

Analiza przebiegu ciąży i porodu po amniopunkcji genetycznej u kobiet po 35. roku życia

Analysis of the course of pregnancy and labor after genetic amniocentesis in women after 35 years of age

Kowalczyk Dariusz¹, Więcek Jacek¹, Guzikowski Wojciech^{1,2}, Ośko Andrzej¹

¹ Samodzielny Specjalistyczny Zespół Opieki Zdrowotnej nad Matką i Dzieckiem w Opolu, Polska

² Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa w Opolu, Polska

Streszczenie

Cel pracy: Analiza przebiegu ciąży i porodu pacjentek zakwalifikowanych do programu badań prenatalnych na Opolszczyźnie.

Materiał i metody: Programem badań objęto 2513 ciężarnych pacjentek. Powyżej 35 roku życia 1763 pacjentek (70,1%), do amniopunkcji zakwalifikowano 515 pacjentek (20,5%), na amniopunkcję zdecydowało się 394 ciężarnych (15,6%). W grupie pacjentek, u których wykonano amniopunkcję, stwierdzono 39 nieprawidłowych kariotypów (9,8%).

Wyniki: W analizie liczby wykonanych amniopunkcji oraz wykrytych wad u płodów okazało się, że początkowo zwiększała się liczba zabiegów inwazyjnych, a od 2007 roku, tj. od czasu wprowadzenia badań biochemicznych opartych na technologii Kryptor, zaobserwowano istotne zmniejszenie liczby wykonywanych amniopunkcji, przy tym nie zmienił się wskaźnik wykrywanych aberracji chromosomalnych u płodów. Przeanalizowano przebieg ciąży i porodów pacjentek powyżej 35. roku życia, rodzących w Szpitalu Ginekologiczno-Położniczym w Opolu. Grupę badanych stanowiło 106 pacjentek, którym wykonano amniopunkcję i 138 pacjentek, które nie wyraziły zgody na badania inwazyjne. Poza niewielką różnicą średniej masy urodzeniowej, analiza stanu noworodka i jego parametrów biofizycznych po porodzie nie wykazała istotnych różnic. W obu grupach najczęściej występowała cukrzyca ciążarnych, którą statystycznie częściej stwierdzono w grupie pacjentek, u których nie wykonano amniopunkcji. Nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic w częstości występowania innych powikłań ciąży.

Wnioski:

1. Amniopunkcję wykonywaną ze wskazań genetycznych między 15. a 20. tygodniem ciąży można uznać za procedurę bezpieczną zarówno dla matki jak i płodu.
2. Wykonanie amniopunkcji nie wpływa w istotny sposób na przebieg ciąży i sposób jej ukończenia.
3. Właściwe poradnictwo genetyczne oparte na badaniach biochemicznych pozwala na zmniejszenie liczby wykonywanych amniopunkcji przy zachowaniu odsetka wykrywalności wad chromosomalnych płodów.

Słowa kluczowe: **amniopunkcja / diagnostyka prenatalna / powikłania amniopunkcji /**

Adres do korespondencji:

Dariusz Kowalczyk
Samodzielny Specjalistyczny Zespół Opieki Zdrowotnej nad Matką i Dzieckiem w Opolu
Polska, 45-066 Opole, ul. Reymonta 8
tel. 608 45 55 53
e-mail: kowdarius@onet.poczta.pl

Otrzymano: 08.07.2011
Zaakceptowano do druku: 25.09.2011

Summary

The purpose of the research: analysis of the course of pregnancy and labor in patients qualified for the prenatal diagnostic tests program in Opole Region.

Material and methods: 2513 pregnant women participated in the program. There were 1763 (70.1%) patients above 35 years of age, out of whom 515 women (20.5%) were qualified for amniocentesis and 394 of them (15.6%) decided to undergo the test.

Within the group of patients who underwent amniocentesis, 39 karyotypes (9.8%) were found. Analysis of the number of amniocenteses carried out and the number of detected fetal defects showed that initially the number of invasive tests was rising. However, since 2007, i.e. since the introduction of biochemical diagnostic tests based on Kryptor technology, a significant decrease of amniocenteses tests has been observed, while the rate of detected chromosome aberrations in fetuses has not changed.

