

Przezbrzuszną biopsja kosmówki w prenatalnej diagnostyce zaburzeń chromosomowych – doświadczenia własne

Transabdominal chorionic villus sampling (CVS) for prenatal diagnosis of chromosomal disorders – own experiences

Wojciech Cnota^{1,2}, Barbara Grolik¹, Mariola Szołtysik-Szot¹, Renata Bloch¹,
Agnieszka Gnyś-Wierciach¹, Jolanta Hadaś¹, Agnieszka Kania¹, Henryka Sodowska¹,
Marcin Sodowski², Krzysztof Sodowski^{1,2}

¹ Niepubliczny Zakład Opieki Zdrowotnej „Genom”, Ruda Śląska, Polska

² Oddział Kliniczny Położnictwa i Ginekologii w Rudzie Śląskiej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

Streszczenie

W pracy przedstawiono własne doświadczenia dotyczące wskazań, przebiegu procedury i wyników biopsji kosmówki wykonywanych w NZOZ „Genom” w Rudzie Śląskiej.

Materiał i metody: Przezbrzuszną biopsję kosmówki pod kontrolą usg wykonano u 290 par z różnych wskazań. Najczęstsze to: nieprawidłowy wynik badania usg płodu, obciążony wywiad w kierunku chorób genetycznych, wiek matki. Materiałem do badań były komórki trofoblastu pobrane podczas biopsji kosmówki (CVS) od pacjentek (n=264): z nieprawidłowym wynikiem badania USG płodu (n=235), nieprawidłowym wynikiem testów biochemicznych (n=6), obciążonym wywiadem genetycznym (n=11), oraz z powodu wieku 35 lat i więcej (n=12). Metafazy otrzymano i analizowano z wykorzystaniem technik cytogenetyki klasycznej.

Wyniki: Nieprawidłowy kariotyp płodu z komórek trofoblastu uzyskano u 39% badanych pacjentek. U pacjentek z nieprawidłowym USG stwierdzono znacznie więcej nieprawidłowych kariotypów płodu (43,5%), niż u pacjentek skierowanych na biopsję kosmówki z innych wskazań (3%). W części przypadków (12,9%) otrzymano niejednoznaczne cytogenetyczne wyniki, spowodowane najczęściej kontaminacją materiału komórkami maczynymi lub mozaicyzmem łożyskowym lub zależnym od hodowli.

Adres do korespondencji:

Wojciech Cnota
Oddział Kliniczny Położnictwa i Ginekologii w Rudzie Śląskiej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Polska, 41-703 Ruda Śląska, ul. W. Lipa 2
tel./fax.: 32 344 07 44
e-mail: woytek@eth.pl

Otrzymano: 05.11.2012
Zaakceptowano do druku: 15.05.2013

Wojciech Cnota et al. Przebrzuszna biopsja kosmówki w prenatalnej diagnostyce zaburzeń chromosomowych – doświadczenia własne.

Wnioski: Biopsja kosmówki powinna być proponowana głównie pacjentkom z nieprawidłowym wynikiem badania USG ze względu na ryzyko otrzymania nie w pełni informacyjnego wyniku i konieczność wykonania kolejnego badania inwazyjnego – amniopunkcji.

Słowa kluczowe: **biopsja kosmówki / diagnostyka prenatalna / kariotyp płodu /**

Abstract

Objective: To present the authors' own experiences on transabdominal Chorionic Villus Sampling (CVS) for prenatal diagnosis of genetic disorders.

Design: Descriptive study.

Patients and methods: A total of 290 couples with request for prenatal diagnosis of various genetic disorders were studied. The most common indications were: fetal abnormalities suspected in an ultrasound scan and biochemistry, positive family history on genetic disorders, maternal age. Transabdominal CVS was done under local anesthesia and ultrasound guidance. The genetic analysis was possible in 264 cases (241 with abnormal ultrasound scan and/or biochemistry, 11 with positive family history, 12 with maternal age). Results were recorded and analyzed for descriptive statistics.

