

Inwazyjna diagnostyka patologii płodu

Amniopunkcja, biopsja trofoblastu, kordocenteza

DARIUSZ BOROWSKI, KRZYSZTOF SZAFLIK

WSTĘP

Inwazyjna diagnostyka prenatalna pomimo wprowadzenia i upowszechniania się badania pozakomórkowego DNA płodu nadal pozostaje jedyną metodą, która umożliwia ustalenie rozpoznania wielu patologii u rozwijającego się płodu. Największe zastosowanie wśród tych metod w Polsce ma w dalszym ciągu zabieg amniopunkcji wykonywany po 15 tygodniu ciąży. Rozwój i zwiększenie dostępności badań DNA płodu wpływa na zmniejszanie się liczby zabiegów inwazyjnych, a to niewątpliwie przekłada się istotnie na praktykę kliniczną.

AMNIOPUNKCJA

Definicja i technika wykonania

Przed wykonaniem amniopunkcji należy uzyskać zgodę na jej przeprowadzenie. Trzeba pamiętać, że jest to jedna z zasad dobrej praktyki klinicznej. Pacjentce należy przedstawić: pisemne lub ustne uzasadnienie potrzeby wykonania badania inwazyjnego, informację o rodzaju uzyskiwanych wyników cytogenetycznych, a także o zasadach przygotowania próbki. Ciężarną należy ponadto poinformować o: ryzyku utraty ciąży w następstwie badania, trafności i ograniczeniach diagnostycznych używanego testu laboratoryjnego, odsetka niepowodzeń hodowli komórek oraz określić czas oczekiwania na wynik. Musimy także wytłumaczyć, w jaki sposób wynik zostanie przekazany i jakie będą możliwości uzyskania konsultacji specjalistycznej po jego otrzymaniu. Konieczne jest także przekazanie informacji o niezbędnym wdrożeniu profilaktyki z użyciem immunoglobuliny anti-D u pacjentek Rh-ujemnych.

Amniopunkcja (amniocenteza) polega na pobraniu igłą płynu owodniowego z worka owodniowego (ryc. 1,2). Jej najczęstszym zastosowaniem, także obecnie, jest pozyskanie materiału płodowego do badań genetycznych. Metoda ta rozwinęła się na początku lat 70. ubiegłego stulecia¹.

W zmniejszeniu ryzyka powikłań oraz problemów natury technicznej bardzo istotne są prawidłowe procedury związane z techniką wykonania tego zabiegu²⁻⁶.

Przed rozpoczęciem amniopunkcji powinniśmy odpowiednio przygotować pole do zabiegu (obłożenie powłok brzusznych ciężarnej, szerokie umycie pola). Odkażenie głowy lub zakładanie na nią odpowiednich osłon zmniejszy ryzyko powikłań infekcyjnych. Pomocne będzie także zastosowanie jałowego żelu.

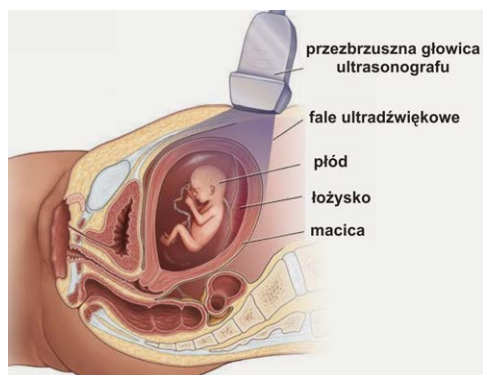
Zabieg powinien być wykonywany za pomocą igły 20-22 G. Musi się on odbywać pod ciągłą kontrolą ultrasonograficzną. Ultrasonograficzne monitorowanie wprowadzania igły do jamy macicy stało

się metodą z wyboru, płód w ciągu 30 min zmienia pozycję średnio 200 razy. Dzięki zastosowaniu monitoringu USG możemy dokładnie określić zawartość jamy macicy, a w szczególności położenie łożyska oraz pępowiny. Ciągłe monitorowanie położenia igły zmniejsza ryzyko niepowodzenia zabiegu, uszkodzenia płodu, jelit ciężarnej oraz pozwala na zredukowanie z 2,4% do 0,8% częstości przypadków, w których pobrany płyn owodniowy jest podbarwiony krwią⁷.

Większość autorów zaleca także stosowanie zdecydowanego ruchu przy wprowadzaniu igły w celu zmniejszenia napięcia błony owodniowej (ryc. 3). Rodzaj igły nie wpływa według większości uzyskanych danych na zmianę częstości występowania krwawienia czy obumarcia płodu, udowodniono natomiast wpływ użycia większej igły na szybsze uzyskanie materiału⁷⁻¹⁰.

Przez wiele lat trwała dyskusja, czy podczas amniopunkcji możemy prowadzić igłę przezłożyskowo. Pomimo braku dowodów na większą liczbę powikłań przy tego typu technice obecnie nie rekomenduje się wprowadzania igły przez łożysko, zwłaszcza w przypadku wykonywania zabiegu u kobiet Rh-ujemnych¹¹⁻¹³. Po wprowadzeniu igły do jamy owodniowej należy usunąć mandryn i pobrać 15–30 ml płynu. Aspiracji płynu dokonuje operator lub asysta. Czułość badania materiału płodowego zmniejsza obecność komórek macicznych w otrzymanej próbce. Problem ten występuje głównie w sytuacji skrwawienia próbki. Aby zmniejszyć ryzyko wystąpienia tego problemu, rekomenduje się odrzucenie pierwszych 2 ml płynu¹⁴⁻¹⁹.

