



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

**Fakulta biomedicínského inženýrství
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

**Vrozené vývojové vady – možnosti laboratorního screeningu v 1. a 2.
trimestru těhotenství**

**Congenital malformations - laboratory screening options in the 1st and
2nd trimester of pregnancy**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: as. MUDr. Lenka Fialová, CSc.

Michaela Matějková

Kladno 2017

Z a d á n í b a k a l á ř s k é p r á c e

Student: **Michaela Matějková**
Obor: Zdravotní laborant
Téma: **Vrozené vývojové vady - možnosti laboratorního screeningu v 1. a 2. trimestru těhotenství**
Téma anglicky: Congenital malformations - laboratory screening options in the 1st and 2nd trimester of pregnancy

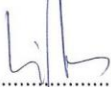
Zásady pro vypracování:

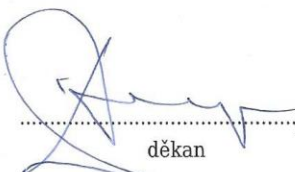
Předmětem bakalářské práce bude laboratorní screening vrozených vývojových vad (VVV). V teoretické části bakalářské práce bude podán přehled a charakteristika biochemických parametrů využívaných v biochemickém screeningu VVV v prvním a druhém trimestru těhotenství, zejména alfa-1-fetoproteinu, lidského choriového gonadotropinu, proteinu A spojeného s těhotenstvím (PAPP-A), estriolu a placentárního růstového faktoru. Budou uvedeny metody jejich stanovení. Zmíněny budou i další techniky neinvazivního prenatálního testování. V praktické části budou srovnány výsledky prenatálního screeningu v letech 2006-2015. Dále budou pojednány možnosti provádění prenatálního screeningu VVV v 1. a 2. trimestru těhotenství a vyhodnocení individuálního rizika VVV.

Seznam odborné literatury:

- [1] J. Loucký, D. Springer, I. Šubrt, Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství, Klinická biochemie a metabolismus, ed. 23, číslo 1, 2015, časopis České společnosti klinické biochemie, str.27-30, ISSN 1210-7921
- [2] Zima Tomáš, Laboratorní diagnostika, ed. 3., Galén, 2014, 1146 s., ISBN 978-80-7492-062-2
- [3] Maříková Taťána, Klinická genetika: praktické aplikace, ed. 1., Karolinum, 2013, 59 s., ISBN 978-80-246-2318-4
- [4] Sadler T.W., Landmanova lékařská embryologie, ed. 1., Grada, 2011, 414 s., ISBN 978-80-247-2640-3

Zadání platné do: 11.09.2018
Vedoucí: as. MUDr. Lenka Fialová, CSc.


.....
vedoucí katedry / pracoviště


.....
děkan

V Kladně dne 05.12.2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Vrozené vývojové vady – možnosti laboratorního screeningu v 1. a 2. trimestru těhotenství vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Praze dne 19.05.2017

.....
Michaela Matějková

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala své vedoucí práce as. MUDr. Lence Fialové, CSc. Za projevenou ochotu při vedení mé bakalářské práce, za její čas, který mi věnovala. Moji práci komentovala dobrými radami a měla vždy pochopení a byla trpělivá. Dále bych ráda poděkovala MUDr. Antonínu Šípkovi, CSc., který mi ochotně poskytl data do praktické části i pár rad.

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá možnostmi laboratorního screeningu vrozených vývojových vad. Cílem práce je podat přehled o tom, co je vrozená vada, o screeningu v prvním a druhém trimestru těhotenství a o biochemických markerech, které jsou považovány za indikátory možného těhotenství s vrozenou vývojovou vadou. Budou popsány další neinvazivní i invazivní metody prenatálního testování. Dále bude stručně popsán klinický obraz nejčastějších syndromů, které lze laboratorním screeninem zjistit, což jsou syndromy Downův, Edwardsův a Patauův. Budou zmíněny i základní principy genetické konzultace s klinickým genetikem v případě pozitivního screeningu. Na závěr teoretické části jsou uvedeny nejnovější směry – neinvazivní prenatální testování, u něhož lze očekávat, že v budoucnu nahradí invazivní techniky testování. Cílem práce v praktické části je přehled statistických informací o výskytu třech výše zmiňovaných syndromů, a to v letech 2006 až 2015 a bude uveden průchod gravidní ženy napříč zmiňovanými vyšetřeními.

Klíčová slova

Prenatální screening; vrozené vady; biochemické markery; Downův syndrom; laboratorní screening.

Abstract

The thesis deals with the possibilities of laboratory screening of congenital defects. The aim of the work is to give an overview of what a birth defect is, of screening in the first and second trimesters of pregnancy, and of biochemical markers that are considered as indicators of a pregnancy with a possible congenital defect. Other noninvasive and invasive methods of prenatal testing are listed. A brief description of the most common clinical syndromes, the Down's, Edwards' and Patau's syndromes, is provided. These syndromes can be detected by laboratory screening. Basic principles of genetic counseling with a clinical geneticist in case of positive screening will be mentioned. At the end of the theoretical part, the latest trends are presented, i.e. the noninvasive prenatal testing, which can be expected to replace invasive testing techniques in the future. The aim of the practical part is to provide an overview of statistical information on the occurrence of three of the above-mentioned syndromes, between 2006 and 2015, and a pregnant woman's passing through the mentioned examinations will be described.

Keywords

Prenatal screening; congenital defects; biochemical markerks; Down's syndrome; laboratory screening.

Obsah

1	Úvod	9
2	Současný stav	10
2.1	Vrozené vady	10
2.1.1	Dělení vrozených vad	10
2.1.2	Příčiny vrozených vad	11
2.1.3	Teratogeny	11
2.1.4	Hlášení vrozených vývojových vad	13
2.2	Preventivní opatření	14
2.3	Prenatální diagnostika	14
2.3.1	Ultrazvuk	15
2.3.2	Amniocentéza	17
2.3.3	Odběr choriových klků	18
2.3.4	Kordocentéza	19
2.3.5	Moderní metody molekulární cytogenetiky	19
2.4	Prenatální screening vrozených vývojových vad	20
2.5	Biochemické parametry screeningu vrozených vývojových vad	23
2.5.1	Alfa-fetoprotein	23
2.5.2	Lidský choriový gonadotropin – hCG	24
2.5.3	Pregnancy-associated plasma protein A – PAPP-A	27
2.5.4	Nekonjugovaný estriol – uE3	28
2.5.5	Placentární růstový faktor – PlGF	29
2.5.6	SP ₁ – Schwangerschafts Protein 1	29
2.5.7	Inhibin A	30
2.5.8	Nádorové využití fetálních antigenů	31

2.6	Metody stanovení biochemických parametrů prenatalního screeningu	31
2.7	Syndromy, jež lze zachytit biochemickým screeninem	34
2.7.1	Downův syndrom	34
2.7.2	Edwardsův syndrom	35
2.7.3	Patauův syndrom	35
2.7.4	Preeklampsie	35
2.8	Genetické poradenství v prenatalní diagnostice	36
2.9	Interrupce	37
2.10	Neinvazivní prenatalní testování	38
2.11	Požadavky na laboratoř, která provádí screening VVV v prvním či druhém trimestru těhotenství	38
3	Cíl práce	40
4	Metodika	41
4.1	Screening v prvním trimestru těhotenství	41
4.2	Screening v druhém trimestru těhotenství	42
5	Výsledky	48
6	Diskuze	61
7	Závěr	67
8	Seznam použitých zkratk	68
9	Seznam použité literatury	69
10	Seznam použitých obrázků	74
11	Seznam použitých tabulek	75

1 ÚVOD

Výběr tohoto tématu jsem zvolila hlavně pro jeho velký vliv na budoucnost a život každého jedince. Je to téma, které nikdy nepřestane být aktuální a jehož rozvoj může být předpokládán snad i navždy. Prenatální diagnostika jako taková je v dnešní době, především díky rozvoji genetiky, velmi diskutovaným tématem. To platí nejen pro rovinu vědeckou, ale i etickou, jelikož zásahy do procesu zplodění i zrození je v rozporu s vírou u většiny náboženství. Otázka etiky také vstupuje do právní roviny, zdali je nenarozené dítě člověk či ne.

Biochemický screening v prenatální diagnostice je velkou částí úspěchu pro záchyt vrozených vývojových vad. Dochází zde k neustálému rozvoji, jelikož techniky provedení byly zjištěny jako nejlepší možné, zejména díky jejich snadnému provedení, při kterém nedochází k ohrožování života matky i nenarozeného dítěte. Dále také díky jejich záchytu, který sice není stoprocentní, nicméně vhodnými kombinacemi různých těhotenských markerů a za pomoci ultrazvuku se ke stoprocentnímu záchytu lidstvo nezvratně blíží. Vývoj a objevování v této oblasti jsou pro lidstvo důležité, aby se předešlo těhotenstvím s vrozenou vývojovou vadou. Dnešní doba již hodně pokročila, a jestliže lidstvo bylo schopno vyvinout takové metody, které mohou vrozeným vadám předcházet, popř. je řešit, jistě není namístě tyto metody odmítat. Je třeba si co nejlépe promyslet, jestli při potvrzení vrozené vady jsou etické otázky vhodné, a jestli i přes otázku týkající se práva na život, není v některých situacích třeba říci ne. Na každém člověku v takové tíživé situaci je rozhodnout se. Za jeho rozhodnutí by se nikdy neměl nikdo stydět, považovat své jednání jako slabé apod. Vrozená vývojová vada je velké břímě pro postiženého člověka a hlavně pro jeho rodinu, která mu musí věnovat čas a péči. Je tedy bezesporu jasné, že tento směr ve zdravotnictví má budoucnost, a to nemalou. Rozvoj stanovování biochemických markerů z krve matky můžeme předpokládat i přes trend rozvoje genetických, cytogenetických i molekulárně genetických a v některých případech i neinvazivních vyšetření, která se budou rozvíjet též velmi rychle. Důvodem k zachování tohoto screeningu by mohla být jeho nižší cena, rychlost i snadnější provedení oproti genetickým testům a také menší stres pro matky. Dále na provedení screeningu biochemických markerů není třeba vysoce specializovaných a drahých genetických laboratoří se speciálně školeným personálem, ale je možné ho provádět v biochemických laboratořích, kterých je dnes v ČR dostatek.

2 SOUČASNÝ STAV

2.1 Vrozené vady

Vrozené (kongenitální) vady, jinak také malformace či anomálie jsou poruchy odlišující vývoj jedince od normálního vývoje. Rozeznáváme vady strukturní (morfologické), funkční (podmíněny menší strukturální vadou), behaviorální a metabolické. Celkově se udává, že 4–6 % dětí trpí velkými vrozenými vadami, z nichž polovina je diagnostikována prenatalně nebo v období krátce po narození. Druhá polovina je diagnostikována zhruba do pěti let věku. V jedné pětině jsou příčinou smrti dítěte. Dále je uváděno, že 2,8 % embryí nepřežije 10. až 13. týden těhotenství, z nichž 45–70 % bude mít nějakou chromozomovou aberaci [1], [2]. Jelikož podle perinatální mortality a morbidity se sleduje kvalita zdravotní péče, která je důležitá jak pro každý stát, tak pro Světovou zdravotnickou organizaci, je snaha zajistit dostupnou kvalitní péči o reprodukční zdraví a prenatalní i perinatální období. Dále je snaha snižovat těhotenské ztráty [3].

2.1.1 Dělení vrozených vad

Ve vrozených vadách rozlišujeme anomálie a malformace. Anomálie jsou drobné vady, vyskytující se až u 15 % novorozenců. Tyto vady nijak neohrožují na životě, v některých případech ovšem mohou snižovat jeho kvalitu. Často však jejich výskyt může být spojen s výskytem malformací – velkých vývojových vad. U jedné malé vady se udává riziko velké až 3 %, u dvou je to až 10 % a u tří a více už potom 20 % pravděpodobnost. Tyto malé vady nás proto mohou dovést k diagnostice skrytých velkých vad. Nejčastějšími malými vadami, které naznačují skrytou velkou vadu, bývají vady ucha [1].

Vrozené vývojové vady (VVV) dále dělíme dle mechanismu vzniku na disrupce, deformace, malformace a dysplasie. Deformace vznikají, pokud na plod je kladena mechanická síla, která působí delší dobu [1]. Disrupce jsou způsobeny destrukčními procesy, které zasáhly do normálního vývoje a nejsou tedy dědičné, ale vznik a vývoj destrukčního procesu dědičný být může. Malformace je odchylka od normálního vývoje a vznikla v samém počátku a dysplasie je porušené uspořádání buněk, které tvoří určitou tkáň či orgán [5].

Další dělení VVV je dle komplexnosti a četnosti, a to na izolované vady, asociace, sekvence a syndromy. Izolované vady jsou vady, jež nesouvisí s jinými vadami. Asociace jsou VVV, které vznikají společně s jinými určitými VVV a vznikají tak typické kombinace [4]. „*Sekvence jsou mnohočetné vady, které vznikají jako následek patologické kaskády dějů, zapříčiněné primárním patologickým zásahem.*“ [4] Syndrom je soubor fenotypových znaků, které souvisí s určitou diagnózou [4].

2.1.2 Příčiny vrozených vad

Příčiny vrozených vad jsou známé jen ve 40–60 %. Největší vliv má kombinace zevních a genetických faktorů neboli multifaktoriální dědičnost, dále mutace genů a chromozomové abnormality, poté faktory zevního prostředí a nakonec dvojčata [1]. Poškození jedince začíná na úrovni jedné buňky, a rozvíjí se ve tkáních i orgánech [5]. Obor, který se zabývá příčinami, mechanismy i vzorci těchto vrozených anomálií se nazývá populační teratologie [3].

Uvádí se, že v dnešní době je desetina vrozených vad způsobena ovlivnitelnými faktory, kam patří hlavně konzumace alkoholu, kouření, infekční onemocnění matky, málo vitamínů a stopových prvků, především kyseliny listové a v neposlední řadě onemocnění matky, která jsou chronická a jsou spojena s užíváním léků, které pro těhotenství znamenají ohrožení [5]. Zbylé faktory pak označujeme za neovlivnitelné [3].

VVV vznikají v době, kdy dochází k formování sktruktur – velká část vzniká mezi 3. a 8. týdnem gestace [6].

2.1.3 Teratogeny

Teratogeny jsou zevní faktory, které působí na matku během těhotenství a v roce 1941 byla prokázána jejich souvislost s vrozenými vadami. Mohou být přímou příčinou VVV anebo zvyšovat pravděpodobnost jejich vzniku. Vztahem mezi teratogenem a vrozenou vývojovou vadou se zabývá obor zvaný základy teratologie. Byly odvozeny jako obecné zákonitosti. První poznatek je o důležitosti mateřského genomu, genotypu zárodku

a o způsobu genetické interakce s okolím. Druhým poznatkem je fakt, že teratogeny působí v každém vývojovém stadiu v jiné míře. Z tohoto hlediska je embryo nejvíce ohroženo v období embryogeneze. Další poznatek mluví o míře abnormálního vývoje. Ta je závislá na množství a době působení teratogenu [1]. *„Dále teratogeny ovlivňují základní mechanismy vývoje, a narušují tak proces embryogeneze. Působení teratogenů může zahrnovat inhibici specifických biochemických nebo molekulárních pochodů a projevuje se změnami rozsahu proliferace buněk, apoptosy, migrace buněk a jejich integrace. Mezi projevy abnormálního vývoje patří odumření plodu, malformace, růstová retardace a funkční poruchy.“* [1, str. 129]

Důležité je zdůraznit, že existují faktory, které ovlivňují míru působení teratogenů. Patří sem faktor dávky, kdy malé dávky nemusí vůbec působit VVV nebo může vzniknout menší poškození. Následně faktor času, kdy celkově nejcitlivější období je první trimestr, dále hovoříme o tzv. kritické periodě, což je období, ve kterém dochází k vývinu určitého orgánu a tento orgán je citlivý na vliv určitých teratogenů. A faktor genetické výbavy a druhu, jenž je postaven na tom, že každý organismus jako geneticky unikátní jedinec je citlivý na jiný teratogen a v jiné míře [7].

Mezi teratogeny se řadí například infekční agens. Mezi rizikové pak například zarděnky, vůči kterým je dnes imunních okolo 85 % žen, a to díky vakcinaci. V této době považujeme za hlavní hrozbu cytomegalovirus, ten je často u dospělých žen latentní. Pro plod jsou ovšem následky devastující. Dále bývají často diskutovány onemocnění virem Herpes simplex, varicelou, HIV, toxoplasmosou, syfilis apod. Teratogenní je i samotná hypertemie [1].

Dále sem řadíme radiaci. Ionizující záření (RTG, gama záření) je pro vývoj velmi nebezpečné, neboť zabíjí buňky v proliferaci. Nebezpečná je i radiace po jaderné explozi. Do této skupiny řadíme i vysokou teplotu či mechanické teratogeny [1], [7].

Chemické látky a léky jsou v dnešní době velmi diskutovaným teratogenem. Jako teratogenní byla prokázána například látka zvaná thalidomid. Užíval se jako hypnotikum a antiemetikum. Jako další bývají často uváděny například cytostatika, některá antibiotika – tetracyklin, antiepileptika – fenytoin, diazepam, heparin, warfarin nebo aspirin. Co se týče návykových látek, teratogenní vliv byl prokázán u kokainu, alkoholu,

kouření apod. Mimo léčivých přípravků a návykových látek do této skupiny patří i látky z průmyslu a zemědělství jako jsou těžké kovy, organická rozpouštědla, polychlorované bifenyly aj. [1], [7].

Byl dokázán i teratogenní vliv hormonů. Týká se to především synteticky vyrobených, jako je například diethylstilbestrol androgen, který byl vyráběn pro podporu těhotenství a jako prevence potratů. Později se však ukázalo, že u ženských plodů dochází k maskulinizaci zevního genitálu. V současné době se pozornost obrací i k estrogenům ze zevního prostředí nebo kortisonu [1].

Dalším takovým vlivem je i onemocnění matky jako je diabetes mellitus nebo fenylketonurie, nutriční deficiencie, obesita a hypoxie [7].

Všechny uvedené teratogeny souvisí pouze s matkou. Mezi paternální příčiny rizika patří například vystavení chemickým látkám, fyzikálním faktorům, kouření i alkohol [1].

2.1.4 Hlášení vrozených vývojových vad

V České republice je od 1. 1. 1964 zavedeno hlášení vrozených vad u dětí, které se narodily živé, mrtvé anebo zemřely na oddělení novorozenců. O rok později se tato hlášení začala dělit do dvou skupin. Jednu skupinu tvoří děti, které se narodily mrtvé nebo zemřely do 7 dnů a ve druhé skupině byly děti s VVV, které prvních 7 dnů života přežily. Za zakladatele neoficiálních registrací VVV považujeme MUDr. Jiřího Kučeru CSc., který působil v Ústavu pro péči o matku a dítě, a o shromažďování těchto informací se pokoušel už od konce padesátých let. V současné době se hlásí VVV dle 10. revize Mezinárodní klasifikace nemocí. Ta říká, že jsou shromažďovány informace o vrozených vadách, deformacích a chromozomálních abnormalitách, které se objevily u plodu při prenatální diagnostice, u potratů, které proběhly samovolně u plodů s hmotností nad 500 gramů, u dětí mrtvě narozených, u dětí, které dovršily 15 let věku. Tyto informace spravuje Národní zdravotnický informační systém pod Ústavem zdravotnických informací a statistiky České republiky [5].