Result: A total of 290 CVSs were done in the outdoor. Most procedures (76%) were done between 12 and 14 weeks (range 11-16 weeks). All placental positions including both anterior and posterior were approachable through the trans-abdominal route. The overall success rate was 100%. Abnormal fetal karyotype was diagnosed in 39% of cases. In 12.9% of cases inconclusive results were observed (due to placental mosaicism or maternal cells contamination). More aneuploidies were observed in group with abnormal first trimester screening (us scan and/or biochemistry) compared to any other indications.

Conclusion: Transabdominal CVS is a useful outdoor procedure for prenatal diagnosis. However indications for the procedure should be carefully considered since some risk of inconclusive results occurred.

Key words: **chorion villus sampling / prenatal diagnosis / fetal karyotype /**

Wstęp

Biopsja kosmówki (CVS – *Chorionic Villus Sampling*) jest inwazyjną metodą uzyskiwania komórek trofoblastu w czasie trwania ciąży [1, 2].

Wykonywana jest pod kontrolą ultrasonograficzną z dostępu przezbrzusznego, rzadziej przezpochwowego, powyżej 11 tygodnia ciąży. Biopsja kosmówki wykonywana przed zakończeniem organogenezy wiąże się ze zwiększonym ryzykiem powikłań u płodu (samoamputacja odcinków dalszych kończyn) [3].

Wykonanie biopsji kosmówki należy rozważyć w przypadku:

- nieprawidłowego wyniku badania USG płodu,
- nieprawidłowych wyników badań biochemicznych w I trymestrze ciąży,
- obciążonego wywiadu genetycznego (stwierdzenie w poprzedniej ciąży choroby genetycznej lub aberracji chromosomowej u płodu),
- urodzenie dziecka z chorobą genetyczną albo aberracją chromosomową, nosicielstwo choroby genetycznej, nieprawidłowy kariotyp u jednego z rodziców),
- podejrzenia choroby genetycznej u płodu, wymagającej diagnostyki z zastosowaniem metod biologii molekularnej,
- małowodzia lub bezwodzia w II lub III trymestrze ciąży, uniemożliwiającego pobranie wód płodowych [2, 4, 5, 6, 7].

Pomimo szerokich wskazań do biopsji kosmówki, najczęściej wykorzystuje się tą procedurę do diagnostyki zaburzeń kariotypu płodu. W pracy przedstawiono własne doświadczenia dotyczące wskazań, przebiegu procedury i wyników biopsji kosmówki wykonywanych w NZOZ „Genom” w Rudzie Śląskiej.

Materiał i metody

Badaniem objęto 290 pacjentek ciężarnych między 11 a 19 tygodniem ciąży (średnia 13+0 tygodni ciąży), diagnozowanych w NZOZ „Genom” w latach 2007-2010. Średnia wieku pacjentek poddawanych CVS – 31 lat (zakres 17-47 lat).

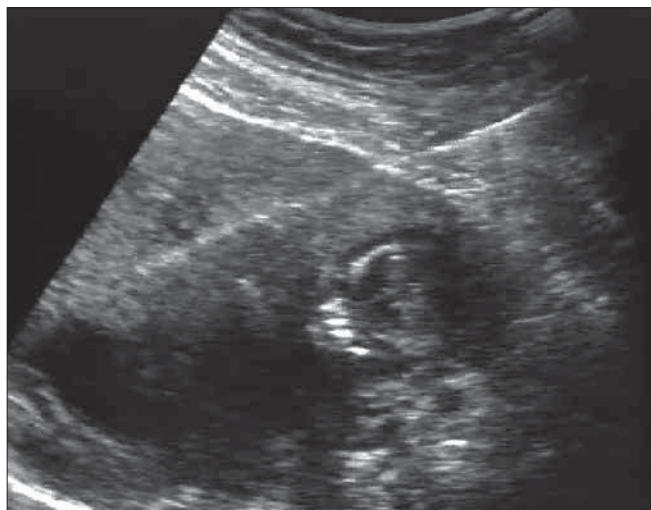
Wskazaniem do biopsji kosmówki u pacjentek NZOZ „Genom” były:

