,6%; VPN, 93,4%, y una capacidad global del 70,6%.

Conclusión: Los valores elevados de AFP en líquido amniótico de diagnóstico prenatal pueden contribuir a la detección precoz de la población con riesgo de desarrollar un RCIU.

PALABRAS CLAVE

Retraso de crecimiento intrauterino. *Insulin-like growth factor I*. *Insulin-like growth factor binding protein I*. Leptina. Alfa-fetoproteína.

208 ABSTRACT

Objective: To determine the relationship between intrauterine growth retardation (IUGR) and insulin-like growth factor-1 (IGF-I), IGF binding protein-1 (IGFBP-I), leptin, and alfa-fetoprotein (AFP) levels in amniotic fluid after 14-18 weeks of gestation, and to assess the diagnostic utility of these biochemical markers.

Subjects and methods: We performed a longitudinal, prospective study. Amniocentesis was performed in pregnant women after 14-18 weeks of gestation. The study population consisted of 86 controls, 18 IUGR<10 percentile, and 17 IUGR<5 percentile.

Results: No significant correlation was found between the severity of IUGR and IGF-I, IGFBP-I, or leptin. AFP was inversely correlated with the severity of IUGR; the results for IUGR<10 percentile were: sensitivity: 65.7%, specificity: 56.9%, positive predictive value: 38.3%, negative predictive value: 80.3%, and an overall diagnostic capacity of 65.6%. The results for the IUGR<5 percentile were: sensitivity: 76.4%, specificity: 54.8%, positive predictive value: 21.6%, negative predictive value: 93.4%, and an overall diagnostic capacity of 70.6%.

Conclusion: Elevated values of AFP in amniotic fluid may help in the early detection of populations at risk for IUGR.

KEY WORDS

Intrauterine growth retardation. Insulin-like growth factor I. Insulin-like growth factor binding protein I. Leptin. Alpha-fetoprotein.

INTRODUCCIÓN

En diferentes estudios se intenta relacionar a los marcadores bioquímicos de origen fetal o placental con el estado nutricional fetal.

Las IGF (*insulin-like growth factor*) se sintetizan en múltiples tejidos como factores endocrinos, para-

crinos y/o autocrinos. En sangre fetal, el papel predictivo de estos factores respecto el retraso de crecimiento intrauterino (RCIU) es discutido en el primer trimestre¹, y su correlación es más clara en la segunda mitad del embarazo: en casos de RCIU la IGF-I disminuye²⁻⁴, y la IGFBP-I (*insulin-like growth factor binding protein I*) se eleva en sangre de cordón^{5,6}. Los estudios realizados en líquido amniótico se basan en etapas tardías del embarazo, donde las concentraciones de IGF-I e IGFBP-I presentan una correlación inversa con el RCIU⁷. No existen estudios de IGF-I e IGFBP-I en el líquido amniótico de las semanas tempranas del embarazo⁸.

Es evidente el papel de la leptina como factor implicado en el crecimiento y desarrollo fetal^{9,10}. La leptina en sangre de cordón, muestra una correlación directa con el peso fetal¹¹⁻¹³. Se ha confirmado la presencia de leptina en líquido amniótico, lo que plantea una posible correlación entre estos valores y los de sangre de cordón umbilical. Hasta el momento, no se conoce exactamente el comportamiento de la leptina en líquido amniótico¹⁴⁻¹⁶.

La alfa-fetoproteína (AFP) es la proteína sérica más importante en la primera etapa de la vida fetal. Cada vez mayor número de trastornos, aparte de los defectos del tubo neural, se asocian con la elevación de las concentraciones de AFP en suero materno: desprendimiento prematuro de la placenta, estados hipertensivos del embarazo, RCIU, partos prematuros, y aumento de mortalidad perinatal¹⁷. En líquido amniótico, no existen estudios concluyentes¹⁸⁻²⁰.

