

Prenatal tanıda Konya popülasyonuna ait üçlü tarama testi sonuçları

M.Selman YILDIRIM*, Aynur ACAR*, Hüsamettin VATANSEV**
Mehmet ÇOLAKOĞLU***, Mehmet GÜRBİLEK****

* S.Ü.T.F. Tıbbi Genetik Bilim Dalı, ** S.Ü.T.F. Biokimya Rutin Laboratuvarı,

*** S.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı,

**** S.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı, KONYA

ÖZET

Bu araştırma Konya ilinde 16-20. gebelik haftalarındaki hamilelerde üçlü tarama testi için bir ortalama median değer (MoM-multiple of median) belirleyip, Down Sendromu ve Nöral Tüp Defektlerinin prenatal olarak tanınmasına yardımcı olmak amacıyla planlandı. Çalışma grubuna dahil edilen tüm gebelerin 16.-20. gebelik haftalarında her üç analit için maternal serum düzeylerinin median değerleri hesaplandı. Bu değerler yaş ile kombine edilerek bireysel risk değerine ulaşıldı. Sonuç olarak, üçlü testin kolay ve ucuz olması, tüm toplumlarda NTD ve Down sendromu taramasında önemli bir gösterge olması, ayrıca defektlerin saptanması ve gebeliğin devamı hakkında fikir verebilmesi nedeniyle yaygın olarak kullanılması gereken noninvaziv bir test olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler : Prenatal tanı, üçlü test, MoM değerleri

SUMMARY

Triple test of population of Konya in prenatal diagnosis

In this study, a MoM value were calculated for the triple test at 16-20 weeks of pregnancies. The aim of this investigation was to help diagnosis of Down syndrome and neural tube defect

Median levels of these three analyt were calculated for 16-20 weeks of pregnancy These values were combined with age and individual risk values were determined. As a result of this investigation triple test is acheupreliable and important technique for detection of NTD and Down syndrome and must be used generally.

Key Words: Prenatal diagnosis, triple test, MoM value

1900 lü yıllardan itibaren teknoloji ve bilimdeki hızlı ilerleme son otuz yılda prenatal tanıda da kendini göstermiştir. Geliştirilen çeşitli metodlarla fetusun gelişiminin izlenmesi ve prenatal dönemde anomalilerin tespiti kolaylaşmıştır. Gebe annenin yanında fetusun incelenmesine başlanması fetusu ikinci hasta konumuna getirmiştir. Bu hasta annesinden daha çok risk altındadır.

Anne karnında fetusa ait hastalıklar teşhis edilirken "önce zarar vermeme" ilkesi doğrultusunda

anne ve çocuğa zarar vermeden tanıyı destekleyecek, kolay, ucuz ve çabuk sonuç verebilen testler düşünülmüştür. Bu amaçla Brock ve Sutcliffe (1972), çalışmalarında maternal serum AFP düzeylerinin nöral tüp defektlerinde arttığını, Merkatz ve ark (1984) ise fetal Down sendromunda maternal AFP'nin anlamlı bir şekilde düştüğünü göstermişlerdir. Bogard ve ark (1987), Down sendromlu hamilelerde β hCG düzeylerinde anlamlı bir artış olduğunu; Canick ve ark (1988)'da maternal

Haberleşme Adresi: **Dr. M. Selman YILDIRIM**, S.Ü.T.F. Genetik Bilim Dalı, KONYA

Geliş Tarihi : 18.04.2001

Yayına Kabul Tarihi : 31.05.2001

uE3 düzeyinde düşüş olduğunu saptamışlardır.

Yukarıdaki araştırma sonuçları neticesinde iki ayrı çalışma grubu tarafından (5, 6) 1980'lerin sonlarında Down sendromu ve NTD için bir tarama programının sistematik olarak pratikte uygulanabileceği gösterilmiştir. Wald ve Cuckle (1988)'in öne sürdüğü sistemde, olasılık oranları metodu kullanılarak anne serum değerleri, median değerler ile karşılaştırılmıştır. Norgaard-Petersen ve ark. (1990) ise diskriminans analizini kullanarak risk değerini hesaplamıştır.