- nieprawidłowy wynik badania USG – n=260 (wynik uzyskano u 235 pacjentek),
- wiek pacjentki – n=12 (wynik uzyskano u 12 pacjentek),
- obciążony wywiad genetyczny – n=12 (wynik uzyskano u 11 pacjentek),
- nieprawidłowy wynik badań biochemicznych – n=6 (wynik uzyskano u 6 pacjentek),

Materiał do badań uzyskano na drodze biopsji trofoblastu przez powłoki brzuszne ciężarnej, przy użyciu sterylnej igły typu TSK-Supra 1.50x100 mm, pod kontrolą USG. (Rycina 1).

Procedurę wykonywano w trybie ambulatoryjnym w znieczuleniu miejscowym nasiękowym przy pustym pęcherzu moczowym pacjentki.

Wojciech Cnota et al. Przewzbrzusna biopsja kosmówki w prenatalnej diagnostyce zaburzeń chromosomowych – doświadczenia własne.



Rycina 1. Igła biopsyjna wprowadzona do kosmówki.

Lokalizacja kosmówki (ściana przednia vs. ściana tylna) nie miała znaczenia dla techniki wykonywania zabiegu. Po wykonanym zabiegu pacjentce zalecano 15 minutowy odpoczynek, po którym wykonywano kontrolne badanie ultrasonograficzne oceniając FHR, obecność krwawienia podkosmówkowego i ilość płynu owodniowego. W żadnym z 290 przypadków nie obserwowano powikłań wczesnych.

Zalecana optymalna ilość kosmków do uzyskania wyniku to około 20 mg [8].

Uzyskane kosmki umieszczano na szalce Petriego z podłożem RPMI firmy Biomed Lublin zawierającym heparynę firmy Polfa. Oczyszczano je ze zlepow erytrocytów oraz fragmentów tkanek matki, przy użyciu jałowych pincet pod inwertoskopem [8, 9]. Następnie rozdzielano je do dwóch naczyń, w celu przeprowadzenia krótkiej (KH) i długiej (DH) hodowli z kompletnym podłożem hodowlanym AmnioMax firmy Gibco.

Po 24 godzinach, kosmki z krótkiej hodowli poddawano standardowym procedurom, zmodyfikowanym przez personel laboratorium NZOZ „Genom”. W celu uzyskania metafaz z krótkiej hodowli (KH) wykorzystywano urządzenie elektromechaniczne rozpraszające na szkiełku komórki uzyskane z kosmków (CTE910 Cryo-Technik-Erlangen). Metafazy uzyskane tą metodą są słabej jakości, tzn. mają małą rozdzielczość prążkowania oraz wykazują słabe rozproszenie chromosomów w metafazie. Kosmki z długiej hodowli hodowano, w celu uzyskania dzielących się komórek i poddawano je standardowym procedurom, prowadzącym do uzyskania preparatów o wyższej rozdzielczości prążkowania [5, 8, 9].

Otrzymane preparaty z obu hodowli barwiono techniką prążków GTG przy użyciu 2,5% trypsyny firmy Gibco oraz barwnika Giemzy firmy Merck. Analizie poddawano 3-10 metafaz pochodzących z hodowli krótkiej oraz 8-15 metafaz z hodowli długiej. Używano mikroskopu firmy Zeiss przy 1000x powiększeniu w immersji i systemu do kariotypowania firmy MetaSystem. Wyniki zapisywano zgodnie z obowiązującymi normami ISCN (*An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*) 2005 i 2009 [10]. Przykładowe obrazy uzyskiwane w obu metodach przedstawiono na rycinach 2-5.

