

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000200052



75 ΔΔ
28 610
111/1 ΣΚΕ
2002

342





A

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Ε. ΛΩΛΗΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΤΗΣ ΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΞΩΕΜΒΡΥΙΚΗΣ
ΚΟΙΛΟΤΗΤΑΣ

ΧΑΡΙΚΛΕΙΑ Α. ΣΚΕΝΤΟΥ
ΜΑΙΕΥΤΗΡΑΣ-ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2002



*« Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα »*

N. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2^η.



Η αίτηση ανάθεσης της διδακτορικής διατριβής υπεβλήθη την 1/2/96. Η τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή ορίστηκε την 7/5/96 και απαρτιζόταν από τα κάτωθι μέλη:

1. Λώλης Ε. Δημήτριος, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Παρασκευαΐδης Ευάγγελος, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Γεωργίου Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με ειδικές γνώσεις Κλινικής Γενετικής

Το θέμα ορίστηκε την 11/3/97 και η διδακτορική διατριβή κατατέθηκε την 16/12/2002 επί προεδρίας της Καθηγήτου Αγνάντη Νίκης.

Η Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή συνίστατο από τα κάτωθι μέλη:

1. Λώλης Ε. Δημήτριος, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Σοφικίτης Νικόλαος, Καθηγητής Ουρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Παρασκευαΐδης Ευάγγελος, Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
4. Στέφος Θεόδωρος, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
5. Δαλκαλίσης Νικόλαος, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Γεωργίου Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με ειδικές γνώσεις Κλινικής Γενετικής
7. Μακρυδήμας Γεώργιος, Επίκουρος Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Η διδακτορική διατριβή έγινε αποδεκτή με βαθμό «Άριστα».



Στο σεβαστό μου
Καθηγητή κ. Δ.Ε. Λώλη
με ευγνωμοσύνη



Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμότατα τον Καθηγητή μου κ. Δ.Ε. Λώλη, Διευθυντή της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την ειλικρινή αγάπη και εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντας μου τη διατριβή αυτή. Οι συμβουλές και η καθοδήγησή του ήταν πολύτιμος οδηγός και ήταν αυτές που με βοήθησαν στην ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Επίκουρο Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Γεώργιο Μακρυδήμα για τη συνεχή επιστημονική καθοδήγηση του κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής αυτής. Περισσότερο όμως τον ευχαριστώ γιατί μου εμφύσησε την αγάπη του για την έρευνα και τη συνεχή επιστημονική εκπαίδευση.

Θερμές είναι οι ευχαριστίες μου προς τον Επίκουρο Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Ιωάννη Γεωργίου, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για τις πολύτιμες υποδείξεις και τη σωστή καθοδήγησή του.

Θερμά ευχαριστώ τον Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Ευάγγελο Παρασκευαΐδη, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για την αξιόλογη και πολύπλευρη βοήθεια του καθ'όλη τη διάρκεια της ειδίκευσής μου.

Θα ήταν παράλειψη μου να μην ευχαριστήσω το φίλο και συνεργάτη Ιορδάνη Ναυρόζογλου για τη συμβολή του στην πραγματοποίηση της διατριβής αυτής.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την Αγγελική Μπεκιροπούλου και τη Σοφία Βουτηράκη, φίλες και συνεργάτες, για την αστείρευτη υπομονή τους και την ηθική υποστήριξη που μου παρείχαν.

Τέλος, ευχαριστώ όλους τους Ιατρούς, το Μαιευτικό και Νοσηλευτικό προσωπικό της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής για την προθυμία και το ενδιαφέρον τους κατά την διάρκεια της μελέτης.



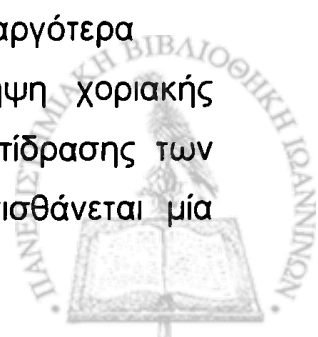
Πρόλογος

«Έστειλα αυτό το γράμμα στον εκδότη μία εβδομάδα πριν να λάβω τα αποτελέσματα της αμνιοπαρακέντησης:

«Είμαι 40 χρονών και 19 εβδομάδων έγκυος με αυτό που θεωρητικά θα είναι το τρίτο παιδί μου. Είμαι βιολόγος και ασχολούμαι με βασική έρευνα στην Ιατρική Σχολή. Όταν δίδασκα τους φοιτητές σχετικά με την αμνιοπαρακέντηση, συνήθιζα –σπάνια- να αναφέρω τη δυσκολία της αναμονής που αντιμετωπίζει μία γυναίκα στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης μέχρι να λάβει τα αποτελέσματα της εξέτασης αυτής.

Εγώ, η ίδια, αντιμετωπίζω αυτήν την κατάσταση, περιμένοντας τα αποτελέσματα για το δικό μου παιδί. Και πριν να έχω αυτή την εμπειρία, ήμουν ανέτοιμη για δύο φαινόμενα. Ένα ήταν το πόσο δύσκολη είναι η αναμονή. Η κύηση είναι βέβαια μία περίοδος αναμονής, αλλά τώρα ο χρόνος προχωρά απελπιστικά αργά. Το άλλο περισσότερο ενοχλητικό φαινόμενο είναι το πόσο η αναμονή επηρέασε την αντιμετώπιση μου ως προς την εγκυμοσύνη. Πολλές φορές αρνούμαι ότι είμαι πραγματικά έγκυος έως τη στιγμή που θα ξέρω τα αποτελέσματα. Αγνώω το φτερούγισμα και τις κινήσεις που αισθάνομαι, μιλάω για το αν θα γεννηθεί σε αντίθεση με το πότε θα γεννηθεί, είμαι απρόθυμη να παραδεχτώ σε άλλους ότι είμαι έγκυος. Ονειρεύομαι συχνά τις εκτρώσεις δευτέρου τριμήνου και κατά κάποιον τρόπο αποφεύγω να δεσμεύομαι με το παιδί που πρόκειται να έρθει. Αυτό αντιπροσωπεύει ένα από τα αρνητικά της διαγνωστικής αμνιοπαρακέντησης. Και όλα αυτά, για ένα σχετικό κίνδυνο χρωμοσωμιακής ανωμαλίας 2%.

Νομίζω ότι δεν είμαι μόνη σε αυτές τις αντιδράσεις, παρ'όλο που δεν έχω δει να αναφέρεται στη βιβλιογραφία και ο γιατρός μου ή ο σύμβουλος γενετικής δεν το συζήτησαν μαζί μου. Σας γράφω για να τονίσω στους γιατρούς την σημασία της διαγνωστικής αμνιοπαρακέντησης για τις έγκυες ασθενείς σας. Θα συνιστούσα και στους γιατρούς και στις ασθενείς, όταν ζυγίζουν το σχετικό κίνδυνο και τα οφέλη της προγεννητικής διάγνωσης που γίνεται αργότερα (αμνιοπαρακέντηση) με αυτή που γίνεται πρωιμότερα (λήψη χοριακής λάχνης), να μην υποβαθμίζουν το γεγονός της αρνητικής επίδρασης των τεσσεράμισυ μηνών που χρειάζεται να περάσουν για να αισθάνεται μία γυναίκα ότι είναι έγκυος».



Την επόμενη μέρα, και πριν να ταχυδρομήσω αυτό το γράμμα, έλαβα τα αποτελέσματα και δυστυχώς ήταν τα άσχημα: τρισωμία 21. Από τότε σκέφτομαι τη διακοπή δευτέρου τριμήνου. Από τη πλευρά μου σήμερα και μετά τη θλίψη και την αιφνίδια αυτή συναισθηματική απώλεια, προτρέπω τους κλινικούς γιατρούς να βοηθήσουν τους ασθενείς να αποφύγουν την άρνηση που περιέγραψα στο γράμμα μου. Ο σύζυγος μου και εγώ προσπαθήσαμε να κρύψουμε τα συναισθήματά μας. Θεωρείται δεδομένο ότι κάποιος θα κρατήσει μυστική την εγκυμοσύνη του μέχρι να έχει τα αποτελέσματα της αμνιοπαρακέντησης, διότι εάν κάτι δεν πάει καλά δε θα το πει σε κανένα. Αλλά τώρα πιστεύω ότι αυτό είναι λάθος. Μετά από το κακό αποτέλεσμα που είχαμε, ο σύζυγος μου και εγώ το είπαμε σε όλους. Η αμέριστη συμπαράσταση από φίλους, συγγενείς και οικογένεια μας βοήθησε να επιβιώσουμε από τη δοκιμασία της διακοπής μιας επιθυμητής εγκυμοσύνης. Κρατώντας την απώλεια αυτή μυστική, θα στερούσαμε τους εαυτούς μας από αυτή τη συμπαράσταση”.

Αυτά περιγράφει η Hodge το 1989 από την προσωπική της εμπειρία στο βιβλίο “Prenatal Diagnosis. The human side” (Abramsky and Chapple, 1994) Είναι λοιπόν πολύ σημαντικό να βρεθεί μία επεμβατική μέθοδος που να γίνεται πρώιμα στην κύηση έτσι ώστε να μειώνεται όσο είναι δυνατό το άγχος των γονέων. Αυτή η μέθοδος είναι η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας που προσέφερε για πρώτη φορά τη δυνατότητα μελέτης του εμβρυϊκού και εξωεμβρυϊκού χώρου σε αρχόμενη κύηση και που χρησιμοποιήθηκε για προγεννητική διάγνωση πρώτου τριμήνου, μεταξύ 6 και 12 εβδομάδων.



Πίνακας Περιεχομένων

	Σελ.
Γενικό Μέρος	
Εισαγωγή	
1. Screening για χρωμοσωμιακές ανωμαλίες με μέτρηση αυχενικής διαφάνειας	19
2. Βιοχημικοί δείκτες πρώτου τριμήνου	25
3. Βιοχημικοί δείκτες δευτέρου τριμήνου	26
4. Υπερηχογραφικοί δείκτες χρωμοσωμιακών ανωμαλιών 2 ^{ου} και 3 ^{ου} τριμήνου	27
5. Μη επεμβατική διάγνωση χρωμοσωμιακών ανωμαλιών	30
5.1. Τραχηλικά εκπλύματα	30
5.2. Εμβρυϊκά κύτταρα στη μητρική κυκλοφορία	31
6. Επεμβατικές τεχνικές προγεννητικού ελέγχου	34
6.1. Αμνιοπαρακέντηση	34
6.2. Πρώιμη αμνιοπαρακέντηση	42
6.3. Λήψη χοριακής λάχνης	44
6.4. Παρακέντηση του ομφαλίου λώρου	51
6.5. Παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας	55
6.5.α Εμβρυολογία	55
6.5.β Εμβρυονική φυσιολογία	61
7. Σκοπός της μελέτης	73
Ειδικό μέρος	
Υλικό και μέθοδος	77
Αποτελέσματα	79
Συζήτηση	83
Συμπεράσματα	89
Περίληψη	91
Summary	93
Βιβλιογραφία	95



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η προγεννητική διάγνωση ήταν αδύνατη μόλις πριν από τριάντα χρόνια και ένα μεγάλο χρονικό διάστημα αναλώθηκε για την καθιέρωσή της. Καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη της προγεννητικής διάγνωσης ήταν η εξέλιξη των μαιευτικών επεμβατικών μεθόδων. Παράλληλα εξελίχθηκαν η γενετική και η μοριακή βιολογία έτσι ώστε είναι δυνατή η ανίχνευση των εμβρύων με γενετικές διαταραχές. Οι πρώτες προσπάθειες για κυτταρογεννητική διερεύνηση του εμβρύου ξεκίνησαν στα τέλη της δεκαετίας του '60 και συγκεκριμένα το 1966 όταν αποδείχτηκε ότι τα κύτταρα του αμνιακού υγρού ήταν κυρίως εμβρυϊκά και επομένως ήταν δυνατόν να μας δώσουν πληροφορίες για τη χρωμοσωματική σύσταση του εμβρύου. Εκατό χρόνια πριν ο Langdon Down ανέφερε ότι το δέρμα ατόμων με τρισωμία 21 φαίνεται να είναι πολύ μεγάλο σε σχέση με το σώμα τους.

Το 1990 διαπιστώθηκε ότι η περίσσεια δέρματος σε άτομα με σύνδρομο Down μπορεί να γίνει υπερηχογραφικά αντιληπτή ως αυχενική διαφάνεια κατά το πρώτο τρίμηνο της ενδομήτριας ζωής.

«Τα μαλλιά δεν είναι μαύρα, όπως των πραγματικών Μογγόλων, αλλά καστανωπά, λιγοστά και ίσια. Το πρόσωπο είναι επίπεδο και ευρύ, χωρίς έντονα χαρακτηριστικά. Τα μάγουλα είναι στρογγυλά και εκτείνονται προς τα πλάγια. Τα μάτια είναι λοξά και η απόσταση μεταξύ των έσω κανθών είναι μεγαλύτερη απ'ό,τι συνήθως. Η βλεφαρική σχισμή είναι πολύ στενή. Το μέτωπο φέρει εγκάρσιες ρυτίδες λόγω της συνεχούς συμμετοχής του μετωποϊνιακού μυός στο άνοιγμα των ματιών που γίνεται από τους ανελκτήρες των βλεφάρων. Τα χείλη είναι μεγάλα και παχειά με εγκάρσιες γραμμώσεις. Η γλώσσα είναι μακριά, παχειά και πολύ τραχειά. Η μύτη είναι μικρή. Η επιδερμίδα έχει μια ελαφρώς ρυτταρή, κιτρινωπή χροιά και στερείται ελαστικότητας, δίνοντας την εντύπωση ότι είναι πολύ μεγάλη για το σώμα.»

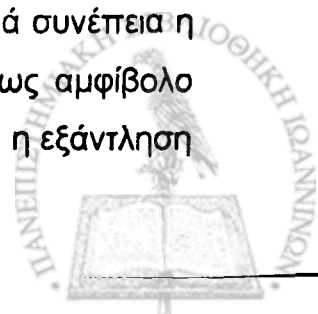
Το παραπάνω κείμενο είναι ένα απόσπασμα από τη μελέτη «Παρατηρήσεις για την φυλετική κατανομή των ατόμων με ιδιωτεία» που δημοσιεύτηκε το 1866 από τον Langdon Down. Ο Down, που ήταν γιατρός στο London Hospital, εισήγαγε τον όρο «Μογγολοειδής ιδιωτεία» διότι είχε την εντύπωση

ότι μια ομάδα ασθενών του έμοιαζε με τους Μογγόλους και αυτό ταίριαζε με τη θεωρία του περί «οπισθοδρόμησης», των φυλετικών ομάδων. Η θεωρία του Down περί φυλετικής οπισθοδρόμησης συμπορεύεται με τις επιστημονικές αντιλήψεις του Darwin για την εξέλιξη. Το 1924 ο Crookshank εξέφρασε την άποψη ότι η οπισθοδρόμηση δεν παρατηρείται μόνο προς έναν πρωτόγονο, Ανατολικό τύπο, αλλά και προς τον ουραγκοτάγκο. Παρ'όλο που η θεωρία της φυλετικής οπισθοδρόμησης αποδείχθηκε ανακριβής, η περιγραφή του Down για την εικόνα του δέρματος αποτέλεσε τη βάση για μια παρατήρηση που έγινε 120 χρόνια αργότερα: τα πάσχοντα άτομα, κατά τον 3^ο μήνα της ενδομήτριας ζωής, παρουσιάζουν μια υποδόρια συλλογή υγρού πίσω από το λαιμό, η οποία μπορεί να γίνει αντιληπτή υπερηχογραφικά ως αυχενική διαφάνεια.

Ο Langdon Down το 1866 και οι Fraser και Mitchell το 1876 διαπίστωσαν ότι η κατάσταση είναι συγγενής και ξεκινά από την ενδομήτρια ζωή, ενώ ο Goddard το 1914 βρήκε πως δεν υπάρχει αυξημένη οικογενειακή επίπτωση. Αρκετές καταστάσεις ενοχοποιήθηκαν ως πιθανές αιτίες του συνδρόμου Down συμπεριλαμβάνοντας τη σύφιλη, τη φυματίωση, τον αλκοολισμό των γονέων, την επιληψία, τη νευρική αστάθεια και τη νοητική καθυστέρηση σε στενό συγγενή, τον υποθυρεοειδισμό, την υποπλασία των εμβρυϊκών επινεφριδίων, τη δυσλειτουργία της εμβρυϊκής υπόφυσης και τις ανωμαλίες του εμβρυϊκού θύμου αδένου (Down, 1866, Shuttleworth, 1909, Cafferata, 1909, Caldecott, 1909, Tredgold, 1908, Stoeltzner, 1919, Benda και Bixby, 1939, Barnes, 1923)

Η σχέση μεταξύ του συνδρόμου Down και της αυξημένης ηλικίας της μητέρας παρατηρήθηκε το 1909 από τον Shuttleworth, ο οποίος μελέτησε 350 περιστατικά και ανέφερε ότι:

«Το συμπέρασμα φαίνεται να είναι σωστό... Πάνω από το ήμισυ των ατόμων με Μογγολισμό που νοσηλεύονται σε ιδρύματα προέρχονται από πολυπληθείς οικογένειες, είναι γεννημένα τελευταία στη σειρά και σε αξιόλογο ποσοστό-το ένα τρίτο έως και το ήμισυ αυτών-είχαν μητέρες που κατά την εποχή της κύησης πλησίαζαν στην κλιμακτήριο και κατά συνέπεια η αναπαραγωγική τους ικανότητα βρισκόταν σε ύφεση. Είναι όμως αμφίβολο ποιος από τους δύο παράγοντες- η μεγάλη ηλικία της μητέρας ή η εξάντληση



της από ένα μεγάλο αριθμό κυήσεων στο παρελθόν - είναι ο πιο σημαντικός».

Ως αποτέλεσμα των παραπάνω παρατηρήσεων, οι υποθέσεις βασίστηκαν στο θεωρητικό γεγονός της εκφύλισης του ωαρίου (Jenkins, 1933, Rosanoff και Handy, 1934, Bleyer, 1934). Ωστόσο, η μεγάλη ηλικία της μητέρας δε θα μπορούσε να αποτελεί το μόνο παράγοντα, διότι σε ορισμένες περιπτώσεις φαινόταν να υπεισέρχεται και κληρονομικός παράγοντας. Λόγου χάρη, οι μονοζυγωτικοί δίδυμοι επηρεαζόταν εξίσου, πράγμα που δεν ίσχυε για τους διζυγωτικούς (Halbertsma, 1923). Επίσης παρατηρήθηκε ότι η κατάσταση μπορούσε να μεταδοθεί από τη μητέρα στο παιδί και αν παραπάνω από ένα μέλη μιας οικογένειας νοσούσε, η σημασία της μητρικής ηλικίας έμοιαζε να είναι αδύναμη (Lelong και συν., 1949, Rehn και Thomas, 1957, Penrose, 1951, Penrose, 1953). Η διαπίστωση του μη αποχωρισμού των χρωμοσωμάτων στο σύνδρομο Down έγινε από τον Waardenburg το 1932. Το 1934 ο Bleyer πρότεινε ότι μια άνιση μετάθεση των χρωμοσωμάτων κατά την κυτταρική διαίρεση μπορεί να οδηγήσει σε τρισωμία.

Το 1956 οι Tjio και Levan, μελετώντας με βελτιωμένες τεχνικές καλλιέργειες πνευμονικών ινοβλαστών, διαπίστωσαν ότι ο φυσιολογικός διπλοειδικός αριθμός χρωμοσωμάτων είναι 46. Την ίδια χρονιά, οι Ford και Hamerton ανακάλυψαν ότι ο απλοειδικός αριθμός χρωμοσωμάτων στα ανθρώπινα σπερματοκύτταρα ήταν 23. Οι ανακαλύψεις αυτές οδήγησαν ένα μεγάλο αριθμό εργαστηρίων να μελετήσουν τον καρυότυπο σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Έτσι, το 1959 οι Lejeune και συν. και οι Jacobs και συν. απέδειξαν ότι ένα επιπλέον ακροκεντρικό χρωμόσωμα υπάρχει στα άτομα με σύνδρομο Down, πράγμα που οδηγεί σε απλοειδικό αριθμό χρωμοσωμάτων (47). Υπήρχαν όμως οικογενείς περιπτώσεις με σύνδρομο Down, που δεν αποτελούσαν αποτέλεσμα τρισωμίας. Το 1960 οι Polani και συν. μελέτησαν τα χρωμοσώματα ενός παιδιού με σύνδρομο Down μητέρας 21 ετών. Υπήρχαν 46 χρωμοσώματα με κεντρική συγχώνευση δύο χρωμοσωμάτων (15:21). Η οικογενής μεταβίβαση της μετάθεσης αυτού του τύπου αποδείχτηκε το 1960 από τον Penrose και συν. σε μια οικογένεια που δυο μέλη της είχαν σύνδρομο Down. Το 1961 οι Clarke και συν. παρουσίασαν την περίπτωση ενός δίχρονου κοριτσιού φυσιολογικής νοημοσύνης, αλλά με κάποια φυσικά

χαρακτηριστικά ενδεικτικά του συνδρόμου Down. Ανακαλύφθηκε ότι αποτελούσε μωσαϊκό από φυσιολογικά και τρισωμικά κύτταρα.

Σήμερα ξέρουμε ότι το σύνδρομο Down συμβαίνει γιατί ολόκληρο ή ένα τμήμα του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 21 είναι παρών σε τρία ζεύγη και όχι σε δύο. Αυτό μπορεί να συμβεί ως αποτέλεσμα τριών μηχανισμών: μη διαχωρισμού, που συμβαίνει σε περίπου 95% των περιπτώσεων, μετάθεσης και μωσαικισμού. Το 1991 οι Antonarakis και συν. εξέτασαν τον πολυμορφισμό του DNA σε παιδιά με σύνδρομο Down και έδειξαν ότι 95% από τις περιπτώσεις μη διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων είναι μητρικής προέλευσης. Η περιοχή που κωδικοποιεί τον φαινότυπο των περισσότερων περιπτώσεων συνδρόμου Down είναι το περιφερικό τμήμα της ζώνης d q21.1 και των ζωνών q22.2 και q22.3. Αυτή η περιοχή καθορίζει τα χαρακτηριστικά του προσώπου, τις καρδιακές ανωμαλίες, τη διανοητική καθυστέρηση και πιθανά τις δερματικές αλλαγές των προσβεβλημένων ατόμων.

Το 1966, 100 χρόνια αργότερα από το δοκίμιο του Langdon Down, έγινε δυνατή η διάγνωση της τρισωμίας 21 προγεννητικά εκτελώντας καρυότυπο σε καλλιέργειες κυττάρων αμνιακού υγρού (Steele και Berg, 1966, Valenti και συν., 1968).

Η πρώτη μέθοδος διαλογής για τρισωμία 21, που εισήχθη στις αρχές της δεκαετίας του '70, βασίστηκε στην παρατήρηση του Shuttleworth για την συσχέτιση με την ηλικία της μητέρας. Ήταν εμφανές ότι η αμνιοπαρακέντηση ενέχει ένα κίνδυνο αποβολής και το γεγονός αυτό, μαζί με το κόστος της εξέτασης, σήμαινε ότι η εξέταση αυτή δεν μπορούσε να προσφερθεί σε όλες τις έγκυες γυναίκες. Συνεπώς, η αμνιοπαρακέντηση προσφερόταν μόνο στις γυναίκες που ήταν τουλάχιστον 40 ετών. Βαθμιαία, όσο η αμνιοπαρακέντηση έγινε πιο διαδεδομένη, και φαινόταν να είναι "ασφαλής", η ομάδα "υψηλού κινδύνου" αναθεωρήθηκε για να συμπεριλάβει γυναίκες με ηλικία μεγαλύτερη των 35 ετών. Αυτή η ομάδα "υψηλού κινδύνου" περιλάμβανε το 5% των εγκύων γυναικών.

Τα τελευταία 20 χρόνια δύο δογματικές τακτικές προέκυψαν όσον αφορά τις μεθόδους διαλογής. Η πρώτη, κυρίως σε χώρες με ιδιωτικό σύστημα υγείας, προσκόλλησε στο δόγμα της ηλικίας των 35 ή του αντίστοιχου κινδύνου. Επειδή η ηλικία των εγκύων γυναικών στις περισσότερες αναπτυγμένες χώρες έχει αυξηθεί, το ποσοστό θετικού screening τώρα αποτελεί το 10% των

κυήσεων. Η δεύτερη τακτική, κυρίως σε χώρες με εθνικό σύστημα υγείας, προσκόλλησε στο δόγμα της προσφοράς επεμβατικού προγεννητικού ελέγχου στο 5% των γυναικών με τον υψηλότερο κίνδυνο. Τα τελευταία 20 χρόνια, το όριο ηλικίας για επεμβατική μέθοδο προγεννητικού ελέγχου αυξήθηκε από 35 σε 37 έτη. Στη μέθοδο διαλογής με βάση τη μητρική ηλικία, χρησιμοποιώντας το όριο των 37 ετών, 5% του πληθυσμού κατατάσσονται σε ομάδα "υψηλού κινδύνου" και η ομάδα αυτή περιλαμβάνει περίπου το 30% των εμβρύων με τρισωμία 21.

Στο τέλος της δεκαετίας του '80 μια καινούργια μέθοδος εισήχθη λαμβάνοντας υπόψη όχι μόνο την ηλικία της μητέρας αλλά και διάφορα εμβρυοπλακουντιακά παράγωγα στη μητρική κυκλοφορία. Στις 16 εβδομάδες κύησης, η μέση συγκέντρωση της α εμβρυϊκής πρωτεΐνης (AFP), οιστριόλης και ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG) (ολικής και ελεύθερης β) στον ορό της μητέρας σε κυήσεις με τρισωμία 21 είναι αρκετά διαφορετικές από τις φυσιολογικές, έτσι ώστε να είναι δυνατή η χρήση των συνδυασμών κάποιων ή όλων αυτών των προϊόντων για την επιλογή της ομάδας "υψηλού κινδύνου". Αυτή η μέθοδος διαλογής είναι περισσότερο αποτελεσματική από την ηλικία της μητέρας, και για το ίδιο ποσοστό επεμβατικού προγεννητικού ελέγχου (περίπου 5%), μπορεί να εντοπίσει περίπου 60% των εμβρύων με τρισωμία 21.

Στις αρχές της δεκαετίας του '90, διαπιστώθηκε ότι σε άτομα με σύνδρομο Down η περίσσεια δέρματος γίνεται υπερηχογραφικά αντιληπτή ως αυχενική διαφάνεια κατά το πρώτο τρίμηνο της ενδομήτριας ζωής. Έτσι, εισάγεται η μέθοδος διαλογής με συνδυασμό της μητρικής ηλικίας και της μέτρησης του πάχους της εμβρυϊκής αυχενικής διαφάνειας.

1. SCREENING ΓΙΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΑΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΜΕ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΥΧΕΝΙΚΗΣ ΔΙΑΦΑΝΕΙΑΣ

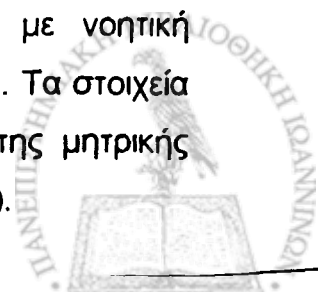
Το πάχος της εμβρυϊκής αυχενικής διαφάνειας σε συνδυασμό με την ηλικία της μητέρας, οδήγησαν στην εισαγωγή μιας αποτελεσματικής μεθόδου διαλογής για την τρισωμία 21. Στο 5% του πληθυσμού των εγκύων όπου εφαρμόζονται επεμβατικές μέθοδοι, έχει διαγνωστεί το 75% των κυήσεων με τρισωμία. Όταν μάλιστα ληφθούν υπόψη τα επίπεδα των βιοχημικών δεικτών στο μητρικό ορό [ελεύθερη ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (free β-hCG)

και πρωτεΐνη του πλάσματος συνδεόμενη με την κύηση (PAPP-A)] στην 11^η-14^η εβδομάδα, τότε το ποσοστό των χρωμοσωμιακών ανωμαλιών που διαγιγνώσκεται ανέρχεται στο 90%. Επιπλέον, η ανάπτυξη νέων μεθόδων βιοχημικής εξέτασης, μέσα σε 30 λεπτά από τη λήψη του αίματος, μας έχει δώσει τη δυνατότητα να εισαγάγουμε κλινικές για τον καθορισμό του κινδύνου σε μία επίσκεψη [One Stop Clinic for Assessment of Risk (OSCAR)].

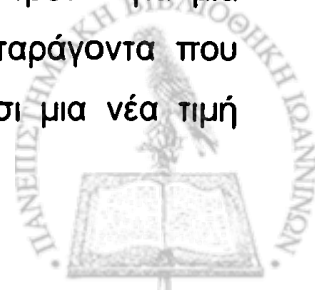
Πέρα από τη συμβολή της στην εκτίμηση του κινδύνου για τρισωμία 21, η αυξημένη αυχενική διαφάνεια μπορεί να βοηθήσει στον εντοπισμό και άλλων χρωμοσωμιακών ανωμαλιών και συνδυάζεται με σημαντικές ανωμαλίες στην καρδιά και στα μεγάλα αγγεία καθώς και με μεγάλο εύρος σκελετικών δυσπλασιών και γενετικών συνδρόμων. Πιθανοί μηχανισμοί που προκαλούν αυξημένη αυχενική διαφάνεια είναι: η καρδιακή ανεπάρκεια, η φλεβική συμφόρηση στην κεφαλή και στον τράχηλο λόγω συμπίεσης του άνω μεσοθωρακίου, αλλοίωση στη σύνθεση του εξωκυττάριου υγρού, η καθυστερημένη ή μη φυσιολογική ανάπτυξη του λεμφικού συστήματος, ανεπάρκεια της λεμφικής παροχέτευσης λόγω δυσχέρειας των εμβρυϊκών κινήσεων, αναιμία του εμβρύου ή συγγενής λοίμωξη. Στα οφέλη του υπερηχογραφήματος της 11^{ης} - 14^{ης} εβδομάδας περιλαμβάνονται η επιβεβαίωση πως το έμβρυο είναι ζωντανό, ο ακριβής καθορισμός της ηλικίας κύησης, η έγκαιρη διάγνωση σοβαρών εμβρυϊκών ανωμαλιών καθώς και η διάγνωση των πολύδυμων κυήσεων. Παρέχει επίσης την δυνατότητα εκτίμησης και διάγνωσης της χοριονικότητας, στοιχείο που αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την εξέλιξη των πολύδυμων κυήσεων.

Υπολογισμός του κινδύνου χρωμοσωμιακών ανωμαλιών

Οι εκτιμήσεις του σχετιζόμενου με την ηλικία της μητέρας κινδύνου για τρισωμία 21 κατά τη γέννηση βασίζονται σε 2 έρευνες, στις οποίες σχεδόν όλα τα αποτελέσματα διερευνήθηκαν διεξοδικά. Σε μία έρευνα που έγινε στο Ν. Βέλγιο κάθε νεογνό εξετάστηκε για χαρακτηριστικά της τρισωμίας 21 και σε αντίστοιχη έρευνα που έγινε στη Σουηδία οι πληροφορίες επιβεβαιώθηκαν από διάφορες πηγές όπως τα αρχεία των νοσοκομείων, εργαστήρια κυτταρογενετικής, κλινικές γενετικής και σχολεία για άτομα με νοητική καθυστέρηση (Koulisher και συν., 1980, Hook και Lindsjo, 1978). Τα στοιχεία αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της επίπτωσης της μητρικής ηλικίας στην τρισωμία 21 κατά τη γέννηση (Hecht και Hook, 1994).



Κάθε γυναίκα διατρέχει τον κίνδυνο το έμβρυο ή το παιδί της να έχει κάποια χρωμοσωμιακή ανωμαλία. Ο κίνδυνος για πολλές χρωμοσωμιακές ανωμαλίες αυξάνει με την ηλικία της μητέρας. Επιπλέον, επειδή τα έμβρυα με χρωμοσωμιακές ανωμαλίες έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να πεθάνουν ενδομήτρια, ο κίνδυνος μειώνεται όσο αυξάνει η ηλικία κύησης. Για να υπολογιστεί ο ατομικός κίνδυνος είναι απαραίτητο να ληφθεί υπόψη ο βασικός κίνδυνος (που εξαρτάται από την ηλικία της μητέρας, την ηλικία κύησης και προηγούμενο ιστορικό χρωμοσωμιακών ανωμαλιών), ο οποίος θα πολλαπλασιαστεί με μια σειρά παραγόντων που εξαρτώνται από τα αποτελέσματα μιας σειράς δοκιμασιών διαλογής που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της κύησης. Κάθε φορά που πραγματοποιείται μια εξέταση, ο βασικός κίνδυνος πολλαπλασιάζεται επί τον παράγοντα της δοκιμασίας, για να προκύψει μια νέα τιμή κινδύνου που αποτελεί τον βασικό κίνδυνο για την επόμενη δοκιμασία (Snijders και Nicolaidis, 1996). Αυτή η διαδικασία ονομάζεται sequential screening. Με την εισαγωγή του OSCAR αυτό μπορεί να επιτευχθεί σε μια μόνο συνεδρία στις 12 εβδομάδες της κύησης. Η αυχενική διαφάνεια φυσιολογικά αυξάνει με την κύηση. Σε ένα έμβρυο με ορισμένο κεφαλοουριαίο μήκος, κάθε μέτρηση της αυχενικής διαφάνειας αντιπροσωπεύει ένα παράγοντα που πολλαπλασιαζόμενος με τον βασικό κίνδυνο μας δίνει μια νέα τιμή κινδύνου. Όσο μεγαλύτερη είναι η αυχενική διαφάνεια τόσο μεγαλύτερος γίνεται ο συντελεστής και άρα και η νέα τιμή κινδύνου. Αντιστρόφως, μικρή αυχενική διαφάνεια σημαίνει μικρότερο συντελεστή και επομένως χαμηλότερο κίνδυνο. Τα επίπεδα της ελεύθερης β-hCG στο μητρικό αίμα φυσιολογικά ελαττώνονται στην κύηση. Όσο υψηλότερα είναι τα επίπεδα της β-hCG, τόσο υψηλότερος ο κίνδυνος για τρισωμία 21. Έτσι, για κάθε κύηση το επίπεδο της hCG αντιπροσωπεύει ένα συντελεστή που πολλαπλασιαζόμενος με τον βασικό κίνδυνο δημιουργεί μια νέα τιμή κινδύνου. Τα επίπεδα της PAPP-A στο μητρικό αίμα φυσιολογικά αυξάνουν με την κύηση. Όσο χαμηλότερη είναι η τιμή της PAPP-A, τόσο υψηλότερος είναι ο κίνδυνος για τρισωμία 21. Με τον ίδιο τρόπο για μια δεδομένη κύηση κάθε τιμή PAPP-A αντιπροσωπεύει ένα παράγοντα που πολλαπλασιάζεται με τον βασικό κίνδυνο και προκύπτει έτσι μια νέα τιμή κινδύνου.



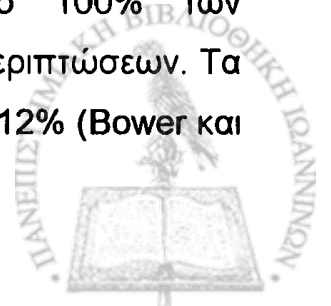
Οι Snijders και συν. εξέτασαν την επίπτωση της τρισωμίας 21 σε 57.614 γυναίκες στις οποίες έγινε εξέταση του εμβρυϊκού καρυότυπου στην 9^η-16^η εβδομάδα κύησης έχοντας ως μόνη ένδειξη την ηλικία άνω των 35. Αυτή η ομάδα περιελάμβανε 538 κυήσεις με Τρισωμία 21 (Snijders και συν., 1994, Snijders και συν., 1995). Βρέθηκε ότι η συχνότητα της τρισωμίας 21 ήταν μεγαλύτερη σε αρχόμενες κυήσεις απ' ό,τι κατά τη γέννηση. Τα ποσοστά εμβρυϊκών θανάτων μειώθηκαν σταδιακά από 36% στις 10 εβδομάδες σε 30% στις 12 εβδομάδες και σε 21% στις 16 εβδομάδες (Snijders και συν., 1994).

Σε μια παρόμοια μελέτη οι Halliday και συν. (1995) σύγκριναν την επίπτωση της Τρισωμίας 21 σε 10.545 γυναίκες στις οποίες έγινε λήψη χοριακής λάχνης ή αμνιοπαρακέντηση, με την επίπτωση σε 12.921 γεννήσεις ζώντων νεογνών από γυναίκες παρόμοιας ηλικίας στις οποίες δεν έγινε εξέταση καρυότυπου. Το υπολογισθέν ποσοστό εμβρυϊκών θανάτων μεταξύ 10^{ης} εβδομάδας και τοκετού ήταν 31%, ενώ μεταξύ 16^{ης} εβδομάδας και τοκετού ήταν 18%. Οι Morris και συν μελέτησαν τα στοιχεία από 4.148 κυήσεις με τρισωμία 21 που δηλώθηκαν στο National Down Syndrome Cytogenetic Register στο Ηνωμένο Βασίλειο λαμβάνοντας υπόψη τις περιπτώσεις στις οποίες έγινε διακοπή κύησης λόγω επιλογής των γονέων. Ο πληθυσμός της μελέτης περιελάμβανε 441 περιπτώσεις που διαγνώστηκαν στις 11-13 εβδομάδες και 2035 περιπτώσεις που διαγνώστηκαν στις 16-18 εβδομάδες. Υπολογίστηκε ότι οι θάνατοι μεταξύ 12-16 εβδομάδων και μεταξύ 16 εβδομάδων μέχρι τέλος της κύησης ήταν 31% και 24% αντίστοιχα (Morris και συν., 1999). Οι εκτιμήσεις τους για αυτόματη αποβολή στο πρώτο τρίμηνο και στο τέλος της κύησης είναι χαμηλότερες από το 48% που ανακοίνωσαν οι Machintosh και συν. οι οποίοι συνέκριναν τη συχνότητα της τρισωμίας 21 κατά το χρόνο που γίνεται λήψη εμβρυϊκής λάχνης και κατά τη γέννηση. Η πιο πιθανή ερμηνεία για το υψηλό ποσοστό (48%) συγκρινόμενο με τα ποσοστά που προκύπτουν από άλλες μελέτες (31%) είναι το ότι η μελέτη περιελάμβανε ορισμένες περιπτώσεις στις οποίες η λήψη χοριακής λάχνης έγινε πριν τη 10^η εβδομάδα (Macintosh και συν., 1995).

