

DIAGNÓSTICO PRENATAL DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. El diagnóstico prenatal temprano de anomalía cromosómica, requiere de técnicas invasivas, como la amniocentesis y la biopsia de vellosidades coriales. Presentamos nuestra experiencia y el valor predictivo de los marcadores ecográficos de riesgo. **DISEÑO.** Estudio descriptivo transversal. **LUGAR.** Instituto Latinoamericano de Salud Reproductiva, Lima, Perú. **MUESTRAS BIOLÓGICAS.** Líquido amniótico y placenta. **INTERVENCIONES.** Se analizó los resultados de 163 amniocentesis y 12 biopsias de vellosidades coriales, realizadas durante el período comprendido entre enero 2003 y setiembre 2007. **PRINCIPALES MEDIDAS DE RESULTADOS.** Anormalidades cromosómicas. **RESULTADOS.** La indicación más frecuente para solicitar diagnóstico prenatal fue la edad materna mayor a 38 años. Del total de muestras estudiadas (172), en 27,9% el resultado fue positivo para anomalía cromosómica (48 casos), siendo más frecuente la trisomía 21. El mayor porcentaje de resultados anormales se encontró en los casos que presentaban más de un hallazgo ecográfico anormal, siendo el higroma quístico el marcador ecográfico más frecuentemente observado. **CONCLUSIONES.** Los marcadores ecográficos representan un criterio de inclusión muy importante en la selección de pacientes para diagnóstico prenatal, con mayor valor predictivo en el higroma quístico y la translucencia nuchal.

Palabras clave: Diagnóstico prenatal, amniocentesis, biopsia de vellosidades coriales, anomalía cromosómica.

ABSTRACT

INTRODUCTION. Early prenatal diagnosis of chromosomal anomalies requires invasive techniques such as amniocentesis and chorionic villous sampling. We present our experience and the predictive value of ultrasonographic risk markers. **DESIGN.** Descriptive, transversal study. **SETTING.** Instituto Latinoamericano de Salud Reproductiva, Lima, Peru. **BIOLOGIC SAMPLES.** Amniotic fluid and placenta. **INTERVENTIONS.** We analyzed the results of 163 amniocentesis and 12 chorionic villous sampling performed at our institute between January 2003 and September 2007. **MAIN OUTCOME MEASURES.** Chromosome anomalies. **RESULTS.** The most frequent indication for prenatal invasive techniques was maternal age above 38 years; 48 (27,9%) of the samples obtained were positive for chromosomal anomalies and trisomy 21 the most common find-

ing. The highest frequency of chromosomal anomalies was found in pregnancies with more than one ultrasonographic marker; cystic hygroma was the most frequent marker. **CONCLUSIONS.** Ultrasonographic markers are important inclusion criteria in prenatal diagnosis patients' selection. Cystic hygroma and abnormal nuchal translucency showed the highest predictive values.

KEYWORDS. Prenatal diagnosis, amniocentesis, chorionic villous sampling, chromosome anomalies.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico prenatal temprano de una anomalía cromosómica requiere de técnicas invasivas, como la biopsia de vellosidades coriales (BVC) y la amniocentesis. El ries-

Moisés Huamán-Guerrero¹,
María Quiroga de Michelena², Jorge Arias¹,
Moisés Huamán J¹.

1. Instituto Latinoamericano de Salud Reproductiva (Ilsar).
2. Instituto de Medicina Genética.

Recibido para publicación: 9 de setiembre de 2007.
Aceptado para publicación: 20 de setiembre de 2007.

Rev Per Ginecol Obstet. 2007;53:181-186

go de aborto para la BVC transabdominal en el primer trimestre es similar que para la amniocentesis en el segundo trimestre, en una población de riesgo bajo con antecedente de pérdida de embarazo, de alrededor de 2%; la amniocentesis del segundo trimestre aumentaría este riesgo en 1%⁽²⁾.

La amniocentesis temprana no es una alternativa segura, comparada con la amniocentesis en el segundo trimestre, debido al aumento de la pérdida de embarazo en general. Esto es con y sin proce-

dimiento invasivo (7,6% versus 5,9%, RR 1,29; IC 95% 1,03 a 1,61) (2) y a una mayor incidencia de *pie bot*, en comparación con la BVC (1,8% versus 0,2%, RR 6,43; IC95% 1,68 a 24,64)^(1,2). Comparada con la amniocentesis en el segundo trimestre, la BVC transcervical conlleva un riesgo significativamente mayor de pérdida de embarazo (14,5% versus 11%, RR 1,40, IC95% 1,09 a 1,81) y aborto espontáneo (12,9% versus 9,4%, RR 1,50, IC95% 1,07 a 2,11); de igual forma, estas cifras estadísticas son referidas a pérdida de embarazo en general⁽²⁾.

