ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΑ ΤΟΜ.5, ΤΕΥΧ.4, ΣΕΛ. 177-187, 2008

Αρις Αντσακλής, Ελευθέριος Αναστασάκης, Γεώργιος Δασκαλάκης, Νικόλαος Παπαντωνίου, Σπύρος Μεσογίτης
Α' Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», Βασ. Σοφίας 80, 115 28 Αθήνα

Μελέτη της έκβασης κύησης έπειτα από αμνιοπαρακέντηση σε δίδυμες κυήσεις υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έναντι δίδυμων κυήσεων αυτόματης σύλληψης

Περίληψη

Σκοπός: Η σύγκριση της έκβασης κύησης έπειτα από τη διενέργεια αμνιοπαρακέντησης σε δίδυμες κυήσεις υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) έναντι διδύμων κυήσεων αυτόματης σύλληψης (Sp).

Υλικό και μέθοδος: Αναδρομική ανάλυση όλων των δίδυμων κυήσεων που υποβλήθηκαν σε αμνιοπαρακέντηση από το 1993 έως το 2006, στο τμήμα Εμβρυομητρικής Ιατρικής της Α' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Αλεξάνδρα. Συνολικά εξετάστηκαν 167 ART δίδυμες κυήσεις και 275 Sp κυήσεις που υποβλήθηκαν σε γενετική αμνιοπαρακέντηση. Οι Sp κυήσεις αποτελούν την ομάδα ελέγχου στη μελέτη αυτή. Πραγματοποιήθηκε σύγκριση της επίπτωσης της αμνιοπαρακέντησης στην έκβαση της κύησης και στο περιγεννητικό αποτέλεσμα στις δύο ομάδες.

Αποτελέσματα: Το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας ήταν παρόμοιο στις δύο ομάδες (4.2% έναντι 4% στις ART και στις Sp δίδυμες κυήσεις, αντίστοιχα). Το χρονικό διάστημα μεταξύ της διενέργειας της αμνιοπαρακέντησης και της αυτόματης αποβολής ήταν σημαντικά μικρότερο στις ART δίδυμες κυήσεις (6.2 και 20.1 ημέρες αντίστοιχα). Σε όλες τις περιπτώσεις, η εμβρυϊκή απώλεια ορίζεται ως η απώλεια και των δύο εμβρύων. Το ποσοστό πρόωρου τοκετού πριν τις 37 εβδομάδες κύησης ήταν σημαντικά υψηλότερο στην ομάδα μελέτης (ART) (64.1%) συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (Sp) (49.5%).

Αλληλογραφία:
Ε. Αναστασάκης, Κουντουριώτου 14, 15235 Άνω Βριλήσσια, Αθήνα
Τηλ.: 210-8032236, 6944697762,
Fax: 210-8054928

e-mail:
loufty28@yahoo.gr

Κατατέθηκε 29/10/08
Έγινε δεκτή 29/10/08

Συμπέρασμα: Η αμνιοπαρακέντηση σε δίδυμες κυήσεις υποβοηθούμενης αναπαραγωγής φέρει παρόμοιο κίνδυνο εμβρυϊκής απώλειας με αυτή των δίδυμων κυήσεων αυτόματης σύλληψης. Η ART δίδυμες κυήσεις έχουν σημαντικά μεγαλύτερο κίνδυνο πρόωρου τοκετού, ιδιαίτερα πριν τις 32 εβδομάδες κύησης.

Λέξεις - κλειδιά: Αμνιοπαρακέντηση, δίδυμες κυήσεις, υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, εμβρυϊκή απώλεια, πρόωρος τοκετός.

Εισαγωγή

Ο αριθμός των πολύδυμων κυήσεων έχει αυξηθεί σημαντικά τις τελευταίες δύο δεκαετίες[1], κυρίως λόγω της αυξανόμενης χρήσης των τεχνικών της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.[2] Ποσοστό άνω του 25% αυτών των κυήσεων αποτελούν οι δίδυμες κυήσεις.[3] Επιπρόσθετα, το ποσοστό των δίδυμων κυήσεων σχετίζεται με την ηλικία της μητέρας. Οι γυναίκες άνω των 35 ετών έχουν τριπλάσιες πιθανότητες να συλλάβουν δίδυμα σε αυτόματη σύλληψη, συγκριτικά με τις νεότερες γυναίκες.[4]

Οι επίτοκες που φέρουν δίδυμες κυήσεις έχουν υψηλότερο κίνδυνο να κυοφορήσουν ένα χρωμοσωμικά ανώμαλο έμβρυο συγκριτικά με τις επίτοκες που κυοφορούν μονήρεις κυήσεις. Ο κίνδυνος αυτός είναι ακόμη μεγαλύτερος στις υπογόνιμες ασθενείς λόγω της συχνά προχωρημένης ηλικίας της μητέρας.[2] Έτσι λοιπόν, δεν είναι ασυνήθιστο τα ζευγάρια με δίδυμες κυήσεις να αναζητούν προγεννητική διάγνωση. Η απόφαση για το εάν θα υποβληθούν σε προγεννητική διάγνωση είναι πολύπλοκη και θα πρέπει να συνυπολογίζεται όχι μόνο ο κίνδυνος ανευπλοειδίας αλλά και ο σχετιζόμενος κίνδυνος επιπλοκών που είναι σημαντικά υψηλότερος στις δίδυμες κυήσεις σε σύγκριση με τις μονήρεις.[5,6]

Η αμνιοπαρακέντηση αποτελεί τη μέθοδο εκλογής στις περισσότερες περιπτώσεις. Οι επεμβατικές μέθοδοι ελέγχου του καρυότυπου στις πολύδυμες κυήσεις είναι τεχνικά πιο απαιτητικές, και τα παθολογικά αποτελέσματα αποτελούν ιατρική και ηθική πρόκληση τόσο για τον ιατρό όσο και για τους γονείς. Για τα ζευγάρια αυτά, που η κύηση επιτεύχθηκε έπειτα από μια μακρά περίοδο υπογονιμότητας και τώρα μελετούν την επιλογή της αμνιοπαρακέντησης, η πληροφορία αυτή είναι εξαιρετικά πολύτιμη.

