



Univerzita Karlova v Praze

3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Ústav pro péči o matku a dítě v Praze Podolí

Kristýna Finkeová

Detekce plodů s vrozenou vývojovou vadou v I. trimestru gestace

*Detection of fetal abnormalities in the
I. trimester of pregnancy*

Diplomová práce

Praha, leden 2010

Autor práce: Kristýna Finkeová

Studijní program: Všeobecné lékařství

Vedoucí práce: **MUDr. Ladislav Krofta, CSc.**

Pracoviště vedoucího práce: **Ústav pro péči o matku
a dítě v Praze Podolí**

Datum a rok obhajoby: 20. 1. 2010

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracoval/a samostatně a použil/a jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne

Kristýna Finkeová

Obsah

ÚVOD	6
1. VROZENÉ VÝVOJOVÉ VADY DETEKOVATELNÉ V I. TRIMESTRU	7
1.1. <i>Etiologie vrozených vad a genetických chorob</i>	8
1.2. <i>Chromozomální aberace</i>	9
1.3. <i>Ostatní vady.....</i>	10
2. PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA A SCREENING VROZENÝCH VÝVOJOVÝCH VAD V I. TRIMESTRU	11
2.1. <i>Indikace k prenatální diagnostice</i>	12
2.2. <i>Parametry screeningových testů</i>	13
2.3. <i>Vyšetřovací metody v I. trimestru</i>	13
2.3.1. <i>Ultrazvukové vyšetření v I. trimestru</i>	13
2.3.2. <i>Detekce chromozomálních vad</i>	14
2.3.2.1. <i>Nuchální translucence.....</i>	14
2.3.2.2. <i>Chybění nosní kosti plodu</i>	16
2.3.2.3. <i>Temeno-kostrční délka</i>	16
2.3.2.4. <i>Délka horní čelisti</i>	17
2.3.3. <i>Detekce jiných vrozených vývojových vad</i>	17
2.3.4. <i>Cytogenetický screening</i>	17
2.3.5. <i>Invazivní vyšetření v I. trimestru</i>	18
2.3.5.1. <i>Amniocentéza</i>	18
2.3.5.2. <i>Časná amniocentéza</i>	19
2.3.5.3. <i>Indikace k amniocentéze</i>	19
2.3.5.4. <i>Komplikace amniocentézy</i>	20
2.3.5.5. <i>Biopsie choria a vyšetření z choriových klků</i>	20
2.3.5.6. <i>Indikace k biopsii choriových klků</i>	21
2.3.5.7. <i>Komplikace biopsie choriových klků.....</i>	21
2.3.6. <i>Biochemický screening</i>	22
2.3.6.1. <i>hCG – lidský choriový gonadotropin</i>	22
2.3.6.2. <i>PAPP-A</i>	24
2.3.6.3. <i>Protein SP1</i>	25
2.3.6.4. <i>Volný estriol</i>	26
2.3.6.5. <i>Alfafetoprotein.....</i>	27
2.3.6.6. <i>Inhibin A.....</i>	29

2.3.7. Kombinovaná vyšetření	29
2.3.7.1. Kombinovaný test	30
2.3.7.2. Integrovaný screening I. a II. trimestru	30
2.3.7.3. Sekvenční screening.....	31
3. HODNOCENÍ RIZIKA	32
3.1. Hodnocení markerů.....	32
3.2. Likelihood ratio	32
3.3. Věk matky	33
3.4. Výpočet rizika.....	33
ZÁVĚR.....	35
SOUHRN.....	36
SUMMARY	37
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	38

Úvod

Úvodem je třeba zmínit, co mě vedlo k tomu, abych napsala práci na téma „*Detekce plodů s vrozenou vývojovou vadou v I. trimestru gestace*“. Jak student prochází lékařskou fakultou a seznamuje se s medicínskými obory, střetávají se jeho představy s realitou. Většina z nás nastupuje na fakultu s tím, že existuje vysněný obor, kterému by se chtěl po ukončení studia věnovat. A to právě pro mě byla gynekologie a porodnictví zvlášť. Šest let na lékařské fakultě ale přineslo nejen spoustu znalostí, dřiny, úspěchů a neúspěchů, ale i vytříbení osobnosti a možná trochu vystřízlivění z iluzí a snů. Už jsem se smířila s tím, že porodnictví není pro mě, že je to obor, kterému se z mnoha důvodů nebudu a nakonec už ani nechci věnovat. Ale pořád pro mě představuje obor krásný a zajímavý. To všechno, co jsem napsala, mě vedlo k výběru tohoto tématu. Byly i další důvody, mohla bych také napsat, že mě téma prostě zaujalo, nebo že jsem si ho vybrala proto, že třeba někdy budu muset screeningem v těhotenství projít. Nezbyvá než napsat, že jsem ráda, že jsem se do tématu detekce vrozených vad mohla ponořit hlouběji.

1. Vrozené vývojové vady detekovatelné v I. trimestru

Vrozená vada je vada vznikající během intrauterinního vývoje, ne všechny odchylky od normálního vývoje lze nazvat vrozenými vadami. Narození dítěte s vrozenou vývojovou vadou má dopad na psychiku rodičů, ekonomickou zátěž rodiny a státu, zdravotnický systém a na mnoho dalšího. Vzhledem k tomu, že neexistuje účinná primární prevence, nastupuje do hlavní role prevence sekundární. Primární prevence by pravděpodobně spočívala ve výběru nepoškozených pohlavních buněk, ale s přihlédnutím do všech důsledků, by ani tato primární prevence nebyla dokonale účinná, protože ne všechny vrozené vývojové vady vznikají na podkladě genetické či jiné chyby obsažené ve vajíčku či spermii. Detekce vrozených vývojových vad je tedy na prvním místě v prevenci narození dítěte s vrozenou vývojovou vadou.

