



MARCADORES ECOGRÁFICOS DE ANEUPLOIDÍAS DEL PRIMER Y DEL SEGUNDO TRIMESTRE DEL EMBARAZO

ADRIANA CUARTAS
Ginecobstetra CES

INTRODUCCIÓN

Desde comienzos del siglo XX se empezó a hablar de la asociación existente entre el síndrome de Down y el aumento de la edad materna.¹ Después se reconoció claramente dicha relación.

El síndrome de Down se utiliza como referente al hablar de las alteraciones cromosómicas porque es una de las anomalías genéticas más comunes, afectando uno de cada 700 nacimientos en el mundo.

En la década del 70, aproximadamente el 5% de los embarazos se presentó en mujeres mayores de 35 años, donde se obtuvo el 30% de los casos afectados con síndrome de Down.² Es decir, el 70 % de los niños afectados con el síndrome nacían de las mujeres jóvenes que se consideraban de bajo riesgo y para las cuales no existían mecanismos de detección.

En las mujeres de las sociedades modernas que se embarazan a una edad cada vez mayor se aumenta el número de casos en los cuales es necesario practicar pruebas diagnósticas confirmatorias para Trisomía 21, como la realización de amniocentesis para cariotipo, lo cual lleva a un gran aumento en los costos y también a un aumento en las pérdidas de los embarazos por los riesgos inherentes al procedimiento.

Durante las últimas décadas se ha trabajado intensamente en la investigación de métodos de tamización tanto bioquímicos como de

ultrasonido buscando la manera de establecer un cálculo de riesgo individualizado para cromosomopatías en cada paciente. En el momento actual se pretende encontrar un método que proporcione una alta sensibilidad para la detección de los casos pero sin aumentar el número de falsos positivos lo cual llevaría a aumentar la realización de pruebas diagnósticas invasivas.

MARCADOR ECOGRÁFICO

Es una variante anatómica o una alteración ecográfica que no se asocia con discapacidad fetal a no ser que se encuentre asociada a la presencia de un síndrome.

Para cada medida o marcador ecográfico obtenido se calcula un cociente de probabilidad o razón de verosimilitud (RV). La RV para una medida ecográfica o para un marcador bioquímico se calcula dividiendo el porcentaje del número de casos anormales por el porcentaje del número de casos normales. Esta es una medida estadística que se puede usar con una muestra pequeña y que no tiene en cuenta la prevalencia.

CÁLCULO DE RIESGO PARA CADA PACIENTE

Una alternativa para calcular el riesgo de cromosomopatía para cada paciente, diferente a la utilización de un punto de corte fijo, como la edad materna mayor de 35 años, es establecer un método de screening o tamización y con el determinar el cálculo de riesgo individual para cada embarazo.

El riesgo de tener un defecto cromosómico (DC), como la trisomía 21(T-21), se aumenta con la edad materna y se disminuye con la edad gestacional, ya que estos fetos tienen más probabilidad de morir en el útero que los fetos no afectados. Estos cálculos se lograron me-



diante la comparación de los resultados diagnósticos positivos de DC, obtenidos por amniocentesis o por biopsia de vellosidad corial durante el primer trimestre o por marcadores bioquímicos del segundo trimestre y la prevalencia de los fetos afectados al nacer.^{3,4} Para T21, la pérdida gestacional calculada es del 30% a las 12 semanas y del 20% entre las 16 y las 40 semanas. En las trisomías 18 y 13 se presenta una tasa de muerte fetal entre las 12 y 40 semanas del 80%.⁵

El cálculo de recurrencia de riesgo para el embarazo cuando hay historia previa de DC se aumenta en un 0.75% con respecto al cálculo hecho con base a la edad materna y a la edad gestacional.

Actualmente para calcular el riesgo se combinan: el riesgo básico calculado por la edad materna y la edad gestacional, el hecho de tener un hijo con afección previa y el riesgo obtenido por encontrar un marcador ecográfico o un marcador bioquímico del primer o del segundo trimestre. El resultado final se constituye en el riesgo individual para cada paciente y con éste nuevo riesgo se determina la necesidad de realizar pruebas diagnósticas confirmatorias.

Para cada medida o marcador ecográfico se calcula una RV y esta se multiplica por el riesgo básico y así se obtiene el riesgo individual final. El dato obtenido es un nuevo cálculo de riesgo y no es un diagnóstico.