Επικρατεί η αντίληψη ότι η έκβαση των κυήσεων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής είναι λιγότερο ευνοϊκή συγκριτικά με αυτή των κυήσεων αυτόματης σύλληψης. Αν και αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει την μαιευτική έκβαση των δίδυμων κυήσεων με αντικρουόμενα συμπεράσματα, υπάρχει ένας μεγάλος όγκος ενδείξεων που υποστηρίζει ότι οι δίδυμες κυήσεις υποβοηθούμενης αναπαραγωγής σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο πρόωρου τοκετού, υπολειπόμενης ανάπτυξης, χαμηλού σωματικού βάρους γέννησης καθώς και νεογνικής εγκεφαλοπάθειας.[7,10]

Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας έπειτα από αμνιοπαρακέντηση σε δίδυμες κυήσεις.[11-18] Ωστόσο, δεν υπάρχουν στοιχεία στη βιβλιογραφία σχετικά με τον κίνδυνο της αμνιοπαρακέντησης στις δίδυμες κυήσεις που προέρχονται από τις μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART).

Ο σκοπός της μελέτης είναι να εξετάσει το κατά πόσο η επίπτωση της αμνιοπαρακέντησης είναι διαφορετική σε δίδυμες κυήσεις που προέρχονται από τις μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) συγκριτικά με δίδυμες κυήσεις αυτόματης σύλληψης (Sp).

Υλικό και μέθοδος

Η μελέτη έλαβε χώρα στο τμήμα Εμβρυομητρικής Ιατρικής της Α' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών στο Νοσοκομείο Αλεξάνδρα. Τον πληθυσμό της μελέτης αποτέλεσαν επίτοκες με διχοριονικές δίδυμες κυήσεις που προσήλθαν στην μονάδα εμβρυομητρικής ιατρικής για να υποβληθούν σε αμνιοπαρακέντηση στο χρονικό διάστημα 1993 - 2006. Ο πληθυσμός αυτός χωρίστηκε σε δίδυμες κυήσεις που προέρχονται από μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ART) και σε δίδυμες κυήσεις

αυτόματης σύλληψης (Sp). Οι ομάδες αυτές αποτέλεσαν την ομάδα μελέτης και την ομάδα ελέγχου, αντίστοιχα. Η ομάδα (ART) συμπεριλαμβάνει τις επίτοκες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) ή μικρογονιμοποίησης (ICSI).

Η μέθοδος σύλληψης, η ηλικία της επιτόκου κατά την αμνιοπαρακέντηση, η χοριονικότητα, ο καρυότυπος και η έκβαση της κύησης καταγράφτηκαν προοπτικά. Όλες οι επίτοκες ενημερώθηκαν για τον κίνδυνο αποβολής και πρόωρου τοκετού και τις πιθανές επιλογές διαχείρισης παθολογικού αποτελέσματος.

Σε όλες τις περιπτώσεις οι επίτοκες παρείχαν γραπτή συναίνεση πριν υποβληθούν στην αμνιοπαρακέντηση. Η Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Νοσοκομείου ενέκρινε την παρούσα μελέτη.

Τις αμνιοπαρακεντήσεις εκτέλεσαν 4 εξειδικευμένοι έμπειροι ιατροί (Α.Α, Σ.Ν, Ν.Π, Γ.Δ). Πριν από τη διενέργεια της αμνιοπαρακέντησης, οι επίτοκες υποβάλλονταν σε λεπτομερή υπερηχογραφικό έλεγχο με τη χρήση υπερηχογραφικής κεφαλής 3.75MHz για τον έλεγχο της εμβρυϊκής ανατομίας και τον καθορισμό της θέσης του πλακούντα και των μεμβρανών. Η χοριονικότητα αξιολογούνταν κατά τον υπερηχογραφικό έλεγχο του πρώτου τριμήνου βάση του σημείου λ.[19] Για τις ART κυήσεις η ηλικία κύησης υπολογίστηκε λαμβάνοντας υπόψη την ημερομηνία εμβρυομεταφοράς (+ 2 εβδομάδες) και επιβεβαιώθηκε κατά τον υπερηχογραφικό έλεγχο α' τριμήνου. Για τις Sp κυήσεις, η ηλικία κύησης υπολογίστηκε από την πρώτη ημέρα της τελευταίας εμμήνου ρήσεως ή βάσει του υπερηχογραφικού ελέγχου α' τριμήνου εάν υπήρχε απόκλιση μεγαλύτερη της μιας εβδομάδας. Η αμνιοπαρακέντηση διενεργήθηκε μεταξύ 16-19 εβδομάδων κύησης με την free hand τεχνική, χρησιμοποιώντας βελόνη 21-gauge. Για το δεύτερο σάκο χρησιμοποιούνταν δεύτερη βελόνη. Από κάθε σάκο λαμβάνονταν 20ml αμνιακού υγρού. Στις περιπτώσεις όπου ο πλακούντας ήταν πρόσθιος και δεν μπορούσε ο χειριστής να τον αποφύγει, η είσοδος γινόταν διαπλακουντιακά. Οι επίτοκες που είχαν υποβληθεί σε εκλεκτική μείωση, βιοψία τροφοβλάστη και εκείνες με εμβρυικές, ανατομικές ή χρωμοσωμιακές ανωμαλίες, ενδομήτριο θάνατο του ενός νεογνού κατά το χρόνο της αμνιοπαρακέντησης ή μονοχοριονικές δίδυμες κυήσεις, αποκλείστηκαν από την παρούσα μελέτη. Η έκβαση της κύησης καταγράφτηκε σύμφωνα με τα αρχεία του Νοσοκομείου και τις πληροφορίες που παρείχαν οι ασθενείς.