Παρόμοιες μέθοδοι χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση του κινδύνου και για άλλες χρωμοσωμιακές ανωμαλίες (Snijders και συν., 1995). Ο κίνδυνος για τις τρισωμίες 18 και 13 αυξάνει με την ηλικία της μητέρας ενώ μειώνεται με την ηλικία κύησης. Το ποσοστό ενδομήτριας θνησιμότητας μεταξύ 12^{ης}-40^{ης}

εβδομάδας είναι περίπου 80% . Το σύνδρομο Turner οφείλεται συνήθως στην απώλεια του πατρικού χρωμοσώματος X και συνεπώς, η συχνότητα της σύλληψης 45X εμβρύων – αντίθετα με άλλες τρισωμίες – δε σχετίζεται με την ηλικία της μητέρας. Η συχνότητα του συνδρόμου είναι 1/1500 στις 12 εβδομάδες, 1/3000 στις 20 εβδομάδες και 1/4000 στις 40 εβδομάδες. Για τις άλλες φυλετικές χρωμοσωμιακές ανωμαλίες (47 XXΧ, 47 XXΥ και 47 ΧΥΥ) δεν υπάρχει σημαντική μεταβολή σε σχέση με την ηλικία της μητέρας και εφόσον το ποσοστό ενδομήτριου θανάτου δεν είναι υψηλότερο από αυτό των φυσιολογικών χρωμοσωμιακά εμβρύων, η συνολική επίπτωση (περίπου 1/500) δεν ελαττώνεται με την ηλικία κύησης. Οι πολυπλοειδίες επηρεάζουν το 2% των διαπιστωμένων συλλήψεων αλλά επειδή τα ποσοστά θνητότητας είναι πολύ υψηλά, σπάνια παρατηρούνται σε ζώντα νεογνά. Οι συχνότητες στις 12 και 20 εβδομάδες είναι αντίστοιχα 1/2000 και 1/250.000.

Έχοντας δημιουργήσει ένα μοντέλο υπολογισμού των κινδύνων που σχετίζονται με την ηλικία κύησης και την ηλικία της μητέρας έχει γίνει δυνατό να συμβουλευόμαστε ασθενείς που παρουσιάζονται σε διαφορετικά στάδια εγκυμοσύνης για τον κίνδυνο του δικού τους εμβρύου να έχει κάποια χρωμοσωμιακή ανωμαλία καθώς και για την πιθανότητα να γεννηθεί ένα ζων νεογνό που πάσχει από κάποιο συγκεκριμένο νόσημα. Επιπλέον, τα στοιχεία αυτά μπορούν να εφαρμοσθούν στην αξιολόγηση νέων υπερηχογραφικών ή βιοχημικών μεθόδων ελέγχου υπολογίζοντας τα αναμενόμενα ποσοστά επίπτωσης των χρωμοσωμιακών ανωμαλιών σε οποιαδήποτε ομάδα ελέγχου. Η ικανότητα λήψης μιας αξιόπιστης μέτρησης αυχενικής διαφάνειας εξαρτάται και από τα κίνητρα του υπερηχογραφιστή. Μια μελέτη συνέκρινε τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από Νοσοκομεία που χρησιμοποιούσαν την αυχενική διαφάνεια στην κλινική πράξη (επεμβατικά), με άλλα που απλώς κατέγραφαν τις μετρήσεις, χωρίς να παρεμβαίνουν στα αποτελέσματα (παρατηρητικά). Προέκυψε λοιπόν, ότι στην επεμβατική ομάδα, οι επιτυχείς μετρήσεις της αυχενικής διαφάνειας επιτεύχθηκαν στο 100% των περιπτώσεων και οι μετρήσεις ήταν >2,5 mm στο 2,3% των περιπτώσεων. Τα αντίστοιχα ποσοστά στην παρατηρητική ομάδα ήταν 85% και 12% (Bower και συν., 1995, Roberts και συν., 1995).



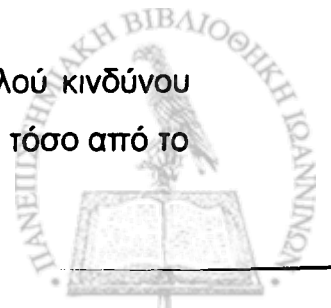
Ένας πιθανός αντίλογος στη χρησιμοποίηση της υπερηχογραφίας ως μέθοδο διαλογής είναι ότι πέρα από ότι απαιτεί υψηλή ποιότητα χειριστών, τα αποτελέσματα μεταβάλλονται ανάλογα με το άτομο που κάνει το υπερηχογράφημα. Οι Makrydimas και Lolis (1997) αναφέρουν ότι η μέτρηση της αυχενικής διαφάνειας στις 10-14 εβδομάδες κύησης από ανθρώπους σωστά εκπαιδευμένους έχει ευαισθησία 84% για την τρισωμία 21.

Παρατηρητικές Μελέτες: Αυξημένη αυχενική διαφάνεια και χρωμοσωμιακές ανωμαλίες

Στις αρχές του 1990, αρκετές μελέτες μικρού αριθμού που έγιναν σε κυήσεις υψηλού κινδύνου έδειξαν μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ αυξημένης αυχενικής διαφάνειας και χρωμοσωμιακών ανωμαλιών κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης. Παρ'όλο που η μέση συχνότητα χρωμοσωμιακών ανωμαλιών σε 20 μελέτες που περιελάμβαναν 1698 ασθενείς ήταν 29%, υπήρχε μεγάλη διαφορά μεταξύ τους με συχνότητα που κυμαίνονταν από 11% έως 88%. Προφανώς η μεταβλητότητα των αποτελεσμάτων αντανακλά τις διαφορές στην κατανομή της μητρικής ηλικίας των πληθυσμών υπό μελέτη καθώς και στον καθορισμό της ελάχιστης παθολογικής τιμής πάχους αυχενικής διαφάνειας που κυμαινόταν από 2 mm έως 10 mm.

Ως αποτέλεσμα των ανωτέρω, διεξήχθη μια σειρά μελετών διαλογής σε κυήσεις υψηλού κινδύνου. Αυτές περιελάμβαναν μετρήσεις πάχους αυχενικής διαφάνειας αμέσως πριν τον έλεγχο του εμβρυϊκού καρυότυπου, κυρίως λόγω ηλικίας της μητέρας. Οι Pandya και συν. (1994) μελέτησαν ένα σύνολο 1.273 κυήσεων και ανέφεραν ότι το πάχος της αυχενικής διαφάνειας ήταν πάνω από την 95^η εκατοστιαία θέση στο 80% των εμβρύων με τρισωμία 21. Παρόμοια ευρήματα προέκυψαν από άλλες 4 μελέτες κυήσεων στις οποίες έγινε έλεγχος του εμβρυϊκού καρυότυπου κατά το 1^ο τρίμηνο (Comas και συν., 1995, Szabo και συν., 1995, Savoldelli και συν., 1993). Ωστόσο, σε μια άλλη μελέτη που περιελάμβανε 1.819 κυήσεις, πάχος αυχενικής διαφάνειας ≥ 3 mm διέγνωσε μόνο το 30% των εμβρύων με χρωμοσωμική ανωμαλία (δεν υπήρχαν στοιχεία ειδικά για τρισωμία 21) και το ψευδώς θετικό ποσοστό ήταν 3,2% (Brambati και συν., 1995).

Ένα σημαντικό εύρημα των μελετών διαλογής σε κυήσεις υψηλού κινδύνου ήταν ότι η συχνότητα των χρωμοσωμιακών ανωμαλιών εξαρτάται τόσο από το



πάχος της εμβρυϊκής αυχενικής διαφάνειας όσο και από την ηλικία της μητέρας. Λόγου χάρη, σε μια μελέτη 1.015 κυήσεων που είχαν αυξημένη αυχενική διαφάνεια στη 10^η-14^η εβδομάδα κύησης, ο αριθμός των τρισωμιών 21, 18 και 13 που παρατηρήθηκε σε έμβρυα με πάχος αυχενικής διαφάνειας 3mm, 4mm, 5mm και > 6mm ήταν περίπου 3, 18, 28 και 36 φορές υψηλότερος απ' αυτόν που αναμενόταν με βάση μόνο την ηλικία της μητέρας (Pandya και συν., 1995). Η συχνότητα του συνδρόμου Turner και της τριπλοειδίας ήταν 9 και 8 φορές μεγαλύτερη ενώ η επίπτωση άλλων φυλετικών χρωμοσωμικών ανευπλοειδιών ήταν παρόμοια με την αναμενόμενη.

2. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΡΩΤΟΥ ΤΡΙΜΗΝΟΥ

Στην τρισωμία 21, κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης, η συγκέντρωση της free β-hCG στον ορό της μητέρας είναι υψηλότερη, ενώ η συγκέντρωση της PAPP-A είναι χαμηλότερη απ'ό,τι στα χρωμοσωμικά φυσιολογικά έμβρυα. Η ειδική γλυκοπρωτεΐνη της κύησης β-1 (SP1), η AFP ή η ινχιμπίνη-A δεν παρουσιάζουν σημαντική διαφορά σε φυσιολογική και παθολογική κύηση.

β-hCG στον ορό της μητέρας

Η β-hCG στον ορό της μητέρας φυσιολογικά ελαττώνεται μετά τη 10^η εβδομάδα της κύησης. Στις κυήσεις με τρισωμία 21 τα επίπεδα είναι αυξημένα και η διαφορά τους σε σχέση με τα επίπεδα των φυσιολογικών κυήσεων αυξάνει με την ηλικία κύησης. Αυτό μπορεί να ευθύνεται για την ποικιλομορφία στις αναφερόμενες τιμές MoM που παρατηρούνται στις διάφορες μελέτες (Spencer και συν., 1992), πιθανά γιατί υπήρχε σημαντική διαφορά στο εύρος της ηλικίας κύησης των εξεταζόμενων πληθυσμών. Συνεπώς, οι πληθυσμιακές παράμετροι που προέκυψαν από μελέτες χρησιμοποιώντας ένα ευρύ φάσμα ηλικιών κύησης, δεν είναι κατάλληλες αν η διαλογή πρόκειται να επικεντρωθεί στην ιδανική ηλικία για μέτρηση αυχενικής διαφάνειας (11^η-14^η εβδομάδα). Σε μια μελέτη που περιελάμβανε 210 κυήσεις με τρισωμία 21 που εξετάστηκαν στις 10-14 εβδομάδες, η μέση τιμή της free β-hCG ήταν 2,15 MoM (95% CI, 1.94-2.33). Στο 5% του πληθυσμού που βρέθηκε θετικό, το ποσοστό επιτυχούς διάγνωσης με τη βοήθεια της β-hCG

μόνο ήταν 35% ενώ σε συνδυασμό με την ηλικία της μητέρας ανεβαίνει στο 45% (Spencer και συν., 1999).

PAPP-A του μητρικού ορού

Η συγκέντρωση PAPP-A φυσιολογικά αυξάνεται με την κύηση. Στις κυήσεις με τρισωμία 21 τα επίπεδα της είναι χαμηλότερα, αλλά η διαφορά αυτή ανάμεσα στην τρισωμία 21 και στις φυσιολογικές κυήσεις ελαττώνεται όσο αυξάνεται η ηλικία κύησης. Σε μια μελέτη που περιελάμβανε 210 κυήσεις με τρισωμία 21 που εξετάστηκαν στις 10-14 εβδομάδες, η μέση τιμή της PAPP-A ήταν 0,51 MoM (95% CI, 0.44-0.56). Στο 5% του πληθυσμού που βρέθηκε θετικό κατά τον έλεγχο, το ποσοστό διάγνωσης με τη χρήση μόνο της PAPP-A ήταν 40% ενώ σε συνδυασμό με την ηλικία της μητέρας έφτανε το 50% (Spencer και συν., 1999).

Εμβρυϊκή αυχενική διαφάνεια και free β-hCG και PAPP-A στον ορό της μητέρας

Δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ εμβρυϊκής αυχενικής διαφάνειας και επιπέδου β-hCG και PAPP-A στο μητρικό ορό, ούτε στην τρισωμία 21 ούτε στις φυσιολογικές κυήσεις. Το ποσοστό διάγνωσης της τρισωμίας 21 που υπολογίζεται με το συνδυασμό της μητρικής ηλικίας, της αυχενικής διαφάνειας και των τιμών του PAPP-A και free β-hCG είναι περίπου 90% για ένα θετικό στον έλεγχο ποσοστό 5%

3. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΔΕΥΤΕΡΟΥ ΤΡΙΜΗΝΟΥ (Τριπλό τεστ)

Στις 16 εβδομάδες της κύησης η μέση συγκέντρωση των AFP, οιστριόλης, hCG (συνολική και free β) και ινχιμπίνης A στο μητρικό ορό σε κυήσεις με τρισωμία 21 διαφέρει από το φυσιολογικό. Ο κίνδυνος για τρισωμία 21 μπορεί να υπολογιστεί πολλαπλασιάζοντας το βασικό κίνδυνο (κίνδυνος που υπολογίζεται με βάση την ηλικία της μητέρας και την ηλικία κύησης) επί τα ποσοστά πιθανότητας για τις ουσίες αυτές αφού πρώτα γίνουν διορθώσεις λόγω των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων. Ο κίνδυνος για τρισωμία 21 αυξάνεται αν τα επίπεδα της hCG και/ή της ινχιμπίνης A είναι υψηλά και τα επίπεδα AFP και/ή της οιστριόλης είναι χαμηλά. Το ποσοστό διάγνωσης είναι 50-70% για ένα θετικά ελεγχόμενο ποσοστό 5%.



Στις γυναίκες που γίνεται βιοχημικός έλεγχος κατά το δεύτερο τρίμηνο μετά την αυχενική διαφάνεια του πρώτου τριμήνου (με ή χωρίς βιοχημικό έλεγχο του μητρικού ορού) ο βασικός κίνδυνος πρέπει να προσαρμοστεί ώστε να λάβει υπόψη τα αποτελέσματα του ελέγχου του πρώτου τριμήνου. Εφόσον ο έλεγχος του πρώτου τριμήνου ανακαλύπτει περίπου το 90% των κυήσεων με τρισωμία 21, ο βιοχημικός έλεγχος του δεύτερου τριμήνου θα ανακαλύψει – στην καλύτερη περίπτωση – 6% (60% από το υπόλοιπο 10%) των παθολογικών κυήσεων έχοντας διπλασιάσει το συνολικό ποσοστό του πληθυσμού που θα υποστεί επεμβατική μέθοδο (από 5% σε 10%). Θεωρητικά, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν διάφορες στατιστικές τεχνικές ώστε η αυχενική διαφάνεια να συνδυαστεί με διαφορετικούς βιοχημικούς δείκτες πρώτου και δεύτερου τριμήνου. Ένα τέτοιο υποθετικό μοντέλο συνδύασε την αυχενική διαφάνεια και την PAPP-A στο πρώτο τρίμηνο με την β-hCG, οιστριόλη, και ινχιμπίνη Α στο δεύτερο τρίμηνο στοχεύοντας σε μια δυνητική ευαισθησία της τάξης του 94% για το 5% ψευδούς θετικού ποσοστού του πληθυσμού (Wald και συν., 1999). Ακόμη κι αν οι υποθέσεις που έγιναν για τη στατιστική αυτή τεχνική είναι έγκυρες, είναι απίθανο η μέθοδος να γίνει ευρέως αποδεκτή κλινικά.

4. ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΑΚΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ 2^{ου} ΚΑΙ 3^{ου} ΤΡΙΜΗΝΟΥ

Μεγάλες χρωμοσωμιακές ανωμαλίες συνδυάζονται συχνά με πολλαπλές βλάβες στο έμβρυο που μπορούν να εντοπιστούν με υπερηχογραφικό έλεγχο. Η τρισωμία 21 συνδυάζεται με μια τάση για βραχυκεφαλία, ήπια διάταση των κοιλιών του εγκεφάλου, επιπέδωση του προσώπου, οίδημα αυχενικής πτυχής, ανωμαλίες κολποκοιλιακού διαφράγματος, ατρησία του δωδεκαδάκτυλου, υπερηχογενές έντερο, ήπια υδρονέφρωση, κοντά μηριαία οστά, sandal gap, κλεινοδακτυλία και υποπλασία της μέσης φάλαγγας του πέμπτου δακτύλου. Η τρισωμία 18 συνοδεύεται από κεφαλή σε σχήμα φράουλας, κύστεις του χοριοειδούς πλέγματος, απουσία του μεσολοβίου, διάταση της περιοχής της παρεγκεφαλονωτιαίας δεξαμενής, σχιστίες του προσώπου, μικρογναθία, οίδημα της αυχενικής πτυχής, καρδιακές ανωμαλίες, διαφραγματοκήλη, ατρησία οισοφάγου, εξώμφαλο, νεφρικές ανωμαλίες, μνηνιγγομελοκήλη, ενδομήτρια καθυστέρηση ανάπτυξης και βράχυνση των

άκρων, απλασία της κερκίδας, εφίππευση των δακτύλων και στρεβλοποδία. Οι συνηθέστερες βλάβες της τρισωμίας 13 είναι ολοπροσεγκεφαλία με τις ακόλουθες βλάβες μέσου προσώπου (προβοσκίδα, σχιστίες προσώπου), μικροκεφαλία, καρδιακές ανωμαλίες, διογκωμένοι και υπερηχογενείς νεφροί, ομφαλοκήλη και πολυδακτυλία. Ο τριπλοειδισμός, όπου τα επιπλέον χρωματοσώματα προέρχονται από τον πατέρα, χαρακτηρίζεται από οίδηματώδη ευμεγέθη πλακούντα και η κύηση σπάνια ξεπερνά τις 20 εβδομάδες ενώ, στην περίπτωση που προέρχονται από τη μητέρα, το έμβρυο παρουσιάζει σοβαρή ασύμμετρη καθυστέρηση ανάπτυξης με φυσιολογικό πλακούντα. Το σύνδρομο Turner παρουσιάζεται με γενικευμένο οίδημα, καρδιακές και νεφρικές ανωμαλίες.

Ο συνολικός κίνδυνος για χρωμοσωμιακές βλάβες αυξάνει με το σύνολο των ανωμαλιών που εντοπίζονται. Έτσι λοιπόν συνιστάται ότι, όταν μια ανωμαλία ή δείκτης εντοπίζεται στον υπερηχογραφικό έλεγχο ρουτίνας, να γίνεται ένας λεπτομερής έλεγχος για τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά των χρωμοσωμιακών ανωμαλιών που είναι γνωστό ότι συνδυάζονται με το δείκτη. Αν τα επιπλέον αυτά χαρακτηριστικά εντοπιστούν, ο κίνδυνος αυξάνεται δραματικά. Στην περίπτωση που οι ανωμαλίες είναι εμφανώς μονήρεις, η απόφαση για την διεξαγωγή επεμβατικού ελέγχου εξαρτάται από τον τύπο της ανωμαλίας.

Μείζονες ανωμαλίες

Αν το υπερηχογράφημα του δευτέρου τριμήνου δείξει μείζονες ανωμαλίες, τότε συνιστάται να γίνει έλεγχος του εμβρυϊκού καρυότυπου ακόμη και αν οι ανωμαλίες αυτές είναι προφανώς μονήρεις. Η συχνότητα των ανωμαλιών αυτών είναι χαμηλή και για το λόγο αυτό οι επιπλοκές είναι λίγες. Αν οι ανωμαλίες είναι είτε θανατηφόρες είτε συνδέονται με σοβαρή αναπηρία, ο έλεγχος του εμβρυϊκού καρυότυπου περιλαμβάνει μια σειρά εξετάσεων που καθορίζουν την πιθανή αιτία καθώς και τον κίνδυνο υποτροπής. Παραδείγματα τέτοιων ανωμαλιών είναι η υδροκεφαλία, η ολοπροσεγκεφαλία, οι πολυκυστικοί νεφροί και ο σοβαρός εμβρυϊκός ύδρωπας. Στην περίπτωση που παρατηρούνται μονήρεις βλάβες στον νευρικό σωλήνα, υπάρχει διχογνωμία για το αν είναι αυξημένος ο κίνδυνος για χρωμοσωμιακές ανωμαλίες. Παρομοίως, σε σκελετικές δυσπλασίες, όπου η πιθανή διάγνωση διαπιστώνεται υπερηχογραφικά, είναι πιθανώς άχρηστο να γίνει έλεγχος του καρυότυπου. Εάν η βλάβη είναι δυνατό να διορθωθεί με ενδομήτρια ή μετά

τον τοκετό επέμβαση είναι λογικό να αποκλεισθεί υποκείμενη χρωμοσωμιακή ανωμαλία. Κι αυτό συμβαίνει διότι σε πολλές από τις περιπτώσεις αυτές η συνήθης βλάβη είναι η τρισωμία 18 ή 13.

Τα παραδείγματα περιλαμβάνουν τις σχιστίες του προσώπου, τη διαφραγματοκήλη, την ατρησία οισοφάγου, την ομφαλοκήλη καθώς και πολλές καρδιακές ανωμαλίες. Στην περίπτωση που παρατηρείται μόνο γαστρόσχιση ή μικρή εντερική απόφραξη δεν υπάρχουν αποδείξεις για αυξημένο κίνδυνο τρισωμιών.

Μικρότερες ανωμαλίες ή δείκτες

Αυτές οι ανωμαλίες είναι κοινές και συνήθως δεν συνοδεύονται από καμιά αναπηρία εκτός αν υπάρχει κάποια χρωμοσωμιακή ανωμαλία. Ο καρυότυπος ρουτίνας σε όλες τις κήσεις που παρουσιάζουν τους δείκτες αυτούς θα μπορούσε να έχει σημαντικές επιπλοκές, τόσο λόγω αποβολών όσο και για λόγους οικονομικούς. Είναι λοιπόν προτιμότερο, η συμβουλή να βασίζεται στην εκτίμηση του κινδύνου για χρωμοσωμιακή ανωμαλία σε ατομικό επίπεδο παρά στην αυθαίρετη αντίληψη ότι πρέπει να γίνεται επεμβατικός έλεγχος διότι ο κίνδυνος είναι «υψηλός».

Ο εκτιμώμενος κίνδυνος προκύπτει πολλαπλασιάζοντας τον βασικό κίνδυνο (που υπολογίζεται από την ηλικία της μητέρας, την ηλικία κύησης, το ιστορικό προηγούμενων προσβεβλημένων κυήσεων και, όπου είναι σκόπιμο, από τα αποτελέσματα του προηγούμενου ελέγχου, δηλαδή από την αυχενική διαφάνεια και/ή το βιοχημικό έλεγχο στην παρούσα κύηση) επί του ποσοστού πιθανότητας (likelihood ratio) για τη συγκεκριμένη βλάβη.

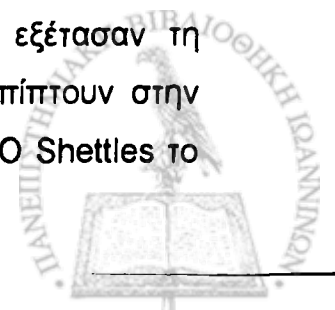
Δεν υπάρχουν στοιχεία για την αλληλεπίδραση μεταξύ των υπερηχογραφικών δεικτών του δεύτερου τριμήνου με την αυχενική διαφάνεια στις 11-14 εβδομάδες ή με τους βιοχημικούς δείκτες του πρώτου και δεύτερου τριμήνου. Όμως, δεν υπάρχει εμφανής παθοφυσιολογικός λόγος για μια τέτοια αλληλεπίδραση και συνεπώς είναι λογικό να θεωρείται ότι είναι μεταξύ τους ανεξάρτητοι. Συνεπώς, κατά την εκτίμηση του κινδύνου σε μια κύηση με παρουσία δείκτη χρωμοσωμιακής ανωμαλίας, είναι σκόπιμο να ληφθούν υπόψη τα αποτελέσματα των προηγούμενων ελέγχων. Λόγου χάρη, σε μια 20χρονη γυναίκα που διανύει την 20η εβδομάδα κύησης (βασικός κίνδυνος 1 στα 1295), η μέτρηση της αυχενικής διαφάνειας στην 11-14^η εβδομάδα

οδήγησε σε πενταπλάσια μείωση του κινδύνου (1 στα 6475) μετά τη διάγνωση μιας ήπιας υδρονέφρωσης στο υπερηχογράφημα των 20 εβδομάδων ο υπολογιζόμενος κίνδυνος αυξήθηκε κατά ένα συντελεστή 1.5 σε 1 στα 4317. Αντιθέτως, το ίδιο εύρημα σε μια γυναίκα 40 ετών (βασικός κίνδυνος 1 στα 82) που δεν έκανε υπερηχογράφημα με μέτρηση αυχενικής διαφάνειας ή βιοχημικό έλεγχο, ανέβασε τον εκτιμώμενο κίνδυνο σε 1 στα 55. Ευρήματα όπως οίδημα αυχενικής πτυχής ή καρδιακή ανωμαλία στο υπερηχογράφημα του δευτέρου τριμήνου δεν μπορούν να αξιολογηθούν ανεξάρτητα από το υπερηχογράφημα αυχενικής διαφάνειας στις 11-14 εβδομάδες. Παρομοίως, το υπερηχογενές έντερο (που μπορεί να οφείλεται σε ενδοαμνιακή αιμορραγία) και το σχετικά κοντό μηριαίο (το οποίο μπορεί να οφείλεται σε πλακουντιακή ανεπάρκεια), μπορούν να σχετίζονται με τα βιοχημικά ευρήματα του ορού (υψηλή free β-hCG και ιχνημπίνη A και χαμηλή οιστριόλη μπορεί να είναι δείκτης πλακουντιακής βλάβης) και έτσι να μην εκτιμώνται ανεξάρτητα κατά τον υπολογισμό του κινδύνου της τρισωμίας 21. Παραδείγματος χάρη, σε μια 20χρονη γυναίκα (βασικός κίνδυνος για τρισωμία 21 1 στα 1295) η υψηλή free β-hCG και ιχνημπίνη A και χαμηλή οιστριόλη στον βιοχημικό έλεγχο των 16 εβδομάδων οδηγεί σε δεκαπλάσια αύξηση του κινδύνου (1 στα 129). Αν στο υπερηχογράφημα των 20 εβδομάδων βρεθεί υπερηχογενές έντερο, αυτό δεν θα έπρεπε να οδηγήσει στο εσφαλμένο συμπέρασμα ότι ο κίνδυνος αυξάνεται ακόμη περισσότερο και τριπλασιάζεται (1 στα 43). Η σύμπτωση βιοχημικών και υπερηχογραφικών ευρημάτων που συνυγορούν στην πλακουντιακή ανεπάρκεια καθιστούν απίθανη την ύπαρξη τρισωμίας 21 και οδηγούν σε αυξημένη παρακολούθηση για προεκλαμψία και καθυστερημένη ανάπτυξη, παρά σε αμνιοπαρακέντηση και έλεγχο του καρυότυπου.

5. ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

5.1. Τραχηλικά εκπλύματα

Στις αρχές της δεκαετίας του '70, μια σειρά από μελέτες εξέτασαν τη δυνατότητα απομόνωσης κυττάρων του πλακούντα που αποπίπτουν στην τραχηλική βλέννα και ανέφεραν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Ο Shettles το



1971 χρησιμοποίησε μία φθορίζουσα χρωστική για την ανίχνευση του χρωμοσώματος Y και έγινε σωστή διάγνωση σε 10 από τις 18 κυήσεις που μελέτησε. Χρησιμοποιώντας την ίδια τεχνική οι Bobrow και Lewis το 1971 δεν μπόρεσαν να επιβεβαιώσουν αυτά τα αποτελέσματα, αν και ο Warren το 1972 ανέφερε ότι η εξέταση αυτή ήταν εξαιρετικά εύκολη στην εφαρμογή της και ακριβής.

Στη συνέχεια μελέτες ανέφεραν επιτυχή απομόνωση πλακουντιακών κυττάρων με έκπλυση της βλέννας από τον τραχηλικό αυλό ή το κατώτερο τμήμα της μήτρας. Οι Rodeck και συν. (1995) εξέτασαν τέσσερις μεθόδους για απομόνωση εμβρυϊκών κυττάρων με διατραχηλική λήψη: έκπλυση της μητρικής κοιλότητας, έκπλυση του ενδοτραχήλου, λήψη δείγματος με βουρτσάκι και αναρρόφηση τραχηλικής βλέννης. Τα εμβρυϊκά κύτταρα στα δείγματα αυτά ήταν λίγο περισσότερα μετά από έκπλυση της μητρικής κοιλότητας. Οι Holzgreve και συν. (2000) εντοπίζουν δύο βασικές μη επεμβατικές τεχνικές απομόνωσης εμβρυϊκών κυττάρων, τροφοβλαστικά κύτταρα από τον τράχηλο και εμβρυϊκοί ερυθροβλάστες από τη μητρική κυκλοφορία. Η χρήση FISH και PCR επιτρέπει την εντόπιση χρωμοσωμιακών ανωμαλιών. Με micromanipulation είναι δυνατή η απομόνωση μεμονωμένων εμβρυϊκών κυττάρων. Η τακτική αυτή βοηθά την επιτυχή διάγνωση του παράγοντα Rhesus, αιμοσφαιρινοπαθειών, μυϊκής δυστροφίας Duchenne και πολλών άλλων παθολογικών καταστάσεων.

Αν και η τεχνική λήψης αυτών των δειγμάτων έχει περιγραφεί σαν μη επεμβατική, στην πραγματικότητα δεν έχει διαφορές από τη διατραχηλική CVS, διότι η επιτυχής λήψη των δειγμάτων γίνεται μόνο όταν ένας καθετήρας εισάγεται στο κατώτερο τμήμα της μήτρας. Η ασφάλεια αυτής της τεχνικής και η δυνατότητα αξιόπιστων αποτελεσμάτων δεν έχει ακόμα τεκμηριωθεί.

5.2. Εμβρυϊκά κύτταρα στη μητρική κυκλοφορία

Κατά τα τελευταία 30 χρόνια, εκτεταμένη έρευνα αποσκοπούσε στην ανάπτυξη μιας μη επεμβατικής μεθόδου προγεννητικής διάγνωσης που βασίζεται στην απομόνωση και εξέταση εμβρυϊκών κυττάρων που εντοπίζονται στην μητρική κυκλοφορία. Οι ερυθροβλάστες, που είναι άφθονοι στο εμβρυϊκό αίμα, έχουν κυρίως τραβήξει την προσοχή των ερευνητών. Είναι πολύ σπάνιοι στο φυσιολογικό αίμα των ενηλίκων και ο χρόνος ημιζωής στο

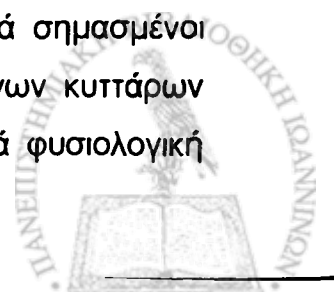
ενήλικο αίμα είναι περίπου 30 μέρες. Τα τροφοβλαστικά κύτταρα που εισέρχονται στη μητρική κυκλοφορία αποδομούνται στους πνεύμονες της μητέρας και έτσι δεν είναι χρήσιμα στην προγεννητική διάγνωση. Τα εμβρυϊκά λευκά αιμοσφαίρια υπάρχουν στην μητρική κυκλοφορία αλλά είναι λίγα και ο χρόνος της ζωής τους είναι μεγάλος (περίπου 5 έτη), γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε επιμόλυνση από προηγούμενες κυήσεις.

Περίπου 1 στα 10^3 - 10^7 εμπύρηννα κύτταρα στο μητρικό αίμα είναι εμβρυϊκής προέλευσης. Η αναλογία των εμβρυϊκών κυττάρων μπορεί να φτάσει το 1 στα 10-100 με τεχνικές όπως η μαγνητική διαλογή των κυττάρων (MACS) και διαλογή των κυττάρων με ανοσοφθορισμό (fluorescence activated cell sorting) (FACS) μετά από την πρόσδεση μαγνητικά σημασμένων ή φθορίζόντων αντισωμάτων πάνω σε ένα συγκεκριμένο επιφανειακό δείκτη ενός εμβρυϊκού κυττάρου (Bianchi και συν., 1990)

Το παραπάνω δείγμα είναι ακατάλληλο για την κλασσική κυτταρογενετική ανάλυση γιατί ακόμη περιέχει σε υψηλό ποσοστό μητρικά κύτταρα. Όμως, με τη χρήση χρωμοσωμικά ειδικών DNA ανιχνευτών και φθορίζουσας *in situ* υβριδοποίησης (FISH) είναι δυνατόν η εμβρυϊκή τρισωμία να γίνει αντιληπτή από την παρουσία τριπλά σημασμένων πυρήνων σε μερικά από τα κύτταρα του μητρικού αίματος που έχουν εμπλουτισθεί από τα εμβρυϊκά κύτταρα. Έτσι είναι δυνατό τώρα να εντοπισθούν ταυτόχρονα όλες οι μείζονες χρωμοσωμικές ανωμαλίες με τη χρήση πολύχρωμων κεφαλών που κατευθύνονται προς τα χρωμοσώματα 21, 18, 13, Y και X με πυρήνες στη φάση της μεσόφασης. Ένα σημαντικό πρόβλημα με τη FISH είναι ότι 1-2% των φυσιολογικών διπλοειδικών κυττάρων δίνουν τριπλά σημασμένους πυρήνες και ένα 10-20% των κυττάρων με τρισωμία δίνουν διπλά σημασμένους πυρήνες.

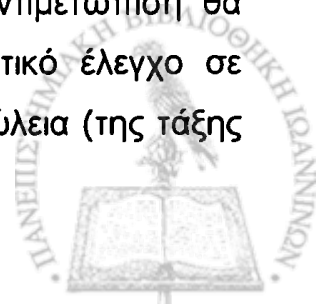
Οι Simpson και Elias (1994) ανέφεραν την παρουσία τριπλά σημασμένων πυρήνων, μετά τη διαλογή τους με FACS, στο 2,8-74% των κυττάρων σε 5 κυήσεις με τρισωμία 21 και σε κυήσεις με τρισωμία 18. Δεν υπήρχαν όμως σε κανένα κύτταρο από 61 χρωμοσωμικά φυσιολογικές κυήσεις.

Με τη χρήση ανιχνευτή ειδικού για το χρωμόσωμα 21 τριπλά σημασμένοι πυρήνες εντοπίστηκαν σε τουλάχιστον 5% των εμπλουτισμένων κυττάρων στο 60% περίπου των κυήσεων με τρισωμία 21 και σε καμιά φυσιολογική



κύηση. Αυτό σημαίνει ότι αυτή η μέθοδος μπορεί να παρέχει τα ίδια ποσοστά διάγνωσης της τρισωμίας 21 με αυτά του βιοχημικού ελέγχου του δευτέρου τριμήνου, αλλά με το πλεονέκτημα ότι το ποσοστό επεμβατικού ελέγχου μπορεί να είναι της τάξης του 0% και όχι 5%. Όμως αντίθετα με τον βιοχημικό έλεγχο του ορού, ο οποίος ως μέθοδος μαζικού ελέγχου είναι σχετικά εύκολο να πραγματοποιηθεί, ο εμπλουτισμός των εμβρυϊκών κυττάρων μέσω της φυγοκέντρησης τριπλής πυκνότητας και MACS, ακολουθούμενη από FISH, είναι μέθοδοι απαιτητικές, κουραστικές και απαιτούν υψηλά εκπαιδευμένο προσωπικό. Στην περίπτωση της FISH, υπάρχουν ελπίδες στο μέλλον να γίνεται αυτοματοποιημένη ανάλυση μέσω υπολογιστή, των κυττάρων και αυτό πιθανόν να απλοποιήσει τον έλεγχο των πλακιδίων. Πάντως τα περιθώρια βελτίωσης τόσο των τεχνικών εμπλουτισμού των εμβρυϊκών κυττάρων ώστε να εξασφαλιστεί καλύτερη μελέτη των επίμαχων κυττάρων, όσο της αυτοματοποίησης των τεχνικών αυτών που θα μπορούσε να επιτρέψει ταυτόχρονη ανάλυση ενός μεγάλου αριθμού δειγμάτων, βρίσκονται υπό μελέτη.

Με την υπάρχουσα τεχνολογία, η εξέταση των εμβρυϊκών κυττάρων που προέρχεται από το περιφερικό μητρικό αίμα είναι πιθανότερο να εφαρμοσθεί ως μέθοδος εκτίμησης του κινδύνου παρά ως μη επεμβατική μέθοδος προγεννητικής διάγνωσης χρωμοσωμακών ανωμαλιών. Ο έλεγχος πρώτης γραμμής που γίνεται με το συνδυασμό της μητρικής ηλικίας, της αυχενικής διαφάνειας και τα επίπεδα της β -hCG και της PAPP-A του ορού θα μπορούσε να διαγνώσει το 90% των κυήσεων με τρισωμία 21 για ποσοστό επεμβατικού ελέγχου 5% (Spencer και συν., 1999). Ένας τρόπος αντιμετώπισης της ομάδας υψηλού κινδύνου είναι να γίνει η FISH σε εμπλουτισμένα εμβρυϊκά κύτταρα από το μητρικό αίμα και η λήψη χοριακής λάχνης θα εφαρμοσθεί μόνο σε κυήσεις όπου δεν παρατηρούνται κύτταρα θετικά στην εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη καθώς και σε κείνες στις οποίες τουλάχιστον το 3% των κυττάρων εμφανίζουν τριπλά σημασμένους πυρήνες με τον ειδικό για το χρωμόσωμα 21 ανιχνευτή. Αυτή η αντιμετώπιση θα μπορούσε δυνητικά να ελαττώσει την ανάγκη για επεμβατικό έλεγχο σε λιγότερο από 1% του συνολικού πληθυσμού με ελάχιστη απώλεια (της τάξης των 3%) στην ευαισθησία της διάγνωσης της τρισωμίας 21.



6. ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

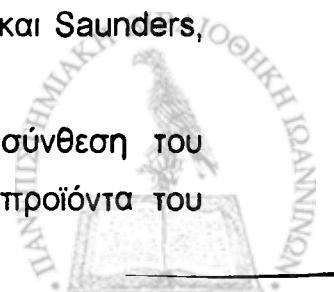
Οι καθιερωμένες επεμβατικές μέθοδοι προγεννητικού ελέγχου είναι η αμνιοπαρακέντηση, η λήψη τροφοβλαστικού ιστού και η λήψη εμβρυϊκού αίματος.

6.1. ΑΜΝΙΟΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗ

Η αμνιοπαρακέντηση είναι η παλαιότερη επεμβατική μέθοδος για προγεννητική διάγνωση κατά την οποία γίνεται λήψη αμνιακού υγρού.

Το αμνιακό υγρό είναι ένα διήθημα που προέρχεται είτε από τη μητέρα, διαμέσου των μεμβρανών, είτε από τον πλακούντα και τον ομφάλιο λώρο, είτε από το έμβρυο διαμέσου του δέρματος, του γαστρεντερικού σωλήνα, του τραχειοβρογχικού δέντρου και των νεφρών. Η σύνθεση του φαίνεται να ποικίλει ανάλογα με το στάδιο της κύησης. Κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης, η αμνιακή μεμβράνη επιπλέει ελεύθερα μεταξύ της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας και του εμβρύου. Η ανταλλαγή ουσιών είναι περιορισμένη και αυτό επιβεβαιώνεται με τη χαμηλή συγκέντρωση πρωτεϊνών στο αμνιακό υγρό σε σχέση με το μητρικό ορό και το εξωεμβρυϊκό υγρό (Jauniaux και συν., 1991, Iles και συν., 1992, Gulbis και συν., 1992, Jones και Jauniaux, 1995). Η ολική συγκέντρωση πρωτεϊνών στο αμνιακό υγρό είναι αντίστοιχα 50 και 900 φορές χαμηλότερη από ότι στο εξωεμβρυϊκό υγρό και στο μητρικό ορό. Σχεδόν όλες οι μεμονωμένες πρωτεΐνες εκτός της AFP βρίσκονται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Το αμνιακό υγρό που συλλέγεται πριν τις 11 εβδομάδες της κύησης έχει υψηλότερο pH και περίσσεια βάσης, υψηλότερα επίπεδα γαλακτικού οξέος και δικαρβονικών και χαμηλότερα επίπεδα ολικών πρωτεϊνών, φωσφορικών, χλωρίου, νατρίου και καλίου από το εξωεμβρυϊκό υγρό που συλλέχθηκε κατά την ίδια περίοδο της κύησης (Jauniaux και συν., 1994). Η μεταβολική αλκάλωση του αμνιακού υγρού που παρατηρείται στο πρώτο τρίμηνο πιθανώς προκύπτει από τη συνάθροιση δικαρβονικών και την αυξημένη κατανάλωση οργανικών ανιόντων, όπως το γαλακτικό οξύ από τον εμβρυϊκό ιστό. Το εμβρυϊκό δέρμα, που κερατοποιείται μόνο κατά τη διάρκεια του δεύτερου τριμήνου της κύησης είναι πιθανώς η κύρια πηγή αμνιακού υγρού στην πρώιμη κύηση (MacCarthy και Saunders, 1978).

Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι σε αντίθεση με τη σύνθεση του εξωεμβρυϊκού υγρού που επηρεάζεται κυρίως από τα παραπροϊόντα του



πλακούνται και του λεκιθικού ασκού, η σύνθεση του αμνιακού υγρού στο πρώτο τρίμηνο επηρεάζεται κυρίως από τα εμβρυϊκά παραπροϊόντα, που διαχέονται διαμέσω του εμβρυϊκού δέρματος ή των στοματοφαρυγγικών αλλά και αλλαντοϊδικών μεμβρανών (Jauniaux και συν., 1994, Gulbis και συν., 1996). Τα δύο τελευταία ρίγνυνται περίπου στο τέλος της 5^{ης} και 7^{ης} εβδομάδας της κύησης, αντίστοιχα, επιτρέποντας την ελεύθερη κυκλοφορία μεταξύ της εμβρυϊκής πεπτικής και αναπνευστικής οδού και της αμνιακής κοιλότητας (O'Rahilly και Muller, 1992).

Η αμνιακή κοιλότητα αρχίζει να αναπτύσσεται την 2^η εβδομάδα της κύησης από την έσω κυτταρική μάζα της εμφυτευόμενης βλαστοκύστης. Η δομή της βασικά ολοκληρώνεται κατά την 10^η εβδομάδα. Το αμνιακό υγρό που προέρχεται από την μητέρα και το έμβρυο περικλείεται μέσα στον αμνιακό σάκο και επιτελεί σημαντικές λειτουργίες για την ανάπτυξη του κυήματος και τη διεξαγωγή του τοκετού. Ενώ τα ούρα εμφανίζονται στην κύστη του εμβρύου στις 12 εβδομάδες κύησης η συμβολή τους στο αμνιακό υγρό είναι πιθανόν σημαντική στην απώτερη κύηση. Το αμνιακό υγρό αποτελείται κατά 98-99% από νερό και 1-2% από διαλύτες, το 25% από τους οποίους είναι πρωτεΐνες. Το χρώμα του αμνιακού υγρού στο πρώτο και δεύτερο τρίμηνο κυμαίνεται από ελαφρώς κίτρινο ως βαθύ κίτρινο, κάτι που εξαρτάται από τη συγκέντρωση της χολερυθρίνης, που είναι φυσιολογικό συστατικό σ'αυτή την περίοδο της κύησης. Αργότερα, κατά την 34^η-36^η εβδομάδα, το φυσιολογικό αμνιακό υγρό είναι άχρωμο. Στις τελευταίες 4 έως 6 εβδομάδες αιωρούνται μέσα σ'αυτό λευκές νιφάδες από σμήγμα, που υποδηλώνουν ένα ώριμο έμβρυο.

Ο όγκος του αμνιακού υγρού καθορίζεται από α) τις μετακινήσεις του ύδατος και των ουσιών που περιέχονται σ'αυτό διαμέσου της μεμβράνης, β) τη φυσιολογική ρύθμιση του ισοζυγίου υγρών του εμβρύου, όπως παραγωγή ούρων και κατάποση και γ) τις μητρικές επιδράσεις της διαπλακουντιακής μετακίνησης υγρών. Η παραγωγή ούρων ανά κιλό βάρους αυξάνει από 110cc/kg 24h στις 25 εβδομάδες σε 190cc/kg 24h στις 35 εβδομάδες.

Στο δεύτερο τρίμηνο κύησης τα αμνιακά υγρά ανανεώνεται εξ'ολοκλήρου σε τρεις ώρες περίπου. Από το έμβρυο καταπίνονται περίπου 20cc αμνιακού υγρού την ώρα. Η ανταλλαγή μεταξύ μητέρας και εμβρύου μπορεί να φτάσει τα 500cc. Διάφορα συστατικά του αμνιακού υγρού φτάνουν σε μέγιστο ή

ελάχιστο επίπεδο συγκέντρωσης στο τέλος του 2^{ου} τριμήνου. Είναι γενικά αποδεκτό ότι το αμνιακό υγρό παράγεται κυρίως από τον εμβρυϊκό νεφρό καθώς η κύηση εξελίσσεται. Συχνά αντικατοπτρίζει την κατάσταση του εμβρύου με πολλούς τρόπους και παρέχει ευκαιρίες για προγεννητική διάγνωση και παρακολούθηση της κύησης. Οι πρωτεΐνες του αμνιακού υγρού μπορεί να είναι σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο για ξεχωριστές γενετικές ανωμαλίες (Bala και συν., 1986). Είναι γνωστό ότι κύτταρα που βρέθηκαν σε δείγματα αμνιακού υγρού, που πάρθηκαν με την αμνιοπαρακέντηση κατά τη διάρκεια του δευτέρου τριμήνου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για προγεννητική διάγνωση γενετικών ανωμαλιών.

Τα λιπίδια φαίνεται ότι δε μεταφέρονται διαμέσου του πλακούντα από τη μητέρα στο έμβρυο αλλά βρίσκονται στο αμνιακό υγρό, ακολουθώντας τη μητρική πρόσληψη τροφής. Συστατικά λιπίδια του αμνιακού υγρού εμφανίζονται από την 26^η εβδομάδα κύησης. Τα κυριότερα απ'αυτά είναι τα μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια, τριγλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, ελεύθερη χοληστερόλη, εστέρες χοληστερόλης, υδρογονάνθρακες, ολικά μη πολικά λιπίδια και φωσφολιπίδια. Η ανάλυση των φωσφολιπιδίων αμνιακού υγρού αποτελεί μία εξαιρετικά χρήσιμη τεχνική για την εκτίμηση της πνευμονικής ωριμότητας του εμβρύου. Τα ενεργά φωσφολιπίδια επιφάνειας, λεκιθίνη και σφιγγομυελίνη, προέρχονται από τον εμβρυϊκό πνεύμονα. Η λεκιθίνη σταθεροποιεί τον πνευμονικό ιστό (λάχνες) προλαμβάνοντας την καταστροφή του στο τέλος της εκπνοής.

Έχουν βρεθεί τουλάχιστον 25 ένζυμα μέσα στο αμνιακό υγρό (Muller και συν., 1988). Ο πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τα ένζυμα στο αμνιακό υγρό πρέπει να έχει σχέση με την κατάσταση του εμβρυϊκού δέρματος. Είναι γνωστό ότι το εμβρυϊκό δέρμα γίνεται αδιαπέραστο από το νερό στην 20^η περίπου εβδομάδα κύησης, όταν ένας αριθμός ενζύμων μεταβάλλει τη δραστηριότητά τους. Η μέτρηση των ενζύμων δεν προσφέρει σημαντική κλινική βοήθεια. Η δραστηριότητα τους ποικίλει ανάλογα με την ηλικία κύησης. Η συγκέντρωση αυτών των ενζύμων παίζει σημαντικό ρόλο στην προγεννητική διάγνωση διαφόρων μεταβολικών νοσημάτων ή ανατομικών ανωμαλιών. Παρ'όλα αυτά η τελική διάγνωση δε πρέπει να βασίζεται στις ενζυματικές εξετάσεις που κάνουμε στο ελεύθερο κυττάρων αμνιακό υγρό (Λώλης, 1998) διότι υπάρχει πιθανότητα πρόσμιξης εμβρυϊκού και μητρικού

ορού. Τα πεπτικά ένζυμα που βρίσκονται στο αμνιακό υγρό σχετίζονται με την φυσιολογική ωρίμανση του εμβρυϊκού πεπτικού συστήματος (Muller και συν., 1988). Τα ένζυμα αυτά δεν υπάρχουν μέχρι την 13^η-14^η εβδομάδα της κύησης. Στη συνέχεια το αμνιακό υγρό που καταπίνεται αποκτά υψηλές συγκεντρώσεις γ-γλουταμυλτρανσπεπτιδάσης (GGTP) και εντερικής αλκαλικής φωσφατάσης (iALP). Μετά την 20^η εβδομάδα η ωρίμανση του σφιγκτήρα του πρωκτού και η συσσώρευση μηκωνίου στο τυφλό εμποδίζει την απελευθέρωση των πεπτικών ενζύμων στο αμνιακό υγρό, με αποτέλεσμα την απότομη μείωση της GGTP και της iALP στο αμνιακό. Η iALP παράγεται από τα επιθηλιακά κύτταρα του ειλεού ενώ η GGTP παράγεται από τα χοληφόρα και εκκρίνεται στο δωδεκαδάκτυλο. Σε περίπτωση ατρησίας των χοληφόρων λοιπόν η συγκέντρωση της GGTP στο αμνιακό υγρό είναι χαμηλή. Το ίδιο παρατηρείται και σε περιπτώσεις κυστικής ίνωσης ή ατρησίας του πρωκτού πριν την 20^η εβδομάδα κύησης.

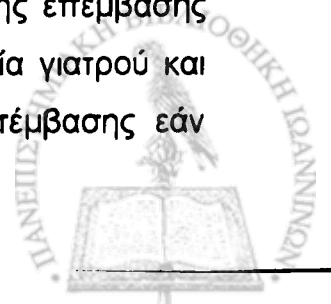
Τα επίπεδα χολερυθρίνης στο αμνιακό υγρό εμφανίζουν άνοδο μέχρι την 28^η εβδομάδα και μετά σταδιακή πτώση έως το τέλος της κύησης. Σε Rh ευαισθητοποιημένες γυναίκες τα επίπεδα της χολερυθρίνης αυξάνονται σημαντικά. Η μέτρηση της χολερυθρίνης στο αμνιακό υγρό, που λαμβάνεται με αμνιοπαρακέντηση, γίνεται με χημική ή φασματοφωτομετρική μέθοδο δίνοντας έτσι μια εικόνα του βαθμού της αιμόλυσης. Είναι μέθοδος που χρησιμοποιείται σπάνια, σε κέντρα που δεν έχουν δυνατότητα παρακέντησης του ομφαλίου λώρου.

Η α-εμβρυϊκή πρωτεΐνη (AFP) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 70.000, που παράγεται κατ'αρχήν από το λεκιθικό ασκό και αργότερα από το εμβρυϊκό ήπαρ. Φτάνει στο μέγιστο της συγκέντρωσης της την 13^η εβδομάδα και κατόπιν ελαττώνεται μέχρι το πέρας της κύησης. Ο εμβρυϊκός ορός περιέχει 200 φορές περισσότερη AFP απ'ότι το αμνιακό υγρό. Η AFP περνάει στο αμνιακό υγρό πιθανά μέσω των εμβρυϊκών ούρων. Στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης εμφανίζεται ταχεία πτώση, λόγω της μεγάλης αύξησης του αμνιακού υγρού κατά την περίοδο αυτή, ενώ η παραγωγή της από το έμβρυο παραμένει σταθερή. Η πρωτεΐνη αυτή χρησιμοποιείται ευρέως ως screening για βλάβες του νευρικού σωλήνα και για σύνδρομο Down στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης και η μέτρηση της γίνεται στον ορό της μητέρας. Στην πρώτη περίπτωση τα επίπεδα είναι αυξημένα ενώ στη δεύτερη μειωμένα. Μία άλλη

πρωτεΐνη, η ακετυλοχολινεστεράση, με μοριακό βάρος 300.000 dalton, που δεν εκκρίνεται από τα εμβρυϊκά ούρα, έχει προταθεί για τον έλεγχο βλαβών του νωτιαίου σωλήνα για την εξακρίβωση των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων αυξημένης α-εμβρυϊκής πρωτεΐνης λόγω ανάμειξης του αμνιακού υγρού με εμβρυϊκό αίμα (Knuppel και Goodlin, 1991). Με την ανάπτυξη της υπερηχογραφίας οι βλάβες αυτές διαγιγνώσκονται υπερηχογραφικά χωρίς να είναι απαραίτητοι οι βιοχημικοί δείκτες.

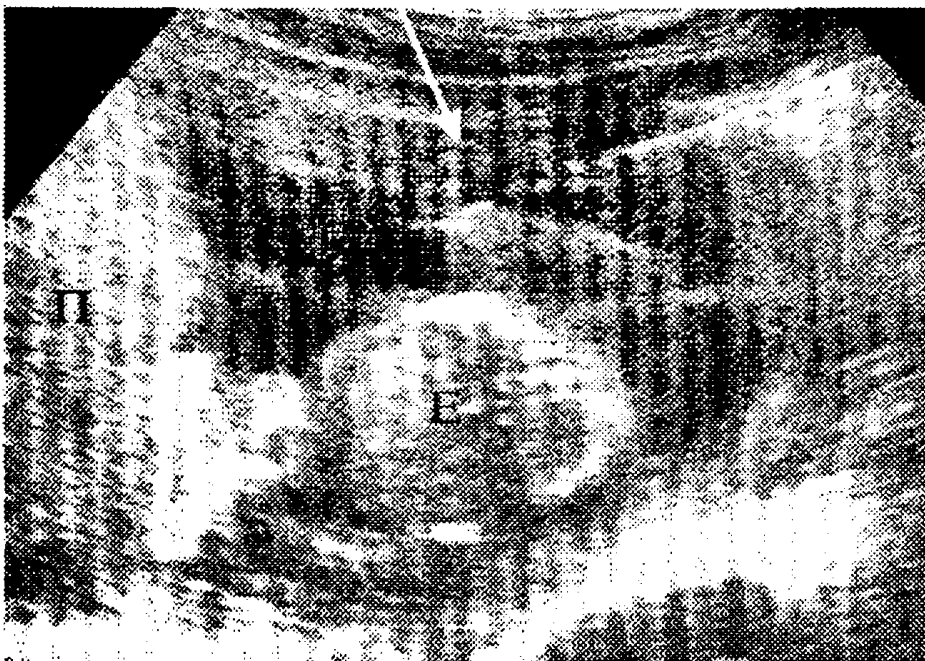
Με την λήψη και εξέταση λοιπόν αμνιακού υγρού είναι η δυνατή η διάγνωση πολλαπλών παθολογικών καταστάσεων.

Η αμνιοπαρακέντηση αρχικά χρησιμοποιήθηκε για την αντιμετώπιση του πολυαμνίου το 19^ο αιώνα (Prochowick, 1877, Lambi, 1881, Von Schatz, 1882). Ακολούθως, χρησιμοποιήθηκε για αμνιογραφία (Menees και συν., 1930) και εκλεκτική διακοπή κύησης (Boero, 1935, Aburel, 1937). Για γενετικούς λόγους χρησιμοποιήθηκε από το 1960. Το 1956 οι Fuchs και Riis ανακοίνωσαν προγεννητικό έλεγχο για ανάλυση της χρωματίνης του φύλου από κύτταρα που λαμβάνονται από αμνιοπαρακέντηση. Οι Steele και Breg το 1966 ανακοίνωσαν τον επιτυχή προσδιορισμό του ανθρώπινου καρυότυπου από καλλιέργεια κυττάρων αμνιακού υγρού. Ένα χρόνο αργότερα ανακοινώθηκε η πρώτη χρωμοσωμιακή ανωμαλία που ήταν ισοζυγισμένη μετάθεση (Jacobson και Barter, 1967). Το 1968 η πρώτη τρισωμία 21 διαγνώστηκε από το Valenti και συν.. Αρχικά, και μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του '80, η αμνιοπαρακέντηση ήταν τεχνική που είτε γίνονταν τυφλά είτε, κάτω από υπερηχογραφική καθοδήγηση, επιλέγονταν το σημείο που θα έμπαινε η βελόνα, προσπαθώντας να είναι ελεύθερο από πλακούντα. Το σημείο αυτό σημειωνόταν πάνω στην κοιλιά της μητέρας και μετά από κάποιο χρονικό διάστημα γινόταν η εισαγωγή της βελόνας τυφλά. Φάνηκε ότι η επέμβαση έχει λιγότερους κινδύνους όταν γίνεται κάτω από συνεχή υπερηχογραφική παρακολούθηση (Romero και συν., 1985). Ειδικότερα μειώνεται το ποσοστό πολλαπλών εισόδων στη μήτρα καθώς επίσης της λήψεως αιμορραγικού αμνιακού υγρού. Επιπρόσθετα, η συνεχής παρακολούθηση της επέμβασης από την έγκυο γυναίκα βοηθά στην κατανόηση και συνεργασία γιατρού και ασθενούς και προσφέρει τη δυνατότητα παραλλαγής της επέμβασης εάν προκύψουν δυσκολίες .



Η αμνιοπαρακέντηση συνήθως εκτελείται μεταξύ 16 και 18 εβδομάδων. Μελέτες έδειξαν χαμηλότερο ποσοστό επιτυχίας για τη λήψη αμνιακού υγρού όταν η επέμβαση γίνεται σε ηλικία κύησης μικρότερη από 15 εβδομάδες. Πριν την επέμβαση γίνεται υπερηχογράφημα για την εκτίμηση εμβρυϊκής ζωτικότητας, ηλικίας κύησης, αριθμού εμβρύων, θέσης του πλακούντα, εκτίμησης του όγκου του αμνιακού υγρού και παρουσίας ανωμαλίας, όπως ινομύματα, εμβρυϊκή ανωμαλία, κλπ.

Γίνεται με χρήση βελόνας διαμέτρου 20 ή 22 gauge (Εικόνα 1). Μεγαλύτερης διαμέτρου βελόνες έχουν συνδυαστεί με αυξημένη συχνότητα εμβρυϊκής απώλειας, ενώ μικρότερης διαμέτρου με παρατεταμένο χρόνο αναρρόφησης αμνιακού υγρού και μεγαλύτερης δυσκολίας χειρισμών κατά τη διάρκεια της επέμβασης. Η χρήση της υπερηχογραφίας κατά τη διάρκεια της αμνιοπαρακέντησης μείωσε τη συχνότητα της πολλαπλής εισόδου της βελόνης. Ο όγκος του αμνιακού υγρού που αναρροφάται ποικίλει με το κέντρο. Τα περισσότερα κέντρα αναρροφούν μεταξύ 20 και 25 ml, το οποίο αντιπροσωπεύει το 10% του μέσου όγκου αμνιακού υγρού για τις 16 εβδομάδες κύησης. Ο όγκος του αμνιακού υγρού που λαμβάνεται σε σχέση με την εμβρυϊκή απώλεια έχει συζητηθεί πολύ.



Εικόνα 1. Αμνιοπαρακέντηση. Διακρίνεται η βελόνα (βέλος), ο πλακούντας (Π) και το έμβρυο (Ε).

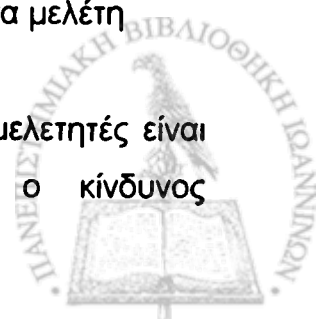


Ενώ η American Collaborative Study ανακοίνωσε ότι ο όγκος του αμνιακού που αναρροφάται δε σχετίζεται με την εμβρυϊκή απώλεια, η Καναδική μελέτη υπέδειξε ότι υπάρχει αυξημένη συχνότητα νεογνικών επιπλοκών όταν ο όγκος του αμνιακού είναι μεγαλύτερος από 16 ml. Η σύσταση είναι να λαμβάνεται 1 ml ανά εβδομάδα. Ο απαιτούμενος χρόνος για την αντικατάσταση του αμνιακού υγρού δεν έχει καθοριστεί.

Οι Ager και Oliver το 1986 εξέτασαν όλες τις μελέτες που είχαν δημοσιευτεί σχετικά με την αμνιοπαρακέντηση από το 1975 μέχρι το 1985. Ήταν 28 μεγάλες εθνικές μελέτες, οι οποίες περιελάμβαναν τουλάχιστον 1.000 περιπτώσεις η μία. Οι συνολικές εμβρυϊκές απώλειες συμπεριλαμβανομένων των αυτομάτων εκτρώσεων, ενδομητρίων θανάτων και νεογνικών θανάτων μετά την αμνιοπαρακέντηση κυμαίνονταν από 2,4 έως 5,2%. Σε 4 από τις 28 αυτές μελέτες υπήρχε ομάδα ελέγχου που δεν έκανε αμνιοπαρακέντηση. Οι συνολικές εμβρυϊκές απώλειες κυμαίνονταν από 1,8 έως 3,7%. Υπολογίστηκε από αυτές τις μελέτες ότι ο κίνδυνος για εμβρυϊκή απώλεια στις ομάδες που έκαναν αμνιοπαρακέντηση ήταν 0,2-2,1% υψηλότερος απ'ότι στην ομάδα ελέγχου.

Η μόνη τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη έγινε στη Δανία. Σ'αυτή τη μελέτη 4.606 χαμηλού κινδύνου υγιείς γυναίκες, ηλικίας 25 έως 34 ετών, στις 14 έως 20 εβδομάδες της κύησης χωρίστηκαν τυχαία σ'αυτές που θα έκαναν αμνιοπαρακέντηση ή σ'αυτές που θα έκαναν μόνο υπερηχογράφημα. Οι συνολικές εμβρυϊκές απώλειες στις ασθενείς που έκαναν αμνιοπαρακέντηση ήταν 1% υψηλότερες απ'ότι στην ομάδα ελέγχου. Υπήρχε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των εμβρυϊκών απωλειών με 1) την τρώση του πλακούντα κατά την επέμβαση, 2) την υψηλή συγκέντρωση μητρικής AFP και 3) την ύπαρξη κεχρωσμένου αμνιακού υγρού. Η μελέτη αυτή από τη Δανία ανέφερε επίσης ότι η αμνιοπαρακέντηση συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο αναπνευστικής δυσχέρειας και πνευμονίας των νεογνών. Αν και μερικές μελέτες έχουν αναφέρει αυξημένη επίπτωση στρεβλοποδίας και εξαρθρήματος του ισχίου στα έμβρυα των ασθενών που έκαναν αμνιοπαρακέντηση, αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν από την παρούσα μελέτη (Tabor και συν., 1986).

Ο πρωταρχικός κίνδυνος που συνήθως εξετάζεται από τους μελετητές είναι αυτός της εμβρυϊκής απώλειας. Ταυτόχρονα υπάρχει ο κίνδυνος



τραυματισμού του εμβρύου από τη βελόνα. Η εμβρυϊκή απώλεια είναι είτε ιδιοπαθής, που καταλήγει σε ανεξήγητο εμβρυϊκό θάνατο, είτε αποτέλεσμα άμεσου τραυματισμού του εμβρύου, που καταλήγει σε αιμορραγία ή λοίμωξη. Η αμνιοπαρακέντηση μπορεί να οδηγήσει σε ενδοαμνιακή λοίμωξη λόγω εισόδου μικροβίων από το δέρμα ή τραυματισμού του εντέρου και είσοδο εντερικού περιεχομένου στη μητρική κοιλότητα. Μερικές φορές συμβαίνει ρήξη των αμνιακών μεμβρανών και πιθανά ανιούσα φλεγμονή (Ager και Oliver, 1986). Οι Tabor και συν. (1986) αναφέρουν ότι η απώλεια αμνιακού υγρού παρατηρήθηκε πιο συχνά στην ομάδα της αμνιοπαρακέντησης ενώ η κοιλιακή αιμόρροια παρατηρήθηκε σε παρόμοια ποσοστά σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Στην ίδια μελέτη δεν παρατηρήθηκε αυξημένο ποσοστό ορθοπαιδικών προβλημάτων. Παρόμοια αποτελέσματα είχε η ομάδα του Wald και συν. (1983). Αντίθετα αποτελέσματα είχαν άλλες μελέτες οι οποίες παρατηρούν αυξημένα ποσοστά στρεβλοποδίας, συγγενούς εξαρθήματος ισχύου και μετατάρσιου σε απαγωγή (NICHD, 1976, Chayen, 1978).

Οι διάφορες μελέτες συμφωνούν στην αύξηση του ποσοστού αναπνευστικής δυσχέρειας και πνευμονίας των νεογνών (Tabor και συν., 1986, Chayen, 1978). Ο τραυματισμός του εμβρύου ήταν συχνότερος όταν η αμνιοπαρακέντηση γίνονταν χωρίς συνεχή υπερηχογραφική παρακολούθηση. Το φάσμα του τραυματισμού μπορεί να είναι ο τραυματισμός του δέρματος, που συμβαίνει πιο συχνά, μέχρι το θάνατο του εμβρύου λόγω αιμορραγίας από το σημείο του τραυματισμού.

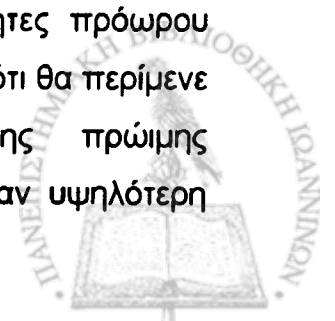
Παρ'όλα αυτά η αμνιοπαρακέντηση είναι επέμβαση που γίνεται τα τελευταία 40 χρόνια, το ιατρικό προσωπικό έχει αποκτήσει εμπειρία και υπάρχει ανάγκη μιας μεθόδου που γίνεται στο πρώτο τρίμηνο και είναι εξίσου ασφαλής με την αμνιοπαρακέντηση. Επειδή η λήψη χοριακής λάχνης είναι τεχνικά δύσκολη μέθοδος, που χρειάζεται έμπειρους χειριστές, μεγαλύτερη διαγνωστική ακρίβεια εργαστηρίου και αναγνωρίζοντας την ανάγκη για πρώιμη διάγνωση, έγινε προσπάθεια για εφαρμογή της αμνιοπαρακέντησης σε πρώιμα στάδια. Βελτίωση των τεχνικών καλλιέργειας αμνιακού υγρού και της υπερηχογραφίας οδήγησε στην πραγματοποίηση πρώιμης αμνιοπαρακέντησης πριν τις 15 εβδομάδες κύησης. Έτσι, προτάθηκε η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση σαν αντικατάσταση της λήψης χοριακής λάχνης και πολλές μελέτες έδειξαν αντικρουόμενα αποτελέσματα στην ασφάλεια της μεθόδου.

6.2. ΠΡΩΙΜΗ ΑΜΝΙΟΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗ

Στο τέλος της δεκαετίας του '80 η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση άρχισε να χρησιμοποιείται και οι μελέτες με πλήρη παρακολούθηση ανέφεραν ότι ο κίνδυνος για εμβρυϊκή απώλεια που σχετίζεται με την επέμβαση ήταν περίπου 3-6%.

Γίνεται διακοιλιακά με βελόνα 20 ή 22 gauge και λαμβάνονται περίπου 7 έως 10 ml αμνιακού υγρού. Μια προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη σύγκρινε την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση με τη λήψη χοριακών λαχνών (CVS) στις 10 με 13 εβδομάδες κύησης σε γυναίκες με μονήρεις κυήσεις οι οποίες ήθελαν να κάνουν εμβρυϊκό καρυότυπο στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Στις ασθενείς προσφέρθηκε η επιλογή της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης ή της CVS ή ότο να χωριστούν τυχαία σε πρώιμη αμνιοπαρακέντηση ή CVS. Πρώιμη αμνιοπαρακέντηση έγινε σε 840 γυναίκες, 562 επειδή το διάλεξαν και 278 από τυχαιοποίηση και CVS έγινε σε 652 γυναίκες, 375 επειδή το διάλεξαν και 277 μετά από τυχαιοποίηση. Η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση και η CVS έγιναν για την ίδια ένδειξη, στην ίδια ηλικία κύησης, από τους ίδιους γιατρούς και με την ίδια τεχνική. Οι επεμβάσεις έγιναν διακοιλιακά με βελόνα 20 gauge υπό συνεχή υπερηχογραφική καθοδήγηση και τα δείγματα στάλθηκαν στα ίδια κυτταρογενετικά εργαστήρια.

Επιτυχείς λήψεις δειγμάτων έγιναν στο 97,5% των περιπτώσεων και για τα δύο είδη επεμβάσεων. Επιπλέον τα μεσοδιαστήματα μεταξύ της λήψης του δείγματος και λήψης αποτελεσμάτων ήταν παρόμοια και για τις δύο τεχνικές. Η κύρια ένδειξη για επανάληψη της εξέτασης στην ομάδα που έκανε CVS ήταν μωσαϊκισμός, ενώ στην ομάδα που έκανε πρώιμη αμνιοπαρακέντηση ήταν αποτυχία της κυτταροκαλλιέργειας. Αυτή η αποτυχία συσχετιζόταν με την ηλικία κύησης τη στιγμή της επέμβασης: 5,3% στις 10 εβδομάδες και 1,6% στις 11 έως 13 εβδομάδες. Οι εμβρυϊκές απώλειες μετά την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση ήταν περίπου 3% υψηλότερες απ'ότι μετά από CVS. Η ηλικία κύησης και το βάρος γέννησης των νεογνών μετά από πρώιμη αμνιοπαρακέντηση και CVS ήταν παρόμοια και οι συχνότητες πρόωρου τοκετού ή χαμηλού βάρους γέννησης δεν ήταν υψηλότερες απ'ότι θα περίμενε κανείς σε φυσιολογικό πληθυσμό. Στην ομάδα της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης η συχνότητα στρεβλοποδίας (1,63%) ήταν υψηλότερη

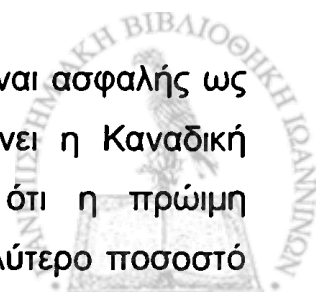


από ότι στην ομάδα που έκανε CVS (0,56%), αλλά η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Nicolaidis και συν., 1996).

Αντίθετα αποτελέσματα είχε η ομάδα του Johnson και συν. (1996) η οποία συνέκρινε την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση (11 έως 12+6 εβδομάδες) με την κλασσική στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης (15 έως 16+6 εβδομάδες) όσον αφορά την ασφάλεια των δύο μεθόδων. 683 γυναίκες μεγαλύτερες των 35 τυχαιοποιήθηκαν στις δύο μεθόδους. 344 γυναίκες υποβλήθηκαν σε πρώιμη αμνιοπαρακέντηση και 27 από αυτά τα έμβρυα απεβλήθησαν, ποσοστό 7,8% (αυτόματη ή ιατρογενής έκτρωση). Στην ομάδα των 339 γυναικών που υποβλήθηκαν σε αμνιοπαρακέντηση στο δεύτερο τρίμηνο, η συνολική εμβρυϊκή απώλεια ήταν 7,4%. Το ποσοστό αυτόματης εμβρυϊκής απώλειας ήταν 2,4% στην ομάδα της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης και 3,3% στην ομάδα του δευτέρου τριμήνου. Οι επεμβάσεις έγιναν με βελόνα 22 gauge. Συνολικά, η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση φαίνεται να είναι το ίδιο ασφαλής με αυτή του δευτέρου τριμήνου. Οι ερευνητές δεν παρατήρησαν αυξημένο ποσοστό στρεβλοποδίας.

Μια άλλη τυχαιοποιημένη μελέτη από τη Δανία προσπάθησε να διαφωτίσει το χώρο του προγεννητικού ελέγχου συγκρίνοντας την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση με τη λήψη χοριακής λάχνης (Sundberg και συν., 1997). Στη μελέτη έλαβαν μέρος 1160 έγκυες γυναίκες που τυχαία διαχωρίστηκαν σε πρώιμη αμνιοπαρακέντηση (χρησιμοποιώντας φίλτρο για αύξηση των κυττάρων που λαμβάνονται) και λήψη χοριακής λάχνης. 581 γυναίκες ήταν στην πρώτη ομάδα και 579 στη δεύτερη. Παρόλο που και οι δύο μέθοδοι φαίνεται να είναι το ίδιο ασφαλείς με παρόμοια ποσοστά εμβρυϊκής απώλειας, η ανάγκη επανάληψης της CVS ήταν πιο συχνή λόγω μη ικανοποιητικού αποτελέσματος, διαφορά στατιστικά σημαντική. Η απώλεια αμνιακού υγρού ήταν πιο συχνή στην ομάδα της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης. Το πιο σημαντικό αποτέλεσμα της μελέτης είναι ότι το ποσοστό στρεβλοποδίας στην ομάδα της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης ήταν στατιστικά σημαντικό και ήταν ο βασικός λόγος που σταμάτησε η μελέτη.

Απάντηση στο ερώτημα εάν η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση είναι ασφαλής ως μέθοδος προγεννητικού ελέγχου πρώτου τριμήνου μας δίνει η Καναδική μελέτη 4.374 γυναικών, στην οποία φαίνεται καθαρά ότι η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση πριν τις 13 εβδομάδες κύησης έχει μεγαλύτερο ποσοστό



6.2. ΠΡΩΙΜΗ ΑΜΝΙΟΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗ

Στο τέλος της δεκαετίας του '80 η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση άρχισε να χρησιμοποιείται και οι μελέτες με πλήρη παρακολούθηση ανέφεραν ότι ο κίνδυνος για εμβρυϊκή απώλεια που σχετίζεται με την επέμβαση ήταν περίπου 3-6%.

Γίνεται διακοιλιακά με βελόνα 20 ή 22 gauge και λαμβάνονται περίπου 7 έως 10 ml αμνιακού υγρού. Μια προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη σύγκρινε την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση με τη λήψη χοριακών λαχνών (CVS) στις 10 με 13 εβδομάδες κύησης σε γυναίκες με μονήρεις κυήσεις οι οποίες ήθελαν να κάνουν εμβρυϊκό καρυότυπο στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Στις ασθενείς προσφέρθηκε η επιλογή της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης ή της CVS ή στο να χωριστούν τυχαία σε πρώιμη αμνιοπαρακέντηση ή CVS. Πρώιμη αμνιοπαρακέντηση έγινε σε 840 γυναίκες, 562 επειδή το διάλεξαν και 278 από τυχαιοποίηση και CVS έγινε σε 652 γυναίκες, 375 επειδή το διάλεξαν και 277 μετά από τυχαιοποίηση. Η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση και η CVS έγιναν για την ίδια ένδειξη, στην ίδια ηλικία κύησης, από τους ίδιους γιατρούς και με την ίδια τεχνική. Οι επεμβάσεις έγιναν διακοιλιακά με βελόνα 20 gauge υπό συνεχή υπερηχογραφική καθοδήγηση και τα δείγματα στάλθηκαν στα ίδια κυτταρογενετικά εργαστήρια.

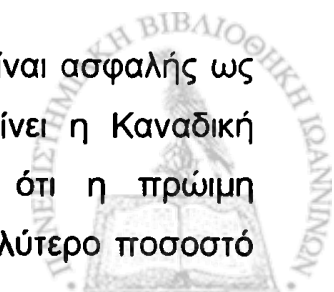
Επιτυχείς λήψεις δειγμάτων έγιναν στο 97,5% των περιπτώσεων και για τα δύο είδη επεμβάσεων. Επιπλέον τα μεσοδιαστήματα μεταξύ της λήψης του δείγματος και λήψης αποτελεσμάτων ήταν παρόμοια και για τις δύο τεχνικές. Η κύρια ένδειξη για επανάληψη της εξέτασης στην ομάδα που έκανε CVS ήταν μωσαϊκισμός, ενώ στην ομάδα που έκανε πρώιμη αμνιοπαρακέντηση ήταν αποτυχία της κυτταροκαλλιέργειας. Αυτή η αποτυχία συσχετιζόταν με την ηλικία κύησης τη στιγμή της επέμβασης: 5,3% στις 10 εβδομάδες και 1,6% στις 11 έως 13 εβδομάδες. Οι εμβρυϊκές απώλειες μετά την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση ήταν περίπου 3% υψηλότερες απ'ότι μετά από CVS. Η ηλικία κύησης και το βάρος γέννησης των νεογνών μετά από πρώιμη αμνιοπαρακέντηση και CVS ήταν παρόμοια και οι συχνότητες πρόωρου τοκετού ή χαμηλού βάρους γέννησης δεν ήταν υψηλότερες απ'ότι θα περίμενε κανείς σε φυσιολογικό πληθυσμό. Στην ομάδα της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης η συχνότητα στρεβλοποδίας (1,63%) ήταν υψηλότερη

απ'ότι στην ομάδα που έκανε CVS (0,56%), αλλά η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Nicolaidis και συν., 1996).

Αντίθετα αποτελέσματα είχε η ομάδα του Johnson και συν. (1996) η οποία συνέκρινε την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση (11 έως 12+6 εβδομάδες) με την κλασσική στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης (15 έως 16+6 εβδομάδες) όσον αφορά την ασφάλεια των δύο μεθόδων. 683 γυναίκες μεγαλύτερες των 35 τυχαιοποιήθηκαν στις δύο μεθόδους. 344 γυναίκες υποβλήθηκαν σε πρώιμη αμνιοπαρακέντηση και 27 από αυτά τα έμβρυα απεβλήθησαν, ποσοστό 7,8% (αυτόματη ή ιατρογενής έκτρωση). Στην ομάδα των 339 γυναικών που υποβλήθηκαν σε αμνιοπαρακέντηση στο δεύτερο τρίμηνο, η συνολική εμβρυϊκή απώλεια ήταν 7,4%. Το ποσοστό αυτόματης εμβρυϊκής απώλειας ήταν 2,4% στην ομάδα της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης και 3,3% στην ομάδα του δευτέρου τριμήνου. Οι επεμβάσεις έγιναν με βελόνα 22 gauge. Συνολικά, η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση φαίνεται να είναι το ίδιο ασφαλής με αυτή του δευτέρου τριμήνου. Οι ερευνητές δεν παρατήρησαν αυξημένο ποσοστό στρεβλοποδίας.

Μια άλλη τυχαιοποιημένη μελέτη από τη Δανία προσπάθησε να διαφωτίσει το χώρο του προγεννητικού ελέγχου συγκρίνοντας την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση με τη λήψη χοριακής λάχνης (Sundberg και συν., 1997). Στη μελέτη έλαβαν μέρος 1160 έγκυες γυναίκες που τυχαία διαχωρίστηκαν σε πρώιμη αμνιοπαρακέντηση (χρησιμοποιώντας φίλτρο για αύξηση των κυττάρων που λαμβάνονται) και λήψη χοριακής λάχνης. 581 γυναίκες ήταν στην πρώτη ομάδα και 579 στη δεύτερη. Παρ'όλο που και οι δύο μέθοδοι φαίνεται να είναι το ίδιο ασφαλείς με παρόμοια ποσοστά εμβρυϊκής απώλειας, η ανάγκη επανάληψης της CVS ήταν πιο συχνή λόγω μη ικανοποιητικού αποτελέσματος, διαφορά στατιστικά σημαντική. Η απώλεια αμνιακού υγρού ήταν πιο συχνή στην ομάδα της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης. Το πιο σημαντικό αποτέλεσμα της μελέτης είναι ότι το ποσοστό στρεβλοποδίας στην ομάδα της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης ήταν στατιστικά σημαντικό και ήταν ο βασικός λόγος που σταμάτησε η μελέτη.