La hipótesis de nuestro trabajo es que la determinación de IGF-I, IGFBP-I, leptina, y AFP, en el líquido amniótico del segundo trimestre, puede mejorar el rendimiento diagnóstico y terapéutico del RCIU. El objetivo del estudio es determinar la relación existente entre estos marcadores y el desajuste ponderal al nacer (medido en múltiplos de la desviación de la media [MDM] para cada edad gestacional), y calcular la capacidad diagnóstica de ellos respecto a la severidad del RCIU.

SUJETOS Y MÉTODOS

Estudio longitudinal y prospectivo. Los casos de RCIU se recogen por orden cronológico y sucesivo de aparición al conocer el peso fetal al nacer. En los

Tabla 1 Población de estudio

<i>Grupos poblacionales</i>	<i>Sujetos (n = 121)</i>	<i>MDM</i>	<i>Tabulación del peso al nacer</i>
Controles	86	> -1,22	Percentil 90-10
Casos RCIU < percentil 10	18	-1,23 a -1,60	Percentil 9-5
Casos RCIU < percentil 5	17	< -1,61	< percentil 5

MDM: múltiplos de la desviación de la media; RCIU: retraso de crecimiento intrauterino.

controles se realiza un reclutamiento aleatorio y sucesivo en el mismo período.

El ámbito de estudio fue el Hospital Universitario Sant Joan de Déu (Universidad de Barcelona). Se estima una cifra de 3.000 partos anuales, y el tiempo del estudio es de 31 meses (marzo de 1999 a septiembre de 2001).

Se estudian gestantes con amniocentesis de diagnóstico prenatal (14-18 semanas), y en el momento del parto se cuantifican los MDM ($MDM = [\text{peso neonato} - \text{peso medio para su edad gestacional}] / \text{desviación estándar}$) tras conocer el peso neonatal. A modo ilustrativo, se realizó una clasificación poblacional: control, RCIU < percentil 10, y RCIU < percentil 5. La población final incluyó un total de 121 gestantes (tabla 1). Este trabajo utiliza las curvas del Área Metropolitana de Barcelona, basadas en las descritas por el Hospital Materno-Infantil de Vall d'Hebron, sobre una población de 6.622 niños nacidos en dicho centro durante los años 1992 y 1993²¹.

Criterios de inclusión

Control (n = 86): peso fetal al nacer \geq al percentil 10, pero < al percentil 90, según nuestras curvas de referencia. Caso RCIU < percentil 10 (n = 18): peso fetal al nacer \geq al percentil 5, pero < al percentil 10. Caso RCIU < percentil 5 (n = 17): peso fetal al nacer < al percentil 5.

Criterios de exclusión

Negación de la paciente a participar en el estudio. Ingesta de fármacos que puedan interferir en el crecimiento fetal o marcadores bioquímicos. Alteraciones genéticas del potencial del crecimiento.

Patología diabética. Gestación múltiple. Imposibilidad del control gestacional o del parto en nuestro centro hospitalario.

Inicialmente, se incluyen 1.045 amniocentesis para el análisis de los marcadores bioquímicos en líquido amniótico, pero 533 (51%) gestantes finalizaron su gestación en otro centro hospitalario, y 58 (5,6%) de las amniocentesis se realizaron en un tiempo muestral diferente al definido inicialmente (14-18 semanas). Entre las 454 (43,4%) gestantes disponibles, se seleccionaron de manera aleatoria un número limitado de controles, y finalmente se dispuso de 214 gestantes, es decir un 47,1% de la muestra. La población de estudio se volvió a reducir tras una aplicación estricta de criterios de exclusión.

Las variables objeto del estudio fueron: peso neonatal cuantificado en MDM. Marcadores bioquímicos: IGF-I, IGFBP-I, leptina y AFP.

