

SCREENING EN EL PRIMER TRIMESTRE DE LA GESTACIÓN

VICTOR DEZEREGA P.

UNIDAD DE MEDICINA MATERNO FETAL.

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA.

CLÍNICA LAS CONDES.

DIPLOMA IN FETAL MEDICINE.

FETAL MEDICINE FOUNDATION. KINGS COLLEGE HOSPITAL.

LONDRES. REINO UNIDO.

pdirect1@hotmail.com

WALDO SEPÚLVEDA L.

UNIDAD DE MEDICINA MATERNO FETAL.

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA.

CLÍNICA LAS CONDES.

CARLOS SCHNAPP S.

UNIDAD DE MEDICINA MATERNO FETAL.

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA.

CLÍNICA LAS CONDES.

RESUMEN

El primer trimestre del embarazo nos ofrece el mejor momento para someter a la población embarazada general a pruebas de tamizaje para aneuploidías, síndrome hipertensivo del embarazo y restricción de crecimiento intrauterino.

La mezcla ente anamnesis obstétrica, ultrasonido entre 11-13+6 semanas (medición de la translucencia nucal, presencia del hueso nasal y ángulo facial y medición Doppler de ductus venoso, regurgitación tricuspídea e índices de pulsatilidad en las arterias uterinas más otros marcadores) y su combinación con la medición de marcadores bioquímicos plasmáticos maternos (PAPP-A, hCG-B libre, y otros). Ofrecen una sensibilidad incomparable para la pesquisa de pacientes en riesgo mayor de anomalías cromosómicas en sus fetos, síndromes hipertensivos del embarazo severos y restricción del crecimiento intrauterino de presentación precoz y de mayor severidad.

SUMMARY

Screening for chromosomal abnormalities, pre-eclampsia and intrauterine growth restriction in general population is best on the first trimester of pregnancy.

An integrated examination including maternal history, ultrasound between 11-13+6 weeks of pregnancy (nuchal

translucency measurement, assesment of nasal bone presence, facial angle and Doppler examination of ductus venosus, tricuspid regurgitation and pulsatility index of uterine arteries plus other markers) combined with the measurement of biochemical substances in maternal plasma (PAPP-A, free hCG-B, and others) have the best sensibility to identify patients at high risk of having fetuses with chromosomal abnormalities and having early severe onset of preeclampsia and intrauterine growth restriction.

Key words: First trimester, screening, chromosomal abnormalities, preeclampsia, intrauterine growth restriction.

INTRODUCCIÓN

La actual mortalidad perinatal en Chile (9 por 1.000 nacidos vivos) es muy semejante a países desarrollados (1) y refleja un avance notable en las políticas de prevención y tratamiento de las diversas patologías materno-fetales en las últimas décadas en Chile.

La dificultad para disminuir aún más dichas tasas se debe a que patologías materno-fetales que afectan dicho marcador no han podido ser prevenidas ni tratadas en forma eficaz. Dentro de ellas destacan las malformaciones congénitas, las aneuploidías fetales, el parto prematu-

ro (PP), los trastornos hipertensivos del embarazo (SHE) y el retardo de crecimiento intrauterino (RCIU) (2).

En el caso de las malformaciones congénitas, la gran mayoría de éstas no son prevenibles ya que constituyen accidentes en la organogénesis embrionaria y por lo tanto su prevalencia se mantendrá sin cambios significativos. Sin embargo algunas sí son prevenibles como es el caso de los defectos del tubo neural que, con la política de suplementación de ácido fólico en la harina de trigo, se logró una importante disminución en su prevalencia (3).

Una proporción relevante de las malformaciones congénitas se asocia a alteraciones cromosómicas fetales (ej. trisomía 21). Cambios sociológicos han aumentado la incidencia de estas alteraciones ya que existe una tendencia, en sociedades con mayores niveles de desarrollo, a reducir sus tasas de natalidad y propender a postergar el inicio de la maternidad hacia etapas más tardías de la vida de la mujer (4).

El parto prematuro, los síndromes hipertensivos del embarazo y la restricción del crecimiento intrauterino han presentado una prevalencia estable en los últimos años. A pesar de grandes avances en la comprensión de su fisiopatología, no se ha podido avanzar mucho en su prevención y tratamiento.

Una manera inteligente de abordar esta realidad y tratar de disminuir la morbimortalidad de dichas patologías en forma eficiente es someter a la población gestante general a diferentes exámenes o "tests" lo más precoz posible y así poder identificar a aquellas madres que presenten una elevada probabilidad de presentar dichas patologías. A estas pacientes las denominaremos "de alto riesgo" y serán monitorizadas en forma exhaustiva para poder diagnosticarlas y tratarlas lo más precozmente posible y derivarlas si es necesario a centros de mayor complejidad. Así se logra un manejo óptimo de cada cuadro y puede reducirse la morbimortalidad perinatal asociada a ellos.

CONCEPTO DE SCREENING

La necesidad de detectar dentro de una población general aquel grupo que presenta mayores posibilidades de presentar una condición es lo que conocemos como tamizaje, cribado o "screening".

En el caso de las anomalías cromosómicas, el examen de screening será una mezcla de datos anamnésticos (incluyendo la edad), un examen ultrasonográfico y marcadores bioquímicos. El examen diagnóstico será la obtención de una muestra de células placentarias o fetales a través de un procedimiento invasivo (biopsia corial, amniocentesis, cordocentesis). Este examen tiene un riesgo implícito de pérdida reproductiva de un 0.5 a 1%, y tiene un costo monetario importante. En consecuencia está justificado ser ofrecido idealmente sólo a pacientes en mayor riesgo de estar afectadas para que sean atendidas en centros de referencia en condiciones de ofrecer la cadena completa de servicios requeridos.

En el caso de parto prematuro, síndrome hipertensivo del embarazo y RCIU, el examen de screening será también una mezcla de datos anam-

nésticos, ultrasonido y marcadores bioquímicos. El examen diagnóstico será clínico en el caso de PP, de laboratorio (presión arterial, proteinuria, etc) en el SHE y ultrasonográfico en el caso de RCIU.

El screening prenatal, en consecuencia, es el método para focalizar la oferta de diagnóstico a una población de mayor riesgo de incidencia de problemas. En el caso del primer trimestre del embarazo, es posible hacer screening de aneuploidías, SHE y RCIU.

El ideal de un programa de tamizaje es su amplia disponibilidad y que cumpla con determinados requisitos básicos como: accesibilidad, confiabilidad, reproducibilidad y rapidez de sus resultados.

SCREENING DE ANEUPLOIDÍAS EN EL PRIMER TRIMESTRE DE LA GESTACIÓN

Introducción

Los primeros contribuyentes a incrementar los niveles de pesquisa de aneuploidías fueron niveles hormonales en sangre materna, siendo, en diferentes combinaciones, aún la metodología más empleada en países como Estados Unidos, Canadá y el Reino Unido, dada su cobertura por los respectivos sistemas de salud.

El aporte de marcadores ecográficos en segundo trimestre fue reportado por Benacerraf y Bromley entre otros autores a partir de 1994 (5, 6).

Es así como pliegue nucal, fémur y húmero cortos, hidronefrosis, foco cardíaco ecogénico, intestino ecogénico y malformaciones mayores se asocian a alteraciones cromosómicas. Entre otros Nyberg y cols. (7) proponen el uso integrado de estos marcadores como forma de incrementar su rendimiento.

En los últimos 15 años un extenso volumen de investigación ha desplazado el enfoque hacia el primer trimestre.