Απάντηση στο ερώτημα εάν η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση είναι ασφαλής ως μέθοδος προγεννητικού ελέγχου πρώτου τριμήνου μας δίνει η Καναδική μελέτη 4.374 γυναικών, στην οποία φαίνεται καθαρά ότι η πρώιμη αμνιοπαρακέντηση πριν τις 13 εβδομάδες κύησης έχει μεγαλύτερο ποσοστό



εμβρυϊκής απώλειας, αποτυχίας καλλιέργειας κυττάρων (με χρήση φίλτρου ή όχι) και στρεβλοποδίας. Ο κίνδυνος που συνδυάζεται με τη μέθοδο μεταξύ 13 και 16 εβδομάδων δεν έχει ακόμα εκτιμηθεί. Θα πρέπει λοιπόν να μην συστήνεται σαν επεμβατική μέθοδος πρώτου τριμήνου (CEMAT, 1998, Sundberg και συν., 1999).

Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι η λήψη χοριακής λάχνης είναι η τεχνική που είναι καθιερωμένη για προγεννητική διάγνωση στο πρώτο τρίμηνο της κύησης.

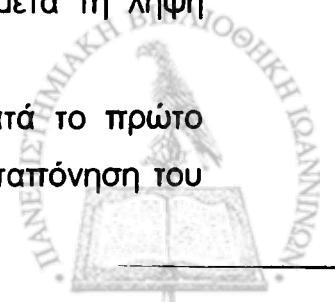
6.3. ΛΗΨΗ ΧΟΡΙΑΚΗΣ ΛΑΧΝΗΣ (CVS)

Υπερηχογραφικά κατευθυνόμενη λήψη χοριακών λαχνών (CVS) έγινε το 1984 στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της CVS είναι η πρώιμη και γρήγορη προγεννητική διάγνωση.

Οι χοριακές λάχνες καλύπτουν όλη την επιφάνεια του σάκου κύησης έως τις 9 εβδομάδες. Όταν ο σάκος αυξάνεται σε μέγεθος, οι λάχνες παλινδρομούν εκτός από το σημείο εμφύτευσης όπου βρίσκεται σε συνάφεια με τη decidua basalis. Οι λάχνες σ'αυτή την περιοχή ταχέως αναπτύσσονται για τη δημιουργία του εμβρυϊκού τμήματος του πλακούντα. Το τμήμα αυτό μπορεί να απεικονιστεί υπερηχογραφικά μετά την 9^η εβδομάδα κύησης.

Γι'αυτό η μέθοδος αυτή θα μπορούσε να εφαρμοστεί από τις 9 εβδομάδες κύησης με κυτταρογεννητικά αποτελέσματα μέσα σε 48 με 96 ώρες. Αντίθετα, η αμνιοπαρακέντηση δε πρέπει να γίνεται πριν τις 16 εβδομάδες και απαιτεί 2 με 3 εβδομάδες για την καλλιέργεια των κυττάρων. Ο πλακούντας γενετικά θεωρείται εμβρυϊκό όργανο. Ο τροφοβλαστικός ιστός είναι ένας δραστήριος, ταχέως διαιρούμενος ιστός που περιέχει πολλές αυτόματες μιτώσεις για ανάλυση χρωματοσωμάτων. Σε αντίθεση, τα κύτταρα του αμνιακού υγρού προέρχονται από αποφολίδωση του εμβρυϊκού δέρματος και των βλεννογόνων. Μόνο 20% αυτών των κυττάρων είναι ζώντα κατά τη λήψη (Nadler και Ryan, 1974) και τα κύτταρα αυτά πρέπει να καλλιεργηθούν στο εργαστήριο από 7 έως 14 ημέρες για ανάλυση χρωμοσωμάτων. Βέβαια, η PCR μας δίνει τη δυνατότητα αποτελέσματος σε 48 ώρες μετά τη λήψη αμνιακού υγρού.

Η δυνατότητα της λήψης χοριακής λάχνης για διάγνωση κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης μειώνει τη συναισθηματική και φυσική καταπόνηση του

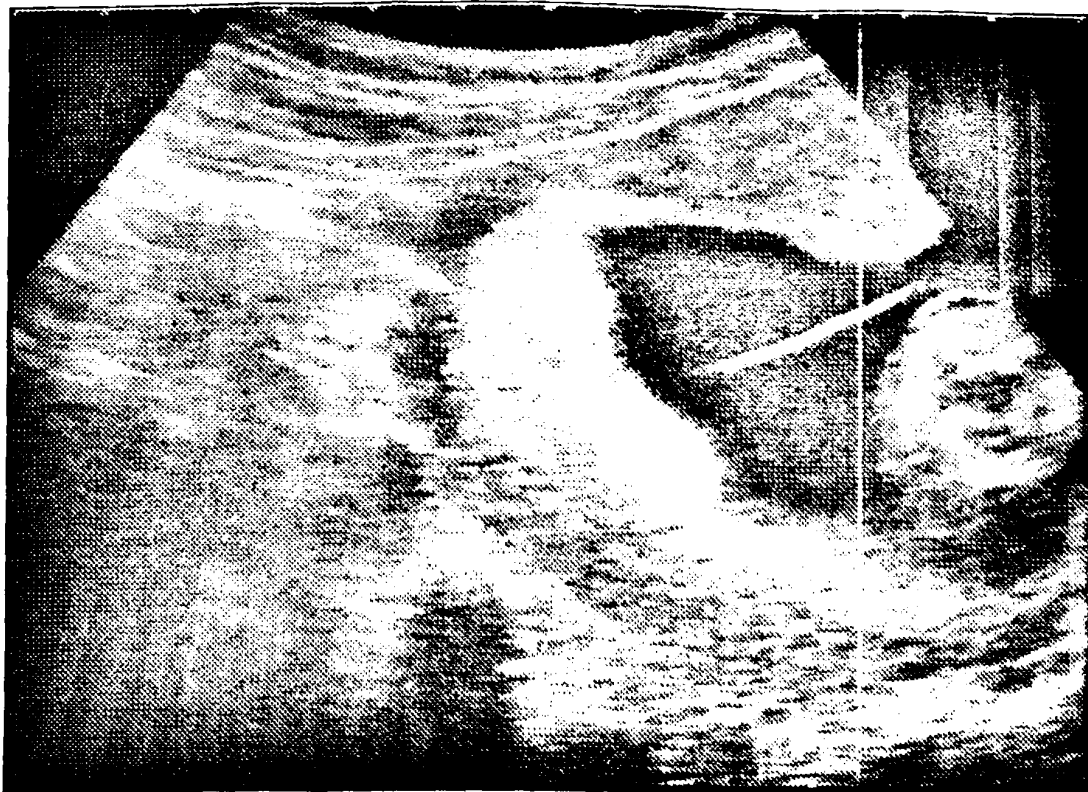


ζευγαριού υψηλού κινδύνου, διαφυλάσσει τη μυστικότητα της ασθενούς και επιτρέπει τη διακοπή κύησης στο πρώτο τρίμηνο. Μελέτες που σύγκριναν την ψυχολογική κατάσταση γυναικών που υποβλήθηκαν σε αμνιοπαρακέντηση και CVS έδειξαν ότι η δεύτερη μέθοδος προκαλεί λιγότερη συναισθηματική φόρτιση και για μικρότερο χρονικό διάστημα (Spencer και Cox, 1987). Επιπρόσθετα, γυναίκες που υποβλήθηκαν σε CVS έχουν μεγαλύτερη προσκόλληση στο μωρό τους (Spencer και Cox, 1988).

Το 1969 οι Hahnemann και Mohr επιχείρησαν τυφλή διατραχηλική λήψη χοριακών λαχνών σε 12 ασθενείς χρησιμοποιώντας όργανο 6mm. Παρ'όλο που υπήρξε επιτυχής καλλιέργεια κυττάρων, οι μισές γυναίκες απέβαλαν. Το 1973 οι Kullander και Sandahl χρησιμοποίησαν υστεροσκόπιο διαμέτρου 5mm με λαβίδα βιοψίας για διατραχηλική λήψη χοριακών λαχνών σε 39 ασθενείς που προσήλθαν για διακοπή κύησης. Η καλλιέργεια των κυττάρων ήταν επιτυχής στο 49% των περιπτώσεων αλλά δύο γυναίκες ανέπτυξαν σηπτικό shock.

Το 1974 ο Hahnemann περιέγραψε την εμπειρία του με την πρώτου τριμήνου προγεννητική διάγνωση χρησιμοποιώντας 2.5mm υστεροσκόπιο. Οι επιπλοκές ήταν πολλές ενώ κατά την ίδια χρονική στιγμή η αμνιοπαρακέντηση είχε ήδη κερδίσει έδαφος και οι επόμενες προσπάθειες για πρώτου τριμήνου προγεννητική διάγνωση εγκαταλείφθηκαν.

Δύο τεχνολογικά επιτεύγματα συνέβησαν έτσι ώστε η λήψη χοριακών λαχνών επανήλθε στις αρχές της δεκαετίας του '80. Το πρώτο ήταν η ανάπτυξη της real time υπερηχογραφίας, κάνοντας την υπερηχογραφική καθοδήγηση της λήψης χοριακών λαχνών δυνατή. Το δεύτερο είναι η δημιουργία μικρών και εύκαμπτων οργάνων λήψης χοριακής λάχνης. Το 1982 οι Kazy και συν. ανακοίνωσαν διατραχηλική CVS χρησιμοποιώντας είτε υστεροσκόπιο διαμέτρου 1.7mm με λαβίδα βιοψίας ή εύκαμπτη λαβίδα διαμέτρου 2mm με υπερηχογραφική καθοδήγηση. Σε 39 περιπτώσεις η κύηση διακόπηκε 5 με 10 ημέρες μετά τη βιοψία. Επανάληψη του υπερηχογραφήματος αμέσως πριν τη διακοπή διέγινωσε βιώσιμη κύηση σε όλες τις περιπτώσεις. Επιπρόσθετα 13 ασθενείς αποφάσισαν να συνεχίσουν την κύηση χωρίς να υπάρχει εμβρυϊκή απώλεια. Το 1982 οι Old και συν. ανακοίνωσαν πρώτου τριμήνου διάγνωση β μεσογειακής αναιμίας χρησιμοποιώντας DNA από διατραχηλική λήψη χοριακής λάχνης με 1.5mm διαμέτρου καθετήρα. Χρησιμοποιώντας παρόμοια



Εικόνα 2. Διακοιλιακή λήψη χοριακής λάχνης. Διακρίνεται η βελόνα μέσα στον πλακούντα.

τεχνική οι Brambati και συν. (1983) διέγνωσαν τρισωμία 21 στις 11 εβδομάδες κύησης.

Σήμερα, η λήψη χοριακής λάχνης γίνεται συνήθως διακοιλιακά. Δύο είναι οι μέθοδοι για τη διακοιλιακή λήψη, αυτή της διπλής βελόνας (όπου μια βελόνα 18 gauge και 15 cm εισέρχεται σε οδηγό βελόνης και αμέσως μετά με μία άλλη 20 ή 22 gauge 20 cm λαμβάνεται το δείγμα) ή αυτή με μία βελόνα free-hand 18 ή 20 gauge και 15 cm (Εικόνα 2). Η CVS εκτελείται μετά τοπική αναισθησία χωρίς η ασθενής να χρήζει νοσηλείας. Ανάλογα με την οδό λήψης, υπάρχουν αντενδείξεις για τη CVS. Η διατραχηλική λήψη αντενδείκνυται σε περιπτώσεις κολπίτιδας ή ινομυωμάτων στο κατώτερο τμήμα της μήτρας, στενού τραχηλικού καναλιού ή κολεόσπασμου. Αντίθετα, η διακοιλιακή λήψη θα πρέπει να αποφεύγεται όταν εντερικές έλικες ή μεγάλα ινομυώματα εμποδίζουν την πρόσβαση.

Σε περιπτώσεις κολπικής αιμόρροιας, Rh ευαισθητοποίησης, λοίμωξης HIV, ηπατίτιδας C ή B, η λήψη χοριακής λάχνης δεν θα πρέπει να γίνεται και η επέμβαση πρέπει να μετατοπίζεται μετά τις 16 εβδομάδες κύησης με λήψη αμνιακού υγρού (Blakemore και συν., 1986, Brambati και συν., 1986, Fuhrmann και συν., 1988, Smidt-Jensen και συν., 1994). Αν και δεν υπάρχουν

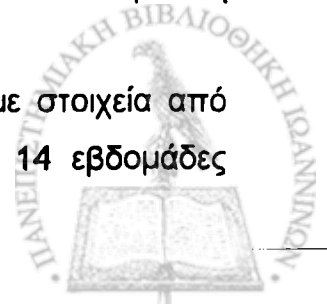
τυχαίοποιημένες μελέτες που να συγκρίνουν την λήψη χοριακής λάχνης με την αμνιοπαρακέντηση σε γυναίκες με HIV, ηπατίτιδα C ή B, υπάρχει τάση να προτιμάται η δεύτερη ώστε να αποφεύγεται ο τραυματισμός του πλακούντα (Κο και συν., 1994, Grosheine και συν., 1994, Mandelbrot και συν., 1996, Tess και συν., 1998, Alexander και συν., 1999, Delamare και συν., 1999).

Η Firth και συν. το 1991 ανακοίνωσαν ότι σε 5 περιπτώσεις από 289 στις οποίες έγινε CVS, σε ηλικία μικρότερη από 10 εβδομάδες, παρουσιάστηκαν σοβαροί ακρωτηριασμοί των άκρων, μικρογναθία και μικρογλωσσία. Η λήψη χοριακής λάχνης έγινε με βελόνα 18 gauge με μία είσοδο, κάτω από συνεχή υπερηχογραφική καθοδήγηση και ο χειριστής ήταν διαφορετικός. Το μέγεθος του δείγματος στις κήσεις που πάσχουν κυμαινόταν από 3 mg έως 50 mg, ο δε καρυότυπος ήταν φυσιολογικός. Οι συγγραφείς θέτουν το ερώτημα για το εάν η λήψη χοριακής λάχνης είναι ο πιθανός αιτιολογικός παράγοντας. Στη συνέχεια, μια σειρά από άλλες μελέτες επιβεβαίωσε την πιθανή συσχέτιση μεταξύ της CVS και εμβρυικών βλαβών, όταν γίνεται πρώιμα (Firth και συν., 1994, Froster-Iskenious και συν., 1999). Η ανάλυση από 75 τέτοιες περιπτώσεις έδειξε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της βαρύτητας της βλάβης και της ηλικίας κύησης. Έτσι, η ενδιάμεση ηλικία κύησης κατά την εκτέλεση της CVS ήταν 8 εβδομάδες σε αυτές που είχαν ακρωτηριασμούς ολόκληρου του άκρου και 10 εβδομάδες σε εκείνες που ο ακρωτηριασμός αφορούσε μόνο μερικές φάλαγγες. Η συχνότητα των ακρωτηριασμών στο γενικό πληθυσμό είναι 1,8/10.000 γεννήσεις και η επίπτωση μετά από πρώιμη CVS υπολογίζεται σε 1/200-1.000 περιπτώσεις. Ο τύπος της βλάβης είναι συμβατός με τον τρόπο της ανάπτυξης των άκρων, η οποία ουσιαστικά συμπληρώνεται τη 10^η εβδομάδα.

Παρ'όλα αυτά είναι πολύ δύσκολο να καταλήξει κάποιος σε ομόφωνα συμπεράσματα διότι ελάχιστα κέντρα έχουν ανακοινώσει ομάδες εμβρύων με ακρωτηριασμούς των άκρων, μικρογλωσσία και μικρογναθία ενώ υπάρχουν μεγάλες σειρές που δεν παρατηρείται αύξηση της συχνότητας σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Οι πιθανοί μηχανισμοί πρόκλησης βλαβών των άκρων περιλαμβάνουν μειωμένη αιμάτωση, απόφραξη μικρών αγγείων από έμβολα ή απελευθέρωση ουσιών οι οποίες προκαλούν αγγειόσπασμο. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί συσχετίζονται με τον τραυματισμό. Κατά τη CVS χοριακές λάχνες

τέμνονται εγκάρσια έτσι ώστε μπορεί να υπάρξει αιμορραγία από την εξωσωματική εμβρυϊκή κυκλοφορία στο μεσολάχινο στρώμα και στην κοιλότητα της μήτρας και έτσι μπορεί να δημιουργηθεί ένα αιμάτωμα κάτω από τον πλακούντα. Αφού το μεσολάχινο στρώμα είναι σε συνέχεια με την μητρική κυκλοφορία, κάποιου βαθμού εμβρυομητρική αιμορραγία μπορεί να συμβεί. Η αιμορραγία αυτή μπορεί να εντοπιστεί με μέτρηση της α εμβρυϊκής σφαιρίνης στο μητρικό ορό (Rodeck και συν., 1993). Οι Smidt-Jensen και συν. (1992) βρήκε ότι η αυτόματη έκτρωση μετά από διακοιλιακή CVS σε γυναίκες με χρωμοσωμικά φυσιολογικά έμβρυα παρουσιάστηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό σε αυτές που η συγκέντρωση της AFP αυξήθηκε σημαντικά μετά από τη λήψη. Είναι αληθοφανές ότι σοβαρή εμβρυϊκή αιμορραγία μετά CVS μπορεί να προκαλέσει εμβρυϊκό θάνατο και αυτόματη έκτρωση, ενώ μικρότερου βαθμού αιμορραγία οδηγεί στη φυσιολογική συνέχιση της κύησης (Los και συν., 1993). Πιθανά κάτι ενδιάμεσο συμβαίνει έτσι ώστε να βλέπεται το έμβρυο. Εναλλακτικός μηχανισμός εμβρυομητρικής αιμορραγίας θα μπορούσε να είναι η έμμεση ενεργοποίηση αγγειοδραστικών πεπτιδίων, απελευθέρωση εμβόλων στην τροφοβλάστη, διάτρηση της αμνιακής μεμβράνης ή ζυηρές συσπάσεις της μήτρας που οδηγούν σε αγγειακή διάσπαση του εμβρύου. Οι ακρωτηριασμοί και τα υπόλοιπα ελλείμματα που παρατηρούνται μετά από CVS είναι ανωμαλίες που προκαλούνται από περιβαλλοντική προσβολή. Κατά την παροδική διακοπή της αγγειακής παροχής στα μητριαία αγγεία εγκύων αρουραίων παρατηρούνται αυξημένα ποσοστά αυτόματης έκτρωσης και ανωμαλίες των άκρων. Η διακοπή αυτή οδηγεί σε ευμεγέθη διαστολή των αγγείων στα άκρα (μύτη, ουρά, άνω και κάτω άκρα, γεννητικά όργανα), με αποτέλεσμα τη ρήξη και τη δημιουργία αιμορραγικών βλαβών. Η ακόλουθη υποξία οδηγεί σε νέκρωση και αποδόμηση αυτών (Webster και συν., 1987). Οι Quintero και συν. (1992) χρησιμοποίησαν εμβρυοσκόπιο για την παρατήρηση εκχυμώσεων στο κρανίο, πρόσωπο, θώρακα, και κάτω άκρα μετά από διακοπτική λήψη χοριακής λάχνης πριν από τη διακοπή κύησης στις 68 ημέρες κύησης. Οι βλάβες είναι ανάλογες με αυτές που παρατηρούνται στους αρουραίους μετά από παροδική διακοπή της αιματικής ροής.

Παρ'όλα αυτά WHO/PAHO Consultation on CVS το 1999 με στοιχεία από 216.381 περιπτώσεις λήψης χοριακής λάχνης από 8 έως 14 εβδομάδες

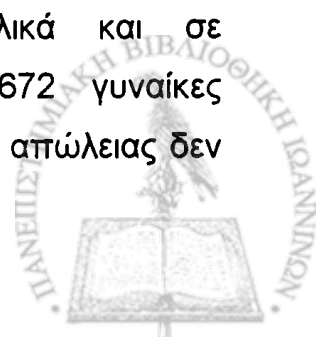


συμπέραναν ότι η μέθοδος είναι ασφαλής και οι ασθενείς δεν έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο από τον υπόλοιπο πληθυσμό.

Πολλές μελέτες έγιναν για την αξιολόγηση της ασφάλειας της μεθόδου και ειδικότερα για τον κίνδυνο εμβρυϊκής απώλειας, και τα αποτελέσματα ήταν αντικρουόμενα. Συνολικά περισσότερες από 9.000 γυναίκες έλαβαν μέρος και τυχαιοποιήθηκαν σ'αυτές τις μελέτες.

Η καναδική μελέτη (1989) εξέτασε 2.787 γυναίκες που τυχαιοποιήθηκαν σε CVS ή αμνιοπαρακέντηση και τα αποτελέσματα τους έδειξαν μη στατιστικά σημαντική διαφορά στις εμβρυϊκές απώλειες και για τις δύο τεχνικές. Οι Smidt-Jensen και συν. (1992) εξέτασαν 3.079 γυναίκες οι οποίες τυχαιοποιήθηκαν σε διακοιλιακή, διατραχηλική λήψη χοριακής λάχνης και αμνιοπαρακέντηση δευτέρου τριμήνου. Μεταξύ αυτών των γυναικών υπήρξε ποσοστό συνολικής εμβρυϊκής απώλειας 10,9% για την ομάδα της διατραχηλικής λήψης, 6,3% για αυτή της διακοιλιακής και 6,4% για την ομάδα της αμνιοπαρακέντησης, ποσοστά με στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι γυναίκες των τριών ομάδων είχαν παρόμοια επιδημιολογικά στοιχεία. Κολπική αιμόρροια παρατηρήθηκε πιο συχνά στις ομάδες της λήψης χοριακής λάχνης ενώ απώλεια αμνιακού υγρού συχνότερα σε αυτές της αμνιοπαρακέντησης. Η εμβρυϊκή απώλεια μετά από διατραχηλική λήψη χοριακής λάχνης είναι υψηλή ενώ η διακοιλιακή λήψη χοριακής λάχνης και η αμνιοπαρακέντηση είχαν παρόμοιο ποσοστό αποβολής. Τα δύο κέντρα που λάμβαναν μέρος στη μελέτη αποφάσισαν να εγκαταλείψουν τη διατραχηλική οδό.

Οι Ammala και συν. (1993) τυχαιοποίησαν 800 υψηλού κινδύνου λόγω ηλικίας (μέση ηλικία 39,2 ετών) έγκυες γυναίκες μεταξύ 9 και 11 εβδομάδων σε διατραχηλική λήψη χοριακής λάχνης και αμνιοπαρακέντηση στις 16 εβδομάδες. Το συνολικό ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας ήταν το ίδιο και στις δύο ομάδες ενώ σε 3,3% των γυναικών που υποβλήθησαν σε CVS χρειάστηκε να γίνει δεύτερη λήψη λόγω παθολογικών αποτελεσμάτων. Οι Borrell και συν. (1999) μελέτησαν 1.313 έγκυες γυναίκες οι οποίες τυχαιοποιήθηκαν σε λήψη χοριακής λάχνης διατραχηλικά και σε αμνιοπαρακέντηση στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης. 672 γυναίκες ολοκλήρωσαν τη μελέτη και φάνηκε ότι το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας δεν διαφέρει στατιστικά.



Αντίθετα αποτελέσματα έδειξε η MRC μελέτη που μεταξύ 1985 και 1989 εξέτασε 3.201 γυναίκες σε 31 κέντρα (1991). Γυναίκες που επιθυμούσαν να υποβληθούν σε προγεννητικό έλεγχο κυρίως λόγω ηλικίας τυχαιοποιήθηκαν σε λήψη χοριακής λάχνης και αμνιοπαρακέντησης με σκοπό τη μελέτη της ασφάλειας και διαγνωστικής ακρίβειας των δύο τεχνικών. 5% αυτών που τυχαιοποιήθηκαν σε CVS και 8% αυτών της αμνιοπαρακέντησης δεν εξετάστηκαν, συνήθως λόγω αυτόματης έκτρωσης. 6% της ομάδας της CVS και 2% της αμνιοπαρακέντησης επανέλαβαν την εξέταση λόγω αποτυχίας λήψεως δείγματος. Εξετάστηκε σαν πρωταρχική έκβαση η γέννηση ζώντος νεογνού που παρατηρήθηκε σε 86% των γυναικών της ομάδας λήψης χοριακής λάχνης και σε 91% της ομάδας αμνιοπαρακέντησης. Το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας στην ομάδα της λήψης χοριακής λάχνης ήταν 13,6% ενώ στην ομάδα της αμνιοπαρακέντησης ήταν 9%. Η πιο πιθανή εξήγηση για το αυξημένο ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας μετά από CVS στη μελέτη αυτή είναι η συμμετοχή πολλών κέντρων με μικρή εμπειρία στη χρήση αυτής της τεχνικής.

Τα αποτελέσματα από τα κέντρα όπου είχαν εμπειρία και στις δύο επεμβάσεις έδειξαν ότι η εμβρυϊκή απώλεια δεν είναι υψηλότερη μετά από CVS στο πρώτο τρίμηνο της κύησης, σε σύγκριση με αμνιοπαρακέντηση στο δεύτερο τρίμηνο.

Η κύρια χρήση της CVS είναι η λήψη εμβρυϊκού ιστού για πρώιμη προγεννητική διάγνωση. Η ίδια όμως τεχνική μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλη τη διάρκεια της κύησης.

Σε μια μελέτη 310 περιπτώσεων που έγινε CVS στο δεύτερο και τρίτο τρίμηνο της κύησης αναφέρθηκε επιτυχής εκτέλεση καρυότυπου στο 99% των περιπτώσεων (Holzgreve και συν., 1990). Αντίστοιχα αποτελέσματα είχε και η ομάδα της Δανίας (Smidt-Jehnsen και συν., 1993) σε μία μελέτη 210 γυναικών οι οποίες υπεβλήθησαν σε CVS στο δεύτερο και τρίτο τρίμηνο της κύησης. Οι μελετητές καταλήγουν στο ότι η μέθοδος είναι τεχνικά πιο απλή από το πρώτο τρίμηνο, παρέχει άμεσα αποτελέσματα, μπορεί να εκτελεστεί και σε περιπτώσεις ολιγαμνίου (συχνό υπερηχογραφικό εύρημα για καρυότυπο σε προχωρημένη ηλικία κύησης) και είναι πιο εύκολη από την παρακέντηση ομφαλίου λώρου.



Η λήψη χοριακής λάχνης είναι εύκολη μέθοδος όταν γίνεται από προσωπικό που έχει εκπαιδευτεί κατάλληλα και πρέπει να εκτελείται σε κέντρα που έχουν τέτοια υποδομή. Επιπρόσθετα ο χειριστής θα πρέπει να είναι πολύ καλά εκπαιδευμένος στο υπερηχογράφημα πρώτου τριμήνου. Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) προτείνει τα ακόλουθα κριτήρια για αυτά τα κέντρα: α) ποσοστό 90% επιτυχούς λήψης δείγματος κατά την πρώτη είσοδο και πάνω από 98% κατά τη δεύτερη, β) πάνω από 95% επιτυχία του εργαστηρίου, γ) ικανότητα διεξαγωγής διατραχηλικής και διακοιλιακής λήψης, δ) συνολική εμβρυϊκή απώλεια με φυσιολογικό καρυότυπο έως τις 28 εβδομάδες κύησης μικρότερη του 6% σε κέντρα με ασθενείς υψηλού κινδύνου, και ικανότητα συλλογής αποτελεσμάτων όπως έκβαση της κύησης και νεογνικό follow-up για τουλάχιστον 95% των επεμβάσεων.

Δυνητικοί κίνδυνοι και αναγνωρισμένες επιπλοκές της CVS περιλαμβάνουν κολπική αιμόρροια, αυτόματη έκτρωση, σηψαιμία της μητέρας, διάτρηση του αμνιακού σάκου και ανεξήγητη ελάττωση του αμνιακού υγρού (Hogge και συν., 1986, Babela και συν., 1986, WHO 1986, 1999). Η επιρροή της CVS στην ανάπτυξη του εμβρύου απασχόλησε τους ερευνητές καθώς η μέθοδος αυτή γίνεται σε μια χρονική περίοδο κατά την οποία η μορφογένεση είναι σε εξέλιξη. Το παρατηρούμενο ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας ποικίλει από κέντρο σε κέντρο από 1,3% έως 5,0% (Jackson, 1988). Όμως οι αυτόματες αποβολές πρώτου τριμήνου είναι συχνές και συμβαίνει μία σε κάθε έξι κλινικά αναγνωρισμένες κυήσεις (Warburton και Fraser, 1964). Οι παρατηρούμενες λοιπόν αποβολές μετά από λήψη χοριακής λάχνης δεν οφείλονται στη μέθοδο αυτή καθ'αυτή, αλλά και στην ηλικία κύησης.

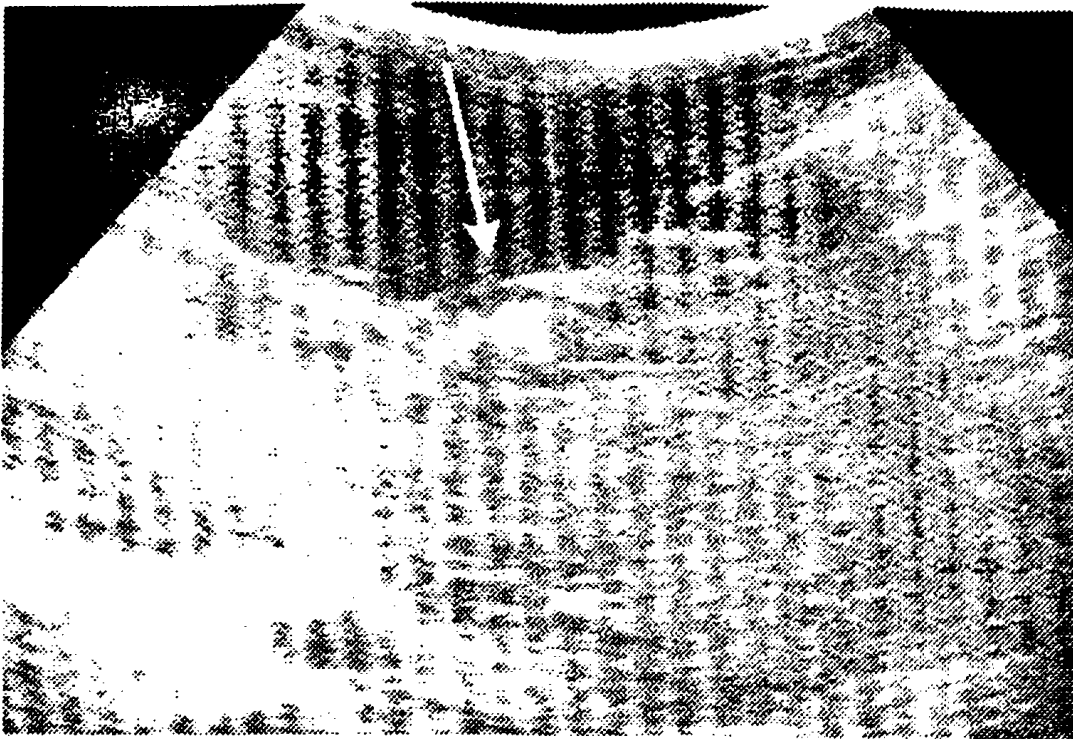
6.4. ΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗ ΤΟΥ ΟΜΦΑΛΙΟΥ ΛΩΡΟΥ

Ο Valenti ήταν ο πρώτος που έκανε λήψη εμβρυϊκού αίματος το 1972 με ενδοσκοπική μέθοδο χρησιμοποιώντας παιδιατρικό κυστεοσκόπιο. Στη συνέχεια, με την ανάπτυξη της εμβρυοσκόπησης, κατέστη δυνατόν να λαμβάνονται δείγματα εμβρυϊκού αίματος από αγγεία εμβρυϊκής επιφάνειας του πλακούντα και του ομφαλίου λώρου από τους Hobbins και συν. (1974). Η μέθοδος αυτή είχε μειονεκτήματα διότι τα αγγεία του πλακούντα είναι μικρά και κατά συνέπεια δύσκολος στόχος και η επιφάνεια του πλακούντα είναι σε συνέχεια με την αμνιακή κοιλότητα και με το μεσολάχινο διάστημα με

επιμόλυνση των δειγμάτων με αμνιακό υγρό και μητρικό αίμα. Το 1979 Rodeck και Campbell ανακοίνωσαν τη δυνατότητα λήψης εμβρυϊκού αίματος από τα αγγεία του ομφαλίου λώρου στο σημείο πρόσφυσης του στο πλακούντα. Με την τεχνική αυτή το ποσοστό επιμόλυνσης από μητρικό αίμα αμνιακό υγρό ήταν πολύ χαμηλό. Στη διάρκεια της δεκαετίας του '80 η χρήση των υπερήχων αντικατέστησε την εμβρυοσκόπηση και οι Daffos και συν. ανακοίνωσαν πρώτοι ότι το εμβρυϊκό αίμα μπορεί να ληφθεί διακοιλιακά με υπερηχογραφική καθοδήγηση μιας βελόνας στα αγγεία του ομφαλίου λώρου (1983). Ακολούθως, πολλές ομάδες δημοσίευσαν παρόμοιες τεχνικές με μικρές μόνο παραλλαγές από την αρχική, με παρακέντηση του ενδοηπατικού τμήματος της ομφαλικής φλέβας ή παρακέντηση της εμβρυϊκής καρδιάς σε περιπτώσεις που η πρόσβαση στον ομφάλιο λώρο δεν είναι εύκολη (Hobbins και συν., 1985, Nicolaidis και συν., 1986, Ludomirsky και συν., 1988, Benacerraf και συν., 1988, Weiner, 1988, Nicolaidis, 1988).

Υπάρχουν δύο βασικές μέθοδοι παρακέντησης του ομφαλίου λώρου: freehand τεχνική και η παρακέντηση με χρήση οδηγού βελόνας.

Η παρακέντηση του ομφαλίου λώρου πριν τη βιωσιμότητα του εμβρύου είναι δυνατόν να εκτελεστεί από ένα γιατρό, σε βάση εξωτερικού ιατρείου, σε ένα τμήμα υπερήχων χωρίς να υπάρχει ανάγκη για αναισθησία της μητέρας αναισθητικά ή τοκολυτικά και χωρίς να προκληθεί παράλυση στο έμβρυο. Σε περιπτώσεις που ο πλακούντας προσφύεται στο πρόσθιο ή στα πλάγια τοιχώματα της μήτρας, η βελόνα εισάγεται διαμέσου του πλακούντα μέσω στον ομφάλιο λώρο. Όταν ο πλακούντας προσφύεται στο οπίσθιο τοίχωμα της μήτρας, η βελόνα εισάγεται διαμέσου της αμνιακής κοιλότητας και ο ομφάλιο λώρος παρακεντάται κοντά στην είσοδό του στον πλακούντα (Εικόνα 3). Σε περιπτώσεις που το έμβρυο είναι βιώσιμο, καλό θα είναι η επέμβαση να γίνει σε αίθουσα που υπάρχει άμεση πρόσβαση στο χειρουργείο για εκτέλεση καισαρικής τομής, κι αυτό για την περίπτωση εμβρυϊκής δυσχέρειας κατά ή μετά την επέμβαση. Συνήθως εκτελείται μετά την 20^η εβδομάδα κύησης αλλά μπορεί να πραγματοποιηθεί από τις 12 εβδομάδες παρ'όλο που τεχνικά είναι πολύ πιο δύσκολο (Orlandi και συν., 1990, Lam και Tang, 2000). Το μέγεθος της βελόνας που χρησιμοποιείται από τα περισσότερα κέντρα είναι 20 ή 22 gauge 15 cm. Η προσπάθεια είναι να ληφθεί 6 έως 7% του όγκου αίματος του εμβρύου για την κάθε ηλικία κύησης.



Εικόνα 3. Διαμνιακή παρακέντηση του ομφαλίου λώρου. Διακρίνεται η κορυφή της βελόνας (βέλος) μέσα στην ομφαλική φλέβα.

Τις περισσότερες φορές το αίμα λαμβάνεται από την ομφαλική φλέβα, διότι η παρακέντηση της ομφαλικής αρτηρίας συνοδεύεται με μεγαλύτερο ποσοστό εμβρυϊκής βραδυκαρδίας και μεγαλύτερη διάρκεια αιμορραγίας μετά την επέμβαση. Όταν η πρόσβαση στον ομφάλιο λώρο στο σημείο που προσφύεται στον πλακούντα είναι δύσκολη ή αδύνατη, η λήψη εμβρυϊκού αίματος μπορεί να γίνει με παρακέντηση του ομφαλίου στο σημείο εισόδου του στο έμβryo, στην ενδοηπατική μοίρα της ομφαλικής φλέβας, σε μία ελεύθερη έλικα ή στην καρδιά (Nicolini και συν., 1988). Σημαντικότερη ενέργεια είναι ο έλεγχος του δείγματος. Έχει σημασία να μην υπάρχει επιμόλυνση από αίμα της μητέρας και/ή αμνιακό υγρό για τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Η διάρκεια της επέμβασης σχετίζεται με την εμπειρία του κέντρου και την τεχνική της δυσκολία. Οι Daffos και συν. (1985) δημοσίευσαν τα αποτελέσματα τους από τις πρώτες 606 παρακεντήσεις ομφαλίου λώρου επισημαίνοντας τη διάρκεια της επέμβασης στις πρώτες 100 και στις τελευταίες 100. Η διαφορά ήταν σημαντική, στις πρώτες το 70% των επεμβάσεων έγινε σε λιγότερο από 10 λεπτά ενώ το ίδιο ποσοστό έγινε σε λιγότερο από 5 λεπτά στις τελευταίες. Μία δεύτερη παρακέντηση ήταν απαραίτητη σε 2,9% των περιπτώσεων. Οι Lam και Tang (2000) δημοσίευσαν

διάγνωση αιμοσφαιρινοπάθειας Bart's μεταξύ 12-14 εβδομάδων μετά από μέτρηση του καρδιοθωρακικού δείκτη και παρακέντηση ομφαλίου λώρου. Η αύξηση της μέτρησης αυτής είναι αξιόπιστη μέθοδος διαλογής των εμβρύων που πάσχουν από αιμοσφαιρινοπάθεια. 62 έμβρυα είχαν αυξημένο καρδιοθωρακικό δείκτη και 59 μητέρες θέλησαν να υποβληθούν σε παρακέντηση ομφαλίου λώρου. Η επέμβαση ήταν επιτυχής σε 57 περιπτώσεις (97%) και χρησιμοποιήθηκε freehand τεχνική. 15 έμβρυα (25%) είχαν αιμορραγία από τον ομφάλιο λώρο και 12 (20%) είχαν βραδυκαρδία μετά την επέμβαση. Το ποσοστό αποβολής ήταν 8% και η αιμοσφαιρινοπάθεια επιβεβαιώθηκε και στα 62 έμβρυα.