Wald ve Cuckle'in öne sürdüğü sistem, uygulanabilirliğinin kolaylığı ve doğru sonuçları nedeniyle daha fazla kabul görmüştür. Bu metotta anne serumunda hamilelik nedeniyle artmış olan AFP, β hCG ve uE3 düzeylerinin her gebelik haftasına ait sabit değerlerinden söz edebilmek için kısaca MoM (multiple of median) ifadesi kullanılmaktadır. Gebeliğin 16-20. haftalarının her biri için oluşturulan median değer 1 MoM olarak kabul edilir. Bu MoM değerlerinden sapmalar (0.50 MoM, 2.00 MoM, 3.16 MoM gibi) fetusta bazı hastalıkların olup olmadığının göstergesi olarak değerlendirilmektedir. (7,8). Örneğin, Down sendromlu fetus taşıyan hamilelerde AFP median ortalaması 0,7 MoM ve uE3 median ortalaması 0.75 MoM düzeylerine düşerken, β hCG median ortalama düzeyinin arttığı 2,00 MoM; Nöral Tüp Defektlerinde ise AFP median ortalama düzeylerinin 2,00 MoM olduğu bir çok araştırmacı tarafından belirlenmiştir (9,10,11). Maternal yaşın da Down sendromlu hastalarda önemli bir etken olduğu bilinmektedir. Üç marker ve anne yaşı bir arada değerlendirilip prenatal ön tanı amacı ile hamilelerde üçlü test olarak kullanılmaya başlamıştır.

Üçlü test sayesinde geniş toplulukları tarama olanakları ortaya çıkmış konjenital malformasyon, genetik hastalıklar ve bazı anomaliler açısından risk taşıyan gebelerin belirlenmesi kolaylaşmıştır (12). Üçlü test ölçümlerinden elde edilen değerler; ırk, coğrafi durum, anomali prevalansı, sosyo-ekonomik düzey gibi faktörlere bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Bu faktörlerin içinde en önemlisi laboratuvar ve yöntem farklılıklarıdır. Bugün dünyada üçlü test için değişik laboratuvarlarca üretilen çok çeşitli kitler kullanılmaktadır. Farklı teknik ve yöntem uygulamaları doğal olarak ölçümleri yapılan popülasyonlara ait median değerlerini de farklı kılmaktadır. Aynı kiti kullanan laboratuvarlar

arasındaki uygulama farklılıkları bile median değerlerde değişimlere neden olmaktadır. Bütün bu özellikler nedeni ile her laboratuvarın kendi şartlarında, içinde bulunduğu popülasyona ait median değerlerini oluşturması gerekmektedir. (13,14)