CARACTERÍSTICAS ECOGRÁFICAS DE LAS ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS EN EL PRIMER TRIMESTRE

En el primer trimestre son importantes: el aumento del grosor de la translucencia nucal, la ausencia del hueso nasal y la presencia o hallazgo ecográfico de una anomalía mayor como onfalocele, megavejiga y arteria umbilical única.

TRANSLUCENCIA NUCAL

La translucencia nucal (TN) se define como una acumulación de líquido en la parte posterior del cuello fetal, este líquido puede aparecer limitado únicamente al cuello fetal o rodear a todo el feto. La TN puede tener o no la presencia de septos y generalmente desaparece a las 14 semanas. El aumento del grosor de la TN esta relacionado con una mayor incidencia de DC. Una medición de la TN por encima del percentil 95 detecta el 77 % de los casos de con T 21.⁶

Para que la medición del grosor de la TN logre tener valor como marcador ecográfico se requieren unas características que están muy definidas en cuanto a entrenamiento y estandarización, debido a lo pequeña que es la medición. El estudio más grande existente fue realizado bajo la supervisión y la coordinación de la Fetal Medical Foundation que involucró a 100.311 embarazos.⁶ Se logró hacer el seguimiento a 96.127 casos y se incluyeron 326 casos con T21 y 325 con otros DC. La edad gestacional media de la tamización fue a las 12 semanas. Con los resultados se obtuvo una detección del 77% de los casos y una tasa de falsos positivos del 5%.

Las características establecidas para la medición de la TN incluyen: una edad gestacional de 11 a 13 + 6 semanas, cuando el feto tiene una medición coronilla a rabadilla (CRL) entre los 45 y 84mm. Se debe obtener un corte sagital medio del feto y luego obtener una magnificación que incluya el tórax y la cabeza únicamente. Después se deben ubicar los calipers sobre las líneas que definen la piel y el tejido subcutáneo y realizando la medición a nivel de la columna cervical fetal. En la imagen se debe ver el amnios y no se debe confundir con el engrosamiento nucal. Se toman varias medidas y se considera como resultado final la medición mayor. La RV para una TN por debajo del percentil 95, menor de 2.5mm, es de 0.34 y de 5 para TN mayor de 5.5mm.



La hiperextensión del cuello fetal puede llevar a una sobre- estimación de la medida en 0.6mm, la flexión fetal puede disminuir la medida en 0.4mm y la presencia del cordón umbilical bordeando el cuello fetal puede incrementar la medición hasta 0.8 mm.^{7,8}

Cuando la TN se asocia a marcadores séricos maternos como la fracción beta de la gonadotropina coriónica (beta-HCG) y la proteína A específica asociada al embarazo (PAPP-A), se produce una detección del 90% y con una tasa de 5 % de falsos positivos.⁹

TRANSLUCENCIA NUCAL AUMENTADA Y CARIOTIPO NORMAL

Cuando se encuentra la TN aumentada y el cariotipo es normal se aumenta la incidencia de aborto, de muerte fetal y la posibilidad de encontrar otros defectos estructurales mayores en el 7.3% de los casos. Entre los defectos conocidos asociados al aumento de la TN están: defecto cardíaco mayor, la hernia diafragmática, el onfalocele, la megavejiga y las displasias esqueléticas y ciertos síndromes genéticos como la hiperplasia adrenal.

AUSENCIA DE HUESO NASAL

A las 11 a 13 + 6 semanas el perfil fetal puede ser correctamente examinado en el 95 % de los casos. La incidencia de ausencia de hueso nasal para fetos anormales fue de 70% para trisomía 21 y de 55 para trisomía 18. En fetos cromosómicamente normales no se encontró hueso nasal en 1% de las caucásicas y en 10% de población afro-caribeña.¹⁰ La RV para T-21 ajustando estos factores de confusión fue de 26 para las caucásicas y de 7 para las Afro-caribeñas y de 17 para CRLs de 45-54mm y de 51 para CRLs de 75-84mm.

La valoración del hueso nasal también tiene que cumplir unos requisitos básicos para que tenga validez como marcador. La edad gestacional para la medición es de la 11 a la 13 + 6 semanas, obtener un corte del perfil fetal con magnificación de la cabeza y del tórax únicamente. El ángulo de insonación debe entrar paralelo al eje longitudinal del hueso nasal y observar las tres líneas correspondientes a la piel de la nariz, la punta de la nariz y el hueso nasal que corresponde a la línea más interna. Para una apropiada valoración se requiere de entrenamiento y certificación.