2.2 Preventivní opatření

Některým rizikům vzniku vrozených vad se dá předejít. Prevence je důležitá už v období před početím [1]. Velkou váhu má informovanost matek o riziku VVV a jejich příčinách a možných preventivních opatřeních. Hlavním klíčem k prevenci je plánované rodičovství a stejně důležitý je i věk jak matky, tak otce [5]. Dále sem patří jodování soli a vody, užívání kyseliny listové, zdravá výživa s dostatečným množstvím vitaminů i stopových prvků, abstinence alkoholu, drog, aktivního i pasivního kouření. Velmi důležitou roli hraje i lékař, který ženě předepisuje léky. Měl by být obezřetný i při indikování medikace ženám, které jsou v reprodukčním věku a možné těhotenství je tedy pravděpodobné [1]. Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, hraje zde významnou roli i chronické onemocnění ženy a jejich kompenzace, zde se mluví o prekoncepční a postkoncepční péči např. při epilepsii, diabetu mellitu, poruchách štítné žlázy, fenylketonurii. Důležitá je kooperace mezi obory – gynekologií, porodnictvím, lékařskou genetikou, interní medicínou, hygienou a epidemiologií, veřejným zdravotnictvím apod. [5].

2.3 Prenatální diagnostika

Prenatální diagnostika vyžaduje mezioborovou kooperaci týkající se porodnictví, ultrazvukové diagnostiky i lékařské genetiky. Vzhledem k tomu, že integrace takových oborů je nelehká, k provádění prenatální diagnostiky se používají multidisciplinární centra. Hlavním úkolem prenatální diagnostiky je objevit graviditu, kdy ve vývoji fetu je nalezena odchylka. Dále pak poskytnout informace párům, kterým bylo u plodu zjištěno zvýšené riziko VVV a dát jim možnost volby ohledně dalších kroků, podporovat rodiče v tíživé situaci, hlavně u vysokých rizik. Prenatální diagnostika také pomáhá párům, kterým hrozí v případě gravidity vysoké riziko dítěte s VVV, jelikož díky metodám, které prenatální diagnostika nabízí, lze zjistit VVV ještě před narozením dítěte. Matkám, které mají plod s potvrzenou VVV, pomáhají v oblasti vedení těhotenství, porodu i postnatální péče. A v neposlední řadě také v některých případech zavést prenatální léčbu, která je možná pouze v malém procentu případů [5].

Pro včasné zjišťování vrozených vad i těhotenských komplikací používáme prenatální diagnostiku. Díky různým metodám je možné pozorovat průběh těhotenství. Mezi tyto

metody řadíme aminocentézu, kordocentézu, ultrazvukové vyšetření, vyšetření krevního séra matky a odběr choriových klků. Tato vyšetření jsou dělena na invazivní a neinvazivní techniky. V případě normálního vývoje těhotenství se u matek provádí pouze vyšetření neinvazivní, tedy vyšetření séra a ultrazvukové vyšetření. Amniocentéza, kordocentéza a odběr choriových klků jsou metody, k jejichž užití dojde v případě rizikového těhotenství, genetických predispozic vývojových vad apod., jelikož jsou řazeny mezi metody invazivní. Při invazivním vyšetření se odebírají vzorky pro cytogenetické nebo molekulárně genetické vyšetření, kdy je snaha o kultivaci buněk a získání karyotypu plodu [1], [8]. Vyšetření získaných buněk se provádí nejčastěji metodou FISH (fluorescenční in situ hybridizace) nebo PCR (polymerázová řetězová reakce). Všeobecně platí, že prováděné invazivní vyšetření musí mít rovné nebo vyšší riziko postižení fetu, než je riziko potratu, které při tomto vyšetření hrozí [5].

Mezi indikace, které vedou k invazivní prenatalní diagnostice řadíme tyto případy: pozitivní výsledek při těhotenském screeningu nebo abnormální nález na ultrazvuku, onemocnění matky, které může ovlivnit zdraví plodu/vystavení klastogenním účinkům v době těhotenství, věk matky nad 35 let (tato hranice je stanovena proto, že v tomto věku matku je zhruba stejné riziko samovolného potratu souvisejícího s vyšetřením, jako vznik chromozomální aberace u plodu), u otce nad 45 let, riziková rodina (týkající se výskytu vývojové vady/dědičné choroby v rodině – u takového onemocnění, které lze vyloučit nebo potvrdit prenatalní diagnostikou a u X vázaných onemocnění, předchozí těhotenství s VVV, strukturální chromozomální vada u některého z rodičů). Invazivní prenatalní vyšetření není povinné. Povinností lékaře je však ženě tuto možnost nabídnout a vysvětlit všechny přínosy a rizika. V případě, že se žena rozhodne screening podstoupit, musí podepsat pozitivní revers. V opačném případě pak revers negativní, kde žena toto vyšetření odmítá [5], [8]. Také by mělo být bráno v potaz, pokud matka v případě potvrzení VVV nesouhlasí s řešením (ve většině případů ukončením těhotenství). V takovém případě nemá cenu, aby byla zatěžována diagnostickými testy, když s jejich výsledkem není možné pracovat [9].

2.3.1 Ultrazvuk

Ultrazvuk je běžně používanou technikou screeningu. Jeho hlavní výhodou je jeho bezpečnost. Při ultrazvukovém vyšetření se vysokofrekvenční ultrazvukové vlny odrážejí

od tkání, čímž vytváří jejich obraz. Jsou rozlišovány dva postupy – transabdominální a transvaginální, přičemž transvaginální zajišťuje vyšší rozlišení. Díky pokroku se ultrazvukem stanovuje průtok krve velkými cévami, tekutiny v průdušnici, průduškách a pohyb chlopní srdce plodu [1].

V České republice může těhotná žena absolvovat první vyšetření hned na začátku těhotenství v 6. týdnu, kdy se jím prokazuje těhotenství. Zde mohou být diagnostikovány vícečetná těhotenství [1].

Zjištění gestačního stáří se provádí mezi 12.–14. týdnem těhotenství, poté v 18.–20. týdnu, kdy lékař určí množství plodové vody, uložení placenty, počet plodů, vitalitu, biometrii, hodnotí nepřímé známky vrozených vad plodu a v týdnu 30.–32., kdy se opět kontroluje růst plodu, uložení placenty i množství plodové vody. Ultrazvukovým vyšetřením se tedy sleduje celkový průběh těhotenství – stáří a růst plodu, zjištění, zda plod netrpí vrozenou vadou, stav děložní tekutiny, umístění placenty a proudění imbilikální krve, případně diagnostika mnohočetného těhotenství [1].

Pro určení stáří plodu se užívá určování temenkostrční délky (CRL) (11+0 až 13+6 týdnů těhotenství). [10] Poté je použito více měření, jako je délka femuru, obvod břicha nebo biparietální rozměr lebky [1].

Ultrazvukovým vyšetřením mohou být detekovány vady jako je defekt nervové trubice, anencefalie, spina bifida, defekty břišní stěny, končetinové vady, srdeční malformace i obličejové defekty. Z tohoto důvodu musí být sledována hodnota nuchální translucence, což může provádět pouze školený sonografista, který obdržel certifikát od Fetal Medicine Foundation v Londýně. Tento certifikát je nutné obnovovat. Pro odhalení Downova syndromu se sledují ještě tyto parametry: nosní kůstka, trikuspidální regurgitace, průtok ductus venosus aj., přičemž vyšetřující sonografista může užít pouze těch markerů, na něž má licenci [1, 10].

Mezi vady, které se dají zjistit při ultrazvukovém vyšetření okolo 20. týdne těhotenství, patří rozštěpové vady obličeje a stěny břišní, vrozené vady srdce a urogenitální soustavy, defekty neurální trubice, končetin i jiné strukturní vrozené vady [5].

2.3.2 Amniocentéza

Amniocentéza je invazivní vyšetření, při kterém je matce odebírána amniotická tekutina o objemu 20-30 ml skrz břišní stěnu z amniotické dutiny pomocí spinální jehly. Celý odběr probíhá pod ultrazvukovým dohledem. Toto vyšetření je možno provádět až od 16. do 18. týdne gravidity, jelikož odběr potřebného objemu do 16. týdne by byl nebezpečný v důsledku nízkého množství plodové vody, kdy hrozí poškození plodu. Je nutné před vyšetřením zjistit uložení placenty, množství amniotické tekutiny, provést základní biometrii plodu, diagnostikovat děložní myomy a najít polohu pupečníku a střevní kličky, kterým je nutno se vyhnout. [1], [11].

Odběrům prováděným mezi 10.–14. týdnem těhotenství se říká časná amniocentéza. Uváděné riziko abortu je v hodnotách od 0,5 % až do 1 % [11], [5].

Z amniotické tekutiny se dříve stanovoval alfa-fetoprotein (AFP) a acetylcholinesterasa. Dnes ale probíhá pouze kultivace buněk, které byly odloučeny do plodové vody. Díky těmto buňkám je možné stanovit karyotyp. Kultivace probíhá 8–14 dní na buněčné kultuře s mitogeny. Jako nejlepší médium je uváděno Changovo, skládající se ze základních složek kultivačních médií, a navíc z inzulínu, trijodtyroninu, glukagonu, hydroxykortizonu, testosteronu, estradiolu a progesteronu. Jako další velmi vhodné médium je uváděno GPM3E obsahující 0,5 % růstově promočních proteinů. Tento kultivační produkt může být pozorován ve světelném mikroskopu, kde mohou být viděny translokace, zlomy, trisomie i monosomie chromozomů. Kultivaci je možno uskutečnit v kultivačních nádobkách s otevřeným nebo uzavřeným systémem. Po barvení speciální směsí Giemsa a trypsinisace získáváme proužkování chromozomů, které je možné dále hodnotit. Pro sekvenaci lidského genomu ovšem můžeme použít i senzitivnější metody jako je PCR nebo genotypizace. Dnes je možné na toto stanovení použít metodu QF-PCR (kvantitativní fluorescenční PCR) [1], [11], [12].

Buňky, které se do placenty odloučily, jsou z velké části z pokožky plodu. Jedná se tedy o jednovrstevný kubický epitel. Mezi další přítomné buňky se řadí fibroelastoidní buňky mezodermálního původu a buňky z ektodermu amnia. Mohou se zde vyskytovat i buňky z urogenitálního vývodu, dutiny ústní, jícnu, respiračního traktu, nosohltanu,

průdušnice i průdušek. Odhaduje se, že v 1 ml amniové tekutiny se nalézá pouze 10 buněk schopných formovat kolonie [11].

Pokud se ve vzorku nalézají buňky, které rychle vyrostly, zřejmě jde o fetus s rozštěpovými vadami centrální nervové soustavy (CNS). Při diagnostice je možné narazit na buňky fetálního stresu, které značí fetus s intrauterinní růstovou retardací (IUGR) či abortus imminens [11].

Při odběru plodové vody hrozí její kontaminace mikroby, plísněmi, kvasinkami i kontaminace sekundární při dlouhodobé kultivaci. V případě příměsi velkého množství krve je výsledek ohrožen, jelikož růstová aktivita fetálních buněk je krví utlumena. Dále je důležité dodržet stabilní kultivační teplotu i pH [11].

2.3.3 Odběr choriových klků

Odběr choriových klků (CVS) je invazivní metoda vyšetření prováděná již mezi 11. a 13. týdnem těhotenství. Základem je odběr buněk z placenty z choriové tkáně. To probíhá pomocí jehly, která je zavedena transabdominálně nebo transvaginálně a vše je pod dohledem ultrazvuku. Z těchto buněk se pomocí trypsinisace izolují mezenchymové buňky stromatu klků. Ty jsou dále kultivovány po dobu 2–3 dní. Kratší doba kultivace je oproti aminocentéze způsobena přítomností většího množství buněk. Ideálně by mělo být odebráno 10–20 mg klků. Při menším množství než 10 mg klků hrozí neúspěšná diagnostika. Provádět toto vyšetření je možné od 10. týdne těhotenství [1], [11].

V nynější době je možné se stále častěji setkat s metodou QF-PCR, která dokáže rychle zjistit nejpočetnější chromozomové aberace a to z důvodu, že buňky plodu nemusí být kultivovány. Vyšetření pak trvá 12–26 hodin, nejvýše 48 hodin a na statim je možné výsledek získat již za 5 hodin. Mimo trisomie touto metodou mohou být stanoveny i aneuploidie chromozomu X a Y, triploidie, a zjištěno pohlaví plodu. Další možné využití je k průkazům otcovství či dizygosity dvojčat [12].

Riziko abortu dosahuje stejných hodnot jako u aminocentézy, a to 0,5–1 % a je úspěšné u více jak 99 % [5]. Některé zdroje uvádí, že CVS může být příčinou vzniku vrozených vývojových vad [1].

Možný je i kombinovaný odběr choriových klků s aminocentézou, a to z jednoho vpichu transplacentárně. Ke kombinovanému odběru může dojít např. kvůli nejasnému výsledku po CVS nebo AMC, vrozeným vadám vázaným na chromozom X nebo opožděnému výsledku biochemického screeningu. Provádí se ve druhém nebo třetím trimestru těhotenství [11].

Potřebným kultivačním médiem je AMNIOMAX, který se postupně nahrazuje GPM3E, u kterého dochází k postupnému snižování obsahu telecího séra, které je přítomno [11].

2.3.4 Kordocentéza

Kordocentéza je také invazivní metoda, prováděná od 18. týdne gestace. V porovnání s ostatními metodami se tato metoda provádí pozdě, její výsledky jsou však známy za dva až tři dny. Jde o přímý odběr krve plodu z pupečníku pomocí preheparinizované jehly a výsledkem je karyotyp z lymfocytů fetální krve. Riziko abortu je do 1 % [11].

2.3.5 Moderní metody molekulární cytogenetiky

Dnešní doba podporuje rozvoj těchto metod, hlavně z hlediska jejich citlivosti. Patří sem metody microarray, které jsou používány při nálezů na ultrazvuku (UZ). Dále metody FISH, které mohou sloužit k rozeznání strukturální aberace nebo mozaiky. Tato metoda je relativně levná, ale má vysokou chybovost, navíc nejsme schopni zkontrolovat každý chromozom. Dále molekulárně genetické vyšetření na monogenní onemocnění – například Smithův-Lemliho-Opitzův syndrom a metody NGS (sekvenování nové generace), které v dnešní době zažívají rozvoj [13]. Kvantitativní fluorescenční PCR je vyšetření, které se stejně jako metoda FISH nezabývá celým karyotypem a do 24 hodin je umožněno zjistit změny počtu chromozomů vyskytující se nejčastěji – a to pro chromozom 13, 18, 21, X, Y. Jako přednost tohoto vyšetření je uváděna nízká falešná pozitivita i negativita a rychlost, díky níž má pacientka více času a prostoru na rozhodnutí v případě pozitivního nálezů [14].

2.4 Prenatální screening vrozeých vývojových vad

Screening VVV obecně by měl rozeznat těhotenství, u kterého je zvýšené riziko výskytu vývojové vady. Neurčuje, zda je plod postižen, ale určuje pouze zvýšené riziko. Takový test by měl být snadný, i co se týče provedení, měl by mít vysokou specifitu (co nejvíce těhotenství bez vady vyhodnotit jako negativní) i senzitivitu (najít co nejvíce VVV), co nejvyšší prediktivní hodnotu (žádná falešná pozitivita) a co nejmenší negativní prediktivní hodnotu (žádná falešná negativita). Ideál takového testu je všechny tyto podmínky mít v hodnotě 100 %. Takový test však neexistuje a snaha je se mu co nejvíce přiblížit. Dále by screening měl být ekonomicky dostupný pro každého a nesmí zatěžovat ani matku ani plod. Existují různé screeningové programy. Stále ale není jeden test schopný odhalit všechna onemocnění a vrozeé vady, proto se používají různé navazující screeningové testy. Sem se řadí screening chromozomálních aberací, kombinovaný screening v I. trimestru těhotenství, biochemický screening v II. trimestru těhotenství, ultrazvukový screening v II. trimestru [5].

Screening chromozomálních aberací se provádí pro Downův syndrom, Edwardsův syndrom a Patauův syndrom. Pro spolehlivou diagnostiku provádíme cytogenetické vyšetření karyotypu získané odběrem AMC či CVS [5].

Screening biochemických markerů je prováděn v prvním i druhém trimestru těhotenství. Základní biochemický screening je ukazatelem možnosti poruchy prenatálního vývoje plodu. Spolu s ultrazvukovým vyšetřením pomáhá diagnostikovat zvýšené riziko VVV nebo ho vyvrátit. [11] Zde je rozdíl mezi screeningem a diagnostickým testem, jelikož screening pouze poukazuje na zvýšené riziko, kdežto diagnostický test slouží k tomu, aby se při pozitivním screeningu, tzn. zvýšeném riziku, VVV potvrdila či vyvrátila definitivně [9].

Tento screening je prováděn pro zjištění defektů krytí fetu kůží (defekty neurální trubice, rozštěpy břišní stěny), trisomie chromozomů 21,18,13, metabolických vad – Smith-Lemli-Opitzův syndrom, vady srdce a komplikací těhotenství. Pro provedení screeningu je nutné vyšetřit těhotnou UZ školeným sonografistou. Gravidní žena musí podepsat informovaný souhlas (mluví o falešné negativitě a pozitivitě screeningu), absolvovat odběr krve pro biochemické markery v určitém období těhotenství a následně

samotné vyšetření v laboratoři s akreditací za použití validované metody určení rizika a následnou péčí genetika [15].

Screening v prvním trimestru

Prvotrimestrální screening probíhá v prvním a časném druhém trimestru těhotenství (od 11. do 13. týdne gravidity). Markery, které jsou ke stanovení doporučeny, jsou PAPP-A, volné podjednotky hCG v séru (odběr provést nejlépe 9+1 až 11+3 týden gravidity), popř. PlGF (odběr doporučen na 11+0-13+6 týden gravidity). K biochemickému screeningu v prvním trimestru bývá přiřazen i ultrazvukový screening v 11.–13+6. týdnu těhotenství, kde se stanovuje nuchální translucence a nosní kůstka, dále pak omfalokéla, megavesika či abnormální nález v průtoku ductus venosus, trikuspidální regurgitace. Ultrazvukový a biochemický screening se dohromady nazývá kombinovaný screening I. trimestru. Citlivost na Downův syndrom se v případě prvotrimestrálního screeningu udává na 82–87 % s 5 % falešnou pozitivitou. Tento screening není hrazen pojišťovnou. Pacientce je pouze doporučen [11], [12], [10], [14].