Bu çalışmanın amacı Konya ilinde 16-20 gebelik haftalarındaki hamilelerde üçlü tarama testi için bir ortalama median değer (MoM-multiple of median) belirleyip Down Sendromu ve Nöral Tüp Defektlerinin prenatal olarak tanınmasına yardımcı olmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bilim dalı bünyesinde Mayıs 1997-Aralık 1999 tarihleri arasında yürütülen bu çalışmaya fakültemize ve Konya merkez sağlık ocaklarına başvuran 16- 20 gebelik haftasındaki toplam 850 hamile kadın dahil edildi. Olguların son adet tarihini doğru bildirmelerine dikkat edildi. Hatırlamayanların ultrason sonuçları esas alındı. Özellikle ultrason ile son adet tarihi karşılaştırılarak hastaların gebelik haftaları tam ve net olarak tespit edilmeye çalışıldı. Gebelik haftaları, tamamlanmış hafta dikkate alınarak saptandı. Örneğin onaltıncı haftanın ilk gününden onaltıncı haftanın altıncı gününe kadar olan süre onaltıncı hafta olarak değerlendirildi. Gebelik haftası belirlenemeyenler ise bu çalışmanın dışında bırakıldı. Çalışmaya aldığımız grubun yaşları 18 ile 40 arasında değişmekte idi. Çalışma grubu tartılarak yüksek kilolu hamileler ayrı olarak değerlendirildi. Akriba evliliği, daha önceki düşüklüğü, kromozom anomalili doğum öyküsünün olup olmadığı, kaçınıcı hamileliği olduğu, şeker hastalığının varlığı, adetlerinin hamile kalmadan önce düzenli olup olmadığı, sigara kullanımı, eşi ve kendi ailesinde zeka özürü ve malformasyonlu çocuk varlığı sorgulanarak, her biri için ayrı formlar dolduruldu. Normal sağlıklı tekiz hamileliklerde her gebelik haftası için maternal serum AFP, β hCG ve uE3 değerleri saptandı. AFP değerleri IU/ml, β hCG mIU/ml, uE3 ng/ml olarak verildi. Tüm olguların değerleri median değerlerinin katları olarak ifade edildi. Sigara içen, adetleri düzensiz olan, şeker hastası olup insülin kullanan ve anomalili çocuk doğuran hamile bayanların sonuçları oluşturulan median değerlerinin dışında tutuldu.

Parametreler AFP ve β hCG için Chiron Diagnostics, uE3 için ise DSL 3700 Diagnostic Systems kitleri ile ölçüldü. Sayımlar AFP ve β hCG için ACS 180 plus CIBA-Corning, seri no 5797, yıl

1995, (ABD), uE3 için ise DPC Gambyt CR (Co-untur) 1989 (ABD) ile yapıldı.

Çalışma grubuna dahil edilen tüm gebelerin 16.-20. gebelik haftalarında her üç parametre için maternal serum düzeylerinin median değerleri hesaplandı. Bu değerler yaş ile kombine edilerek bireysel risk değerine ulaşıldı. Down sendromu riski 1/250 den düşük olan gebeler rutin gebelik takibine alındı. Down sendromu riski 1/250 den yüksek olanlarda ultrason ile gebelik yaşı kontrol edildi. Gebelik haftası hatalı tespit edilenlerde test tekrarlandı. Gebelik haftası doğru hesaplanana ise genetik danışma ve prenatal tanı önerildi. NTD riski için maternal serum AFP ortalaması 2,5 MoM dan düşük olan gebeler normal rutin takibe alındı .2,5 MoM dan yüksek olanlara detaylı bir ultrasonografi önerildi. Genetik danışma verildi. Doğan bebeklerin fiziksel muayene ile herhangi bir malformasyona sahip olup olmadığı tespit edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada optimum koşullara uyan 16-20 gebelik haftasındaki 850 hamile kadında AFP, β hCG ve uE3 düzeyleri belirlenerek her haftaya ait MoM değerleri oluşturuldu. Değerler Şekil 1-2-3 de verilmiştir