The course of pregnancy and labor in patients above 35 years of age, who gave birth to children in Gynecology and Obstetrics Hospital in Opole, has also been analyzed. The investigated group comprised 106 patients who underwent amniocentesis, and 138 patients who did not consent to having the invasive test. Apart from a small difference in average birth weight, the analysis of infant condition and their biophysical parameters after the labor has not shown any significant differences. In both groups gestational diabetes was the most frequent disease, and statistically it was diagnosed more often in patients who had not undergone amniocentesis. No statistically significant differences in the frequency of occurrence of other pregnancy complications have been found.

Conclusions:

1. Amniocentesis carried out due to genetic indications between 15th and 20th week of pregnancy may be considered to be a procedure which is safe both for a mother and a fetus.
2. Amniocentesis does not affect the course of pregnancy or the mode of delivery in any significant way.
3. Proper genetics counseling service based on biochemical research enables to decrease the number of amniocenteses tests, while the rate of detected chromosome defects in fetuses remains unchanged.

Key words: **amniocentesis / prenatal diagnostic / complications of amniocentesis /**

Wstęp

W ostatnich dziesięcioleciach obserwuje się przesunięcie w górę wieku kobiet, które decydują się na zajście w ciążę i urodzenie dziecka. W związku z tym obserwuje się coraz więcej ciężarnych, które zachodzą w ciążę po 35. roku życia. Odsetek tych kobiet stale się zwiększa. Także w naszym programie badań prenatalnych stwierdziliśmy zwiększenie odsetka pacjentek powyżej 35. roku życia. Ponadto w ostatnich dwóch latach obserwujemy zwiększenie liczby pacjentek w wieku poniżej 35 lat. Poza wiekiem ciężarnej głównymi wskazaniami do badań prenatalnych są nieprawidłowe wyniki badań usg, wady rozwojowe u poprzedniego dziecka, duże prawdopodobieństwo choroby genetycznej lub wady występujące u rodziców.

Wraz ze wzrastającym wiekiem ciężarnych zwiększa się ryzyko zaburzeń chromosomalnych u płodów, stąd coraz większe zainteresowanie diagnostyką prenatalną i jej coraz szersze stosowanie, głównie w oparciu o nowoczesną prenatalną diagnostykę ultrasonograficzną i biochemiczne markery wad genetycznych. Metody te określane jako prenatalna diagnostyka nieinwazyjna, poza niewątpliwymi zaletami mają jednak jedną istotną wadę, mianowicie za ich pomocą nie jest możliwe określenie kariotypu płodu. Dlatego część pacjentek kwalifikowana jest do badań inwazyjnych, takich jak biopsja kosmówki (CVS – *chorionic villus sampling*) czy amniopunkcja (*amniocentesis*). Inwazyjne zabiegi diagnostyczne pozwalają prawie w 100% potwierdzić lub wykluczyć liczbowe aberracje chromosomów.

Od momentu rozpoczęcia programu w 2005 roku obserwujemy stały wzrost zainteresowania badaniami prenatalnymi i tym samym zwiększa się liczba pacjentek kwalifikowanych do inwazyjnych badań prenatalnych.

Jednym z zasadniczych problemów związanych z wykonywaniem amniopunkcji jest ryzyko poronienia po zabiegu. Częstość utraty ciąży po amniopunkcji według różnych autorów wynosi od 0,2% do 1% [1, 2, 3, 4].

Cel pracy

Analiza przebiegu ciąży i porodu u pacjentek zakwalifikowanych w latach 2005–2011 do programu badań prenatalnych w województwie opolskim.