V případě, že při těchto vyšetřeních má lékař podezření na VVV, gravidní žena má možnost podstoupit invazivní vyšetření prenatální diagnostiky [11].

Případně je možno testovat kontingenčním testem, kdy jsou gravidní ženy rozděleny dle rizika do skupin: riziko větší než 1:50, mezi 1:50 a 1:1000 a nižší než 1:1000. Dochází zde k jinému zhodnocení a využije se dalších ultrazvukových vyšetření. Invazivní vyšetření pomocí CVS je zde nabídnuto pouze ženám s rizikem větším než 1:50, kdy se zachytí 85 % plodů s Downovým syndromem. U žen s rizikem menším než 1:1000 žen se pak na ultrazvukovém vyšetření mezi 20.–22. týdnem gravidity sledují eventuální možné vady a u rizikové skupiny mezi 1:50 a 1:1000 se ultrazvukové vyšetření rozšiřuje o doplňkové markery (nosní kůstka, tok na trikuspidální chlopni, dopplerovské vyšetření ductus venosus) [11], [12], [10], [14].

Falešná negativita u prvotrimestrálního screeningu je 1 %. V současné době lze provádět screening pomocí molekulárně diagnostických metod, a to z periferní krve matky, kdy se vyšetřuje DNA plodu, které koluje v krevním řečišti matky. U toho stanovení v případě Downova syndromu je možný záchyt mezi 98–99 % [11], [12], [10].

Screening v druhém trimestru

Druhotrimestrální screening probíhá mezi 15.–20. tt (týden těhotenství) a testuje se hCG/volné beta-hCG, AFP a nekonjugovaný estriol v séru (odběr proveden ideálně 15.–17. týden těhotenství), takzvaný triple test, popř. quadruple test s inhibinem A [12]. Quadruple test je znám hlavně ve světě, jelikož u nás není hrazen pojišťovnou. Dále je možné setkat se s tzv. double testem, u kterého se nevyšetřuje nekonjugovaný estriol, což platí asi u třetiny českých laboratoří [9]. Provádí se ženám, které nepodstoupily screening v prvním trimestru těhotenství. U Downova syndromu má tento test v jeho triple variantě záchyt do 69 % s 5 % falešnou pozitivitou a v případě přidání inhibinu A se hodnoty záchytu zvyšují na 81 % [14].

Jako tzv. sérum integrovaný test nazýváme pouze biochemický screening v prvním a druhém trimestru, kdy jsou měřeny hodnoty PAPP-A, volný beta hCG v prvním trimestru a v druhém AFP a nekonjugovaný estriol. Výsledky jsou potom hodnoceny dohromady v druhém trimestru těhotenství. Tento způsob kontroly používáme v případě, kdy nebylo provedeno ultrazvukové vyšetření v prvním trimestru sonografistou, který je zapojen do kontroly kvality [12]. Jeho záchyt dosahuje až 88 % s 5 % falešnou pozitivitou u Downova syndromu. V případě, že žena vyšetřena sonografistou je a má oba dva biochemické screenings, hodnota záchytu stoupá až na 94–96 % [14].

U nás se používá rozdělené hodnocení, aby se v případě potvrzení VVV mohlo zakročit co nejdříve [9]. Za pozitivní screening se považuje hodnota rizika mezi 1:250 – 1:300 [11], [12]. Použití tohoto screeningu samostatně má záchyt 70 % a falešnou pozitivitu do 6 % [9]. Platí, že Downův syndrom se vyznačuje sníženými hodnotami AFP, zvýšenými hodnotami hCG a sníženými hodnotami uE3 [11].

Ještě je znám tzv. sekvenční integrovaný test, kdy žena s vysokým rizikem podstoupení kombinovaného testu dochází na konzultaci a ženy s rizikem nízkým podstupují vyšetření v druhém trimestru triple testem. Pak dochází k jednotnému zhodnocení, což slouží k odhalení vysokého rizika pro méně závažné, ale stabilně odlišující se změny markerů aneuploidii [9].

U Downova syndromu by měl být použit takový screening, jehož záchyt bude nad 90 % a falešná pozitivita do 3 %. Následně při pozitivním screeningu by měl být proveden i diagnostický test s vysokou detekční schopností. Je nutné zajistit externí kontrolu kvality pro toto vyšetření. Ta by se měla týkat jak biochemické části, tak i části klinické. EHK zajišťuje SEKK z ČR, popř. zahraniční společnosti jako je UK NEQUAS nebo RfB [9].

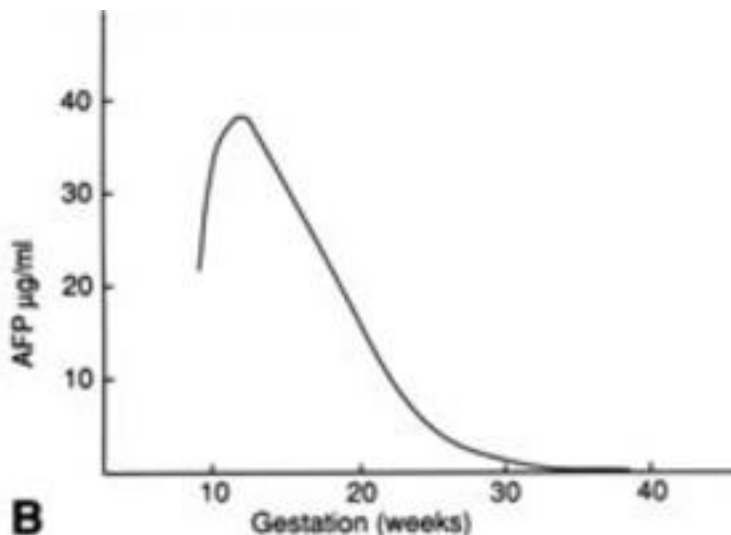
2.5 Biochemické parametry screeningu vrozených vývojových vad

2.5.1 Alfa-fetoprotein

Tento sérový onkofetální glykoprotein o molekulové hmotnosti 70 kDa je svou funkcí i strukturou podobný albuminu [14]. Syntéza probíhá ve žloutkovém vaku, v gastrointestinálním traktu (hlavně v játrech), velmi nízká syntéza probíhá i v ledvinách a v placentě a je možno ho prokázat už od 29. dne od početí [11].

Úlohou AFP v době těhotenství je imunoregulační funkce, kdy díky němu je chráněn plod před reakcí imunitního systému matky. Dále funguje v určité době těhotenství jako náhrada albuminu – jeho transportní funkce a onkotickoosmotickou funkci. Také je schopen regulovat růst normálních i nádorových buněk, dokáže kontrolovat buňky, které tvoří tkáň a orgány při ontogenezi. U negravidních žen nedostatek alfa-fetoproteinu souvisí se syndromem polycystických ovarií [16].

K jeho prudkému nárůstu dochází v 10.–13. tt. Po 16. tt a 32.–34. tt, kdy je nahrazován albuminem, pak jeho hodnoty strmě klesají. Zobrazení hladiny lze vidět na obr. 1. Hladiny alfa-fetoproteinu rozlišujeme v plodové vodě a v mateřském séru. Do plodové vody se dostává z ledvin plodu do jeho moče. Jeho hodnota je úměrná vývoji syntézy u plodu. V mateřském séru hodnota roste do 28.–32. tt a od té doby prudce klesá. Jeho pokles je způsoben zvyšující se propustností placenty pro AFP v průběhu těhotenství [11].



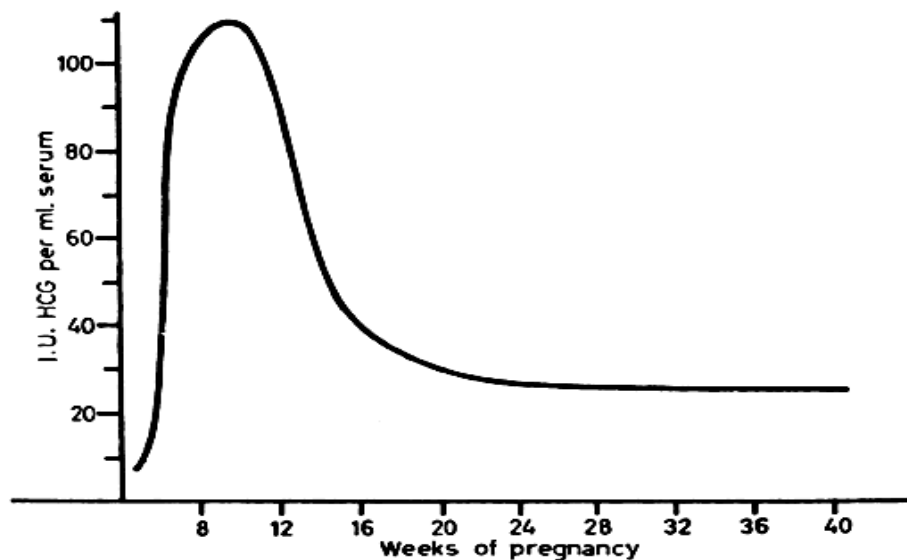
Obrázek 1 – Hladiny AFP v mateřském séru v týdnech gestace [17]

AFP je v prenatalní diagnostice využíván pro zjištění patologicky zvýšené propustnosti fetoplacentární bariéry. Při diagnostice v druhém trimestru těhotenství jeho snížené hodnoty upozorňují na riziko těhotenství s Downovým syndromem. Zvýšené hodnoty mohou souviset s poruchami vývoje plodu (defekty neurální trubice a stěny břišní), fetus mortus, vícečetnou graviditou a jinými abnormalitami plodu jako je ageneze ledvin aj. Senzitivita alfa-fetoproteinu při falešné pozitivitě 5 % je 42 %. Zvýšené hodnoty AFP byly zjištěny u trisomie 16. chromozomu s intrauterinní růstovou retardací [11], [14]. Alfa-fetoprotein je jedinečný v tom, že koreluje s poruchami vývoje plodu i placenty [17].

2.5.2 Lidský choriový gonadotropin – hCG

Lidský choriový gonadotropin je řazen mezi glykoproteiny skládající se ze dvou podjednotek – alfa a beta. Každá z nich je kódována jiným počtem genů. Alfou kóduje jeden gen a podjednotka je shodná s podjednotkou LH, FSH, TSH. Jeho syntéza lehce stoupá po celou dobu gravidity. Podjednotku beta kóduje 6 genů. Její hladina stoupá do 10. týdne, poté do 22. týdne klesá. Do 32. tt se hodnota opět lehce zvyšuje a poté znovu klesá až do porodu. Jeho molekulová hmotnost je 38 kDa [14]. Syntetizován je v placentě v syncytiotrofoblastu. Jak lze vidět na obr. 2 jeho hladina nejprve roste, a to do 11. tt. Od té doby klesne o 80 %. Následně je tato hladina udržována až do porodu. Množství vzniklého hCG je ukazatelem kvality trofoblastu a hlavně stavu průtoku krve v uteroplacentárním systému [11].

HCG je důležitý pro udržení žlutého tělíska hlavně v počátcích těhotenství. V něm stimuluje tvorbu progesteronu a estrogeneru. Dává vědět tělu matky, že v její děloze došlo k nidaci embrya [18].



Obrázek 2 – Hladiny hCG během týdnů těhotenství [19]

Pro diagnostiku jsou důležité degradační produkty hCG, především jeho podjednotka beta. Nejprve vzniká tzv. nicked hCG, a to částečným rozevřením řetězce. Výsledným produktem rozpadu je tzv. beta-core hCG, kdy podjednotka beta pozbyde velkou část molekuly. Stanovení tohoto degradačního produktu má velkou váhu při vyšetření chromozomálně podmíněných VVV, ale i při diagnóze karcinomu testes či choriokarcinomu. Podjednotka alfa je užívána při diagnostice poruch vývoje trofoblastu nebo karcinomů, které nepocházejí z trofoblastu [11].

Hladina hCG může být zjišťována ze séra, ale i z moči gravidních žen. Při stanovení ale lékař musí brát zřetel na faktory, které mohou změnit výsledky. Mezi takové faktory patří například výskyt látek, které jsou hCG podobné. Lidský choriový gonadotropin také může interferovat s různými látkami, jako je imunoglobulin G, luteinizační hormon apod. Dalšími faktory mohou být i špatné datování gravidity a patologie placenty [11].

U volných beta-podjednotek hCG je brána v potaz snížená i zvýšená hodnota, a to v séru i v moči, která indukuje závažné poruchy těhotenství. Snížená hladina může

znamenat potrat, Edwardsův syndrom či ektopickou graviditu. Zvýšená hladina u netěhotných žen poukazuje na riziko vývoje karcinomu. U těhotných může znamenat vývin plodu s Downovým syndromem. Volná beta-hCG v druhotrimestrálním screeningu je zvýšená hlavně při Downově syndromu, ale i při triploidii. Snížené hodnoty nacházíme u trisomie 18 i 13. Stanovení volné beta-hCG může mít až 77 % záchyt při falešné pozitivitě 5 %, a to mezi 14.–16. týdnem. U beta-hCG může dojít k falešně zvýšeným hodnotám i v důsledku špatné přepravy krevního vzorku [11].

V druhém trimestru jsou přítomny vysoké hladiny hCG a jeho degradačních produktů také u plodů postižených Downovým syndromem, poruchami uzávěru břišní stěny, IUGR, hydropsem, Noonatovým syndromem, trisomií 16. chromozomu, abortem i u gravidních matek s hypertenzí. Hodnoty jsou snížené u abortus imminens nebo gravidních matek s diabetem [11].

Kromě volných podjednotek beta-hCG a hCG s jeho degradačními produkty ze séra se stanovují i degradační produkty v moči. Konkrétně se jedná o beta-hCG a beta-core fragment. Beta-hCG je používáno pro detekci aneuploidii. Vysoká hladina vypovídá o Downově syndromu a nízká o Edwardsově i Patauově syndromu. Stejně by bylo vhodné mluvit o beta-core fragmentu. Mezi 17.–19. týdnem dosahuje diagnostického maxima, a to 80 % záchytu při 5 % falešné pozitivitě. Je tedy jedním z nejcitlivějších testů. Nicméně při jeho aplikaci hrozí kontaminace mikrobiální flórou z okolí uretry matky, tudíž je třeba k moči přidávat antibiotika a skladovat ji při teplotě -20°C [11].

U sledování hCG je nutno dodržet důsledně všechna pravidla pro zpracování séra a krve, jelikož hCG se na světle rozpadá. Je tedy důležité brát ohled i na tyto faktory, které by mohly výsledky ovlivňovat [11].

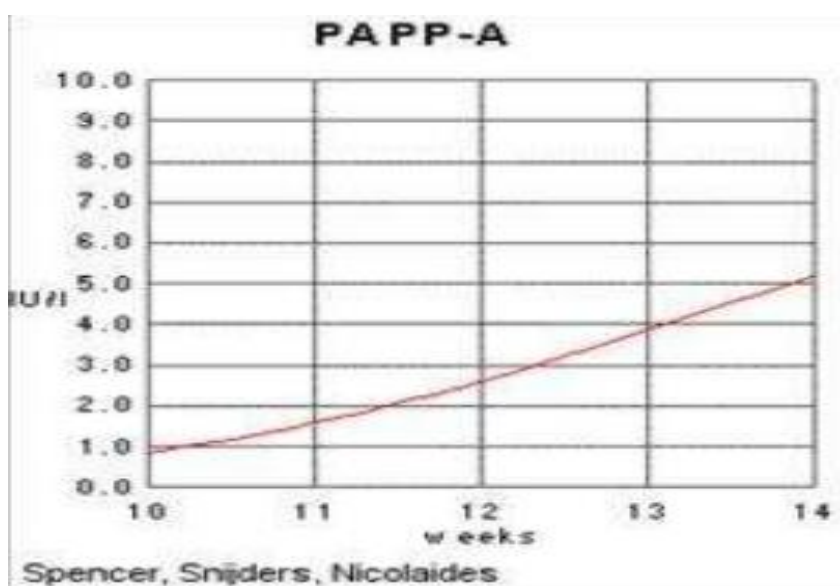
Jeho využití nacházíme při užívání těhotenských testů, které jsou volně prodejné. Zde se měří právě hodnota hCG v moči. Tyto testy jsou snadno dostupné a zvládne je provést každá žena. Nevýhodou může být delší doba od početí potřebná k detekci. U lékaře pak může žena využít krevních testů, založených na hCG, k potvrzení těhotenství od dřívější doby [20].

2.5.3 Pregnancy-associated plasma protein A – PAPP-A

PAPP-A neboli pregnancy-associated plasma protein A je brán jako jeden z nejdůležitějších markerů. Patří mezi zinkové metalloproteinázy [12]. Molekulová hmotnost dosahuje až 700 kDa [14]. Jeho syntéza probíhá také v syncytiotrofoblastu [11]. Je jedním z PAPP a kromě PAPP-A jsou známy ještě druhy B, C, D. C je lidský placentární antigen a D je SP1 [12].

Jeho hlavní funkcí je štěpit IGFBP (insulin-like growth factor binding protein), uplatňující se v usměrňování lokálních proliferačních reakcí, což vede k aktivaci růstových faktorů [12].

Jeho hodnota stoupá mezi 5. a 18. tt a nejvyšších hodnot dosahuje na konci třetího trimestru [11], [12]. Hodnoty mezi 10. a 14. týdnem gravidity jsou na obr. 3.



Obrázek 3 – Průběh hladin PAPP-A mezi 10. a 14. týdnem těhotenství [21], upraveno

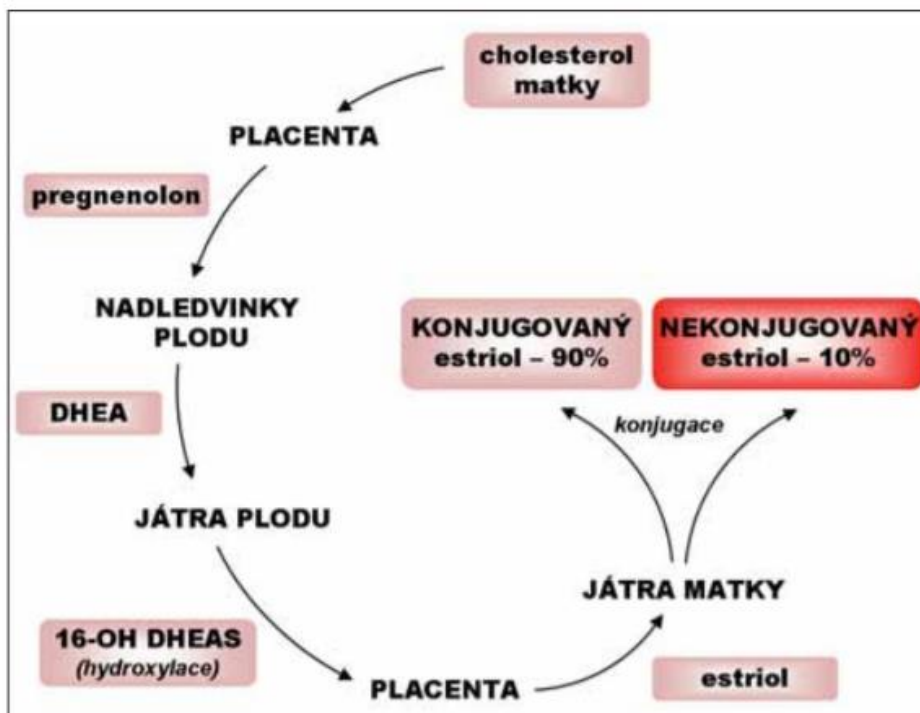
Snížení hodnot PAPP-A v prvním trimestru těhotenství je přítomno u plodů s Downovým syndromem. Pokud jsou vzaty v potaz rizikové faktory – jako zvýšený věk matky, screening může odhalit až 78 % gravidit s Downovým syndromem. Tento marker je tedy jedním z nejpovažovanějších v prvním trimestru gravidity. Dále také díky jeho sníženým hodnotám po celou dobu gravidity může být odhalena trisomie 13. a 18. chromozomu, chromozomu X a triploidií, nebo mohou znamenat hrozící potrat

[11], [12]. Dále také může sloužit jako ukazatel akutního koronárního syndromu u ne gravidních [22].