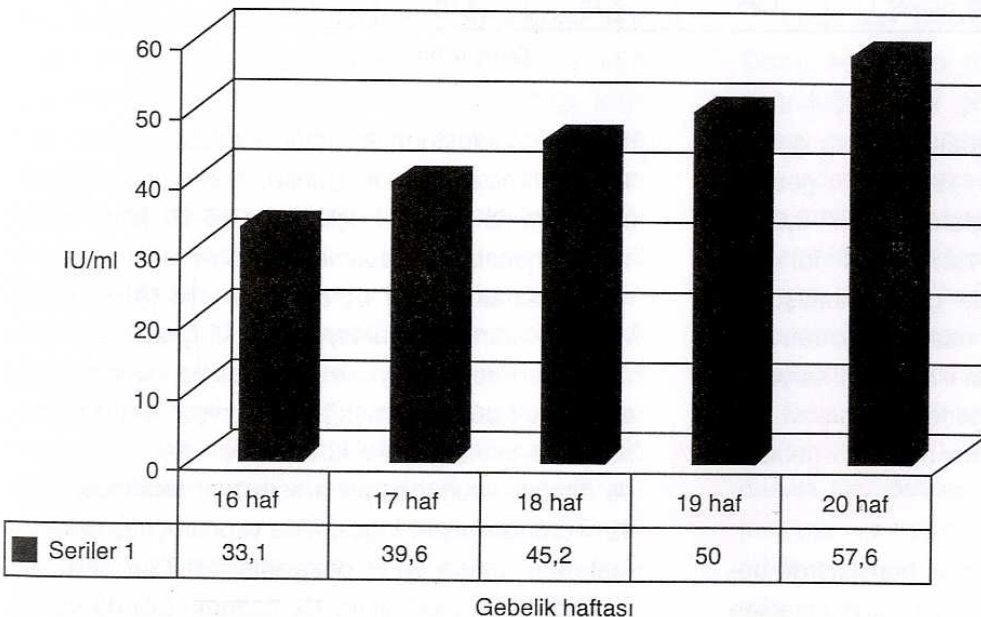
Çalışma grubumuzu oluşturan hamile bayanlar içinde doğum sonuçlarında göre 3 adet ikiz gebelik mevcuttu. Bunların MoM değerleri sırasıyla AFP 3,71 – 1,94–1,09 ; β hCG 1,18–5,67-0,82 ; uE3 2,89–3,16 – 1,90 idi. Bu veriler normal değerlerin üzerinde gibi gözükmeyle birlikte veri sayısının az olması ne-

deniyle kesin bir yoruma gidilemedi.

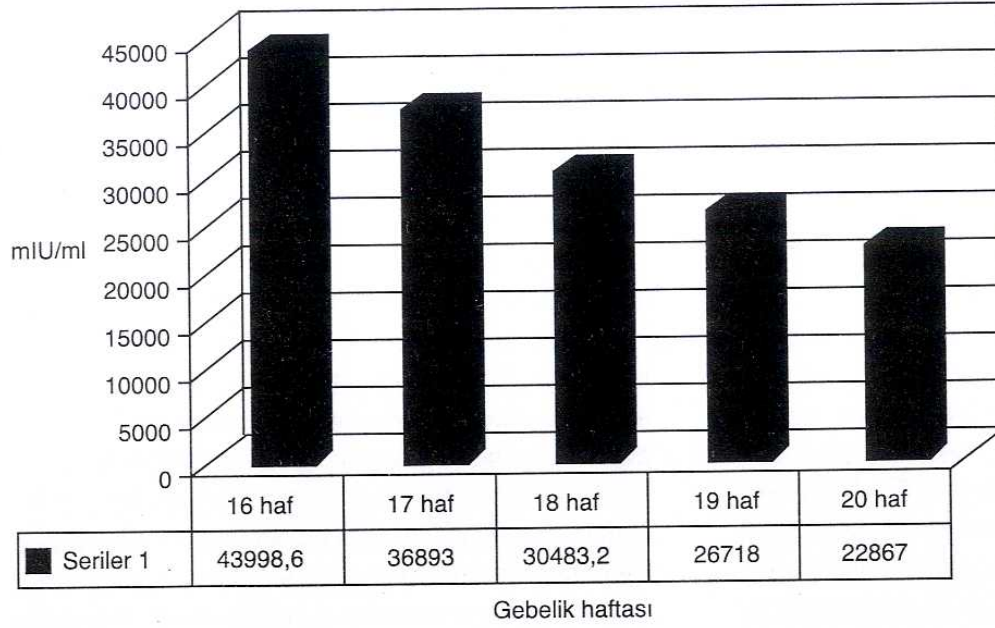
Yaptığımız araştırmada gebeliklerden biri özefagus atrezili bebeğin doğumu ile sonlandı. Bu hastanın maternal serum MoM değerleri AFP için 3.03, β hCG için 1.68, uE3 için ise 3,17 idi . Her üç değer de ortalamanın bir hayli üzerindedeydi.