Vrozené vývojové vady jsou různé. Mají různou etiologii, různé projevy a některé jsou slučitelné se životem a jiné ne. Screening se neprovádí u všech vrozených vývojových vad, nebylo by to logické ani ekonomické. Po zjištění závažné vady většinou dochází k tomu, že se matka musí rozhodnout, jestli dítě donosí nebo podstoupí umělé přerušení. Rozhodování v tak závažné věci je o trochu lehčí, když těhotenství netrvá tak dlouho, proto vznikají tendence přesouvat screening vrozených vývojových vad do I. trimestru gravidity.

Vrozené vývojové vady postihují přibližně 3-5 % novorozenců a stále patří k významným příčinám perinatální a neonatální mortality a morbidity [11].

1.1. Etiologie vrozených vad a genetických chorob

- mutace jediného genu (monogenní), jejichž incidence v populaci je kolem 1 % a mezi novorozenci s anomáliemi a malformacemi představuje 20 %;

- mutace chromosomální s výskytem v populaci kolem 1 % (včetně asymptomatických přenašečů), které se podílejí 10 % na příčinách abnormit novorozenců;

- polygenně podmíněné afekce s populačním výskytem kolem 3 % tvoří 30–40 % příčin postižení novorozenců včetně teratogenních embryopatií;

- stochastické vývojové vady, vývojové poruchy negenetické etiologie, popřípadě poruchy s dosud neobjasněnou etiologií, např. uniparentální izodisomie, uniparentální heterodisomie, časně postzygotické somatické mozaiky (až 50 % abnormit).

Etiologická diagnóza dovoluje účinnou prevenci a je zaměřena na:

- detekci rizikové afekce v preklinickém stadiu zejména u chorob abiotrofického charakteru;

- detekci přenašečů chromosomálních aberací, autosomálně dominantně dědičných chorob se sníženou expresivitou, gonosomálně recesivně dědičných afekcí, ale i autosomálně recesivně dědičných afekcí s častým výskytem v populaci;

- prenatalní detekci závažných, těžce invalidizujících či perinatálně letálních afekcí;

- odhalení teratogenních vlivů nepoškozujících genetickou výbavu [6].

1.2. Chromozomální aberace

Numerické aberace chromozomů jsou většinou výsledkem nondisjunkce, poruchy buněčného dělení. Nejčastější chromozomální aberace jsou chromozomální aneuploidie, mezi které se řadí trisomie 21 (Downův syndrom), trisomie 18 (Edwardův syndrom) a trisomie 13 (Patauův syndrom) [3].

Příčina Downova syndromu je známa až od roku 1959 zásluhou trojice francouzských badatelů, kteří zjistili u postižených jeden nadpočetný chromozom ve všech buňkách. Jde o tzv. malý akrocentr, autozom číslo 21.

Jedinci s Downovým syndromem se dnes dožívají v průměru 60 let. Onemocnění je spojeno s malformacemi srdce, trávicího ústrojí, očí a uší a u většiny přežívajících se vyvinou časem patologické změny na mozku, které jsou typické pro Alzheimerovu nemoc. Z hlediska etiologie je velmi zajímavé, že umístění genu pro familiární výskyt Alzheimerovy choroby a amyloid, který se nachází v mozku postižených touto chorobou, je na chromozomu 21. A právě tři kopie 21. chromozomu jsou typické pro Downův syndrom.

Dalšími klinicky závažnými chromozomálními aberacemi jsou trisomie 18, Edwardsův syndrom (výskyt 1:3500 novorozenců) a trisomie 13, Patauův syndrom (výskyt 1:5000 novorozenců) [10].

1.3. Ostatní vady

Screening v I. trimestru se zaměřuje hlavně na detekci Downova syndromu, důvody proto jsou hlavně takové, že Downův syndrom je relativní četný ve srovnání s jinými závažnými vrozenými vývojovými vadami a že existují vhodné markery.

Z ostatních vrozených vývojových vad detekovatelných již v I. trimestru lze zmínit anencefalii jako závažný důsledek neuzavření neurální trubice.

2. Prenatální diagnostika a screening vrozených vývojových vad v I. trimestru

Úkolem prenatální diagnostiky je zjišťování vrozených vývojových vad plodů. Prenatální screening je určen pro plošné vyšetřování gravidních žen. Měl by splňovat některá obecná kritéria lékařského screeningu. Podmínky jsou následující, choroba nebo vada, kterou chceme vyhledávat, by měla mít vysokou prevalenci, měla by být závažná, ale léčitelná. Test na tuto chorobu by měl být finančně i technicky dostupný. Z těchto kritérií vyplývá, že ne vždy jsou při prenatálním screeningu dodržována. Z logiky pravidel lékařského screeningu totiž vyplývá, že detekování vad, které nejsou vyléčitelné, je nesprávné. Prenatální screening se ale řídí upravenými pravidly, protože zjištění závažné vady může být indikací k interrupci.

Metody prenatální diagnostiky lze obecně rozdělit na screeningové, které mají za cíl vyhledat skupinu pacientek se zvýšeným rizikem VVV, a diagnostické, které VVV potvrdí či vyloučí.

Cílem prenatální diagnostiky je odhalování závažných vrozených vad plodu v tak časném stadiu těhotenství, aby bylo možné provést interrupci s minimálním rizikem pro matku. Rozhodnutí o provedení umělého přerušování těhotenství ale samozřejmě náleží matce.

Prenatální screening odhaluje zejména závažné chromozomální aberace plodu, které vznikly chybným rozdělením chromozómů v zárodečné buňce, defekty neurální trubice,

kardiovaskulární soustavy, vylučovacího a gastrointestinálního traktu.