Η εμβρυϊκή απώλεια στη μελέτη ορίζεται ως ο τοκετός σε ηλικία κύησης μικρότερη των 24 εβδομάδων κύησης. Ο πρόωρος τοκετός κατηγοριοποιήθηκε σε τρεις ομάδες σύμφωνα με την ηλικία κύησης: 24+1- 28 εβδομάδες, 28+1- 32 εβδομάδες και 32+1- 37 εβδομάδες. Τέλος, αξιολογήθηκε η ανάγκη για νοσηλεία στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας Νεογνών (ΜΕΝ).

Πραγματοποιήθηκε περιγραφική ανάλυση και οι μεταβλητές ελέγχθηκαν για την κανονικότητα της κατανομής. Οι μεταβλητές εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση ενώ οι μεταβλητές με μη κανονική κατανομή (π.χ βάρος γέννησης) παρουσιάζονται με την διάμεσο τιμή (interquantile range). Οι συσχετίσεις μεταξύ διακριτών μεταβλητών διερευνήθηκαν μέσω των Chi-square και Fisher's exact tests. Οι συγκρίσεις των μέσων τιμών των συνεχών μεταβλητών μεταξύ της ομάδας μελέτης και της ομάδας εξέτασης πραγματοποιήθηκαν μέσω του Student's t-test για φυσιολογικά κατανεμημένες μεταβλητές, ενώ για τις μεταβλητές με μη κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε το Mann-Whitney test. Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα. Η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0.05. Η ανάλυση έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα STATA (version 6.0).

Αποτελέσματα

Από το 1993 έως το 2006, πραγματοποιήθηκαν 467 αμνιοπαρακεντήσεις σε διχοριονικές κυήσεις στην μονάδα Εμβρυομητρικής Ιατρικής. Σε 19 περιπτώσεις (8 στην ομάδα μελέτης και 11 στην ομάδα ελέγχου) τα στοιχεία δεν ήταν επαρκή και οι περιπτώσεις αυτές αποκλείστηκαν από την μελέτη. Η έκβαση της κύησης σε 458 κυήσεις είναι γνωστή. Αμνιο-

παρακέντηση πραγματοποιήθηκε σε 172 ART κυήσεις και σε 286 Sp κυήσεις. Οι γονείς αποφάσισαν τη διακοπή της εγκυμοσύνης σε 3 περιπτώσεις (μία στην ομάδα ART και δύο στην ομάδα Sp). Οι δύο περιπτώσεις αφορούσαν ομόζυγη β μεσογειακής αναιμία και στα 2 έμβρυα και σε μία περίπτωση ομόζυγη β μεσογειακή αναιμία στο ένα έμβρυο και σκελετική δυσπλασία στο άλλο έμβρυο. Σε 11 περιπτώσεις πραγματοποιήθηκε εκλεκτική μείωση έπειτα από τη διενέργεια της αμνιοπαρακέντησης. Τέσσερις στην ομάδα ART και επτά στην ομάδα Sp, [παθολογικός καρυότυπος (4), βλάβες του νωτιαίου σωλήνα (3) και β' μεσογειακή αναιμία (4)]. Όλες αυτές οι περιπτώσεις εξαιρέθηκαν της μελέτης. Συνολικά, αναλύθηκαν τα αποτελέσματα από τις υπόλοιπες 167 ART δίδυμες κυήσεις και τις 275 Sp δίδυμες κυήσεις. Οι δημογραφικές και κλινικές πληροφορίες του πληθυσμού παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Η αμνιοπαρακέντηση διενεργούνταν σε μέση ηλικία κύησης 17±2 και 17±5 εβδομάδες κύησης στην ομάδα μελέτης και στην ομάδα ελέγχου αντίστοιχα. Οι ενδείξεις του επεμβατικού ελέγχου παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

Επτά δίδυμες κυήσεις στην ομάδα ART (4.2%) απέβαλαν αυτόματα έπειτα από την αμνιοπαρακέντηση, σε σύγκριση με έντεκα (4%) στην ομάδα ελέγχου (p=NS). Η πλειοψηφία αυτών (5 στην ομάδα μελέτης και 8 στην ομάδα ελέγχου) έλαβε χώρα στις πρώτες τέσσερις εβδομάδες έπειτα από την αμνιοπαρακέντηση και πιθανά σχετίζονται με την επέμβαση (σχετιζόμενος κίνδυνος επέμβασης: 3% και 2.9% στην ομάδα μελέτης και στην ομάδα ελέγχου αντίστοιχα) (p=NS). Καμία από τις παραπάνω περιπτώσεις δεν αποκάλυψε παθολογικό καρυότυπο. Ο μέσος χρόνος μεταξύ αμνιοπαρακέντησης και αποβολής ήταν σημαντικά διαφορετικός, με μέση τιμή 6.2 έναντι 20.1 ημέρες για την ομάδα ART και την ομάδα Sp αντίστοιχα (p<0.001). Σε όλες τις περιπτώσεις η εμβρυϊκή απώλεια αναφέρεται στην απώλεια και των δύο εμβρύων. Δεν υπήρξε καταγραφή με απώλεια του ενός μόνο εμβρύου έως τις 24 εβδομάδες σε κάποια από τις δύο ομάδες.

Το ποσοστό του πρόωρου τοκετού πριν τις 37 εβδομάδες κύησης ήταν σημαντικά υψηλότερο στην ομάδα ART (64.1%) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (49.5%), (p=0.003). Οι πληροφορίες του τοκετού παρουσιάζονται στον πίνακα 3. Το μέσο βάρος γέννησης για την ομάδα ART ήταν 2350 gr (interqualtile range 1925-2650 gr) ενώ στην ομάδα ελέγχου ήταν 2600 gr (interquantile range 2200-2900 gr), (Mann- Whitney test p<0.001).