La evidencia actual muestra que la amniocentesis en el segundo trimestre es más segura que la BVC por vía transcervical y la amniocentesis temprana. Si se requiere un diagnóstico temprano, la BVC transabdominal es preferible a la amniocentesis temprana o la BVC transcervical⁽²⁾. La amniocentesis temprana comparada con la tardía se asocia a un aumento de la incidencia de *pie bot*; además, presenta una tendencia a mayor pérdida temprana del embarazo⁽¹⁾.

La amniocentesis no debería de ser realizada antes de las 14 semanas ni la BVC transabdominal antes de las 11 semanas de gestación. Las técnicas invasivas deberían ser hechas por profesionales entrenados⁽⁴⁾. Son indicaciones para sugerir la realización de un procedimiento invasivo para diagnóstico prenatal⁽¹⁷⁾:

- Edad materna avanzada (mayor de 38 años).
- Un padre portador de reordenamiento cromosómico balanceado.
- Hijo previo con síndrome de Down u otras anomalías cromosómicas.

- Aborto espontáneo aneuploide en gestación previa.
- Historia familiar de malformaciones congénitas y otras alteraciones de etiología cromosómica.
- Diagnóstico del sexo fetal en mujeres portadoras de enfermedades ligadas al sexo.
- Hallazgos ultrasonográficos de malformaciones fetales asociadas con anomalías cromosómicas.
- Marcadores bioquímicos en suero materno.

El riesgo de trisomías aumenta con la edad materna, tal es así que tiene una tasa de detección de 30% para una tasa de falsos positivos de 5%. El riesgo de síndrome de Turner y triploidías no cambia con la edad materna^(3,5).

La translucencia nucal (TN) es la imagen ecográfica del cúmulo subcutáneo de líquido detrás del cuello fetal, en el primer trimestre de gestación. La incidencia de anomalías cromosómicas está relacionada con un grosor mayor a 2,5 mm o por encima del percentil 95 para la longitud corona-nalga. Dicha medida debe de ser realizada entre las 11 y 13 +6 semanas y/o con una longitud corona-nalga de 45 a 84 mm.

El cribado mediante la TN puede identificar a más de 75% de los fetos con trisomía 21, para una tasa de falsos positivos de 5%^(4,6,7).

Respecto a los marcadores bioquímicos en suero materno, en embarazos con trisomía 21, a las 11 a 13 +6 semanas, la concentración sérica materna de β -hCG libre es mayor y la de PAPP-A (proteína plasmática A asociada al embarazo) es menor que en los fetos cromosómicamente normales.

El cribado, mediante la combinación de la TN y la bioquímica en suero materno del primer trimestre o del segundo trimestre, puede identificar entre 85 y 90% de los fetos con trisomía 21, con una tasa de falsos positivos de 5%^(4,8).

En las trisomías 18 y 13, los niveles de β -hCG libre y PAPP-A están disminuidos.

En las anomalías cromosómicas sexuales, la β -hCG libre es normal y la PAPP-A está disminuida.

En la triploidía de origen paterno, la β -hCG libre está muy aumentada, mientras que la PAPP-A está ligeramente disminuida. La triploidía de origen materno se asocia a niveles muy bajos de β -hCG libre y PAPP-A^(4,8).

El examen del hueso nasal debe de realizarse entre las 11 y 13 +6 semanas de gestación y/o con longitud cráneo-rabadilla de 45 a 84 mm. En los fetos cromosómicamente normales, la incidencia de ausencia del hueso nasal es menor a 1% en la población caucásica y alrededor de 10% en los afrocaribeños.

El hueso nasal está ausente en 60 a 70% de los fetos con trisomía 21, en alrededor de 50% de los fetos con trisomía 18 y en 30% de los fetos con trisomía 13⁽⁹⁻¹¹⁾.

Para una tasa de falsos positivos de 5%, el cribado mediante una combinación de la ecografía para la TN, hueso nasal, β -hCG libre y PAPP-A en suero materno, puede identificar a más de 95% de los embarazos con trisomía 21⁽⁹⁻¹¹⁾.