Screening se provádí u každé těhotné v I. a II. trimestru a skládá se z ultrazvukového a laboratorního vyšetření. Jeho nedílnou součástí je klinické gynekologické vyšetření.

2.1. Indikace k prenatální diagnostice

Každá těhotná žena v České republice prochází prenatálním screeningem v I. a II. trimestru gravidity. Pozitivní výsledek screeningového vyšetření neznamena automaticky diagnózu vrozené vývojové vady plodu, ale upozorňuje na zvýšené riziko a je indikací k dalšímu vyšetření.

Po posouzení výsledků ultrazvukového a laboratorního vyšetření následuje zpravidla úvaha o nutnosti dalšího vyšetřování. Další vyšetřovací postupy jsou invazivní a znamenají tedy zvýšené riziko pro matku i pro plod a je nutné pečlivě srovnat přínosnost a případné riziko komplikací a teprve poté následné vyšetření indikovat.

Mezi tato vyšetření patří amniocentéza a následná kultivace buněk plodové vody, biopsie choriových klků a jejich vyšetření, dále kordocentéza s odběrem plodové krve z pupečníku a v neposlední řadě fetoskopie. Jakékoliv z těchto vyšetření může matka odmítnout.

2.2. Parametry screeningových testů

Základní předpokladem pro dobrý screeningový test je jeho efektivita, tedy schopnost odlišit zdravé jedince od nemocných. Dalšími dvěma parametry, které určují kvalitu testu, jsou specifita a senzitivita.

Specifita určuje procento správně negativních výsledků ze souboru zdravých osob, tedy odráží množství falešně pozitivních výsledků. Čím je test specifitější, tím méně je falešně pozitivních výsledků.

Senzitivita určuje, jak test citlivý. Její hodnota je procento správně pozitivních výsledků ze souboru nemocných osob. Čím je test senzitivnější, tím méně je falešně negativních výsledků.

Skutečná pozitivita vyjadřuje kolik je třeba provést vyšetření u screeningově pozitivních osob ke stanovení jedné diagnózy. Skutečná pozitivita tedy souvisí i s prevalencí dané choroby.

2.3. Vyšetřovací metody v I. trimestru

2.3.1. Ultrazvukové vyšetření v I. trimestru

Cílem ultrazvukového vyšetření v I. trimestru je nejprve určit vitalitu plodu, délku těhotenství a počet plodů. Díky ultrazvukovému vyšetření můžeme také vyslovit podezření na chromozomální aberaci, nejčastěji trisomii 21. chromozómu, ale také trisomii 18 a 13, a indikovat další podrobné vyšetření. Již v I. trimestru můžeme stanovit závažné vrozené vývojové vady jako je anencefalie nebo některé závažné srdeční vady. Ultrazvukové vyšetření v I trimestru se provádí v 11. až 13.

týdnu gravidity. Dále se provádí specializované ultrazvukové vyšetření vaginální sondou ve 12. až 14. týdnu gestace.

Pro vyšetření v porodnictví se používají UZ sondy transabdominální (3,5–5 MHz) a sondy transvaginální (5–7,5 MHz). Sonografická vizualizace počínajícího intrauterinního těhotenství spadá do období mezi 12.–17. dnem po fertilizaci, tedy cca 26.–31. den od poslední menstruace, což odpovídá 5. gestačnímu týdnu [6].

2.3.2. Detekce chromozomálních vad

2.3.2.1. Nuchální translucence

Měření nuchální translucence (obr.1. a obr.2.) nebo také nuchální ztluštění se provádí v 10. - 14. týdnu gestace. Stanovuje objem lymfatické tekutiny, která se kumuluje pod kůží v zadní části krku plodu. Nuchální translucence větší než více než 3mm odpovídá chromozomální nebo jiné abnormitě.

V 11.–13⁺⁶. týdnu jsou všechny významné chromozomální aberace spojeny se zvýšenou tloušťkou nuchální translucence (NT) (Snijders a kol. 1998). U trizomií 21, 18 a 13 má nárůst NT podobný charakter a průměrná hodnota NT u těchto vad je cca 2,5 mm nad normální medián pro danou temeno-kostrční délku. U Turnerova syndromu je medián NT cca 8 mm nad normál [14].

Obr.1. Ukázka měření NT u plodu s normálním nálezem.



Obr.2. Ukázka měření NT u plodu s patologickým nálezem.



2.3.2.2. Chybění nosní kosti plodu

Typickým znakem pro pacienty s trisomií 21. chromozomu je malý nos, nosní kosti jsou často hypoplastické a osifikují později. Díky této abnormalitě se můžeme při ultrazvukovém vyšetření zaměřit na sledování chybění osifikace nebo hypoplázií nosních kostí. *Nosní kost plodu je viditelná na sonografu v 11.-13⁺⁶. týdnu gestace (Cicero a kol. 2001).* Ultrazvukové vyšetření nosních kostí plodu by mělo proběhnout v 11. - 13. týdnu u plodů s temeno kostrční délkou 45-84 mm [14].

Obr.3. Zobrazení nosní kosti; **Obr. 4.** Absence nosní kosti



2.3.2.3. Temeno-kostrční délka

Temeno-kostrční délka embrya (CRL – crown-rump length) je vhodným ukazatelem délky těhotenství v I. trimestru gestace. Během krátkého časového období dochází k výraznému růstu embrya, který je konstantní, a odchylky hodnot temeno-kostrční délky naměřené u různých stejně starých embryí se liší jen velmi málo. Přehled hodnot temeno-kostrční délky odpovídající délce gestace:

CRL = 10 mm = znamená 7 týdnů

CRL = 30 mm = znamená 9 týdnů a 5 dní

CRL = 60 mm = znamená 12 týdnů a 3 dny [14]

Chromozomální vady, zejména triploidie, ale i jiné vady, jsou asociovány se středně závažnou růstovou retardací plodu. Turnerův syndrom (45, X0) a trizomie 13 jsou spojeny s mírnou růstovou retardací. Trizomie 21. chromozomu je naproti tomu spojená s normálním růstem bez retardace [5].