El rendimiento de la combinación de TN aumentada, los marcadores bioquímicos de beta-HCG y PAPP-A y la ausencia del hueso nasal a las 11 a 14 semanas con una detección del 97% para T-21 y con unos falsos positivos de 5% o con detección de 91 % con una tasa de falsos positivos del 0.5%.¹¹

MARCADORES BIOQUÍMICOS

En el primer trimestre la beta-HCG y PAPP-A son los mejores marcadores séricos para la detección de cromosomopatías. En la T-21, la beta-HCG se encuentra elevada y la PAPP-A disminuida. La combinación de edad materna, aumento de la TN y los marcadores bioquímicos, con una tasa de detección del 90% y con falsos positivos del 5%.⁹ En las T-13 y T-18 ambos marcadores bioquímicos se encuentran disminuidos.¹²

DETERMINACIÓN DEL RIESGO EN EMBARAZO MÚLTIPLE

Se debe estimar si uno o ambos fetos se encuentran afectados dependiendo de la corionicidad.

En los embarazos monocoriales ambos fetos podrían estar afectados. El cálculo de riesgo de que ambos estén enfermos se hace de ma-



nera similar a como se hace el cálculo para un embarazo único. El signo T identifica al 100% de los embarazos monocoriales. En fetos monocoriales el aumento del grosor de la TN puede aumentar los falsos positivos para T-21 porque el aumento de la TN es un signo temprano de síndrome de transfusión gemelo a gemelo.

Para un embarazo dicoriónico el riesgo de un DC es el doble del que se calcula para un feto único. El signo lambda identifica el 100% de los embarazos dicorionicos. El asesoramiento del riesgo se hace según la medición de la TN de cada feto y el cálculo se hace de manera individual para cada feto.

CARACTERÍSTICAS ECOGRÁFICAS DE LAS ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS EN EL SEGUNDO TRIMESTRE

Cada anomalía cromosómica tiene un patrón sindromático propio con unas características que ya están más o menos establecidas por ultrasonido. A medida que aumenta el número de defectos se puede encontrar una mayor asociación con un DC. Si se encuentra un defecto único la posibilidad de que exista una cromosomopatía es del 2%, con 2 del 11%, con 3 del 32%, con 6 del 63% y mayor de 8 del 92%.¹³

Los marcadores del segundo trimestre son: el pliegue nucal, el intestino hiperecogénico, el húmero corto, el fémur corto, la dilatación de la pelvis renal, el foco cardiaco ecogénico, la ausencia de hueso nasal y la presencia de una anomalía mayor.

La ausencia de hueso nasal, el pliegue nucal aumentado y un defecto mayor, se consideran marcadores mayores. La presencia de cualquiera de los marcadores mayores lleva a considerar la realización de exámenes confirmatorios. Los otros marcadores se consideran marcadores suaves.

La ecografía morfológica o también conocida como genética o de tercer nivel se realiza entre las 18 y las 22 semanas de embarazo. En esta se debe hacer una evaluación en forma sistemática y detallada del feto, la placenta y el líquido amniótico. La valoración detallada permite identificar fetos con defectos estructurales o con riesgo de cromosopatía por la presencia de algún marcador.

PLIEGUE NUCAL

El pliegue nuchal fue descrito por Benacerraf en 1.985.¹⁴ Para su valoración se obtiene una visualización de la cabeza fetal en posición suboccipito-bregmática o dicho de otra manera en una vista transversa de la cabeza con angulación posterior, donde se incluyen el cerebelo, la cisterna magna, el hueso occipital y la piel. La medida del pliegue va del borde posterior del hueso occipital al borde de la piel. La medición se considera normal cuando el valor obtenido es menor de 5mm. Se considera que el pliegue nuchal está aumentado si es ³ de 6mm. El pliegue nuchal aumentado se encuentra en el 40- 50% de los fetos con T 21 y con una tasa de falsos positivos de 0.1%.^{14,15} La RV para el aumento del pliegue nuchal es de 11.

AUSENCIA DE HUESO NASAL

La ausencia de hueso nasal en el ultrasonido genético resultó con una sensibilidad de 90% para la detección de síndrome de Down.¹⁶ La alta sensibilidad para la detección y el bajo número de falsos positivos lo convierte en uno de los marcadores más significantes para la detección de Down. La RV para la ausencia de hueso nasal es de 15 para una edad gestacional de 18 a 22 semanas.