El ductus venoso anormal (onda A ausente o invertida), entre las 11 a 13 +6 semanas, se observa en 5% de los fetos cromosómicamente normales y en aproximadamente 80% de los fetos con trisomía 21⁽¹²⁾.

Entre los marcadores ecográficos asociados con anomalías cromosómicas del segundo trimestre, podemos observar que la trisomía 21 se asocia a hipoplasia nasal, aumento del grosor del pliegue nucal, anomalías cardíacas, atresia duodenal e intestino hiperecogénico, pielectasia leve, acortamiento del fémur y aún más del húmero, signo de la sandalia (*sandal gap*), clinodactilia, hipoplasia de la falange media del quinto dedo, etc.

La trisomía 18 se asocia con el cráneo en forma de fresa, quistes de plexos coroideos, agenesia del cuerpo calloso, aumento de la cisterna magna, hendidura facial, micrognatia, edema nucal, anomalías cardíacas, hernia diafragmática, atresia esofágica, onfalocele, arteria umbilical única, anomalías renales, intestino hiperecogénico, mielomeningocele, restricción del crecimiento y acortamiento de las extremidades, aplasia radial, dedos superpuestos y pie en mecedora^(4,13).

La trisomía 13 se asocia con holoprosencefalia, microcefalia, anomalías faciales, anomalías cardíacas, riñones grandes e hiperecogénicos, onfalocele y polidactilia postaxial.

La triploidía de origen paterno se asocia con una placenta molar y el embarazo rara vez persiste más allá de las 20 semanas.

En la triploidía de origen materno, el embarazo puede persistir hasta el tercer trimestre, la placenta es de consistencia normal, aunque fina, y el feto muestra una severa restricción del crecimiento de tipo asimétrico; frecuentemente hay ventriculomegalia leve, micrognatia, anomalías cardíacas, mielomeningocele y sindactilia.

El síndrome de Turner se asocia con grandes higromas quísticos nucleares, edema generalizado, hidropesía, anomalías cardíacas y riñón en herradura, que se sospecha por la presencia de una pielectasia bilateral leve.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente es un estudio clínico, tipo descriptivo transversal. Se analizó los resultados de 175 pacientes a quienes se realizó procedimiento invasivo de diagnóstico prenatal, 163 amniocentesis y 12 BVC, entre enero de 2003 y 20 setiembre de 2007, en el Instituto Latinoamericano de Salud Reproductiva (Ilsar). Las ecografías fueron realizadas y evaluadas en Ilsar. Los análisis citogenéticos fueron

procesados en el Instituto de Medicina Genética, de Lima, Perú.

Las pacientes incluidas en el estudio fueron clasificadas como gestantes con riesgo alto para anomalía cromosómica. Las 175 pacientes recibieron asesoramiento genético previo a la realización del procedimiento y posteriormente al conocimiento de los resultados del estudio citogenético. Todas autorizaron el procedimiento, firmando el consentimiento informado.

Los criterios para indicar el procedimiento fueron edad materna mayor a 38 años, translucencia nucal mayor o igual a 2,5 mm, antecedente de trisomía, presencia de marcadores ecográficos para anomalía cromosómica, alteraciones en las cifras de marcadores bioquímicos y riesgo alto para anomalía cromosómica, usando la base de datos *fetal test*.

La técnica utilizada en la BVC fue: elección por ecografía de un punto adecuado para la punción, asepsia, punción con aguja número 18 o 20, de 12 cm de longitud, introducción de la aguja bajo guía ecográfica hasta la zona del corion, en donde con movimiento de vaivén vertical y bajo presión negativa se aspiró la muestra hacia una jeringa, que contenía el medio de cultivo.



Figura 1. Biopsia de vellosidades coriales



Figura 2. Mosaicismo 11/4

Tabla 1. Indicaciones para diagnóstico prenatal temprano de anomalía cromosómica.

	Total (%)	Positivos (%)
• Edad materna > 38 años	60 (34,9)	7 (11,7)
• Un marcador ecográfico (no TN)	35 (20,3)	6 (17,1)
• Más de un marcador ecográfico	33 (19,2)	20 (60,6)
• EM + un marcador ecográfico	14 (8,1)	3 (21,4)
• TN \geq 2,5 mm	11 (6,4)	7 (63,6)
• Marcador bioquímico alterado	5 (2,9)	0
• EM + TN	4 (2,3)	Ninguno
• EM + más de un marcador ecográfico	5 (2,9)	5 (100,0)
• Antecedente de trisomía 21	3 (1,7)	0
• EM + antecedente de trisomía 21	2 (1,2)	0
Total	172 (100,0)	48 (27,9)

EM: edad materna; TN: translucencia nuchal aumentada.