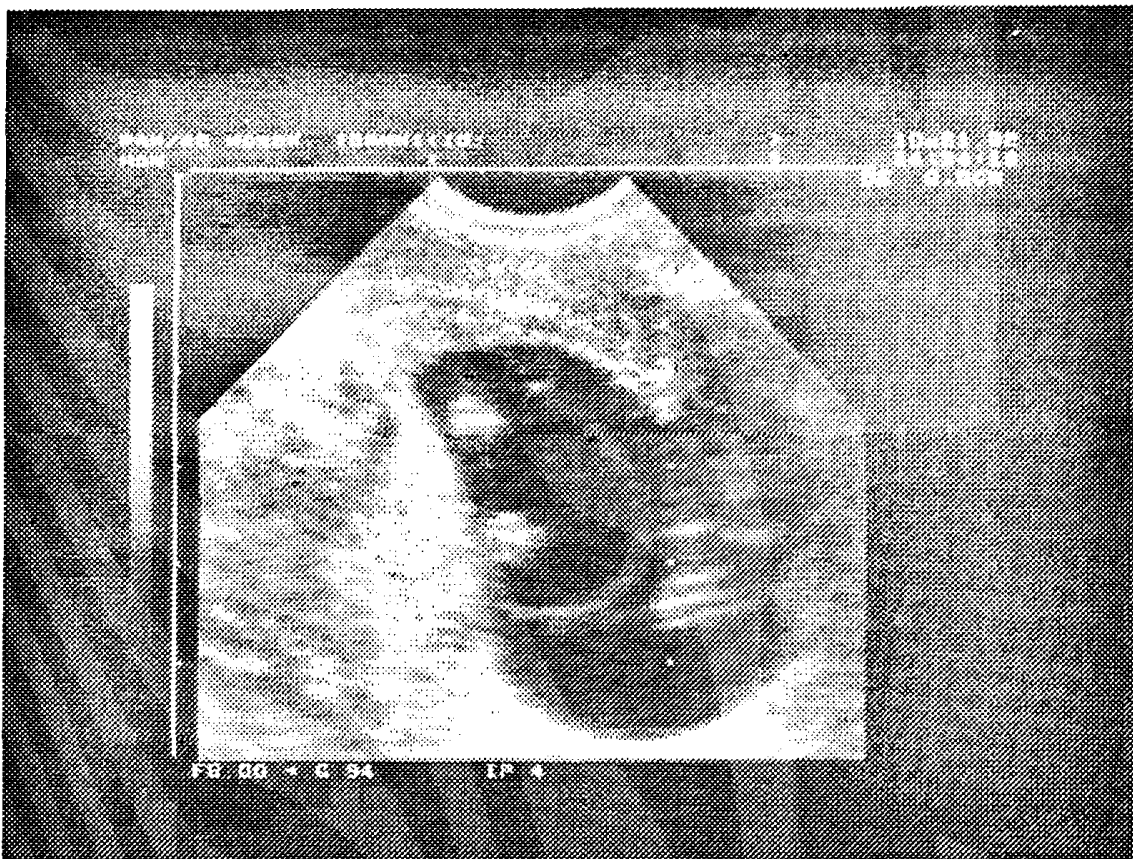
Ο κίνδυνος για εμβρυϊκό θάνατο μετά από παρακέντηση του ομφαλίου λώρου εξαρτάται από την ένδειξη για την οποία έγινε η επέμβαση. Οι Antsaklis και συν. (1998) αναφέρουν το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας σε σχέση με την ένδειξη. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 1.981 επεμβάσεις από τις οποίες οι 117 για συγγενείς λοιμώξεις, οι 1.437 για έλεγχο αιμοσφαιρινοπάθειας, 233 για έλεγχο καρυότυπου με φυσιολογικά υπερηχογραφικά ευρήματα και 121 με παθολογικά ευρήματα και τέλος 73 για σοβαρή ενδομήτρια καθυστέρηση ανάπτυξης. Τα ποσοστά εμβρυϊκής απώλειας για κάθε ομάδα ήταν 2,9%, 1,6%, 1%, 13,1% και 8,9% αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι ο κίνδυνος εμβρυϊκής απώλειας είναι πολύ μεγαλύτερος σε έμβρυα με παθολογικά υπερηχογραφικά ευρήματα και ενδομήτρια καθυστέρηση ανάπτυξης.

Οι επιπλοκές της παρακέντησης ομφαλίου λώρου, εκτός από το θάνατο ή την αυτόματη έκτρωση του εμβρύου, είναι η αιμορραγία από το σημείο της παρακέντησης, εμβρυϊκή βραδυκαρδία, λοίμωξη, θρόμβωση της ομφαλικής φλέβας και δημιουργία αιματώματος ομφαλίου λώρου (Muller και συν., 1988, Pietel και συν., 1988, Jauniaux και συν., 1989). Η λοίμωξη είναι μία πολύ σοβαρή επιπλοκή της επέμβασης. Χοριοαμνιονίτιδα και πρόωρη ρήξη εμβρυϊκών υμένων έχουν περιγραφεί. Συνηθίζεται, χωρίς να είναι αποδεδειγμένο, να δίνεται μία δόση χημειοπροφύλαξης πριν την επέμβαση (Wilkins και συν., 1989).



6.5 ΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΩΕΜΒΡΥΙΚΗΣ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑΣ (COELOCENTESIS)

Μια νέα μέθοδος χρησιμοποιήθηκε το 1993 από την ομάδα του Nicolaidis στο Λονδίνο για προγεννητική διάγνωση πρώτου τριμήνου, μεταξύ 6 και 12 εβδομάδων κύησης. Γίνεται διακοπτικά υπό συνεχή υπερηχογραφική καθοδήγηση με βελόνα 20 ή 22 gauge, η οποία εισέρχεται σε ειδικό οδηγό προσαρμοσμένο στην κεφαλή υπερήχων (Εικόνα 4). Είναι η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας που προσέφερε για πρώτη φορά τη δυνατότητα μελέτης του εμβρυϊκού και εξωεμβρυϊκού χώρου σε αρχόμενη κύηση.

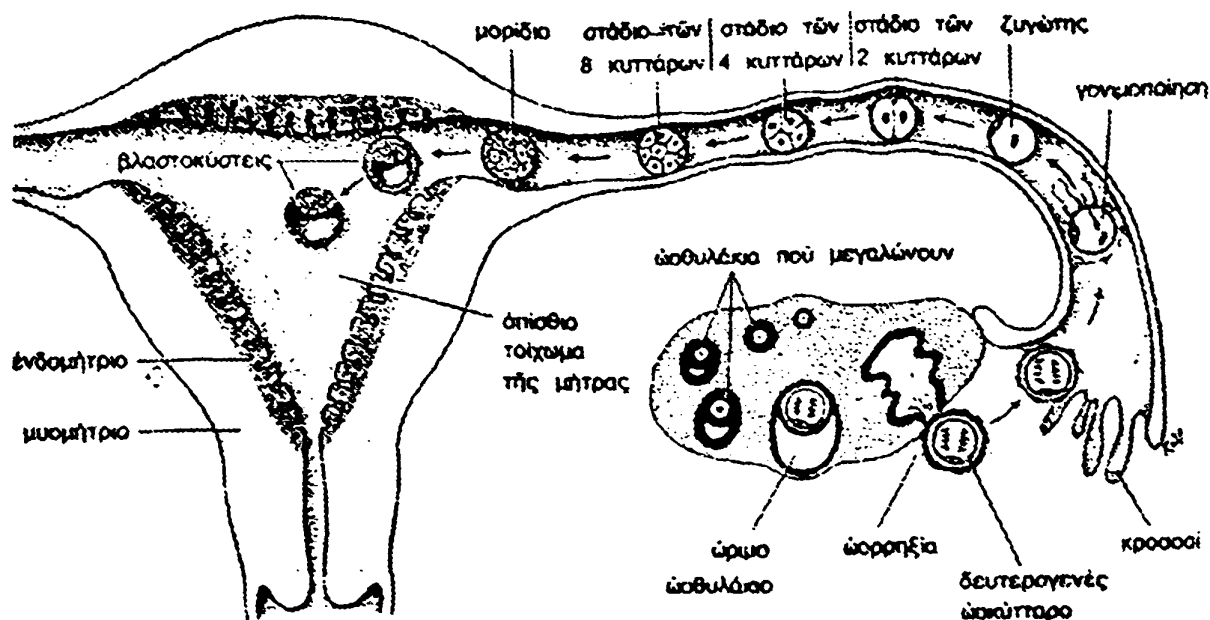


Εικόνα 4. Παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας υπό συνεχή κολπικό υπερηχογραφικό έλεγχο. Διακρίνεται η βελόνα αναρρόφησης.

6.5.α. Εμβρυολογία

Μετά τη γονιμοποίηση του ωαρίου από το σπερματοζωάριο, μία σειρά από μιτωτικές διαιρέσεις του ζυγώτη ξεκινά, οριοθετώντας την αρχή της ανθρώπινης ανάπτυξης. Έτσι σχηματίζεται το μορίδιο που αποτελείται από 16 κύτταρα και φτάνει στην ενδομήτρια κοιλότητα μετά από 4-5 ημέρες (Εικόνα 5).

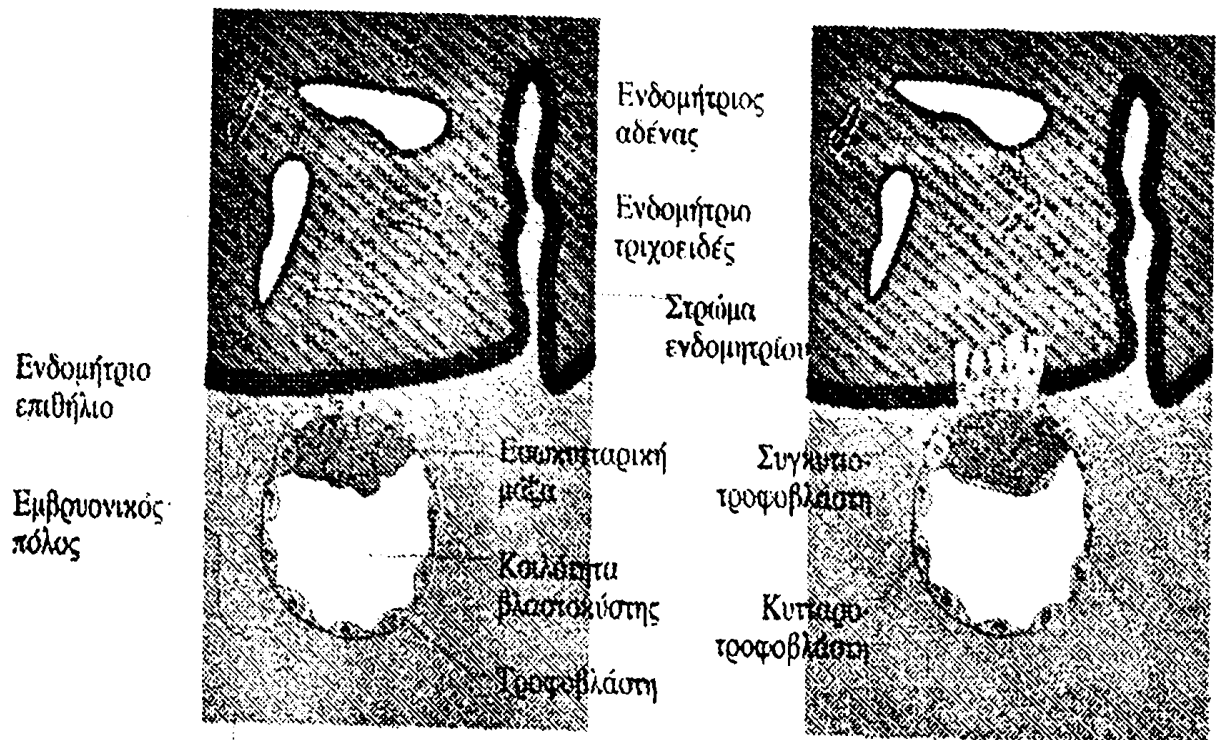




Εικόνα 5. Σχηματική παράσταση του ωθητικού κύκλου, της γονιμοποίησης και της εξέλιξης του ωαρίου στη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας. Το ωάριο ελευθερώνεται από την ωοθήκη με την ωοθυλακιορρηξία και περνά στον αγωγό όπου συναντιέται και γονιμοποιείται από ένα σπέρματοζώαριο. Ο ζυγώτης διαιρείται επανειλημμένα καθώς περνά από τον αγωγό προς τη μήτρα και γίνεται ένα μορίδιο. Το μορίδιο μπαίνει στην μήτρα αναπτύσσεται και γίνεται βλαστοκύστη. Η βλαστοκύστη αρχίζει να εισχωρεί στο ενδομήτριο. (Moore 1978)

Υγρό εισχωρεί μέσα στο μορίδιο στον μεσοκυττάριο χώρο σχηματίζοντας έτσι τη βλαστοκύστη. Αυτή αποτελείται από μία εξωτερική κυτταρική μάζα που ονομάζεται τροφοβλάστη, μία κεντρική εσωτερική κυτταρική μάζα (εμβρυοβλάστη) και την κοιλότητα της βλαστοκύστης που αποτελείται από υγρό, που περιέχονται στη διαφανή ζώνη. Η εμφύτευση λοιπόν πραγματοποιείται 7 ή 8 ημέρες μετά την ωορρηξία. Η εμφύτευση είναι αποτέλεσμα της δράσης των τροφοβλαστικών κυττάρων που αναπτύσσονται στην επιφάνεια της βλαστικής κύστης. Τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν πρωτεολυτικά ένζυμα που πέπτουν και ρευστοποιούν τα κύτταρα του ενδομητρίου. Ταυτόχρονα μεγάλο μέρος του υγρού και των θρεπτικών ουσιών που απελευθερώνονται μ' αυτόν τον τρόπο απορροφούνται ενεργητικά στο εσωτερικό της βλαστοκύστης, αφού φαγοκυτταρωθούν από τα τροφοβλαστικά κύτταρα, και αποτελούν το μέσο με το οποίο εξασφαλίζεται η παραπέρα αύξηση της βλαστικής κύστης. Ταυτόχρονα επίσης, άλλα τροφοβλαστικά κύτταρα σχηματίζουν κυτταρικές χορδές που επεκτείνονται ως τις βαθύτερες στοιβάδες του ενδομητρίου στις οποίες προσκολλώνται. Η εξαφάνιση της διαφανούς ζώνης εκθέτει την τροφοβλάστη στα επιθηλιακά κύτταρα του ενδομητρίου. Αυτό οδηγεί στην εμφύτευση με αύξηση του στρώματος που γίνεται οίδηματώδες και αγγειοβριθές. Όσο προχωρεί η εισβολή της

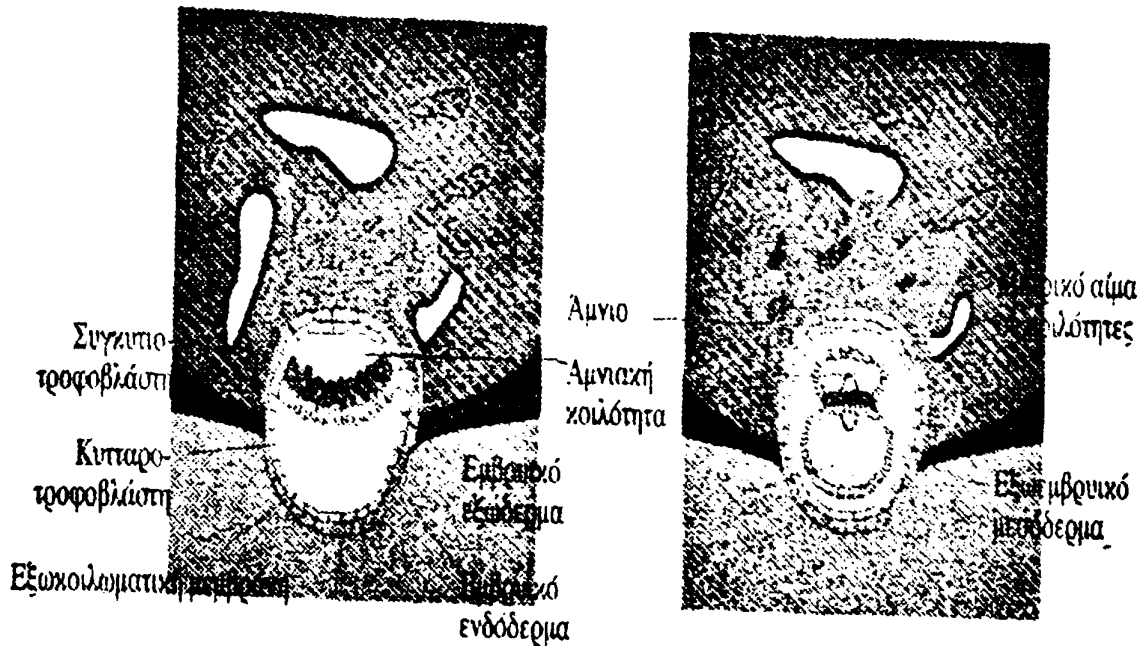
τροφοβλάστης μπορεί να ξεχωρίσουμε δύο κυτταρικά στρώματα: την εσωτερική κυτταροτροφοβλάστη και την εξωτερική συγκυτιοτροφοβλάστη.



Εικόνα 6. Σχηματικές παραστάσεις από τομές που δείχνουν τα αρχικά στάδια της εμφύτευσης. Α. 6 ημέρες: η τροφοβλάστη προσκολλάται στο ενδομητρικό επιθήλιο με τον εμβρυϊκό πόλο της βλαστοκύστης. Β. 7 ημέρες: η συγκυτιοτροφοβλάστη έχει διεισδύσει στο ενδομητρικό επιθήλιο. (Moore 1978)

Η συγκυτιοτροφοβλάστη εμφανίζει προεξοχές που διεισδύουν στο ενδομήτριο (Εικόνα 6). Κατά τη διάρκεια που η βλαστοκύστη εμφυτεύεται, αρχίζει η διαφοροποίηση της εσωτερικής κυτταρικής μάζας. Ένα στρώμα κυτάρων εμφανίζεται στην ελεύθερη επιφάνεια της που ονομάζεται εμβρυϊκό ενδόδερμα. Κατά την εμφύτευση της βλαστοκύστης στο ενδομήτριο η εσωτερική κυτταρική μάζα διαφοροποιείται και σχηματίζει δύο στρώματα, το εμβρυϊκό ενδόδερμα που είναι σε συνέχεια με την κοιλότητα της βλαστοκύστης, και το εμβρυϊκό εξώδερμα. Αυτά τα δύο στρώματα μαζί σχηματίζουν το δίστοιβο εμβρυϊκό δίσκο. Η τροφοβλάστη συνεχίζει να εισβάλλει στο ενδομήτριο που περιέχει αγγεία και αδένες, και με τη σειρά της η βλαστοκύστη κάνει το ίδιο. Καθώς η τροφοβλάστη έρχεται όλο και πιο πολύ σε επαφή με το ενδομήτριο, πολλαπλασιάζεται και διαφοροποιείται σε δύο στρώματα. Η συγκυτιοτροφοβλάστη εμφανίζει κοιλότητες που γεμίζουν με

μητρικό αίμα και με εκκρίσεις των αδένων του ενδομητρίου που έχουν προετοιμαστεί για την εμφύτευση, ενώ η κυτταροτροφοβλάστη αρχίζει να

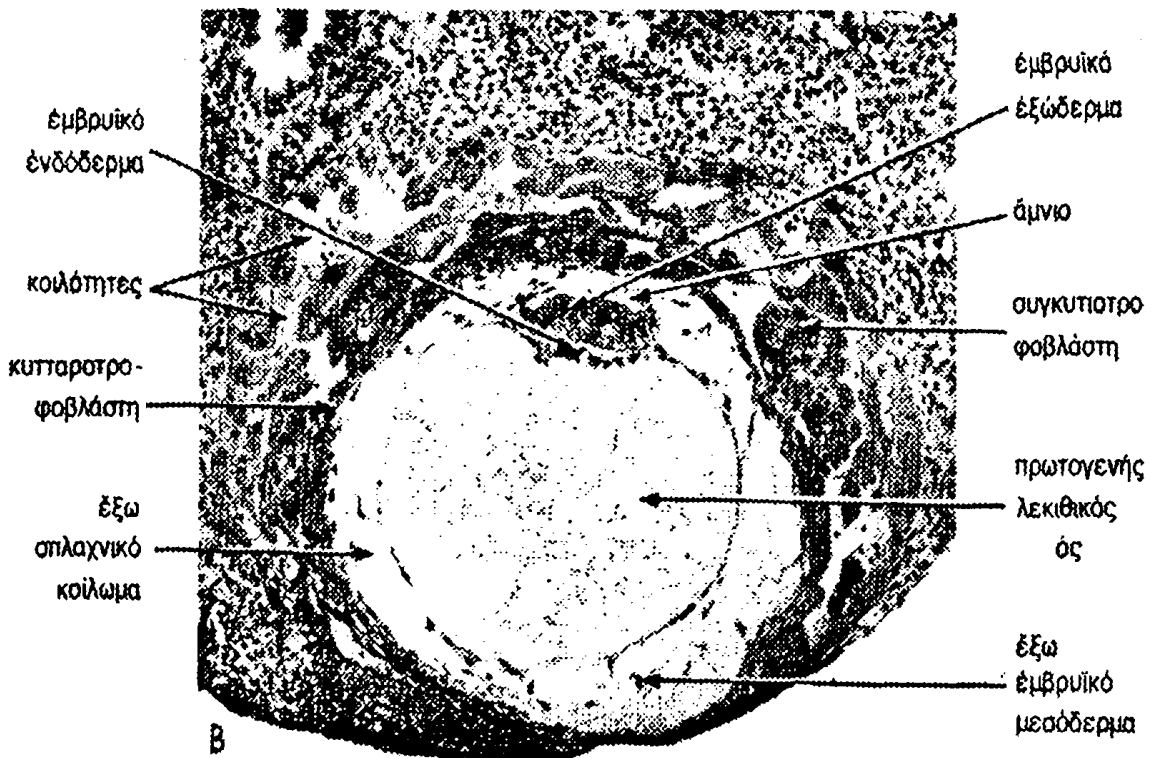


Εικόνα 7. Α. Βλαστοκύστη 8 ημερών που έχει εμφυτευθεί μερικά στο ενδομήτριο
Β. Βλαστοκύστη 9 ημερών που έχει εμφυτευθεί στο ενδομήτριο (Moore 1978)

περιβάλλει μικρούς χώρους που εμφανίζονται ανάμεσα στην έσω κυτταρική μάζα και στην τροφοβλάστη. Αυτοί οι χώροι θα δημιουργήσουν την αμνιακή κοιλότητα μετά από συνένωση τους (Εικόνα 7). Το εμβρυϊκό εξώδερμα λοιπόν έχει άμεση σχέση με την αμνιακή κοιλότητα η οποία, ενώ μεγαλώνει, περιβάλλεται από ένα επιθηλιακό στρώμα κυττάρων, το άμνιο. Συγχρόνως, μία άλλη σειρά κυττάρων από την τροφοβλάστη σχηματίζει μια εξωκοιλωματική μεμβράνη η οποία έχει άμεση σχέση με το εμβρυϊκό ενδόδερμα και περιβάλλει μια κοιλότητα που λέγεται αρχέγονος λεκιθικός ασκός.

Μερικά τροφοβλαστικά κύτταρα σχηματίζουν ένα στρώμα από χαλαρό ιστό γύρω από το άμνιο και την εξωκοιλωματική μεμβράνη, το οποίο ονομάζεται εξωεμβρυϊκό μεσόδερμα. Τα αγγεία του ενδομητρίου γύρω από το εμφυτευμένο έμβρυο έχουν διασταλεί και έχουν διαβρωθεί από την τροφοβλάστη, σχηματίζοντας ένα δίκτυο κοιλοτήτων που επικοινωνεί η μία με την άλλη και που λέγονται πρωτογενείς μεσολάχνιοι χώροι. Το μητρικό αίμα που φτάνει σ' αυτό το δίκτυο αρχίζει να κυκλοφορεί και έτσι εγκαθίσταται μια πρωτογενής μητροπλακουντιακή κυκλοφορία και αυτό συμβαίνει κατά την 11^η έως 12^η ημέρα της γονιμοποίησης. Και ενώ συνεχίζεται η διαφοροποίηση της

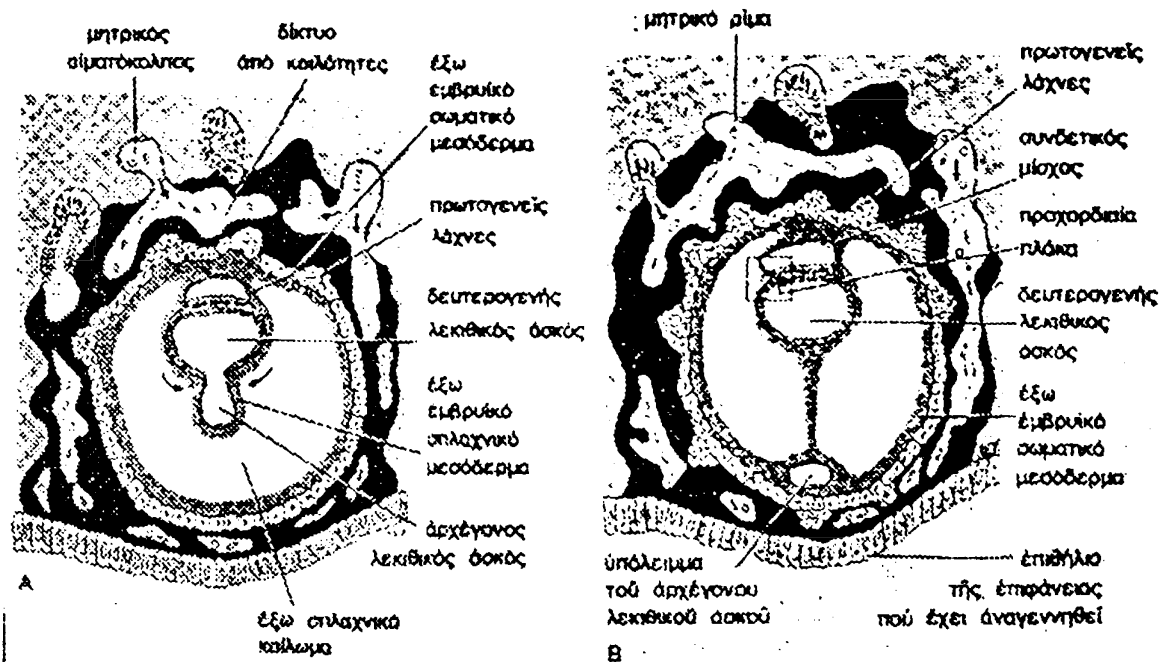
συγκυτιοτροφοβλάστης, το εξωεμβρυϊκό μεσόδερμα, που βρίσκεται το χώρο μεταξύ κυτταροτροφοβλάστης, του αμνίου και του αρχέγονου λεκιθικού ασκού, παρουσιάζει μεγάλους κοιλωματικούς χώρους που ενώνονται μεταξύ τους και σχηματίζουν ένα μεγάλο εξωεμβρυϊκό κοίλωμα. Αυτή η κοιλότητα που είναι γεμάτη από υγρό περιβάλλει το άμνιο και το λεκιθικό ασκό από παντού εκτός από το σημείο που το άμνιο είναι προσκολλημένο στην τροφοβλάστη με το συνδετικό μίσχο. Κατά το σχηματισμό του έξω σπλαχνικού κοιλώματος, ο πρωτογενής λεκιθικός ασκός ελαττώνεται σε μέγεθος και φτιάχνει ένα μικρότερο δευτερογενή ασκό. Το εξωεμβρυϊκό μεσόδερμα που καλύπτει την κυτταροτροφοβλάστη και το άμνιο ονομάζεται εξωεμβρυϊκό σωματικό μεσόδερμα, ενώ αυτό που καλύπτει το λεκιθικό ασκό ονομάζεται εξωεμβρυϊκό σπλαχνικό μεσόδερμα (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Τομή από τη θέση εμφύτευσης εμβρύου 12 ημερών που είναι βυθισμένο στη στοιβάδα του ενδομητρίου. (Moore 1978)

Τα κύτταρα του ενδομητρίου διαφοροποιούνται και λαμβάνουν πολυεδρικό σχήμα ενώ στο κυτταρόπλασμα τους αποθηκεύεται γλυκογόνο και λιπίδια. Ο εξωκυττάριος χώρος καταλαμβάνεται από υλικό που διατηρά από τα αιμοφόρα αγγεία και ο ενδομήτριος ιστός είναι οιδηματώδης. Από τη 13^η ημέρα της ανάπτυξης η τροφοβλάστη συνεχίζει να διαφοροποιείται, με προβάδισμα στον εμβρυϊκό πόλο. Τα κύτταρα της κυτταροτροφοβλάστης

δημιουργούν προσεκβολές που επενδύονται με κύτταρα συγκυτιοτροφοβλάστης. Το ενδόδερμα συνεχίζει τη δημιουργία ελάσματος επίπεδων επιθηλιακών κυττάρων στο εσωτερικό της εξωκοιλωματικής μεμβράνης και σιγά σιγά σχηματίζεται μια καινούργια κοιλότητα που ήδη αναφέρθηκε, του δευτερογενούς λεκιθικού ασκού. Ο σχηματισμός αυτός είναι μικρότερος από τον αρχέγονο λεκιθικό ασκό και μερικοί ερευνητές πιστεύουν ότι κατά τη δημιουργία του, μεγάλες ποσότητες από τον αρχέγονο λεκιθικό ασκό αποβάλλονται. Αυτές οι ποσότητες αποτελούν τις κύστεις που βρίσκονται μέσα στο εξωεμβρυϊκό σπλαχνικό κοίλωμα (Herting και συν., 1956). Άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι ο δευτερογενής λεκιθικός ασκός αναπτύσσεται από το ενδόδερμα και ο αρχέγονος λεκιθικός ασκός δεν παίζει κανένα ρόλο στο σχηματισμό του (Hamilton και Boyd, 1950).



Εικόνα 9. Σχηματικές παραστάσεις τομών από εμφυτευμένα ανθρώπινα έμβρυα.

A. 13 ημερών: Φαίνεται η ελάττωση του μεγέθους του αρχέγονου λεκιθικού ασκού.

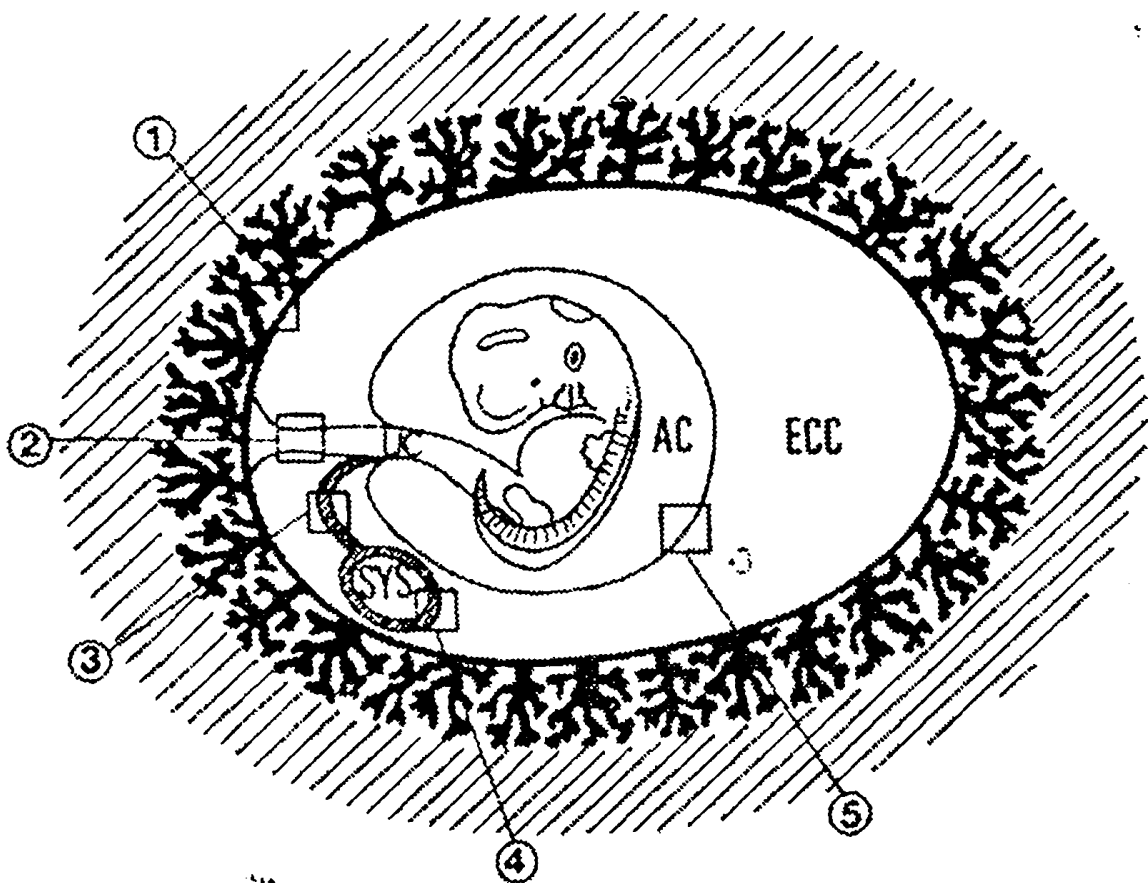
B. 14 ημερών: Φαίνεται ο δευτερογενής λεκιθικός ασκός (Moore 1978)

Το εξωεμβρυϊκό σωματικό μεσόδερμα μαζί με την τροφοβλάστη αποτελούν το χόριο. Το χόριο σχηματίζει μια κοιλότητα που μέσα σε αυτή είναι το άμνιο με το έμβρυο και το λεκιθικό ασκό και συνδέονται με ένα μίσχο (Εικόνα 9). Με την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων ο μίσχος θα γίνει ο ομφάλιος λώρος. Η κοιλότητα, μέσα στην οποία βρίσκεται το έμβρυο που περιβάλλεται από το άμνιο, αποτελεί την εξωεμβρυϊκή κοιλότητα.



6.5.β. Εμβρυονική φυσιολογία

Η διαδικασία της εμφύτευσης θεωρείται ο πιο σημαντικός παράγοντας επιτυχούς κύησης. Η γνώση της κυτταρικής βιολογίας της εμφύτευσης στον άνθρωπο είναι πτωχή και αυτό διότι οι παρατηρήσεις έχουν γίνει σε θηλαστικά τάξης primate ή σε πειραματόζωα (Schlafke και Enders, 1975). Μοναδική in vitro προσέγγιση των πρώιμων συμβαμάτων της εμφύτευσης ανθρώπινου εμβρύου έγινε από τους Lindenberg και συν. το 1986. Στα πειράματα αυτά ανθρώπινη βλαστοκύστη καλλιεργήθηκε με κύτταρα ενδομητρίου και αποδείχθηκε ότι η τροφοβλάστη διεισδύει μετά από άμεση επαφή με το επιθήλιο του ενδομητρίου. Περαιτέρω μελέτες δεν δημοσιεύτηκαν για ηθικούς λόγους.

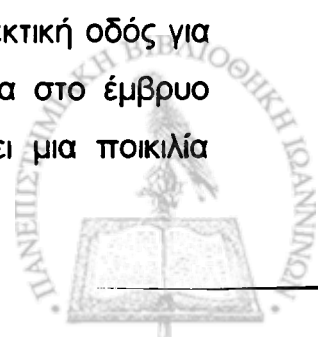


Εικόνα 10: Διάγραμμα του σάκου κύησης στο πρώτο τρίμηνο που δείχνει :

1. Χοριακή πλάκα, 2. UC:ομφάλιος λώρος, 3. Λεκιθικός μίσχος,
4. SYS:δευτερογενής λεκιθικός σάκος, 5. Αμνιακή μεμβράνη που διαχωρίζει την αμνιακή κοιλότητα (AC) από την εξωεμβρυϊκή κοιλότητα (ECC) (Jauniaux και συν., 1997)

Κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης ο αμνιακός σάκος περιβάλλεται από την εξωεμβρυϊκή κοιλότητα η οποία προέρχεται από το

εμβρυϊκό μεσόδερμα (Εικόνα 10). Το εξωεμβρυϊκό υγρό αντιπροσωπεύει ένα μείζον διαμέρισμα στην εμβryo-πλακουντιακή μονάδα κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης. Το διαμέρισμα αυτό αποτελείται από το υγρό που περιέχεται μεταξύ των χοριονικών και των αμνιακών μεμβρανών. Οι μηχανισμοί που επιδρούν στην εμβρυϊκή και εμβρυονική θρέψη στην αρχή της κύησης δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Δύο είδη θρέψης υπάρχουν κατά το πρώτο τρίμηνο (Beck και συν., 1985). Θρεπτικά συστατικά διαχέονται διαμέσου της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας και του δευτερογενή λεκιθικού ασκού έτσι ώστε να φτάσουν το έμβryo ή μεταφέρονται διαμέσου του πλακούντα. Η διαπλακουντιακή μεταφορά διαφόρων ουσιών μπορεί να γίνει όταν αρχίζει η κυκλοφορία του αίματος, μετά τις 12 εβδομάδες. Η εκφύλιση του δευτερογενούς λεκιθικού ασκού και της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας συνδυάζονται με την αρχή της θρέψης μέσω του πλακούντα. Η κύρια λοιπόν οδός θρέψης είναι η ανταλλαγή ουσιών διαμέσου της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας. Η πρόσβαση στο χώρο αυτό μας δίνει τη μοναδική δυνατότητα να μελετήσουμε τη φυσιολογία του εμβρύου σε πολύ πρώιμα στάδια. Το εξωεμβρυϊκό υγρό έχει σημαντικά χαμηλότερο pH και περίσσεια βάσης και περιέχει σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις σακχάρου, ολικών πρωτεϊνών και HCO_3 και μεγαλύτερες PCO_2 , γαλακτικού και PO_4 από το μητρικό ορό. Η εκλεκτική δειγματοληψία του εξωεμβρυϊκού υγρού που διαχωρίζει την πλακουντιακή χοριακή πλάκα από την αμνιακή κοιλότητα μεταξύ 5^{ης} και 12^{ης} εβδομάδας κύησης προσφέρει μία προσέγγιση στη μελέτη της μεταφοράς διαμέσου του πρώιμου ανθρώπινου πλακούντα (Jauniaux και συν., 1991). Όταν συγκριθεί η βιοχημεία του εξωεμβρυϊκού υγρού και του αμνιακού υγρού βρίσκουμε ότι διαφέρουν στη σχετική σύνθεση. Ιδιαίτερα ο πρωτεϊνικός τους τύπος ποικίλλει, κάτι που υποδηλώνει ότι έχουν διαφορετική προέλευση. Συνολικά έχει αποδειχθεί ότι το εξωεμβρυϊκό υγρό περιέχει πολυάριθμες ειδικές τροφοβλαστικές πρωτεΐνες και ότι ο εξωεμβρυϊκός χώρος θα πρέπει να θεωρηθεί ως η φυσιολογική υγρή επέκταση του πλακουντιακού λαχνικού μεσεγγύματος (Gulbis και συν., 1992, Jauniaux και συν., 1994, 1996). Η τροφοβλαστική μεμβράνη του πλακούντα είναι μία υπερεκλεκτική οδός για τη μεταφορά των πρωτεϊνών του πλάσματος από τη μητέρα στο έμβryo (Sibley και Boyd, 1992). Επιπλέον, η τροφοβλάστη παράγει μια ποικιλία



ειδικών πρωτεϊνών, όπως η ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροφίνη (hCG), το ανθρώπινο πλακουντιακό γαλακτογόνο (hPL), η πρωτεΐνη A του πλάσματος που σχετίζεται με την κύηση (PAPP-A), οι οποίες εκκρίνονται και στο μητρικό και στο εμβρυονικό διαμέρισμα (Jauniaux και συν., 1993, Iles και συν., 1994). Η ενδοδερμική στοιβάδα του δευτερογενούς εμβρυϊκού σάκου έχει επίσης όλους τους χαρακτήρες ενός απορροφητικού και εκκριτικού ιστού (Jones και Jauniaux, 1995) και είναι γνωστό ότι συνθέτει διάφορες πρωτεΐνες του ορού κοινές με το εμβρυϊκό ήπαρ, όπως η α-εμβρυϊκή πρωτεΐνη (AFP), α1-αντιθρυψίνη, αλβουμίνη, προ-αλβουμίνη και τρανσφερίνη (Gitlin και Perricelli, 1970). Με σπάνιες εξαιρέσεις, η σύνθεση των περισσότερων από αυτές τις πρωτεΐνες περιορίζεται στα εμβρυονικά διαμερίσματα και είναι περιορισμένη η συνεισφορά του λεκιθικού ασκού στην πρωτεϊνική δεξαμενή της μητέρας.