HÚMERO CORTO

El húmero corto es más predictivo como marcador que el fémur



corto. Se denomina húmero corto aquel que se encuentra por debajo del percentil 5. También se puede estimar mediante la utilización de un modelo de regresión que calcula el húmero observado en relación al diámetro biparietal (DBP) fetal.

La ecuación se utiliza cuando la medición obtenida del húmero se encuentra por debajo de lo esperado para la edad gestacional, donde la fórmula para el húmero esperado sería: $= -7.9404 + 0.8492 \times \text{DBP}$.

Luego se realiza la proporción: húmero observado / húmero esperado y si el resultado obtenido es $<$ de 0.90 se considera corto al húmero.

Cuando se encuentra húmero corto se identifican un 50% de los fetos con T-21 y con una tasa de falsos positivos del 6.25 %. Si se encuentra el pliegue nucal aumentado y el húmero corto se considera que se pueden identificar el 75% de los fetos con Down¹⁷. La RV para el húmero corto es de 4.1.

FÉMUR CORTO

El fémur corto al igual que para el húmero corto, sería anormal si está por debajo del percentil 5 o aplicando la regresión o fórmula: fémur esperado $= -9.645 + 0.9338 \times \text{DBP}$. Se considera fémur corto cuando la relación fémur observado / fémur esperado da un valor \leq 0.91. Este hallazgo identifica únicamente el 40% de los fetos con T-21 y falsos positivos del 5 %¹⁸, pero si existen fémur corto y pliegue nucal $>$ de 6 mm, la detección se aumenta al 75% y con un 2 % de falsos positivos¹⁹. La RV para el fémur corto es de 1.6.

PIELECTASIA

La pielectasia o dilatación de la pelvis renal medida en sentido anteroposterior, se considera aumentada cuando la pelvis renal bilate-

ral es mayor de 4mm entre las 16 a las 20 semanas y con un valor de 5mm entre las 20 y las 30 semanas. Solo en el 17 % de los fetos con Down se encuentra este hallazgo. La RV es de 1.1. Sólo se recomienda amniocentesis si este marcador se encuentra asociado a otro marcador.

INTESTINO HIPERECOGÉNICO

Se denomina así a la observación de zonas con una ecogenicidad aumentada en el abdomen fetal. La ecogenicidad debe ser semejante a la ecogenicidad producida por el hueso. Usualmente este hallazgo no tiene significado patológico y puede verse cuando se ha producido sangrado en la cavidad amniótica. Este hallazgo también se ha encontrado asociado a la fibrosis quística y a los defectos cromosómicos. La RV para este marcador cuando aparece como hallazgo único es de 7.

FOCO CARDIACO ECOGÉNICO

Cuando se observan microcalcificaciones del músculo papilar en uno o en ambos ventrículos. La RV es de 1.1.

DEFECTO ESTRUCTURAL FETAL O DEFECTO MAYOR

La presencia de un defecto mayor se asocia con una probabilidad mayor de un DC. Entre ellos están: la holoprosencefalia, la hidrocefalia, defecto de la línea media de la cara, higroma quístico, cardiopatía, atresia duodenal, onfalocele y talipes. Nyberg detectó un 33% de defectos mayores en fetos con síndrome de Down²⁰. La RV para un defecto mayor es de 5.2. También existen defectos mayores que comprometen de manera importante el pronóstico fetal pero que no se asocian con cromosomopatías, como: gastrosquisis, defecto del tubo neural, síndrome de regresión caudal, etc.



RIESGO ESPECÍFICO BASADO EN LOS HALLAZGOS ECOGRÁFICOS

El riesgo para cada mujer embarazada de tener un DC se calcula según tablas publicadas para la edad materna y la edad gestacional.

La estimación individualizada del riesgo se calcula teniendo en cuenta el riesgo a priori, los resultados del primer trimestre, cuando existen, y la ecografía genética para decidir recomendar exámenes complementarios según el dato del cálculo final.

Si no se encuentra ningún marcador al realizar el ultrasonido de la semana 11 -14 o un ultrasonido genético, la RV es de 0.4. El cálculo se ajusta al multiplicar el riesgo inicial por la RV, lo cual produce una disminución en el cálculo de riesgo inicial.

Si al realizar el ultrasonido se encuentra un solo marcador, se multiplica el riesgo inicial calculado por el valor de la RV del marcador encontrado. El resultado obtenido es el nuevo riesgo individualizado para DC para la paciente.