El advenimiento de la medición del grosor de la translucencia nucal (TN) ha sido un gran aporte para la pesquisa temprana de anomalías cromosómicas (8, 9, 10). Adicionalmente, niveles altos de TN se asocian a otro tipo de anomalías del feto (11, 12, 13).

Como veremos más adelante, otros marcadores ecográficos (ME) han contribuido a mejorar la eficiencia del método.

La medición de marcadores bioquímicos (MB) en el primer trimestre como la fracción libre de la subunidad β de la gonadotropina coriónica humana (FB-hCG) y la proteína plasmática A asociada a embarazo (PAPP-A), demostradamente independientes de los ecográficos, han permitido combinarlos a estos, llevando los índices de detección de trisomía 21 a cifras superiores a 90% (14, 15, 16).

Un futuro muy atractivo se avizora tras la experiencia reportada por Dhallan y cols. recientemente, así como otros investigadores en años anteriores, estableciendo la posibilidad de obtener DNA fetal de sangre materna (17, 18). Dicha técnica implica la opción ideal de realizar diagnóstico prenatal en forma no invasiva. Variables como la reproducibilidad del método y el alto costo asociado, probablemente postergarán por un buen tiempo su uso universal.

CÁLCULO DE RIESGO DE ANEUPLOIDÍAS

1. Cálculo del riesgo basal

Todo embarazo está expuesto a sufrir complicaciones. Sin embargo, existen ciertos datos anamnésticos que modifican la posibilidad de presentar problemas específicos que en el caso de aneuploidías son los siguientes:

a) Edad Materna: Mientras mayor es la edad de la madre, mayor es el riesgo de trisomías. Sin embargo en el caso de monosomías (Síndrome de Turner XO) y triploidías la edad no juega un rol significativo.

b) Edad gestacional al momento de la prueba de tamizaje: El proceso total de falla reproductiva alcanza el 60% de todos los embarazos (19). La mayoría de las pérdidas ocurren tempranamente y después de las 13 semanas no más del 1-2% de los embarazos podrían perderse (20) y gran parte de las pérdidas reproductivas iniciales son de origen genético. Es así como mientras más precoz en el embarazo se realice la prueba de tamizaje, las anomalías cromosómicas serán más frecuentes. Por ello, para calcular el riesgo basal de una madre será fundamental consignar la edad gestacional en que el test de cribado fue realizado.

c) Antecedente de embarazo previo afectado por una trisomía: A pesar de que la mayoría de las aneuploidías son producto de un accidente en la formación del nuevo ser y por ende no tendería a recurrir, una pequeña proporción de casos la alteración cromosómica es resultado de padres con alteraciones genéticas transmisibles. En estos casos la probabilidad de recurrencia es mayor. Como no es posible identificar a este pequeño subgrupo dentro de la población general, en términos estadísticos, el antecedente de una trisomía específica aumenta el riesgo basal para esa misma trisomía en el embarazo subsiguiente. Este aumento fue cuantificado en 0.75%.



d) Raza: Diversos estudios demuestran que existe cierta variación en la sensibilidad de los métodos de screening según la raza de la paciente. En el caso de la translucencia nucal, la raza negra tiende a tener una menor medición de la TN comparada con las razas asiática y caucásica (21). En el caso del hueso nasal, la visualización ultrasonográfica del hueso nasal entre las 11-14 semanas es más frecuente (en orden decreciente) en la raza caucásica, asiática y negra respectivamente (22-24). Con respecto al análisis bioquímico de primer trimestre: La PAPP-A y hCG-B libre están más elevadas en población negra y asiática que en población caucásica (21).

2. Marcadores ultrasonográficos

a) Translucencia Nucal (TN):

La translucencia nucal es el máximo grosor de la zona anecogénica subcutánea ubicada entre la piel y las partes blandas que recubren la espina cervical del feto entre 11 y 14 semanas de gestación (8). La técnica de medición de este espacio fue estandarizada por la Fundación de Medicina Fetal, Londres, Reino Unido (FMF) y es auditada anualmente por dicha entidad (Figura 1a):

Valores normales: A medida que aumenta la edad gestacional, se incrementa la translucencia nucal. Existe una distribución normal de la translucencia nucal. De acuerdo a la guías de la FMF la TN se considera aumentada si sus valores son:

- 1) 2.3 mm o más en fetos con LCN entre 45 y 55mm
- 2) 2.5 mm o más en fetos con LCN entre 56 y 67mm
- 3) 2.8 mm o más en fetos con LCN entre 68 y 84mm

Diversos estudios utilizando diferentes cortes en TN con diferentes porcentajes de falsos positivos (PFP) han sido publicados en la literatura (22-29). De ellos se puede concluir:

- 1) En fetos con aneuploidías, principalmente trisomía 21, 18, 13 y síndrome de Turner, es más frecuente encontrar una translucencia nucal aumentada por sobre el percentil 95 respecto de fetos sanos (Figura 1b).



- 2) Mientras mayor es la translucencia nucal por sobre el límite considerado normal, mayor es el riesgo de aneuploidías.
- 3) Mientras menor es la TN, menor es el riesgo de aneuploidías.
- 4) La sensibilidad del método de screening que utiliza Edad Materna y TN es de un 79% con un PFP del 5% para trisomía 21.

b) Hueso nasal (HN)

A pesar de ser descrito en 1866 por Langdon Down (30), la hipoplasia del hueso nasal en niños con trisomía 21 y su extrapolación al período prenatal recién fue estudiada a principios de esta década. El primer estudio observacional en 701 mujeres sometidas a diagnóstico prenatal invasivo entre las 11-14 semanas concluye que no se observaba el hueso nasal en el 73% de los fetos con síndrome de Down (Figura 1b), mientras que la ausencia de hueso nasal sólo se observó en un 0.5% de los fetos con kariograma normal (31). Tres años después, el mismo grupo de King's College (32) aumenta el universo estudiado a 5.851 casos y afina las características poblacionales. En ese estudio se concluye que en población caucásica un 68.8% de las trisomías 21 tienen HN ausente y sólo un 2.2% de los fetos con kariograma fetal normal tenían hueso nasal ausente. La razón de verosimilitud o likelihood ratio (LR) de trisomía 21 en caucásicos para HN ausente baja a 31 veces y la LR para HN presente es de 0.34. Se informa además que el cálculo de riesgo debe ser ajustado según raza ya que en el 5% de la población asiática y el 9% de la africana se observa HN ausente. El mismo estudio sugiere ajustar el cálculo de riesgo según LCN y translucencia nucal. Orlandi (33) mediante un estudio multicéntrico recluta 1.089 pacientes y concluye que el 67% de los fetos con T21 tenían HN ausente y sólo un 1% de los fetos normales tenían HN ausente. Su cálculo de LR para T21 fue de 66,6 veces para HN ausente y de 0,22 para HN presente. Este autor también observa variación interracial.

Si bien es cierto que la longitud del hueso nasal no es relevante entre 11-14 semanas y sólo su presencia o ausencia lo es (34), la medición de longitud del HN pasa a ser útil después de las 14 semanas. Diversos autores (35, 36) publican tablas de medición de HN y su relación con Síndrome de Down.

Kanellopoulos (37) y Senat (38) concluyen que la visualización del HN entre 11-14 semanas no involucra mayor tiempo de examen. La variabilidad intra e inter observador es pequeña pero requiere de personal entrenado. Su aplicación universal requiere de entrenamiento y control de calidad.