Platí, že čím menší jsou hodnoty PAPP-A a vyšší hodnoty volné beta hCG, tím se zvyšuje riziko vzniku Downova syndromu [5].

2.5.4 Nekonjugovaný estriol – uE3

Nekonjugovaný estriol je velmi malá molekula, molekulovou hmotnost má okolo 0,3 kDa [14]. Tvoří v případě normálního průběhu těhotenství jednu desetinu celkového estriolu. Jeho většina je totiž konjugována v játrech matky a vzniká z cholesterolu (obr. 4) [11].



Obrázek 4 – Metabolismus estriolu v těhotenství [23]

Nekonjugovaný estriol jako jediný ukazuje metabolickou aktivitu fetoplacentární jednotky, kde vzniká. V těle se podílí na změkčení cervixu před porodem a uvádí se, že je součástí reakcí, ve kterých se připravuje mléčná žláza na laktaci [14].

Jeho hladina od 8. tt stoupá až do porodu [24].

V případě nízkých hodnot při screeningu v prvním trimestru může být diagnostikován Downův syndrom, hypofunkce nadledvin a anencefalie. Jeho hodnota je snížena kvůli nedostatečnému vývinu nadledvin a jater plodu. Diagnostika může probíhat jak z moče, tak i ze séra. Záchyt může být až 32 % při 5 % falešné pozitivitě, pokud jsou uváženy rizikové faktory. V druhém trimestru jsou jeho hladiny sníženy při Downově syndromu. Bylo zjištěno, že ženy, kterým se narodí dítě postižené Downovým syndromem, mají sníženou produkci estriolu. Snížené hodnoty také poukazují na Edwardsův syndrom. Nekonjugovaný estriol je brán jako nejcitlivější ukazatel tohoto syndromu [11].

2.5.5 Placentární růstový faktor – PIGF

Placentární růstový faktor patří mezi vaskulární endoteliální růstové faktory a tvoří se především v placentárním trofoblastu [25].

Důležitou roli hraje PIGF v angiogenezi a lymfogenezi v období vzniku a vývoje embrya, nicméně jeho přesná úloha v těchto procesech není zatím známa [26].

Hladiny PIGF stoupají v prvním a druhém trimestru těhotenství a poté do porodu klesají. Jeho hodnoty se snižují se zvýšeným rizikem preeklampsie i s Downovým syndromem. Screening PIGF nehradí pojišťovna a je na pacientkách, zdali se pro něj rozhodnou, jelikož při jeho použití se standartním screeningem se záchyt zvýší až o 6 %. [25].

Zvýšené hladiny u negravidních mohou souviset s kardiovaskulárními onemocněními jako mikro/makrovaskulární ateroskleróza a patologické angiogeneze. Výsledné hodnoty jsou vypočteny dle rovnice se stanovením solubilního tyrozinkinázového receptoru typu 1 [27]. Pro jeho stanovení je ideální odběr v 24. týdnu gravidity [28].

2.5.6 SP₁ – Schwangerschafts Protein 1

SP₁ se vyskytuje ve formě SP₁-alfa a SP₁-beta. SP₁-beta je charakteristický pro těhotenství a jeho hmotnost je 90 kDa. Tento glykoprotein je syntetizován v syncytiotrofoblastu během těhotenství [11].

Jeho úloha zatím není známa [29].

Od 12. do 34. tt jeho hodnota stoupá v závislosti na růstu hmoty aktivního trofoblastu.

Stanovení probíhá v séru, ale nalézt ho můžeme i v plodové vodě. Zde je hodnota stokrát nižší. V případě snížené hodnoty SP₁ v počátcích těhotenství poukazuje na hrozbu potratu a vývoj plodu s Downovým syndromem. V dalších fázích těhotenství může poukazovat na intrauterinní růstové retardace plodu. Prudké snížení hladiny SP₁ může znamenat vývoj plodu s Edwardsovým syndromem. Při zvýšených hladinách je možnost těžkých postižení trofoblastu či opět může indukovat Downův syndrom. U screeningu v druhém trimestru při běžné diagnostice není používán, jeho snížené hodnoty se ale vyskytují u IUGR, u dětí s nízkou porodní hmotností a při hrozícím potratu. Zvýšené hodnoty byly zjištěny u těhotenství s poruchou vývoje trofoblastu [11].

2.5.7 Inhibin A

Inhibin má dvě formy – A a B, odlišující se podjednotkou beta [14]. Tento protein má strukturu heterodiméru s molekulovou hmotností asi 21 kDa. Vzniká v hypofýze, vaječnicích a placenty u žen. U mužů je jeho vznik připisován Sertolihovým buňkám [11].

Jeho funkcí je inhibice syntézy a uvolňování folitropinu v hypofýze. Během gravidity ovšem jeho funkce není známá, ale s velkou pravděpodobností má vliv na embryogenezi a ve třetím trimestru gravidity potlačuje tvorbu GnRH (gonadotropiny uvolňující hormon releasing) [11], [14].

Jeho hodnoty se zvyšují do 7. tt, poté se do 10. tt hladina snižuje a zůstává nízká do poloviny gravidity. Následně se opět zvyšuje až do ukončení těhotenství [11].

Jeho zvýšená hodnota poukazuje na Downův syndrom, a to už v prvním trimestru těhotenství. Do 11. tt ovšem není zajištěna úspěšnost diagnostiky. Při vývoji plodu s Downovým syndromem jsou hodnoty inhibinu A v druhotrimestrálním screeningu zvýšené [11].

2.5.8 Nádorové využití fetálních antigenů

V dnešní době je řada fetálních antigenů využívána v onkologii. Například alfa-fetoprotein, který se ve zvýšené koncentraci může nacházet například u hepatocelulárního karcinomu, germinálních nádorů vaječníků a varlat. Pokud je AFP stanovováno monoklonálními protilátkami, je nutné vědět, že mezi nádorovým a nenádorovým AFP je rozdíl v cukerné složce, tudíž by tato protilátka neměla s cukernou složkou reagovat [12].

Dalším používaným nádorovým markerem je karcinoembryonální antigen, nacházející se ve tkáni plodu i v epitelálních tkáních dospělých. Jeho hodnoty se razantně zvyšují při kolorektálním karcinomu, thyreoidálním karcinomu i u jiných karcinomů – prs, plic aj. Oproti tomu však může být nalezen zvýšený u mnoha nemaligních onemocnění i stavů jako je stáří, kouření apod., tudíž nemá velký diagnostický význam. Jeho použití je omezeno na sledování prognózy a monitoring pacientů s kolorektálním karcinomem [12].

Lidský choriový gonadotropin je nádorový marker pro karcinom varlete, choriokarcinomů, často u mola hydratosa [12].

2.6 Metody stanovení biochemických parametrů prenatálního screeningu

Stanovení probíhá pomocí citlivých imunochemických metod, jak kvalitativních, tak kvantitativních. Kvalitativně stanovujeme pomocí imunochemických proužků z moči (hCG) a kvantitativně pomocí metod uvedených níže [30].

TRACE - Time resolved amplified cryptate emission

TRACE metoda patří k jedné z nejmodernějších. Zde se na antigen či specifickou protilátku naváže kryptát vzácné zeminy. Jedná se například o europium. Výhodou je jeho dlouhodobější fluorescence. Mimo fluorescenci ho lze detekovat i pomocí transferu energie mezi donorem a akceptorem světelného signálu [31].

IRMA – imunoradiometrická analýza

Zde je používáno značení protilátek pomocí radionuklidů a jedná se o nekompetitivní metodu. Stanovovaný antigen reaguje s radioaktivně značenou protilátkou, která je v nadbytku. Nevýhodou je u této metody i u RIA práce s radioaktivními látkami a nutná speciální likvidace radioaktivního odpadu [31].

RIA – radioimunoanalýza

Jedná se o metodu kompetitivní, ve které se užívají radioizotopem značené antigeny. Vzorek obsahující antigen soutěží o omezený počet míst k navázání spolu s antigenem značeným radionuklidem [32].

Chemiluminiscenční metody

Tyto metody využívají látek, které jsou schopné emitovat záření díky probíhající chemické reakci. Užívají se zde látky zvané lumionofory, to je například luminol, izoluminol, sulfonamidy apod. Emitace záření je pouze na krátkou dobu, je proto nutné provést měření ihned [31]. Z chemické reakce se vznikne reakční intermediát, který je v excitovaném stavu a poté dojde k návratu do základního stavu, čímž dojde k vyzáření energie ve formě fotonu [33].

Elektrochemiluminiscenční metody

Metody jsou od chemiluminiscenční rozdílné v tom, že spouštěčem chemiluminiscence je elektrický impuls. Reakce probíhá na magnetických mikročásticích, kde je navázán streptavidin, na ně se pak váže antigen (díky biotinylu) nebo vychytávající protilátka. Detekční protilátku označuje rutheniový komplex. Dojde k reakci a směs se nasaje do měřicí buňky, kde se naváží magnetické částice díky magnetu a jsou promyty pufrem. Následně je vyslán elektrický signál, čímž dojde ke spuštění reakce, při které se oxidují ionty ruthenia. Ty se vzápětí opět redukují a vzniklá energie se vyzáří [31].

Tabulka 1 – Preanalytické požadavky [10]

Analyt	Odebíraný materiál	Stabilita séra (plasmy) +20 až 25 °C	Stabilita séra (plasmy) při +4 až +8 °C	Stabilita séra (plasmy) při – 20 °C	Doporučené metody
Volný β hCG	Plná krev	6 h	1 d	1 r	TRACE, IRMA, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
hCG	Plná krev	12 h	3 d	1 r	RIA, IRMA, TRACE, chemiluminiscenční, fluorescenční a elektrochemiluminiscenční metody
AFP	Plná krev	12 h	7 d	1 r	IRMA, TRACE, fluorescenční, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
Volný estriol (uE3)	Plná krev	6 h	1 d	1 r	RIA, chemiluminiscenční metody
PAPP-A	Plná krev	12 h	3 d	1 r	TRACE, ILMA, IRMA, chemiluminiscenční metody a elektrochemiluminiscenční metody
PIGF	Plná krev	12 h	1 d	1 r	TRACE, ILMA, IRMA, chemiluminiscenční metody a elektrochemiluminiscenční metody

Pro každý analyt platí pravidlo verifikace jednou za rok a musí mít opakovatelnost do 6 % a reprodukovatelnost do 10 %. Validaci zařizuje výrobce, a jiné než validované metody nejsou přípustné. Je uvedena rozšířená nejistota měření dle doporučení odborných společností. Mezi systémy, které jsou vhodné pro externí kontrolu kvality pro první trimestr, patří: RfB, INSTAND, SEKK, UK NEQAS. Pro druhý trimestr pak RfB, SEKK, UK NEQAS [10].

Další údaje o jednotlivých analytech:

Volná beta-hCG podjednotka lze vyšetřit statimově a u netěhotných je hladina nulová. Celková hCG lze také na statim. Referenční meze pro negravidní jsou do 5 IU/l a 5–20 IU/l jsou hodnoty hraniční. U těhotných žen hodnoty stoupají dle délky gravidity až do 12. týdne s rozmezím 10 000 – 100 000 IU/l a následně klesá až k hodnotám 3 000 – 50 000 IU/l v třetím trimestru. Alfa-1-fetoprotein se liší pro stanovení jako nádorového markeru, markeru pro graviditu a pro jeho stanovení pro v plodové vodě. Statimově toto stanovení lze provést [34]. Fyziologické rozmezí pro AFP je do 7 nh/mL [35]. Nekonjugovaný estriol nelze vyšetřit na statim a výsledky se neuvolňují samostatně, ale pouze jako riziko v počítačových programech. PAPP-A stanovení se provádí i na statim [34]. Referenční rozmezí pro negravidní je do 7,15 mlU/l [36]. Výsledky PlGF se uvádějí v poměru s sFlt-1. Tento poměr by neměl přesáhnout 38 [37].

2.7 Syndromy, jež lze zachytit biochemickým screeningem

2.7.1 Downův syndrom

Jedná se o nejčastěji diagnostikovanou chromozomální vadu. Jedná se o trisomii 21. chromosomu. Výskyt se pohybuje okolo 1 dítěte na 750–1000 narozených dětí. Ve většině případů jde o volnou trisomii 21. chromosomu jako důsledek nondisjunkce, ve zbylých případech se pak jedná o translokaci nebo o mozaiku. Mezi charakteristické rysy Downova syndromu patří epikantus, plochý obličej, mongoloidní oči, kořen nosu je uložen hluboko, boltce uší dysplastické, krátké ruce i prsty, makroglosie (zvětšený jazyk), krátká šíje s volnou kůží, svalová hypotonie, časté poruchy sluchu, štítné žlázy a další [38], [5].

Tyto osoby jsou závažně mentálně zaostalé a potřebují neustálou asistenci v životě, což znamená značné omezení pro okolní rodinu. K Downově syndromu se často přidružují jiné vady, zvláště srdeční, což bývají příčiny smrti u postižených osob, ve valné většině do 40 let. Tato vrozená vada se nedá léčit, je možné pouze podstoupit chirurgickou operaci např. srdečních vad. Proto je v dnešní době možné, po diagnostice trisomie 21. chromozomu, podstoupit interrupci [38]. Diagnostikovány prenatalně jsou zhruba 2/3 případů [5].

2.7.2 Edwardsův syndrom

Jedná se o trisomii 18. chromozomu. Výskyt se udává na 1 dítě z 8000 narozených a častěji se rodí postižené dívky. Ve valné většině případů jde o volnou trisomii, kdy přebývajícím chromozomem je z 93 % mateřský. Mezi základní znaky Edwardsova syndromu patří malý vzrůst, vyklenuté čelo, mongoloidní oči, časté rozštěpy v obličeji, úzká lebka, zmenšená dolní čelist i ústní otvor, hypoplasie nehtů, částečná syndaktylie, krátké sternum, krátké a dorzálně flektované palce u nohou, tzv. kolébkové nohy, vystupující patní kost, flekční kontraktury kloubů prstů. Jedinci mají výrazně poškozený psychomotorický vývoj, trpí křečemi, svalovou hypertonií. IQ nedosahuje 30. Postižené děti umírají do jednoho roku, 5 let se dožívá pouze 15 % děvčat [5].

2.7.3 Patauův syndrom

Patauův syndrom je trisomie 13. chromozomu s výskytem u 1 narozeného z 10000. Pro postižené jedince je typická hexadaktylie, nízký vzrůst, velmi vysoké postižení psychomotorického vývoje, mikrocefalie, bývají přidruženy jiné anomálie – srdeční vady, vady ledvin, mozku apod., obličej s ustupujícím čelem, mongoloidní oči, rozštěpy v obličeji i malá dolní čelist, vystupující patní kost, kapilární hemangiomy, kryptorchismus. Tato trisomie v 9 z 10 případů vzniká jako následek meiotické nondisjunkce, ve zbylých případech jde o Robertsonovu translokaci. Většinou je přebytečný chromosom mateřský a volný. Postižené děti v 85 % umírají do 1 roku [5].

2.7.4 Preeklampsie

Preeklampsie znamená riziko těhotenských komplikací. Preeklampsii lze dělit na časnou a pozdní, kdy u časně dochází k předčasnému porodu, a to do 34. tt a přítomno

je v 0,5 % případech těhotenství. Pozdní preeklampsie zvyšuje riziko mortality a morbidity plodu před narozením. V případě, že jsou gravidní ženy s tímto rizikem vyhledány, lze zabránit závažným komplikacím pomocí antihypertenziv nebo např. vyvolat porod předčasně. Pro odhalení preeklampsie se sledují parametry jako rasový původ, hmotnost matky, případně přechází preeklampsie. Jako další možné parametry lze použít tlak krve, průměrný index uterinní arteriální pulsatility, PAPP-A v séru. Graviditu s preeklampsií je možné stanovit z sFlt-1 a PlGF. PlGF hladina je nižší oproti normální graviditě a sFlt-1 hladina je zvýšená, z vytvořeného poměru sFlt-1 ku PlGF může být odhaleno těhotenství s preeklampsií [9].

2.8 Genetické poradenství v prenatální diagnostice

Genetické poradenství v prenatální diagnostice je velmi důležitou součástí klinické genetiky, zabývající se různě směřovaným poradenstvím, jako je pomoc páru, který má problémy s otěhotněním (včetně opakovaných potratů), pozitivní screening/ultrazvukový nálezn, prenatální/postnatální diagnostika závažné vrozené vývojové vady, věkové a jiné predispozice, stanovení genetického rizika v případě nosičství patologického genu, postiženého člena rodiny VVV, popř. po předchozím přerušení těhotenství kvůli VVV plodu nebo vystavení teratogenním látkám. Může ho využít každý, kdo trpí onemocněním nebo vývojovou vadou, která je geneticky podmíněna, predispozicí k ní a nebo patří do rodiny, ve které je takto postižený jedinec, a jeho rodina tím nese genetické riziko. Jeho hlavním významem je patřičně informovat jedince/pár, který o poradenství žádá, a uvést všechna možná řešení týkající se jejich problému, se všemi výhodami i nevýhodami [11], [8]. Důležité je, že toto poradenství se nesoustředí pouze na nemocného jedince, ale i na ostatní členy rodiny, kteří by mohli být ohroženi, většinou narozením potomka s VVV. Kromě diagnostiky, prognózy a prevence by genetické poradenství mělo poradit klientům, jaké je riziko opakování choroby/VVV a zdali je dědičné [5]. Podstatný je zde tzv. nedirektivní přístup, jehož principem je nechat pár zvolit si jakékoliv z nabízených možných řešení, při jejichž předkládání lékař uvádí pouze pravdivá, srozumitelná a objektivní fakta. Mimo znalosti odborné lékařské genetiky, vrozených vývojových vad a klinicko-genetických problémů musí lékař, jenž takové poradenství provozuje, být empatický a schopný dorozumívat se s oběma partnery tak, aby byli zcela informováni. Klíčovým krokem ke zjištění míry genetického rizika je

přesné rozpoznání vrozené vývojové vady nebo choroby. Důležitá je také genetická prevence ještě před početím, popř. v brzké době po početí, např. v podobě podávání různých vitaminů. Velkou váhu má i poradenství po porodu dítěte s VVV, kdy je cílem pomoci rodině vyrovnat se s velkým psychickým stresem a také jí poradit, jak se zachovat při plánování dalšího dítěte [11].