Η εμβρυϊκή και νεογνική έκβαση συνοψίζεται στον πίνακα 4. Στην ομάδα ART το ποσοστό ενδομήτριων θανάτων (IUD) ήταν 5.4% ενώ στην Sp ήταν 5.1%. Το ποσοστό των νεογνικών θανάτων ήταν 1.2% στην ομάδα ART και 2.5% στην ομάδα ελέγχου (Sp). Επιπλέον, τα νεογνά της ομάδας ART εμφάνισαν 3.35 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να νοσηλευ-

Πίνακας 1. *Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία του πληθυσμού της μελέτης*

Variable	ART (N=167)N (%)	Sp(N=275)N (%)	PX² test
Ηλικία (έτη), mean (SD)	36.6 (3.8)	36.3 (3.9)	0.429*
Πρωτοτόκες	117(70.0)	100 (35.6)	<0.001
Κάπνισμα	8(4.8)	12 (4.4)	0.834
Επίτοκες με επιπλοκές κύησης	61 (36.5)	89 (32.4)	0.370
PIH/PET	7 (4.2)	11 (4.0)	0.921
Σακχαρώδης διαβήτης	12 (7.2)	23 (8.4)	0.657
Προωρότητα	29 (17.4)	38 (13.8)	0.313
Κολπική αιμόρροια	13 (7.8)	17 (6.2)	0.516

** Student's t-test*

Πίνακας 2. *Ενδείξεις της αμνιοπαρακέντησης*

Ενδείξεις	**ART (n=167)N (%)**	**Sp(n=275)N (%)**
Εμβρυϊκός καρυότυπος	146 (87.4)	239 (86.9)
DNA ανάλυση για β-θαλασσαιμία	19 (11.4)	33 (12.0)
Συγγενείς λοιμώξεις	2 (1.2)	3 (1.1)

θούν στην μονάδα εντατικής θεραπείας σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Συζήτηση

Η ασφάλεια της αμνιοπαρακέντησης σε δίδυμες κυήσεις αποτελεί πληροφορία εξαιρετικής σημασίας για τους ασθενείς, ιδιαίτερα για τα ζευγάρια που η κύηση επιτεύχθηκε έπειτα από μια μακρά περίοδο υπογονιμότητας. Έως τώρα, δεν έχει πραγματοποιηθεί απευθείας σύγκριση του κινδύνου της γενετικής αμνιοπαρακέντησης σε δίδυμα που προέρχονται από τις μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής έναντι διδύμων που προέρχονται από αυτόματη σύλληψη. Η παρούσα μελέτη αποκαλύπτει ότι αν και οι δίδυμες κυήσεις υποβοηθούμενης αναπαραγωγής τείνουν να αποβάλλουν σε μικρότερη ηλικία κύησης, το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας έπειτα από αμνιοπαρακέντηση, δεν διαφέρει από αυτό των δίδυμων κυήσεων αυτόματης σύλληψης. Πολύτιμο εύρημα της μελέτης μας αποτελεί η σημαντική διαφορά στο ποσοστό του πρόωρου τοκετού. Μόνο το 35.9% της ομάδας μελέτης (ART) γέννησε έπειτα από τις 37 εβδομάδες κύησης έναντι του 50.5% της ομάδας ελέγχου (Sp). Η διαφορά αυτή οφείλεται κυρίως σε γεννήσεις που συνέβησαν μεταξύ 24+1- 32 εβδομάδες κύησης (18.5% στην ομάδα μελέτης σε σύγκριση με 5.8% στην ομάδα ελέγχου). Τα ποσοστά ενδομήτριων και νεογνικών θανάτων είναι συγκρίσιμα μεταξύ των δύο ομάδων, αλλά υπάρχει σημαντικά υψηλότερη ανάγκη για νοσηλεία στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας Νεογνών για τα ART δίδυμα (32,9% έναντι 9.8%). Το τελευταίο εύρημα σχετίζεται με το υψηλότερο ποσοστό πρόωρου τοκετού μεταξύ των 24+1- 32 εβδομάδων κύησης.

Το ποσοστό εμβρυϊκής απώλειας του κέντρου μας είναι συγκρίσιμο με αυτό που αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία. Ο κίνδυνος εμβρυϊκής απώλειας σε διαφορετικές μελέτες κυμαίνεται από 0 έως 12.76%, έως τις 24 εβδομάδες (πίνακας 5). Στη μελέτη μας ο κίνδυνος εμβρυϊκής απώλειας έως τις 24 εβδομάδες κύησης ήταν 4.2 και 4% στις ART και στις Sp κυήσεις αντίστοιχα. Ο σχετιζόμενος με την επέμβαση κίνδυνος (οι απώλειες 4 εβδομάδες έπειτα από την αμνιοπαρακέντηση) ήταν 3% και 2.9% αντίστοιχα.

Μολονότι έχει αναφερθεί χαμηλότερος κίνδυνος εμβρυϊκής απώλειας με τη χρήση της τεχνικής μιας βελόνης,26-27 στη μονάδα μας

Πίνακας 3. *Ηλικία κύησης κατά τον τοκετό στις ART και Sp δίδυμες κυήσεις*

Εβδομάδες κύησης	**ART δίδυμες κυήσεις(n=167)N(%)**	**Sp δίδυμες κυήσεις (n=275)N (%)**	**P X^2 test**
24+1 -28	7 (4.2)	4 (1.4)	0.112*
28+1 -32	24 (14.3)	12 (4.4)	<0.001
32+1 -37	76 (45.5)	120 (43.6)	0.701
>37	60 (35.9)	139 (50.5)	0.003

** Fisher's exact test*

Πίνακας 4. *Εμβρυϊκή και νεογνική έκβαση σε ART και Sp δίδυμες κυήσεις.*

	ART δίδυμα			SP δίδυμα				
	Ένα έμβρυο	**Δύο**	**Σύνολο N(%)**	**Ένα έμβρυο**	**Δύο**	**Σύνολο N(%)**	**RR(95% CI)***	**P**
IUD	7	1	9 (5.4)	8	3	14 (5.1)	1.06(0.47-2.39)	0.891
NND	2	0	2 (1.2)	5	1	7 (2.5)	0.47(0.10-2.15)	0.331
NICU	21	17	55 (32.9)	7	10	27 (9.8)	3.35(2.27-4.96)	<0.001

**σχετικός κίνδυνος (95% Confidence Interval)*
IUD: intrauterine death
NND: neonatal death
NICU: neonatal intensive care unit

χρησιμοποιήθηκε η τεχνική των δύο εισόδων σε όλες τις περιπτώσεις. Πιστεύουμε ότι το ποσοστό εμβρυικής απώλειας σχετίζεται κυρίως με τον τρόπο εισόδου (διαπλακουντιακά ή μή) παρά με τον αριθμό των εισόδων.