Amniopunkcję możemy podzielić na „klasyczną”, wykonywaną gdy wiek ciąży wyniesie 15⁺⁰ tygodni, oraz tak zwaną wczesną, przeprowadzaną między 10 a 14 tygodniem ciąży. Pierwsze doniesienia



Rycina 1. Schemat amniopunkcji genetycznej



Rycina 2. Zdjęcie ultrasonograficzne w trakcie amniopunkcji



Rycina 3. Nakłucie powłok brzusznych podczas amniopunkcji

o potencjalnie wyższym ryzyku powikłań amniopunkcji przeprowadzanej przed 15 tygodniem ciąży pojawiły się w latach 90. ubiegłego wieku. W przypadku przeprowadzenia amniopunkcji między 10 a 14 tygodniem ciąży stwierdzono istotnie wyższe ryzyko powikłań pod postacią chorób układu oddechowego u noworodka. W porównaniu z amniopunkcją przeprowadzoną w II trymestrze ciąży częściej dochodziło do poronienia oraz przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. U dzieci, których matki poddano amniopunkcji w I trymestrze ciąży, stwierdzono ponad 10-krotnie częstsze występowanie deformacji końsko-szpotaowej stóp. Ryzyko wystąpienia tej deformacji jest wyższe niż w przypadku przeprowadzenia CVS (RR: 4,61; 95% CI: 1,82–11,66). Wedle wytycznych Royal College of Obstetricians and Gynaecologists z 2010 r. amniopunkcja genetyczna powinna być przeprowadzana po 15 tygodniu ciąży^{2-4,8,20-22}.

Pomimo powszechnego przekonania, że amniopunkcja umożliwia uzyskanie wyniku oceny materiału płodowego prawie w 100%, należy pamiętać, że częstość nieudanych hodowli komórek z płynu owodniowego wynosi ok. 0,1%. Czynniki, które zmniejszają skuteczność tej metody, są pobranie płynu owodniowego zabarwionego krwią oraz wykonanie zabiegu na późnym etapie ciąży. W 0,25% zabiegów wykrywa się mozaicyzm komórek płynu owodniowego. Stan ten stanowi wskazanie do udzielenia porady genetycznej i, w zależności od wyniku, ewentualnego pobrania krwi płodu w celu wykluczenia u niego rzeczywistego mozaicyzmu. Ryzyko nieudanej hodowli rośnie wraz z wiekiem ciążowym. W badaniu retrospektywnym dotyczącym amniopunkcji po 28 tygodniu ciąży stwierdzono, że częstość nieudanych hodowli wynosi 9,7%^{23,24}.

Powikłania amniopunkcji

Utrata ciąży

Do niedawna na podstawie wytycznych Royal College of Obstetricians and Gynaecologists opublikowanych w 2010 r. uważano, że ciężarną powinno się informować o dodatkowym ryzyku poronienia w wyniku przeprowadzenia amniopunkcji genetycznej wynoszącym ok. 1%. Najbardziej wiarygodnych danych dostarczyło prospektywne, randomizowane badanie przeprowadzone przez Tabor i wsp. Wzięło w nim udział 4606 ciężarnych w wieku 24–35 lat. Amniopunkcję wykonano z użyciem igły 20 G pod stałą kontrolą ultrasonograficzną, średni wiek ciąży w momencie przeprowadzenia zabiegu wynosił 16–18 tygodni. W badanej grupie odsetek utraty ciąży wyniósł 1,7% w porównaniu z 0,7% w grupie kontrolnej ($p < 0,01$) (CI: 95%, RR: 2,2)¹⁵. Badania o charakterze dużych badań kohortowych przeprowadzone po 2000 r. sugerowały, że ryzyko utraty ciąży po amniopunkcji jest znacznie mniejsze. Odibo i wsp. w retrospektywnym badaniu, którym objęto 58 438 ciężarnych, porównał odsetek strat ciąży u kobiet po amniopunkcji między 15 a 22 tygodniem ciąży z kobietami, które nie były poddane amniopunkcji. Stwierdził, że ryzyko straty ciąży w wyniku amniopunkcji wynosi 0,13% lub 1 na 789 przeprowadzonych zabiegów²⁵. W badaniu Eddlemana i wsp. u 35 003 ciężarnych stwierdzono, że ryzyko utraty ciąży w wyniku amniopunkcji wynosi tylko 0,06%²⁶. Ostatnio przeprowadzone metaanalizy wskazują, że ważone sumaryczne ryzyko poronienia po amniopunkcji zostało określone na 0,11% (95% CI: od –0,04 do 0,26%)²⁷. Nieco inne dane zebrali natomiast badacze z grupy Tabor. Jak wykazał opublikowany w 2016 r. przegląd przeprowadzony w Danii, obejmujący 147 987 zabiegów, częstość poronień po 28 i 42 dniach od wykonania amniopunkcji wynosiła odpowiednio 0,56% i 0,09%²⁸. Jedną z najnowszych publikacji podnoszących ten temat jest doniesienie Bety i wsp., którzy w 2018 r. opublikowali dane wskazujące, że ryzyko poronienia po amniopunkcji wynosi 0,35%²⁹.

Przedwczesne odpływanie płynu owodniowego

Odpływanie płynu owodniowego po amniopunkcji genetycznej obserwuje się w 1–2% przypadków i może być o 1% wyższe niż w ciążach, w których nie przeprowadzono amniopunkcji²³. W przeciwieństwie do samoistnego pęknięcia błon płodowych, to spowodowane amniopunkcją ma tendencję do

samoograniczania się, a jego wpływ na dalszy przebieg ciąży jest niewielki. Największy wzrost ryzyka obserwujemy w przypadkach amniopunkcji po 24 tygodniu ciąży^{30,31}.

Zapalenie błon płodowych

Zapalenie błon płodowych spowodowane amniopunkcją jest zjawiskiem rzadkim i występuje w 0,5–1,5 przypadków na 1000 przeprowadzonych zabiegów. Wiąże się ono z przypadkowym wprowadzeniem do worka owodniowego bakterii stanowiących naturalną florę skóry lub jelit. Infekcja wstępująca jest możliwa, jeśli stwierdzono cechy odpływania płynu owodniowego²³.

Konflikt serologiczny

W 2–3% przypadków amniopunkcji przeprowadzonych w II trymestrze ciąży dochodzi do matczyno-płodowego przecieku krwi w ilości przynajmniej 0,1 ml, co może prowadzić do immunizacji. U kobiet Rh-ujemnych po każdej procedurze inwazyjnej powinno się wdrożyć postępowanie profilaktyczne polegające na podaniu immunoglobuliny anti-D²³.