Hlavním postupem je zjištění genetické situace a diagnózy, následné vyhodnocení genetické a klinické prognózy pro každého člena z rodiny a nabídka možnosti genetické prevence. Základem vyhodnocení genetické situace je vytvoření osobní a rodinné anamnézy. Anamnéza je vytvořena pomocí rodokmenů. Osoba, kvůli které je rodokmen tvořen, se nazývá proband. Za použití grafického znázornění klinický genetik zapisuje vztahy v rodině, přičemž rodokmen by měl být co nejširší i co nejhlubší. Z rodokmenu následnou logickou úvahou řeší, jak se daná zkoumaná genetická choroba/vývojová vada přenáší. Dále používáme cytogenetické nebo molekulárně genetické vyšetření, kde se hodnotí karyotyp [8].

Kromě užití v prenatalní diagnostice je možné použít genetické poradenství v presymptomatické diagnostice. To je diagnostika chorob, u kterých ještě nedošlo k manifestaci příznaků, tudíž má pacient šanci na delší, či alespoň kvalitnější život [8].

2.9 Interrupce

Pokud interrupci nebrání žádná zdravotní rizika matky, lze ukončit těhotenství z jakéhokoliv důvodu do 12. tt. V případě potvrzení VVV, popřípadě je riziko VVV vysoké, žena může požádat o ukončení těhotenství z důvodu genetické indikace. Z tohoto důvodu je možné těhotenství ukončit až do 24. týdne těhotenství. V případě, že je postižení velmi vážně a dítě by nepřežilo narození, je možné těhotenství ukončit kdykoliv [8]. Tato ustanovení se týkají České republiky. Dle statistik se u nás uměle přerušilo těhotenství v 82 % případech gravidity s trisomií 21. chromozomu [9].

2.10 Neinvazivní prenatální testování

V roce 2011 bylo zavedeno tzv. neinvazivní prenatální testování, které je založeno na sekvenování volné cfDNA z matčiny krve pro zjištění chromozomálních aberací plodu. Vyšetření je možné provádět od 10. týdne gravidity [10]. Fetální DNA je v krvi matky přítomna však již ve 4. týdnu gravidity [9]. Rozdíl mezi ostatními metodami a metodou s použitím sekvenace je ten, že u běžných screeningů hledáme parametry, které souvisí s postižením plodu. Sekvenování poskytuje zhodnocení celkové genetické výbavy plodu. Přestože NIPT zatím není bráno jako diagnostická metoda, nabízí ženám do budoucna velké možnosti v prenatálním screeningu se snadným provedením, přesným výsledkem a bez obav z invazivity testu. Stanovení probíhá z cfDNA, což je mimobuněčná DNA z placenty, která je přítomna v plazmě matky, kde je v zastoupení od 4 % do 25 % a je zde ve formě malých fragmentů o délce 150 až 200 bp vyjadřujících celou genetickou informaci [10]. Vyšetření lze provádět jako základní screening u nízkorizikové populace, či pro ověření pozitivního screeningu jako tzv. kontingenční režim [9].

Jelikož tyto fragmenty jsou velmi malé, je nutné jich získat velké množství. Cílem NIPT je poznat nárůst v zastoupení fragmentů určitého chromozomu v případě jeho aneuploidie. Klíč ke stanovení tohoto nárůstu je v metodách kvantifikujících množství fragmentů, které jsou z určeného chromozomu [39]. Přičemž je známo relativní zastoupení fragmentů v jednotlivých chromozomech [9].

2.11 Požadavky na laboratoř, která provádí screening VVV v prvním či druhém trimestru těhotenství

1. Laboratoř, která má být zařazena mezi laboratoře, které provádějí screening VVV, musí splňovat podmínku provedení minimálně 1000 screeningových vyšetření za rok pro každou stanovovanou látku [10].

2. Taková laboratoř musí mít zaměstnance, jenž ponese zodpovědnost za realizaci těchto vyšetření a za systém vnitřní i externí kontroly kvality. Pracovník musí být vysokoškolsky vzdělaný se specializovanou způsobilostí v klinickém laboratorním oboru [10].

3. Laboratoř musí mít vlastní platné příslušné certifikáty nebo osvědčení. Dále je třeba, aby se zúčastňovala, a to minimálně dvakrát za rok, kontrolních cyklů pro každý z užívaných systémů screeningů v rámci externí kontroly kvality a používala účinný systém vnitřní kontroly kvality [10].

4. V laboratoři musí být uveden postup pro preanalytickou fázi vzorku v souladu s požadavky (odběr, transport, skladování vzorku) [10].

5. *„Laboratoř musí spolupracovat s genetickým pracovištěm i s ošetřujícím gynekologem. Výsledky stanovení každého analytu musí laboratoř vydat do nejpozději tří dnů od přijetí vzorku. Výsledek se vydává jako riziko vypočítané validovaným softwarem (obvykle screening ve druhém trimestru) nebo v absolutních hodnotách naměřených biochemických markerů, kdy je riziko dále vypočítáno gynekologickým nebo genetickým pracovištěm (obvykle screening v prvním trimestru těhotenství). Za další postup je zodpovědné gynekologické pracoviště, které požadovalo výsledek.“ [10]*

6. Pro aktuálnost hodnocení výsledků screeningů se každoročně koná odborná sešlost odpovědných pracovníků všech laboratoří [10].

3 CÍL PRÁCE

V experimentální části práce budou zpracována data vztahující se ke třem nejčastějším syndromům, které lze diagnostikovat pomocí zmíněných těhotenských markerů. Jsou to syndromy Downův, Edwardsův a Patauův. K těmto syndromům budou zpracována data mezi léty 2006 a 2015. Bude analyzován výskyt těchto vad v populaci, počet diagnostikovaných vad pomocí prenatálního screeningu i celkový počet narozených dětí.

4 METODIKA

4.1 Screening v prvním trimestru těhotenství

Těhotná žena má možnost si vybrat z možností screeningu těhotenství. V prvotrimestrálním screeningu se jedná o stanovení markerů PAPP-A, free beta-hCG. Dále ultrazvukové stanovení šíjového projasnění. Ke zhodnocení dále používáme tyto údaje spolu s věkem a hmotností matky a týdnem gravidity [40].

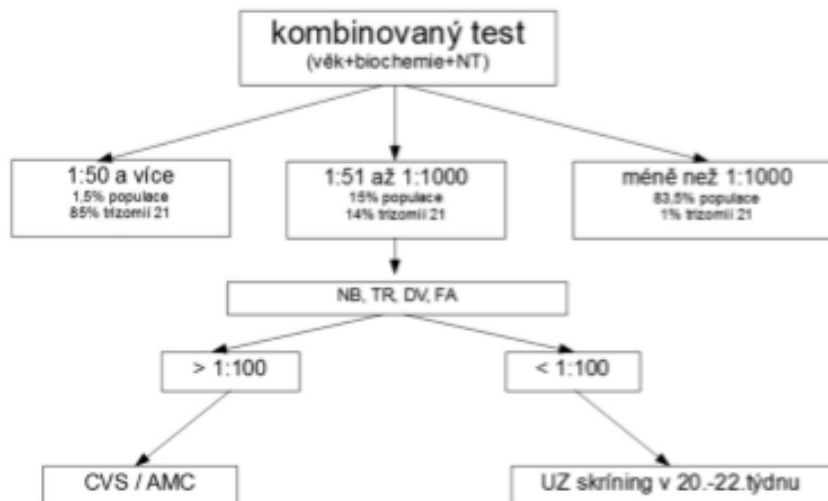
Laboratorní doporučení pro prvotrimestrální screening je jeho provedení v 10+0 a 13+6 týdnů těhotenství. Odběr je proveden do zkumavek bez přidaných látek, tedy srážlivá krev (sérum) a do 8 hodin by zkumavka měla být dodána laboratoři za skladování v chladu [34].

Kombinovaný test

Při užití tohoto testu jsou brány v potaz markery PAPP-A, volná beta-hCG, nuchální translucence a věk těhotné. Při tomto vyšetření se zároveň určuje gestační stáří a ověřuje se četnost těhotenství. Detekce je uváděna až 90 % s falešnou pozitivitou do 5 % pro Downův syndrom [41].

Kontigenční test

Tento test, stejně jako kombinovaný, bere v úvahu biochemické parametry (PAPP-A, free beta-hCG), věk i hodnotu nuchální translucence. Ženy jsou rozděleny do tří skupin dle rizika. S rizikem 1:50 jsou ženy odeslány na invazivní prenatalní vyšetření. U žen s rizikem od 1:51 do 1:1000 jsou dále brány v úvahu další ultrazvukové markery pro Downův syndrom, které se nepovažují za tolik důležité. Jedná se například o nosní kůstku, průtok ductus venosus, trikuspidální regurgitace a jiné. Gravidity s rizikem menším než 1:1000 jsou brány jako negativní screening. Schématické zobrazení pro toto vyšetření je možné vidět na obr. 5. Další možností zhodnocení je vyšetření všech ultrazvukových markerů u každé těhotné. Tento test má záchyt okolo 95 % pro Downův syndrom při falešné pozitivitě 2–3 %. [41]



Obrázek 5 – Kontingenční test [42]

4.2 Screening v druhém trimestru těhotenství

Odběr je proveden mezi 14.-16. týdnem těhotenství. Mezi stanovované biochemické markery patří AFP, uE3, hCG a inhibin A.

Laboratorní doporučení pro tento screening je odběr srážlivé krve (zkumavka bez aditiv) – séra a jeho doručení laboratoři do 8 h od odběru za skladování v chladu. Odběr by měl být proveden mezi 14+6 a 18+0 týdnem těhotenství. Tento vzorek je skladován po dobu 3 měsíců od odhadovaného termínu porodu ve zmraženém stavu. V případě, že pacientka absolvovala i prvotrimestrální screening, výsledky podáváme integrovaně [34].

Double test

U tohoto testu kromě věku využíváme biochemických markerů AFP a hCG. Takovýto test má záchyt 55–60 % při falešné pozitivitě do 5 %, pokud test zahrnuje celou molekulu hCG. Pokud zahrnuje volnou podjednotku beta-hCG, záchyt se zvýší o 5 % [41].

Triple test

K markerům AFP, hCG a věku se zde přidá ještě nekonjugovaný estriol. S celou molekulou hCG je záchyt 60–65 % při 5 % falešné pozitivitě, pokud free beta-hCG, stoupá záchyt opět o 5 % [41].

Quadruple test

Quadruple test kromě již zmíněných markerů přidává ještě inhibin A. Jeho záchyt se při falešné pozitivitě 5 % udává až 81 % [14].

Integrovaný test

Tento test integruje výsledky prvotrimestrálního testu a druhotrimestrálního testu. Zhodnocení pak probíhá najednou. Tento test je brán jako nejúčinnější, není však příliš využíván. Většina párů chce být informována hned po provedení screeningu v prvním trimestru. To může být například kvůli vyššímu stupni těhotenství při případné diagnostice Downova syndromu a následné interrupci. Jeho velkou výhodou je ovšem velmi malé procento falešné positivity, díky hodnocení NT i pěti biochemických markerů [41].

Sekvenční test

Tento test sleduje stejné parametry jako integrovaný test. Rozdíl mezi nimi je ovšem ten, že po získání pozitivního výsledku z prvotrimestrálního screeningu je matce nabídnuto invazivní prenatální vyšetření a u negativních výsledků je žena následně odeslána na druhotrimestrální screening. Výsledky mohou být zhodnoceny integrovaně s výsledky v prvním trimestru či nikoliv. Cut-off hodnota pro pozitivu v prvním trimestru je 1:10 – 1:100 [41]. Tento screening má nejlepší záchyt [10].

Sérum integrovaný test

Sérum integrovaný test ve svém testování zahrnuje pouze biochemickou část, nikoliv ultrazvuk. Testovány jsou markery PAPP-A v prvním trimestru a hCG, AFP a inhibin A v druhém trimestru a věk. Záchyt je zde až 86 % při falešné pozitivitě 5 % u Downova syndromu [41].

Kontingenční test jako kombinace testů v prvním a druhém trimestru těhotenství

U tohoto typu vyšetření existuje více variant. Společné mají rozdělení po prvotrimestrálním screeningu do tří skupin dle rizika, stejně jako u kontingenčního testu v prvním trimestru, ženám s vysokým rizikem se pak provádí invazivní vyšetření, u žen se středním rizikem je proveden ještě screening v druhém trimestru a pro ženy

s nízkým rizikem vyšetření prvotrimestrálním screeningem končí a dále se nevyšetřují. Jednotlivé varianty mezi sebou se liší v markerech, které se k vyšetření používají a v jakém období se stanoví, dále se liší v cut-off hodnotě v prvním trimestru těhotenství. Hodnota cut-off reguluje množství invazivních vyšetření a tím i falešnou pozitivitu, která může být od 1:9 do 1:30 [41].

Zhodnocení individuálního rizika

Po příchodu ženy na gynekologii dojde k potvrzení těhotenství. Dále následuje vyšetření pomocí jednoho z výše uvedených testů. Výsledek je udán jako hodnota rizika VVV [11].

Biochemický screening probíhá neinvazivně, kdy se odebírá matčino sérum, popř. moč. Jsou udány zásady, které jsou obecně platné, jimiž se diagnostika řídí, aby se dosáhlo co nejlepší spolehlivosti [11]. Pro provedení screeningu je nutný informovaný souhlas matky, kde je seznámena s rizikem falešné positivity i negativity. Na screeningu pracují jak gynekologové s jejich personálem, biochemická laboratoř, tak i genetická pracoviště. Jedná se tedy o mezioborovou spolupráci [9].

Pro správné vyhodnocení individuálního rizika je důležité znát mnoho informací týkající se rodinné anamnézy těhotné ženy, jejího věku i počet plodů, přičemž velmi důležitá je informace o gestačním stáří plodu, kterou lze zjistit ultrazvukem na základě hodnoty CRL. Pro získání co nejpřesnější hodnoty rizika má velkou váhu přesnost takového měření i kvalita užívaných diagnostických prostředků. Správnost UZ měření zajišťují mezinárodně uznávané standardy i postupy měření a pro biochemické testy jsou vytvořena doporučení odborných společností [14].

Byly vytvořeny různé validované počítačové programy (např. program ALPHA), které slouží k vyhodnocení výsledků a rizik pro nejdůležitější aneuploidie jako je trisomie 21., 18. a 13. chromozomu – Downův, Edwardsův a Patauův syndrom a defekty neurální trubice ve druhém trimestru. Pro Downův syndrom v prvotrimestrálním screeningu se v programu pro zpracování použijí hodnoty PAPP-A, volné beta-hCG, údaje o ženě (věk, hmotnost matky, způsob koncepce, etnický původ, kouření, předchozí gravidita s trisomií) a hodnota šíjového projasnění. Při zadání těchto údajů program vyhodnotí individuální riziko. Po této úpravě se hodnoty udávají v MoM – násobcích střední

hodnoty a značí výši odchylky od normy. Výsledky se mohou udávat také v podobě percentilů, kdy dojde ke srovnání individuálních hodnot s referenčními hodnotami populace. Tyto programy pracují pomocí regresních křivek, které závisí na gestačním stáří a důležitý je jejich tvar. Pro rozlišení hranice mezi negativním a pozitivním screeningem je udávána hodnota cut-off, která se nejvíce podobá ideálu, tzn. nejvyšší možná senzitivita při dané hodnotě falešné positivity. V případě, že je screening pozitivní, tedy hodnota rizika převyšuje hodnotu cut-off, znamená to, že riziko plynoucí z invazivních vyšetření je nižší než riziko aneuploidie plodu. Tato hodnota bývá mezi 1:250 a 1:350. Ženě je tedy doporučeno invazivní vyšetření a konzultace na klinické genetice [11], [12], [14], [17], [42]. Vyhodnocení screeningu v prvním trimestru je uvedeno na obr. 6 a vyhodnocení pro druhý trimestr je zobrazeno na obr. 7.

Počet plodů: 1

UZ provedl(a) MUDr. Jiří Hyjánek, Ph.D. dne 5.6.2015 na přístroji Voluson E8 Expert.

Referenční gestační stáří při vyšetření: (13 + 4) dle CRL, (12 + 3) dle PM

Ultrazvuk

CRL: 75,30 mm (13 + 4)

BPD: 24,40 mm (13 + 1)

NT: 2,30 mm = 1,29 MoM

Nosní kost: přítomna

FHR / z-skóre: 157 bpm / -0,06

Pulsace Ductus venosus: normální

Tricuspidární regurgitace: nepřítomna

Biochemické vyšetření

PAPP-A: 6,39 mIU/ml = 2,12 MoM

FBhCG: 190,00 ng/ml = 3,99 MoM

Odebráno: 25.5.2015 (12 + 0)

Hmotnost: 62 Kg.

Závěr

SCREENING NEGATIVNÍ

Kombinované riziko T21 z výsledků v I. trimestru: 1 / 2 250 (v termínu).

Kombinované riziko T 13+18 z výsledků v I. trimestru: 1 / 50 000 (v termínu).

Poznámky

Přítomnost nosní kosti snižuje stávající riziko aneuploidie přibližně 3x.

Optimální termín k odběru krve v II. trimestru je mezi 18.6.2015 a 2.7.2015.

20. týden začíná dnem 20.7.2015.

Riziko T21 a priori dle věku 1 / 1 100 .

Vizualizace dobrá.