2.3.2.4. Délka horní čelisti

Stejně jako nosní kosti je maxilla u pacientů s Downovým syndromem hypoplastická. Maxillu můžeme zobrazit od 11.-13. týdne gestace a její měření se používá k detekci plodů s trizomií 21, u plodů s jinými chromozomálními aberacemi odchylky od normálního vývoje maxilly nejsou [14].

2.3.3. Detekce jiných vrozených vývojových vad

V období I. trimestru lze při ultrazvukovém vyšetření detekovat některé závažnější vrozené vývojové vady, kterými jsou absence vývoje kalvy (akranii), absence vývoje mozku (anencefalii), některé typy obličejových rozštěpových vad, některé typy srdečních vad (např. atrioventrikulární kanál), brániční kýlu, rozštěpové vady břišní stěny, některé typy poruch vývoje vývodných cest močových (obstrukce močové trubice). Toto období je suverénní pro diagnostiku delečních končetinových vad [1, 2, 5].

2.3.4. Cytogenetický screening

Cytogenetický screening není příliš rozšířená metoda. Vyšetřují se při něm již od prvního trimestru buňky plodu a trofoblastu kolující v mateřské krvi, a to nejen klasickými cytogenetickými metodami pro stanovení karyotypu, ale zejména

metodami molekulární genetiky – PCR a FISH – umožňujícími detekci submikroskopických a skrytých translokací, syndromů podmíněných mikrodelecemi a charakterizujících markery chromosomů.

Komerčně dodávané FISH sety umožňují detekovat nejčastěji se vyskytující chromosomální aberace 21,18,13, X a Y chromosomu.

Nedávný objev volně cirkulující extracelulární fetální DNA v mateřské periferní krvi (plazma, sérum) otevírá cestu novým aplikacím prenatalní diagnostiky. Předpokládá se, že její výskyt souvisí s transplacentárním přechodem fetálních buněk do mateřské cirkulace, kde jsou následně destruovány imunitním systémem matky [6, 11].

2.3.5. Invazivní vyšetření v I. trimestru

2.3.5.1. Amniocentéza

Amniocentéza je odběr plodové vody punkční jehlou přes břišní stěnu pod ultrazvukovou kontrolou. Výjimečně se může provádět transcervikálně. Cílem amniocentézy je získat vzorek plodové vody k cytogenetickému vyšetření, tedy ke stanovení karyotypu plodu. Rozlišujeme amniocentézu časnou ve 12. až 14. týdnu gestace a pozdní v 16. týdnu.

Plodová voda je žlutavě zbarvená tekutina, která obsahuje zejména vodu a v ní přítomné rozpuštěné organické a anorganické složky (98 – 99%) a fetální buňky (1- 2%). Fetální buňky jsou původem z povrchu těla plodu, z respiračního traktu, gastrointestinálního traktu, z urogenitálního traktu, z plodových obalů a z povrchu pupečníku. Pro kultivaci a vyšetření karyotypu je třeba odebrat 20 – 40 ml plodové vody. Kultivace trvá obvykle

10 až 14 dní a výsledek je k dispozici za 4 týdny po odběru. Každá kultivace by měla probíhat paralelně ve dvou kulturách, protože existuje riziko vzniku pseudomozaiky a zkreslení konečných výsledků vyšetření.

V plodové vodě lze také stanovovat přítomnost a koncentraci různých látek. Běžně je stanovována hladina α -1-fetoproteinu, dále např. 17-OH progesteron při podezření na adrenogenitální syndrom, specifické enzymy při předpokládané metabolické vadě, bilirubin při Rh inkompatibilitě, imunoglobuliny při infekci matky... [1, 2, 3, 5, 11]

2.3.5.2. Časná amniocentéza

Časná amniocentéza se provádí mezi 12. a 14. týdnem gestace. Množství odebrané vody se určuje zpravidla tak, že množství plodové vody v ml se rovná týdnu gestace, ve kterém je odběr prováděn.

Časná amniocentéza dáváme přednost před odběrem choriových klků a to z toho důvodu, že vyšetřujeme přímo fibroblasty plodu a ne extraembryonální tkáň jako při vyšetření choriových klků. Pokud ale potřebujeme získat výsledek do 12. týdne gravidity preferujeme vyšetření choriových klků [1, 2, 5, 10].

2.3.5.3. Indikace k amniocentéze

- Věková indikace (matka starší 35 let, otec starší 50 let).
- Pozitivní výsledek biochemického screeningu (triple test).
- Rodiče s abnormálním karyotypem.
- Předchozí potrat nebo porod plodu s chromozomální abnormalitou.

- Ultrazvukem zjištěné morfológické odchylky plodu [1, 2].

2.3.5.4. Komplikace amniocentézy

Komplikace při amniocentéze rozdělujeme na komplikace ohrožující matku a komplikace ohrožující plod.

Matka:

- Infekce – vznik amnionitidy s frekvencí *1:1000*.
- Časné komplikace – krvácení, bolesti břicha, částečný odtok amniální tekutiny do 4 týdnů po výkonu.
- Rh imunizace – vzhledem k riziku imunizace Rh negativních matek se podává anti-Rh0(D) imunoglobulin 250 µg po výkonu.

Plod:

- Potrat plodu – počet potratů v souvislosti s amniocentézou nepřekračuje 0,5-1%.

Novorozenec:

Nebylo prokázáno, že by amniocentéza měla vliv na zvýšení předčasných porodů, porodů mrtvých plodů ani perinální mortality [2].