Wyniki

Satysfakcjonującą ilość kosmków przy pierwszym wkłuciu uzyskano w 264 przypadkach (91%). Średnia masa uzyskanego materiału wynosiła 28,5 mg (zakres 14-43 mg). W 176 (61%) przypadkach wykonano pełne badanie kosmówki, uzyskując wynik z krótkiej i długiej hodowli; w 36 (12%) wyniki uzyskano z hodowli krótkiej; w 52 (18%) – z długiej. W 26 (9%) nie uzyskano żadnego wyniku, prawdopodobnie na skutek zbyt małej ilości materiału dostarczonego do laboratorium (te badania nie zostały uwzględnione w dalszym opisie wyników). Wynik uzyskano z 264 biopsji kosmówki, co stanowi 91% wszystkich biopsji wykonanych w latach 2007 – 2010.

235 pacjentek skierowano na wykonanie CVS ze względu na nieprawidłowy obraz USG płodu. W tej grupie, w 184 przypadkach opisywaną nieprawidłowością było poszerzenie przejrzistości karkowej (NT – *nuchal translucency*) – nieprawidłowy kariotyp stwierdzono u 80 płodów (43,5%). Wśród 51 pacjentek, u których wskazaniem do wykonania CVS był nieprawidłowy wynik badania USG bez podwyższonego NT – nieprawidłowy kariotyp stwierdzono u 22 płodów (43%).

W przypadku 29 pacjentek (11%), ze wskazaniami do biopsji innymi niż nieprawidłowe USG płodu, nieprawidłowy kariotyp płodu oznaczono jedynie u jednej pacjentki (3%). U 12 pacjentek (4,5%), skierowanych ze względu na wiek nie wykazano nieprawidłowości kariotypu płodu.

Uzyskane po CVS wyniki kariotypów (prawidłowe/nieprawidłowe) zestawiono w tabelach I i II.

W 264 badanych CVS, nieprawidłowy wynik uzyskano w 103 przypadkach, co stanowi 39% analizowanych kariotypów. Najczęściej występującą aberracją była trisomia chromosomu 21 (zespół Downa). Następnie trisomia chromosomu 18 (zespół Edwardsa) i monosomia chromosomu płci (zespół Turnera). Rzadziej stwierdzano: aberracje strukturalne, trisomię chromosomu 13 (z. Patau), inne aneuploidie i poliploidie. Uzyskane aberracje chromosomowe przedstawiono w tabeli III.

W 34 badanych przypadkach (12,9%) uzyskano niejednoznaczne wyniki po krótkiej i długiej hodowli. (Tabela IV).

W 2 przypadkach (nr 1 i 2 w tab. IV) stwierdzono w hodowli krótkiej kariotyp męski, a w hodowli długiej dwie linie komórkowe. Uzyskana w długiej hodowli linia komórkowa żeńska pochodzi od matki. W 15 przypadkach stwierdzono rozbieżność pomiędzy wynikami uzyskanymi z długiej i krótkiej hodowli (nr 3-11 w tab. IV). W 3 analizach z długiej hodowli uzyskano nieprawidłowy kariotyp z aberracją strukturalną, której nie stwierdzono w hodowli krótkiej (nr 12,13,14 w tab. IV). W 14 przypadkach, w których uzyskano jedynie metafazy z kariotypem żeńskim z długiej hodowli (nr 15 w tab. IV), nie można wykluczyć, że doszło do kontaminacji próbki komórkami matki.

W każdym z opisanych w tabeli IV przypadków, pacjentce zaproponowano wykonanie dalszej diagnostyki inwazyjnej w celu weryfikacji wyniku. W żadnym z tych przypadków nie wykonano dalszej diagnostyki. Pacjentki nie decydowały się na podjęcie ryzyka związanego z kolejnym zabiegiem inwazyjnym lub podejmowały decyzję o przerwaniu ciąży na podstawie nieprawidłowych wyników badania USG i oznaczonego kariotypu. Część ciąż (n=4) uległa obumarciu lub poroniła się samoistnie, zanim wykonano amniopunkcję. Kilka pacjentek nie wyraziło zgody na ponowny przyjazd do ośrodka diagnostycznego ze względu na znaczną odległość od miejsca zamieszkania.