Η μεγαλύτερη πηγή σιδήρου που μεταφέρεται στο έμβρυο είναι η μητρική τρανσφερίνη, η δε ποσότητα του σιδήρου που χρειάζεται στους εμβρυϊκούς ιστούς είναι υποχρεωτική αξίωση που ικανοποιείται ανεξάρτητα από τις αποθήκες σιδήρου της μητέρας. Είναι γνωστό ότι ο σίδηρος διέρχεται γρήγορα τον πλακουντιακό φραγμό, αλλά ο μηχανισμός με τον οποίο διέρχεται την ανθρώπινη τροφοβλάστη είναι ελάχιστα γνωστός (Sibley και Boyd, 1992). Αν τα μόρια της τρανσφερίνης μπορούν να διέρχονται τον πλακούντα σε πολύ μικρές ποσότητες και πολύ αργά, *in vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι ο περισσότερος μητρικός σίδηρος απελευθερώνεται στο μεσολάχιο χώρο και δεσμεύεται ταχέως από τους υποδοχείς τρανσφερίνης, που βρίσκονται στην επιφάνεια της συγκυτιοτροφοβλάστης. Ο κυτταρικός σίδηρος πιθανά μεταφέρεται από κάποιας μορφής χαμηλού μοριακού βάρους υποδοχέα προς κοκκία αποθήκευσης σιδήρου στη συγκυτιοτροφοβλάστη ή προς τη φερριτίνη και απελευθερώνεται στην εμβρυϊκή κυκλοφορία για να συνδεθεί με την τρανσφερίνη. Ο βαθμός μεταφοράς του σιδήρου διαμέσου του πλακούντα αυξάνει με την ανάπτυξη του εμβρύου και έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη της αιμοποίησης του (Bentley, 1985).

Έρευνες εμβρυϊκού αίματος από τον ομφάλιο λώρο, που ελήφθησαν *in utero* και κατά τον τοκετό, έδειξαν, ότι κατά το δεύτερο ήμισυ της ανθρώπινης κύησης, ο σίδηρος και η τρανσφερίνη είναι σε υψηλότερη συγκέντρωση στο εμβρυϊκό αίμα από ότι στο μητρικό (Carpiani και συν., 1992, Fryer και συν., 1994). Στο πρώτο τρίμηνο της κύησης η κατανομή του σιδήρου και των

δεσμευτικών πρωτεϊνών ανάμεσα στο μητρικό ορό και στο εξωεμβρυϊκό υγρό είναι συγκρίσιμη (Gulbis και συν., 1994) υποδηλώνοντας ότι οι μηχανισμοί μεταφοράς του σιδήρου τίθενται σε λειτουργία σε μικρό χρονικό διάστημα από την εμφύτευση. Στη μελέτη αυτή η Gulbis παρατήρησε ότι τα επίπεδα του σιδήρου και της τρανσφερρίνης είναι χαμηλότερα στο εξωεμβρυϊκό υγρό απ'ότι στο μητρικό ορό, διαφορά στατιστικά σημαντική. Η τρανσφερρίνη δεν είναι ανιχνεύσιμη τόσο στο αμνιακό όσο και στο εξωεμβρυϊκό υγρό ενώ η φερριτίνη βρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στο εξωεμβρυϊκό υγρό και τον μητρικό ορό.

Μελέτες έδειξαν ότι η αλβουμίνη, προ-αλβουμίνη και AFP είναι απαραίτητες πρωτεΐνες που παράγονται μέσα στο σάκο της κύησης από το δευτερογενή λεκιθικό ασκό μέχρι να ωριμάσει σε ικανό βαθμό το εμβρυονικό ήπαρ έτσι ώστε να μπορεί να διεκπεραιώσει τη λειτουργία του.

Μεταξύ της 6^{ης} και 12^{ης} εβδομάδας της κύησης, το μέσο επίπεδο των ολικών πρωτεϊνών είναι 18 φορές χαμηλότερο στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα από ότι στο μητρικό ορό, και 54 φορές υψηλότερο στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα από ότι στην αμνιακή κοιλότητα. Η φυσιολογική ελάττωση στις ολικές μητρικές πρωτεΐνες του ορού, που συμβαίνει κυρίως κατά τους τρεις πρώτους μήνες της κύησης κυμαίνεται από 10% έως 14% των τιμών σε μη εγκύους (Blackburn και Lopez, 1992) και δε σχετίζεται με παρόμοιες μεταβολές στα εμβρυονικά υγρά.

Κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης, η συγκέντρωση της αλβουμίνης στο μητρικό ορό δείχνει μία σχετική μείωση λόγω αυξημένου όγκου μητρικού αίματος και αιμοδιάλυσης του, ενώ οι συγκεντρώσεις των σφαιρινών και ινωδογόνου δείχνουν αύξηση. Κατά την ίδια περίοδο, τα επίπεδα ολικών πρωτεϊνών και προ-αλβουμίνης αυξάνονται στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα, τα επίπεδα δε της αλβουμίνης δεν ποικίλουν σημαντικά. Δεν υπάρχει διαφορά στο εμβρυϊκό μέγεθος, στον όγκο του λεκιθικού ασκού και στο επίπεδο πρωτεϊνών στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα μεταξύ μητέρων με χαμηλά επίπεδα προ-αλβουμίνης ορού και μητέρων με υψηλά επίπεδα προ-αλβουμίνης ορού (Jauniaux και συν., 1994). Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η συγκέντρωση ολικών πρωτεϊνών στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα δεν επηρεάζεται από μεταβολές στα επίπεδα των πρωτεϊνών του ορού της μητέρας κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της

κύησης. Η αύξηση της συγκέντρωσης των περισσότερων πρωτεϊνών που παρατηρούνται στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου μπορεί να εξηγηθεί από την αυξημένη παραγωγή τους από τα εμβρυϊκά όργανα.

Κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης, η AFP παράγεται από το δευτερογενή λεκιθικό ασκό έως την 10^η εβδομάδα της κύησης και από το εμβρυονικό ήπαρ από την 6^η εβδομάδα της κύησης έως τον τοκετό (Gitlin και Perricelli, 1970). Η AFP έχει μεγαλύτερο μοριακό βάρος και η μέση συγκέντρωση της είναι περίπου 10.000 φορές υψηλότερη στο εμβρυονικό υγρό από ότι στο μητρικό ορό (Jauniaux και συν., 1993).

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα μόρια της AFP του εξωεμβρυϊκού και του αμνιακού υγρού, προέρχονται κυρίως από το λεκιθικό ασκό, ενώ τα μόρια AFP στον ορό της μητέρας προέρχονται κυρίως από το εμβρυϊκό ήπαρ. Η παρουσία στην εξωτερική επιφάνεια του δευτερογενούς λεκιθικού ασκού μεσοθηλιακών κυττάρων που δείχνουν ένα καλά ανεπτυγμένο μικρολαχνωτό όριο, πολυάριθμων πινοκυττωτικών κυστιδίων μέσα στο κυτταρόπλασμα τους και ένα σύστημα στην επιφάνεια επαφής των κυττάρων, υποδηλώνει ότι αυτά τα κύτταρα έχουν πολύ δραστήρια απορροφητική λειτουργία (Jones και Jauniaux, 1995). Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο ανθρώπινος δευτερογενής λεκιθικός ασκός έχει επίσης μία εκκριτική λειτουργία και εκκρίνει AFP στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα. Αντίθετα, τα μόρια AFP που προέρχονται από το εμβρυϊκό ήπαρ μεταφέρονται πιθανώς από το έμβρυο στη μητέρα κυρίως διαμέσω της πλακουντιακής λαχνωτής μεμβράνης.

Υψηλότερα επίπεδα hCG, οιστραδιόλης και προγεστερόνης στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα σε σύγκριση με το μητρικό ορό μπορούν να εξηγηθούν από τη στενή ανατομική σχέση που υπάρχει μεταξύ εξωεμβρυϊκής κοιλότητας και τροφοβλάστης, αφού αυτές οι δομές διαχωρίζονται μόνο από το χαλαρό μεσεγγυματικό ιστό της χοριακής πλακουντιακής πλάκας (Jauniaux και συν., 1995, Jones και Jauniaux, 1995). Παρόμοιοι χαρακτήρες έχουν παρατηρηθεί και για την πλακουντιακή πρωτεΐνη 14 (PP-14) και το πλακουντιακό γαλακτογόνο (hPL), που παράγονται μόνο από τον πλακούντα. Έως τώρα η μόνη εξαίρεση είναι η PAPP-A που βρίσκεται σε υψηλότερη συγκέντρωση στο μητρικό ορό από ότι στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα (Iles και συν., 1994). Τα επίπεδα της υποομάδας α και β ελεύθερης hCG είναι αντίστοιχα 185 και 33

φορές υψηλότερα στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα σε φυσιολογική κύηση από ότι στα αντίστοιχα δείγματα μητρικού ορού. Αυτό το εύρημα ενισχύει την υπόθεση, ότι στο πρώτο τρίμηνο της κύησης υπάρχει μία περίσσεια της έκκρισης της υποομάδας α ως προς την υποομάδα β από τη λαχνική τροφοβλάστη (Nagy και συν., 1994) και υποδηλώνει ότι ο ρυθμός κάθαρσης της hCG είναι πιο αργός στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα από ότι στη μητρική κυκλοφορία. Τα επίπεδα της hCG στο μητρικό ορό είναι πιθανό να επηρεάζονται και από τη λαχνική και από την εξωλαχνική τροφοβλαστική σύνθεση, ενώ στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα, που είναι τελείως περικυκλωμένη από λαχνικό ιστό επηρεάζονται μόνο από τη λαχνική τροφοβλαστική έκκριση. Αντίθετα με το μητρικό ορό, τα επίπεδα της ακέραιης hCG και της ελεύθερης α hCG στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα ελαττώνονται προοδευτικά μεταξύ 8^{ης} και 12^{ης} εβδομάδας της κύησης και τα επίπεδα της ελεύθερης β hCG δεν ποικίλουν (Jauniaux και συν., 1995). Οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης ελαττώνονται επίσης στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα μεταξύ του δεύτερου και του τρίτου μήνα της κύησης, ενώ αυτά τα επίπεδα ποικίλουν αντιστρόφως (αυξάνουν) στο μητρικό ορό. Αυτές οι αλλαγές στις συγκεντρώσεις ορμονών στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα είναι πιθανώς δευτεροπαθείς σε μία ελάττωση στην επιφάνεια ανταλλαγής, καθώς τα 2/3 του πρωτόγονου πλακουντιακού δακτυλίου αρχίζουν να αποσυντίθεται κατά τη διάρκεια του τρίτου μήνα της κύησης (Jauniaux και συν., 1993). Η ελάττωση των επιπέδων της ακέραιης και της ελεύθερης hCG της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας με την πρόοδο της κύησης μπορεί επίσης να είναι δευτεροπαθής σε μία ταυτόχρονη πτώση στον αριθμό των διαφοροποιημένων κυτταροβλαστικών κυττάρων και/ή στην εξαφάνιση των 2/3 του αρχικού πλακουντιακού ιστού που συμβαίνει την ίδια περίοδο. Οι Blithe και Iles (1995) παρατήρησαν ότι τα επίπεδα των ελεύθερων α και β υποομάδων της γλυκοπρωτεϊνικής ορμόνης στο εξωεμβρυϊκό υγρό είναι υψηλότερα κατά πολύ, απ' αυτά του αμνιακού υγρού και του ορού του αίματος της μητέρας. Επιπλέον, το επίπεδο της ελεύθερης α υποομάδας σ' αυτό το διαμέρισμα είναι δύο φορές υψηλότερο απ' αυτό της ακέραιης hCG. Λαμβάνοντας υπόψη τη μεγάλη ποσότητα ελεύθερης α υποομάδας που υπάρχει στο εξωεμβρυϊκό υγρό και την παρατήρηση ότι in vitro η ελεύθερη α υποομάδα μπορεί να προκαλέσει την έκκριση PRL από τα κύτταρα του φθαρτού της μήτρας είναι

πιθανόν η ελεύθερη α υποομάδα του εξωεμβρυϊκού υγρού να έχει μία λειτουργικότητα κατά τα αρχικά στάδια της κύησης.

Οι συγκεντρώσεις της ακέραιης hCG και της ελεύθερης α hCG μειώνονται σημαντικά με την εξέλιξη της κύησης. Πιστεύεται ότι η συγκέντρωση της hCG στο εξωεμβρυϊκό υγρό, όπως και στον ορό της μητέρας, επηρεάζεται κυρίως από την κυτταροβλαστική διαφοροποίηση και ότι η μεταβολική κάθαρση των μορίων της hCG είναι πιο αργή στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα παρά στον ορό της μητέρας. Στις παλίνδρομες εκτρώσεις, οι συγκεντρώσεις της ακέραιης hCG, της αhCG και της ελεύθερης βhCG στο μητρικό ορό και αυτές των ολικών πρωτεϊνών στο εξωεμβρυϊκό υγρό είναι σημαντικά χαμηλότερες απ'ότι στις φυσιολογικές κυήσεις. Τα επίπεδα συγκέντρωσης των ολικών πρωτεϊνών στο εξωεμβρυϊκό υγρό είναι εξαιρετικά χαμηλά σε όλες τις παλίνδρομες εκτρώσεις με προχωρημένη τροφοβλαστική νέκρωση, ενώ αυτά της hCG είναι χαμηλά όταν δεν υπάρχουν εμβρυονικά υπολείμματα. Οι παρατηρήσεις αυτές ενισχύουν την άποψη ότι η εμβρυονική και πλακουντιακή ανάπτυξη σχετίζονται στενά στο πρώτο τρίμηνο της κύησης, ενώ οι πλακουντιακές βιολογικές λειτουργίες παραμένουν μόνο για μια περιορισμένη χρονική περίοδο μετά την απώλεια του εμβρύου (Blithe και Iles, 1995). Λίγα είναι γνωστά για το ορμονικό περιβάλλον του αναπτυσσόμενου πρώιμου ανθρώπινου εμβρύου. Οι μέσες συγκεντρώσεις προγεστερόνης, οιστραδιόλης, 17β και 17α OH-προγεστερόνης στο εξωεμβρυϊκό υγρό, είναι υψηλότερες απ'ότι στο αμνιακό υγρό και στο μητρικό ορό. Οι συγκεντρώσεις δε της τεστοστερόνης και ανδροστενδιόνης είναι υψηλότερες στο μητρικό ορό και χαμηλότερες στο αμνιακό υγρό. Η κορτιζόλη και θειϊκή δεϋδροεπιανδροστερόνη, βρίσκονται μόλις στο κατώτερο όριο ανίχνευσης στα ενδομήτρια υγρά και σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις στο μητρικό ορό (Atkinson και συν., 1996). Το εξωεμβρυϊκό υγρό λοιπόν περιέχει σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις προγεστερόνης, οιστραδιόλης, 17β και 17α OH-προγεστερόνης, οι οποίες πιθανόν να συντίθενται τοπικά. Το αμνιακό υγρό περιέχει χαμηλότερες συγκεντρώσεις στεροειδών (εκτός της προγεστερόνης) απ'ότι το εξωεμβρυϊκό υγρό και ο μητρικός ορός. Η ελεύθερη διάχυση των στεροειδών διαμέσου του αμνίου φαίνεται περιορισμένη. Αυτό μπορεί να αποτελεί ένα μηχανισμό προστασίας του εμβρύου από την ανεπιθύμητη έκθεση του σε βιολογικά ενεργά στεροειδή. Δεν έχουν γίνει ακόμη μελέτες που

θα μπορέσουν να εξετάσουν την περίπτωση καθορισμού του εμβρυονικού φύλου και να επιβεβαιώσουν αν υπάρχει σχέση του φύλου του εμβρύου και των συγκεντρώσεων ανδρογόνων (Atkinson και συν., 1996).

Στην πρώιμη κύηση η ολική συγκέντρωση αμινοξέων είναι υψηλότερη στο εξωεμβρυϊκό υγρό απ' ότι στο μητρικό ορό και ελαττώνεται και στο μητρικό φλεβικό αίμα και στο εξωεμβρυϊκό υγρό μεταξύ 7^{ης} και 12^{ης} εβδομάδας (Jauniaux και συν., 1994). Με την πρόοδο της κύησης η πλειοψηφία των αμινοξέων ελαττώνεται στο εξωεμβρυϊκό υγρό. Η ελάττωση αυτή μπορεί να αντανακλά αλλαγές στην επιφάνεια ανταλλαγής μεταξύ του πλακούντα και της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας καθώς επίσης αυξημένη χρήση των αμινοξέων αυτών από τους εμβρυϊκούς ιστούς στην εξελισσόμενη κύηση (Jauniaux και συν., 1992).

Οι Campbell και συν. (1993) εξέτασαν τα επίπεδα του φυλλικού οξέος και της βιταμίνης B12 στις 9 έως 12 εβδομάδες κύησης και βρήκαν ότι ήταν πολύ υψηλότερα στο εξωεμβρυϊκό υγρό από το αμνιακό υγρό και το μητρικό ορό, διαφορά στατιστικά σημαντική. Το γεγονός αυτό είναι δύσκολο να εξηγηθεί αλλά μπορεί να αντικατοπτρίζει αυξημένη σύνθεση DNA από το λεκιθικό ασκό και την τροφοβλάστη. Και τα δύο συστατικά είναι απαραίτητα για τη σύνθεση του DNA και έλλειμμα ενός από αυτά μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Η εμφάνιση ελλειμμάτων του νευρικού σωλήνα μπορεί να οφείλεται σε έλλειμμα μιας από τις δύο αυτές ουσίες. Η εξωεμβρυϊκή κοιλότητα μπορεί να συμπεριφέρεται σαν αποθήκη βιταμινών και φυλλικού οξέος πριν τη χρήση τους από το λεκιθικό ασκό και το ταχέως αναπτυσσόμενο έμβρυο.

Μερικά μέταλλα είναι απαραίτητα για τη φυσιολογική ανάπτυξη του ανθρώπινου εμβρύου, αλλά η έλλειψη ή η υπερβολή μπορεί να είναι επιβλαβής. Εκτενής είναι η βιβλιογραφία σχετικά με τα επίπεδα τους στο τρίτο και δεύτερο τρίμηνο της κύησης, αλλά η φυσιολογική τους συγκέντρωση σε πρώιμη κύηση δεν έχει μελετηθεί αρκετά. Οι Wathen και συν. (1995) μελέτησαν τις συγκεντρώσεις διαφόρων μετάλλων στο εξωεμβρυϊκό και στο αμνιακό υγρό. Οι συγκεντρώσεις ασβεστίου, μαγνησίου, σιδήρου, χαλκού και μαγγανίου είναι σημαντικά υψηλότερες στο εξωεμβρυϊκό υγρό απ' ότι στο αμνιακό υγρό. Φαίνεται σίγουρο ότι η εξωεμβρυϊκή κοιλότητα αποτελεί δεξαμενή ουσιών σε στενή σχέση με το έμβρυο για να αποθηκεύει μέταλλα

απαραίτητα για τη φυσιολογική του ανάπτυξη και για να ελέγχει την ποσότητα που χρησιμοποιεί έτσι ώστε να μην υπερβαίνει τα φυσιολογικά του επίπεδα. Η σχετικά υψηλή συγκέντρωση των μετάλλων στο εξωεμβρυϊκό υγρό μπορεί να εξηγήσει πιθανά το μεγαλύτερο ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας από την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση σε σχέση με την αμνιοπαρακέντηση μετά τις 16 εβδομάδες κύησης. Επειδή κατά την πρώιμη αμνιοπαρακέντηση γίνεται τρώση της αμνιακής μεμβράνης, η οποία δεν είναι σε συνέχεια με το τοίχωμα της μήτρας, θα μπορούσε να υπάρξει επιμόλυνση του αμνιακού υγρού με εξωεμβρυϊκό και κατά συνέπεια μεγαλύτερη συγκέντρωση μετάλλων σε άμεση επαφή με το έμβρυο.

Οι θυρεοειδικές ορμόνες θεωρητικά δεν συντίθενται από εμβρυονικό ιστό κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης. Αυτές οι πρωτεΐνες βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα και αυτό πρέπει να είναι αποτέλεσμα εμβρυομητρικής μεταφοράς. Αν και η σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών από τον εμβρυϊκό θυρεοειδή μπορεί να αρχίζει μεταξύ 10^{ης} και 12^{ης} εβδομάδας της κύησης, η έκκριση τους in vivo πιστεύεται ότι αρχίζει μετά την ανάπτυξη του διαμέσου συστήματος της πυλαίας, που γίνεται στα μέσα της κύησης (18 έως 22 εβδομάδες) όταν υπάρχει γενικευμένη ωρίμανση των εκκριτικών κυττάρων του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης (Contempre και συν., 1993). Μελέτες έδειξαν ότι η T4 που βρίσκεται στο εξωεμβρυϊκό υγρό αυξάνεται τόσο με την αύξηση της ηλικίας κύησης όσο και με την αύξηση της T4 του μητρικού ορού. Οι συγκεντρώσεις της T3 είναι τουλάχιστον 30 φορές χαμηλότερες και αυτές της T3 4 φορές υψηλότερες απ'αυτές της T4 του εξωεμβρυϊκού υγρού. Η T4 και η T3 στο αμνιακό υγρό στην ίδια ηλικία της κύησης (8-11 εβδομάδες) είναι σημαντικά χαμηλότερες από ότι στο εξωεμβρυϊκό υγρό και η T3 είναι μη ανιχνεύσιμη. Η μητρική T4 μπορεί να περάσει τον πλακουντιακό φραγμό στα αρχικά στάδια της κύησης.

Η T4 από το εξωεμβρυϊκό υγρό μπορεί να φθάνει στο έμβρυο διαμέσου του λεκιθικού ασκού. Η αύξηση της μητρικής T4 που παρατηρείται κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης μπορεί να είναι λειτουργικά σημαντική για το αναπτυσσόμενο έμβρυο όταν ο θυρεοειδής αδένας του δεν λειτουργεί ακόμη. Αξιοσημείωτες συγκεντρώσεις θυροξίνης (ή τετραϊωδοθυρονίνης, T4) και αντίστροφης T3 (τριϊωδοθυρονίνης) έχουν βρεθεί σε δείγματα εξωεμβρυϊκού υγρού. Αυτό φανερώνει ότι οι μητρικές θυρεοειδικές ορμόνες είναι δυναμικά

διαθέσιμες στο έμβρυο από την 5^η εβδομάδα της κύησης. Τα μόρια T4, που ανευρίσκονται στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα, μπορούν να συνδεθούν με την προ-αλβουμίνη ή την τρανσθυρετίνη (TTR), οι οποίες υπάρχουν επίσης σε αντιπροσωπευτικές ποσότητες στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα. Η μεταφορά της T4 στο έμβρυο θα μπορούσε να διευκολυνθεί από την TTR, που εκκρίνεται από το επιθήλιο του λεκιθικού ασκού προς το έμβρυο (Jauniaux και συν., 1994). Η TTR συντίθεται επίσης πολύ νωρίς από το χοριοειδές πλέγμα. Αυτό υποδηλώνει ότι οι θυρεοειδικές ορμόνες που ανιχνεύονται στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα μπορεί να φθάνουν επίσης και στον εμβρυϊκό εγκέφαλο. Μόρια IgG μεταφέρονται εκλεκτικά διαμέσου του λαχνικού ιστού συμβάλλοντας έτσι στην παθητική ανοσία του εμβρύου στο δεύτερο ήμισυ της κύησης. In vitro πειράματα έδειξαν ότι η μεταφορά ακέραιων πρωτεϊνών δια της τροφοβλαστικής στοιβάδας αφορά πινοκύττωση, ενδοκύττωση και πιθανώς εξωκύττωση, για να επιτρέψει έξοδο της πρωτεΐνης στην εξωεμβρυϊκή κυκλοφορία (Sibley και Boyd, 1992). Οι μόνες πρωτεΐνες που μεταφέρονται σε αξιοσημείωτες ποσότητες είναι οι ανοσοσφαιρίνες της τάξης IgG και οι πρωτεΐνες που συνδέονται με ρετινόλη. Παρ'όλα αυτά, in vitro μελέτες έχουν δείξει επίσης, ότι οι IgA μπορούν να διέλθουν τον πλακουντιακό φραγμό σε μικρές ποσότητες (Gitlin και Biasucci, 1969). Ίχνη IgG και IgM έχουν βρεθεί σε καλλιέργειες ανθρώπινου εμβρυϊκού ήπατος και σπλήνα μόνο μετά το τέλος του πρώτου τριμήνου της κύησης (Gitlin και Biasucci, 1969). Η σύνθεση IgA δεν έχει δείχθει in vitro μετά την 30^η εβδομάδα της κύησης και μόνο πολύ χαμηλά επίπεδα IgG και IgM έχουν ανιχνευθεί στο πλάσμα εμβρύων 12 έως 14 εβδομάδων κύησης (Gitlin, 1984). Τα επίπεδα IgG και IgM ανέρχονται κατά τη διάρκεια του δευτέρου ημίσεως της κύησης και είναι ανάλογα με τα μητρικά στις 26 εβδομάδες των IgG και μετά τη γέννηση των IgM (Gitlin και Biasucci, 1969, Gitlin, 1984). Τα επίπεδα IgG, συμπεριλαμβανόμενων και των ειδικών IgG κατά του *Toxoplasma gondii*, CMV και ιού της ερυθράς, και τα επίπεδα IgA είναι μετρήσιμα σε δείγματα εξωεμβρυϊκού υγρού, που συλλέχθηκαν μεταξύ 6^{ης} και 12^{ης} εβδομάδας της κύησης, ενώ οι IgM δεν είναι (Jauniaux και συν., 1995). Αυτό υποδηλώνει ότι η πλακουντιακή μεταφορά IgM και IgA αρχίζει πολύ νωρίς στην κύηση, πιθανώς όταν σχηματίζονται οι πρώτες πλακουντιακές λάχνες. Τα μόρια IgG και IgA στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα θα μπορούσαν να παίζουν ένα ρόλο στην αρχική αντιγονική πρόκληση των

πρόδρομων των κυττάρων του αίματος στην πρώιμη συγγενή λοίμωξη και στον περιορισμό των δυνητικά καταστροφικών επιδράσεων των συγγενών λοιμώξεων.

Η κατανομή της ιντερλευκίνης 6 (IL-6) διερευνήθηκε στο εξωεμβρυϊκό, αμνιακό υγρό, μητρικό ορό, φθαρτό και πλακουντιακές λάχνες που συλλέχθηκαν από 16 φυσιολογικές κύσεις μεταξύ 7^{ης} και 12^{ης} εβδομάδας της κύησης. Η IL-6 ανιχνεύθηκε σε όλα τα δείγματα εξωεμβρυϊκού και αμνιακού υγρού και στα περισσότερα εκχυλίσματα πλακούντα και φθαρτού. Η συγκέντρωση της IL-6 ήταν σημαντικά υψηλότερη ($p < 0.005$) στο εξωεμβρυϊκό από ότι στο αμνιακό υγρό και συσχετιζόταν θετικά με την ηλικία κύησης. Η IL-6 ήταν σε σημαντικά υψηλότερη ($p < 0.001$) συγκέντρωση στο φθαρτό από ότι στον πλακούντα.

Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η IL-6 είναι παρούσα κανονικά στο εξωεμβρυϊκό και στο αμνιακό υγρό στην αρχή της εγκυμοσύνης και ότι οι συγκεντρώσεις IL-6 μπορούσαν να διαδραματίσουν ένα σημαντικό ρόλο που σχετίζεται με την πλακουντοποίηση, αλλά επίσης και με την αιμοποιητική λειτουργία του δευτερογενούς λεκιθικού ασκού και τη δημιουργία νεοαγγείωσης στις λάχνες του πλακούντα (Jauniaux και συν., 1996).

Τα επίπεδα της PAPP-A του μητρικού ορού στο πρώτο τρίμηνο της κύησης μειώνεται σε γυναίκες που κυοφορούν έμβρυα με σύνδρομο Down. Τα επίπεδα αυτά είναι αυξημένα στο μητρικό ορό σε μία διάμεση τιμή 480mIU/l στην 8^η εβδομάδα της κύησης και 6.375mIU/L στην 14^η εβδομάδα της κύησης. Αντίθετα η PAPP-A είναι σε χαμηλά επίπεδα στο εξωεμβρυϊκό υγρό και μη ανιχνεύσιμη στο αμνιακό υγρό ως την 15^η εβδομάδα της κύησης. Η παραπάνω μορφή έρχεται σε αντίθεση με αυτή των περισσότερων άλλων αντιγόνων που σχετίζονται με την τροφοβλάστη, κάτι που αντανάκλα τη φυσιολογία της PAPP-A και την ειδική παραγωγή της από τη συγκυτιοτροφοβλάστη (Iles και συν., 1994).

Η μητρική νεφρική έκκριση δικαρβονικών αυξάνει δευτεροπαθώς και το συνολικό pH του μητρικού αίματος παραμένει σχετικά αμετάβλητο, ως συνέπεια της αναπνευστικής αλκάλωσης της κύησης (Blakburn και Loper, 1992). Εκτός από τα επίπεδα ολικών πρωτεϊνών και γαλακτικού οξέος δεν υπάρχει σημαντική αυχομείωση στην βιοχημική σύνθεση του εξωεμβρυϊκού υγρού μεταξύ 7^{ης} και 11^{ης} εβδομάδας της κύησης και καμία συσχέτιση για τις

διαφορετικές μεταβλητές μεταξύ εξωεμβρυϊκού υγρού και του μητρικού ορού. Αυτό φανερώνει ότι η ρύθμιση της οξεοβασικής ισορροπίας του εξωεμβρυϊκού υγρού δεν επηρεάζεται άμεσα από φυσιολογικές μεταβολές της μητέρας. Κατά την περίοδο αυτή, το εξωεμβρυϊκό υγρό έχει χαμηλότερο pH, περίσσεια βάσης και επίπεδο δικαρβονικών από το φλεβικό αίμα της μητέρας. Έχει επίσης υψηλότερα επίπεδα PO₂, γαλακτικού οξέος και φωσφορικών και χαμηλότερα επίπεδα πρωτεϊνών από το μητρικό ορό. Αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με ένα καθεστώς μεταβολικής αναερόβιας οξέωσης, που οφείλεται κυρίως στην άθροιση όξινων βιολογικών προϊόντων του πλακουντιακού μεταβολισμού στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα (Jauniaux και συν., 1994). Η μεταφορά διαμέσω του πλακούντα είναι γνωστό ότι αυξάνεται κατά τη διάρκεια της κύησης λόγω μιας μείωσης του πάχους του φραγμού των λαχνών και μιας ταυτόχρονης αύξησης της μητρικής και εμβρυϊκής ροής αίματος (Blackburn και Lopez, 1992). Η σύνθεση του εξωεμβρυϊκού υγρού είναι ενδεικτική αναερόβιας μεταβολικής οξέωσης που πιθανώς σχετίζονται με τη συνάθροιση όξινων συστατικών από τον πλακουντιακό μεταβολισμό. Κατά τη διάρκεια της ίδιας περιόδου της κύησης η σύνθεση του αμνιακού υγρού έδειξε μεταβολική αλκάλωση που ίσως δημιουργείται από την συνάθροιση βάσεων, διαμέσου του μη κερατοποιημένου εμβρυονικού δέρματος, και από τον μεταβολισμό οργανικών ανιόντων στους εμβρυονικούς ιστούς. Οι μεταβολές στη σύνθεση του αμνιακού υγρού και στην οξεοβασική ισορροπία του στο τέλος του πρώτου τριμήνου της κύησης μπορεί να ανταποκρίνονται στη μετάβαση από το μεσόνεφρο στο μετάνεφρο ή να είναι αποτέλεσμα της απέκκρισης όξινων μεταβολικών βιοπροϊόντων του εμβρύου διαμέσου των υπό ωρίμανση νεφρών στο αμνιακό υγρό (Jauniaux και συν., 1994).



7. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η πρόσβαση λοιπόν στον εξωεμβρυϊκό χώρο μας δίνει τη μοναδική δυνατότητα μελέτης της φυσιολογίας και της γενετικής του εμβρύου σε πολύ πρώιμα στάδια. Σε περισσότερες από 95% των περιπτώσεων μεταξύ 6^{ης} και 11^{ης} εβδομάδας της κύησης γίνεται επιτυχής λήψη εξωεμβρυϊκού υγρού και θεωρητικά είναι η ιδεώδης εναλλακτική λύση αντί της πρώιμης αμνιοπαρακέντησης και CVS, γιατί ο κίνδυνος του άμεσου τραυματισμού του αναπτυσσόμενου εμβρύου ή της πρόκλησης βλάβης του πλακούντα είναι σχεδόν ανύπαρκτος. Επιπλέον, η διαδικασία είναι σχετικά εύκολη, προκαλεί μόνο ελάχιστη δυσφορία στη μητέρα και σχετίζεται με ένα πολύ χαμηλό ποσοστό επιμόλυνσης του δείγματος με μητρικά κύτταρα (Jurkovic και συν., 1995)

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση της ασφάλειας της μεθόδου έτσι ώστε να καθιερωθεί ως η επεμβατική μέθοδος προγεννητικού ελέγχου πριν τις 11 εβδομάδες κύησης.



ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΣ

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 3 ομάδες γυναικών με μονήρεις κύησεις μεταξύ 6 και 10 εβδομάδων που προσήλθαν στα εξωτερικά ιατρεία της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων ζητώντας διακοπή κύησης για κοινωνικούς λόγους.

Κάθε γυναίκα που προσέρχεται για διακοπή κύησης στην κλινική μας υποβάλλεται σε υπερηχογράφημα για έλεγχο του αριθμού των εμβρύων, της βιωσιμότητας, τον καθορισμό της ηλικίας κύησης και αποκλεισμό εξωμητρίου κύησης. Μετέπειτα η ασθενής τοποθετείται στην καθορισμένη λίστα για τη χειρουργική επέμβαση, η οποία γίνεται συνήθως μετά από 7 έως 30 ημέρες.

Κατά την πρώτη επίσκεψη και μετά την εκτέλεση του υπερηχογραφήματος οι ασθενείς ενημερώνονταν λεπτομερώς για το σκοπό της μελέτης και για το είδος της επέμβασης, και τους προσφέρονταν η δυνατότητα να λάβουν μέρος σ' αυτή χωρίς να σημαίνει ότι η μη αποδοχή τους θα επηρεάσει την περαιτέρω αντιμετώπισή τους. Η μελέτη έχει εγκριθεί από την Επιστημονική Επιτροπή του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων και οι γυναίκες που έλαβαν μέρος υπέγραψαν δήλωση συγκατάθεσης.

Την πρώτη ομάδα αποτέλεσαν 17 γυναίκες από τις οποίες ελήφθη αίμα πριν, καθώς και 1 και 10 λεπτά μετά την παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας για μέτρηση της συγκέντρωσης της α εμβρυϊκής πρωτεΐνης (AFP). 20 γυναίκες αποτέλεσαν τη δεύτερη ομάδα και σε αυτές μετρήθηκε η εμβρυϊκή καρδιακή συχνότητα πριν, καθώς και 1, 5, και 10 λεπτά μετά την επέμβαση. Οι γυναίκες των δύο αυτών ομάδων υποβλήθηκαν σε παρακέντηση εξωεμβρυϊκής κοιλότητας ακριβώς πριν τη διακοπή κύησης. Την τρίτη ομάδα αποτέλεσαν 447 γυναίκες. Σε 108 από αυτές έγινε παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας κατά την πρώτη επίσκεψη ενώ η διακοπή κύησης έγινε 5 έως 30 ημέρες αργότερα (Πίνακας 1).

Η ασθενής λαμβάνει θέση λιθοτριψίας και γίνεται επιμελής καθαρισμός των έξω γεννητικών οργάνων και του κόλπου με αντισηπτικό. Στη συνέχεια, η διακολλητική κεφαλή 5 MHz (Toshiba SSA-220A, Tokyo, Japan) καλύπτεται με αποστειρωμένο προφυλακτικό και ακολουθεί λεπτομερής υπερηχογραφικός έλεγχος για μέτρηση του κεφαλοουριαίου μήκους και της εμβρυϊκής καρδιακής

συχνότητας, έλεγχο των εμβρυϊκών υμένων και του λεκιθικού ασκού καθώς και της ανατομίας της μήτρας.

Πίνακας 1. Οι τρεις ομάδες γυναικών που αποτέλεσαν το υλικό της μελέτης (n=484).

Ομάδα I (n=17)	Ομάδα II (n=20)	Ομάδα III (n=447)	
Μέτρηση AFP	Μέτρηση FHR	ΠΕΚ (n=108)	U/S (n=339)
Πριν	Πριν	Διακοπή κύησης μετά από 5-30 ημέρες	
1 λεπτό μετά ΠΕΚ	1 λεπτό μετά ΠΕΚ	Υπερηχογραφικός έλεγχος προ διακοπής	
	5 λεπτά μετά ΠΕΚ		
10 λεπτά μετά ΠΕΚ	10 λεπτά μετά ΠΕΚ		

[α εμβρυϊκή πρωτεΐνη (AFP), εμβρυϊκή καρδιακή λειτουργία (FHR), παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας (ΠΕΚ), ομάδα ελέγχου (U/S)]

Χρησιμοποιώντας ειδικό οδηγό, προσαρμοζόμενο στην κολπική κεφαλή, μια βελόνη 20G εισάγεται στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα κάτω από συνεχή υπερηχογραφική παρακολούθηση και γίνεται αναρρόφηση υγρού.

Η επέμβαση γινόταν χωρίς τοπική ή γενική αναισθησία και οι ασθενείς δεν αισθάνονταν ιδιαίτερη ενόχληση. Ο μητρικός ορός αποθηκεύτηκε σε -20° C και η συγκέντρωση της AFP (IU/ml) μετρήθηκε με Amerlex-M 2^{ου} τριμήνου RIA kit (Johnson & Johnson Clinical Diagnostics Ltd, Amersham, UK).

Στις γυναίκες της τρίτης ομάδας, πριν από τη διακοπή κύησης, υπό γενική αναισθησία, γινόταν διακολπική υπερηχογραφική εξέταση για έλεγχο της βιωσιμότητας του εμβρύου και μέτρηση του κεφαλοουριαίου μήκους και της εμβρυϊκής καρδιακής συχνότητας.