2.3.5.5. Biopsie choria a vyšetření z choriových klků

Získání fetálních buněk v časně fázi těhotenství umožňuje biopsie choria. Je metodou volby u DNA diagnostiky.

Časná biopsie choriových klků se provádí v 11. až 12. týdnu gestace. Nižší týdny nejsou vhodné kvůli vzniku komplikací (např. tzv. transversální redukce končetin). Pozdní odběr choriových klků se provádí po 20. týdnu těhotenství až do jeho konce.

Odběr choriových klků lze provádět transcervikálně nebo transabdominální metodou, které dáváme přednost.

Tkáň získaná z placenty nebo choria slouží k cytogenetickému, molekulárně genetickému a biochemickému vyšetření. Ke kultivaci je třeba odebrat 10 – 20 mg tkáně přímo do kultivačního media. Výsledek vyšetření choria je znám do 7 dnů od odběru a předběžné výsledky již za 48 hodin [1, 2, 5].

2.3.5.6. Indikace k biopsii choriových klků

Indikace k biopsii choriových klků jsou obdobné jako u amniocentézy. Nejčastější indikací je věk matky [2].

2.3.5.7. Komplikace biopsie choriových klků

Komplikace při odběru choriových klků rozdělujeme na komplikace ohrožující matku a komplikace ohrožující plod.

Matka:

- Krvácení - po transabdominálním odběru vaginálně krvácí 7-10% pacientek, po transcervikálním je to až 1/3 pacientek. U 4% pacientek vzniká subchoridální hematom.
- Infekce - incidence amnionitidy po odběru choriových klků je nízká.
- Odtok plodové vody - může být způsoben hematodem, infekcí nebo mechanicky. Je popisován u 0,3% pacientek.
- Elevace AFP v mateřské krvi.
- Rh imunizace - u Rh negativních matek se doporučuje podávat anti-Rh0(D) imunoglobulin 100 µg po výkonu.

Plod:

- Abort
- Vývojové vady končetin - riziko vzniku vývojových vad končetin přesunulo možnost provádět biopsii choria do 11. až 12. týdne gestace. Existuje několik teorií pro vznik těchto vad, všechny jsou spojeny se vznikem ischemie v části placenty. Celkové riziko, že se objeví končetinová vada po biopsii choria, je 0,06 % [1, 2, 5].

2.3.6. Biochemický screening

Další metodou, kterou lze užít v detekci vrozených vývojových vad plodu, je vyšetření některých látek z krevního séra matky. Pokles nebo naopak vzestup jejich hodnot může poukázat na riziko některých vrozených vývojových vad. Biochemický screening se provádí v I. a II. trimestru.

2.3.6.1. hCG – lidský choriový gonadotropin

hCG je glykoproteinový hormon s molekulovou hmotností 36 700 d, který je produkován syncytiotrophoblastem. Je složen ze 2 nekovalentně spojených podjednotek α a β . α podjednotka je stejná jako u folikuly-stimulačního hormonu a luteinizačního hormonu, ale β podjednotka je specifická pro hCG. Během normálního těhotenství hCG produkované trofoblastem udržuje funkci corpus luteum. V reakci na zvýšenou produkci hCG stoupá produkce progesteronu, 17 α -hydroxyprogesteronu a estradiolu tvořených corpus luteum. V osmém týdnu gestace přebírá tuto funkci placenta. hCG poprvé vstupuje do mateřského oběhu v den implantace. Bylo prokázáno, že se jeho hladina v mateřském séru zdvojnásobuje během 1,4 až 1,6 dne od první detekce do 35. dne těhotenství a poté se až 42. dne zdvojnásobuje každý 2,0 až 2,7 den. Poločas rozpadu hCG je 32

až 37 hodin. Hladina hCG je přibližně 1000 IU/l okolo 4. týdne těhotenství. Sekrece hCG stoupá s pokračujícím těhotenstvím, dosahuje maximální hodnoty 50 000 až 100 000 IU/l v 10. týdnu gestace. Hladina hCG poté klesá k hodnotám okolo 10 000 až 20 000 IU/l ve 20. týdnu a tato plató fáze pokračuje až do konce těhotenství. Mnoho komerčně dostupných močových těhotenských testů na bázi monoklonálních protilátek dokáže detekovat hladinu hCG nad 25 IU/l, což odpovídá 24. až 25. dni normálního 28denního cyklu [7].

Kvalitativní imunochromatografická analýza pro stanovení hCG v moči stanoví hCG již od 10 IU/l. Stanovení hCG umožňuje hodnocení průběhu těhotenství. Stanoví mimoděložní těhotenství, kdy nedochází k výše popsanému zdvojnásobování hodnot nebo se vzestup hodnot zpožďuje. Negativní hCG test mimoděložní těhotenství nevyloučí. Velmi vysoká hladina hCG je při diagnóze mola hydatosa, po evakuaci moly hladina hCG klesá relativně pomalu. Je nutné ji pravidelně kontrolovat minimálně do 6 měsíců po chirurgickém zákroku. Při potratu nedochází k vzestupu hladiny hCG nebo jeho hodnoty klesají. Společně s AFP a volným estriolem slouží ke screeningu vrozených vývojových vad. Zvýšené hodnoty hCG nacházíme u Downova syndromu a u vícečetného těhotenství [2].

Předpokládá se, že hCG stimuluje produkci testosteronu v gonádách plodů mužského pohlaví a působí na kůru fetálních nadledvin. Zřejmě má i imunosupresivní účinky. hCG mohou tvořit i plíce, střevo, thymus, ledvina, nadledvina, pankreas, slezina, srdce a gonády [15].