Cicero et al. (39) concluye que se requiere de al menos 80 exámenes supervisados por personal entrenado para ser competente en la valoración del hueso nasal.

Al igual que la translucencia nucal, la FMF dictó directrices para la correcta observación del hueso nasal (Figura 1a).

La evaluación del hueso nasal ha demostrado ser un marcador independiente de la edad materna, la translucencia nucal y los niveles bioquímicos de PAPP-A y hCG-B libre. Por ello puede aplicarse en conjunto con estas pruebas de cribado. Al sumar todas ellas en conjunto, la sensibilidad para la detección de trisomía 21 aumenta a un 97% (con PFP del 5%) (40). Asimismo, la aplicación de la presencia-ausencia

del hueso nasal mantuvo la sensibilidad de un 90% (en conjunto con bioquímica de primer trimestre y translucencia nucal) pero con un PFP de un 2.5% (41).

c) Regurgitación Tricuspidéa

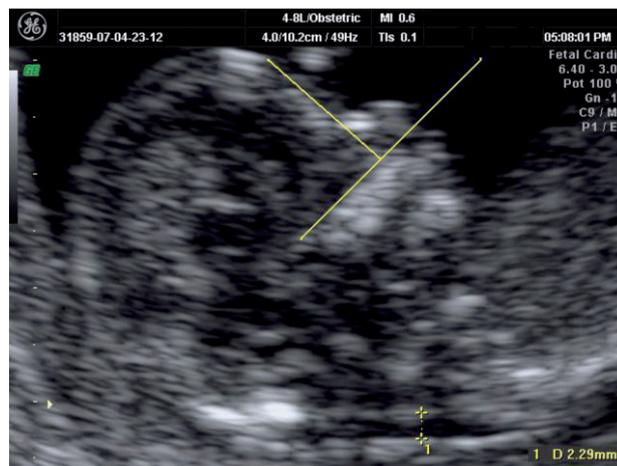
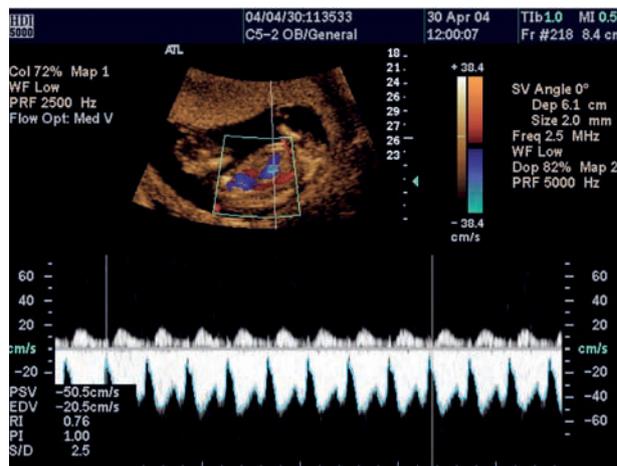
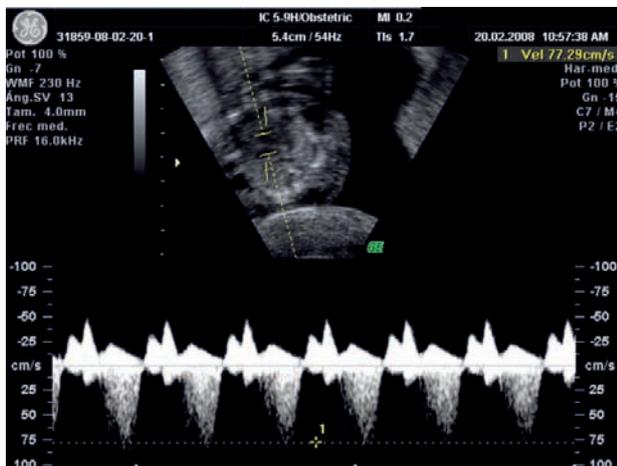
El conocimiento de que la TN aumentada se asocia con cardiopatías mayores (42) ha derivado en la realización de ecocardiografías precoces, lo cual es posible en el mismo período de 11 a 13+6 semanas (43). Los ecocardiografistas evidenciaron que, incluso en ausencia de otras anomalías cardíacas, la presencia de regurgitación tricuspídea (RT), se asocia a mayor prevalencia de defectos cromosómicos. Huggon, utilizando el doppler pulsado, describió la presencia de RT en 59.4% de fetos con trisomía 21 respecto de 8.8% de fetos euploides (44). Faiola comunica que en fetos con translucencia nucal aumentada la presencia de RT estaba presente en 8.5% de los casos normales, en 65% de los fetos con trisomía 21 y en el 50% de los con trisomía 13 ó 18. Concluye que RT confiere un likelihood ratio (LR) de 11,97 (95% IC, 7,95-18,01) de aneuploidía. La presencia de RT disminuye a mayor edad gestacional, aumenta a mayor translucencia nucal y ante la presencia de defectos cardíacos. La prevalencia de RT fue de 46.9% en los fetos con defectos cardíacos respecto de sólo 5,6% en aquellos sin cardiopatía. La LR positiva y negativa para defectos cardíacos fue 8.4 y 0.56, respectivamente. La RT ayuda a la detección de defectos cardíacos por sí misma (aumenta el riesgo de cardiopatías) y porque obliga a lograr una visión de cuatro cámaras (45). Los niveles de los marcadores bioquímicos de primer trimestre, son en fetos normales y aquellos con T21, independientes de la presencia de RT. Es por esto que la RT ayuda a alcanzar tasas de detección de un 95% con 5% de porcentaje de falsos positivos (PFP) o de 90% con 2% de PFP (46).

La presencia o ausencia de RT puede ser usada para modificar el riesgo de aneuploidías, dependiente de TN, de defectos cromosómicos y cardíacos.

La FMF ha establecido los criterios diagnósticos para definir la presencia de regurgitación tricuspídea: (47) (Figura 2).

d) Ductus Venoso

Es un vaso único, que a las 11-14 semanas mide no más de 2 a 3 mm, cuya función consiste en derivar sangre bien oxigenada, en forma preferencial, desde la vena umbilical hacia la circulación cerebral y cardíaca. Su onda de flujo tiene tres porciones: sístole ventricular (S), diástole ventricular (D) y sístole auricular (a). A partir del segundo trimestre se considera que la onda "a" ausente o reversa es una manifestación de falla cardíaca, arritmias severas, síndrome de transfusión feto-fetal y restricción de crecimiento intrauterino (Figura 3). A las 11-13+6 semanas el flujo anormal, onda "a" ausente o reversa, en el ductus venoso se ha asociado a aneuploidías, cardiopatías y muerte intrauterina inesperada (47-51). Estudios de la FMF con más de 5.000 pacientes, incluyendo 280 fetos con T21, han reportado que en cerca del 80% de los fetos con T21 hay un flujo anormal en el ductus venoso, lo cual está presente sólo en el 5% de fetos con cromosomas normales (10). En el estudio de Bilardo (51) se describe que la onda "a" reversa estaba presente en el 65% de los fetos cromosómicamente anormales



e) Ángulo facial

La ultrasonografía 3-D no podía estar ausente dentro de los métodos de estudio entre las 11 y 13+6 semanas. Después de obtener un volumen de la cabeza fetal, se usa el modo multiplanar para obtener una secuencia de imágenes transversas. Se puede trazar una línea sobre la superficie superior de la maxila y otra desde el hueso frontal que llega al extremo anterior de la maxila, de esta forma se obtiene el ángulo facial. En fetos con T21 este ángulo es significativamente mayor respecto de fetos cromosómicamente normales (88.7° vs 78.1°). Si se establece el punto de corte en los 85° , se podría detectar al 70% de los casos de T21 con 5% de PFP, pero si se eligen los 90° , se pesquiza al 40% de las T21 con un 0% de PFP. Se piensa que el mayor ángulo en fetos Down se debería a una hipoplasia del maxilar (54, 55).