Üç adet nöral tüp defektlerine uyan hamile bulundu. Bunlardan birincisinin 16. haftadaki üçlü test MoM değerleri AFP 1,78 MoM, β HCG 1,84 MoM, uE3 0,33 MoM idi.ve ultrason ile de meningesel tanısı konmuştu. İkinci hastamıza bize 18. haftada müracaat etmişti. Üçlü test sonuçları AFP 2,36 MoM, β hCG 1,04 MoM, uE3 0,96 MoM idi ve AFP MoM değeri 2 MoM'un üzerinde olduğundan nöral tüp defekti açısından risk grubunda idi. Yapılan detaylı ultrason sonucu anensefali tanısı aldı. Medikal abort ile gebeliği sonuçlandırıldı. Üçüncü hamilemiz 19 haftada bize başvurdu. Dışarda yapılan ultrasonda NTD şüphesi ile fakültemize sevk edilmişti. Yapılan üçlü test sonucunda AFP 2,21 MoM, β hCG 0,76 MoM, uE3 3,78 MoM olarak tespit edildi. AFP değerinin 2 MoM un üzerinde olması ve fakültemizde yapılan ayrıntılı ultrason sonucu tanı kesinleştirildi.

Hamile bayanlar içinde 2. trimesterden sonra düşük yaptığını tespit ettiğimiz 5 bayanın verileri Tablo 1'de gösterildi. Bu hamilelerin MoM değerlerinde ortalamalara göre aşırı artış ve azalışlar mevcuttu. Bu değerlerdeki aşırı oynamaların düşüğe neden olan herhangi bir yapısal veya sayısal kromozom anomalisine bağlı olabileceği düşünüldü.

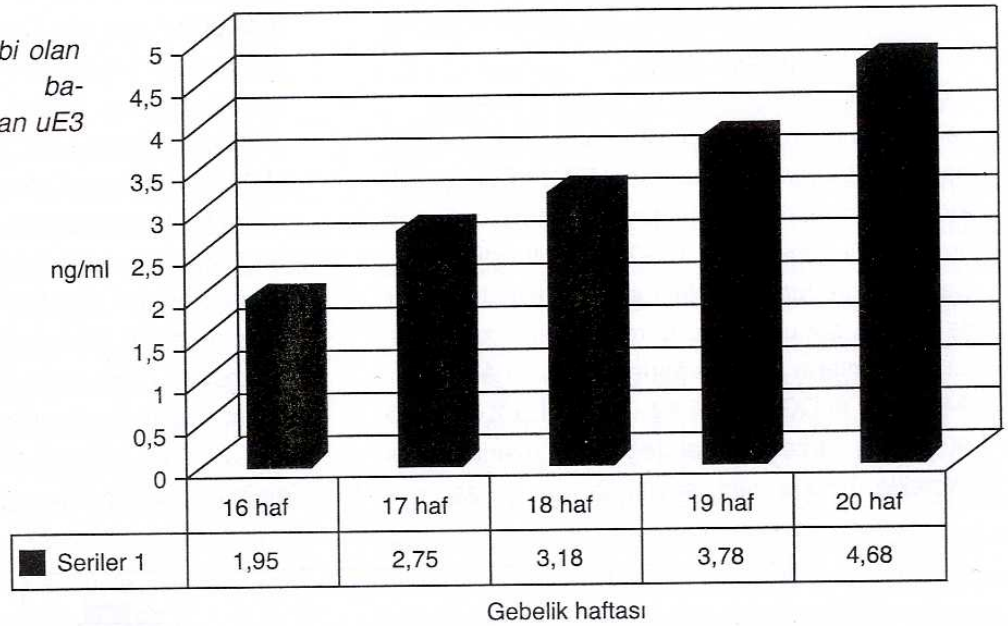


Şekil 1. Sağlıklı bebek sahibi olan normal hamile bayanlardan oluşturulan AFP MoM değerleri.