En todas las muestras, el análisis de los valores hormonales se realizó por duplicado: determinación de IGF-I por radioinmunoanálisis (RIA) según el método comercial del Nichols Institute. Determinación directa de IGFBP-I y leptina por análisis inmunoradiométrico (IRMA) según el método comercial del Diagnostic Systems Laboratories, Inc. El coeficiente de variación intra e interanálisis es menor de 6%. Determinación de AFP directa automatizada por análisis inmunoenzimático (MEIA).

La transformación del parámetro peso-edad gestacional en MDM se realiza para aumentar la potencia estadística del estudio, con lo que se convierte una variable discreta (los 3 grupos poblacionales) en una variable continua. La MDM valora la diferencia existente del peso neonatal en gramos respecto a la media poblacional, para dicha edad gestacional.

Se realiza un estudio estadístico informatizado en SPSS-PC+. La comparación de grupos, en los que las variables medidas no siguen una distribución normal, se realiza mediante tests no paramétricos: test

210 de la U de Mann-Whitney (2 categorías), y test de Kruskal-Wallis (más de 2 categorías). En el estudio de la relación existente entre las variables bioquímicas y el peso neonatal cuantificado en MDM, se desarrolla un análisis de correlación ordinal de Spearman. Para la valoración de la capacidad diagnóstica de la prueba se calcula la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y capacidad global con sus correspondientes intervalos de confianza (IC) del 95%. En todos los análisis estadísticos se toma como criterio de significación el valor $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Se trabajó con una muestra aleatorizada y homogénea. El estudio de homogeneidad de la población según edad materna, sexo fetal, tipo de parto y parámetros de bienestar neonatal (test de APGAR y pH de arteria umbilical) no obtuvieron diferencias significativas respecto a la severidad del RCIU. Se obser-

Tabla 2 IGF-I, IGFBP-I, leptina, AFP. Severidad del RCIU (MDM). Correlación de Spearman

MDM	IGF-I	IGFBP-I	Leptina	AFP
Coefficiente de correlación	-0,072	-0,146	-0,128	-0,225
Significación (bilateral)	0,448	0,132	0,171	0,013*
N	115	108	117	121

AFP: alfa-fetoproteína; IGF-I: *insulin-like growth factor I*; IGFBP-I: *insulin-like growth factor binding protein I*; MDM: múltiplos de la desviación media; RCIU: retraso de crecimiento intrauterino

*Significación estadística ($p \leq 0,05$).

vó una relación significativa entre el RCIU y el estado hipertensivo del embarazo, tabaquismo, e ingresos gestacionales requeridos ($p < 0,001$, $p < 0,05$, $p < 0,001$, respectivamente).

No se demostró una correlación significativa entre la severidad del RCIU (MDM) y los valores de IGF-I, IGFBP-I y leptina en líquido amniótico del segundo trimestre. Sí se demostró una correlación inversa entre la severidad del RCIU (MDM) y los valores de AFP en dicho medio (tabla 2). Obtuvimos valores medios de los diferentes marcadores bioquímicos para cada subgrupo poblacional (tabla 3).

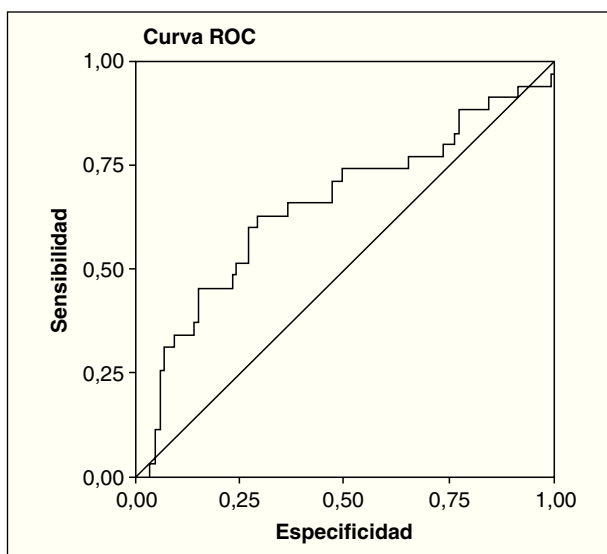


Figura 1. Curva ROC de la AFP. RCIU < percentil 10. Área, 0,656; error típico, 0,059; significación, 0,007 (intervalo de confianza del 95%, 0,540-0,771). AFP: alfa-fetoproteína; RCIU: retraso de crecimiento intrauterino.