Wojciech Cnota et al. *Przebrzuszną biopsję kosmówki w prenatalnej diagnostyce zaburzeń chromosomowych – doświadczenia własne.***Tabela I.** Kariotypy płodów z nieprawidłowym obrazem USG.

Liczba biopsji wykonana w przypadku nieprawidłowego USG	235 (89%)	Liczba biopsji w przypadku nieprawidłowego NT	184 (78,3%)	Prawidłowy kariotyp	104 (56,5%)
				Nieprawidłowy kariotyp	80 (43,5%)
		Liczba biopsji w przypadku prawidłowego NT	51(21,7%)	Prawidłowy kariotyp	29 (56,9%)
				Nieprawidłowy kariotyp	22 (43,1%)

Tabela II. Kariotypy płodów oznaczone na podstawie wskazań innych niż nieprawidłowe USG.

Liczba biopsji kosmówki ze wskazań innych niż nieprawidłowe USG	29 (11%)	Prawidłowy kariotyp	28 (96,6%)
		Nieprawidłowy kariotyp	1 (3,4%)

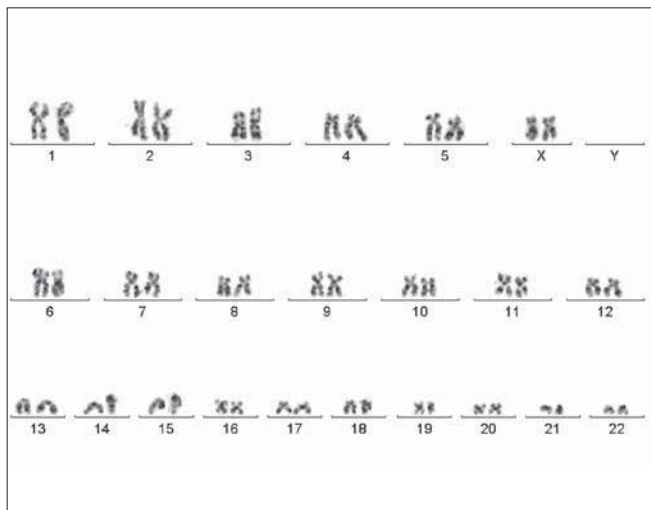
Tabela III. Oznaczone patologie.

Rodzaj aberracji chromosomowych	Zespół Downa	Zespół Turnera	Zespół Edwardsa	Strukturalne	Zespół Patau	Inne aneuploidie (XXX, XXY, +8,+22)	Poliploidie
n (%)	34(~33%)	27(~26%)	24(~23%)	7(~7%)	6(~6%)	4(~4%)	1(~1%)

Tabela IV. Przypadki z rozbieżnością kariotypów po hodowli krótkiej i długiej.

nr	wynik z KH	wynik z DH	liczba przypadków	możliwa interpretacja rozbieżności
1	47,XY,+21	47,XY,+21/46,XX	1	- kontaminacja próbki komórkami matki (możliwość uzyskania kariotypu matki w DH)
2	46,XY	46,XY/46,XX	1	
3	45,X	46,XX	1	- mozaicyzm (również mozaicyzm ograniczony do łożyska) - kontaminacja próbki komórkami matki - (przyp 3 i 4) fałszywie nieprawidłowy wynik z KH (spowodowane złą jakością metafaz po KH)
4	45,X/46,XX	46,XX	6	
5	45,X	45,X/46,XX	1	
6	46,XX	47,XX,+18	2	- mozaicyzm (również mozaicyzm ograniczony do łożyska) - fałszywie prawidłowy wynik z KH
7	46,XX	47,XX,+22	1	
8	46,XX	45,X/46,XX	1	
9	46,XX	47,XX,+21/46,XX	1	
10	46,XX	47,XX,+8/46,XX	1	
11	46,XY	46,XY,der(13;13)	1	
12	46,XX	46,XX,der(18)t(18;?)	1	- (przyp. 12, 13) fałszywie prawidłowy wynik z KH (aberracje strukturalne, trudne do identyfikacji w preparatach z krótkiej hodowli, z powodu złej jakości metafaz) - mozaicyzm (również mozaicyzm ograniczony do łożyska) - (przyp. 13) kontaminacja próbki komórkami matki
13	46,XX	46,XX,t(2;4)/46,XX	1	
14	47,XY,+4/46,XY	47,XY,t(14;18),+4	1	
15	-	46,XX	14	- kariotyp prawidłowy u płodu - kontaminacja próbki komórkami matki
SUMA			34	