Materiał i metody

W Samodzielnym Specjalistycznym Zespole Opieki Zdrowotnej nad Matką i Dzieckiem w Opolu od 2005 roku prowadzony jest program badań prenatalnych, finansowany ze środków Narodowego Funduszu Zdrowia. Program obejmuje część nieinwazyjną, na którą składa się wykonanie badań ultrasonograficznych na aparatach Aloka prosound $\alpha 10$ i Voluson E8 oraz oznaczenia białka PAPPa i β -HCG wg standartów FMF i rekomendacji PTG. Oznaczenia biochemiczne wykonywano również według rekomendacji FMF z wykorzystaniem technologii Kryptor. Amniopunkcje wykonywano między 15. a 20. tygodniem ciąży, w trybie ambulatoryjnym, techniką z „wolnej ręki”, po wcześniejszej konsultacji genetycznej. Programem badań objęto 2513 pacjentek, mieszkankę Opolszczyzny, z czego ciężarnych po 35. roku życia było 1763 (70,1%). Z całej grupy do amniopunkcji zakwalifikowano 515 pacjentek (20,5%), z czego na amniopunkcję zdecydowały się 394 ciężarne, co stanowi 15,6%. W grupie 394 pacjentek, u których wykonano amniopunkcję, stwierdzono 39 nieprawidłowych kariotypów (9,8%).

Analiza przebiegu ciąży i porodu po amniopunkcji genetycznej u kobiet po 35. roku życia.

Przeanalizowano przebieg ciąży i porodu oraz stan noworodków pacjentek powyżej 35. roku życia. Badaniem objęto 106 pacjentek, u których wykonano amniopunkcję i 138 pacjentek (grupę kontrolną), które nie wyraziły zgody na badania inwazyjne (amniopunkcja).

Otrzymane dane poddano analizie statystycznej wykorzystując program Statistica 5.5, zastosowano test t dla prób niezależnych oraz testu chi².

Wyniki

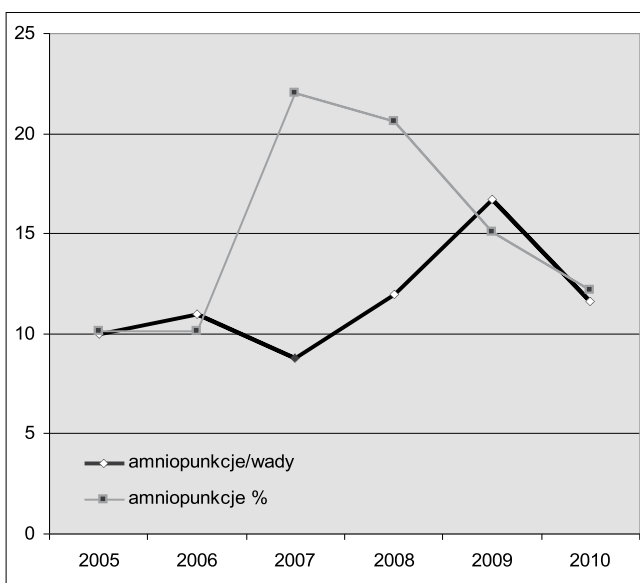
Analizie poddano 247 ciężarnych: 106 po amniopunkcji i 138 bez amniopunkcji. W grupie badanej w ciągu 3 tygodni po amniopunkcji wystąpiły 3 poronienia – 3,0% (2 przypadki zespołu Downa, 1 przypadek z wadą dysraficzną i wodogłowie), w jednym przypadku doszło do obumarcia ciąży w 25. tygodniu jej trwania (wodogłowie). W grupie kontrolnej wystąpiło jedno (0,7%) obumarcie ciąży w 12. tygodniu. W grupie pacjentek po amniopunkcji do 24 tygodnia ciąży wystąpiły następujące powikłania: jeden przypadek odpływania płynu owodniowego (0,9%), w 3 przypadkach pacjentki zgłaszały bóle brzucha i stwierdzono podwyższenie temperatury ciała (2,8%). Objawy te ustąpiły po wdrożeniu antybiotykoterapii. Pacjentki, które zdecydowały się na zakończenie ciąży, zostały wyłączone z dalszej analizy.

Średni wiek pacjentek poddanych analizie wynosił 37,5±2,05 lat dla grupy badanej i 37,3±2,43 lat dla grupy kontrolnej. Na amniopunkcję częściej decydowały się starsze pacjentki, prawdopodobnie z powodu wyraźniej większych obaw o stan płodu.