Wady wrodzone

Możliwość, że amniopunkcja genetyczna zwiększa ryzyko pewnych wad wrodzonych, musi być potwierdzona dalszymi badaniami. Tabor i wsp. stwierdzili częstsze występowanie zespołu ostrej niewydolności oddechowej u noworodków oraz wrodzonego zapalenia płuc w ciążach po amniopunkcji – ryzyko względne wzrosło z 2,1 do 2,5³². Hislop i wsp. zauważyli zmniejszenie wielkości oraz ilości oskrzelików oddechowych¹⁸. Odnotowano również, że amniopunkcja genetyczna w ciąży wiązała się ze zwiększeniem częstości występowania stopy końsko-szpotawej oraz dysplazji stawów biodrowych u dziecka^{33,34}.

Powikłania matczyne i okołoporodowe

Nie stwierdzono, by przeprowadzenie amniopunkcji w trakcie ciąży wiązało się ze wzrostem ryzyka: rzucawki, przedwczesnego oddzielenia się łożyska, łożyska przodującego czy porodu patologicznego³⁴. Opisano bardzo niewiele przypadków ciężkich powikłań matczyńskich związanych z amniopunkcją, obejmujących sepsę, a nawet zgon. Zdarzenia te mogą być spowodowane nieumyślnym nakłuciem jelita. Czynnikiem ryzyka zakażenia matki są także drobnoustroje, które mogą kolonizować żel ultrasonograficzny oraz głowicę ultrasonograficzną^{35–39}.

Czynnikiem, który może rzutować na częstość występowania powikłań, jest niewątpliwie doświadczenie lekarza przeprowadzającego procedurę. Powszechnie uważa się, że ryzyko utraty ciąży jest znacząco mniejsze w przypadku osób wykonujących powyżej 100 amniopunkcji rocznie⁴. W przypadku dwóch nieudanych prób pobrania płynu owodniowego należy odstąpić od wykonania zabiegu na co najmniej 24 godziny. Występowanie wad wrodzonych u płodu, krwawienia z dróg rodnych, mięśniaków macicy, wad rozwojowych macicy, wysokiego wskaźnika BMI, wielorództwa i stanu po przebytych co najmniej 3 poronieniach według większości autorów może podwyższać ryzyko utraty ciąży po amniopunkcji⁸.

BIOPSJA KOSMÓWKI

Definicja, technika wykonania

Biopsja kosmówki (CVS – chorionic villus sampling) jest zabiegiem polegającym na wkłuciu się odpowiednią igłą do struktur kosmówki i na pobraniu komórek trofoblastu z łożyska. Procedurę tę po raz pierwszy opisano w Chinach w połowie lat 70. ubiegłego wieku. Zastosowanie kliniczne datuje się na początek lat 80^{40–42}.

W trakcie wykonywania tego zabiegu igłę należy wprowadzić do łożyska pod ciągłą kontrolą ultrasonograficzną (ryc. 4,5). Zazwyczaj cel ten osiąga się albo z wolnej ręki, albo z wykorzystaniem przy-



Rycina 4. Biopsja kosmówki – ściana przednia



Rycina 5. Biopsja kosmówki – ściana tylna

stawki biopsyjnej. Brak jednoznacznych danych w piśmiennictwie różnicujących zastosowanie obu metod pod względem skuteczności i bezpieczeństwa. Z tego powodu wybór metody jest uzależniony od doświadczenia osoby wykonującej biopsję. Są dwa możliwe dostępy do łożyska: przeszłykowy oraz przezbrzuszy. W badaniu z randomizacją obejmującym 3873 kobiety w ciąży pojedynczej w przypadku obu metod odnotowano podobną częstość utraty ciąży (odpowiednio 2,3% vs 2,5%) oraz pomyślnego pobrania materiału (odpowiednio 95% vs 94%). Wyniki te wskazują jednoznacznie, że także w tym przypadku wybór metody powinien być dokonany na podstawie doświadczenia lekarza przeprowadzającego zabieg⁴³.

Metoda przeszłykowa polega na wprowadzeniu pod kontrolą USG miękkiego polietylenowego cewnika wyposażonego w metalowy mandryn do najgrubszego fragmentu kosmówki, poniżej którego pobiera się materiał do dalszych badań. Po wyjęciu mandrynu aspiruje się kosmówkę przez cewnik do 20 ml strzykawki, zawierającej 4 ml odżywki i 1 ml heparyny. Zwykle pobranie 5–10 mg kosmówki wystarcza do oceny kariotypu, chociaż można jej dokonać również z próbek mniejszych niż 5 mg po hodowli komórek. Bardziej złożone badania struktury DNA mogą wymagać do 40 mg komórek kosmówki krzewiastej. Cewniki należy znakować barem, aby zabieg można było prowadzić pod stałą kontrolą obrazu ultrasonograficznego. Długość cewnika powinna wynosić minimum 20 cm, a średnica nie mniej niż 1,5 mm (23 G). W krajach, w których metoda jest stosowana częściej niż w Polsce, do pobrania materiału drogą przeszłykową używa się kleszczyków biopsyjnych^{8,43,44}.

Przy dostępie przezbrzusznym w większości przypadków powinniśmy zastosować znieczulenie miejscowe. W tej metodzie używamy igły 17–20 G. Główną zaletą tego dostępu jest nienaruszenie szyjki macicy, które mogłoby spowodować wyzwolenie czynności skurczowej, wystąpienie poronienia, ewentualnie infekcje czy odpłynięcie płynu owodniowego. Po wprowadzeniu igły punkcyjnej do najszerszego fragmentu kosmówki porusza się nią w przód i w tył, aspirując tkankę do strzykawki przy utrzymaniu podciśnienia. Cała procedura odbywa się podobnie jak amniopunkcja, a wprowadzanie igły i aspirację obserwuje się na ekranie aparatu ultrasonograficznego^{8,43}.