Σημαντικό ερώτημα αποτελεί το εάν για την αυξημένη προωρότητα ευθύνεται η αμνιοπαρακέντηση ή άλλες αιτίες (πχ. γενετικές ανωμαλίες). Είναι πιο πιθανό, ότι οι μέθοδοι υποβοηθούμενης αναπαραγωγής ευθύνονται για αυτό το αποτέλεσμα. Αριθμός μελετών έχει καταγράψει αυξημένο ποσοστό πρόωρου τοκετού σε δίδυμες κυήσεις που προέρχονται από τις μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής συγκριτικά με τις δίδυμες κυήσεις αυτόματης σύλληψης.[8,33,34]

Παρόμοια αποτελέσματα, με αυξημένο κίνδυνο πρόωρου τοκετού, έχουν παρατηρηθεί και στις μονήρεις κυήσεις που προέρχονται από τις μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.[7,10,35-40] Πλεονέκτημα της παρούσας μελέτης σε σχέση με άλλες μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας, αποτελεί η μελέτη ασθενών ενός μόνο κέντρου με παρόμοια μαιευτική φροντίδα.

Αρκετές θεωρίες έχουν προταθεί για την εξήγηση του αυξημένου ποσοστού πρόωρου τοκετού στις ART δίδυμες κυήσεις. Ο υποκείμενος μηχανισμός που σχετίζεται με το φαινόμενο αυτό παραμένει αδιευκρίνιστος και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Η προχωρημένη ηλικία των επιτόκων αυτών και ο χαμηλός τόκος, κοινά χαρακτηριστικά των ART ασθενών, αποτελούν παράγοντες κινδύνου προωρότητας.[40,43] Στην παρούσα μελέτη όμως δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στην ηλικία των επιτόκων στις 2 ομάδες. Η υπογονιμότητα, ιδιαίτερα όταν σχετίζεται με ανωμαλίες διάπλασης της μήτρας και ιστορικό πυελικής φλεγμονής, θεωρείται παράγοντας κινδύνου για τον πρόωρο τοκετό. Η θεωρία αυτή ενισχύεται και από την παρατήρηση ότι μόνο η γυναικεία, σε αντίθεση με την ανδρική υπογονιμότητα, έχει συσχετιστεί με υψηλότερο ποσοστό πρόωρων γεννήσεων.40 Έχει επίσης διατυπωθεί η ύπαρξη ανώμαλου ορμονικού περιβάλλοντος έπειτα από την πρόκληση ωοθηλακιορρηξίας στις ART κυήσεις.[44-45] Στην πραγματικότητα, υψηλότερα επίπεδα β-hCG έχουν αναφερθεί κατά τη διάρκεια του πρώτου μισού της κύησης στις ART επίτοκες. Τα υψηλά επίπεδα β-hCG σχετίζονται με αυξημένο ποσοστό επιπλοκών, που περιλαμβάνουν και τον πρόωρο τοκετό.[47] Επιπρόσθετα, στις ART κυήσεις έχει αναφερθεί αυξημένο ποσοστό πλακουντιακών ανωμαλιών καθώς και αυξημένα επίπεδα ενδομητρικών πρωτεϊνών, οι οποίες πιθανόν να ευθύνονται για την προωρότητα.48,49 Το υψηλότερο ποσοστό των επιπλοκών της κύησης όπως η κολπική αιμόρροια και η υπέρταση κύησης οδηγούν στο υψηλό ποσοστό ιατρογενών πρόωρων τοκετών, που έχουν παρατηρηθεί στις ART κυήσεις.[50-51] Παρόλα αυτά στη μελέτη μας, σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία, παρατηρήθηκαν παρόμοια ποσοστά επιπλοκών στις ART με τις Sp κυήσεις.[52-55] Ο τελευταίος μηχανισμός στον οποίο ίσως οφείλεται η πλειοψηφία των πρόωρων

Πίνακας 5. *Μελέτες της επίπτωσης της αμνιοπαρακέντησης.*

	n	Χρονική περίοδος	Ηλικία κύησης (εβδομάδες)	Αυτόματη αποβολή < 24 εβδ	Συνολική εμβρυική απώλεια
Elias et al.1980 [20]	20	1975-80	> 17	0	2.50
Bovicelli et al.1983 [11]	13		2nd trimester	7.69	
Palle et al. 1983 [12]	47	1973-79	2nd trimester	12.76	
Goldstein and Stills 1983 [21]	22	1978-82	2nd trimester	0	18.18
Redwine et al. 1984 [22]	34		2nd trimester	2.94	1.61
Librach et al. 1984 [14]	69	1973-84	16-17	8.69	26.08
Filkins et al. 1984 [13]	28	1976-82	2nd trimester	7.14	21.42
Tabsh et al. 1985 [15]	48	1977-83	2nd trimester	2.08	10.41
Pijpers et al. 1988 [16]	83	1980-85	16-20	1.20	6.62
Anderson et al. 1991 [17]	330	1971-91	2nd trimester	3.57	4.91
Pruggmayer et al. 1991 [23]	98	1982-89	15-20	6.1	10.71
Wapner et al 1993 [24]	71	1984-90	16-18	2.90	9.30
Ghidini et al. 1993 [18]	101	1987-92	14-20	1.98	3.50
Buscaglia et al.1995 [25]	55	1985-94	14-18	0	1.81
Van Vugt et al. 1995 2[6]	27			0	0
Sebire et al. 1996 [27]	176	1993-96	10-20	2.27	4
Kidd et al.1997 [5]	254	1980-91	2nd trimester	1.5	9.30
Jorgensen and Andolf 1998[28]	20	1990-95	11-14	5	
Reid et al. 1999 [29]	50	1989-95	12-27	2	
Yukobowich et al. 2001 [6]	476	1990-1997	17-18		2.73
Antsaklis et al. 2002 [30]	347	1977-2000	11-23	4.17	8.77
Toth-Pal et al. 2004 [31]	175		18-24	3.87	
Millaire et al. 2006 [32]	132	1999-2004	Mid-trimester	0	3.0
Our study, ART twins	167	1993-2006	16-19	4.2	
Our study, Sp twins	275	1993-2006	16-19	4	