V krvi může cirkulovat biologicky aktivní kompletní molekula hCG, případně i tzv. nickovaná β -hCG nebo β -core fragment hCG. Podíl volné β podjednotky hCG dosahuje asi 1% ve srovnání s intaktní molekulou. Koncentrace volné β podjednotky hCG lze využít ke stanovení chromozomálních aberací plodu v I. trimestru gravidity. Některé nádory mohou syntetizovat hCG, proto i toto vyšetření může být využito jako tumormarker. Při screeningu vrozených vývojových vad v II. trimestru gestace zvýšená hladina hCG může ukazovat na chromozomální aberace, snížená hladina znamená nepříznivou diagnózu pro plod [13].

Tab.1. Normální hladiny hCG v I. trimestru gravidity.

Týden gravidity	Normální hladina (IU/l)
1.	10-30
2.	30-100
3.	100-1 000
4.	1 000-10 000
5.	4 000-20 000
6.-8.	4 000-80 000
8.-10.	12 000-20 000
11.	16 000-160 000
12.	16 000-150 000

2.3.6.2. PAPP-A

Mateřský sérový těhotenský placentární protein A (MS-PAPP-A- maternal serum Pregnancy-associated plasma protein A) je vysokomolekulární glykoprotein produkovaný především

buňkami syncytiotrophoblastu. Má molekulovou hmotnost 700 000 d [10].

V normálním těhotenství se začíná hladina PAPP-A signifikantně zvyšovat od 7. týdne [11] (5. týdne [1]), zpočátku téměř exponenciálně do 14. týdne, pokračuje během celého těhotenství a po porodu pozvolna klesá. Do 14. týdne se jeho hladina zvýší desetinásobně [1].

PAPP-A se zdá být nejslibnější markerem Downova syndromu, stanovovaným v I. trimestru gravidity. Tento velký glykoprotein je během těhotenství a uvolňován do mateřské cirkulace. Jeho biologická funkce není dosud známa. U plodů s Downovým syndromem je hladina PAPP-A před 14. týdnem gravidity snížena [11].

Tab.2. Hodnoty mediánu PAPP-A u Downova syndromu v závislosti na gestačním stáří [1].

Gestační stáří (týdny)	Medián PAPP-A (MoM, viz níže)
5-10	0,29
11-14	0,42
15-20	0,76

2.3.6.3. Protein SP1

SP₁ (Swangerschafts Protein) je protein syntetizovaný syncytiotrophoblastem, jehož hladiny stoupají od 12. do 34. týdne gravidity. SP1 nacházíme v mateřském séru a v plodové vodě, kde jsou jeho hladiny 100x nižší než v séru. SP₁ je glykoprotein o molekulové hmotnosti 90 000 d. Pro graviditu je typická β forma SP₁.

Snížená hladina SP₁ na začátku těhotenství signalizuje riziko potratu a vývoj embrya s trizonií 21. V pozdějších fázích vývoje gravidity je snížení hladiny projevem intrauterinní růstové retardace. Výrazné snížení hladiny SP₁ znamená zvýšení rizika vývoje plodu s trizonií 18. chromozómu. Zvýšení hladin znamená riziko závažného poškození trofoblastu a vývoje plodu s trizonií 21. chromozómu. Příčina tohoto zvýšení není dosud objasněna [1].

Využití proteinu SP1 ve screeningu v I. trimestru gravidity je velice slibné, s konečným hodnocením významu tohoto vyšetření bude však nutno počkat na výsledky studií [1].

2.3.6.4. Volný estriol

Estriol je steroidní hormon, který je hlavně v druhé polovině těhotenství důležitým parametrem posouzení funkce placenty a stavu plodu [2].

Estriol (E₃) vzniká v placentě ze 16 α -OH-DHA-S (16 α hydroxydehydroepiandrosteronsulfátu), který se tvoří v játrech plodu z dehydroepiandrosteronsulfátu (DHA-S) z nadledvin plodu. 16 α -OH DHA-S je v placentě hydrolyzován na 16 α -OH-DHA a konvertován na 16 α -OH-androstendion a dále na 16 α -OH-estradiol, tj. E₂. Deficit E₃ v plazmě matky zjišťujeme u plodů s anencefalem (10 % normální produkce) nebo při podávání kortikosteroidů matce. U anencefalických plodů není dostatečně stimulována nadledvina plodu adrenokortikotropním hormonem k tvorbě DHA-S. Kortikosteroidy podávané matce přecházejí do plodu a tlumí tak sekreci ACTH. Nedostatečná produkce E₃ může nastat rovněž následkem vrozené snížené aktivity sulfatázy, což

zabraňuje štěpení DHA-S a 16 α -OH-DHA-S s následným nedostatkem E₁ (estronu), E₂ (estradiolu) a hlavně E₃ [6].

Estriol je z placenty secernován do cirkulace plodu a matky, kde je konjugován. Přibližně 90 % produkovaného E₃ je vylučováno močí. Asi 90–92% mateřského E₃ je konjugováno a zbytek tvoří volný, nekonjugovaný E₃; močí se vylučuje průměrně 45 mg E₃/24 h. Hladina E₃ v plazmě a množství vylučovaného E₃ močí je přibližným ukazatelem stavu plodu ve III. trimestru [6].

Estriol lze detekovat jako volný estriol v séru a v plazmě a jako konjugovaný estriol v moči. Zvýšené hodnoty estriolu mohou značit vícečetné těhotenství nebo insuficienci ledvin matky. Snížené hodnoty ukazují na insuficienci placenty nebo intrauterinní retardaci plodu. Chybění časového nárůstu hladin v průběhu těhotenství nebo dokonce pokles signalizuje poruchu fetoplacentární jednotky [2].