Do dobrej praktyki klinicznej należy powszechnie znany i przyjęty pogląd, że CVS nie powinien być wykonywany przed 10⁺⁰ tygodniem ciąży. Uważa się, że wczesne przeprowadzenie biopsji kosmówki powoduje większe ryzyko utraty ciąży oraz wystąpienie powikłań^{4,8}.

Doniesienia pochodzące z początku lat 90. ubiegłego wieku zwróciły uwagę na zwiększony w porównaniu z populacją ogólną odsetek zespołu hipoplazji ustno-szczękowo-kończynowej (limb reduction oromandibular hypoplasia) u płodów kobiet poddanych CVS przed 10 tygodniem ciąży. Nie uzyskano wystarczających danych, aby odrzucić lub potwierdzić istnienie związku przyczynowego

między wykonaniem CVS a wystąpieniem wspomnianych wad. Jak się przypuszcza, przerwanie ukrwienia przed 10 tygodniem ciąży częściej powoduje zaburzenia rozwoju kończyn i zuchwy⁴⁵.

Podobnie jak amniopunkcja, także CVS nie jest metodą w 100% skuteczną. Nieudana hodowla cytotrofoblastu zdarza się w przypadku mniej niż 0,5% zabiegów, w których pobrano co najmniej 5 mg kosmków. Problemem jest także mozaicyzm komórek łożyska, który wykrywa się w 1% zabiegów. W takich przypadkach zaleca się udzielenie porady genetycznej; wskazane może być wykonanie amniopunkcji w celu odróżnienia prawdziwego mozaicyzmu u płodu od zaburzenia ograniczonego do łożyska²³.

Powikłania biopsji kosmówki

Utrata ciąży

Wiele raportów z ubiegłego stulecia, z kilku ośrodków medycznych, wskazywało na większe ryzyko utraty ciąży w przypadku pobrania materiału płodowego na drodze biopsji kosmówki niż przy amniopunkcji. Utratę ciąży w okresie od wykonania CVS do 28 tygodnia ciąży w ośrodkach specjalistycznych szacowano na 2–3%. Bezpieczeństwo CVS i amniopunkcji zostało porównane w trzech dużych badaniach w 1989 i 1990 r. w Kanadzie, Ameryce Północnej i Europie. W badaniach tych wykazano istotnie większą utratę ciąży po procedurze CVS niż po amniopunkcji (7,6% vs 7% w raporcie kanadyjskim, a w raporcie europejskim o 4,6% więcej poronień przed 28 tygodniem ciąży)³⁴.

Największym problemem w tym zakresie jest brak badań z randomizacją. Wszystkie próby kliniczne mają charakter retrospektywnych badań kohortowych. Jednym z największych tego typu doniesień jest analiza opublikowana przez Tabor i wsp. z 2009 r., gdzie całkowity procent utraty ciąży po CVS oceniono na 1,9%. Dla porównania, w przypadku amniopunkcji było to 1,4%³².

Najnowsze badanie polegające na ponownej analizie tej samej bazy danych wykazało, że wykonanie CVS w minimalnym stopniu wpływa na ryzyko poronienia. Ryzyko utraty ciąży do 21 dni po zabiegu wyniosło 0,21%²⁸. Podobne wyniki przyniosło badanie z grupy Akolekara z 2015 r., gdzie ryzyko utraty ciąży po CVS wyniosło 0,22%²⁷. Nieznacznie wyższe wskaźniki ryzyka utraty ciąży przynosi najnowsza praca, będąca metaanalizą z 2018 r., autorstwa Bety i wsp. Autorzy wykazują w niej ryzyko utraty ciąży po CVS na poziomie 0,35%²⁹.

Większość autorów analizujących powikłania po CVS w końcu lat 90. ubiegłego stulecia wskazuje natomiast, aczkolwiek na znacznie mniejszych grupach, na podobne ryzyko utraty ciąży w przypadkach CVS prowadzonego drogą przeszzyjkową i przezbrzuszną^{46,47}. Nowsze badania prowadzone już na podstawie metaanalizy nie potwierdzają tych obserwacji i wskazują na wyższe ryzyko CVS wykonanego drogą przeszzyjkową niż amniopunkcji po 15 tygodniu ciąży⁴⁸.

Inne powikłania

Najczęstszym powikłaniem po biopsji kosmówki jest krwawienie z dróg rodnych, dotykające ok. 10% kobiet. Częściej występuje ono w przypadku wykonywania zabiegu drogą przeszzyjkową. Podobnie rzadko dochodzi do odpływania płynu owodniowego i zapalenia błon płodowych. W piśmiennictwie nie odnotowano także przypadku wstrząsu septycznego ani zgonu ciężarnej^{49,50}. Pomimo pojedynczych doniesień sugerujących związek CVS ze zwiększonym ryzykiem stanu przedrzucawkowego oraz wewnątrzmacicznego zahamowania wzrastania płodu przeprowadzona w 2011 r. metaanaliza nie potwierdziła tych danych^{51,52}.

Jak już wcześniej wspomniano, czynnikiem zmniejszającym ryzyko występowania powikłań po zabiegach inwazyjnych jest doświadczenie osoby je wykonującej. Większość autorów podkreśla, że wykonywanie powyżej 100 zabiegów CVS rocznie zmniejsza ryzyko wystąpienia powikłań².

Historycznie opisywano deformacje kończyn po procedurze CVS. Występowały one średnio w 0,4–0,6% urodzeń. Odsetek wad kończyn po CVS według wieloośrodkowych badań wahał się między 0,06 a 1,49%. Jedne z pierwszych doniesień o wpływie CVS na malformacje płodu przedstawiono

w 1991 r. – Firth i wsp. zauważyli, że na skutek miejscowych zaburzeń krążenia i procesów zakrzepowych dochodziło do zwiększonego odsetka wad kończyn oraz letalnej postaci poprzecznej redukcji kończyn płodu, kiedy CVS wykonano między 55 a 66 dniem ciąży (w tym badaniu wspomniane wady wystąpiły u 5 płodów na 539 badanych – 1% ryzyko wady; częstość tych wad w populacji to 1:175000 vs 1:1690)³⁴.