Si se encuentra un marcador mayor siempre se necesitan pruebas complementarias, se multiplica el riesgo inicial por la RV del marcador, lo cual dará un resultado final que lleva a considerar otras pruebas.

Si se encuentran varios marcadores, se calcula el riesgo inicial y luego se multiplica por la RV de los marcadores positivos y por la RV de los marcadores negativos. Se obtiene el cálculo del riesgo final y si el riesgo calculado es mayor de 1 en 275 se considera aumentado y se recomiendan las pruebas diagnósticas.

Un valor definitivo que se considera mandatorio para realizar pruebas diagnósticas es el valor del cálculo del riesgo mayor de 1 en 100. El riesgo de 1 en 100 a 1 en 275 se considera un riesgo medio. De todas maneras según el resultado final del cálculo nuevo es que se hace la recomendación a los padres para hacer otros exámenes complementarios.

rios invasivos como la amniocentesis para cariotipo que se realiza después de la semana 15.

Si al realizar el ultrasonido genético se encuentra un marcador menor y no se observan anomalías mayores no es necesario recomendar amniocentesis si ya han tenido tamización del primer trimestre.

Usando el criterio de marcador único obtenido por ultrasonido del segundo trimestre para ofrecer pruebas confirmatorias, se llega a un adicional e inaceptable aumento del 13 % de falsos positivos. Usando la RV de los marcadores suaves del ultrasonido del segundo trimestre se produce un incremento razonable adicional al riesgo calculado en el primer trimestre de 1.2 % de falsos positivos.

La decisión final de realizar el procedimiento invasivo la toman los padres con base al asesoramiento del riesgo.

En los casos con aumento de TN y con resultado de cariotipo normal, se debe recomendar ecocardiografía después de la semana 18 y un estudio fetal detallado de la anatomía fetal.

CARACTERÍSTICAS PARA CADA SÍNDROME

TRISOMIA 21

Algunos de los hallazgos de T21 son: ventriculomegalia leve evaluada a nivel del atrio cerebral de 10 a 15mm, edema nucal³ de 6mm, defecto septal atrio-ventricular, foco cardiaco ecogénico, atresia duodenal, intestino ecogénico, hidronefrosis leve, acortamiento leve de extremidades de tipo rizomélico, es decir leve acortamiento del fémur y del húmero, hipoplasia del hueso nasal o ausencia del hueso nasal, clinodactilia y dedo en sandalia o separación del primer y segundo dedo del pie.



TRISOMIA 18

Se presentan algunos de los siguientes hallazgos: quiste del plejo coroideo, ausencia del cuerpo caloso, complejo de Dandy Walker, cara hendida, micrognatia, pliegue nucal, defecto cardíaco, hernia diafragmática, atresia del esófago, onfalocele, hernia umbilical, defecto renal, restricción del crecimiento intrauterino, dedos traslapados y talipes.

TRISOMIA 13

Holoprosencefalia, anomalías de la cara, microcefalia, anomalías cardíacas, anomalía renal, onfalocele y polidactilia post-axial.

SÍNDROME DE TURNER

La tipo letal: caracterizada por la presencia de un gran higroma quístico, edema generalizado, efusión pleural, ascitis, anomalía cardíaca.

La tipo no letal: usualmente no presenta alteraciones al ultrasonido.

La pérdida del cromosoma X que ocurre en estos casos es por la pérdida del cromosoma paterno, es decir el problema en estos casos no tiene relación con la edad materna.

ANORMALIDADES DE LOS CROMOSOMAS SEXUALES

Son el síndrome de Turner o XO, 47XXX, 47XXY, 47YY. No asociada al aumento de la edad materna ni tampoco asociada a la presencia de defectos detectables por ultrasonido.

TRIPLOIDÍAS

Se presenta restricción del crecimiento intrauterino muy precoz y generalmente malformaciones mayores.

CONCLUSIONES

En el momento actual la tamización para aneuploidías tiene una amplia aceptación y representa un avance de la investigación de los últimos años porque ha significado pasar de una detección del 30 % hasta un 90-95% según los métodos utilizados, usando algunas de las combinaciones de marcadores aceptadas y según se encuentren disponibles para cada región, es decir la combinación de marcadores ecográficos y bioquímicos del primero y del segundo trimestre según la disponibilidad del método bioquímico o del entrenamiento para la valoración de los marcadores ecográficos.