Tab.3. Normální hodnoty volného estriolu v séru. [2]

Týden gravidity	Normální hladina
15.	1,7-5,4 nmol/l
16.	2,1-6,3 nmol/l
17.	2,6-7,7 nmol/l
18.	2,9-9,3 nmol/l

2.3.6.5. Alfafetoprotein

Alfafetoprotein (AFP) je fetální glykoprotein, který se dostává skrze placentární bariéru do krevního oběhu matky. Jeho

molekulová hmotnost je 65000-70000 daltonů. Skládá se z 590 aminokyselin a 4-7 % hydrogenuhličitanů [6].

Do 13. týdne těhotenství je produkován žloutkovým vágkem, poté se jeho produkce přesouvá do jater a střeva plodu. Funkce tohoto proteinu není zatím přesně známá. Předpokládá se, že má obdobnou funkci jako albumin. Významná je ale především jeho role transportní (vazba steroidů, některých těžkých kovů, bilirubinu, mastných kyselin, retinoidů, drog, antibiotik apod.) a úloha v imunitních procesech. Pravděpodobně se účastní společně s jinými růstovými faktory modulace proliferace buněk.

Nejvyšších koncentrací dosahuje v plodové vodě ve 13. týdnu gestace (některé zdroje říkají ve 14. týdnu). Od 21. týdne těhotenství jeho syntéza postupně slábne a jeho hladina v mateřském séru pozvolna klesá až do konce těhotenství. Během fyziologického těhotenství hladina AFP v séru matky stoupá nad normální hodnotu, která se udává po 10 µg/l. Vrchol hladiny AFP ve fetální krvi je na konci I. trimestru a pak postupně klesá. Jeho koncentrace v plazmě matky stoupá až do 32. týdne a pak rovněž klesá. Koncentrace AFP je vysoká v CNS plodu, a proto abnormální přímý kontakt CNS s plodovou vodou vede ke zvýšení hladiny této látky v plodové vodě a v plazmě matky.

Nízká hladina AFP v II. trimestru je spojena s výskytem trisomie 21. chromozomu. Naopak zvýšená hladina AFP umožňuje detekovat defekt neurální trubice (anencephalus, spina bifida), hypotrofii, kongenitální nefrózu, odumření plodu nebo poruchu placenty. V dospělosti se zvýšená hladina AFP pozoruje

u některých nádorů vaječníků, varlat či jater nebo u jaterní cirhózy.

Tab.4. Normální hladina AFP.

Týden gravidity	Normální hladina v µg/l
15	12,7-51,0
16	14,5-58,0
17	16,2-65,0
18	18,2-73,0

2.3.6.6. Inhibin A

Inhibin A je heterodimer. Je to glykoprotein s molekulovou hmotností 32 000 d. Skládá se ze dvou podjednotek spojených disulfidickými můstky, podjednotky α o molekulové hmotnosti 18 000 d a podjednotky β_A s molekulovou hmotností 14 000 d. Je produkován corpus luteum během luteální fáze ovariálního cyklu. Na začátku těhotenství je také produkován syncytiotrophoblastem. Při postižení plodu Downovým syndromem je hladina inhibinu A výrazně zvýšená [7].

2.3.7. Kombinovaná vyšetření

Od roku 1988 se v České republice používá metoda výpočtu individuálního kombinovaného rizika z hodnot tří sérových markerů - alfa-fetoproteinu (AFP), celkového choriového gonadotropinu (hCG), volného estriolu (E3), tzv. triple test ve druhém trimestru těhotenství.

Screening v prvním trimestru se v současnosti stává vysoce aktuálním problémem k široké populační prevenci zejména Downova syndromu, ale i jiných závažných vrozených

vývojových vad v nejčasnějších fázích prenatálního vývoje. Začíná se stále více zavádět do prenatální péče v naší republice, ale mnohdy naráží převážně na ekonomickou únosnost. Sestává z kombinace biochemických markerů z krve a ultrazvukového vyšetření [10].

2.3.7.1. Kombinovaný test

Jako nejspolehlivější biochemické markery mateřského séra v I. trimestru byly hodnoceny těhotenský placentární protein A (PAPP-A; pregnancy associated plasma protein A) a volná beta podjednotka hCG (free beta hCG). Hodnoty se udávají v násobcích mediánu (MOM) pro daný gestační týden [10].

Bylo dokázáno, že kombinace vyšetření PAPP-A, volné β podjednotky hCG a nuchální translucence v prvním trimestru je efektivní ve screeningu Downova syndromu. Falešně pozitivní je vyšetření v 5%, detekce pro Downův syndrom je přibližně 82% [9].

2.3.7.2. Integrovaný screening I. a II. trimestru

V roce 1999 publikoval Wald nový způsob odhadu rizika trisomie 21 na základě kombinace výsledků markerů z prvního trimestru (PAPP-A, NT) a druhého trimestru (hCG, AFP) těhotenství. Využití markerů z obou trimestrů přináší lepší výsledky než využití markerů každého trimestru samostatně. Test je označován jako „integrovaný test“ [10].

Tato metoda vnáší zcela nový pohled do problematiky screeningu, neboť se využívají data ze dvou rozdílných období těhotenství. Zásadní rozdíl mezi kombinovaným testem prvního trimestru a integrovaným testem představuje falešná pozitivita,

kteřá v pŕípadě senzitivity 85 % činí u kombinovaného testu 4,8 % a u integrovaného testu 1 % [10].

To tedy znamená 80% redukci falešné pozitivitu při stejné senzitivě trisomie 21, a tudíž snížení počtu nutnosti invazivní diagnostiky u žen se zdravým plodem, u kterých může v důsledku 1% rizika spojeného s výkonem dojít k potratu zdravého plodu. Integrovaný test je pro nízkou falešnou pozitivitu výhodnější než ostatní testy a přitom si zachovává stejnou senzitivitu [10].