Şekil 2. Sağlıklı bebek sahibi olan normal hamile bayanlardan oluşturulan β hCG MoM Değerleri.

Şekil 3. Sağlıklı bebek sahibi olan normal hamile bayanlardan oluşturulan uE3 MoM değerleri.



İki adet multipl anomalili bebek dünyaya geldi . Bunların bize başvuru haftaları 18. ve 20. gebelik haftalarında idi. Üçlü test sonuçları ise AFP 0,98 – 1,15; β hCG 1,44 – 1,09 ; uE3 1,27 – 1,21 idi . Bu verilerde ortalamalardan sapmalar gözlenmemiştir.

Üçlü test sonucu pozitif olan hastalarımızdan amniosentez yapılan bir hastamızda 47,XY+21 karyotipi tespit edildi. Hastaya verilen genetik danışma sonucunda medikal abortu düşünen hastanın gebeliği sonlandırıldı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada Konya bölgesindeki hamilelerde gebelik haftalarına göre üçlü test için median

değerlerini oluşturmak amaçlanmıştır. Bunun için ikinci trimester seçildi. Çünkü, daha önce yapılan çalışmalarda (15, 16,) üçlü testin 16-20, ideal olarak 16-18. haftalarda yapılması tavsiye edilmiş, buna neden olarak da her üç parametrenin (AFP, β hCG ve uE3) normal popülasyonla riskli grup arasındaki dağılımları ve belirleyicilik değerlerinin bu trimesterde en yüksek düzeye ulaştığı bildirilmiştir. Bu dönemin hastanın psikolojisi ve tıbbi müdahaleler yönünden de önemli olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından (17-19) vurgulanmıştır. İngiltere’de yapılan çalışmalarda maternal serum AFP düzeyinin özellikle NTD taramalarındaki etkinliğinin 15. haftanın altında ve 20.

Tablo 1. İkinci Trimester'de Düşük Yapan Hamile Bayanların Üçlü Test MoM Değerleri

Hasta No	Başvuru haftası	AFP MoM	β hCG MoM	uE3 MoM
1	17	3,06	1,24	0,98
2	17	0,2	0,2	0,1
3	17	0,4	0,73	0,24
4	18	0,89	1,47	0,95
5	20	1,84	3,12	1,84

haftanın üzerinde anlamlı bir şekilde düştüğü saptanmıştır (20).

Sunulan çalışmada AFP, β hCG, uE3 için 16., 17., 18., 19. ve 20. haftalara ait MoM değerleri tespit edilmiştir. Şekil 1-2-3 de görüldüğü üzere bu değerler Elias ve Simpson (1992) , Wald ve ark. (1992) , Benn ve ark. (1997)'nin bildirdikleri gibi her hafta için AFP'de % 10'luk artış, b hCG'de %10'luk nispi azalma, uE3'de %10' luk artış göstermiştir.