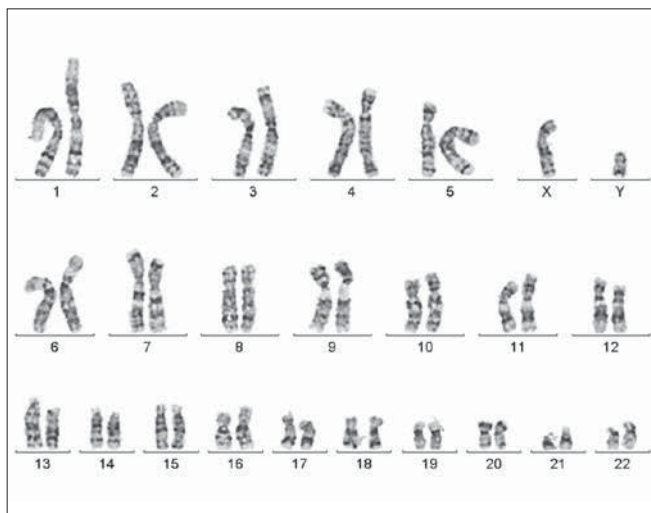
Wojciech Cnota et al. Przezbrzuszna biopsja kosmówki w prenatalnej diagnostyce zaburzeń chromosomowych – doświadczenia własne.



Rycina 2.



Rycina 4.



Rycina 3.



Rycina 5.

Dyskusja

W NZOZ Genom wykonano 264 analizy karyotypu po biopsji kosmówki i uzyskano 103 (39%) nieprawidłowe wyniki. Dla porównania w badaniach przeprowadzonych przez Zhang i wsp., aberracje chromosomowe po biopsji kosmówki stwierdzono w 9 z 152 przypadków (5,92 %). Wskazania do wykonania badania w cytowanej pracy, rozszerzone były o kontakt z teratogenem i/lub lekami we wczesnej ciąży i o życzenie pacjentki [10].

Z danych literaturowych wynika, że najczęstszym wskazaniem do wykonania inwazyjnych badań prenatalnych jest wiek matki [2]. W tej grupie nieprawidłowy karyotyp stwierdza się w niewielkim procencie wyników. Kennerknecht i wsp. podaje wartość 2,86%, natomiast Zhang i wsp. – 4,51% [10, 11]. W naszych badaniach, pacjentki kierowane ze względu na wiek matki (12 przypadków), stanowiły 4,5 % wszystkich wykonanych CVS.

U żadnej z nich nie stwierdzono nieprawidłowego karyotypu płodu.

W NZOZ Genom najczęściej CVS (89%) wykonano u pacjentek z nieprawidłowym USG płodu. Wśród nich stwierdzono 43,5% nieprawidłowych karyotypów natomiast liczba nieprawidłowych karyotypów płodu u pacjentek kierowanych na badanie z innych przyczyn niż nieprawidłowe USG, wynosiła 3,4 %. Kennerknecht i wsp. podają, że częstość występowania nieprawidłowych karyotypów po stwierdzeniu u płodu nieprawidłowego USG wynosi 20%, a Zhang L. i wsp. – 12% [10, 11].