Este es un estudio preliminar que debe aguardar confirmación en series mayores. Por utilizar la ultrasonografía 3-D es poco probable que sea utilizado en el corto plazo como método de screening en población general (Figura 4).

f) Otros marcadores ultrasonográficos de aneuploidias

Numerosos otros marcadores de aneuploidias han sido descritos en la literatura. Si bien es cierto que su potencia como screening es inferior a los antes mencionados, son sugerentes de aneuploidias y nos permiten sospechar diferentes diagnósticos diferenciales:

- 1) Frecuencia cardíaca: Taquicardia será más frecuente en trisomía 13 principalmente pero también es más común en trisomía 21 y Turner. Bradicardia es más frecuente en trisomía 18 y triploidías (56).
- 2) LCN: Fetos pequeños (RCIU temprano) son más frecuentes en triploidías principalmente pero también en trisomía 18. El resto de las aneuploidias presentan LCN normales (57)
- 3) TN: Muy aumentadas en síndrome de Turner, más aumentada en T18 y moderadamente aumentada en T12 y 13. triploidías normalmente cursan con TN normales.
- 4) Ductus venoso con onda a ausente o reversa (58) aumenta el riesgo de defectos cromosómicos así como el riesgo de cardiopatías.

Otros marcadores de trisomía 21:

Varios estudios observacionales han concluido que los fetos con trisomía 21 tienden a:

- 1) Tener el maxilar superior más corto (59).
- 2) Tener la longitud de la oreja más corta (60).
- 3) Tener braquicefalia (61, 62).
- 4) Tener húmero más corto (63).

3. Marcadores Bioquímicos

El primer reporte sobre marcadores de aneuploidías apareció a principios de los ochenta (64) y correspondió a niveles de alfa fetoproteína sérica (AFP), en el segundo trimestre de la gestación.

Dichos valores, a diferencia del claro aumento que se les conoce ante la presencia de un defecto de tubo neural abierto, en el caso de trisomía 21 tienden a estar bajo la mediana de la población gestante en etapas de embarazo equivalentes.

Otros marcadores independientes de AFP como estriol no conjugado (uE3) y la subunidad beta de la gonadotropina coriónica humana (β -hCG), total o fracción libre, fueron reportados pocos años más tarde (65, 67).

La combinación de los tres generó el concepto de Triple Test (66), y contribuyó asociado a la edad materna a índices de detección en niveles de 60-70%.

En líneas generales, AFP y uE3 tienden a ser un tercio más bajos (68) y β -hCG aproximadamente el doble, en casos de Síndrome de Down comparados con embarazos no afectados.

A partir de 1992, distintos autores reportan el aporte complementario de niveles elevados de la Inhibina - A total o dimérica incrementando en rangos de 6 a 11% adicionales el índice de detección (69-71).

Estudios recientes realizados primariamente en el Reino Unido (72) y Estados Unidos (73) combinando estos cuatro marcadores concuerdan en índices de detección de 81%, si se considera a un 5% de la población como screen positivo.

A pesar del alto nivel de aceptación y la relativa eficacia del método de segundo trimestre en los países donde la oferta de screening es rutinaria, el incremento en la cantidad y calidad de información al que las parejas expuestas a embarazo acceden, así como la necesidad de los médicos de responder a esta expectativa ha empujado a anticipar la pesquisa al primer trimestre.

Ello está respaldado por el acceso más precoz a diagnóstico prenatal que hoy ofrece la Biopsia de Vellosidades Coriales (CVS).

En los últimos años, diferentes metabolitos de secreción fetoplacentaria han sido descritos como potenciales marcadores en el primer trimestre (74-76).

De ellos, FBhCG y PAPP-A se han demostrado como los más útiles clínicamente, especialmente este último, con mayor precisión entre las 9 y 11 semanas (77-79).

Los valores de PAPP-A tienden a ser más bajos que la mediana de la población no afectada (80). Dicha diferencia tiende a extinguirse hacia el segundo trimestre (81).

Al igual que en el segundo trimestre los niveles de FBhCG en el primer trimestre, tienden a estar elevados en los casos de Trisomía 21, en niveles cer-

canos a 2 múltiplos de la mediana (MoM) para población euploide (82).

Es relevante destacar que los valoraciones basadas en la molécula completa (hCG) no presentan el mismo rendimiento que la fracción libre de ella (82).

Muy recientemente Malone y cols. (83), reportan niveles de detección comparables al método que combina marcadores ecográficos y bioquímicos remitiéndose a medir hormonas en forma secuencial en primer y segundo trimestre, con la ventaja de una significativa reducción en el índice de falsos positivos.

Se estima que la combinación de PAPP-A y FBhCG con la edad materna permite índices de detección para Síndrome de Down, de alrededor de 60% con un nivel de falsos positivos de 5%, lo que se aproxima bastante a lo reportado para el Triple Test en el segundo trimestre.

Los niveles de ambos marcadores en el primer trimestre en los casos de Trisomía 18 se caracterizan por ser ambos inferiores a la mediana para embarazos no afectados (84).

La correlación de estos marcadores con otras anomalías cromosómicas numéricas como los síndromes de Turner (XO) o Trisomía 13 y las triploidias no se ha demostrado estadísticamente.

Nuevos marcadores bioquímicos

Nuevos marcadores han sido reportados en la literatura reciente. Es el caso de ADAM-12, proteasa de algunas de las proteínas vinculantes al factor de crecimiento similar a insulina (IGFBP-3 y 5).

Este marcador incrementa su concentración en el suero materno sostenidamente hasta el término, siendo su origen más probable el sincitiotrofoblasto (85). Sus niveles en embarazadas portadoras de fetos con síndrome de Down, como lo reportan Laigaard y cols. (86) están significativamente reducidos en relación a embarazos normales (MoM 0.14, rango 0.01-0.76).

Un estudio reciente de los mismos autores (87) analiza su uso combinado entre 8 y 9 semanas con PAPP-A asociado a la medición de translucencia nual y FBhCG a las 12 semanas, lo que permitió un índice de detección de 89% con un porcentaje de falsos positivos de sólo 1% (97% con 5% falsos positivos). Lo relevante es que para la misma población estudiada la combinación de ADAM-12 y PAPP-A solos, presentó un índice de detección de 91% para un 5% de falsos positivos. La Proteína de Tejido Placentario 13 (PP-13) de reciente reporte, no es detectable en mujeres no embarazadas ni varones. Es medible en suero materno a través de inmunodetección con técnica ELISA, durante los tres trimestres de la gestación, incrementándose lentamente a lo largo de ella. En el primer trimestre niveles más bajos de lo normal han sido encontrados en Retraso de Crecimiento Intrauterino y Pre-eclampsia, particularmente la de inicio precoz (88).

Muy recientemente Christiansen y cols. (89) reportan niveles reducidos de lactógeno placentario humano (hPL) entre 9 y 13 semanas en casos de T21. En su estudio, al combinarlo con PAPP-A y FBhCG como marcador independiente se establecen potenciales índices de detección de un 76% para un 5% de PFP.