İkinci trimesterde üçlü test serum değerlerinin erken doğum, preeklamsi ve fetal gelişme geriliği olan çocuklarda (22) ve fetal aneuploidilerde yüksek olabileceği (23) öne sürülmektedir. Benn ve ark (1995) yaptıkları bir çalışmada, üçlü testte normal değerlerden farklılıklar gösteren hamilelerin, prenatal kromozom analizi sonucunda % 3.69 oranında kromozom anomalisi tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bununla birlikte açıklanamayan ikinci trimester uE3 düşüklüklerinde gebelik kaybı riskinin arttığı kaydedilmektedir (25). Diğer bir çalışmada (26) ise plasental mosaizm tanısı konulmuş normal hamileliklerde, tarama testi pozitif olan olguların oranı % 54 olarak saptanmıştır. Olgularımız arasında 2 adet doğumdan hemen sonra ölen bebek mevcuttu. Bunların üçlü test sonuçlarında herhangi bir farklılık saptanamamıştır. Doğum sonucunda 1 adet özefagus atrezili bebekte her üç değerinde de ortalamasının çok üstünde MoM değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Araştırmamızda doğum sonucuna kadar takip ettiğimiz bayanlardan 5 tanesinin, 2. trimesterden sonra düşük yaptığı ve bunlardan 1.hastada AFP nin 3,06 MoM değerinde 2.

ve 3. hastada normalin altında MoM değerlerinde 4. hastada normal MoM değerlerinde olduğu ve 5. hastanın ise yüksek β hCG değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Buradaki farklı bulguların düşüğe sebep olacak herhangi bir kromozomal yada yapısal anomaliden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Yukarıda ifade edilen araştırmalar ve mevcut çalışmadan elde edilen veriler çeşitli hastalık ve anomalilerde üçlü test değerlerinde farklılıklar meydana gelebileceğini göstermektedir. Bu nedenle, üçlü test sonuçlarında risk düşük olsa bile, kullanılan analizlerde göze çarpan farklılıklar olduğunda, bu farklılığın değişik bir hastalıktan kaynaklanabileceği düşünülerek bu durum literatür ışığı altında gözden geçirilmeli ve hamile bayanların daha sık kontrollere gelmesi önerilmelidir.

Üçlü test taramalarında hastaların hesaplanan Down sendromu riski 1/250 den yüksekse testin doğruluğu tekrar gözden geçirilmeli ve hamile bayanlar amniosenteze yönlendirilmelidir. İzole NTD yönünden risk yüksekse ultrasonografi ile kesin tanı konulmaya çalışılmalıdır. Yukarıda ifade edilen uygulamalar sonucunda herhangi bir anomali saptanırsa hastalık hamile bayana ayrıntılı bir şekilde anlatılmalı, karşılaşılabileceği durumlar ve yapabilecekleri hakkında hasta bilgilendirilmelidir.