Obrázek 6 – Výsledná zpráva o screeningu v prvním trimestru [43]

MUDr. Sadilek Jan
GynHelp s.r.o.
Tenisová 981
102 00 Praha 10

SCREENINGOVÉ CENTRUM GENNET
SYNLAB / GENNET
Kostelní 9, 170 00 Praha 7
Tel: 222 313 000, www.gennet.cz, info@gennet.cz

SKRÍNING VAD NEURÁLNÍ TRUBICE A DOWNOVY CHOROBY Datum zprávy 07 10 13

Příjmení : BALKOVA
Jméno : JITKA
[REDAKCE]
Datum narození : 11.02.83
PM : 09.06.13
Termín : 16.03.14
Datum odběru : 28.08.13
Datum II. odběru : 03.10.13
Číslo vyšetření : 8011408024

KLINICKÉ ÚDAJE A VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ

Pojišťovna : 207
Nosní kost : přítomna
Věk matky v termínu porodu : 31 let
UZ vyšetření(CRL) : 73 mm dne 11.09.13
Gest. stáří při 1.odběru : 11 týden 3 den (podle PM)
11 týden 3 den (dle CRL)
Gest. stáří při 2.odběru : 16 týden 4 den (podle PM)
16 týden 4 den (dle CRL)
Odhad gestace : Odhad dle UZ (CRL)
Váha : 79 kg
Hodnota MS-AFP : 34,2 ug/L : 1,03 MoM
Hodnota uE3 : 1,1 ug/L : 1,05 MoM
Hodnota Total hCG : 27,7 iu/L : 1,27 MoM
Hodnota PAPP-A : 2,26 iu/L : 2,10 MoM
NT rozměr : 1,9 mm : 1,09 MoM

INTERPRETACE

Výsledek : Skrining negativní
Riziko M.Down : 1 z 39000 (v termínu)
Riziko NTD : 1 z 11000
Poznámky : Riziko M.Down očekávané pouze vzhledem k věku matky je (1 z 870)

Zkontroloval SCREENINGOVÉ CENTRUM GENNET

 This is an Alpha report


moje těhotenství

Obrázek 7 – Zpráva o screeningu ve druhém trimestru těhotenství [44]

Komplikace výpočtu rizika

Mezi komplikace, které ovlivňují či úplně znemožňují výpočet rizika VVV patří např. vícečetné těhotenství, mola hydratosa způsobuje velmi nízké či velmi vysoké hodnoty AFP, redukce plodů po umělém oplodnění zvyšují hodnoty AFP i hCG, dále zamlklý potrat nebo smrt plodu in utero, kdy hodnoty biochemických markerů jsou

nezvykle vysoké a následně klesají a darované vejce, hlavně od mladších dárců, se špatně hodnotí z hlediska hmotnosti matky [45].

5 VÝSLEDKY

Uvedená data poskytl MUDr. Antonín Šípek, CSc., působící v centru PRONATAL a mimo jiné je od roku 2002 předsedou rady Národního registru vrozených vad vedeného v Ústavu zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS) ČR. Uvedená data jsou z České republiky z let 2006 až 2015.¹

Tabulka 2 – Celkový počet živě narozených dětí v ČR

Rok	Počet
2006	105831
2007	114642
2008	119570
2009	118348
2010	117153
2011	108673
2012	106614
2013	106751
2014	109860
2015	110764

¹ Data pro počty narozených dětí do r. 2012 včetně incidence na 10 000 živě narozených dětí se také nacházejí na uvedeném odkazu [46].

DOWNŮV SYNDROM

Tabulka 3– Prenatálně diagnostikováno plodů s Downovým syndromem (DS)

Rok	Počet prenatálně diagnostikovaných DS
2006	171
2007	196
2008	212
2009	207
2010	239
2011	230
2012	240
2013	252
2014	259
2015	264

Tabulka 4 – Děti narozené s Downovým syndromem

Rok	Počet narozených dětí s DS
2006	35
2007	59
2008	43
2009	49
2010	47
2011	55
2012	50
2013	46
2014	45
2015	43

Tabulka 5 – Počet narozených dětí s Downovým syndromem a prenatálně diagnostikované případy

Rok	Počet narozených dětí s DS + prenatálně diagnostikované případy
2006	206
2007	255
2008	255
2009	256
2010	286
2011	285
2012	290
2013	298
2014	304
2015	307

Incidence na 10 000 živě narozených dětí

Tabulka 6 – Incidence na 10 000 živě narozených dětí

Rok	Prenatální diagnostika DS	Narozené děti s DS	Narození + prenatální diagnostika DS
2006	16,16	3,31	19,46
2007	17,10	5,15	22,24
2008	17,73	3,60	21,33
2009	17,49	4,14	21,63
2010	20,40	4,01	24,41
2011	21,16	5,06	26,23
2012	22,51	4,69	27,20
2013	23,61	4,31	27,92
2014	23,58	4,10	27,67
2015	23,83	3,88	27,72

EDWARDSŮV SYNDROM

Tabulka 7 – Prenatálně diagnostikovaných plodů s Edwardsovým syndromem (ES)

Rok	Počet plodů s ES diagnostikováno prenatálně
2006	52
2007	52
2008	41
2009	52
2010	71
2011	76
2012	57
2013	74
2014	110
2015	78

Tabulka 8 – Děti narozené s Edwardsovým syndromem

Rok	Počet narozených dětí s ES
2006	9
2007	7
2008	2
2009	4
2010	10
2011	8
2012	7
2013	3
2014	3
2015	5

Tabulka 9 – Počet narozených dětí s Edwardsovým syndromem a prenatálně diagnostikované případy

Rok	Počet narozených dětí s ES + prenatálně diagnostikované případy
2006	61
2007	59
2008	43
2009	56
2010	81
2011	84
2012	64
2013	77
2014	113
2015	83

Incidence na 10 000 živě narozených dětí

Tabulka 10 – Incidence na 10 000 živě narozených dětí

Rok	Prenatální diagnostika ES	Narozené děti s ES	Narození + prenatální diagnostika ES
2006	4,91	0,85	5,76
2007	4,54	0,61	5,15
2008	3,43	0,17	3,60
2009	4,39	0,34	4,73
2010	6,06	0,85	6,91
2011	6,99	0,74	7,73
2012	5,35	0,66	6,00
2013	6,93	0,28	7,21
2014	10,01	0,27	10,29
2015	7,04	0,45	7,49

PATAUŮV SYNDROM (PS)

Tabulka 11 – Počet prenatalně diagnostikovaných případů s Patauovým syndromem

Rok	Počet plodů s PS diagnostikováno prenatalně
2006	19
2007	18
2008	24
2009	15
2010	21
2011	22
2012	32
2013	27
2014	30
2015	25

Tabulka 12 – Děti narozené s Patauovým syndromem

Rok	Počet narozených dětí s PS
2006	3
2007	2
2008	3
2009	0
2010	1
2011	1
2012	1
2013	3
2014	2
2015	2

Tabulka 13 – Počet narozených dětí s Patauovým syndromem a prenatalně diagnostikované případy

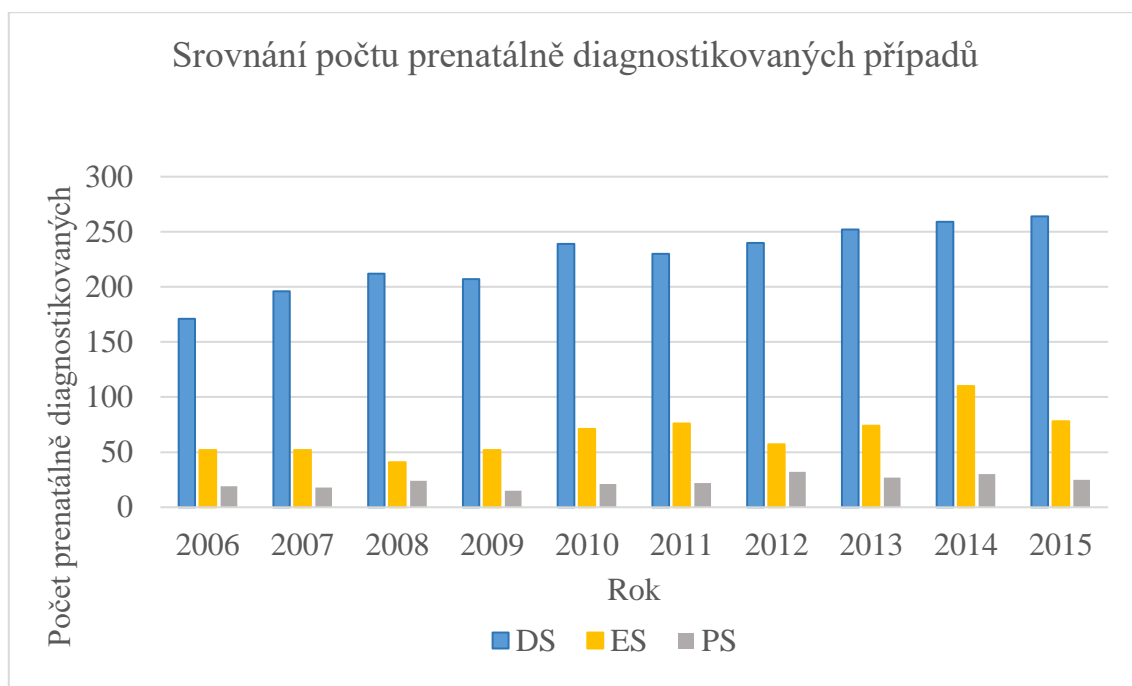
Rok	Počet narozených dětí s PS + prenatálně diagnostikované případy
2006	22
2007	20
2008	27
2009	15
2010	22
2011	23
2012	33
2013	30
2014	32
2015	27

Incidence na 10 000 živě narozených dětí

Tabulka 14 – Incidence na 10 000 živě narozených dětí

Rok	Prenatálně diagnostikované PS	Narozených dětí s PS	Počet narozených dětí s PS + prenatálně diagnostikované případy
2006	1,80	0,28	2,08
2007	1,57	0,17	1,74
2008	2,01	0,25	2,26
2009	1,27	0,00	1,27
2010	1,79	0,09	1,88
2011	2,02	0,09	2,12
2012	3,00	0,09	3,10
2013	2,53	0,28	2,81
2014	2,73	0,18	2,91
2015	2,26	0,18	2,44

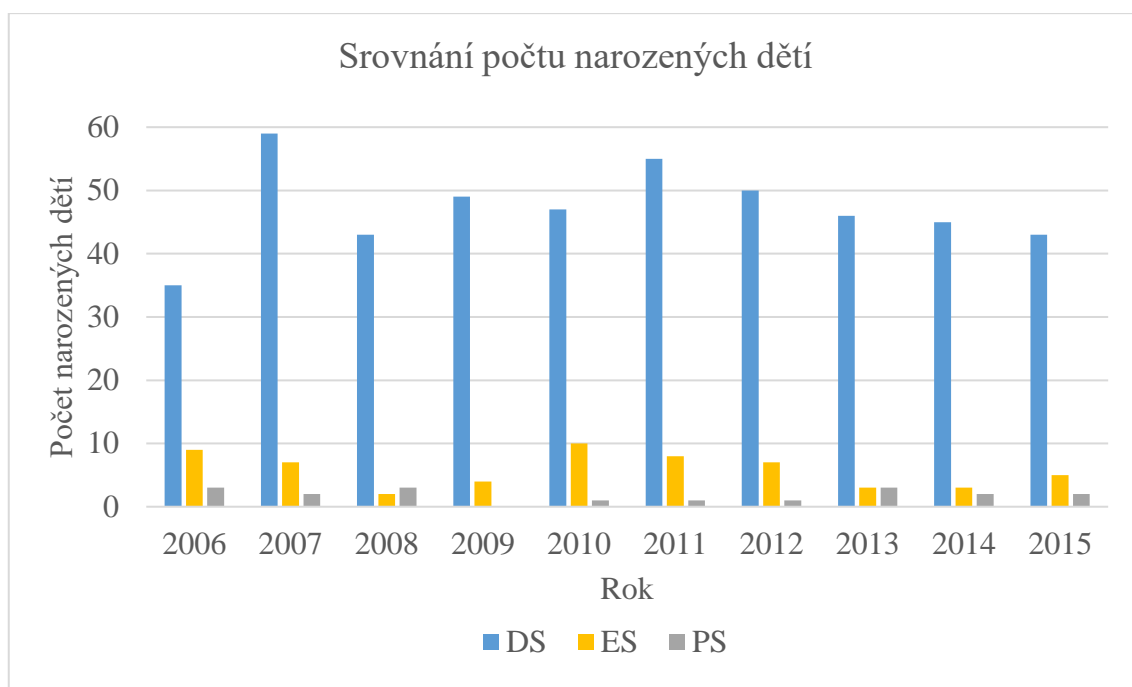
Z výše uvedených grafů je možné vidět výskyt Downova, Edwardsova a Patauova syndromu za uvedené časové období (2006–2015). Z tabulek 3, 7 a 11 můžeme vidět počty diagnostikovaných případů v prenatalní diagnostice. Srovnání lze vidět na grafu uvedeném níže. (Obr. 8)



Obrázek 8 – Srovnání počtu prenatalně diagnostikovaných případů

U Downova syndromu můžeme vidět pozvolný nárůst prenatalně diagnostikovaných případů. Z uvedených dat je zřejmé, že Downův syndrom je nejčastěji se vyskytující z uvedených syndromů. Průměrně se prenatalně diagnostikuje 227 případů. U Edwardsova syndromu je možné pozorovat lehké kolísání hodnot. Průměr těchto hodnot je 66,3, což je 3,42x méně než u Downova syndromu. Patauův syndrom se v posledních pěti letech drží mezi 20 a 30 případy ročně, což může být zapříčiněno například právě vyšší úmrtností plodů v období gravidity. Průměrně se diagnostikuje 23,3 plodů s tímto syndromem, to je 9,74x méně než Downův syndrom a 2,91x méně než Edwardsův syndrom.

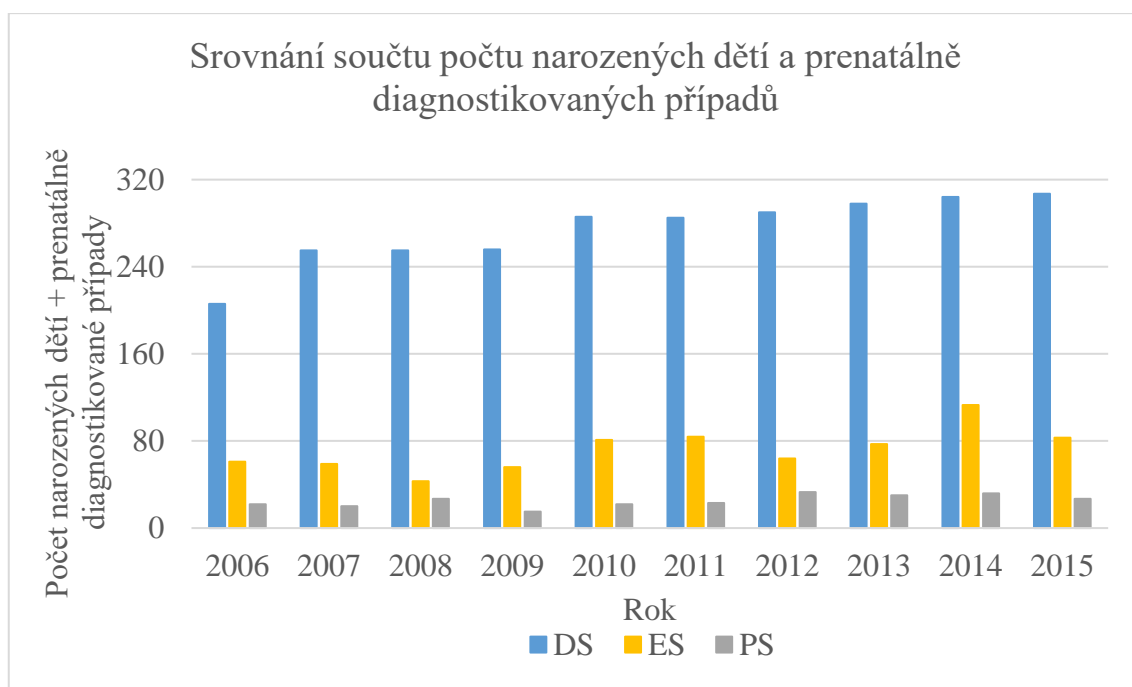
Z tabulek 4, 8 a 12 lze vidět počty narozených dětí s jednotlivými syndromy. Graf pro srovnání je uveden níže (obr. 9).



Obrázek 9 – Srovnání počtu narozených dětí narozených s jednotlivými syndromy

Z grafu je opět patrné, že nejčetnější výskyt má Downův syndrom i mezi narozenými dětmi. Hodnoty jsou kolísavé, nicméně od roku 2011 hodnoty narozených dětí s Downovým syndromem klesají. Průměrně za rok se narodí 47,2 dětí. U Edwardsova syndromu je z grafu patrné kolísání hodnot, tyto hodnoty však nepřesahují 10 narozených dětí s Edwardsovým syndromem za rok. Průměrně se narodí 5,8 dítěte za rok s Edwardsovým syndromem. To je 3,34x méně než s Downovým syndromem. Četnost narozených dětí s Patauovým syndromem se od roku 2006 drží pod hranicí 5 narozených dětí za rok. V roce 2009 se dokonce nenarodilo žádné dítě postižené tímto syndromem. Za rok se průměrně narodí 1,8 dítěte, což je 26,22x méně než narozených dětí s Downovým syndromem a 8,14x méně než počet narozených dětí s Edwardsovým syndromem.

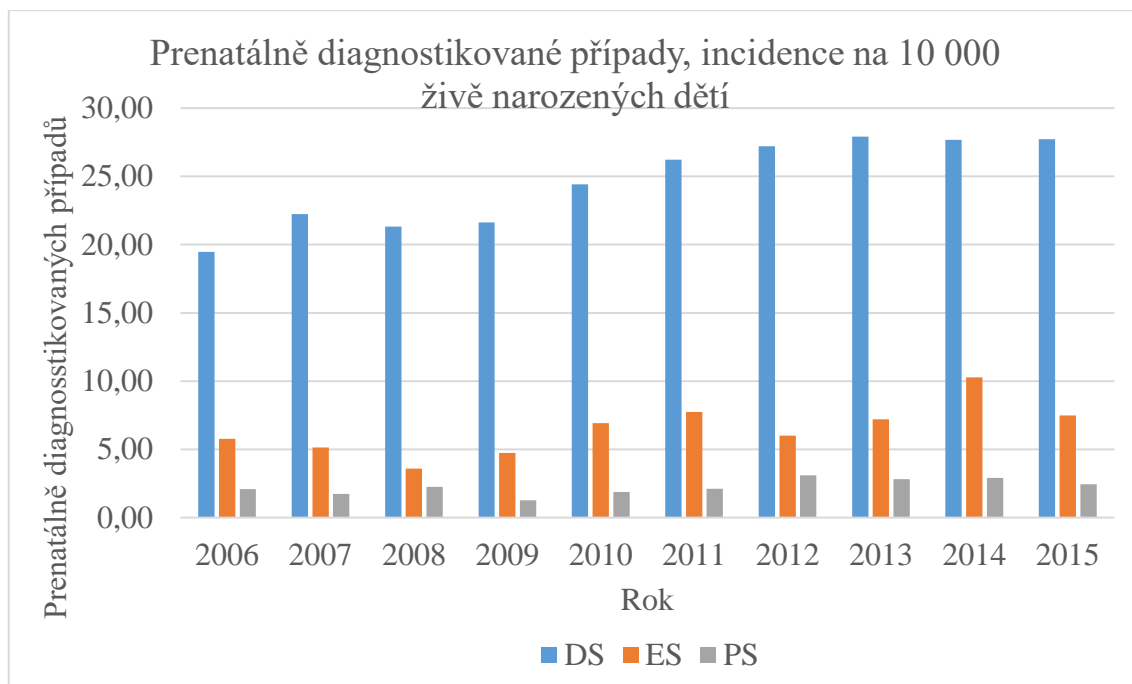
Jako další tabulky (tab. 5, 9, 13) jsou uvedeny případy prenatalně diagnostikovaných syndromů v součtu s počtem narozených postižených dětí. Porovnání je na grafu pod textem. (Obr. 10)



Obrázek 10 – Srovnání součtu prenatalně diagnostikovaných případů a narozených dětí

Z tohoto grafu je možné u Downova syndromu pozorovat lehký nárůst v celkovém počtu případů. Průměrně za rok se celkově prenatalně diagnostikuje, včetně narozených dětí s Downovým syndromem, 274,2 plodů. Díky grafu je dobře viditelný fakt, o kolik je nižší zastoupení Edwardsova i Patauova syndromu. Celkově se prenatalně diagnostikuje a narodí dětí s ES v průměru 72,1 za rok, což je 3,8x menší počet než u Downova syndromu. Průměrná hodnota u Patauova syndromu je ještě nižší, ta dosahuje 25,1. Výskyt tohoto syndromu je 10,92x nižší než výskyt Downova syndromu a 2,87x nižší než výskyt Edwardsova syndromu. Hodnoty u Edwardsova i Patauova syndromu jsou kolísavé, u Edwardsova syndromu je však patrné, že tyto hodnoty stoupají.