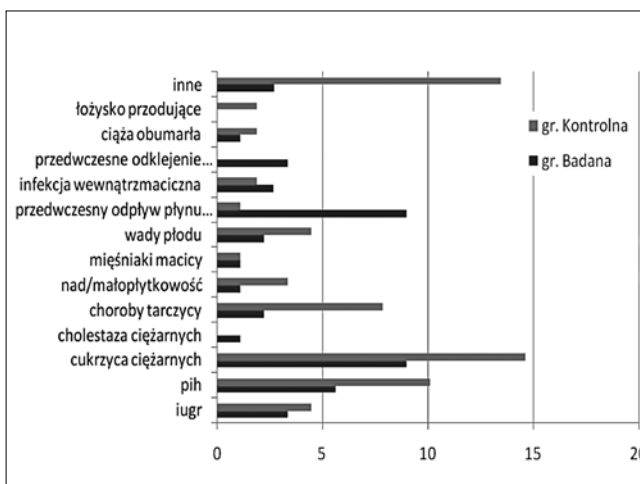
W analizie liczby wykonanych amniopunkcji oraz wykrytych wad u płodów okazało się, że w początkowym okresie realizacji programu zwiększała się liczba zabiegów inwazyjnych, a od 2007 roku, tj. od czasu wprowadzenia metod biochemicznych (oznaczenia białka PAPPa i β-HCG) opartych o technologię Kryptor, zaobserwowano istotne zmniejszenie liczby wykonywanych amniopunkcji, przy tym nie zmienił się wskaźnik wykrywanych aberracji chromosomalnych u płodów. (Rycina 1).

Poza niewielką różnicą w średniej masie urodzeniowej, analiza stanu noworodka i jego parametrów biofizycznych po porodzie dla badanych grup nie wykazała istotnych różnic. Średni wiek zakończenia ciąży wyniósł 38 i 3 dni dla obu grup. Średnia masa noworodków wynosiła dla grupy badanej 3374±703 g i 3161,5±606,9g dla grupy kontrolnej, różnica ta była istotna statystycznie przy p=0,01. Średnia długość ciała noworodka wyniosła odpowiednio 54,8±3cm i 53,9±4cm, różnica ta nie była istotna statystycznie. Ocena noworodka wg skali V. Apgar dla grupy po amniopunkcji wynosiła 9,4 punktów i dla grupy kontrolnej 8,9 punktów przy p=0,08.

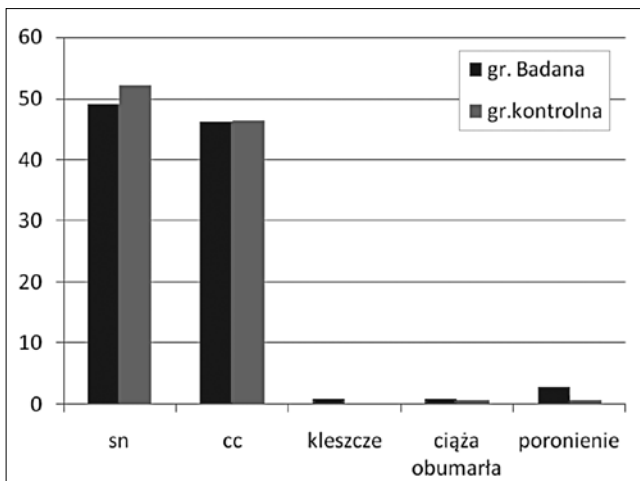
Przeanalizowano również przebieg ciąży i występujących powikłań. Odsetek występowania chorób dla grupy pacjentek po amniopunkcji wynosił 41,57%, natomiast dla grupy kontrolnej wynosił 58,43%. Najczęstszą chorobą występującą w obu grupach była cukrzyca ciężarnych (GDM), w grupie badanej 8,99% i w grupie kontrolnej 14,61%. Cukrzyca ciężarnych występowała statystycznie częściej w grupie pacjentek, u których nie wykonano amniopunkcji (Chi²= 0,0154). Nie stwierdzono znamienych różnic w występowaniu innych chorób. Stwierdzono znaczące różnice w liczbie ciężarnych palących tytoń: w grupie pacjentek po amniopunkcji palenie tytoniu deklarowały 2 pacjentki (1,89%), natomiast w grupie kontrolnej 13 pacjentek (7,69%). Różnica ta jest istotna statystycznie przy p=0,01.



Rycina 1. Wykres przedstawiający procentowe odsetki wykonywanych amniopunkcji do liczby wykrywanych aneuploidii chromosomalnych.