Częstość wad kończyn płodu spada wyraźnie do 0,1%, jeżeli CVS wykona się po 9 tygodniu ciąży³⁴. Wprowadzenie zasady, że wykonanie CVS jest dopuszczalne po 10 tygodniu ciąży, prawie całkowicie zniwelowało współczesne występowanie tej nieprawidłowości. Opisywane są jedynie pojedyncze wady w postaci skrócenia paliczka dystalnego.

KORDOCENTEZA

Definicja, technika wykonania

W piśmiennictwie opisano kilka metod uzyskania dostępu do żyły pępowinowej w celu pobrania krwi płodu, między innymi najczęściej stosowaną punkcję pępowiny (kordocenteza – w miejscu przyczepu pępowiny do łożyska lub w obrębie wolnej pętli pępowiny). Inne metody to znacznie rzadziej stosowane nakłucie wewnątrzwątrobowego odcinka żyły poprzez wątrobę płodu. Terminem „kordocenteza” określa się nakłucie pępowiny (żyły pępowinowej) pod kontrolą ultrasonograficzną (ryc. 6). Zabieg ten jest przeprowadzany w celach diagnostycznych lub leczniczych. Pierwszy opis wykonania badania kordocentezy opublikowano w 1987 r. przez Orlandiego i wsp.⁵³.



Rycina 6. Kordocenteza

Większość autorów jest zgodna, że procedura ta powinna być stosowana po zakończeniu 18 tygodnia ciąży. Wtedy jest to związane z mniejszym ryzykiem poronienia⁵⁴. Zabieg wykonujemy przy użyciu igły 20–22 G. Wprowadzamy ją przez powłoki brzuszne, obserwując cały czas jej penetrację pod kontrolą ultrasonograficzną. W razie umiejscowienia łożyska na przedniej ścianie macicy zalecane jest nakłucie pępowiny na poziomie przyczepu łożyskowego. Jeżeli narząd ten znajduje się na ścianie tylnej, krew pobieramy z wolnej pętli pępowiny lub ze śródbrzusznego odcinka żyły pępowinowej. Po uwidocznieniu igły umieszczonej w miejscu docelowym przydatne może być jej przepłukanie 0,9-procentowym

roztworem NaCl w celu potwierdzenia prawidłowego położenia końcówki igły. Unikamy nakłucia tętnic pępowinowych. W momencie osiągnięcia światła żyły pępowinowej podejmujemy próbę aspiracji krwi^{8,54}.

Powikłania kordocentezy

Utrata ciąży

Ryzyko utraty ciąży po pobraniu krwi płodu na drodze kordocentezy ocenia się obecnie na 1–2%. Do czynników, które zwiększają ryzyko poronienia, zaliczamy: wady płodu, wewnątrzmaciczne zahamowanie jego wzrastania oraz wiek poniżej 24 tygodnia ciąży. Pobrania krwi płodu powinny dokonywać jedynie osoby doświadczone. Choć nie opublikowano na ten temat wiarygodnych danych, ocenia się, że ryzyko powikłań lub niepowodzenia zabiegu spada wraz z doświadczeniem operatora. Jest to jedna z przyczyn, dla których pobieranie próbki krwi płodu do jego oceny genetycznej zostało praktycznie wyparte przez biopsję kosmówki i amniopunkcję diagnostyczną. Trzeba jednak pamiętać, że kordocenteza pozostaje bardzo użytecznym zabiegiem w diagnostyce niechromosomowych chorób płodu:

infekcji, obrzęku, anemii, małopłytkowości i niektórych przypadków wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu^{8,54}.

WSKAZANIA DO INWAZYJNYCH BADAŃ PRENATALNYCH

Wskazania do amniopunkcji i biopsji kosmówki

Zgodnie ze współczesną wiedzą należy odejść od starych zasad kwalifikacji do procedur inwazyjnych, w których głównym wskazaniem był wiek ciężarnej powyżej 35 roku życia. Obecnie wskazania te to: zwiększone ryzyko aneuploidii u płodu, zwiększone ryzyko znanej choroby genetycznej lub biochemicznej u płodu, występowanie u matki choroby zakaźnej możliwej do przeniesienia na dziecko. Zwiększone ryzyko aneuploidii według najnowszych rekomendacji powinno być określone na podstawie badania przesiewowego wykonanego w I trymestrze ciąży. Obecnie najczęściej jest to test złożony I trymestru i/lub badanie pozakomórkowego DNA płodu. U pacjentek, które nie przeszły tych badań, wskazaniem do diagnostyki inwazyjnej mogą być badania biochemiczne II trymestru ciąży. Czasami wskazaniem do badań inwazyjnych są: nieprawidłowy wynik badania ultrasonograficznego, potwierdzenie aneuploidii we wcześniejszej ciąży lub obciążony wywiad rodzinny (np. nosiciel zrównoważonej translokacji lub inwersji chromosomowej). Inne wskazania to aneuploidia lub mozaicyzm u któregoś z rodziców. Jak już wspominaliśmy, zaawansowany wiek matki (>35 r.ż.) sam w sobie nie powinien stanowić wskazania do zabiegu inwazyjnego, choć w niektórych krajach czynnik ten wciąż należy do kryteriów kwalifikacji do takich procedur^{6,8}.

Problematicznym tematem są ciążę uzyskane w wyniku zastosowania technik wspomaganego rozrodu. Sam fakt wykorzystania tych technik nie wydaje się dzisiaj wskazaniem do procedur inwazyjnych. Jednak w przypadku ciąży uzyskanej na skutek wstrzyknięcia plemnika do cytoplazmy komórki jajowej (ICSI – intracytoplasmic sperm injection) z powodu oligozoospermii należy poinformować przyszłych rodziców o zwiększonym ryzyku powodujących niepłodność wad chromosomowych plemnika, które mogą zostać przekazane potomstwu płci męskiej⁸.