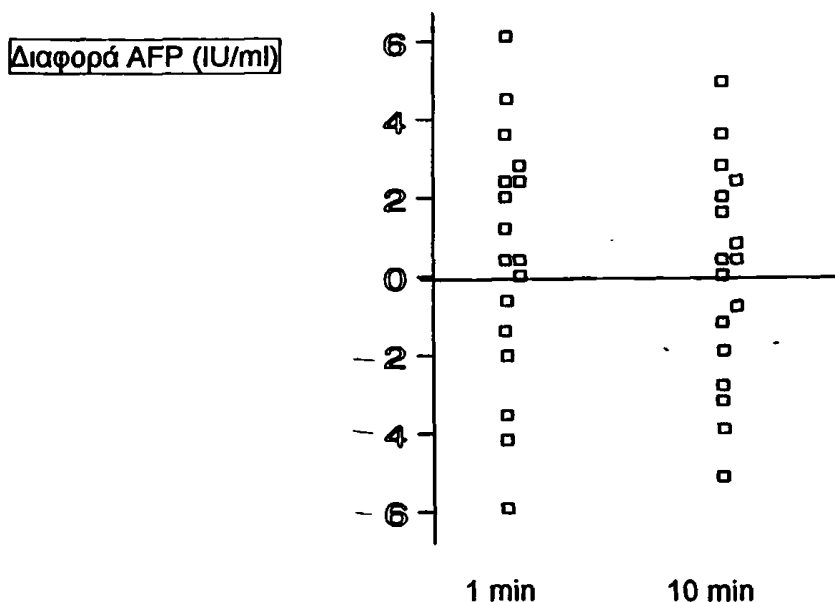
Στατιστική ανάλυση

Χρησιμοποιήθηκε Chi-square test για την σύγκριση των δημογραφικών στοιχείων των 447 γυναικών της τρίτης ομάδας και Mann-Whitney U-test για τα υπόλοιπα αποτελέσματα.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι 17 γυναίκες της πρώτης ομάδας με μονήρη κύηση στην 6^η-11^η εβδομάδα κύησης (μέση ηλικία 8 εβδομάδες) υποβλήθηκαν σε παρακέντηση εξωεμβρυϊκής κοιλότητας.



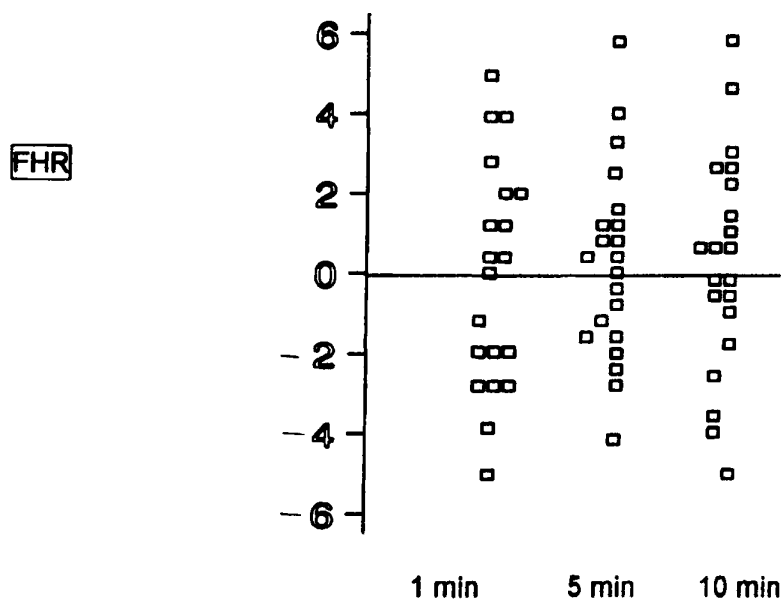
Εικόνα 11. Η συγκέντρωση της AFP στο μητρικό ορό (IU/ml) 1 και 10 λεπτά (min) μετά την επέμβαση (εκφρασμένη ως διαφορά από τις τιμές πριν την παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας)

Πίνακας 1. Κεφαλοουριαίο μήκος (CRL) και α εμβρυϊκή πρωτεΐνη (AFP) στο μητρικό ορό (IU/ml) πριν, καθώς και 1 και 10 λεπτά μετά την παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας

Ασθενείς	CRL (mm)	AFP (IU/ml)		
		Πριν	1 λεπτό μετά	10 λεπτά μετά
1	44	21.46	17.83	20.63
2	15	7.66	8.41	6.56
3	10.5	6.76	4.32	9.09
3	14	5.30	4.99	7.35
5	18.1	7.54	8.72	15.27
6	6.6	8.68	9.60	7.46
7	11.5	7.34	3.91	5.66
8	14.6	7.69	5.50	5.67
9	11.5	4.52	6.92	6.10
10	16.6	5.40	8.61	6.63
11	9.2	6.17	6.69	8.53
12	10.7	7.09	14.07	5.80
13	16.6	10.66	11.27	12.76
14	31	9.34	13.48	10.28
15	12.8	13.45	12.76	11.05
16	15	16.59	11.39	11.89
17	20.8	5.94	5.03	6.32

Ο μέσος όρος του όγκου του υγρού που αναρροφήθηκε ήταν 1,6 ml (εύρος 0,5-3,0). Η ενδιάμεση συγκέντρωση της AFP πριν την επέμβαση ήταν 7,5 IU (εύρος 4,5-21,5 IU) και αυξάνεται σημαντικά με το κεφαλοουριαίο μήκος του εμβρύου. Δεν υπήρχε σημαντική στατιστικά διαφορά στη συγκέντρωση της AFP πριν και 1 (ενδιάμεση τιμή 8,6, εύρος 3,9-17,8 IU, $Z = -0,504$, $P = 0,614$) και 10 λεπτά (ενδιάμεση τιμή 7,5, εύρος 5,7-20,6 IU, $Z = -0,432$, $P = 0,666$) μετά την επέμβαση (Εικόνα 11, Πίνακας 2).

Παρόμοια, η μέτρηση της εμβρυϊκής καρδιακής λειτουργίας πριν, 1, 5 και 10 λεπτά μετά την επέμβαση σε 20 γυναίκες δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά. Αναλυτικότερα, δεν υπήρχε διαφορά μετά από 1 λεπτό (μέση τιμή 158, εύρος 114-178, $Z = -0,629$, $P = 0,529$), μετά 5 λεπτά (μέση τιμή 160, εύρος 121-179, $Z = -0,191$, $P = 0,848$) ή μετά από 10 λεπτά (μέση τιμή 159, εύρος 117-183, $Z = -0,214$, $P = 0,83$) (Εικόνα 12). Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η επέμβαση δεν σχετίζεται, τουλάχιστον βραχυπρόθεσμα, με επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα του εμβρύου.



Εικόνα 12. Η εμβρυϊκή καρδιακή συχνότητα (FHR) 1, 5 και 10 λεπτά (min) μετά την επέμβαση (εκφρασμένη ως διαφορά από τις τιμές πριν την παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας)

Από τις 447 γυναίκες που αποτέλεσαν την τρίτη ομάδα, 108 δέχτηκαν να υποβληθούν σε παρακέντηση εξωεμβρυϊκής κοιλότητας και 339 αρνήθηκαν, έτσι ώστε χρησιμοποιήθηκαν σαν ομάδα ελέγχου. Οι δύο υποομάδες δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά στην ηλικία, σε καθημερινές συνήθειες

όπως το κάπνισμα, σε ύπαρξη ινομυωμάτων, στην ηλικία κύησης, κεφαλοουριαίο μήκος του εμβρύου, και στο χρονικό διάστημα μεταξύ αρχικού υπερηχογραφήματος και διενέργειας της διακοπής κύησης (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Δημογραφικά χαρακτηριστικά και υπερηχογραφικά ευρήματα πριν και μετά την παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας (ΠΕΚ)

	Ομάδα ΠΕΚ (n=108)	Ομάδα ελέγχου (n=339)	Στατιστικά αποτελέσματα
Ηλικία (έτη) μέση τιμή (εύρος)	27(17-43)	29 (16-46)	Z=1,69 P=0,09
Πρωτοτόκες	18	42	P=0,26
Καπνίστριες	28	73	P=0,34
Ηλικία κύησης (εβδομάδες), μέση τιμή (εύρος)	7.7(6-10)	7,56 (5,56-10)	Z=-0,92 P=0,357
<i>Αρχική U/S εξέταση</i>			
Ινομύωματα	4	8	P=0,45
Διάστημα έως τη διακοπή κύησης, μέση τιμή (εύρος)	8(5-23)	8(5-30)	Z=-1,32 P=0,19
Ζων έμβρυο	107	337	P=0,71
Κεφαλοουριαίο μήκος (mm), μέση τιμή (εύρος)	14,8(4,9-32,5)	13,5 (2,8-32,5)	Z=-1,14 P=0,25
<i>Προ διακοπής</i>			
Ζων έμβρυο	101	328	P=0,29
Κεφαλοουριαίο μήκος (mm), μέση τιμή (εύρος)	23,3(7,2-61,2)	22,3 (6-54,3)	Z=-1,12 P=0,25

Στο αρχικό υπερηχογράφημα, παλίνδρομη έκτρωση αναγνωρίστηκε σε μία περίπτωση από την ομάδα της μελέτης και σε δύο από την ομάδα ελέγχου. Η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας δεν ήταν εφικτή σε μία περίπτωση λόγω ύπαρξης ινομυώματος μεγέθους 6,5 cm το οποίο παρεμπόδιζε την διενέργεια της επέμβασης. Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις η παρακέντηση ήταν εφικτή και υγρό αναρροφήθηκε ευχερώς. Η ποσότητα κυμάνθηκε από

0,5 έως 3 ml (μέση τιμή 1,4 ml). Η είσοδος της βελόνας χρειάστηκε να επαναληφθεί σε 2 από τις 106 επεμβάσεις, ποσοστό πολύ μικρότερο από αυτό που παρατηρείται σε όλες τις επεμβάσεις προγεννητικού ελέγχου σε αναγνωρισμένα κέντρα.

Κατά το διάστημα μεταξύ αρχικής εκτίμησης και διακοπής κύησης δεν παρατηρήθηκε σε καμία γυναίκα από τις δύο ομάδες πυρετική κίνηση ή κοιλιακό άλγος. Δύο από τις γυναίκες της ομάδας μελέτης και τέσσερις από την ομάδα ελέγχου προσήλθαν λόγω κολπικής αιμόρροιας. Συστήθηκε μη αλλαγή στις καθημερινές συνήθειες και επανεξέταση σε περίπτωση που η κολπική αιμόρροια επιδεινωθεί. Σε καμία από τις γυναίκες που υποβλήθηκαν σε παρακέντηση εξωεμβρυϊκής κοιλότητας δεν προκλήθηκε αυτόματη έκτρωση σε αντίθεση με 2 γυναίκες από την ομάδα ελέγχου. Κατά την υπερηχογραφική εξέταση, πριν τη διακοπή κύησης, διαπιστώθηκε απουσία καρδιακών παλμών σε πέντε έμβρυα που οι μητέρες τους είχαν υποβληθεί σε παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας (4,7%) και σε εννέα έμβρυα γυναικών που αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου (2,7%) (OR 1,804, 95%CI, 0,5912-5,504). Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις η ανάπτυξη των εμβρύων ήταν φυσιολογική. Το ποσοστό αυτόματης έκτρωσης λοιπόν είναι κατά 2% μεγαλύτερο στην ομάδα της παρακέντησης της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας και πιθανότητα οφείλεται στην επέμβαση.

Μετά την υπερηχογραφική εκτίμηση ακολούθησε διακοπή κύησης με διαστολή του τραχηλικού στομίου και τη χρήση αναρροφητικού ξέστρου.

Τρεις από τις γυναίκες που υποβλήθηκαν στην επέμβαση και οκτώ από την ομάδα ελέγχου αποφάσισαν να μη διακόψουν την κύηση. Στις γυναίκες αυτές έγινε εκτενής ενημέρωση σχετικά με τη μη ύπαρξη στοιχείων για τους πιθανούς κινδύνους μητέρας και εμβρύου λόγω της παρακέντησης του εξωεμβρυϊκού χώρου και γεννήθηκαν τρία φυσιολογικά τελειόμηνα νεογνά.

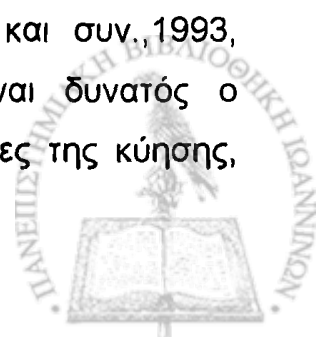


ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η επεμβατική προγεννητική διάγνωση κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης μπορεί να γίνει με λήψη τροφοβλαστικού ιστού ή αμνιακού υγρού. Οι τεχνικές αυτές είναι ευρέως διαδεδομένες και δίνουν αξιόπιστα αποτελέσματα τόσο όσον αφορά στον καρυότυπο των εμβρύων, αλλά και στην προγεννητική διάγνωση μιας σειράς μονογονιδιακών νοσημάτων όπως η μεσογειακή αναιμία. Πολλές μελέτες έχουν γίνει με σκοπό την αξιολόγηση της ασφάλειας των μεθόδων αυτών και τα αποτελέσματα σχετίζονται με την εμπειρία των διαφόρων κέντρων και την ηλικία κύησης. Υπάρχουν μελέτες που έδειξαν ότι ο κίνδυνος εμβρυϊκής απώλειας μετά λήψη χοριακής λάχνης ήταν μεγαλύτερος από τον κίνδυνο μετά αμνιοπαρακέντηση στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης (Canadian Collaborative CVS- Amniocentesis Clinical Trial Group 1989, MRC Working Party 1991). Επιπρόσθετα η εκτέλεση CVS πριν από την 11^η εβδομάδα της κύησης μπορεί να προκαλέσει ακρωτηριασμούς δακτύλων ή/και άκρων, καθώς και υποπλασία της γλώσσας και της κάτω γνάθου (Firth και συν., 1991).

Μια εναλλακτική τεχνική η οποία είναι αποτελεσματική για πρώιμη προγεννητική διάγνωση, είναι η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας. Κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης ο αμνιακός σάκος περιβάλλεται από την εξωεμβρυϊκή κοιλότητα, η οποία προέρχεται από το εξωεμβρυϊκό μεσόδερμα. Το 1993 ανακοινώθηκε για πρώτη φορά η δυνατότητα λήψης υγρού από την εξωεμβρυϊκή κοιλότητα με διακολπική παρακέντηση. Στις 12 εβδομάδες της κύησης έγινε επιτυχής λήψη στο 5% των περιπτώσεων, στις 11 εβδομάδες στο 40%, και στις 6-10 εβδομάδες σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις (Jurkovic και συν., 1993).

Η καλλιέργεια των κυττάρων του εξωεμβρυϊκού υγρού για την εκτέλεση εμβρυϊκού καρυότυπου δεν κατέστη δυνατή, αλλά η ανάλυση του εμβρυϊκού γενετικού υλικού έγινε επιτυχώς με τη χρήση in situ υβριδοποίησης (FISH) και την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) (Jurkovic και συν., 1993, Pandya και συν., 1995). Η μελέτη αυτή έδειξε ότι είναι δυνατός ο χρωμοσωματικός έλεγχος των εμβρύων από τις 6 εβδομάδες της κύησης, από κύτταρα του εξωεμβρυϊκού υγρού με τη χρήση FISH.



Ο στόχος του προγεννητικού ελέγχου είναι η πρώιμη διάγνωση έτσι ώστε η πιθανή διακοπή κύησης να είναι λιγότερο τραυματική για τη μητέρα και το περιβάλλον της. Για κάθε νέα τεχνική που χρησιμοποιείται είναι απαραίτητη η αξιολόγηση της ασφάλειας, τόσο της βραχυπρόθεσμης όσο της μακροπρόθεσμης. Για να αποδειχθεί η μακροπρόθεσμη ασφάλεια χρειάζεται να γεννηθεί ικανοποιητικός αριθμός νεογνών που υποβλήθηκαν σε επεμβατικό προγεννητικό έλεγχο με τη μέθοδο αυτή. Η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας είναι η μέθοδος εκλογής για πρώιμη διάγνωση αφού αποδειχθεί η ασφάλεια της.

Η διάγνωση της β μεσογειακής αναιμίας αποτελεί την πιο συχνή ένδειξη επεμβατικής προγεννητικής διάγνωσης στο πρώτο τρίμηνο της κύησης στις μεσογειακές χώρες (Loukopoulos και συν., 1985). Οι σοβαρές συνέπειες της νόσου για τους ασθενείς και τις οικογένειες τους, σε συνδυασμό με την πιθανότητα 25% απόκτησης προσβεβλημένου νεογνού, όταν και οι δύο γονείς είναι φορείς της νόσου, κάνουν την έγκαιρη προγεννητική διάγνωση απαραίτητη. Η σημασία της πρώιμης διάγνωσης της νόσου από τις 7 εβδομάδες κύησης είναι τεράστια, δίνοντας τη δυνατότητα στους γονείς για μια ευκολότερη και λιγότερο τραυματική διακοπή κύησης καθώς επίσης και για την διενέργεια ενδομήτριας μεταμόσχευσης μυελού των οστών σε έμβρυα που νοσούν. Προηγούμενες προσπάθειες για τη θεραπεία της μεσογειακής αναιμίας με ενδομήτρια μετάγγιση μυελού των οστών ήταν ανεπιτυχείς (Linch και συν., 1986, Slavin και συν., 1992), πιθανά λόγω επέμβασης σε προχωρημένο στάδιο κύησης, όταν το ανοσολογικό σύστημα του εμβρύου έχει αναπτυχθεί. Ακόλουθες μελέτες όμως έδειξαν ότι η ενδομήτρια μεταμόσχευση μπορεί να έχει καλά αποτελέσματα, ειδικά όταν γίνεται στο πρώτο τρίμηνο της κύησης (Thilaganathan και συν., 1993, Touraine, 1996, Monni και συν., 1998).

Η ενδομήτρια μεταμόσχευση είναι μία θεραπεία με αξιοθαύμαστα πλεονεκτήματα. Παρέχει: α) πρόκληση ανοχής λόγω της ανωριμότητας του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, β) απουσία απόρριψης του μοσχεύματος λόγω ανωριμότητας του δέκτη, γ) ιδανική απομόνωση του εμβρύου στη μητρική κοιλότητα, και δ) ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη των εμβρυϊκών κυττάρων του δότη σε γεινίαση με τα εμβρυϊκά κύτταρα του δέκτη (Touraine και συν., 1996).



Η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας προσφέρει τη δυνατότητα πρόσβασης στο χώρο αυτό πολύ νωρίς στην κύηση. Η καταλληλότερη ηλικία για την ενδομήτρια μεταμόσχευση φαίνεται να είναι η 7^η με 9^η εβδομάδα κύησης διότι τα εμβρυονικά κύτταρα προκαλούν chimaerism.

Με τη μέθοδο αυτή κύτταρα μπορεί να ληφθούν και να μελετηθεί ο γενετικός τους τύπος έτσι ώστε να μπορεί να γίνει μία δεύτερη επέμβαση μερικές ημέρες αργότερα και να τοποθετηθούν κύτταρα δότη στην εξωεμβρυϊκή κοιλότητα. Εάν επιλέξουμε μέθοδο μη επεμβατική, η απομόνωση εμβρυϊκών κυττάρων από την κυκλοφορία της μητέρας και η τυποποίηση τους θα μας βοηθήσει να αποφύγουμε την πρώτη λήψη. Η μέθοδος αυτή είναι πιθανά η μοναδική μας ευκαιρία να προκαλέσουμε ανοχή για το υπόλοιπο της ζωής του εμβρύου και νεογνού. Η κοιλότητα αυτή φαίνεται να είναι στενά συνδεδεμένη με το αιμοποιητικό σύστημα του εμβρύου και έτσι είναι δυνατό να διορθωθούν μονογονιδιακά ή πολυγονιδιακά νοσήματα του αιμοποιητικού (Edwards και συν., 1995).

Επιτυχής διάγνωση β μεσογειακής αναιμίας από λήψη εξωεμβρυϊκού υγρού έγινε σε τέσσερις περιπτώσεις όπου οι γονείς ήταν φορείς της νόσου και επιθυμούσαν διακοπή κύησης για κοινωνικούς λόγους. Σε όλες τις περιπτώσεις τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν με ARMS-PCR σε DNA που εξήχθη από πλακουντιακό ιστό. Τρία έμβρυα ήταν φορείς της νόσου και ένα από αυτά νοσούσε. Η μελέτη αυτή στηρίζει την άποψη ότι η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας μπορεί να είναι η αξιόπιστη εναλλακτική επεμβατική μέθοδος για προγεννητικό έλεγχο μονογονιδιακών νοσημάτων στο πρώτο τρίμηνο της κύησης (Makrydimas και συν., 1997).

Ο προγεννητικός προσδιορισμός της πατρότητας είναι ίσως απαραίτητος στη συμβουλευτική γυναικών που έχουν πολλούς σεξουαλικούς συντρόφους ή σε αυτές που είναι θύματα βιασμού, με σκοπό την ενημέρωσή τους και την από μέρους τους απόφαση για συνέχιση ή διακοπή της κύησης. Ο αποκλεισμός της πατρότητας είναι σχετικά εύκολος. Δύσκολο είναι να αποδείξουμε την πατρότητα, για το λόγο αυτό δίνεται η πιθανότητα πατρότητας. Η εξέταση γίνεται συνήθως με τη μέθοδο αποτύπωσης του DNA. Είναι δυνατόν να γίνει έλεγχος πατρότητας κατά την 6^η -10^η εβδομάδα κύησης χρησιμοποιώντας DNA από κύτταρα του εξωεμβρυϊκού υγρού. Οι Makrydimas και συν (2001) ανακοίνωσαν τον επιτυχή προσδιορισμό πατρότητας ελέγχοντας 20 γυναίκες

με μονήρη κύηση στην 7^η-9^η εβδομάδα κύησης που επιθυμούσαν διακοπή για κοινωνικούς λόγους. Περιφερικό αίμα ελήφθη και από τους δύο γονείς. Έγινε παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας και χοριακές λάχνες ελήφθησαν κατά τη διακοπή. Χρησιμοποιήθηκαν δυο ανιχνευτές αποτύπωσης TPO και AroB. Συμφωνία αποτελεσμάτων υπήρξε σε 13 περιπτώσεις και από τους δύο ανιχνευτές, ενώ σε επτά τα αποτελέσματα βασίστηκε μόνο σε ένα δείκτη. Φαίνεται λοιπόν ότι η κοιλότητα αυτή παρέχει υλικό για προγεννητική διάγνωση.

Ταυτόχρονα, πολλές ομάδες σε διαφορετικά σημεία του κόσμου, έχοντας καταλάβει την ανάγκη πρώιμης προγεννητικής διάγνωσης, εξετάζουν δείγματα εξωεμβρυϊκού υγρού με σκοπό την καλλιέργεια εμβρυϊκών κυττάρων. Οι Findlay και συν. (1996) ανακοινώνουν την δυνατότητα διάγνωσης του φύλου και μονογονιδιακών νοσημάτων στις 7 έως 9 εβδομάδες κύησης από παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας. Με DNA fingerprint αποδεικνύουν ότι δεν υπάρχει μητρική επιμόλυνση στα δείγματα και καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι είναι αναγκαία η διενέργεια κλινικών μελετών για την ασφάλεια της μεθόδου καθώς και τη διαγνωστική αξιοπιστία και ακρίβεια.

Σταθμός στην προγεννητική διάγνωση ήταν η μελέτη των Crugeer και συν. (1996) στη Δανία όπου για πρώτη φορά επιτυγχάνεται κλασσική κυτταρογενετική ανάλυση με καλλιέργεια κυττάρων εξωεμβρυϊκού υγρού. Ο περιορισμός λοιπόν της μεθόδου λόγω μη δυνατότητας καλλιέργειας των κυττάρων υπερπηδάται και η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας σταδιακά φαίνεται να λαμβάνει μια θέση στη μεθοδολογία της προγεννητικής διάγνωσης. Η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας είναι δυνητικά περισσότερο ασφαλής από την λήψη χοριακής λάχνης και την αμνιοπαρακέντηση και αυτό διότι δεν γίνεται τρώση του πλακούντα ή της αμνιακής μεμβράνης.

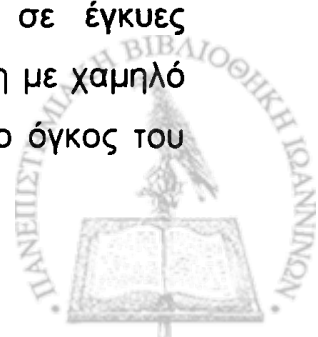
Μελέτες έχουν δείξει ότι το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας μετά από CVS ή αμνιοπαρακέντηση αυξάνει όταν η συγκέντρωση της AFP στο μητρικό ορό είναι υψηλότερη από αυτή πριν την επέμβαση (Rodeck και συν., 1993). Ο πιθανός μηχανισμός είναι ο τραυματισμός του πλακούντα και πιστεύεται ότι το μέγεθος της αύξησης εξαρτάται από το μέγεθος της πλακουντιακής βλάβης. Επιπλέον, η άμεση επίδραση της κάθε επεμβατικής τεχνικής προγεννητικού ελέγχου εκδηλώνεται με μείωση της εμβρυϊκής καρδιακής συχνότητας. Η

εμβρυϊκή απώλεια, που σχετίζεται άμεσα με την επέμβαση, συμβαίνει τις πρώτες 4-5 ημέρες.

Για το λόγο αυτό στην παρούσα εργασία μελετήσαμε 17 γυναίκες με μονήρεις κύησεις αμέσως πριν τη διακοπή της κύησης μεταξύ 6 και 11 εβδομάδων. Στις γυναίκες αυτές έγινε παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας και αίμα λαμβάνονταν πριν, 1 και 10 λεπτά μετά την επέμβαση για μέτρηση της αμβρυϊκής πρωτεΐνης (AFP). Φάνηκε ότι η επέμβαση δεν μεταβάλλει τη συγκέντρωση της AFP και κατά συνέπεια δεν συνδυάζεται με σημαντική εμβρυομητρική αιμορραγία. Εξετάσαμε επίσης την πιθανότητα επίδρασης της τεχνικής αυτής στο έμβρυο μετρώντας την εμβρυϊκή καρδιακή συχνότητα σε 20 γυναίκες και δε παρατηρήσαμε σημαντική μεταβολή κατά τη διάρκεια και μετά από 1, 5 και 10 λεπτά μετά την παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας, κάτι που σημαίνει ότι δεν επηρεάζεται το εμβρυϊκό καρδιαγγειακό σύστημα.

Κατά την υπερηχογραφική εξέταση, πριν τη διακοπή κύησης, διαπιστώθηκε απουσία καρδιακών παλμών σε πέντε έμβρυα που οι μητέρες τους είχαν υποβληθεί σε παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας (4,7%) και σε εννέα έμβρυα γυναικών που αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου (2,7%). Τα αποτελέσματα της μελέτης μας υποδηλώνουν ότι η εμβρυϊκή απώλεια που σχετίζεται με την επέμβαση είναι περίπου 2%. Επιπρόσθετα η λήψη δείγματος έγινε επιτυχώς σε όλες τις γυναίκες, εκτός από μία λόγω ευμεγέθους ινομυώματος, και σε 98% των περιπτώσεων μετά από μία είσοδο της βελόνας. Τα ποσοστά αυτά της επιτυχούς λήψης συμφωνούν με εκείνα άλλων ερευνητών (Gulbis και συν., 1992, Jauniaux και συν., 1993, Jurkovic και συν., 1993, Campbell και συν., 1993), το δε ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας είναι ίσως μικρότερο από αυτό που δίνουν μερικές μελέτες για τη λήψη χοριακής λάχνης (MRC, 1991). Ο χρόνος επέμβασης ήταν μικρότερος από 1 λεπτό.

Οι Santolaya-Forgas και συν. (1998) εξέτασαν τον κίνδυνο εμβρυϊκής απώλειας μετά παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας σε έγκυες μπαμπούνους. Συμπέραναν ότι η επέμβαση είναι σχετικά εύκολη με χαμηλό ποσοστό αποβολής, εάν χρησιμοποιείται βελόνα 20 gauge και ο όγκος του υγρού που αναρροφάται είναι μικρότερος από 3 ml.



Αντίθετα αποτελέσματα είχαν οι Ross και συν. (1997), οι οποίοι μελέτησαν τη βραχυπρόθεσμη ασφάλεια της μεθόδου εκτελώντας παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας σε 20 έγκυες γυναίκες στις 6-10 εβδομάδες κύησης 2 έως 13 ημέρες πριν από προγραμματισμένη διακοπή κύησης για κοινωνικούς λόγους. Την ομάδα ελέγχου αποτελούσαν 100 γυναίκες που είχαν προγραμματιστεί για διακοπή κύησης και ήταν συγκρίσιμες για μητρική ηλικία και ηλικία κύησης. Κατά την περίοδο παρακολούθησης των δύο ομάδων σε πέντε γυναίκες από την ομάδα της παρακέντησης της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας (25%) και σε πέντε από την ομάδα ελέγχου (5%) παρατηρήθηκε αυτόματη έκτρωση, ποσοστό στατιστικά σημαντικό. Οι συγγραφείς καταλήγουν ότι η μέθοδος δεν είναι κατάλληλη για προγεννητική διάγνωση. Παρ'όλα αυτά, η μελέτη περιλαμβάνει μικρό αριθμό γυναικών και δεν αναφέρεται η εμπειρία αυτού ή αυτών που έκαναν τη λήψη. Όπως σε όλες τις επεμβατικές μεθόδους η εμπειρία του κέντρου έχει τεράστια σημασία. Επίσης η ως άνω μελέτη (Ross και συν., 1997) αναφέρει ότι τα υπερηχογραφικά ευρήματα των κυήσεων που παλινδρόμησαν δεν ήταν απλά απουσία εμβρυϊκών παλμών, αλλά ο σάκος κύησης είχε υπερηχογένεια έτσι ώστε ο εμβρυϊκός πόλος δεν ήταν ορατός, πιθανά οφειλόμενη σε αιμορραγία. Σε καμία από τις κυήσεις που παλινδρόμησαν στη δική μας μελέτη δεν υπήρχε η εικόνα αυτή.

Γνωρίζουμε ότι πέντε παιδιά έχουν γεννηθεί μετά από παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας, δύο από τη μελέτη των Ross και συν. (1997) και τρία από τη δική μας. Και τα πέντε δεν έχουν κάποια ανωμαλία.

Φαίνεται λοιπόν ότι βραχυπρόθεσμα η μέθοδος είναι ασφαλής και δεν υπολείπεται των άλλων επεμβατικών τεχνικών. Αυτό που απομένει να ελεγχθεί είναι η εκτίμηση της μακροπρόθεσμης ασφάλειας της μεθόδου, έτσι ώστε να γίνει η προγεννητική μέθοδος εκλογής για πρώιμη διάγνωση.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης τα συμπεράσματα που εξαγάγουμε είναι:

- Η συγκέντρωση της α εμβρυϊκής πρωτεΐνης στο μητρικό ορό δεν αλλάζει κατά τη διάρκεια της παρακέντησης της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας, καθώς και 10 λεπτά αργότερα. Κατά συνέπεια η επέμβαση δε συνοδεύεται με σημαντικό βαθμό εμβρυομητρικής μετάγγισης.
- Η εμβρυϊκή καρδιακή συχνότητα δεν μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια, καθώς και 1, 5 και 10 λεπτά μετά την επέμβαση. Φαίνεται λοιπόν ότι το καρδιαγγειακό σύστημα του εμβρύου δεν επηρεάζεται.
- Η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας πιθανότατα είναι ασφαλής μέθοδος προγεννητικού ελέγχου, με ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας παρόμοιο με αυτό των υπολοίπων μεθόδων.
- Πέντε νεογνά γεννήθηκαν μετά την μέθοδο αυτή και δεν είχαν κάποια ανατομική ανωμαλία. Αν και ο αριθμός αυτός είναι πολύ μικρός, θα μπορούσε να είναι ενδεικτικός για την ασφάλεια της μεθόδου όσον αφορά στις ανατομικές βλάβες των εμβρύων.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

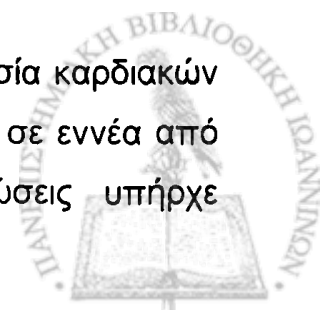
Η παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας προσφέρει τη δυνατότητα προγεννητικής διάγνωσης από τις 6 εβδομάδες κύησης. Ο σκοπός της μελέτης μας ήταν η εκτίμηση της βραχυπρόθεσμης ασφάλειας της παρακέντησης της κοιλότητας αυτής. Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 3 ομάδες εγκύων γυναικών με μονήρη κύηση μεταξύ 6 έως 10 εβδομάδων, που προσήλθαν στην Κλινική μας ζητώντας διακοπή της κύησης για κοινωνικούς λόγους. Κατά την πρώτη επίσκεψη έγινε λεπτομερής ενημέρωση για το σκοπό της μελέτης και τη χρησιμότητα της μεθόδου αυτής για ζευγάρια υψηλού κινδύνου.

Σε 17 γυναίκες που διένυαν την 6^η-11^η εβδομάδα κύησης έγινε μέτρηση της αμβρυϊκής πρωτεΐνης (AFP) στο μητρικό ορό πριν, καθώς και 1 και 10 λεπτά μετά την παρακέντηση εξωεμβρυϊκής κοιλότητας αμέσως πριν τη διακοπή κύησης για την εκτίμηση εμβρυομητρικής μετάγγισης. Η συγκέντρωση της AFP δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά κατά τις τρεις λήψεις.

Σε άλλες 20 γυναίκες στην ίδια ηλικία κύησης έγινε μέτρηση της εμβρυϊκής καρδιακής συχνότητας πριν, καθώς και 1, 5 και 10 λεπτά μετά την επέμβαση. Η καρδιακή συχνότητα δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή.

Την τρίτη ομάδα αποτέλεσαν 447 γυναίκες. 108 από αυτές συμφώνησαν να γίνει παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας κατά την πρώτη επίσκεψη. Οι υπόλοιπες 339 αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Διακοπή κύησης έγινε μετά από 5-30 ημέρες. Ένα δεύτερο υπερηχογράφημα έγινε ακριβώς πριν τη διακοπή της κύησης για έλεγχο της ζωτικότητας του εμβρύου, μέτρηση του κεφαλοουριαίου μήκους και της καρδιακής λειτουργίας του εμβρύου. Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων σε δημογραφικά χαρακτηριστικά όπως η ηλικία της μητέρας, κάπνισμα, παρουσία ινομυωμάτων, κεφαλοουριαίο μήκος του εμβρύου ή χρονικό διάστημα μεταξύ του πρώτου υπερηχογραφήματος (ή της παρακέντησης εξωεμβρυϊκού χώρου) κατά την πρώτη επίσκεψη και τη διακοπή της κύησης.

Πριν από τη διακοπή, η υπερηχογραφική εξέταση έδειξε απουσία καρδιακών παλμών σε πέντε έμβρυα από την ομάδα μελέτης (4,7%) και σε εννέα από την ομάδα ελέγχου (2,7%). Σε όλες τις άλλες περιπτώσεις υπήρχε



φυσιολογική εμβρυϊκή ανάπτυξη και μη σημαντική διαφορά στο κεφαλοουριαίο μήκος των εμβρύων των δύο ομάδων.

Συμπερασματικά, το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας από την παρακέντηση της εξωεμβρυϊκής κοιλότητας φαίνεται να είναι περίπου 2%, παρόμοιο με αυτό άλλων επεμβατικών τεχνικών. Δεν παρατηρείται εμβρυομητρική μετάγγιση ούτε βραδυκαρδία του εμβρύου. Έτσι λοιπόν παρέχονται ενδείξεις ότι η μέθοδος προσφέρει βραχυπρόθεσμη ασφάλεια. Πέντε νεογνά που γεννήθηκαν μετά από την εφαρμογή της μεθόδου αυτής δεν παρουσίασαν ανωμαλίες. Παρόλο που ο αριθμός αυτός είναι πολύ μικρός, πιθανά είναι ενδεικτικός για την ασφάλεια της μεθόδου όσον αφορά ανατομικές βλάβες του εμβρύου.



SUMMARY

Coelocentesis offers the potential for prenatal diagnosis as early as 6 weeks of gestation. The aim of this study was to examine the short-term safety of coelocentesis.

Eligible for the study were pregnant women with single live fetuses at 6-10 weeks of gestation, requesting pregnancy termination for social reasons. At presentation the patients were counseled extensively about the aim of the study and the usefulness of such a method for couples at high risk. The study included three groups of pregnant women:

- a. 17 women at 6-11 weeks were examined just before suction termination of pregnancy. Maternal blood samples were taken before, as well as 1 and 10 min after coelocentesis for measurement of alfa fetoprotein (AFP).
- b. The same approach took place in 20 women of similar gestational age and the fetal heart rate was measured immediately before and 1, 5 and 10 min after the procedure.
- c. The third group consisted of 447 women requesting termination of pregnancy. Then, they were asked if they were willing to undergo coelocentesis and in 108 of those women who agreed, the procedure was performed at the time of the initial ultrasound scan. A second scan to measure fetal crown-rump length and heart rate was carried out just before termination of pregnancy, that was performed 5-30 days later.

There was no significant difference between the maternal serum AFP concentrations before coelocentesis (median 7.5 IU) and the values at 1 min (median 8.6 IU) and 10 min (median 7.5 IU) after the procedure. Similar findings we obtained from the measurment of the fetal heart rate. There was no significant difference between fetal heart rate before coelocentesis (mean 160) and the values at 1 min (mean 158), 5 min (mean 160) or 10 min (mean 159) after the procedure.

There were no significant differences between the coelocentesis group (108 women) and the control group (339 women) in maternal age, prevalence of primigravidas, cigarette smokers, existence of uterine fibroids, the median fetal crown-rump length or the interval between the initial scan (or coelocentesis) at presentation and the pregnancy termination. At the time of

termination, ultrasound examination demonstrated fetal death in five (4,7%) of the coelocentesis group and nine (2,7%) of the controls. In all other cases, there was normal fetal growth with no significant differences between the two groups in terms of fetal crown-rump length.

It is concluded that coelocentesis is not associated with significant fetomaternal haemorrhage and does not exert any short term effect on the cardiovascular system of the fetus. The procedure related risk for fetal loss associated with coelocentesis may be approximately 2%. The results of this study supports that coelocentesis seems a safe procedure for first trimester prenatal diagnosis.

Five babies were born following coelocentesis and had no obvious abnormalities. Although the short-term risk of miscarriage from the procedure does not seem to be higher than that of the other diagnostic intervention techniques, the long-term safety of the method remains to be assessed.