W przypadku stwierdzenia nieprawidłowego karyotypu u jednego z rodziców, uzyskuje się około 68% nieprawidłowych wyników [10]. Żadna z pacjentek badanych w NZOZ Genom, nie została skierowana na biopsję kosmówki z takiego właśnie wskazania.

Istotnym problemem w cytogenetycznej diagnostyce prenatalnej jest możliwość wystąpienia niezgodności pomiędzy uzyskanym wynikiem, a rzeczywistym karyotypem płodu. Przyczyną tego zjawiska jest możliwość kontaminacji próbki komórkami matki oraz ryzyko wystąpienia mozaicyzmu [7]. Dodatkowo przyczyniają się do tego trudności w uzyskiwaniu preparatów

Wojciech Cnota et al. Przebzusna biopsja kosmówki w prenatalnej diagnostyce zaburzeń chromosomowych – doświadczenia własne.

z metody bezpośredniej (krótkiej hodowli), niewielka ilość metafaz oraz ich niska jakość. Cytogenetycznie niejednoznaczne wyniki, spowodowane kontaminacją materiału komórkami maczynymi lub mozaicyzmem zależnym od hodowli występują dużo częściej po CVS niż po amniopunkcji i stanowią wskazanie do dalszej diagnostyki [2].

W literaturze podaje się, że częstość występowania mozaicyzmu w hodowlach z trofoblastu wynosi od 0,5% do 1,7%. Badania przeprowadzone przez *Department of Obstetrics and Gynecology* w Bangkoku wykazały, że współczynnik dokładności dla kariotypów oznaczanych z biopsji kosmówki wynosi 97,5%. Na jego wartość mają wpływ m.in. kontaminacja komórkami matki, niezgodności kariotypu płodu z kariotypem łożyska, a także nieudane hodowle [2]. Dla porównania ten sam współczynnik, dla amniopunkcji wyliczony został na ponad 99,4% [12].

W naszej placówce w latach 2007-2010 stwierdzono 34 (12,9%) przypadki, w których uzyskano trudne do interpretacji wyniki z krótkiej i długiej hodowli. Pozostałe wyniki, nie budzące wątpliwości diagnostycznych, stanowiły 87,1 % wyników uzyskanych po CVS.

W przedstawionych w tabeli IV wynikach, zjawisko kontaminacji próbki komórkami matki można jednoznacznie stwierdzić jedynie w przypadku nr 1 i 2. W 23 przypadkach również mogło dojść do kontaminacji próbki komórkami matki (nr 3-5, 12-14 w tab. IV), ale istnieją też inne możliwe przyczyny rozbieżności wyników z krótkiej i długiej hodowli. Uzyskanie fałszywie nieprawidłowego (nr 3, 4 w tab. IV) lub fałszywie prawidłowego wyniku (nr 6 -14 w tab. IV) mogło być spowodowane złą jakością uzyskanych metafaz. Kolejną możliwą przyczyną rozbieżności wyników jest mozaicyzm (nr 3-5, 6-11 w tab. IV). W swoich badaniach Kennerknecht i wsp. podają, że ryzyko uzyskania fałszywie prawidłowego wyniku wynosi odpowiednio: 1,6% w oparciu o długą i krótką hodowlę oraz 4,9% w oparciu tylko o krótką hodowlę [11].

W NZOZ Genom na 290 przeprowadzonych biopsji kosmówki uzyskano 264 wyniki (91 %), a w 26 przypadkach (9%), z różnych przyczyn, nie udało się uzyskać wyniku. Podobny procent wydanych wyników (91,45%) uzyskali Zhang L. i wsp.[10].

Główną zaletą CVS jest możliwość wczesnego rozpoznania u płodu aberracji chromosomowych lub choroby monogenowej (badania molekularne). Pozwala to na podjęcie decyzji co do dalszego prowadzenia ciąży lub jej zakończenia w uzasadnionych przypadkach [2,13]. Należy rozważyć czy kierować pacjentki na wykonanie biopsji kosmówki ze względu na wiek lub nieprawidłowy wynik badań biochemicznych, gdyż w takich przypadkach uzyskujemy niewielki odsetek nieprawidłowych wyników.