Wskazaniem do pobrania materiału płodowego, zwłaszcza na drodze amniopunkcji, jest także podejrzenie u matki choroby zakaźnej, która może zostać przeniesiona na płód. Z sytuacjami takimi mamy do czynienia na przykład przy zakażeniu pierwotnym lub serokonwersji w przypadku toksoplazmozy, cytomegalowirusa lub infekcji wirusem różyczki^{6,8,23}.

Wskazania do kordocentezy

Najczęstszym wskazaniem do pobrania krwi płodu na drodze kordocentezy pozostaje obecnie podejrzenie mozaicyzmu chromosomowego oraz konieczność wykonania badania hematologicznego u płodu (ocena nasilenia niedokrwistości czy liczby płytek krwi lub limfocytów)^{17,62}. Wskazania, które były częstą przyczyną wykonywania kordocentezy w poprzednich latach, takie jak oznaczenie pełnego kariotypu, oznaczenie grupy krwi oraz antygenów płytkowych, badanie genetyczne, zakażenie, badania laboratoryjne osocza lub surowicy krwi płodu, są dziś stosowane w bardzo ograniczonych okolicznościach^{6,8,54}.

ODRĘBNOŚCI W STOSOWANIU PROCEDUR INWAZYJNYCH W PRZYPADKACH CIĄŻY MNOGICH

Technika amniopunkcji w ciąży bliźniaczej

Technika zabiegu amniopunkcji w ciąży mnogiej jest uzależniona od liczby kosmówek. Dlatego najważniejszym zadaniem przed wykonaniem tej procedury jest określenie ich liczby i lokalizacji. W przypadku ciąży bliźniaczej dwukosmówkowej należy pobrać płyn owodniowy z obu worków owodniowych. Preferowana technika to nakłucie dwiema osobnymi igłami. W tym przypadku ryzyko pobrania płynu owodniowego z tego samego worka owodniowego jest bardzo małe. W razie wątpliwości można podawać do pierwszego worka barwnik (karmin indygo). Alternatywnym rozwiązaniem jest zastoso-

wanie techniki pojedynczego nakłucia z przejściem przez błonę obydwoma workami owodniowymi. W celu uniknięcia zanieczyszczenia płynem z pierwszego worka owodniowego pierwsze 1–2 ml płynu owodniowego pobranego w ten sposób należy odrzucić. Większość prac podaje podobne ryzyko utraty ciąży w przypadku stosowania obu technik^{55,56}.

Inaczej sytuacja wygląda w przypadku występowania ciąży jednokosmówkowej dwuowodniowej. Wówczas możemy pobrać płyn tylko z jednego worka, warunkiem jest jednoznaczne określenie liczby kosmówek podczas badania ultrasonograficznego wykonanego przed 14 tygodniem ciąży. W innej sytuacji należy pobrać płyn owodniowy z obu worków. Dwukrotne nakłucie obu worków owodniowych można również wykonać, kiedy ciąża stanowi wynik zapłodnienia pozaustrojowego lub wykryto rozbieżności względem anomalii lub wzrastania płodów (niewielkie ryzyko kariotypu heterozygotycznego). Jeśli stwierdzono wskazania do pobrania płynu z dwóch worków, stosuje się technikę dwóch nakłuć w celu uniknięcia jatrogennego powstania pojedynczej jamy owodni^{8,55,56}.

Technika biopsji kosmówki w ciąży bliźniaczej

Technika zabiegu CVS w przypadku ciąży mnogiej jest również zależna od liczby kosmówek. W przypadku ciąży bliźniaczej dwukosmówkowej preferujemy wykonanie dwóch oddzielnych wkłuć, po jednym w obrębie każdego trofoblastu. W celu zmniejszenia ryzyka otrzymania wyników niewiarygodnych lub niedokładnych zaleca się pobieranie materiału z łożyska w pobliżu przyczepu pępowiny i unikanie jego pobierania z okolicy wokół błony rozdzielającej worki owodniowe.

W przypadku ciąży bliźniaczej jednokosmówkowej należy wykonać pojedyncze wkłucie w pobliżu „równika” łożyska. Po zapłodnieniu pozaustrojowym lub w razie rozbieżności pod względem anomalii bądź wzrastania płodów (z powodu małego ryzyka występowania kariotypu heterozygotycznego w takich przypadkach) należy rozważyć amniopunkcję z dwoma pobraniami^{8,56}.

Utrata ciąży po inwazyjnej diagnostyce prenatalnej w przypadkach ciąży mnogiej

Najnowsza metaanaliza badań retrospektywnych wskazuje na ryzyko utraty ciąży po amniopunkcjach wykonanych w ciąży bliźniaczej na poziomie 2,59%. Wskaźnik utraty ciąży w grupie kontrolnej ciąży bliźniaczych na skutek przeprowadzonej procedury amniopunkcji wyniósł 1,53%. W badaniach tych nie stwierdzono różnicy w częstości utraty ciąży w grupach, gdzie wykonano jedno i dwa nakłucia worka owodniowego⁵⁷.

Danych opisujących częstość powikłań po CVS w ciąży mnogiej w dostępnym piśmiennictwie jest jeszcze mniej. Sumaryczna częstość utraty ciąży po procedurze CVS na podstawie największej metaanalizy jest szacowana na 3,84%. Nie stwierdzono istotnej różnicy w występowaniu powikłań po przeprowadzeniu amniopunkcji i CVS w ciąży bliźniaczej. Nie zgromadzono wystarczającej liczby danych pozwalających porównać odsetek poronień po CVS z ryzykiem podstawowym w ciąży bliźniaczej. Nie uzyskano także danych dotyczących ryzyka związanego z zabiegiem inwazyjnym w ciążach o większej liczbie płodów^{8,58,59}.

PROCEDURY WYKONYWANE PODCZAS DIAGNOSTYKI INWAZYJNEJ

Przed wykonaniem inwazyjnego zabiegu prenatalnego należy przeprowadzić u kobiety ocenę statusu czynnika Rh oraz badanie w kierunku alloprzeciwciał w surowicy; w ciągu 72 godzin po zabiegu należy podać profilaktycznie immunoglobulinę anti-D kobietom, u których nie wykryto przeciwciał anti-D, chyba że również domniemany ojciec dziecka jest Rh-ujemny.