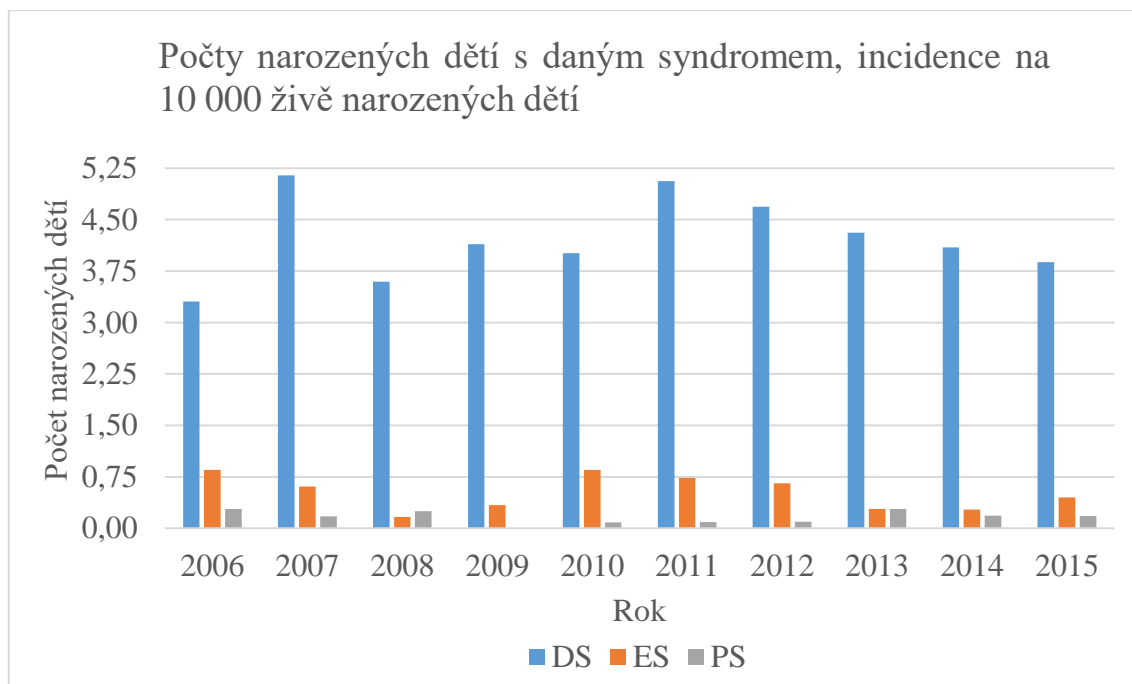
V obr. 11 můžeme vidět grafické porovnání počtů prenatalně diagnostikovaných případů na 10 000 živě narozených dětí.



Obrázek 11 – Grafické znázornění porovnání jednotlivých syndromů týkající se prenatálně diagnostikovaných případů na 10 000 živě narozených dětí

Z grafu výše je opět patrný rozdíl ve výskytu Downova syndromu oproti Edwardsovu a Patauovu syndromu i v prenatální diagnostice. Na 10 000 živě narozených dětí připadá v průměru 20,36 diagnostikovaných případů s Downovým syndromem. U Edwardsova syndromu je tento průměr výrazně nižší, a to 5,97 prenatálně diagnostikovaných případů na 10 000 živě narozených dětí. Patauův syndrom má tento průměr ještě nižší, zde je to 2,10 případy diagnostikovány prenatálně na 10 000 živě narozených dětí.

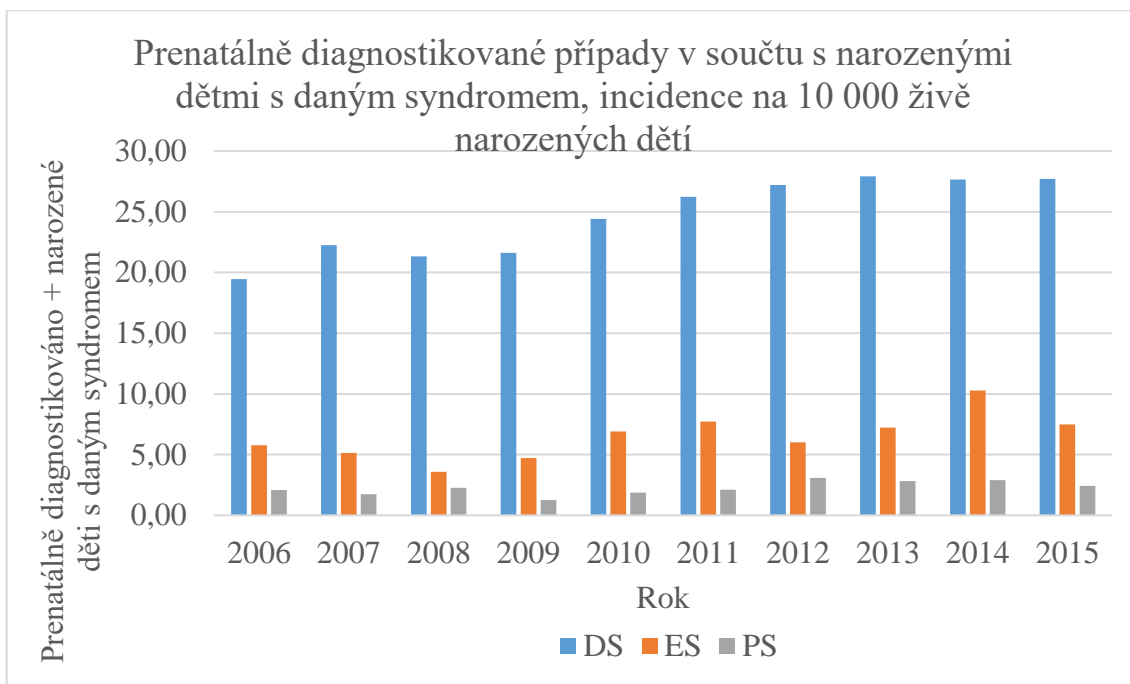
Dalším grafem je zobrazení počtu narozených dětí s daným syndromem na 10 000 živě narozených dětí. (Obr. 12)



Obrázek 12 – Grafické zobrazení porovnání počtu narozených dětí na 10 000 živě narozených dětí

Na obr. 12 jsou k vidění velké rozdíly týkající se incidence na 10 000 živě narozených dětí. Hlavně je možné pozorovat nemalý rozestup mezi Downovým syndromem a dvěma ostatními syndromy. Na 10 000 živě narozených dětí připadá průměrně 4,22 dětí s Downovým syndromem ročně. U Edwardsova syndromu je to průměrně 0,52 dítěte na 10 000 živě narozených dětí za rok a u Patauova syndromu na 10 000 živě narozených dětí za rok připadne v průměru 0,16 dítěte.

Na obr. 13 jsou zobrazeny součty prenatálně diagnostikovaných případů a narozených dětí s danými syndromy, incidence na 10 000 narozených dětí.



Obrázek 13 – Grafické znázornění porovnání součtu prenatálně diagnostikovaných syndromů a narozených dětí s tímto syndromem, počet případů na 10 000 živě narozených dětí

Na obr. 13 je grafické znázornění porovnání jednotlivých syndromů. Porovnávána byla data týkající se prenatálně diagnostikovaných případů s daným syndromem v součtu s narozenými dětmi s tímto syndromem. U Downova syndromu tento součet připadne průměrně na 24,58 případů z 10 000 živě narozených dětí. Tento průměr u syndromu Edwardsova je 6,49 případů na 10 000 živě narozených dětí a u Patauova syndromu je průměr 2,26 případy na 10 000 živě narozených dětí. Průměry pro Patauův a Edwardsův jsou opět výrazně nižší než pro Downův syndrom.

6 DISKUZE

Prvními metodami v prenatalní diagnostice bylo použití stetoskopu a palpce. Na počátku 20. století se objevilo použití RTG. V 50. a 60. letech následně bylo mezi metody v prenatalní diagnostice zařazeno použití ultrazvuku v druhém trimestru těhotenství. V roce 1966 se podařilo poprvé kultivovat plodovou vodu ve světě a do České republiky se tento pokrok dostal o 4 roky později. To vedlo k první úspěšné diagnostice Downova syndromu prenatalně. Deset let na to se podařila první CVS [47]. Následně došlo k velkým objevům v oblasti biochemie – začíná se užívat biochemický screening pomocí markerů AFP, nekonjugovaného estriolu, lidského choriového gonadotropinu. Ženě při vysokém riziku výskytu plodu s Downovým syndromem byla nabídnuta aminocentéza [48].

Kombinovaný screening v prvním trimestru má několik výhod i nevýhod. Mezi výhody patří například možnost brzkého řešení v případě potvrzení vrozené vady. Pro ženy je tento screening psychicky přijatelnější, zvláště pak jeho případné řešení při potvrzení diagnózy [40]. U rizikových pacientek je možné dřívejší informování a řešení situace. Další výhodou je také přesnější určení gestačního stáří v prvním trimestru a možnost diagnostikovat vícečetná těhotenství [49].

Nevýhodou může být fakt, že plody např. s Downovým syndromem jsou v některých případech jsou samovolně potraceny mezi 10.–13. tt [2]. Tento screening odhalí některé z těchto případů, což vede ke zvýšení stresu pro matku. Další nevýhodou je, že v tomto screeningu není zahrnuto AFP, tudíž screening pro defekty neurální trubice žena absolvuje až při ultrazvukovém vyšetření v druhém trimestru (20. týden), a navíc je tedy potřeba, aby toto vyšetření bylo provedeno ve velmi vysoké kvalitě. Jako další nevýhoda je riziko falešně pozitivního výsledku při následném odběru choriových klků, a to kvůli mozaikám přítomným ve vzorku tkáně placenty. Nevýhoda je i v ekonomickém směru, tento screening není hrazen pojišťovnou [50].

Výhodou biochemického screeningu v druhém trimestru je, díky sledování markeru AFP, odhalení defektů neurální trubice v 16. týdnu, tedy dříve než ve screeningu v prvním trimestru. Jako další výhodou je třeba zmínit jeho využití v případech těhotenství, které

byly zjištěny pozdě. Tento screening je pojišťovnou hrazen, což pro některé pacientky může být výhoda [50].

Nevýhodou biochemického v druhém trimestru je velký psychický nátlak u žen s pozitivním výsledkem screeningu. Následné řešení při potvrzení vrozené vývojové vady bývá pro ženu také velkým stresem, jelikož je již v pokročilejším stadiu těhotenství oproti prvnímu trimestru. Tento screening také nedisponuje tak dobrým záchytem jako prvotrimestrální screening i je přítomna vysoká falešná pozitivita [50].

U integrovaného testu je výhodou velmi dobrý záchyt, dále i nízká falešná pozitivita. Dále také tento screening obsahuje vyšetření AFP, dochází tedy k časnějšímu zjištění defektů neurální trubice. Nevýhodou může být ale vysoká hladina stresu pro matku, jelikož první vyšetření absolvuje již v prvním trimestru, následně musí dlouhou dobu čekat na testy v druhém trimestru. Na tento test je třeba dopláct [47], [50].

U sekvenčního testu je výhodou vysoká spolehlivost. V případě vysokého rizika dojde k diagnostikování vrozené vady již v prvním trimestru těhotenství. Dále tento test má opět zaintegrovan marker AFP, tudíž dochází k dřívějšímu diagnostikování defektů neurální trubice. Nevýhodou může být jeho vyšší cena [50].

Kontingenční testování jako kombinace screeningu v prvním a druhém trimestru – toto testování má nesporné výhody v tom, že díky rozdělení dle rizika do tří skupin provádíme u nejvíce rizikových pacientek invazivní vyšetření již v prvním trimestru. Další výhodou je možnost využití k vyšetření všech dostupných markerů. Z hlediska ekonomického toto testování přináší také výhody, jelikož ženy s nízkým rizikem, kterých je velká část, se testují jenom v prvním trimestru a pak už ne. V neposlední řadě je výhodou také vysoký záchyt, a to až 95 % a nízká falešná pozitivita, pohybující se do 3 %. Mezi nevýhody můžeme zařadit fakt, že u žen se středním rizikem se případné invazivní testy odsouvají až do druhého trimestru. Dalším problémem je, že některé matky se po vyhodnocení testu jako středně rizikové již nedostaví na druhotrimestrální screening. Odhaduje se, že těchto žen je až 5 % [41].

V článku Jaroslava Louckého a Michala Zemánka je porovnávána pozitivní prediktivní hodnota kombinovaného screeningu, integrovaného screeningu a NIPT. Z výsledků

v tabulce 15 je patrné, že neinvazivní prenatalní testování je nejvhodnějším možným testováním nejen z hlediska senzitivity, která dosahuje až 99 %, ale i z hlediska pozitivní prediktivní hodnoty. Neinvazivní prenatalní testování by tedy mohlo ušetřit spoustu žen, které mají screening pozitivní, ale ve skutečnosti pozitivní není, což se zjistí až invazivní diagnostikou, kterou musí podstoupit, pokud chtějí znát výsledek. Další velkou výhodou je testování nejen tří nejčastějších trizomií, ale i dalších aneuploidí jako je Turnerův, Klinefelterův syndrom, Supermale i Superfemale. Velkou nevýhodou je ovšem velká cena tohoto testu, která je v řádech tisíců korun, čímž se stává nedostupným pro významnou část žen. Dále by mělo být bráno v úvahu procento neinformativních výsledků [51]. Velmi důležitý na této tabulce je fakt, že zkoumanou populaci tvoří ženy s prevalencí Downova syndromu 1:500. Není tudíž jasné, zdali i u zbytku populace toto testování dosáhne stejných výsledků.

Tabulka 15 – Porovnání kombinovaného screeningu, integrovaného screeningu a NIPT při předpokladu 100 000 těhotných žen, prevalence Downova syndromu 1:500 [10], upraveno

Typ screeningu	Počet identifikovaných plodů s D.S.	Počet falešně pozitivních výsledků	Pozitivní prediktivní hodnota testu
Kombinovaný test (90 % senzitivita, 5 % falešná pozitivita)	180	4.991	1 z 28 (3,57 %)
Integrovaný test (90 % senzitivita, 2 % falešná pozitivita)	180	1.996	1 z 12 (8,33 %)
DNA test (99 % senzitivita, 0,2 % falešná pozitivita)	198	200 (199,6)	1 z 2 (50 %)

V tabulce č. 16 pak se pak porovnávala falešná pozitivita a vytiženost, která se týkala základních screeningů. Rozmezí, které je u falešné positivity, závisí na týdnu gravidity

při provedení testu [10]. Z uvedených výsledků tedy vyplývá, že nejvhodnější ze screeningů je integrovaný/sekvenční test. Tato tabulka potvrzuje názor, že testování biochemických parametrů PAPP-A, volný beta-hCG, popř. PIGF a NT v prvním trimestru a jejich následné zhodnocení, rozdělení žen podle rizika na skupinu s vysokým rizikem, která pokračuje na invazivní prenatalní testy, zbytek žen pak na screening v trimestru druhém a jeho následné vyhodnocení, je nejlepší možnou variantou v prenatalní diagnostice, která je dostupná.

Tabulka 16 – Falešná pozitivita a vytiženost [10]

	Falešná pozitivita při 85 % vytiženosti	Vytiženost při 5 % falešné pozitivitě
Integrovaný/sekvenční test	0,8 – 1,2 %	94 %
Sérum integrovaný test	2,7 – 5,2 %	85 %
Kombinovaný test	3,8 – 6,8 %	85 %
Triple nebo double test	9,3 – 14 %	69 %

Z dat uvedených v kapitole 5 je patrné, že v poslední letech došlo k menšímu nárůstu prenatalně diagnostikovaných případů Downova syndromu. To lze připisovat např. trendu otěhotnění až ve vyšším věku, kdy se rapidně zvyšuje riziko Downova syndromu s věkem matky. Což potvrzuje i literatura – viz tabulka 17. dále také jednou z příčin může být vznik dokonalejších metod, zajišťující lepší záchyt a tím vyšší procento případů. Dále by také bylo možné uvažovat o neustále se snižující věkové hranici prenatalních screeningů, ty se provádějí dříve, než tomu bylo před několika lety.

Tabulka 17 – Riziko výskytu Downova syndromu v závislosti na věku matky [52]

Věk matky (let)	Riziko Downova syndromu	
	ve 12. týdnu	za porodu
20	1 z 1070	1 z 1530
25	1 z 950	1 z 1350
30	1 z 630	1 z 900
32	1 z 460	1 z 660
34	1 z 310	1 z 450
35	1 z 250	1 z 360
36	1 z 200	1 z 280
38	1 z 120	1 z 170
40	1 z 70	1 z 100
42	1 z 40	1 z 55
44	1 z 20	1 z 30

Dále z grafů vyplývá, že Downův syndrom je nejčastěji vyskytujícím se syndromem jak v prenatalně diagnostikovaných případech, tak v počtech narozených dětí. Tento relativně vysoký výskyt je způsoben například s nejvyšší slučitelností se životem, tím i menší počet případů samovolných potratů u žen oproti ostatním syndromům.

Je možné vidět, že hodnoty u Downova syndromu týkající se narození, se nijak rapidně nemění v posledních deseti letech, tudíž není možné mluvit o větší míře potratů z genetických důvodů v posledních letech. Nicméně lehký pokles můžeme připsat například snižujícímu se procentu věřících žen, které odmítají interrupci z náboženských důvodů a narůstajícímu ateismu či méně ortodoxní víře. Dále tento pokles je možné připsat lepší diagnostice i záchytu, a hlavně klesajícímu procentu falešné negativy.

Počty narozených dětí s PS jsou velmi nízké. Je nutno dodat, že Patauův syndrom je natolik těžké postižení s četnými komplikacemi, tudíž rozhodnutí matky o pokračování v těhotenství je ve většině případů z náboženského přesvědčení.