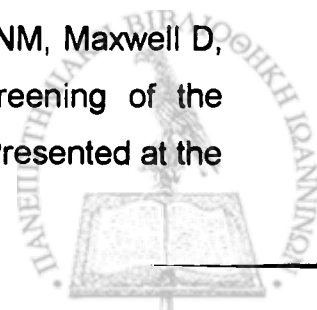


ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

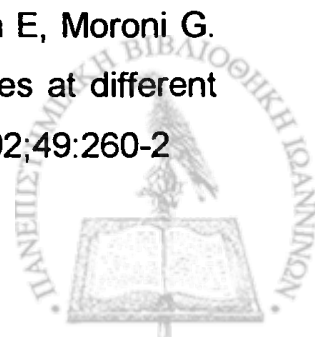
1. Aburel ME. Le declanchement du travail par injections intra-amniotiques du serum sale hypertonique. *Gynecologie Obstetrique*. 1937; 36:393
2. Alexander JM, Ramus R, Jackson G, Sercely B, Wendel GD Jr. Risk of hepatitis B transmission after amniocentesis in chronic hepatitis B carriers. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999;7(6):283-6
3. Ammala P, Hiilesmaa VK, Liukkonen S, Saisto T, Teramo K, von Koskull H. Randomized trial comparing first-trimester transcervical chorionic villus sampling and second trimester amniocentesis. *Prenat Diagn* 1993; 13(10):919-27
4. Antsaklis A, Daskalakis G, Papantoniou N, Michalakis S. Fetal blood sampling-indication-related losses. *Prenat Diagn* 1998; 18(9):934-40
5. Antonarakis SE, Lewi JG, Adelsberger PA, Petersen MB, Schinzel AA, Cohen MM, Roulston D, Schwartz S, Mikkelsen M, Tranebjorg L, Grennberg F, How DI, Rudd NL. Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 as indicated by analysis of DNA polymorphisms. *N Engl J Med* 1991; 324:872-6
6. Atkinson G, Campbell DJ, Cawood ML, Oakey RE. Steroids in human intrauterine fluids of early pregnancy. *Clin Endocrinol* 1996;44:435-40
7. Azar G, Snijders RJM, Gosden CM, Nicolaides KH. Fetal nuchal cystic hygromata: associated malformations and chromosomal defects. *Fetal Diagn Ther* 1991;6:46-57
8. Bala S, Seth S, Seth PK. Total protein in human amniotic fluid. *Aust New Zealand J Obstet Gynaecol* 1986; 26:141
9. Barela AI, Kleinman GE, Golditch IM, Memke DJ, Hogge WA, Golbus MS. Septic shock with renal failure after chorionic villus sampling. *Am J Obstet Gynecol*. 1986; 154:1100-1102
10. Barnes NP. Mongolism-importance of early recognition and treatment. *Ann Clin Med* 1923;1:302
11. Beck F, Moffat DB, Davies DP. *Human Embryology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1985



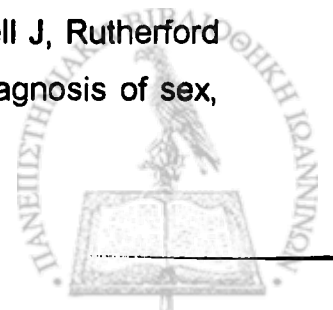
12. Benacerraf BR, Barss VA, Saltzman DH, Greene MF, Penso CA, Frigoletto FD. Fetal abnormalities: Diagnosis or treatment with percutaneous umbilical blood sampling under continuous US guidance. *Radiology* 1988; 166:105
13. Benda CE, Bixby EM. Function of the thyroid and the pituitary in mongolism. *Am J Dis Child* 1939; 58:1240
14. Bentley DP. Iron metabolism and anaemia in pregnancy. *Clinical Haematology* 1985; 14:613-19
15. Bianchi DW, Flint AF, Pizzimenti MF, Knoll JHM, Latt SA. Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:3279-83
16. Blakemore KJ, Baumgarten A, Schoenfeld-Dimaio M, et al. Rise in maternal alfa-fetoprotein concentration after chorionic villus sampling and the possibility of isoimmunation. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155:988-93
17. Blackburn ST, Lopez DL. Maternal, fetal and neonatal physiology: a clinical perspective. Saunders Philadelphia 1992
18. Bleyer A. Indications that mongoloid idiocy is a gametic mutation of degenerative type. *Am J Dis Child* 1934;47:342
19. Blithe DL, Iles RK. The role of glycosylation in regulating the glycoprotein hormone free α -subunit and free β -subunit combination in the extraembryonic coelomic fluid of early pregnancy. *Endocrinology* 1995; 10:214-20
20. Bobrow M, Lewis BV. Unreability of fetal sexing using cervical material. *Lancet* 1971; ii:486
21. Boero E. Intra-amniotiques. *Semana Medica Buenos Aires*. 15 August 1935
22. Borrell A, Fortuny A, Lazaro L, Costa D, Seres A, Pappa S, Soler A. First trimester transcervical chorionic villus sampling by biopsy forceps versus mid-trimester amniocentesis: a randomized controlled trial project. *Prenat Diagn* 1999; 19(12): 1138-42
23. Bower S, Chitty L, Bewley S, Roberts L, Clark T, Fisk NM, Maxwell D, Rodeck CH. First trimester nuchal translucency screening of the general population: data from three centers[abstract]. Presented at the



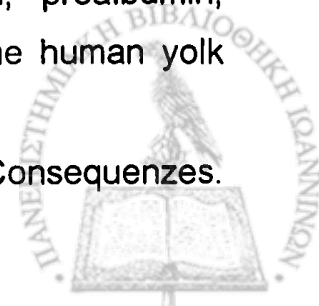
- 27th British Congress of Obstetrics and Gynaecology. Dublin: Royal College of Obstetrics and Gynaecology, 1995
24. Brambati B, Cislighi C, Tului L, Alberti E, Amidani M, Colombo U, Zuliani G. First-trimester Down's syndrome screening using nuchal translucency: a prospective study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:9-14
25. Brambati B, Guercilena S, Bonacchi I, et al. Feto-maternal transfusion after chorionic villus sampling: clinical implications. *Hum Reprod* 1986;1:37-43
26. Brambati B, Simoni G, Travi M, Danesino C, Tului L, Privitera O, Stioui S, Tedeschi S, Russo S, Primignani P. Genetic diagnosis by chorionic villus sampling before eight gestational weeks: efficacy, reliability and risks on 317 completed pregnancies. *Prenat Diagn.* 1992; 12:789-799
27. Brambati B, Simoni G. Diagnosis of fetal trisomy 21 in first trimester. *Lancet.* 1983; 1:586
28. Cafferata JF. Contribution a la literature du mongolisme. *Arch Med Enf* 1909; 12:929
29. Caldecott C. Tuberculosis as a cause of death in mongolism. *Br Med J* 1909; 2:665
30. Campbell J, Wathen N, Perry G, Soneh S, Souriat N, Chard T. The coelomic cavity: an important site of materno-fetal nutrient exchange in the first trimester of pregnancy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1993; 100:765-7
31. Campbell S, Warsof SL, Little D, Cooper DJ. Routine ultrasound screening for the prediction of gestational age. *Obstet Gynecol* 1985;65:613-20
32. Canadian Collaborative CVS-Amniocentesis clinical trial group. Multicentre randomised trial of chorionic villus sampling and amniocentesis. . First report. *Lancet* 1989 Jan 7;1(8628):1-6
33. Carpani G, Marini F, Ghisoni L, Buscaglia M, Sinigaglia E, Moroni G. Red cell and plasma ferritin in a group of normal fetuses at different ages of gestation. *European Journal of Haematology* 1992;49:260-2



34. Chayen S, ed. An assessment of the hazards of amniocentesis: Report to the Medical Research Council by their working party on amniocentesis. *Br J Obstet Gynecol* 1978;85 (suppl 2):1
35. Clarke CM, Edwards JH, Smallpiece V. 21 trisomy/ normal mosaicism in an intelligent child with mongoloid characters. *Lancet* 1961;1:1028
36. Comas C, Martinez JM, Ojuel J, Casals E, Puerto B, Borrel A, Fortuny A. First-trimester nuchal edema as a marker of aneuploidy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:26-9
37. Contempre B, Jauniaux E, Calvo R, Jurkovic D, Campbell S. Detection of thyroid hormones in human embryonic cavities during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77: 1719-22
38. Crookshank FG. In *The Mongol in our Midst*. London: Kegan Paul, Trench and Trubner Ltd, 1924
39. Cruger DG, Bruun-Petersen G, Kolvraa S. Early prenatal diagnosis: standard cytogenetic analysis of coelomic cells obtained by coelocentesis. *Prenat Diagn* 1996 Oct;16(10):945-9
40. Cruger DG, Bruun-Petersen G, Kolvraa S. Turner's syndrome 45,X found by coelocentesis *Prenat Diagn* 1997 Jun;17(6):588-9
41. Daffos F, Capel-Pavlovsky M, Forestier F. A new procedure for fetal blood sampling in utero: Preliminary results of fifty three cases. *Am J Obstet Gynecol*. 1983; 146:985
42. Daffos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: A study of 606 consecutive cases. *Am J Obstet Gynecol*. 1985; 153:655
43. Delamare C, Carbonne B, Heim N, Berkane N, Petit JC, Uzan S, Grange JD. Detection of hepatitis C virus RNA (HCV RNA) in amniotic fluid: a prospective study. *J Hepatol* 1999; 31(3):416-20
44. Edwards RG, Jauniaux E, Binns RM, Layton M, Jurkovic D, Grillo TA, Campbell S. Induced tolerance and chimaerism in human fetuses using coelocentesis: a medical opportunity to avert genetic disease? *Hum Reprod Update* 1995 Jul;1(4):419-27
45. Findlay I, Atkinson G, Chambers M, Quirke P, Campbell J, Rutherford A. Rapid genetic diagnosis at 7-9 weeks gestation: diagnosis of sex,



- single gene defects and DNA fingerprint from coelomic samples. *Hum Reprod* 1996 Nov;11(11):2548-53
46. Firth HV, Boyd PA, Chamberlain P, MacKenzie IZ, Lindenbaum RH, Huson SM. Severe limb abnormalities after chorion villus sampling at 56-66 days of gestation. *Lancet* 1991; 337:762-763
 47. Firth HV, Boyd PA, Chamberlain P, MacKenzie IZ, Morriss-Kay GM, Huson SM. Analysis of limb reduction defects in babies exposed to chorion villus sampling. *Lancet* 1994; 343:1069-1071
 48. Ford CE, Hamerton JL. The chromosomes of man. *Nature* 1956;168:1020
 49. Fraser J, Mitchell A. Kalmuc idiocy: report of a case with autopsy with notes on 62 cases by A. Mitchell. *J Ment Sci* 1876; 22:169-79
 50. Froster UG, Baird PA. Congenital defects of the limbs in stillbirths: data from population-based study. *Am J Med Genet.* 1993; 46: 479-482
 51. Froster UG, Baird PA. Upper limb deficiencies and associated malformations: a population-based study. *Am J Med Genet.* 1992; 44: 767-781
 52. Froster-Iskenious UG, Baird PA. Limb reduction defects in over one million consecutive livebirths. *Teratology* 1989; 39:127-135
 53. Fryer AA, Jones P, Strange R, Hume R, Bell JE. Plasma protein levels in normal human fetuses:13 to 41 weeks' gestation. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1993;100:850-5
 54. Fuchs F, Riis P. Antenatal sex determination. *Nature.* 1956;177:330
 55. Fuhrmann W, Altland K, Kohler A. Feto-maternal transfusion after chorionic villus sampling. *Hum Genet* 1988;78:83-5
 56. Gitlin D, Biasucci A. Development of IgG, IgA, IgM β 1C/ β 1a, C1 esterase inhibitor, ceruloplasmin, haptoglobin, fibrinogen, plasminogen, α 1-antitrypsin, oromucoid, β -lipoprotein, α 2-macroglobulin and prealbumin in the human conceptus. *J Clin Invest* 1969;48:1433-46
 57. Gitlin D, Perricelli A. Synthesis of serum albumin, prealbumin, alphafetoprotein, alpha-antitrypsin and transferrin by the human yolk sac. *Nature* 1970; 228:995-7
 58. Goddard HH. In *Feeble-mindedness, its Causes and Consequences*. New York: Macmillan and Co, 1914



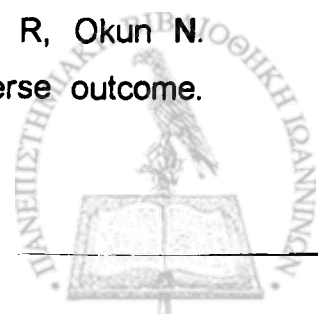
59. Golbus MS, Loughman WD, Epstein CJ, Halbasch G, Stephens JD, Hall BD. Prenatal genetic diagnosis in 3.000 amniocenteses. *N Engl J Med.* 1979;300:157
60. Grosheide PM, Quantero HW, Schalm SW, Heitjink RA, Christiaens GC. Early invasive prenatal diagnosis in HbsAg-positive women. *Prenat Diagn* 1994; 14(7):553-8
61. Gulbis B, Jauniaux E, Decuyper J, Thiry P, Jurkovic D, Campbell S. Distribution of iron and iron-binding proteins in first trimester human pregnancies. *Obstetrics and Gynecology* 1994; 84:289-93
62. Gulbis B, Jauniaux E, Jurkovic D, Thiry P, Campbell S, Ooms HA. Determination of protein pattern in embryonic cavities of early human pregnancies: a model to understand materno-embryonic exchanges. *Hum Reprod* 1992; 7:886-9
63. Hahnemann N, Mohr J. Genetic diagnosis in the embryo by means of biopsy from extraembryonic membranes. *Bull Europ Soc Hum Genet.* 1968; 2:23-29
64. Hahnemann N. Early prenatal diagnosis: A study of biopsy techniques and cell culturing from extraembryonic membranes. *Clin Genet.* 1974; 6:294-306
65. Halbertsma T. Moongolism in one of twins and the etiology of mongolism. *Am J Dis Child* 1923;25:350
66. Halliday JL, Watson LF, Lumley J, Danks DM, Sheffield LJ. New estimates of Down syndrome risks at chorionic villus sampling, amniocentesis, and livebirth in women of advanced maternal age from a uniquely defined population. *Prenat Diagn* 1995;15:455-65
67. Hamilton WJ, Boyd JD. Phases of human development. In *Modern Trends in Obstetrics and Gynaecology*, ed. K. Bowes. Butterworth and Co., Ltd., London, 1950.
68. Hanson FW, Zorn EM, Tennant FR, Marianos S, Samuels S. Amniocentesis before 15 weeks gestation: Outcome, risks and technical problems. *Am J Obstet Gynecol.* 1987; 156:1524



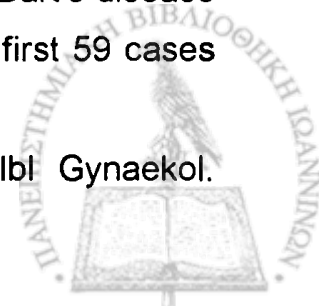
69. Hecht CA, Hook EB. The imprecision in rates of Down syndrome by 1-year maternal age intervals: a critical analysis of rates used in biochemical screening. *Prenat Diagn* 1994;14:729-38
70. Henry G, Peakman DC, Winkler W, O'Connor K. Amniocentesis before 15 weeks instead of CVS for earlier prenatal cytogenetic diagnosis. *Am J Human Genet.* 1985; 37(suppl) Abstract 650
71. Herting AT, Rock J, Adams EC. A description of 34 human ova within the first 17 days of development. *American Journal of Anatomy* 1956; 98:435
72. Hobbins JC, Grannum PA, Romero R, Reece EA, Mahoney MJ. Percutaneous umbilical cord blood sampling. *Am J Obstet Gynecol.* 1985; 152:47
73. Hobbins JC, Mahoney M, Goldstein LA. A new method of intrauterine visualization by the combined use of fetoscopy and ultrasound. *Am J Obstet Gynecol.* 1974; 118:1069
74. Hogge WA, Schonberg SA, Golbus MS. Chorionic villus sampling: Experience of the first 1000 cases. *Am J Obstet Gynecol.* 1986; 154:1249-1252
75. Holzgreve W, Hahn S. Fetal cells in cervical mucus and maternal blood. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000 Aug;14(4):709-22
76. Holzgreve W, Miny P, Gerlach B, Westendorp A, Ahlert D, Horst J. Benefits of placental biopsies for rapid karyotyping in the second and third trimesters (late chorionic villus sampling) in high-risk pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162 (5):1188-92
77. Hook EB, Lindsjo A. Down syndrome in live births by single year maternal age interval in a Swedish study: comparison with results from a New York State study. *Am J Hum Genet* 1978;30:19-27
78. Iles RK, Wathen NC, Sharma KB, Campbell J, Grudzinkas JG, Chard T. Pregnancy Associated Plasma Protein A levels in maternal serum, extraembryonic coelomic and amniotic fluids in the first trimester. *Placenta* 1991; 12:269-76
79. Jackson LG. *CVS Newsletter.* 1988;25:7



80. Jacobs PA, Baikie AG, Court Brown WM, Strong JA. The somatic chromosomes in mongolism. *Lancet* 1959;1:710
81. Jacobson CB, Barter RH. Intrauterine diagnosis and management of genetic defects. *Am J Obstet Gynecol.* 1967; 99:796
82. Jauniaux E, Burton GJ, Moscoso GJ, Hustin J. Development of the early human placenta: a morphometric study. *Placenta* 1991; 12:269-76
83. Jauniaux E, Donner C, Simmon P, Vanesse M, Hustin J, Rodesch F. Pathologic aspects of the umbilical cord after percutaneous umbilical blood sampling. *Obstet Gynecol* 1989;73:215
84. Jauniaux E, Gulbis B, Jurkovic D, Schaaps JP, Campbell S, Meuris S. Protein and steroid levels in embryonic cavities of early human pregnancies. *Hum Reprod* 1993; 8:782-7
85. Jauniaux E, Gulbis B, Nagy AM, Jurkovic D, Campbell S, Meuris S. Coelomic fluid chorionic gonadotrophin and protein concentrations in normal and complicated first trimester human pregnancies. *Hum Reprod* 1995;10:214-20
86. Jauniaux E, Jurkovic D, Campbell S, Hustin J. Doppler ultrasound features of the developing placental circulations: correlation with anatomic findings. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 585-7
87. Jauniaux E, Jurkovic D, Gulbis B, Collins W, Zaidi J, Campbell S. Investigation of the acid-base balance of coelomic and amniotic fluids in early human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170:1365-9
88. Jauniaux E. Intervillous circulation in the first trimester: the phantom of the color Doppler obstetrics opera. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1996; 8:763-6
89. Jenkins RL. Etiology of mongolism. *Am J Dis Child* 1933;45:506
90. Johnson JM, Wilson RD, Winsor EJ, Singer J, Dansereau J, Kalousek DK. The early amniocentesis study: a randomised clinical trial of early amniocentesis versus midtrimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1996; 11(2):85-93
91. Johnson JM, Wilson RD, Singer J, Winsor E, Harman C, Armson BA, Benzie R, Dansereau J, Ho MF, Mohide P, Natale R, Okun N. Technical factors in early amniocentesis predict adverse outcome.



- Results of the Canadian Early (EA) versus Mid-trimester (MA) Amniocentesis Trial. *Prenat Diagn* 1999; 19(8):732-8
92. Jones CPJ, Jauniaux E. Ultrastructure of the materno-embryonic interface in the first trimester of pregnancy. *Micron* 1995; 2:145-73
 93. Jurkovic D, Jauniaux E, Campbell S, Mitchell M, Lees C, Layton M. Detection of sickle gene by coelocentesis in early pregnancy: a new approach to prenatal diagnosis to single gene disorders. *Hum Reprod* 1995; 10:1287-9
 94. Jurkovic D, Jauniaux E, Campbell S, Pandya P, Cardy DL, Nicolaides KH. Coelocentesis: a new technique for early prenatal diagnosis. *Lancet* 1993 Jun 26;341(8861):1623-4
 95. Kazy Z, Rozovsky I, Bakhaev V. Chorion biopsy in early pregnancy: A method of early prenatal diagnosis for inherited disorders. *Prenat Diagn.* 1982; 2:39-45
 96. Knuppel R, Goodlin R. Maternal-Placental-Fetal Unit: Fetal and Early Neonatal Physiology. In: *Current Obstetrics and Gynecology, Diagnosis and Treatment*, 7th Edition, Ed Pernoll ML Appleton and Lange, Connecticut 1991;151-178
 97. Ko TM, Tseng LH, Chang MMH, Chen DS, Hsieh FJ, Chuang SM, Lee TY. Amniocentesis in mothers who are hepatitis B virus carriers does not expose the infant to an increased risk of hepatitis B virus infection. *Arch Gynecol Obstet* 1994; 255(1):25-30
 98. Korenberg JR. Toward a molecular understanding of Down syndrome. *Prog Clin Bio Res* 1993;384:87-115
 99. Koulischer L, Gillerot Y. Down's syndrome in Wallonia (South Belgium), 1971-1978: cytogenetics and incidence. *Hum Genet* 1980;54:243-50
 100. Kullander S, Sandahl B. Fetal chromosome analysis after transcervical placental biopsies during early pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1973; 52:355-359
 101. Lam YH, Tang MH. Prenatal diagnosis of haemoglobin Bart's disease by cordocentesis at 12-14 weeks--experience with the first 59 cases *Prenat Diagn* 2000 ;20(11):900-4
 102. Lambl D. Ein seltener fall van hydramnios. *Centralbl Gynaekol.*



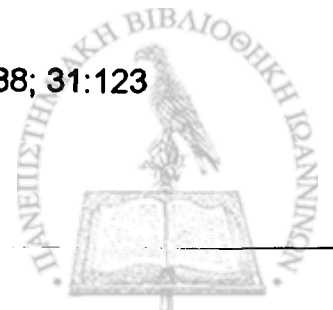
- 1881;5:329
103. Langdon Down J. Observations on an ethnic classification of idiots. Clin Lectures and Reports, London Hospital 1866; 3:259-62
 104. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Etudes des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. C R Acad Sci 1959;248:1721
 105. Lelong M, Borniche P, Kreisler L, Baudy R. Moongolien issu de mere mongolienne. Arch Franc Pediat 1949; 6:231
 106. Lindenberg S, Hyttel P, Lenz S, Holmes PV. Ultrastructure of the early human implantation in vitro. Human Reproduction 1986; 1:533-8
 107. Linch DC, Rodeck CH, Nicolaides KH. Attempted bone marrow transplantation in 17-week fetus. Lancet 1986;ii:1453
 108. Los FJ, Jacoda MGJ, Wladimiroff JW, ET AL. Fetal exsanguination by chorionic villus sampling. Lancet 1993;342:1559
 109. Loukopoulos D, Karababa P, Antsaklis A, Panourgias J, Boussiou M, Karayannopoulos K, Politis J, Rombou D, Kaltsoya-Tassiopoulou A, Fessas P Prenatal diagnosis of thalassemia and Hb S syndromes in Greece: an evaluation of 1500 cases. Ann N Y Acad Sci 1985;445:357-75
 110. Ludomirsky A, Weiner S, Ashmead GG, Librizzi RJ, Bolognese RJ. Percutaneous fetal umbilical blood sampling: Procedure safety and normal fetal hematology indices. Am J Perinatol. 1988; 5: 264
 111. Ludomirsky A, Weiner S. Percutaneous fetal umbilical blood sampling. Clin Obstet Gynecol. 1988; 31:19
 112. Luthardt FW, Luthy DA, Karp LE, Hickok DE, Resta RC. Prospective evaluation of early amniocentesis for prenatal diagnosis. Am J Hum Genet. 1985; 37(suppl) Abstract 659
 113. Luthy DA, Hickok DE, Luthardt FW, Resta RG. A prospective evaluation of early amniocentesis: An alternative to chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. Presented at Sixth Annual Meeting of the Society of Perinatal Obstetricians: January 30-February 1. 1986: San Antonio, Tex. Abstract 268
 114. Λώλης Δ.Ε. Γυναικολογία και Μαιευτική. Τόμος δεύτερος. Εκδόσεις Μ.Γρ. Παρισιάνου, Αθήνα, 1998;6:68-71



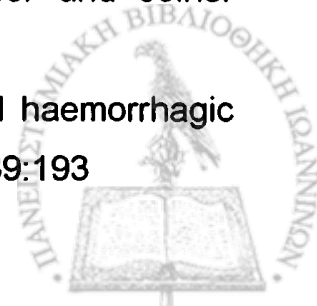
115. Macintosh MC, Wald NJ, Chard T, Hansen J, Mikkelsen M, Therkelsen AJ, Petersen GB, Lundsteen C. Selective miscarriage of Down's syndrome fetuses in women aged 35 years and older. *Br J Obstet Gynaecol* 1995;102:798-801
116. Makrydimas G, Georgiou I, Kranas V, Kaponis A, Lolis D. Prenatal Paternity Testing (PT) using DNA extracting from coelomic cells. [abstract]. Presented at The Woman and Child before, during and after pregnancy, Rome, 2001
117. Makrydimas G, Georgiou I, Kranas V, Zikopoulos K, Lolis D. Prenatal diagnosis of beta-thalassaemia by coelocentesis *Mol Hum Reprod* 1997 Aug;3(8):729-31
118. Makrydimas G, Lolis D. Fetal nuchal translucency test for Down's syndrome. *Lancet* 1997;350(9091):1630-1
119. Mandelbrot L, Mayaux MJ, Bongain A, Berrebi A, Moudoub-Jeanpetit Y, Benifla JL, Ciraru-Vigneron N, Le Chenadec J, Blanche S, Delfraissy JF. Obstetrics factors and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohorts. SEROGEST French Pediatric HIV Infection Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:661-7
120. Menees TO, Miller JD, Holly LE. Amniography: Preliminary report. *AJR*. 1930;24:363
121. Miller WA, Davies RM, Thayer BA, Peakman D. Success, safety and accuracy of early amniocentesis (EA). *Am J Hum Genet* 1987; 41(suppl). Abstract 835
122. Monni G, Ibba RM, Zoppi MA, Floris M. In utero stem cell transplantation. *Croat Med J* 1998 Jun;39(2):220-3
123. Morris JK, Wald NJ, Watt HC. Fetal loss in Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1999;19:142-5
124. MRC working party on the evaluation of chorion villus sampling. Medical Research Council European trial of chorion villus sampling. *Lancet* 1991; 337:1491-1499
125. MRC Working Party. Medical Research Council European trial of chorion villus sampling. *Lancet* 1991;337: 1491-99



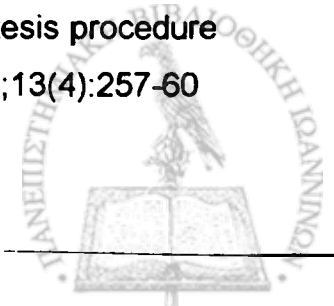
126. Muller F, Dommerguez M, Ville Y, Lewin F, Delvalez-Morichon N, Nihoul-Fekete C, Bary F, Dumez Y, Boye A. Amniotic fluid digestive enzymes: diagnostic value in fetal gastrointestinal obstructions. *Prenat Diagn* 1994;14:973-79
127. Muller J, Giovangrandi Y, Parnet-Mathieu F, Cabrol D, Paniel BJ, Sureau C. Acute fetal distress after blood sampling. *Eur J Obstet Gynecol* 1988;28:269. Case report.
128. Muller F, Oury JF, Dumez Y, Boue J, Boue A. Microvillar enzyme assays in amniotic fluid and fetal tissues at different stages of development. *Prenat Diagn* 1988;8:189-98
129. Nadler HL, Ryan CA. Amniotic cell culture. In : Yunis JJ, ed. *Human Chromosome Methodology*. New York: Academic Press; 1974: 185-197
130. Nagy AM, Jauniaux E, Jurkovic D, Meuris S. Placental overproduction of human chorionic gonadotropin α -subunit in early pregnancy as evidenced in exocoelomic fluid. *Journal of Endocrinology*. 1994; 142:511-16
131. Ναυρόζογλου Ι «Βιοχημική και Μοριακή μελέτη του εξωεμβρυϊκού υγρού» Διδακτορική διατριβή , 1998.
132. NICHD National Registry for Amniocentesis Study Group. Midtrimester amniocentesis, safety and accuracy. *JAMA*. 1976;236:1471
133. Nicolaides KH, Brizot M, Patel F, Snijders R. Comparison of chorionic villus sampling and amniocentesis for fetal karyotyping at 10-13 weeks of gestation. *Lancet* 1994; 344:435-439
134. Nicolaides KH, Brizot ML, Patel F, Snijders R. Comparison of chorionic villus sampling and early amniocentesis for karyotyping in 1.492 singleton pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 1996 Jan-Feb;11(1):9-15
135. Nicolaides KH, Soothill PW, Rodeck CH, Campbell S. Ultrasound-guided sampling of umbilical cord and placental blood to assess fetal wellbeing. *Lancet* 1986; 1:1065
136. Nicolaides KH. Cordocentesis. *Clin Obstet Gynecol*. 1988; 31:123



137. Nicolini U, Santolaya J, Ojo OE et al. The fetal intrahepatic umbilical vein as an alternative to cord needling for prenatal diagnosis and therapy. *Prenat Diagn* 1988; 8:665
138. Old J. First trimester fetal diagnosis for haemoglobinopathies: Three cases. *Lancet*. 1982; 2:1413-1416
139. Orlandi F, Damiani G, Jakil C, Lauricella S, Bertolino O, Maggio A. The risks of early cordocentesis (12-21 weeks): analysis of 500 procedures. *Prenat Diagn* 1990 Jul;10(7):425-8
140. Pandya PP, Altman D, Brizot ML, Pettersen H, Nicolaides KH. Repeatability of measurement of nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:334-7
141. Pandya PP, Snijders RJM, Johnson SJ, Brizot ML, Nicolaides KH. Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 to 14 weeks of gestation. *Br J Obstet Gynaecol* 1995;102:957-62
142. Pandya PP, Snijders RJM, Johnson SJ, Nicolaides KH. Natural history of trisomy 21 fetuses with fetal nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:381-5
143. Penrose LS, Ellis JR, Delhanty JDA. Chromosomal translocations on mongolism and in normal relatives. *Lancet* 1960;2:409
144. Penrose LS. Maternal age in familiar mongolism. *J Ment Sci* 1951;97:738
145. Penrose LS. Mongolian idiocy (mongolism) and maternal age. *Ann NY Acad Sci* 1953;57:494
146. Piolet BW, Socol ML, MacGregor SN, Ney JA, Dooley SL. Cordocentesis: An appraisal of risks. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:1497
147. Polani PE, Briggs JH, Ford CE, Clarke CM, Berg JM. A mongol girl with 46 chromosomes. *Lancet* 1960;1:721
148. Prochownick L. Beitrage zur lehre vom fruchtwasser und seiner entstehung. *Arch Gynaekol* 1877; 11: 304
149. Quintero RA, Romero R, Mahoney MJ, ET AL. Fetal haemorrhagic lesions after chorionic villus sampling. *Lancet* 1992; 339:193



150. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis . The Canadian Early (EA) versus Mid-trimester (MA) Amniocentesis Trial (CEMAT). *Lancet* 1998; 351(9098):242-7
151. Rehn AT, Thomas E. Family history of a Mongolian girl who bore a Mongolian child. *Am J Ment Defic* 1957;62:496
152. Report of a WHO consultation on first trimester fetal diagnosis: Risk evaluation in chorionic villus sampling. *Prenat Diagn.* 1986; 6:451-456
153. Report of a WHO/PAHO consultation on CVS: Evaluation of chorionic villus sampling safety. *Prenat Diagn.* 1999; 19:97-99
154. Rodeck CH. Fetal development after chorionic villus sampling. *Lancet* 1993; 341:468-469
155. Roberts L, Bewley S, Mackinson AM, Rodeck CH. First trimester nuchal translucency screening : Problems with screening the general population. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102:381-5
156. Rodeck CH, Campbell S. Umbilical cord insertion as a source of pure fetal blood for prenatal diagnosis. *Lancet.* 1979;1:1244
157. Rodeck CH, Sheldrake A, Beattie B, Whittle MJ. Maternal serum alphafetoprotein after placental damage in chorionic villus sampling. *Lancet* 1993; 341:500
158. Rodeck C, Tutschek B, Sherlock J, Kingdom J. Methods for the transcervical collection of fetal cells during the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 1995 Oct;15(10):933-42
159. Romero R, Jeanty P, Reece EA, et al. Sonographically monitored amniocentesis to decrease intraoperative complications. *Obstet Gynecol.* 1985; 65-426
160. Rosanoff AJ, Handy LM. Etiology of mongolism with special reference to its occurrence in twins. *Am J Dis Child* 1934;48:764
161. Ross JA, Jurkovic D, Nicolaidis K. Coelocentesis: a study of short-term safety. *Prenat Diagn* 1997 Oct;17(10):913-7
162. Santolaya-Forgas J, Vengalil S, Kushwaha A, Bieniarz A, Fortman J. Assessment of the risk of fetal loss after the coelocentesis procedure using a baboon model. *Fetal Diagn Ther* 1998 Jul-Aug;13(4):257-60



163. Savoldelli G, Binkert F, Achermann J, Schmid W. Ultrasound screening for chromosomal anomalies in the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 1993;13:513-18
164. Schlafke S, Enders AC. Cellular basis of interaction between trophoblast and uterus at implantation. *Biology of Reproduction* 1975; 12:41-65
165. Shettles LB. Use of the Y chromosome in prenatal sex determination. *Nature* 1971, 5;230(5288):52-3
166. Shuttleworth GE. Mongolian imbecility. *Br Med J* 1909;2:661-5
167. Sibley CP, Boyd RDH. Mechanisms of transfer across the human placenta. In *Fetal and Neonatal Physiology*, Vol 1, ed RA Pohn and WW Fox, Saunders, Philadelphia 1992
168. Simpson JL, Elias S. Isolating fetal cells in maternal circulation for prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 1994;14:1229-42
169. Simpson NE, Dallaire L, Miller JR, et al. Prenatal diagnosis of genetic disease in Canada: Report of a collaborative study. *Canad Med Assoc J.* 1976;115:739
170. Slavin S, Naparstek E, Ziegler M, Lewin A. Clinical application of intrauterine bone marrow transplantation for treatment of genetic diseases- feasibility study. *Bone Marrow Transplant* 1992; 9:189-90
171. Smidt-Jensen S, Lundsteen C, Lind AM, Dinesen K, Philip J. Transabdominal chorionic villus sampling in the second and third trimesters of pregnancy: chromosome quality, reporting time and fetomaternal bleeding. *Prenat Diagn* 1993;13(10):957-69
172. Smidt-Jensen S, Permin M, Philip J, Lundsteen C, Zachary JM, Fowler SE, Gruning K. Randomized comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 1992; 340:1238-1244
173. Smidt-Jensen S, Phillip J, Zachary JM, et al. Implications of maternal serum alpha-fetoprotein elevation caused by transabdominal and transcervical CVS. *Prenat Diagn* 1994; 14:35-45
174. Snijders RJ, Sherrod C, Gosden CM, Nicolaides KH. Fetal growth retardation: associated malformations and chromosomal



- abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:547-55
175. Snijders RJM, Holzgreve W, Cuckle H, Nicolaides KH. Maternal age-specific risks for trisomies at 9-14 weeks' gestation. *Prenat Diagn* 1994;14:543-52
 176. Snijders RJM, Nicolaides KH. Assessment of risks. In *Ultrasound Markers for Fetal Chromosomal Defects*. Carnforth, UK: Parthenon Publishing, 1996:109-13
 177. Snijders RJM, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Lancet* 1998;351:343-6
 178. Snijders RJM, Sebire N, Cuckle H, Nicolaides KH. Maternal age-specific risks for trisomies at 9-14 weeks' gestation. *Fetal Diag Ther* 1995;10:356-67
 179. Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age and gestation specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:167-70
 180. Spencer JW, Cox DN. A comparison of chorionic villus sampling and amniocentesis: acceptability of procedure and maternal attachment to pregnancy. *Obstet Gynecol* 1988; 72:714-19
 181. Spencer JW, Cox DN. Emotional responses of pregnant women to chorionic villus sampling or amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:1155-60
 182. Spencer K, Macri JN, Aitken DA, Connor JM. Free beta hCG as a first trimester marker for fetal trisomy. *Lancet* 1992;339:1480
 183. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders RJM, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy associated plasma protein A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:231-7
 184. Steele MW, Breg WR Jr. Chromosome analysis of human amniotic fluid cells. *Lancet*. 1966; 1:383
 185. Stoeltzner W. Zur Atiologie des Mongolismus. *Munich Med Wschr*



- 1919; 66:1943
186. Sundberg K, Bang J, Smidt-Jensen S, Brocks V, Lundsteen C, Parner J, Keiding N, Philip J. Randomised study of risk of fetal loss related to early amniocentesis versus chorionic villus sampling. *Lancet* 1997; 350(9079):697-703
 187. Sundberg K, Lundsteen C, Philip J. Comparison of cell cultures, chromosome quality and karyotypes obtained after chorionic villus sampling and early amniocentesis with filter technique. *Prenat Diagn* 1999; 19(1): 12-6
 188. Sutherland GA. Mongolian imbecility in infants. *Practitioner* 1899; 63:632
 189. Szabo J, Gellen J, Szemere G. First-trimester ultrasound screening for fetal aneuploidies in women over 35 and under 35 years of age. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:161-3
 190. Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, Obel EB, Norgaard-Pedersen B. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986; 1(8493):1287-93
 191. Thilaganathan B, Nicolaides KH, Morgan G. Intrauterine bone marrow transplantation at 12 weeks gestation. *Lancet* 1993; 342-43
 192. Tijo JH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas* 1956;42:1
 193. Touraine JL. In utero transplantation of fetal liver stem cells into human fetuses. *J Hemato ther* 1996 Apr;5(2):195-9
 194. Touraine JL. Treatment of human fetuses and induction of immunological tolerance in humans by in utero transplantation of stem cells into fetal recipients. *Acta Haematol* 1996;96(3):115-9
 195. Tredgold AF. In *Mental Deficiency (Amentia)*. London:Bailliere, Tindall and Cox, 1908
 196. Valenti C, Schutta EJ, Kehaty T. Prenatal diagnosis of Down's syndrome. *Lancet*. 1968; 2:220. Letter to the Editor
 197. Valenti C. Endoamniocopy and fetal biopsy: A new technique. *Am J Obstet Gynecol*. 1972; 114:561
 198. Von Schatz F. Eine besondere art von einseitiger polyhydramnie mit



- anderseitiger oligohydramnie bei eineiigen zwillingen. *Archiv für Gynaekol.* 1882; 19:329
199. Wald NJ, Terzian E, Vickers PA. Congenital talipes and hip malformation in relation to amniocentesis: A case-control study. *Lancet.* 1983;2:246
200. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999;341:461-7
201. Warburton D, Fraser FC. Spontaneous abortion risks in man: Data from reproductive histories collected in a medical genetics unit. *Hum Genet* 1964; 16:1-25
202. Warren R, Sanchez L, Hammond D, McLeod A. Prenatal sex determination from exfoliated cells found in cervical mucus. *Am J Hum Genet* 1972;24:22a
203. Wathen N, Delves TH, Campbell J, Chard T. The coelomic cavity – A reservoir for metals. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1995; 173:1884-8
204. Webster WS, Lipson AH, Brown-Woodman PDC. Uterine trauma and birth defects. *Teratology* 1987; 35:253-60
205. Weiner CP. Cordocentesis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1988; 15:283
206. Weiner CP. The role of cordocentesis in fetal diagnosis. *Clin Obstet Gynecol.* 1988;31:285
207. Wilkins I, Mezrow G, Lynch L, Bottone EJ, Berkowitz RL. Amnionitis and life-threatening respiratory distress after percutaneous umbilical blood sampling. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:427
208. Winsor EJ, Tomkins DJ, Kalousek D, Farrell S, Wyatt P, Fan YS, Carter R, Wang H, Dallaire L, Eydoux P, Welch JP, Dawson A, Lin JC, Singer J, Johnson J, Wilson DR. Cytogenetic aspects of the Canadian early and mid-trimester amniotic fluid trial (CEMAT). *Prenat Diagn* 1999; 19(7):620-7