Rycina 2. Częstość występowania chorób w trakcie ciąży dla grupy badanej i grupy kontrolnej.



Rycina 3. Sposób zakończenia ciąży w grupie badanej i grupie kontrolnej.

Tabela I. Porównanie wieku zakończenia ciąży, masy noworodka, oceny Apgar i długości noworodka.

	Średnia grupa kontrolna	Średnia grupa badana	t	p	SD grupa badana	SD grupa kontrolna
Tydzień porodu	38,552	38,500	0,07935	0,936821	6,9045	3,0858
Masa	3161,505	3374,161	-2,50828	0,012798	703,5086	606,9489
Apgar	8,990	9,431	-1,73586	0,083883	2,2557	1,6751
Długość	53,949	54,867	-1,95235	0,052100	4,0917	3,0950

Tabela II. Porównanie częstości występowania chorób w trakcie przebiegu ciąży dla grupy pacjentek po amniopunkcji i pacjentek z grupy kontrolnej.

	Grupa badana		Grupa kontrolna		p
	n	%	n	%	
IUGR	3	3,37	4	4,49	NS
PIH	5	5,62	9	10,11	NS
cukrzyca ciężarnych	8*	8,99*	13*	14,61*	IS
cholestaza ciężarnych	1	1,12	0	0	NS
choroby tarczycy	2	2,25	7	7,86	NS
nad/malopłytkowość	1	1,12	4	3,37	NS
mięśniaki macicy	1	1,12	1	1,12	NS
wady płodu	2	2,25	4	4,49	NS
przedwczesny odpływ płynu owodniowego	8	8,99	1	1,12	NS
infekcja wewnątrzmaciczna	1	1,12	1	1,92	NS
przedwczesne odklejenie łożyska	3	3,37	0	0	NS
cięża obumarła	1	1,12	1	1,92	NS
łożysko przoduujące	0	0	1	1,92	NS
Inne	4	3,36	6	13,48	NS
Razem	37		52		
palące	2	1,89	13	7,69	IS
	t = 2,448		p = 0,0151		

Tabela III. Niepowodzenia ciąży i sposób ukończenia ciąży w grupie pacjentek po amniopunkcji i grupie kontrolnej.

Sposób ukończenia ciąży	Grupa badana		Grupa kontrolna		Różnica statystyczna test chi ²
	n	%	n	%	
Poród fizjologiczny	52	49,06	73	52,9	NS
Cięcie cesarskie	49	46,23	64	46,38	NS
Kleszcze	1	0,94	0	0	NS
Poronienie	3	2,83	1	0,72	NS
Cięża obumarła	1	0,94	1	0,94	NS
	106	100%	138	100%	

Analiza sposobu ukończenia ciąży nie wykazała istotnych różnic między badanymi grupami.

Dyskusja

W populacji polskiej odsetek urodzeń noworodków z wadami wynosi 2,2% wg badań Polskiego Rejestru Wrodzonych Wad Rozwojowych. Stopniowe obniżanie się przyrostu naturalnego w Polsce z jednoczesnym wzrostem ilości kobiet rodzących po 35. roku życia powoduje zwiększone zainteresowanie diagnostyką prenatalną. Głównym problemem związanym z inwazyjną diag-

nostyką prenatalną jest ryzyko utraty ciąży po wykonanej amniopunkcji, wynosi ono wg różnych autorów od 0,2% do 1,8%. Ilość strat ciąży po amniopunkcji wg Pitukijronnakorn i wsp. wynosi do 24 tyg. 0,17% a do 28 tyg. 0,5% [3]. Autorzy polscy Milewicz i wsp. podają straty ciąży na poziomie 0,4% [2].

W naszym materiale zanotowano stratę jednej ciąży (0,5%) związanej z odpłynięciem płynu owodniowego w 16 tyg. ciąży. Amniopunkcja wydaje się być bezpieczna zarówno dla ciężarnej jak i płodu, nie mniej jednak zdarzają się, choć niezmiernie rzadko, ciężkie powikłania, w tym zgony matek [6].

Analiza przebiegu ciąży i porodu po amniopunkcji genetycznej u kobiet po 35. roku życia.