Experiencia en Clínica Las Condes

La medición de la translucencia nual en el primer trimestre en nues-

tra clínica fue introducido a finales de los años 90. La adquisición del software para calcular riesgos de aneuploidias se instaló el 2003. La reactualización del software que incluye hueso nasal, regurgitación tricuspídea y bioquímica del primer trimestre (hCG-B y PAPP-A) se activó a principios de 2006.

Se ha acumulado bastante experiencia desde entonces. Esta está plasmada en una publicación en mayo 2007 donde se analizan 1.287 embarazos únicos sometidos a screening con translucencia nucal y hueso nasal. De estos casos hubo 31 con Trisomía 21. Nuestro porcentaje de detección para T21 se elevó al 90.3%. Asimismo la ausencia de hueso nasal en nuestras manos es un altísimo marcador de aneuploidias (90). Al momento llevamos sobre 500 muestras de hCG-B y PAPP-A y esperamos analizar los datos en un futuro cercano.

SCREENING DE SINDROME HIPERTENSIVO DEL EMBARAZO, RESTRICCIÓN DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO Y PARTO PREMATURO

El síndrome hipertensivo del embarazo, la restricción del crecimiento intrauterino y el parto prematuro son las principales causas de morbilidad perinatal. No se ha podido disminuir su incidencia en las últimas décadas y representan, en consecuencia, el mayor desafío de la medicina materno fetal actual.

El SHE afecta del 12 al 22% de los embarazos y es la primera causa de mortalidad materna en Chile (5.8 por 100mil nacidos vivos). Se define como pacientes con cifras tensionales sobre 140/90 y se clasifican como hipertensión gestacional (sobre las 20 semanas), hipertensión crónica (antes de las 20 semanas) y HTA crónica más preeclampsia sobrealimentada.

La RCIU se define como un peso fetal menor al percentil 10. Se clasifica como RCIU constitucional (feto sano pequeño para la edad gestacional PEG), por insuficiencia placentaria o por alteraciones genéticas o infecciosas (aneuploidias, genopatías, infecciones por TORCH). La RCIU por insuficiencia placentaria afectaría al 5% de la población y representa una importante causa de morbilidad perinatal e incluso de morbilidad adulta (HTA crónica, diabetes tipo 2).

El síndrome de parto prematuro se define como un nacimiento entre las 22 y las 37 semanas y afecta al 5% de la población. Su etiopatogenia incluye incompetencia cervical, infecciones, isquemia uterina, sobredistensión uterina, alteraciones hormonales o inmunológicas. Su presencia explica el 65% de las muertes perinatales en nuestro país.

A pesar de enormes esfuerzos para controlar y tratar dichas patologías, su incidencia y consecuencias no han podido ser disminuidas en las últimas décadas.

Un enfoque novedoso para enfrentar esta problemática es aplicar técnicas de tamizaje o screening a la población general e identificar a aquellas madres con mayor susceptibilidad de padecer estas enfermedades lo más precoz posible. Este grupo de mayor riesgo podrá ser controlado en forma más exhaustiva y además tratado preventivamente con lo que se esperaría una mejoría en los resultados perinatales.

En el primer trimestre del embarazo, las técnicas de screening para SHE, RCIU y PP se basan en ultrasonido y medición de sustancias en el plasma materno:

Ultrasonido: La medición de los índices de resistencia en las Arterias Uterinas así como la presencia de escotadura o Notch en ellas en el segundo trimestre del embarazo como método de screening para preeclampsia y RCIU ha sido largamente avalado por la literatura. Cnos-sens et al. (91) realizan un meta-análisis de los diferentes trabajos publicados y concluyen:

- 1) La sensibilidad de pesquisa para SHE y RCIU es mejor en el segundo trimestre que en el primer trimestre.
- 2) El promedio de los índices de pulsatilidad IP sobre el p95 en las arterias uterinas con escotadura bilateral aumentan el riesgo de SHE en 7.5 veces en población de bajo riesgo y en 21 veces en población de alto riesgo.
- 3) El promedio de los índices de pulsatilidad IP sobre el p95 en las arterias uterinas con escotadura bilateral aumentan el riesgo de RCIU en 9.1 veces.

Sin embargo, a pesar de ser buen predictor en el segundo trimestre, el fenómeno a detectar ya estaba instalado y en consecuencia era poco lo que se podía hacer para prevenir o tratar. Por ello esta técnica se trasladó al primer trimestre del embarazo, cosa que la intervención ante la pesquisa precoz fuese más efectiva (Figura 5).

Martin et al. (92) el 2001 refiere sensibilidad para SHE severo bajo las 32 semanas de un 60% (comparado con 86% en el segundo trimestre) mediante el uso de Doppler de arterias uterinas en el primer trimestre (11-14 semanas). Asimismo, su sensibilidad para RCIU severo bajo 32 semanas fue de un 28% (comparado con 74% en el segundo trimestre). Evidentemente las sensibilidades no son muy buenas pero eran precoces.

Bioquímica: Los resultados de la medición de los índices de resistencia de las arterias uterinas en el primer trimestre tenían una sensibilidad bastante baja para la pesquisa de SHE y RCIU. Por ello se investigaron varias sustancias en el plasma materno que podían ayudar a mejorar la sensibilidad. Entre ellas destacan:

- 1) PAPP-A: Disminuye en SHE, RCIU y muerte fetal

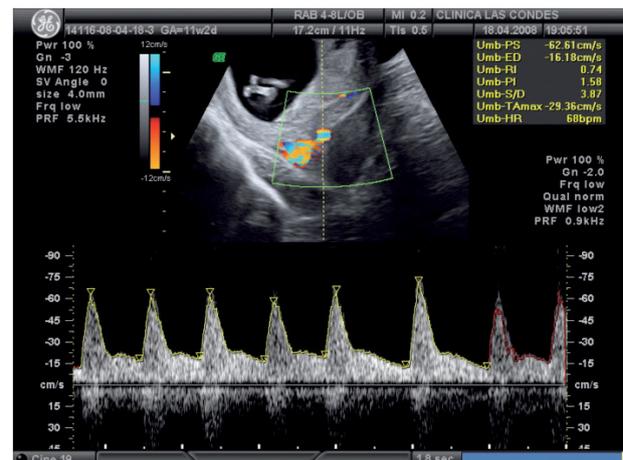


Figura 5: Arteria uterina entre 11 - 13 +6 semanas.

- 2) hCG-B: Disminuye en SHE, RCIU y muerte fetal
- 3) PP 13: Disminuye en SHE, RCIU y Parto Prematuro
- 4) ADAM 12: Disminuye en SHE
- 5) sFlt-1: Aumenta en SHE y RCIU
- 6) VEGF: Disminuye en SHE y RCIU
- 7) PIGF: Disminuye en el SHE

Al combinar el Doppler de arterias uterinas y la bioquímica, la sensibilidad para la pesquisa de SHE y RCIU aumenta. Es así como Nicolaides y cols. (93) combinan el análisis de PP-13 y la medición de Doppler de arterias uterinas (índice de pulsatilidad (IP)) entre 11 y 13+6 semanas en un grupo de mujeres que desarrollaron pre-eclampsia que requirió interrupción de la gestación antes de las 34 semanas y en un grupo control de embarazadas sanas. Reportan que la mediana del IP de arteria uterina fue más alta y la mediana de los niveles séricos de PP-13 más baja que en el grupo control. Establecen un potencial de predicción de 90%, con un 6% de PFP para SHE.