Tabla 3 Valor media/mediana/desviación típica de IGF-I, IGFBP-I, leptina y AFP (ng/ml)

	IGF-I Media/mediana/ desviación típica	IGFBP-I Media/mediana/ desviación típica	Leptina Media/mediana/ desviación típica	AFP Media/mediana/ desviación típica
Líquido amniótico				
Control	285,4/270,0/177,7	64.314/43.500/79.265,2	16,9/13,1/10,5	18.886/17.759,5/6.489
RCIU < percentil	10 326,1/342,0/132,9	52.694/48.500/32.379,7	19,6/17,5/17,5	20.969/19.799/7.797,5
RCIU < percentil 5	277,3/232,5/145,6	70.433/52.650/64.445	19,7/14,8/16,5	24.244/26.120/8.106,8

AFP: alfa-fetoproteína; IGF-I: *insulin-like growth factor I*; IGFBP-I: *insulin-like growth factor binding protein I*; RCIU: retraso de crecimiento intrauterino.

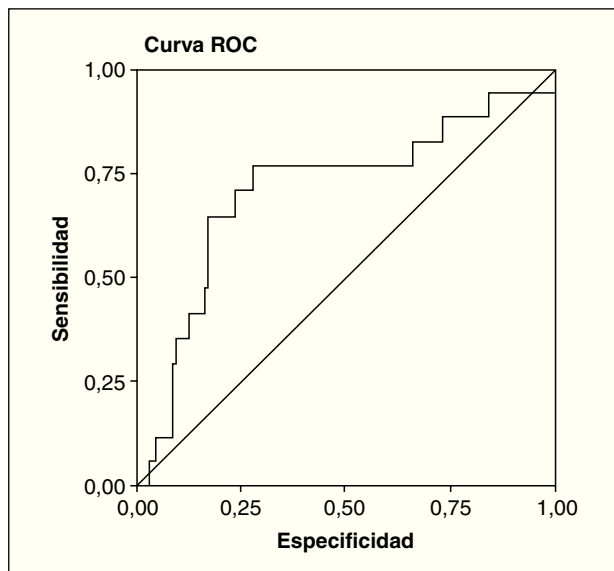


Figura 2. Curva ROC de la AFP. RCIU < percentil 10. Área, 0,706; error típico, 0,077; significación, 0,007 (intervalo de confianza de 95%, 0,556-0,856). AFP: alfa-fetoproteína; RCIU: retraso de crecimiento intrauterino.

En la sospecha de RCIU < percentil 10, la AFP obtuvo una S del 65,7%, una E del 56,9%, un VPP del 38,3%, y un VPN del 80,3%. La curva ROC representa la S en función de los falsos positivos para distintos puntos de corte, y su área bajo la curva evalúa el rendimiento global de una prueba considerando los valores entre 1 (prueba perfecta) y 0,5 (prueba inútil). La capacidad global, en este caso para la AFP, fue del 65% (IC del 95%, 54,0-77,1) (fig. 1).

En caso de RCIU < percentil 5, la S de la AFP fue del 76,4%, la E del 54,8%, el VPP del 21,6 %, y destaca un VPN del 93,4%. La capacidad global fue del 70,6% (IC del 95%, 55,6-85,6) (fig. 2).