Tabla 3. Frecuencia de anomalías cromosómicas en las muestras estudiadas.

	Amniocentesis	BVC	Total (%)
• Trisomía 21	15	3	18 (37,5)
• Monosomía X	10	2	12 (25)
• Trisomía 18	6	2	8 (16,7)
• Trisomía 13	5	–	5 (10,4)
• Translocación equilibrada	1	–	1 (2,1)
• 47XYY	1	–	1 (2,1)
• Triploidia	1	–	1 (2,1)
• Mosaicismo T21	–	1	1 (2,1)
• Mosaicismo 46,XX, t(4;11)	1	–	1 (2,1)
Total	40	8	48 (100)

La amniocentesis se realizó con los mismos pasos, utilizando aguja 22, obteniendo 15 mL de líquido amniótico.

El estudio cromosómico se hizo con las técnicas habituales. En todos los casos de cultivo, se sembró por duplicado, se analizó no menos de 15 células por muestra y se imprimió dos o más cariotipos por paciente.

Se buscó determinar el número de procedimientos invasivos que resultaron positivos para anomalía cromosómica, los tipos de anomalía cromosómica, la relación existente entre anomalía cromosómica y marcador ecográfico, la frecuencia de las indicaciones para los procedimientos invasivos y su relación con anomalía cromosómica.

RESULTADOS

Se muestra los resultados del estudio en las Tablas 1 a 8. La edad materna mayor de 38 años (60; 34,9%) fue la indicación más frecuente para el diagnóstico prenatal temprano de anomalía cromosómica.

De las 175 muestras, tres no cultivaron. La indicación más frecuente para solicitar diagnóstico prenatal fue la edad materna mayor a 38 años.

En el total de muestras estudiadas (172), en 27,9% el resultado fue positivo para anomalía cromosómica (48 casos), siendo la más frecuente la trisomía 21 (18 casos).

El mayor porcentaje de resultados anormales se encontró en los casos que presentaban más de un hallazgo ecográfico anormal, siendo el hígroma quístico el marcador ecográfico más frecuentemente observado.

No hubo complicaciones mayores. Hubo un caso de hipotensión materna, con bradicardia fetal pasajera; un caso de pérdida de líquido amniótico que sucedió al siguiente día del procedimiento con evolución satisfactoria; contracciones uterinas sin repercusión clínica.

En dos casos, se evidenció sangrado intraamniótico importante cuando el abordaje fue transplacentario.

Tabla 2. Procedimientos invasivos en diagnóstico prenatal de anomalía cromosómica.

	Positivos (%)	Negativos (%)	Total
• Amniocentesis	40 (24,8)	121 (75,2)	161*
• BVC	8 (72,7)	3 (27,3)	11*
Total	48 (27,9)	124 (72,1)	172*

* Una BVC y dos amniocentesis no cultivaron. Total: 175 procedimientos.

Tabla 4. Edad materna media en anomalías cromosómicas.

	Edad materna media (años)
• Trisomía 21 (T21)	37
• Monosomía X	26,2
• Trisomía 18 (T18)	26,6
• Trisomía 13 (T13)	32
• 47,XYY	27
• Translocación equilibrada	31

Tabla 5. Marcadores ecográficos en anomalías cromosómicas.

	Amniocentesis positivas	BVC positivas	Total (%)
• Con marcadores ecográficos	33	8	41 (85,4)
• Sin marcadores ecográficos	7	–	7 (14,6)
Total	40	8	48 (100)

DISCUSIÓN Y COMENTARIOS

Se realizó en total 175 procedimientos invasivos para diagnóstico prenatal temprano de anomalía cromosómica. Las muestras de una BVC y dos amniocentesis no cultivaron. El estudio de 172 muestras mostró 48 casos con cariotipo anómalo (Tabla 1). Esta cifra representa 27,9% de resultados positivos en la detección de anomalía cromosómica. Otros estudios informan cifras de 3,95% a 11,76% de resultados positivos^(14,16), menores a los del presente reporte, lo que atribuimos principalmente a que en estos existe un considerable número de pacientes cuyo criterio de inclusión único es la alteración en las cifras de marcadores bioquímicos; y la frecuencia de marcadores ecográficos es menor^(16,17).