Także jednym z możliwych powikłań jest nakłucie pętli jelitowych matki, które znajdują się na torze punkcyjnym igły, z dalszymi konsekwencjami w postaci zapalenia otrzewnej. Przedstawione rzadkie, ale możliwe powikłania, narzucają niezwykle staranne kwalifikowanie pacjentek do zabiegów inwazyjnych w ciąży, aby stosunek liczby wykrytych wad do liczby wykonanych amniopunkcji był na optymalnym poziomie. W naszym materiale badania przesiewowe wykonywane są od 2005 roku, zgodnie ze standardami FMF. W pierwszych dwóch latach obserwowaliśmy zwiększenie ilości wykonywanych amniopunkcji, co było związane ze wzrostem liczby pacjentek uczestniczących w programie. Od 2007 roku obserwujemy stopniowy spadek ilości wykonywanych amniopunkcji przy niezmiennym odsetku wykrywanych zaburzeń chromosomalnych u płodów, co związane jest z bardziej precyzyjną, nieinwazyjną diagnostyką prenatalną. Podobne doniesienia przedstawili autorzy duńscy. Tabor i wsp. w jedenastoletnim okresie zredukowali liczbę procedur inwazyjnych o 55% [7]. Nakata i wsp. donoszą o utrzymaniu się na stałym poziomie ilości procedur inwazyjnych, dzięki poprawie skuteczności prenatalnych badań przesiewowych [8].

Henry Roque i wsp. w okresie 12 letnim (1990-2002) zaobserwowali istotny wzrost liczby kobiet rodzących po 35. roku życia z 9,2% do 14,9%, jednak dzięki skutecznym testom przesiewowym nie wpłynęło to na wzrost liczby inwazyjnych procedur [9]. Zupełnie inne analizy przedstawili Geogre P. Henry i wsp., którzy oceniali wartość genetycznych sonogramów w II trymestrze ciąży w stanie Colorado (USA) i stwierdzili, że teoretycznie prawidłowy genetyczny sonogram wykonany w II trymestrze prowadził do odstąpienia od wykonania amniopunkcji. Strategia ta doprowadziła do 50% wzrostu pomyłek w wykrywaniu zespołu Downa [10]. W analizowanym materiale stwierdzono częstsze występowanie cukrzycy ciężarnych u pacjentek niepoddanych amniocentezie (14,6% vs 8,99%). Z wyników grupy CEMAT wynika, że nie obserwowano zwiększonej liczby ciężarnych z cukrzycą ciążową w grupie po amniopunkcji. Nie zaobserwowano znamiennej różnicy w występowaniu w obu grupach innych powikłań ciążowych. [1]

W analizowanym materiale nie stwierdzono częstszego występowania krwawienia/ plamienia w przebiegu ciąży po amniopunkcji, jak również łożyska przodu czy przedwcześnie oddzielającego się, co jest zgodne z doniesieniami Cederholma i wsp. [11]. Większość autorów donosi o wysokim odsetku elektrywnych cięć cesarskich u pacjentek po 35. roku życia, bez względu na to, czy przebyły wcześniej inwazyjne badania prenatalne [1, 11, 12]. Autorzy polscy Ciach i wsp., porównując grupy ciężarnych przed 35. rokiem życia i po tym wieku stwierdzili, że znacznie częściej (33,9%) poród kończono przez cięcie cesarskie u kobiet powyżej 35. roku życia [13]. W naszym materiale w obu grupach, badanej i kontrolnej, cięcia cesarskie wykonywane były u 46% pacjentek; w przeważającej części były to cięcia elektrywne. Podobnie jak inni autorzy nie obserwowano częstszego występowania porodu przedwczesnego u pacjentek po amniopunkcji, w porównaniu do grupy kontrolnej [1, 7, 11, 14, 15].

Z analizowanego materiału wynika, że prawidłowo przeprowadzona procedura amniopunkcji genetycznej wykonywana pomiędzy 15. a 20. tygodniem jest bezpieczna zarówno dla matki, jak i dla płodu. Powikłanie amniopunkcji w postaci utraty ciąży, a szczególnie zdrowego płodu jest trudne do zaakceptowania dla lekarza wykonującego zabieg, a szczególnie dla matki.