DISCUSIÓN

En líquido amniótico de 34-36 semanas y del momento del parto, la IGF-I y la IGFBP-I muestran una correlación inversa con la adecuación del peso al nacer⁹. Valores elevados de IGFBP-I en líquido amniótico de 15-16 semanas, también se han relacionado con el RCIU²², aunque estudios más recientes

discuten esta teoría^{23,24}. Este estudio no demuestra relación de la IGF-I ni de la IGFBP-I, en líquido amniótico de diagnóstico prenatal con la severidad del RCIU al nacer. La ausencia de dicha correlación se ajusta a los conocimientos existentes sobre la fisiopatogenia del RCIU. La falta de estudios prospectivos, permite pensar en la modificación de estos factores una vez ya se ha establecido la patología, ya que no son buenos marcadores en etapas previas, cuando las afectaciones del sistema endocrino-nutricional no han comprometido todavía al feto.

En líquido amniótico, los únicos trabajos publicados sobre la leptina estudian gestaciones a término, y existe una correlación positiva entre sus valores y el peso del recién nacido^{15,16}. No disponemos de bibliografía que permita obtener conclusiones en etapas tempranas de la gestación. Este estudio no demuestra correlación entre la severidad del RCIU y los valores de leptina en líquido amniótico del segundo trimestre. Se considera a la leptina representativa de los valores de reserva de grasa fetal y de su regulación nutricional, una vez instaurado el RCIU en etapas posteriores del embarazo. Por primera vez se asignan valores medios de leptina en líquido amniótico de 14-18 semanas de embarazo.

Existen publicaciones sobre la elevación de la AFP en suero materno y una mayor incidencia de RCIU, secundario a posibles alteraciones placentarias^{25,26}. En líquido amniótico, existen pocos estudios sobre su papel pronóstico gestacional, y no está clara la correlación de dicho marcador en líquido amniótico de segundo trimestre, y afectaciones como hipertensión, RCIU, y alteraciones placentarias¹⁹.

Este trabajo demuestra una correlación inversa entre la severidad del RCIU y los valores de AFP en líquido amniótico de segundo trimestre.

La afectación de la AFP, y no de otros marcadores estudiados, puede deberse a que la AFP juega un papel placentario determinante. Se sabe que los ácidos grasos poliinsaturados son esenciales para un desarrollo fetal correcto, y la AFP es la proteína transportadora de estos ácidos grasos en la circulación fetal y materna durante el embarazo, la mayor concentración de dicho ligando se encuentra en el espacio intervelloso. Varios factores de origen trofoblástico (endotelinas, etc.) o de origen nutricional (ácidos grasos poliinsaturados) forman parte de un complejo paracrino/autocrino implicado en el co-

212 recto desarrollo de la unidad fetoplacentaria. Alteraciones en el equilibrio de este complejo endocrino pueden derivar en patología placentaria y patología obstétrica secundaria.

En alteraciones placentarias, previas al inicio fetal del RCIU, la AFP ya puede mostrar cambios en sus concentraciones. Alteraciones placentarias pueden producir un aumento de las áreas de transporte o una alteración de la barrera endotelial, favoreciendo el paso de AFP en los diferentes compartimientos.

Es conocido, en nuestro ámbito poblacional, que la capacidad global de la amniocentesis de tercer trimestre para demostrar la presencia de RCIU < al percentil 10 es limitada, tanto para la IGF-I (65%) como para la IGFBP-I (60%). En caso de RCIU < al percentil 5 la capacidad global diagnóstica mejora para ambos parámetros: IGF-I, 80%, e IGFBP-I, 69%⁹. La S de los métodos ecográficos utilizados en el mismo momento gestacional para el RCIU < al percentil 5 es del 46,7% (biometría abdominal) y del 61,5% (peso estimado por ecografía).

La AFP en líquido amniótico de segundo trimestre, presenta una capacidad global para demostrar la presencia de RCIU < al percentil 10 limitada (65%), y en caso de RCIU < al percentil 5, una capacidad global diagnóstica que mejora (70%), una S de 76,4%, y un VPN del 93,4%.