Como se puede observar en la Tabla 1, en las muestras de vellosidades

coriales se observó un porcentaje mucho mayor (72,7%) de casos positivos que en las de líquido amniótico (24,8%). La razón es que la biopsia de vellosidades coriales en nuestro medio constituye un procedimiento excepcional, que se utiliza solo en casos muy seleccionados, en los que hay una alta sospecha de anomalía cromosómica.

La principal indicación para la realización de amniocentesis fue la edad materna mayor a 38 años (Tabla 2), representado un 34,9%, cuando es única. Otras comunicaciones también tienen como principal indicación a la edad materna, pero su frecuencia es superior, variando entre 70 y 80%⁽¹⁵⁾.

En las pacientes cuya única indicación fue la edad materna, 11,7% tuvo resultado positivo para anomalía cromosómica. Otro estudio que

incluyó 838 pacientes solo por edad materna, obtuvo 4,29% de resultados positivos⁽¹⁴⁾, resultado inferior al encontrado por nosotros. Esta diferencia se explicaría porque definieron como riesgo, por edad materna, una edad mayor a 35 años.

La presencia de marcadores ecográficos para anomalía cromosómica resultó un criterio importante para el diagnóstico prenatal (Tablas 2 y 5). En 59,3% de pacientes se detectó al menos un marcador ecográfico y, de éstos, 40% (LR+: 1,73, LR-: 0,29) resultó positivo para anomalía cromosómica. Este porcentaje se eleva a 65,7% (LR+: 4,7, LR-: 0,53) cuando se trata de pacientes en las que se halló más de un marcador ecográfico; resultado superior al encontrado por otros estudios, que informan entre 12 y 50%, cuando hay más de un marcador ecográfico^(14,16).

Tabla 7. Marcadores ecográficos hallados en anomalías cromosómicas.

	T21	45,X	T18	T13	Translocación
• Higroma quístico	4	9	2	1	
• Quiste PC	1	1	1		
• TN \geq 2,5 mm	6				1
• Hidropesía fetal	1	5		1	
• HN ausente	2				
• Mano en garra			2		
• DV anormal					1

Tabla 6. Frecuencia de anomalía cromosómica, según marcador ecográfico.

	Anomalía (%)	Sin anomalía	Total (%)
• Higroma quístico	16 (69,6)	7	23 (35,4)
• TN \geq 2,5 mm	7 (46,6)	8	15 (23)
• Quiste plexo coroideo	3 (30)	7	9 (15,4)
• Hidropesía	7 (100)	–	7 (10,8)
• HN ausente	2 (50)	2	4 (6,2)
• Mano en garra	2 (100)	–	2 (3,1)
• DV anormal	1 (50)	1	2 (3,1)
• Quistes pulmonares	–	2	2 (3,1)

Tabla 8. Valor predictivo de los hallazgos para anomalía cromosómica.

	S	E	VPP	VPN	LR(+)	LR(-)
• Higroma	33	94	69	79	5,5	0,71
• Más de un marcador ecográfico	52	89	65	82	4,7	0,53
• TN	15	93	46	74	2,14	0,91
• Uno o más marcadores ecográficos	85	51	40	90	1,73	0,29
• Quiste plexo coroideo	6,2	94	30	72	1	1
• Edad materna y otros	16	86	32	73	1,1	0,97
• Edad materna	15	57	11,6	63	0,32	1,51

S: sensibilidad; E: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR: likelihood ratio

Del total de pacientes sometidas a diagnóstico prenatal temprano, en quienes se detectó anomalía cromosómica, 85,4% presentó marcadores ecográficos (Tabla 5). Asimismo, los cinco casos cuyo criterio de inclusión fue edad materna y presencia de más de un marcador ecográfico fueron positivos para anomalía cromosómica (Tabla 2).

La trisomía 21 fue la anomalía cromosómica más frecuentemente encontrada y en esos casos la edad materna media fue 37 años, observándose relación directamente proporcional. Estuvo seguida por la monosomía X, no encontrándose relación de esta aneuploidía con la edad materna, en concordancia con lo señalado en la literatura^(15,16).

El marcador ecográfico más frecuente fue el higroma quístico, seguido de translucencia nuchal y quistes de plexos coroideos. En los casos que presentaron higroma quístico, se encontró 69,6% (LR+: 5,5) de resultados positivos para anomalía cromosómica, teniendo mayor relación con la monosomía X.

Hubo 5 procedimientos que fueron realizados por la angustia creada en los padres por resultados alterados en los marcadores bioquímicos, pero ninguno de estos presentó marcadores ecográficos y el estudio citogenético fue normal en todos. Esta es una observación inicial que deberá ser evaluada, para conocer el valor predictivo real de las pruebas bioquímicas en nuestro medio.