Wzrost wykrywalności zaburzeń chromosomalnych w nieinwazyjnych badaniach przesiewowych stanowi o ich wysokiej wartości diagnostycznej. Prawidłowa interpretacja wyników badań przesiewowych i właściwe poradnictwo genetyczne (udział genetyka klinicznego w programie badań prenatalnych) pozwalają na odpowiednią kwalifikację pacjentek do amniopunkcji genetycznej, tym samym unika się wielu niepotrzebnych amniopunkcji i możliwych strat ciąż [16].

Wnioski

1. Amniopunkcja genetyczna wykonywana między 15. a 20. tygodniem ciąży wydaje się być procedurą bezpieczną zarówno dla matki, jak i dla płodu.
2. Wykonanie amniopunkcji nie wpływa w istotny sposób na przebieg ciąży i sposób jej zakończenia.
3. Właściwe poradnictwo genetyczne i kwalifikacja pacjentek do amniopunkcji pozwala na zmniejszenie ilości wykonywanych amniopunkcji przy zachowaniu takiego samego odsetka wykrywalności wad chromosomalnych płodów na podstawie badań nieinwazyjnych.

Piśmiennictwo

1. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and mid-trimester amniocentesis. The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. *Lancet*. 1998, 351, 242-247.
2. Milewicz P, Lipiński T, Hamela-Olkowska A, [et al.]. Genetic amniocentesis--characteristic of patients, indications, outcomes, complications. *Med Wieku Rozwoj*. 2003, 7, Suppl 1, 321-327.
3. Pitukijronnakom S, Promsonthi P, Panburana P, [et al.]. Fetal loss associated with second trimester amniocentesis. *Arch Gynecol Obstet*. 2011, 284, 793-797.
4. Seeds J. Diagnostic mid trimester amniocentesis: how safe? *Am J Obstet Gynecol*. 2004, 191, 607-615.
5. Kowalczyk D, Guzikowski W, Więcek J. Program badań prenatalnych na Opolszczyźnie w latach 2005-2008. *Gin Pol Med Project*. 2009, 1, 58-66.
6. Thorp J, Helfgott A, King E, [et al.]. Maternal death after second-trimester genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol*. 2005, 105, 1213-1235.
7. Tabor A, Vestergaard C, Lidegaard Ø. Fetal loss rate after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009, 34, 19-24.
8. Nakata N, Wang Y, Bhatt S. Trends in prenatal screening and diagnostic testing among women referred for advanced maternal age. *Prenat Diagn*. 2010, 30, 198-206.
9. Roque H, Morris B, Janicki M, Egan J. Trends in amniocentesis utilization from 1990 to 2002. *Am J Obstet Gynecol*. 2005, 193, 162.
10. Henry G, Britt D, Evans M. Reliance upon "genetic sonograms" (GS) in Colorado has led to a dramatic fall in genetic amniocentesis (GA) and a 100% increase in down syndrome (DS) birth rate in women >35: The law of unintended consequences. *Am J Obstet Gynecol*. 2006, 195, 177.
11. Cederholm M, Haglund B, Axelsson O. Maternal complications following amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal karyotyping. *BJOG*. 2003, 110, 392-399.
12. Callaway L, Lust K, McIntyre H. Pregnancy outcomes in women of very advanced maternal age. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2005, 45, 12-16.
13. Ciach K, Preis K, Swiatkowska-Freund M, Wydra D. The course of pregnancy and delivery in women after genetic amniocentesis before and after 35 years of age. *Ginekol Pol*. 2008, 79, 12-16.
14. Tongsong T, Wanpirak C, Sirivatana P, [et al.]. Amniocentesis-related fetal loss: a cohort study. *Obstet Gynecol*. 1998, 92, 64-67.
15. Philip J, Silver R, Wilson R, [et al.]. Late first-trimester invasive prenatal diagnosis: results of an international randomized trial. *Obstet Gynecol*. 2004, 103, 1164-1173.
16. Stembalska A, Łacmańska I, Dudarewicz L. Nieinwazyjne badania prenatalne w diagnostyce aneuploidii chromosomów 13,16 i 21 – aspekty teoretyczne i praktyczne. *Ginekol Pol*. 2011, 82, 126-132.