Valores elevados de AFP en líquido amniótico de diagnóstico prenatal, pueden contribuir en la detección precoz de aquella población con riesgo de desarrollar un RCIU. Dichos valores permitirían, asimismo,

una prevención primaria del RCIU y una disminución de la morbilidad fetal atribuida a dicha patología. El VPN de la AFP de 93,4% en casos del RCIU < 5 percentil permite descartar, al mismo tiempo, numerosas gestaciones con posible afectación fetal.

Estos resultados, con posible implicación clínica en el diagnóstico prenatal, merecen su consideración, sin olvidar que necesitamos un mayor número de estudios prospectivos para concluir que la subpoblación de riesgo podría beneficiarse de una amniocentesis de diagnóstico prenatal que estudie la AFP como marcador precoz del crecimiento fetal, y evitar así innecesarios esfuerzos sanitarios de control y seguimiento.

AGRADECIMIENTOS

A todo el equipo del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitari Sant Joan de Déu de Barcelona. Al Servicio del Laboratorio del Hospital Universitari Sant Joan de Déu de Barcelona. A la Dra. Carme Ruiz de Villa, del Departamento de Estadística de la Universidad de Biología (Universidad de Barcelona), por la colaboración en la realización del estudio estadístico. Al Hospital Universitari Sant Joan de Déu de Barcelona, al concederme una Beca Fin de Residencia que me inició en este proyecto. Al Fondo de Investigación Sanitaria de la Seguridad Social por financiar parcialmente este proyecto (Exp. 99/0611).

BIBLIOGRAFÍA

1. Leger J, Noel M, Limal JM, Czernichow P. Growth factors and intrauterine growth retardation. I. Serum growth hormone, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, and IGF binding protein 3 levels in normally grown and growth-retarded human fetuses during the second half of gestation. *Pediatr Res* 1996;40:94-100.
2. Wiznitzer A, Reece EA, Homko C, Furman B, Mazor M, Levy J. Insulin-like growth factors, their binding proteins, and fetal macrosomia in offspring of nondiabetic pregnant women. *Am J Perinatol* 1998;15:23-8.
3. Cianfarani S, Germani D, Rossi L, Argiro G, Boemi S, Lemon M, et al. IGF-I and IGF-binding protein-1 are related to cortisol in human cord blood. *Eur J Endocrinol* 1998;138:524-9.
4. Holmes R, Montemagno R, Jones J, Preece M, Rodeck C, Soothill P. Fetal and maternal plasma insulin-like growth factors and binding proteins in pregnancies with appropriate or retarded fetal growth. *Early Hum Dev* 1997;49:7-17.
5. Klauwer D, Blum WF, Hanitsch S, Rascher W, Lee PD, Kiess W. IGF-I, IGF-II, free IGF-I and IGFBP-1, -2 and -3 levels in venous cord blood: relationship to birthweight, length and gestational age in healthy newborns. *Acta Paediatr* 1997;86:826-33.
6. Osorio M, Torres J, Moya F, Pezzullo J, Salafia C, Baxter R, et al. Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF binding proteins-1, -2, and -3 in newborn serum: relationships to fetoplacental growth at term. *Early Hum Dev* 1996;46:15-26.