τοκετών αποτελεί θεωρία της ασυμπτωματικής ενδομήτριας λοίμωξης.[56,57] Ο Kamiyama και συν υποστηρίζουν ότι εξήγηση για τη μειωμένη γονιμότητα των γυναικών που υποβάλλονται σε IVF αποτελούν τα επίμονα υψηλά επίπεδα βακτηριακής ενδοτοξίνης στο ενδομήτριο.[58] Το εύρημα αυτό υποδηλώνει μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ υποκλινικής ενδομήτριας λοίμωξης, αποτυχίας εμφύτευσης και προωρότητας. Παρόλα αυτά, δεν έχει αποδειχθεί ξεκάθαρα η συσχέτιση της ενδομήτριας λοίμωξης και της αυξημένης πιθανότητας πρόωρου τοκετού έπειτα από τις μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.[59-61]

Αξίζει να σημειωθεί ότι αν και το ποσοστό πρόωρου τοκετού ήταν σημαντικά αυξημένο στα ART δίδυμα, η θνησιμότητα ήταν παρόμοια με αυτή των Sp δίδυμων κυήσεων. Αυτό ίσως υποδηλώνει ότι τα πρόωρα νεογνά των δίδυμων κυήσεων έπειτα από τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, εμφανίζουν ευνοϊκότερη πρόγνωση συγκριτικά με άλλα πρόωρα δίδυμα νεογνά. Εάν αυτό το εύρημα επιβεβαιωθεί και σε μεγαλύτερης κλίμακας μελλοντικές μελέτες, μια καινούργια σημαντική ερώτηση σχετιζόμενη με τη θνητότητα,

θα πρέπει να απαντηθεί.
Οι δίδυμες κυήσεις ενέχουν υψηλότερο κίνδυνο ανευπλοειδίας. Η πιθανότητα το ένα από τα δύο έμβρυα να φέρει κάποια χρωμοσωμική ανωμαλία είναι υψηλότερη από ότι σε μονήρεις κυήσεις με συγκρίσιμη ηλικία της επιτόκου, αφού τα 2/3 των διδύμων κυήσεων είναι διζυγωτικά.[62] Τα αποτελέσματα μας αναδεικνύουν ότι η αμνιοπαρακέντηση σε ART και Sp δίδυμες κυήσεις είναι εξίσου ασφαλής. Οι ART δίδυμες κυήσεις βρίσκονται σε σημαντικά αυξημένο κίνδυνο πρόωρου τοκετού, ειδικότερα πριν τις 32 εβδομάδες κύησης. Συμπερασματικά, το μήνυμα της μελέτης είναι καθησυχαστικό προς τους ιατρούς και τους ασθενείς που εμπλέκονται σε μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Ο κίνδυνος εμβρυϊκής απώλειας των ART διδύμων που υποβάλλονται σε αμνιοπαρακέντηση δεν είναι υψηλότερος από τον κίνδυνο εμβρυϊκής απώλειας των Sp διδύμων. Σε κάθε περίπτωση όμως απαιτείται στενή παρακολούθηση αυτών των κυήσεων για την ανίχνευση των συμπτωμάτων του πρόωρου τοκετού, ώστε να ληφθούν έγκαιρα τα απαιτούμενα θεραπευτικά μέσα.

Second trimester amniocentesis in assisted conception versus spontaneously conceived twins

E. Anastasakis, G. Daskalakis, N. Papantoniou, S. Mesogitis, A. Antsaklis

First Department of Obstetrics and Gynecology, "Alexandra" Maternity Hospital, Athens University

Correspondence: Eleftherios Anastasakis, MD
14, Kountouriotou street,
152 35, Ano Vrilissia, Athens, Greece
Tel: +30 6944697762
Fax: +30 210 8054928
E-mail: loufty28@yahoo.gr

Summary
Objective: To compare the outcome of amniocentesis in twins conceived with assisted reproduction technology (ART) versus spontaneously conceived (Sp) twins.
Material and methods: Retrospective analysis of case records between 1993 and 2006 in a University-affiliated tertiary center for fetal medicine.
We assessed 167 ART twin pregnancies, which underwent amniocentesis compared with 275 Sp twin pregnancies, which also underwent amniocentesis. Comparison of the pregnancy loss rate and of the perinatal outcome between the two groups was performed.
Results: The fetal loss rate was similar between the two groups (4.2 vs 4% in the ART and sp twins, respectively), although the interval between amniocentesis to miscarriage was significantly shorter in the ART twins (6.2 and 20.1 days respectively). In all cases fetal loss refers to the loss of the entire pregnancy. The preterm delivery rate before 37 weeks was significantly higher in the ART group (64.1%), compared to controls (49.5%).
Conclusion: Amniocentesis in ART twins carries a similar fetal loss rate, as in Sp twins. However, ART twins have a significantly increased risk of preterm delivery especially before 32 week's gestation.

Key words: amniocentesis, assisted conception twins, pregnancy loss, prematurity

---

Βιβλιογραφία

1. Evans MI, Littmann L, St Louis L, Leblanc L, Addis J, Johnson MP, et al. Evolving patterns of iatrogenic multifetal pregnancy generation: implication for aggressiveness of infertility treatments. Am J Obstet Gynecol 1995;172:1750-1753.
2. Botting BJ, MacDonald-Davies D, McFarlane AJ. Recent trends in the incidence of multiple births and associated mortality. Arch Dis Child 1987;62:941-950.
3. Olivennes, F., Kadhel, P., Rufat, P. Franchin R, Fernandez H, Frydman R. Perinatal outcome of twin

pregnancies obtained after in vitro fertilization: comparison with twin pregnancies obtained spontaneously or after ovarian stimulation. Fertil Steril 1996;66:105-109.