Wnioski

Na podstawie doświadczeń własnych i danych literaturowych istotne wydają się być wskazania:

1. nieprawidłowy obraz USG płodu,
2. konieczność uzyskania materiału od diagnostyki molekularnej (podejrzenie choroby monogenowej),
3. konieczność wczesnego poznania płci (dalsza diagnostyka w kierunku chorób sprzężonych z płcią).

Z najnowszych badań wynika, że ryzyko utraty ciąży w przypadku biopsji kosmówki i amniopunkcji jest zbliżone, ale zależy w dużym stopniu od ilości wykonywanych przez ośrodek zabiegów i doświadczenia lekarza wykonującego zabieg [5, 14].

Decyzja o wykonaniu biopsji kosmówki powinna uwzględniać możliwość uzyskania nie w pełni informacyjnego wyniku, który powinien być zweryfikowany badaniem kariotypu z amniocyotów, co wiąże się z wykonaniem amniopunkcji [10].

Piśmiennictwo

1. Nicolaidis K, Węgrzyn P; Badanie ultrasonograficzne między 11-13 tygodniem ciąży. London: *Fetal Medicine Foundation*. 2004, 9-50.
2. Rueangchainikhom W, Sarapak S, Orungrote N. Chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis at Bhumibol Adulyadej Hospital. *J Med Assoc Thai*. 2008, 91, 1-6.
3. Sodowki K, Cnota W; Diagnostyka inwazyjna. W: Diagnostyka prenatalna z elementami perinatologii. Red. Wielgós M. Warszawa: *Via Medica Wydawnictwo Medyczne*, 2009.
4. Wieacker P, Steinhard J. The prenatal diagnosis of genetic diseases. *Dtsch Arztebl Int*. 2010, 107, 857-862.
5. Gnyś-Wierciach A, Bloch R, Grolik B, [et al.]; Analiza cytogenetyczna biopsji kosmówki – wady i zalety. *Ginekol Pol*. 2012, 83, 368-372.
6. Randolph L. Prenatal cytogenetics. In: The principles of clinical cytogenetics. Ed. Gersen S, Keagle M. New Jersey: *Humana Press*. 2005, 267-322.
7. Ko T, Tseng L, Hwa H, et al. Prenatal diagnosis by transabdominal chorionic villus sampling in the second and third trimester. *Arch Gynecol Obstet*. 1995, 256, 193-197.
8. Rooney D. The cytogenetics of pregnancy. Human cytogenetics: constitutional analysis. Oxford: *New York: Oxford University Press*. 2001, 55-98.
9. Kalużewski B, Perenc M. Prenatalna diagnostyka cytogenetyczna aberracji chromosomowych. W: Diagnostyka laboratoryjna i wiadomości PTDL. Red. Kulpa J. Łódź: *Fundacja Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjnej*. 1997, 33, (supl.1), 23-30.
10. Zhang L, Zhang X, Liang M, [et al.]. Prenatal cytogenetic diagnosis study of 2782 cases of high-risk pregnant women. *Cin Med J (Engl)*. 2010, 123, 423-430.
11. Kennerknecht I, Barbi G, Djalali M, [et al.]. False-negative findings in chorionic villus sampling. An experimental approach and review of the literature. *Prenat Diagn*. 1998, 18; 1276-1282.
12. Anderson C, Brown C, [et al.]. Fetal chromosomal abnormalities: Antenatal screening and diagnosis. *Am Fam Physician*. 2009, 79, 117-123.
13. Dziennik Ustaw nr 17 poz. 78 z poz. zm
14. Milunsky A, Milunsky J. Prenatal genetic diagnosis through chorionic villus sampling. Genetic disorders and the fetus: diagnosis, prevention and treatment. *Wiley-Blackwell*. Oxford. 2010, 160-193.