Spencer y cols. (96) describen la asociación de niveles disminuidos de PAPP-A y FBHCG y translucencia nucal aumentada con muerte fetal. Similares hallazgos se reportan para la asociación de parto prematuro, preeclampsia y retardo de crecimiento uterino al combinar estos marcadores con Doppler de arterias uterinas o la medición de AFP en segundo trimestre (98).

En el primer trimestre valores de PP-13 bajo lo normal se asociaron con retraso de crecimiento intrauterino (RCIU) y preeclampsia (PE), particularmente en su variedad precoz (< 34 semanas) (88).

Un aporte prometedor de la evaluación del primer trimestre ha sido reportado en el período más reciente vinculado a marcadores bioquímicos, particularmente PAPP-A y PIGF.

En relación a PAPP-A se ha evaluado su asociación con resultados perinatales adversos no relacionados a cromosomopatía, cuando se presentan en niveles significativamente disminuidos con respecto a la mediana para la respectiva semana de gestación (94, 95, 96). Así lo resalta un boletín reciente el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG) (97).

Este último año, se han incluido en el programa de evaluación de 11-13+6 semanas los siguientes parámetros:

- a. La historia obstétrica.
- b. La presión arterial.
- c. La medición de la resistencia de las arterias uterinas.
- d. Bioquímica materna (PAPP-P y PIGF).

De esta manera se puede otorgar a la paciente un riesgo individual de SHE, RCIU al igual que para las aneuploidías.

CONCLUSIONES

En las últimas dos décadas, la medicina fetal ha experimentado un enorme progreso en la evaluación y manejo del paciente intrauterino. Los avances en la tecnología de imágenes y laboratorio clínico, han

permitido desplazar hacia el primer trimestre la pesquisa y diagnóstico de patologías fetales así como de la embarazada.

El actual nivel de acceso a la información al que accede la comunidad ha puesto en conocimiento del público estos avances gatillando expectativas crecientes de la atención médica que esperan recibir.

Marcadores ultrasonográficos fetales evaluados entre 11 y 13+6 semanas como el grosor de la translucencia nucal, la evaluación del hueso nasal y el ángulo facial así como la medición Doppler de la resistencia en las arterias uterinas, el flujo del ductus venoso y regurgitación tricuspídea, están extensamente reportados en la literatura como indicadores de riesgo de aneuploidías, síndrome hipertensivo del embarazo y restricción del crecimiento intrauterino. La medición en muestras de sangre materna de PAPP-A, especialmente entre 9 y 11 semanas y PIGF más otros marcadores bioquímicos han demostrado su utilidad como marcadores independientes de los ultrasonográficos para la detección de aneuploidías, SHE, RCIU y parto prematuro. El uso combinado de estos dos tipos de marcadores ha reportado índices de detección precoces insuperables para las patologías antes descritas. Esto ha sido ampliamente confirmado nuestra práctica clínica.

Ello en la práctica, permite disminuir la oferta de procedimientos diagnósticos invasivos, y generar un valiosa disminución en los riesgos y costos que ellos implican.

El elemento más complejo en la difusión del uso de marcadores ultrasonográficos radica en la reproducibilidad de las mediciones. Mínimos errores exponen a variaciones significativas en la estimación de riesgo. Los procedimientos de capacitación, certificación y auditoría vigentes atentan contra una fluida y amplia implementación del método. Un escenario optimista lo genera la opción de implementar dicho proceso en forma electrónica a través de la WEB.

En el caso de los marcadores bioquímicos cuya medición es altamente confiable dada la automatización de su procesamiento, los costos agregados y el natural período de latencia que todo nuevo modelo requiere para ser implementado son la barrera más notoria.

El aporte creciente hacia la detección de patologías fetales extra cromosómicas como cardiopatías y otras, así como el potencial que significa la temprana detección de embarazadas expuestas a complicaciones como el síndrome hipertensivo, o compromiso del crecimiento intrauterino, amplían significativamente el espectro de beneficios disponibles para una completa evaluación feto- materna temprana e integral.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anuario de Estadísticas Vitales 2003 INE-Chile. 36-51. 2005.
2. Cortéz F (INTA- Chile). Comunicación personal. 2006.
3. Nazer H, Cifuentes O, Águila R, Juárez H, Cid R et al. Effects of folic

- acid fortification in the rates of malformations at birth in Chile. *Rev Med Chil.* 2007;135:1551-7.
4. Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD. Births: final data for 2002. *Natl Vital Stat Rep* 2003; 52:1-113.
 5. Benacerraf BR, Nadel AS, Bromley B. Identification of second-trimester fetuses with autosomal trisomy by use of a sonographic scoring index. *Radiology* 1994; 193:135-140.
 6. Bromley B, Lieberman F, Benacerraf BR. The incorporation of maternal age into the sonographic scoring index for the detection at 14-20 weeks fetuses with Down syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 10:321-324.
 7. Nyberg DA, Souter VI. Use of genetic sonography for adjusting the risk of fetal Down syndrome. *Semin Perinatol* 2003; 27:130-144.
 8. Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *Br Med J* 1992; 304:867-869.
 9. Snijders RJ, Noble P, Sebire N. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First trimester Screening Group. *Lancet* 1998; 352:343-346.
 10. Nicolaides KH: Nuchal translucency and other first trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol.* 2004; 191:45-67
 11. Hyett J, Moscoso G, Papapanagiou G. Abnormalities of the heart and great arteries in chromosomal normal fetuses with increased nuchal translucency at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynaecol* 1996; 7:245-250.
 12. Souka AP, Snijders RJM, Novakov A. Defects and syndromes in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynaecol* 1998; 11:391-400.
 13. Souka AP, Von Kaisenberg CS, Hyett JA. Increased nuchal translucency with normal karyotype. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192:1005-1021.
 14. Snijders RJM, Nicolaides KH. Sequential screening, in Nicolaides KH (ed): *Ultrasound Markers for Fetal Chromosomal Defects.* Carnforth, UK, Parthenon Publishing 1996; 109-113.
 15. Stewart TL, Malone FD: First trimester screening for aneuploidy: nuchal translucency sonography. *Semin Perinatol* 1999; 23:369-381.
 16. Wapner R, Thom E, Simpson JL. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. *N Engl J Med* 2003; 349:1405-1413.
 17. Dhallan R, Guo X, Emche S. A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study. *Lancet* 2007; 369:474-481.
 18. Bianchi DW, Simpson JL, Jackson LG. Fetal gender and aneuploidy detection using fetal cells in maternal blood: analysis of NIFTY I data. *Prenat Diagn* 2002; 609-615.
 19. Chard T. Frequency of implantation and early pregnancy loss in natural cycles. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1991;5: 179-189.
 20. Wilcox A, Weinberg C, O'Connor J. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1988; 319:189-94.
 21. Spencer K, Heath V, El-Sheikhah A, Ong C, Nicolaides K. Ethnicity and the need for correction of biochemical and ultrasound markers of chromosomal anomalies in the first trimester: a study of Oriental, asian and Afro-Caribbean populations. *Prenat Diagn* 2005; 25:365-369.
 22. Theodoropoulos P, Lolis D, Papageorgiou C, Papaioannou S, Plachouras N, Makrydimas G. Evaluation of first trimester screening by fetal nuchal translucency and maternal age. *Prenat Diagn* 1998; 18(2)133-137.
 23. Economides DL, Whitlow BJ, Kadir R, Lazanakis M, Verdin SM. First trimester sonographic detection of chromosomal abnormalities in an unselected population. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105:58-62.
 24. Thilaganathan B, Sairam S, Michailidis G, Wathen NC. First trimester nuchal translucency: effective routine screening for Down's syndrome. *Br J Radiol* 1999; 72(862):946-948.
 25. Schwarzler P, Carvalho JS, Senat MV, Masroor T, Campbell S, Ville Y. Screening for fetal aneuploidies and fetal cardiac abnormalities by nuchal translucency thickness measurement at 10-14 weeks of gestation as part of routine antenatal care in an unselected population. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106:1029-1034.
 26. Zoppi MA, Ibba RM, Floris M, Monni G. Fetal nuchal translucency screening in 12495 pregnancies in Sardinia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 18:649-651.
 27. Comas C, Torrents M, Munoz A, Antolin E, Figueras F, Echevarria M. Measurement of nuchal translucency as a single strategy in trisomy 21 screening: should we use any other marker? *Obstet Gynecol* 2002; 100:648-654.
 28. Brizot ML, Carvalho MH, Liao AW, Reis NS, Armbruster-Moraes E, Zugaib M. First trimester screening for chromosomal abnormalities by