Nie zaleca się powszechnego badania krwi w kierunku wirusów przenoszonych drogą krwionośną: wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV – hepatitis B virus), C (HCV – hepatitis C virus) ani ludzkiego wirusa niedoboru odporności (HIV – human immunodeficiency virus). Obecnie nie zaleca się też profilaktyki antybiotykowej przed zabiegiem inwazyjnym. Podczas wykonywania badania trzeba prze-

strzeżąc podstawowych zasad aseptyki. Przed wykonaniem zabiegu inwazyjnego należy określić w USG następujące parametry: liczbę płodów, obecność czynności serca płodu, lokalizację łożyska, objętość płynu owodniowego oraz wiek ciążowy. Badanie ultrasonograficzne przeprowadza się powszechnie również po zabiegu inwazyjnym w celu ustalenia częstotliwości rytmu serca płodu, oceny łożyska (obecność krwiaka) i objętości płynu owodniowego.

Wiele pacjentek, u których zaplanowano inwazyjne procedury, zwraca uwagę na problem znieczulenia przed planowanym zabiegiem. Jak wykazała metaanaliza, ból towarzyszący amniopunkcji jest niewielki, nie ma zatem dowodów uzasadniających stosowanie znieczulenia. Przed wykonaniem przezbrzuszej CVS można zastosować miejscowe znieczulenie w celu zmniejszenia dyskomfortu pacjentki związanej z użyciem większych igieł. Przed zabiegiem kordocentezy można rozważyć znieczulenie miejscowe w celu zmniejszenia ryzyka poruszenia się matki podczas zabiegu^{8,60}.

BADANIA MOLEKULARNE

Badania genetyczne obejmują:

- hodowlę komórkową
- wykonywanie preparatów do analizy cytogenetycznej (techniki prążkowe)
- analizę mikroskopową chromosomów
- analizę FISH (hybrydyzacja in situ z wykorzystaniem fluorescencji)
- analizę DNA w przypadku chorób monogenowych
- cytogenetyczne badania molekularne.

Piśmiennictwo

1. Sarto GE, Prenatal diagnosis of genetic disorders by amniocentesis. *Wis Med J*, 1970;69:255–260.
2. Kornacki J, Goździewicz T, Kwinecka B, et al. Częstość powikłań oraz dalszy przebieg ciąży u kobiet poddanych amniopunkcji wczesnej oraz amniopunkcji klasycznej; *Gin Pol*, 2007;78:443–448.
3. D'Alton ME. *Operative Obstetrics*. East Norwalk CT:Appleton & Lange, 1995.
4. Royal College of Obstetricians & Gynaecologists: Amniocentesis and chorionic villus sampling. Green-top Guideline No. 8, June 2010.
5. Wilson RD, Davies G, Gagnon A, et al. Genetics Committee of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada: Amended Canadian guideline for prenatal diagnosis (2005) change to 2005 – techniques for prenatal diagnosis. *J Obstet Gynaecol Can* 2005;27:1048–62.
6. Tabor A, Alfirevic Z. Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques. *Fetal Diagn Ther* 2010;27:1–7.
7. Cruz-Lemini M, Parra-Saavedra M, Borobio V, et al. How to perform an amniocentesis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:727–31.
8. Ghi T, Sotiriadis A, Calda P, et al., on behalf of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis in obstetrics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;48:256–68.
9. Athanasiadis AP, Pantazis K, Goulis DG, et al. Comparison between 20G and 22G needle for second trimester amniocentesis in terms of technical aspects and short-term complications. *Prenat Diagn*, 2009;29:761–5.
10. Uludag S, Aydin Y, Ibrahimova F, et al. Comparison of complications in second trimester amniocentesis performed with 20 G, 21 G and 22G needles. *J Perinat Med* 2010;38:597–600.
11. Giorlandino C, Mobili L, Bilancioni E, et al. Transplacental amniocentesis: is it really a higher-risk procedure? *Prenat Diagn* 1994;14:803–6.
12. Bombard AT, Powers JF, Carter S, et al. Procedure-related fetal losses in transplacental versus nontransplacental genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:868–72.
13. Marthin T, Liedgren S, Hammar M. Transplacental needle passage and other risk-factors associated with second trimester amniocentesis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;76:728–32.
14. Seeds JW. Diagnostic mid trimester amniocentesis: how safe? *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:607–15.
15. Tabor A, Philip J, Madsen M, et al. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986;1:1287–93.
16. Calda P, Brestak M. Amniocentesis vs standard syringe technique for amniocentesis: experience with 1219 cases. *Am J Obstet Gynecol* 2009;201:593.