Sonuçta, üçlü testin kolay ve ucuz olması, tüm toplumlarda NTD ve Down sendromu taramasında önemli bir gösterge olması, ayrıca defektlerin saptanması ve gebeliğin devamı hakkında fikir vermesi nedeniyle yaygın olarak kullanılması gereken noninvaziv bir test olduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Brock DJ, Sutcliffe RG. Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 1972; 29;2:197
2. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984 ; 1;148(7):886-94
3. Bogard MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987 ; 7(9):623-30.
4. Canick JA , Knight GJ, Polamaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second trimester maternal serum unkonjugated oestriol in pregnancies with Down syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95 (4): 330-3
5. Wald N , Cuckle H Antenatal screening for Down syndrome. *Lancet* 1988; 10;2:1362
6. Norgard -Petersen B, Larsen SO, Arends J, Svensstrup B, Tabor A Maternal serum markers in screening for Down syndrome. *Clin Genet*, 1990; 37:35-43
7. Kellner HL, Weiner Z, Weiss RR, Neuer M, Martin GM, Mueenuddin M, Bombard A. Triple marker (α -fetoprotein, unconjugated estriol, Human chorionic gonadotropin) versus α -fetoprotein plus free- β subunit in second-trimester maternal serum screening for fetal Down syndrome :A prospective comparison study. *AM J Obstetric Gynecology* 1995; 173:1306-9
8. Barkai G, Goldman B, Ries L, Chaki R, Cuckle H. Effect of gravidity on maternal serum markers for Down syndrome. *Prenatal Diagnosis* 1996; 16:319-22
9. Bogard MH, Jones OW, Felder RA, Best RG, Bradley L, Butts W, Crandall B, Macmahon W, Wians FH, Loeh PV. Prospective evaluation of maternal serum human chorionic gonadotropin levels in 3428 pregnancies. *AM J Obstetric Gynecol* 1991;165:663-7
10. Rose NC, Mennuti MT. Maternal serum screening for Neural Tube Defects and fetal chromosome abnormalities. *West J Med* 1993; 159:312-7
11. Owen J, Wenstrom KD, Hardin MJ, Boots LR, Hsu CC, Cosper PC, Dubard MB. The utility of fetal biometry as an adjunct to the multiple-marker screening test for Down syndrome. *AM J Obstet Gynecol* 1994; 171:1041-6
12. Polamaki GE, Knight GJ, McCarthy J, Haddow JE. Maternal serum screening for fetal Down's syndrome in the United States:A 1992 survey. *AM J Obstet Gynecol* 1993;169: 1558-62
13. Thornton G, Richard SV, Williams J, Holding S. Clinical experience with the triple test for Down's syndrome screening. *J Perinat Med* 1991; 19:151-4
14. Aydın K. Prenatal tanıda noninvaziv yöntemler. Prenatal tanı ve tedavi 1992; 5:40-51
15. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Kennard A, Smith D. Maternal serum screening for Down's syndrome: the effect of routine ultrasound scan determination of gestational age and adjustment for maternal weight. *Fetal and Neonatal Medicine* 1992; 99:144-9
16. Macri JN, Spencer K, Anderson RW, Cook EJ. Free β -chorionic gonadotropin :a cross-reactivity study of two immunometric assays used in prenatal maternal serum screening for Down's syndrome. *Ann Clin Biochem* 1993; 30:94-8
17. Wald NJ, Watt HC. Serum markers for Down's syndrome in relation to number of previous births and maternal age. *Prenatal diagnosis* 1996; 16:699-703
18. Muller F, Bussieres L. Maternal serum markers for fetal trisomy 21 screening. *European J Obst. Gynecol* 1996; 65:3-6
19. Polamaki GE, Knight GJ, McCarthy J, Haddow JE, Donhowe JM. Maternal serum screening for fetal Down's syndrome in the United States:A 1995 survey. *AM J Obstet Gynecol* 1997; 176:1046-51
20. Elias S, Simpson JL. Maternal serum screening for fetal genetic disorders. 1992
21. Benn PA, Borgida A, Horne D, Briganti BS, Collins R, Rodis JF. Down syndrome and neural tube defect screening: The value of using gestational age by ultrasonography. *AM J Obstet Gynecol* 1997; 176:1056-61
22. Kabukcu A, Önderoğlu L, Durukan T, Laleli Y. İkinci trimesterde anne serumunda açıklanamayan alfa-fetoprotein yüksekliğinin gebeliğin sonucuna etkisi. *T- Klin Jinekoloj Obst* 1996; 6:287-9
23. Thiagarajah S, Stround CB, Vavelidis F, Schnorr JA, Schnatterly TP, Ferguson JE. Elevated maternal serum α -feto protein levels:What is the risk of fetal aneuploidy? *AM J Obstet Gynecol* 1995; 173:388-92
24. Benn PA, Horne D, Briganti BS, Greenstein RM. Prenatal diagnosis of diverse chromosome abnormalities population of patients identified by triple marker testing a screen positive for Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173 (2):496-501
25. Santolaya J, Jessup BS, Burd LI, Prins GS, Burton K. Pregnancy Outcome in women with low midtrimester maternal Serum unconjugated estriol. *J Reprod Med* 1996; 41:87-90
26. Morsink LP, Sikkema-Raddatz B, Beekhuis JR, De-Wolf BT, Manting A. Placental mosaicism is associated with unexplained second-trimester elevation of MShCG levels but not with elevation MSAFP levels. *Prenatal Diagnosis* 1996;16(9):845-51