fetal nuchal translucency in a brazilian population. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 18:652-655.

29. Gasiorek-Wiens A, Tercanli S, Kozlowski P, Kossakiewicz A, Minderer S, Meyberg H, Kamin G, Germer U, Bielicki M, Hackeloer BJ, Sarlay D, Kuhn P, Klapp J, Bahlmann F, Pruggmayer M, Schneider KT, Seefried W, Fritzer E, von Kaisenberg CS, German-Speaking Down Syndrome Screening Group. Screening for trisomy 21 by fetal nuchal translucency and maternal age: a multicenter project in Germany, Austria and Switzerland. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001; 18:645-648.

30. Langdon Down J. Observation on an ethnic classification of idiots. *Clin Lectures and Reports, London Hospital* 1866;3: 259-262.

31. Cicero S, Curcio P, Papageorghiou A, Sonek J, Nicolaidis K. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet* 2001; 17; 358:1665-1667.

32. Cicero S, Rembouskos G, Vandecruys H, Hogg M, Nicolaidis KH. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with absent nasal bone at the 14-week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23:218-223.

33. Orlandi F, Bilardo CM, Campogrande M, Krantz D, Hallahan T, Rossi C, Viora E. Measurement of nasal bone length at 11-14 weeks of pregnancy and its potential role in Down syndrome risk assessment. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:36-39.

34. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Tripanas C, Nicolaidis KH. Fetal nasal bone length in chromosomally normal and abnormal fetuses at 11-14 weeks of gestation. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002; 11:400-402.

35. Sonek JD, Mckenna D, Webb D, Croom C, Nicolaidis K. Nasal bone length throughout gestation: normal ranges based on 3537 ultrasound measurements. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21:152-155.

36. Cicero S, Sonek JD, Mckenna DS, Croom CS, Johnson L, Nicolaidis K. Nasal bone hypoplasia in trisomy 21 at 15-22 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21:15-18.

37. Kanellopoulos V, Katsetos C, Economides DL. Examination of fetal nasal bone and repeatability of measurement in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:131-134.

38. Senat MV, Bernard JP, Boulvain M, Ville Y. Intra- and interoperator variability in fetal nasal bone assessment at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:138-141.

39. Cicero S, Dezerega V, Andrade E, S  ller M, Nicolaidis K. Learning curve for sonographic examination of the fetal nasal bone at 14 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:135-137.

40. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Spencer K, Nicolaidis KH. Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 using fetal nuchal translucency, absent fetal nasal bone, free beta-hCG and PAPP-A at 11-14 weeks. *Prenat Diagn* 2003; 23:306-310.

41. Cicero S, Avgidou K, Rembouskos G, Kagan K, Nicolaidis K. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195:109-114.

42. Hyett J, Perdu M, Sharland GK. Increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation as a marker for major cardiac defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 10:242-246.

43. Huggon IC, Ghi T, Cook AC. Fetal cardiac abnormalities identified prior to 11-14 weeks gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 20:22-29.

44. Huggon IC, DeFigueiredo DB, Allan LD. Tricuspid regurgitation in the diagnosis of chromosomal anomalies in the fetus at 11-14 weeks of gestation. *Heart* 2003; 89:1071-1073.

45. Faiola S, Tsoi E, Huggon IC, Allan LD, Nicolaidis KH. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with tricuspid regurgitation at 11 to 13+6-week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:22-27.

46. Falcon O, Auer M, Gerovassili A, Spencer K, Nicolaidis KH. Screening for trisomy 21 by fetal tricuspid regurgitation, nuchal translucency and maternal serum free β -hCG and PAPP-A at 11+0 to 13+6 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27:151-155.

47. Messing B, Porat S, Imbar T, Valsky DV, Anteby EY, Yagel S. Mild tricuspid regurgitation: a benign fetal finding at various stages of pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:606-610.

48. Matias A, Gomes C, Flack N, Montenegro N, Nicolaidis KH. Screening for chromosomal abnormalities at 11-14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 2:380-384.

49. Borrel A, Martinez JM, Seres A, Borobio V, Cararach V, Fortuny A. Ductus venosus assessment at the time of nuchal translucency measurement in the detection of fetal aneuploidy. *Prenat Diagn* 2003; 23:921-926.

50. Matias A, Huggon I, Areias JC, Montenegro N, Nicolaidis KH. Cardiac defects in chromosomally normal fetuses with abnormal ductus venosus blood flow at 10-14 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 14:307-310.

51. Bilardo CM, Muller MA, Zikulnig L, Schipper M, Hecher K. Ductus venosus studies in fetuses at high risk for chromosomal or heart abnormalities: relationship with nuchal translucency measurement and fetal outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 17:288-294.

fetal nuchal translucency in a brazilian population. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 18:652-655.

29. Gasiorek-Wiens A, Tercanli S, Kozlowski P, Kossakiewicz A, Minderer S, Meyberg H, Kamin G, Germer U, Bielicki M, Hackeloer BJ, Sarlay D, Kuhn P, Klapp J, Bahlmann F, Pruggmayer M, Schneider KT, Seefried W, Fritzer E, von Kaisenberg CS, German-Speaking Down Syndrome Screening Group. Screening for trisomy 21 by fetal nuchal translucency and maternal age: a multicenter project in Germany, Austria and Switzerland. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001; 18:645-648.

30. Langdon Down J. Observation on an ethnic classification of idiots. *Clin Lectures and Reports, London Hospital* 1866;3: 259-262.

31. Cicero S, Curcio P, Papageorghiou A, Sonek J, Nicolaidis K. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet* 2001; 17; 358:1665-1667.

32. Cicero S, Rembouskos G, Vandecruys H, Hogg M, Nicolaidis KH. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with absent nasal bone at the 14-week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23:218-223.

33. Orlandi F, Bilardo CM, Campogrande M, Krantz D, Hallahan T, Rossi C, Viora E. Measurement of nasal bone length at 11-14 weeks of pregnancy and its potential role in Down syndrome risk assessment. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:36-39.

34. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Tripanas C, Nicolaidis KH. Fetal nasal bone length in chromosomally normal and abnormal fetuses at 11-14 weeks of gestation. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002; 11:400-402.

35. Sonek JD, Mckenna D, Webb D, Croom C, Nicolaidis K. Nasal bone length throughout gestation: normal ranges based on 3537 ultrasound measurements. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21:152-155.