4. Spencer K. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies in the first trimester using free ≤-hcg and PAPP-A combined with fetal nuchal translucency thickness. Prenat Diagn 2000;20: 91-95.
5. Kidd SA, Lancaster PA, Anderson JC, Boogert A, Fischer CC, Robertson R, et al. A cohort study of pregnancy outcome after amniocentesis in twin pregnancy. Paediatr Perinat Epidimiol 1997;11: 200-213.
6. Yukobowich E, Anteby EY, Cohen SM, Lavy Y, Granat M, Yagel S. Risk of fetal loss in twin pregnancies undergoing second trimester amniocentesis. Obstet Gynecol 2001;98:231-234.
7. Bergh T, Ericson A, Hillensjo T, Nygren KG, Wennerholm UB. Deliveries and children born after in vitro fertilisation in Sweeden 1982-95: a retrospective cohort study. Lancet 1999;354:1579-1585.
8. Daniel Y, Ochshorn Y, Fait G, Geva E, Bar-Am, A, Lessing JB. Analysis of 104 twin pregnancies conceived with assisted reproductive technologies and 193 spontaneously conceived twin pregnancies. Fertil Steril 2000;74:683-688.
9. Shieve LA, Meikle SF, Ferrie C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. N Engl J Med 2002;346:731-737.
10. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. Obstet Gynecol 2004;103: 551-563.
11. Bovicelli L, Michelacci L, Rizzo N, Orsini LF, Pilu G, Montacuti V, et al. Genetic amniocentesis in twin pregnancy. Prenat Diagn 1983;3:61-66.
12. Palle C, Andersen JW, Tabor A, Lauritsen JG, Bang J, Philips J. Increased risk of abortiob after genetic amniocentesis in twin pregnancies. Prenat Diagn 1983;3:83-89.
13. Filkins K, Rousso J, Brown T, Schmerler S, Searle B. Genetic amniocentesis in multiple gestations. Prenat Diagn 1984;4:223-226.
14. Librach CL, Doran TA, Benxie RJ, Jones JM. Genetic amniocentesis in seventy twin pregnancies. Am J Obstet Gynecol 1984;148:585-591.
15. Tabsh KMA, Grandall B, Lebherz TB, Howard J. Genetic amniocentesis in twin pregnancy. Obstet Gynecol 1985;65:843-845.
16. Pijpers L, Jahoda MGJ, Vosters RPL, Niermeijer MF, Sachs ES. Genetic amniocentesis in twin pregnancies. Br J Obstet Gynaecol 1988;95:323-326.
17. Anderson RL, Goldberg JD, Golbus MS. Prenatal diagnosis in multiple gestation: 20 years' experience with amniocentesis. Prenat Diagn 1991;11:263-270.
18. Ghidini A, Lynch L, Hicks C, Alvarez M, Lockwood CG. The risk of second-trimester amniocentesis in twin gestations: a case control study. Am J Obstet Gynecol 1993;169:1013-6.
19. Sepulveda W, Sebire N.J, Hughes K, Kalogeropoulos A, Nicolaides KH. Evolution of the lambda or twin/chorionic peak sign in dichorionic twin. Obstet Gynecol 1997;89:439-41.
20. Elias S, Gerbie AB, Simpson JL, Nadler HL, Sab-Bagha RE, Shkolnik A. Genetic amniocentesis in twin gestations. Am J Obstet Gynecol 1980;138:169-174.
21. Goldstein AI, Stills SM. Midtrimester amniocentesis in twin pregnancies. Obstet Gynecol 1983;62:659-661.
22. Redwine FO, Cruikshank DP, Brown J. Antenatal genetic studies in twin pregnancies. ActaGenet Med Gemellol 1984;33:39-41.
23. Pruggmayer M, Baumann P, Schutte H, Osmers R, Bartels I, Jovanovich V, et al. Incidence of abortion after genetic amniocentesis in twin gestations. Prenat Diagn 1991;11:637-640.
24. Wapner RJ, Johnson A, Davis G, Urban A, Morgan P, Jackson L. Prenatal diagnosis in twin gestations: a comparison between second-trimester amniocentesis and first-trimester chorionic villus sampling. Obstet Gynecol 1993;82:49-56.
25. Buscaglia M, Ghisoni L, Belloti M, Marconi AM, Zamperini P, Stripparo L, et al. Genetic amniocentesis in biamniotic twin pregnanciesby a single transabdominal insertion of the needle. Prenat Diagn 1995;15:17-19.
26. Van Vugt JM, Nieuwint A, van Geijn HP. Single-needle insertion: an alternative technique for early second-trimester genetic twin amniocentesis. Fetal Diagn Ther 1995;10:178-181.
27. Sebire NJ, Noble PL, Obido A, Malligianis P, Nicolaides KH. Single uterine entry for genetic amniocentesis in twin pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol 1996;7:26-31.
28. Jorgensen C, Andolf E. Amniocentesis before the 15th gestational wek in single and twin gestation - complications and quality of genetic analysis. Acta Obstet