En la mayoría de los casos de anomalía cromosómica no letal, los padres decidieron la continuación del embarazo, buscando mayor

información a través de internet u opiniones de otros especialistas.

El avance en la prevención, diagnóstico y tratamiento fetal obliga a replantear el marco legal existente en el país, con relación a las alternativas de decisión de los padres cuyo feto tiene una anomalía cromosómica o malformación congénita incompatible con la vida, o con posibilidades de supervivencia extraordinariamente limitadas, como es el caso de las trisomías 13 y 18.

Una barrera muy fuerte que hemos observado en el diagnóstico prenatal es la limitación económica para cubrir los costos del estudio, generándose angustia y en algunos casos toma de decisiones incorrectas.

Concluyendo, el estudio muestra un porcentaje elevado de detección de anomalía cromosómica (27,9%), en comparación con otros estudios publicados. Los marcadores ecográficos con mayor VPP fueron higroma quístico (69%), translucencia nuchal (46%) y quistes de plexos coroideos (30%). La presencia de más de un marcador ecográfico para anomalía cromosómica resulta un criterio importante para el diagnóstico prenatal. Con la técnica realizada, no hubo complicaciones mayores, como pérdida fetal, en ninguno de los 175 casos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Philip J, Silver RK, Wilson RD. Diagnóstico prenatal invasivo al final del primer trimestre: Resultados de un ensayo internacional randomizado. *Rev Chil Obst Ginecol.* 2004;69(3):263-5.
2. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis y toma de muestra de vellosidades coriónicas para el diagnóstico prenatal (Revisión Cochrane). *Biblioteca Cochrane Plus*, número 2, 2007.
3. Hecht CA, Hook EB. The imprecision in rates of Down syndrome by 1-year maternal age

- intervals: a critical analysis of rates used in biochemical screening. *Prenat Diagn.* 1994; 14:729-38.
4. Nicolaides KH. La ecografía de las 11-13+6 semanas. Londres: Fetal Medicine Foundation, 2004.
5. Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KM. Maternal age and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;13:176-80.
6. Snijders RJM, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KM. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Lancet.* 1998;351:343-6.
7. Pandya PP, Snijders RJM, Johnson SJ, Brizot M, Nicolaides KH. Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 to 14 weeks of gestation. *BJMO.* 1995;102:957-62.
8. Spencer K, Spencer CE, Power M, Dawson C, Nicolaides KH. Screening for chromosomal abnormalities in the first trimester using ultrasound and maternal serum biochemistry in a one stop clinic: A review of three years prospective experience. *BJOG.* 2003b;110:281-6.
9. Farkas LG, Katic MJ, Forrest CR, Litsas L. Surface anatomy of the face in Down syndrome: linear and angular measurement in the craniofacial regions. *J Craniofac Surg.* 2001;12: 373-9.
10. Cicero S, Curcio P, Papageorgiou A, Sonek J, Nicolaides KH. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet.* 2001;358:1665-7.
11. Cicero S, Rembouskos G, Vandecruys H, Hogg M. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with absent nasal bone at the 11-14 weeks scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004;23:218-23.
12. Matias A, Gomes C, Flack N, Montenegro N. Screening for chromosomal abnormalities at 11-14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1998;2:380-4.
13. Snijders RJM, Nicolaides KH. Sequential screening. En: *Ultrasound Markers for Fetal Chromosomal Defects.* Carnforth, UK: Patheron Publishing. 1996:109-13.
14. Quintana A, Quiñones O, Mendez R. Resultados del diagnóstico prenatal cromosómico en Ciudad Habana. *Rev Cubana Obstet Ginecol.* 1999;25(3):153-8.
15. Milunsky A. *Genetics Disorders and the Fetus. Diagnosis, Prevention and Treatment.* Fourth ed. Baltimore and London: The John Hopkins University Press. 1998: 185.
16. Ferguson Smith MA, Yates JRW. Maternal age-specific rates for chromosomes aberrations and factors influencing them: Report of a collaborative European study on 52,965 amniocenteses. *Prenat Diagn (Special Issue).* 1984;4:5.
17. Quintana Aguilar J, Quiñones Maza O, Mendez Rosado L. Resultados del diagnóstico prenatal cromosómico en Ciudad Habana. *Rev Cubana Obstet Ginecol.* 1999; 25(3):153-8.