36. Cicero S, Sonek JD, Mckenna DS, Croom CS, Johnson L, Nicolaidis K. Nasal bone hypoplasia in trisomy 21 at 15-22 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21:15-18.

37. Kanellopoulos V, Katsetos C, Economides DL. Examination of fetal nasal bone and repeatability of measurement in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:131-134.

38. Senat MV, Bernard JP, Boulvain M, Ville Y. Intra- and interoperator variability in fetal nasal bone assessment at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:138-141.

39. Cicero S, Dezerega V, Andrade E, Séller M, Nicolaidis K. Learning curve for sonographic examination of the fetal nasal bone at 14 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:135-137.

40. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Spencer K, Nicolaidis KH. Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 using fetal nuchal translucency, absent fetal nasal bone, free beta-hCG and PAPP-A at 11-14 weeks. *Prenat Diagn* 2003; 23:306-310.

41. Cicero S, Avgidou K, Rembouskos G, Kagan K, Nicolaidis K. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195:109-114.

42. Hyett J, Perdu M, Sharland GK. Increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation as a marker for major cardiac defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 10:242-246.

43. Huggon IC, Ghi T, Cook AC. Fetal cardiac abnormalities identified prior to 11-14 weeks gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 20:22-29.

44. Huggon IC, DeFigueiredo DB, Allan LD. Tricuspid regurgitation in the diagnosis of chromosomal anomalies in the fetus at 11-14 weeks of gestation. *Heart* 2003; 89:1071-1073.

45. Faiola S, Tsoi E, Huggon IC, Allan LD, Nicolaidis KH. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with tricuspid regurgitation at 11 to 13+6-week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:22-27.

46. Falcon O, Auer M, Gerovassili A, Spencer K, Nicolaidis KH. Screening for trisomy 21 by fetal tricuspid regurgitation, nuchal translucency and maternal serum free β -hCG and PAPP-A at 11+0 to 13+6 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27:151-155.

47. Messing B, Porat S, Imbar T, Valsky DV, Anteby EY, Yagel S. Mild tricuspid regurgitation: a benign fetal finding at various stages of pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:606-610.

48. Matias A, Gomes C, Flack N, Montenegro N, Nicolaidis KH. Screening for chromosomal abnormalities at 11-14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 2:380-384.

49. Borrel A, Martinez JM, Seres A, Borobio V, Cararach V, Fortuny A. Ductus venosus assessment at the time of nuchal translucency measurement in the detection of fetal aneuploidy. *Prenat Diagn* 2003; 23:921-926.

50. Matias A, Huggon I, Areias JC, Montenegro N, Nicolaidis KH. Cardiac defects in chromosomally normal fetuses with abnormal ductus venosus blood flow at 10-14 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 14:307-310.

51. Bilardo CM, Muller MA, Zikulnig L, Schipper M, Hecher K. Ductus venosus studies in fetuses at high risk for chromosomal or heart abnormalities: relationship with nuchal translucency measurement and fetal outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 17:288-294.

- 52.** Prefumo F, Sethna F, Sairam S, Bhide A, Thilaganathan B. First-trimester ductus venosus, nasal bones, and Down syndrome in a high-risk population. *Obstet Gynecol* 2005;105:1348-1354.
- 53.** Hecher K. Assessment of ductus venosus flow during the first and early second trimesters: what can we expect? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;17:285-287.
- 54.** Sonek J, Borenstein M, Dagklis T, Persico N. Facial angle in fetuses with trisomy 21 at 11 to 13+6 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;28:363.
- 55.** Plasencia W, Dagklis T, Sotiriadis A, Borenstein M, Nicolaides KH. Frontomaxillary angle at 11 + 0 to 13 + 6 weeks' gestation-reproducibility of measurements. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 29:18-21.
- 56.** Hyett JA, Noble PL, Snijders RJ, Montenegro N, Nicolaides KH. Fetal heart rate in trisomy 21 and other chromosomal abnormalities at 10-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7:239-244.
- 57.** Bahado-Singh R, Lynch L, Deren O, Morotti R, Copel J, Mahoney M, Williams J. First trimester growth restriction and fetal aneuploidy: the effect of type of aneuploidy and gestational age. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176:976-980.
- 58.** Nicolaides K. First-trimester screening for chromosomal abnormalities. *Semin Perinatol* 2005; 29:190-194.
- 59.** Cicero S, Curcio P, Rembouskos G, Sonek J, Nicolaides K. Maxillary length at 11-14 weeks of gestation in fetuses with trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 24:19-22.
- 60.** Sacchini C, El-Sheikhah A, Cicero S, Rembouskos G, Nicolaides K. Ear length in trisomy 21 fetuses at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:460-463.
- 61.** Cicero S, Sacchini C, Rembouskos G, Nicolaides KH. Sonographic markers of fetal aneuploidy-a review. *Placenta* 2003; 24(SupplB):S88-98.
- 62.** Borenstein M, Dagklis T, Csapo B, Sotiriadis A, Nicolaides KH. Brachycephaly and frontal lobe hypoplasia in fetuses with trisomy 21 at 11 + 0 to 13 + 6 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 28:870-875.
- 63.** Longo D, DeFigueiredo D, Cicero S, Sacchini C, Nicolaides K. Femur and humerus length in trisomy 21 fetuses at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;23(2):143-147.
- 64.** Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alphaprotein and fetal chromosome abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148:886-894.
- 65.** Bogart MH, Panadian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987; 7:623- 630.
- 66.** Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Br. Med J* 1988; 297:883-887
- 67.** Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Cook EJ, Moore ND, Young JA, Romero K, Laresen JW. Maternal serum Down syndrome screening free beta protein is a more effective marker than human chorionic gonadotrophin. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:1248-1253.
- 68.** Canick J, Knight GJ, Palomaki GE, et al. Low second trimester maternal serum unconjugated estriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br. J Obstet Gynaecol* 1988; 95:330-333.
- 69.** Van Lith JMM, Pratt JJ, Beehuis JR, et al. Second trimester maternal serum immunoreactive inhibin as a marker for fetal Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1992; 12:801-806.
- 70.** Canick JA, Lambert-Messerlian GM, Palomaki GE, et al: Maternal serum dimeric inhibin is elevated in Down syndrome pregnancy. *Am J Hum Genet* 1994;55:A9
- 71.** Spencer K, Wallace EM, Ritoe S. Second trimester dimeric inhibin-A in Down's syndrome screening. *Prenat Diagn* 1996; 16:1101-1110.
- 72.** Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK et al : First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome. The results of the Serum .Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen* 2003; 10:56-104
- 73.** Malone FD, Canick JA, Ball RH, et al: First and second trimester evaluation of risk for fetal aneuploidy (FASTER): Principal results of the NICHD multicenter Down Syndrome Screening Study. *N Engl J Med* 2005; 353:2001-2011.
- 74.** Brambati B, Simoni G, Bonachi I et al. Fetal chromosomal aneuploidies and maternal serum AFP levels in the first trimester. *Lancet* 1986; ii:165-166.
- 75.** Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ et al: Screening of maternal serum for fetal Down's syndrome in the first trimester. *N Engl J Med* 1998; 338:955-961.
- 76.** Noble PL, Abraha HD, Snijders RJ et al : Screening for fetal trisomy 21 in the first trimester of pregnancy: maternal serum free beta-hCG and fetal nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynaecol* 1995; 6:390-395.