17. Nuss S, Brebaum D, Grond-Ginsbach C. Maternal cell contamination in amniotic fluid samples as a consequence of the sampling technique. *Hum Genet* 1994;93:121-124.
18. Hockstein S, Chen PX, Thangavelu M et al. Factors associated with maternal cell contamination in amniocentesis samples as evaluated by fluorescent in situ hybridization. *Obstet Gynecol* 1998;92:551-6.
19. Welch RA, Salem-Elgharib S, Wiktor AE, et al. Operator experience and sample quality in genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:189-191.
20. Calhoun B, Brehm W, Bombard A. Early genetic amniocentesis and its relationship to respiratory difficulties in paediatric patients: a report of findings in patients and matched controls 3-5 years post-procedure. *Prenat Diagn* 1994;14:209-12.
21. The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. *Lancet* 1998;351:242-7.
22. Gordon MC, Narula K, O'Shaughnessy R, et al. Complications of third-trimester amniocentesis using continuous ultrasound guidance. *Obstet Gynecol* 2002;99:255-9.
23. American College of Obstetricians and Gynecologists: ACOG Practice Bulletin No. 88, December 2007. Invasive prenatal testing for aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2007;110:1459-67.
24. O'Donoghue K, Giorgi L, Pontello V, et al. Amniocentesis in the third trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 2007;27:1000-4.
25. Odibo AO, Gray DL, Dicke JM, et al. Revisiting the fetal loss rate after second-trimester genetic amniocentesis: a single center's 16-year experience. *Obstet Gynecol*, 2008;111:589-95.
26. Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L, et al. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2006;108:1067-72.
27. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, et al. Procedure related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:16-26.
28. Wulff CB, Gerds TA, Rode L, et al., Danish Fetal Medicine Study Group: The risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first trimester risk screening for Down syndrome - a national cohort of 147 987 singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2016;47:38-44.
29. Beta J, Lesmes-Heredia C, Bedetti C, et al. Risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review of the literature. *Minerva Ginecol* 2018;70-5.
30. Philip J, Silver RK, Wilson RD, et al. Late first-trimester invasive prenatal diagnosis: results of an international randomized trial; NICHD EATA Trial Group. *Obstet Gynecol* 2004;103:1164-73.
31. Borgida AF, Mills AA, Feldman DM, Rodis JF, et al. Outcome of pregnancies complicated by ruptured membranes after genetic amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:937-9.
32. Tabor A, Vestergaard CHF, Lidegaard O. Fetal loss after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;33:19-24.
33. Hislop A, Fairweather DV, Blackwell RJ, et al. The effect of amniocentesis and drainage of amniotic fluid on lung development in *Macaca fascicularis*. *Br J Obstet Gynaecol* 1984;91(9):835-42.
34. Eisenberg B, Wapner RJ. Clinical procedures in prenatal diagnosis Best Practice & Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology 2002;16(5):611-27.
35. Okyay RE, Gode F, Saatli B, et al. Late-onset maternal mortality after amniocentesis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;158:367-8.
36. Bodner K, Wierrani F, Bodner-Adler B. Maternal sepsis due to *Clostridium perfringens* after 2nd-trimester genetic amniocentesis. *J Obstet Gynaecol* 2011;31:339-40.
37. Pinette MG. Maternal death after second-trimester genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2005;106:409.
38. Elchalal U, Shachar IB, Peleg D, et al. Maternal mortality following diagnostic 2nd trimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 2004;19:195-8.
39. Plachouras N, Sotiriadis A, Dalkalitsis N, et al. Fulminant sepsis after invasive prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol* 2004;104:1244-7.
40. Bręborowicz GH (ed.). *Ginekologia i Położnictwo t.1, rozdz.6.4.8. Diagnostyka prenatalna.*
41. Department of Obstetrics and Gynecology, Tietung Hospital, Anshan, China: Fetal sex prediction by sex chromatin of chorionic cells during early pregnancy. *Chin Med J(Engl.)*1975;1:117-26.
42. Niazi M, Coleman DV, Loeffler FE. Trophoblast sampling in early pregnancy. Culture of rapidly dividing cells from immature placental villi. *Br J Obstet Gynaecol* 1981;88:1081-5.
43. Young C, von Dadelzen P, Alfirevic Z. Instruments for chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;1:CD000114.
44. Jackson LG, Zachary JM, Fowler SE, et al. A randomized comparison of transcervical and transabdominal chorionic-villus sampling. The U.S. National Institute of Child Health and Human Development Chorionic-Villus Sampling and Amniocentesis Study Group. *N Engl J Med* 1992;327:594-8.
45. Mastroiacovo P, Botto LD, Cavalcanti DP, et al. Limb anomalies following chorionic villus sampling: a registry based case-control study. *Am J Med Genet* 1992;44:856-864.

46. Donner C, Simon P, Karioun A, et al. Experience with 1251 transcervical chorionic villus samplings performed in the first trimester by a single team of operators. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995;60:45–51.
47. Smidt-Jensen S, Permin M, Philip J, et al. Randomized comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 1992;340:1237–12.
48. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;3:CD003252.
49. Brambati B, Lanzani A, Tului L. Transabdominal and transcervical chorionic villus sampling: efficiency and risk evaluation of 2,411 cases. *Am J Med Genet* 1990;35:160–4.
50. Papp C, Beke A, Mezei G, et al. Chorionic villus sampling a 15-year experience. *Fetal Diagn Ther* 2002;17:218–27.
51. Basaran A, Basaran M, Topatan B. Chorionic villus sampling and the risk of preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283:1175–81.
52. Sotiriadis A, Eleftheriades M, Chatzinikolaou F, et al. Fetal growth impairment after first-trimester chorionic villus sampling: a case-control study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015;29:1–5.
53. Orlandi F, Damiani G, Jakil C, et al. Clinical results and fetal biochemical data in 140 early second trimester diagnostic cordocenteses. *Acta Eur Fertil* 1987;18:329–33.
54. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM), Berry SM, Stone J, Norton ME, et al. Fetal blood sampling. *Am J Obstet Gynecol* 2013;209:170–80.
55. Simonazzi G, Curti A, Farina A, et al. Amniocentesis and chorionic villus sampling in twin gestations: which is best sampling technique? *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:365.e1–e5.
56. Audibert F, Gagnon A., Genetics Committee of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada; Prenatal Diagnosis Committee of the College of Medical Geneticists. Prenatal screening for and diagnosis of aneuploidy in twin pregnancies. *J Obstet Gynaecol Can* 2011;33:754–67.
57. Agarwal K, Alfirevic Z. Pregnancy loss after chorionic villus sampling and genetic amniocentesis in twin pregnancies: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012;40:128–134.
58. Wapner RJ, Johnson A, Davis G, et al. Prenatal diagnosis in twin gestations: a comparison between second-trimester amniocentesis and first-trimester chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 1993;82:49–56.
59. Simonazzi G, Curti A, Farina A, et al. Amniocentesis and chorionic villus sampling in twin gestations: which is the best sampling technique? *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:365.e1–e5.
60. Mujezinovic F, Alfirevic Z. Analgesia for amniocentesis or chorionic villus sampling. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;11:CD008580.