Además la tamización se considera efectiva no solo por el aumento de la detección, sino también por ser efectiva en cuanto a que ha disminuido el número de pruebas invasivas a realizar según el cálculo de riesgo individualizado para cada paciente y con esto se ha logrado disminuir las pérdidas fetales originadas por los riesgos derivados de los procedimientos.

La tamización se puede realizar en pacientes jóvenes y se puede realizar tempranamente, finalizando el primer trimestre, lo cual permite tomar decisiones rápidas, antes de que las legislaciones existentes en los diferentes países del mundo diferencien entre aborto o gestación más avanzada, dando lugar a la aceptación de la finalización de la gestación en el caso de realizar un diagnóstico de aneuploidía.

BIBLIOGRAFÍA

1. Shuttleworth GE, Mongolian imbecility. Br Med J . 1.909; 2:661- 665.
2. ACOG Committee Opinion: Committee on obstetric Practice.



- Down syndrome screening. *Int J Gynaecol Obstet.* 1.994 ; 186- 190.
3. Halliday JL, Watson LF, Lumley J et al. New estimates of Down syndrome risks at corionic villus sampling, amniocentesis and live-birth in women of advanced maternal age from a uniquely defined population. *Prenat Diagn.* 1.995; 15: 455- 465.
 4. Morris JK, Wald Nj, Watt HC. Fetal loss in Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn.* 1.999; 19: 142- 145.
 5. Snijders RJ, Sebire NJ, Cuckle H, et al. Maternal age and gestational age- specific risks for chromosomal defects. *Fetal Diag Ther.* 1.995; 10: 356- 367.
 6. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, et al. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 - 14 weeweeks of gestation. *Lancet.* 1.998; 351: 343- 346
 7. Whitlow BJ, Chatzipapas IK, Economides DL. The effect of fetal neck position on nuchal translucency measurements. *Br J Obstet Gynaecol.* 1.998; 105: 872- 876.
 8. Schaefer M, Laurichesse-Delmas H, Ville Y. The effect of nuchal cord on nuchal translucency measurement at 10- 14 weeks. *Ultrasound Obstet Gynaecol.* 1.998 ; 11:271-273.
 9. Spencer K, Souter V, Tul N, et al. A screening program for trisomy 21 at 10- 14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free B-human chorionic gonadotrophin and pregnancy-associated plasma protein A. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1.999; 13:231-237.
 10. Cicero S, Rembouskos G, Vandecruys H, et al. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with absent nasal bone at the 11 - 14 weeks scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2.004
 11. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, et al. Integrated ultrasound and bioquimical screening for trisomy 21 at 11 to 14 weeks. *Prenat Diagn.* 2.003; 23: 306-310.

12. Tul N, Spencer K, Noble P, et al. Screening for trisomy 18 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta hCG and PAPP-A at 10 -14 weeks of gestation. *Prenat Diagn.* 1999; 19:1.035-1.042.
13. Nicolaides KH, Snijders RJ, Gosden RJ, Berry C, Campbell S. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet* 1.992; 340: 704-707.
14. Benacerraf BR, Frigoletto Jr.FD., Laboda LA. Sonographic diagnosis of Down syndrome in the second trimester. *Am J Obstet Gynecol.* 1985; 151: 1.078- 1.079.
15. Benacerraf BR, Frigoletto Jr FD, Cramer DW. Down syndrome: sonographic sign dor diagnosis in the second trimester fetus. *Radiology.* 1.987; 163: 811-813.
16. Vintzileos A, Walters C, Yeo L. Absent nasal bone in the prenatal detection of fetuses with trisomy 21 in a high risk population. *Obstet Gynecol.* 2.003; 101: 905-908.
17. Benacerraf BR, Neuberger D, Frigoletto Jr.FD. Humeral shortening in second trimester fetuses with Down syndrome. *Obstet Gynecol.* 1.991;77:223-227.
18. Benacerraf BR, Cnaan A, Gelman R, et al. Can sonographers reliably identify anatomy fetures associated with Down syndrome?. *Radiology.* 1.989; 173: 377-380.
19. Benacerraf BR, gelman R, Frigoletto Jr.Fd. Sonographic identification of second trimester fetuses with Down syndrome. *N Engl J Med.* 1.987 ; 317 : 1.371-1.376.
20. Nyberg DA, Resta RG, Luthy Da et al. Prenatal sonographic finding of Down sy: review of 94 cases. *Obstet Gynecol.* 1.990; 76:370-377.