Zvýšený nárůst v počtu prenatalně diagnostikovaných případů v součtu s počtem narozených dětí s Downovým syndromem lze připsat např. již zmíněné zvyšující se

přesnosti diagnostických metod, snížení falešné negativity i positivity, a i zvýšení dostupnosti již uvedených testů, což se týká i prvotrimestrálního testování. Dále také těhotenství ve vyšším věku, zvláště pak těhotenství po dosažení 35 let věku a častý výskyt prvorodiček, které přesáhly hranici 30 let věku.

V případě potvrzení vrozené vývojové vady má před sebou žena i její partner velmi těžké rozhodnutí. Klinický genetik jí nabídne možnost pokračovat v těhotenství, ale i možnost těhotenství z genetických důvodů ukončit. Zde narážíme na velký etický problém a na otázku, zdali je nenarozené dítě již člověk, a tudíž má právo na život. Na druhé straně je zde rodina postiženého dítěte, která by měla mít možnost volby, zdali chce postižené dítě vychovávat či nikoliv, jelikož pro blízkou rodinu je to obrovská starost. Takový člověk potřebuje péči 24 hodin denně. Měla by tedy mít právo takovou zátěž odmítnout. Dalším aspektem je také míra postižení dítěte. Pokud se narodí velmi těžce postižené dítě, které bude žít v neustálé bolesti a za krátko nejspíš zemře, je otázkou, zdali je právo na život víc než utrpení, které si pak bude muset prožít. Názory na toto téma se velmi liší. Velkým odpůrcem interrupcí jsou některá náboženství (např. křesťanství). V některých zemích, kde je velké procento věřících jsou potraty vymezeny na určité situace, nebo dokonce zakázány úplně.

7 ZÁVĚR

V této práci bylo cílem zmapovat informace o biochemických markerech využívaných v laboratorním screeningu VVV. Dále bylo úkolem podat přehled o prenatální diagnostice jako takové, o invazivních i neinvazivních metodách prenatálního testování, o vrozených vadách.

V praktické části bylo popsáno vyhodnocení individuálního rizika i shrnutí jednotlivých forem prenatálního testování, ze kterých má žena možnost volby. Uveden byl chronologický postup jednotlivých vyšetření. Následně byla zpracována statistická data, ze kterých vyplynulo, že Downův syndrom je nejčastěji diagnostikovaný syndrom jak v období prenatálním, tak po porodu. Jeho výskyt byl několikanásobně vyšší než výskyt Edwardsova i Patauova syndromu. Dále bylo z dostupné literatury zjištěno, že nejlepší možnou variantou běžně dostupného prenatálního screeningu je varianta sekvenčního/integrovaného testu.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AFP	– alfa-fetoprotein
CRL	– crown-rump length (temenokostrční délka)
CVS	– chorionic villus sampling (=odběr choriových klků)
DS	– Downův syndrom
ES	– Edwardsův syndrom
FISH	– fluorescenční in situ hybridizace
GnRH	– gonadotropiny uvolňující hormon releasing
IGFBP	– insulin-like growth factor binding protein
IRMA	– imunoradiometrická analýza
IUGR	– intrauteriní růstová retardace
PCR	– řetězová polymerázová reakce
PS	– Patauův syndrom
QF-PCR	– quantitative fluorescent polymerase chain reaction
RIA	– radioimunoanalýza
TRACE	– Time Resolved Amplified Cryptate Emission
tt	– týden těhotenství
UZ	– ultrazvuk
VVV	– vrožené vývojové vady

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SADLER, T. W. *Langmanova lékařská embryologie*. 1. vydání. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-2640-3
- [2] COADY, A. M., BOWER, S. *Twining's textbook of fetal abnormalities*. 3rd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2015. ISBN 978-0-7020-4591-2
- [3] ŠÍPEK, A. a kol. Vrozené vady. *Vrozené vady* [online]. [cit. 22. 03. 2017]. Dostupné z: <http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/>
- [4] ŠÍPEK, A. a kol. Definice a rozdělení vrozených vad. *Vrozené vady* [online]. [cit. 22. 03. 2017]. Dostupné z: http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=definice_vady
- [5] ŠÍPEK, A. Definice a rozdělení vrozených vad. In: *Vrozené vady* [online]. [cit. 25. 03. 2017]. Dostupné z: http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Vrozene_vady_a_lekarska_genetika_2010-2011.pdf
- [6] TONAR, Z. Osnova přednášky volitelného předmětu Vrozené a vývojové vady, zimní semestr. In: *Ústav histologie a embryologie. Lékařská fakulta v Plzni* [online]. [cit. 12. 05. 2017]. Dostupné z: www.lfp.cuni.cz/histologie/education/doc/outlines/sylabus_vvv.pdf
- [7] ŠÍPEK, A. Příčiny vrozených vad a teratogeny. *Vrozené vady* [online]. [cit. 25. 03. 2017]. Dostupné z: http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=priciny_vad_teratogeny
- [8] MAŘÍKOVÁ, T., SEEMANOVÁ, E. *Klinická genetika: praktické aplikace*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2013, 59 s. ISBN 978-80-246-2318-4
- [9] SPRINGER D. aj. Screening Downova syndromu a jeho další perspektivy. In: *zdravi.euro.cz - Zdravotnictví a medicína* [online]. 18. 03. 2015 [cit. 28. 1. 2017]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/screening-downova-syndromu-a-jeho-dalsi-perspektivy-478285>
- [10] LOUCKÝ, J., SPRINGER, D., ŠUBRT, I. Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství. *Klinická biochemie a metabolismus: časopis České společnosti klinické biochemie*. 2015, 23, 1, 27-30. ISSN 1210-7921
- [11] HÁJEK, Z., KULOVANÝ E., MACEK M. *Základy prenatální diagnostiky*. 1. vydání. Praha: Grada, 2000. ISBN 80-7169-391-X

- [12] ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 3. vydání. Praha: Galén, 2013. ISBN 978-80-7492-062-2
- [13] Společnost lékařské genetiky ČLS JEP. Provádění všeobecného prenatalního screeningu vrozených vývojových vad *Klinická biochemie a metabolismus: časopis České společnosti klinické biochemie*. 2014, 22, 1, 40–42. ISSN 1210-7921
- [14] LOUCKÝ, J. Prenatální screening vrozených vývojových vad plodu a biochemická diagnostika. *GynUltrazvuk* [online]. [cit. 04. 04. 2017]. Dostupné z: <http://www.gynultrazvuk.cz/data/staticky-text/1/dokumenty/raabe-16el-pln-c5-5bez.pdf>
- [15] STEJSKAL, D. Prenatální screening vrozených vad. *Moderní babičtví*. 2004, 4, ISSN 1214-5572
- [16] MASOPUST, J. Alfa-fetoprotein – historie a význam jeho objevu (2.část). *Labor aktuell*. 2007, 3, 4-9, ISSN 1214 – 7672
- [17] HROMADÍKOVÁ, I. Prenatální diagnostika. *SlidePlayer* [online]. [cit. 04. 04. 2017]. Dostupné z: <http://slideplayer.cz/slide/3748034/>
- [18] HÁJEK, Z., ČECH, E., MARŠÁL, K., a kol. *Porodnictví*. 3. vydání. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4529-9
- [19] AHOKAS, R., MCKINNEY, E. Development and Physiology of the Placenta and Membranes. In: *The Global Library of Womes's Medicine*. [online]. 2008. [cit. 12. 05. 2017]. Dostupné z: http://www.glowm.com/section_view/heading/Development%20and%20Physiology%20of%20the%20Placenta%20and%20Membranes/item/101
- [20] Understanding Pregnancy Tests: Urine & Blood. *American Pregnancy Association*. [online]. 04. 03. 2017. [cit. 04.04.2017]. Dostupné z: <http://americanpregnancy.org/getting-pregnant/understanding-pregnancy-tests/>
- [21] JAIN, R. Baseline serum chemistry in first trimester. *SlideShare* [online]. LinkedIn Corporation; 2017. 27. 01. 2014 [cit. 12.05.2017]; 38 s. Dostupné z: <https://www.slideshare.net/RohitJain10/baseline-serum-chemistry-in-1st-trimester>
- [22] Screening vrozených vývojových vad plodu – PAPP-A. *Lab Tests Online*. [online]. 30. 03. 2010 [cit. 12. 04. 2017]. Dostupné z: <http://www.labtestsonline.cz/screening/PAPP-A.html?tab=3>
- [23] NOVOTNÝ, D. *Prenatální a perinatální laboratorní diagnostika: [od fyziologie k medicíně : integrace vědy, výzkumu odborného vzdělávání a praxe]*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011, 60 s. ISBN 978-80-244-2913-7.
- [24] KOTAČKOVÁ, L. Estriol volný – screening vrozených vad. *Top lékař*.

[online]. [cit. 12. 04. 2017]. Dostupné z: <http://www.toplekar.cz/laboratorni-hodnoty/estriol-volny-screening-vrozenych-vad.html?znak=E>

[25] PIGF – placentární růstový faktor. In: *Imalab*. [online]. [cit. 12. 04. 2017]. Dostupné z: <http://www.imalab.cz/images/file/PIGF.pdf>

[26] MATSUI, M., UEMURA, S., TAKEDA, Y., et al. Placentární růstový faktor a kardiovaskulární riziko u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. *Postgraduální nefrologie*. [online]. České nefrologické společnosti a Společnosti pro Organové Transplantace ČLS JEP, 2015, 4, 55-57. [cit. 05. 04. 2017]. ISSN 1214-178X. Dostupné z: <https://www.postgradualnefrologie.cz/download/format/pdf/id/648/>

[27] PIGF: Placentární růstový faktor. *Imalab*. [online]. [cit. 09. 04. 2017]. Dostupné z: <http://www.imalab.cz/clanek/184-plgf-placentarni-rustovy-faktor.aspx>

[28] Diagnostika preeklampsie. *RNDr. Zdeněk Čecháček, s.r.o.* [online]. 2013 [cit. 12. 05. 2017]. Dostupné z: <http://rndr-zdenek-cechacek-s-r-o.webnode.cz/news/diagnostika-preeklampsie/>

[29] NEKULOVÁ, M., ŠIMÍČKOVÁ, M. *Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi*. [online]. 25. 08. 2004 [cit. 05. 04. 2017]. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/C/VPABG.htm>

[30] HCG. In: *Lab Tests Online*. [online]. 17. 09. 2008 [cit. 12. 04. 2017]. Dostupné z: <http://www.labtestsonline.cz/tests/hCG.html?tab=3>

[31] BARTOŠ, V. et al. *Imunoanalytické metody a jejich využití v biomedicinském výzkumu a klinické praxi*. [online]. [cit. 05. 04. 2017]. 74 s. Dostupné z: <http://www.imunokurzy.cz/studijni-materialy-kategorie/monografie.html?download=3:principy-imunoanalytickych-metod>

[32] ŠTERN, P. Stanovení volného tyroxinu (fT4). *Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi*. [online]. 03. 01. 2011. 04. 01. 2011 [cit. 03. 05. 2017]. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/C/STADA.htm>

[33] Chemiluminiscence. *Chemie a světlo*. [online]. [cit. 22. 04. 2017]. Dostupné z: http://www.chemieasvetlo.cz/?page_id=33

[34] Screening vrozených vývojových vad. In: *Fakultní nemocnice Hradec Králové*. [online]. [cit. 22.04. 2017]. Dostupné z: <https://www.fnhk.cz/fs1189/screening.doc>

[35] ROCHE DIAGNOSTICS. AFP. *Roche.cz*. [online]. 2016 [cit. 22. 04. 2017]. Dostupné z: <http://objednavky.roche-diagnostics.cz/objednavky/info/04481798190p.pdf>

[36] ROCHE DIAGNOSTICS. PAPP-A. *Roche.cz*. [online]. 2014 [cit. 22. 04. 2017]. Dostupné z: <http://objednavky.roche-diagnostics.cz/objednavky/info/04854098p.pdf>

- [37] ROCHE DIAGNOSTICS. PIGF. *Roche.cz*. [online]. 2015 [cit. 22. 04. 2017].
Dostupné z: <http://objednavky.roche-diagnostics.cz/objednavky/info/05144671190p.pdf>
- [38] ŠÍPEK, A. a kol. Downův syndrom. *Vrozené vady* [online]. [cit. 20. 04. 2017].
Dostupné z: http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=downuv_syndrom
- [39] HYNEK, M., ZEMBOL F., PUTZOVÁ M., et al. Distribuce volné DNA v plazmě těhotných – neinvazivní prenatalní testování těhotných. *Aktuální gynekologie a porodnictví*. [online] 2014, 6, 82 s. [cit. 21. 04. 2017]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: http://www.actualgyn.com/pdf/en_2014_145.pdf
- [40] Screening v I. trimestru těhotenství. In: *Gynfem s. r. o.* [online]. [cit. 03. 05. 2017]. Dostupné z: <http://www.gynfem.cz/screening-v-i-trimestru-tehotenstvi>
- [41] BELOŠOVIČOVÁ, H., CALDA, P. Screening Downova syndromu v prvním, druhém nebo obou trimestrech? *Aktuální gynekologie a porodnictví*. [online]. 2012, 4, 14–21 s. [cit. 03. 05. 2017]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: http://www.actualgyn.com/pdf/cz_2012_67.pdf
- [42] BIELKOVÁ, H. Trimestrálny screening, Triple test. *Fertility.sk*. [online]. 28. 01. 2013 [cit. 03. 05. 2017]. Dostupné z: https://www.fertility.cz/sk_SK/tehotenstvo/tehotensky-screening.html
- [43] Výsledky screeningu v 1. trimestru hodnota FBHCG. In: *Lekari-online.cz*. [online]. 11. 06. 2015 [cit. 05. 05. 2017]. Dostupné z: <http://www.lekari-online.cz/tehotenstvi-porodnictvi/diskuze/vysetreni-nt-biochemicky-screening-v-1-trimestru/vysledky-screeningu-v-1-trimestru-hodnota-fbhcg-i136952>
- [44] 20tt + 3. In: *Moje těhotenství* [online]. 30. 10. 2013 [cit. 05. 05. 2017]. Dostupné z: <http://www.mojetehotenstvi.cz/20tt-3-0>
- [45] BÁLKOVÁ, O. Biochemický screening VVV. *Roche.cz*. [online]. 2008 [cit. 05. 05. 2017]. Dostupné z: http://objednavky.roche-diagnostics.cz/download/prolekare/biochem_screening_VVV_web_June08.pdf
- [46] Vrozené vady u narozených. *Ústav zdravotnických informací a statistik ČR*. [online]. [cit. 17. 05. 2017]. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/category/tematicke-rady/zdravotnicka-statistika/vrozene-vady>
- [47] Pokroky v prenatalní diagnostice. *Masarykova univerzita*. [online]. 08. 11. 2016 [cit. 15. 05. 2017]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/podzim2016/Bi9325/um/08_Kadlecova_Pokroky_v_prenatalni_diagnostice_MGC2016.pdf

[48] CALDA, Pavel. Prenatální diagnostika a léčba plodu. *Moderní gynekologie a porodnictví*. únor 1998, 7, 2. ISSN 1211-1058.

[49] Těhotenský screening, ultrazvuky v graviditě. *Gynmeda*. [online]. [cit. 16. 05. 2017]. Dostupné z: <http://www.gynmeda.cz/tehotensky-screening-prvni-trimestr-druhy-trimestru-ultrazvuk>

[50] BĚLOBRÁDKOVÁ, I. Prenatální screening VVV. *Genetika Pardubice*. [online]. [cit. 15. 05. 2017]. Dostupné z: http://www.genetikapardubice.cz/_ftp/prenatalniscreening.PDF

[51] LOUCKÝ, J., ZEMÁNEK, M. Neinvazivní prenatální diagnostika nejčastějších chromozomálních aneuploidií – některé další aspekty. *Aktuální gynekologie a porodnictví*. [online]. 2013, 5, 6–7 s. [cit. 15. 05. 2017]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: http://www.actualgyn.com/pdf/en_2013_95.pdf

[52] CALDA, P. Vyhledávání plodů s Downovým syndromem v I. trimestru. *Všeobecná fakultní nemocnice v Praze*. [online]. 2008 [cit. 15. 05. 2017]. Dostupné z: <http://www.vfn.cz/priloha/4d2dba7809e9d/info-pac-i-trim-screen.pdf>

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Hladiny AFP v mateřském séru v týdnech gestace [17].....	24
Obrázek 2– Hladiny hCG během týdnů těhotenství [19].....	25
Obrázek 3– Průběh hladin PAPP-A mezi 10. a 14. týdnem těhotenství [21].....	27
Obrázek 4– Metabolismus estriolu v těhotenství [23]	28
Obrázek 5– Kontingenční test [42]	42
Obrázek 6 – Výsledná zpráva o screeningu v prvním trimestru [43]	45
Obrázek 7– Zpráva o screeningu ve druhém trimestru těhotenství [44].....	46
Obrázek 8– Srovnání počtu prenatalně diagnostikovaných případů.....	55
Obrázek 9– Srovnání počtu narozených dětí narozených s jednotlivými syndromy..	56
Obrázek 10– Srovnání součtu prenatalně diagnostikovaných případů a narozených dětí.....	57
Obrázek 11– Grafické znázornění porovnání jednotlivých syndromů týkající se prenatalně diagnostikovaných případů na 10 000 živě narozených dětí	58
Obrázek 12– Grafické zobrazení porovnání počtu narozených dětí na 10 000 živě narozených dětí	59
Obrázek 13– Grafické znázornění porovnání součtu prenatalně diagnostikovaných syndromů a narozených dětí s tímto syndromem, počet případů na 10 000 živě narozených dětí.	60

11 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1 – Preanalytické požadavky [10]	33
Tabulka 2 – Celkový počet živě narozených dětí v ČR	48
Tabulka 3– Prenatálně diagnostikováno plodů s Downovým syndromem (DS)	49
Tabulka 4 – Děti narozené s Downovým syndromem	49
Tabulka 5 – Počet narozených dětí s Downovým syndromem a prenatálně diagnostikované případy	50
Tabulka 6 – Incidence na 10 000 živě narozených dětí	50
Tabulka 7 – Prenatálně diagnostikovaných plodů s Edwardsovým syndromem (ES)	51
Tabulka 8 – Děti narozené s Edwardsovým syndromem	51
Tabulka 9 – Počet narozených dětí s Edwardsovým syndromem a prenatálně diagnostikované případy	52
Tabulka 10 – Incidence na 10 000 živě narozených dětí	52
Tabulka 11 – Počet prenatálně diagnostikovaných případů s Patauovým syndromem	53
Tabulka 12 – Děti narozené s Patauovým syndromem	53
Tabulka 13 – Počet narozených dětí s Patauovým syndromem a prenatálně diagnostikované případy	54
Tabulka 14 – Incidence na 10 000 živě narozených dětí	54
Tabulka 15 – Porovnání kombinovaného screeningu, integrovaného screeningu a NIPT při předpokladu 100 000 těhotných žen, prevalence Downova syndromu 1:500 [10], upraveno	63
Tabulka 16 – Falešná pozitivita a vytíženost [10].....	64
Tabulka 17 – Riziko výskytu Downova syndromu v závislosti na věku matky [52].	65