7. Ponce J. Avaluació dels nivells en líquid amniòtic de la IGF-I i la IGFBP-I en fetus afectats per retard de creixement intrauteri (tesi doctoral). Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona, 1998.
8. Nonoshita LD, Wathen NC, Dsupin BA, Chard T, Giudice LC. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins (IGFBPs), and proteolyzed IGFBP-3 in embryonic cavities in early human pregnancy: their potential relevance to maternal-embryonic and fetal interactions. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1249-55.
9. Reis FM, Florio P, Cobellis L, Luisi S, Severi FM, Bocchi C, et al. Human placenta as a source of neuroendocrine factors. *Biol Neonate* 2001;79:150-6.
10. Ashworth CJ, Hoggard N, Thomas L, Mercer JG, Wallace JM, Lea RG. Placental leptin. *Rev Reprod* 2000;5:18-24.
11. Cetin I, Morpurgo PS, Radaelli T, Taricco E, Cortelazzi D, Bellotti M, et al. Fetal plasma leptin concentrations relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr Res* 2000;48:646-51.
12. Gómez L, Carrascosa A, Yeste D, Potau N, Rique S, Ruiz-Cuevas P, et al. Leptin values in placental cord blood of human newborns with normal intrauterine growth after 30-42 weeks of gestation. *Horm Res* 1999;51:10-4.
13. Ertl T, Funke S, Sarkany I, Szabo I, Rascher W, Blum WF, et al. Postnatal changes of leptin levels in full-term and preterm neonates: their relation to intrauterine growth, gender and testosterone. *Biol Neonate* 1999;75:167-76.
14. Hytinen TK, Koistinen HA, Teramo K, Karonen SL, Koivisto VA, Andersson S. Increased fetal leptin in type I diabetes mellitus pregnancies complicated by chronic hypoxia. *Diabetologia* 2000;43:709-13.
15. Schubring C, Kiess W, Englaro P, Rascher W, Dotsch J, Hanitsch S, et al. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1480-3.
16. Schubring C, Kiess W, Englaro P, Rascher W, Blum W. Leptin concentrations in amniotic fluid, venous and arterial cord blood and maternal serum: high leptin synthesis in the fetus and inverse correlation with placental weight. *Eur J Pediatr* 1996;155:830.
17. Crandall BF, Robinson L, Grau P. Risks associated with an elevated maternal serum alpha-fetoprotein level. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:581.
18. Huerta-Enochian G, Katz V, Erfurth S. The association of abnormal alpha-fetoprotein and adverse pregnancy outcome: does increased fetal surveillance affect pregnancy outcome?. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1549-53.
19. Verspyck E, Degre S, Hellot MF, Descargues G, Philippe C, Labadie G, et al. Amniotic fluid alpha-fetoprotein is not a useful biological marker of pregnancy outcome. *Prenat Diagn* 1999;19:1031-4.
20. Ochshorn Y, Kupferminc MJ, Eldor A, Wolman I, Lessing JB, Yaron Y. Second trimester maternal serum alpha-fetoprotein is elevated in women with adverse pregnancy outcome associated with inherited thrombophilias. *Prenat Diagn* 2001;21:658-61.
21. González Bosquet E, Cerqueira MJ, Pérez Quintana M, Cuenda M, Cabero LL. Relación entre el peso de nacimiento y la edad de gestación en una población de recién nacidos del Hospital Materno Infantil del Valle de Hebrón. *Prog Obst Gin* 1995;38:162-7.
22. Chevallier B, Lagarde A, Degrelle H, Belaisch-Allart J, Giraudet P, Gallet JP. Insulin-like growth factor binding protein 1 level in amniotic fluid: correlation with birth weight. *Biol Neonate* 1998;73:404-6.
23. Ohnishi Y, Yamashiro C, Yanagihara T, Hata T. Hepatocyte growth factor concentration in the early second-trimester amniotic fluid does not predict fetal growth at birth. *Hum Reprod* 1999;14:2625-8.
24. Verhaeghe J, Coopmans W, Van Herck E, Van Schoubroeck D, Deprest JA, Witters I. IGF-I, IGF-II, IGF binding protein 1, and C-peptide in second trimester amniotic fluid are dependent on gestational age but do not predict weight at birth. *Pediatr Res* 1999;46:101-8.
25. 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;25:476-83.
26. Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, O'Brien JE, Hallak M, Johnson MP, et al. Second-trimester maternal serum marker screening: maternal serum alpha-protein, beta-human chorionic gonadotropin, estriol, and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:968-74.