Gynecol Scand 1998;77:151-154.
29. Reid KP, Gurrin LC, Dickinson Newnham JP, Philips JM. Pregnancy loss rates following second trimester genetic amniocentesis. Aust N Z J Obstet Gynecol 1999;39:281-285.
30. Antsaklis A, Souka AP, Daskalakis G, Kavalakis Y, Michalas S. Second-trimester amniocentesis vs chorionic villus sampling for prenatal diagnosis in multiple gestations. Ultrasound Obstet Gynecol 2002;20:476-481.
31. Toth-Pal E, Papp C, Beke A, Ban Z, Papp Z. Genetic amniocentesis in multiple pregnancy. Fetal Diagn Ther 2004;19:138-144.
32. Millaire M, Bujold E, Morency AM, Gautier RJ. Mid-trimester genetic amniocentesis in twin pregnancy and the risk of fetal loss. J Obstet Gynaecol Can 2006;28:512-518.
33. Tallo CP, Vohr B, Oh W, Rubin LP, Seifer DB, Haning RV Jr. Maternal and neonatal morbidity associated with in vitro fertilization. J Pediatr 1995;127:794-800.
34. Moise J, Laor A, Armon Y, Gur I, Gale R. The outcome of twin pregnancies after IVF. Hum Reprod 1998;13:1702-1705.
35. Beral V, Doyle P. MRC working party on children conceived by in vitro fertilisation: births in Great Britain resulting from assisted conception 1978-1987. BMJ 1990;300:1229-1233.
36. Friedler S, Mashiach S, Laufer N. Births in Israel resulting from in vitro fertilization/embryo transfer, 1982-1989. National registry of the Israeli association for fertility research. Hum Reprod 1992;7:1159-1163.
37. Gissler M, Malin Silverio M, Hemminki E. In vitro fertilization pregnancies and perinatal health in Finland 1991-1993. Hum Reprod 1995;10:1856-1861.
38. Tanbo T, Dale P, Lunde O, Moe N, Abyholm T. Obstetric outcome in sigleton pregnancies after assisted reproduction. Obstet Gynecol 1995;86:188-192.
39. Von During V, Maltau JM, Forsdahl F, Abyholm T, Kolvik R, Ertzeid G, et al. Pregnancy, births and infants after in vitro fertilization in Norway, 1988-1991. Tidsskr Nor Laegeforen 1995;115:2054-2060.
40. Wang YA, Sullivan EA, Black D, Dean J, Bryant J, Chapman M. Preterm birth and low birth weight after assisted reproductive technology-related pregnancy in Australia between 1996 and 2000. Fertil Steril 2005;83:1650-1658.
41. Cnattingius S, Forman MR, Berendes HW, Isotalo L. Delayed childbearing and risk of adverse perinatal outcome: a population based study. JAMA 1992;268:886-890.
42. Aldous MB, Edmonson B. Maternal age at first childbirth and risk of low birth weight and preterm delivery in Washington State. JAMA 1993;270:2574-2577.
43. Lee KS, Ferguson RM, Corpuz M, Gartner LM. Maternal age and the incidence of low birth weight at term: a population study. Am J Obstet Gynecol 1998;158:84-89.
44. McFaul PB, Patel N, Mills J. An audit of the obstetric outcome of 148 consecutive pregnancies from assisted conception: Implications for neonatal services. Br J Obstet Gyneaecol 1993;100:820-825.
45. Maman E, Lunenfeld E, Levy A, Vardi H, Potashnik G. Obstetric outcome of singleton pregnancies conceived by in vitro fertilization and ovulation induction compared with those conceived spontaneously. Fertil Steril 1998;70:240-245.
46. Wald NJ, White N, Morris JK, Huttly WJ, Canick JA. Serum markers for Down's syndrome in women who have had in vitro fertilisation: Implication for antenatal screening. Br J Obstet Gynaecol 1999;106:1304-1306.
47. Walton DL, Noren CT, Schoen EJ, Ray GT, Colby CJ. Second-trimester serum chorionic gonadotropin concentrations and complications and outcome of pregnancy. N Engl J Med 1999;341:2033-2038.
48. Jauniaux E, Englert Y, Vanesse M, Hiden M, Wilkin P. Pathologic features of placentas from singleton pregnancies obtained by in vitro fertilization and embryo transfer. Obstet Gynecol 1990;76:61-64.
49. Johnson MR, Abbas A, Norman-Taylor JQ, Riddle AF, Grudzinskas JG, Chard T, et al. Circulating placental protein 14: in the first trimester of spontaneous and IVF pregnancies. Hum Reprod 1993;8:323-326.
50. Doyle P, Beral V, Maconochie N. Preterm delivery, low birth weight and small-for-gestational weight in liveborn singleton babies resulting from in vitro fertilisation. Hum Reprod 1992;7:425-428.
51. Tan SL, Doyle P, Campbell S, Beral V, Rizk B, Brinsden P, et al. Obstetric outcome of in vitro fertilization pregnancies compared with normally conceived pregnancies. Am J Obstet Gynecol 1992;167:778-784.
52. Olivennes F, Rufat P, Andre B, Pourade A, Quiros MC, Frydman R. The increased risk of complication observed in singleton pregnancies resulting from in vitro fertilization (IVF) does not seem to be related to

the IVF method itself. Hum Reprod 1993;8:1297-1300.
53. FINVAT (French in Vitro National): Pregnancies and births resulting from in vitro fertilization: French national registry, analysis of data 1986 to 1990. Fertil Steril 1995;64:746-756.
54. Verlaenen H, Cammy H, Derde MP, Amy JJ: Singleton pregnancy after in vitro fertilization: Expectations and outcome. Obstet Gynecol 1995;86:906-910.
55. Rubinoff BE, Samueloff A, Ben-Haim M, Friedler S, Schenker JG, Lewin A. Is the obstetric outcome of in vitro fertilized singletons different from natural ones? A controlled study. Fertil Steril 1997;67:1077-1083.
56. Hitti J, Tarczy-Hornoch P, Murphy J, Hillier SL, Aura J, Eschenbach DA, et al. Amniotic fluid infection, cytokines, and adverse outcome among infants at 34 weeks' gestation or less. Obstet Gynecol 2001;98:1080-1088.
57. Shim SS, Romero R, Hong JS, Park CW, Jun JK, Kim BL, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. Am J Obstet Gynecol 2004;191:1339-1345.
58. Kamiyama S, Teruya Y, Nohara M, Kanazawa K. Impact of detection of bacterial endotoxin in menstrual effluent on the pregnancy rate in in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil Steril 2004;82:788 -792.
59. Iams JD. Endometrial endotoxin, assisted reproductive technology, and preterm birth. Fertil Steril 2004;82:793-794.
60. Weiss G. So what is the role of menstrual bacterial endotoxin? Fertil Steril 2004;82:795-796.
61. Romero R, Espinoza J, Mazor M. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after in vitro fertilization? Fertil Steril 2004;82:799-804.
62. Hunter AG, Cox DM. Counseling problems when twins are discovered at genetic amniocentesis. Clin Genet 1979;16:34-42.