Integrovaný test je stanovení rizika genetické vady na podkladě věku těhotné, biochemického testu v I. trimestru (PAPP-A a beta-hCG) a změření nuchální translucence (NT) a biochemického testu v II. trimestru (uE3 a AFP). Při integrovaném testu se pacientce nesděljuje výsledek vyšetření po provedení screeningu v I. trimestru, ale až po integraci rizika vzešlého z tohoto testu s rizikem z biochemie II. trimestru [12].

2.3.7.3. Sekvenční screening

Při sekvenčním testu stanovujeme riziko genetické vady na podkladě stejných markerů jako u integrovaného testu. Tedy na základě kombinace výsledků markerů z prvního trimestru (PAPP-A, NT) a druhého trimestru (hCG, AFP) těhotenství. Rozdíl je jen v tom, že po provedení kombinovaného testu v I. trimestru sdělíme pacientce výsledek testu. Při jeho pozitivě pacientce lze nabídnout další vyšetření, biopsii choriových klků, kterou lze provést ihned, nebo amniocentézu, kterou se ale nedoporučuje provádět před 15. týdnem těhotenství. Sekvenční screening má téměř 10% falešnou pozitivitu [12].

3. Hodnocení rizika

3.1. Hodnocení markerů

Pro hodnocení vyšetřovaných markerů používá hodnotu MoM, kterou vytváří rozložení kolem mediánu Gaussova rozložení. MoM = 1, patologické hodnoty jsou buď snížené, nebo zvýšené (př. tab.5.)

Tab.5. Mediány těhotenství postižených trisomií 21. (26)

Marker	Trimestr	MoM pro T21
hCG	II	2,05
AFP	II	0,74
E ₃	II	0,70
Free β hCG	II	2,66
Inhibin A	II	2,54
PAPP-A	I	0,34 - 0,58
Free β hCG	I	1,62 - 2,48
NT	I	1,96

3.2. Likelihood ratio

Likelihood ratio vyjadřuje fakt, že se hodnoty markerů naměřené u normálních a patologických těhotenstvích překrývají. Likelihood ratio lze přeložit jako věrohodnostní koeficient. Vyjadřuje poměr prevalence nálezu dané hodnoty pro patologická těhotenství k prevalenci nálezu pro normální těhotenství [14].

3.3. Věk matky

Riziko toho, že se matce narodí dítě s Downovým syndromem, není nikdy nulové, ale právě u Downova syndromu stoupá toto riziko s věkem matky.

Tab.6. Riziko porodu dítěte s Downovým syndromem v závislosti na věku matky při porodu. [14]

Věk matky v době porodu	Riziko T21 - Downův syndrom	Věk matky v době porodu	Riziko T21 - Downův syndrom	Věk matky v době porodu	Riziko T21 - Downův syndrom
20	1:1450	30	1:940	40	1:85
21	1:1450	31	1:820	41	1:70
22	1:1450	32	1:700	42	1:55
23	1:1400	33	1:570	43	1:45
24	1:1400	34	1:460	44	1:40
25	1:1350	35	1:350	45	1:35
26	1:1300	36	1:270	46	1:30
27	1:1200	37	1:200	47	1:30
28	1:1150	38	1:150	48	1:30
29	1:1050	39	1:110	49	1:25

3.4. Výpočet rizika

Při výpočtu rizika, že plod má vrozenou vývojovou vadu, se bere v potaz mnoho faktorů. K vyčítávání rizika slouží počítačové programy jako např. program ALPHA. Při výpočtu rizika se bere v potaz hodnoty MOM pro jednotlivé markery, likelihood ratio a věk matky, dále se zohledňuje váha matky a vícečetnost těhotenství a někdy také jiné faktory jako je kouření nebo rasa. Odhad rizika se vyjadřuje poměrem 1:n, kdy hodnota cut-off

závisí na dané laboratoři a většinou se pohybuje mezi 1:200 a 1:400 [14].

Závěr

Při screeningu v I. trimestru používáme kombinaci metod fyzikálních, tedy ultrazvukové vyšetření, a metod laboratorních, zejména vyšetření hladin látek v mateřském séru. Mezi měřené látky patří PAPP-A, který se zdá být nejspolehlivějším markerem rizika Downova syndromu. Dalšími látkami jsou β hCG, protein SP₁ a další markery používané ve screeningu v II. trimestru, jejichž ambicí je také posunutí detekování do ranějších měsíců. Jistě nezanedbatelné místo mají při detekci vývojových vad invazivní metody a lékařská genetika, které přinášejí konečné odpovědi. Hodnocení výsledků screeningu není jednoduchá záležitost, zahrnuje v sobě mnoho faktorů, které zpracovávají speciální počítačové programy.

Detekce vrozených vývojových posouvaná do ranějších fází těhotenství má nezanedbatelný význam. Význam, který jde napříč společnostmi. Význam, který začíná u osobního problému jednoho člověka a končí na globální ekonomické úrovni. Detekce vrozených vad v brzkém stádiu těhotenství zabraňuje větším komplikacím ze strany psychiky matky a z technického provedení interrupce. Zabráníme-li narození těžce hendikepovaného člověka, nemusí se rozběhnout řetězec zdravotnické a sociální péče a tím pomáháme ekonomice státu.

Souhrn

Práce na téma „*Detekce plodů s vrozenou vývojovou vadou v I. trimestru gestace*“ zahrnuje výčet metod používaných v detekci vrozených vývojových vad v I. trimestru. Na začátku stručně shrnuje vady, které lze detekovat. V druhé kapitole se věnuje jednotlivým detekčním metodám, zejména ultrazvukovému vyšetření, invazivním metodám a biochemickému screeningu. Zabývá se jednotlivými ukazateli, které se hodnotí při ultrazvukovém vyšetření, a biochemickými markery, které lze detekovat. Popisuje kombinaci metod detekce, které se používají v praxi. V poslední kapitole představuje faktory, které se hodnotí při výpočtu rizika vrozené vývojové vady, a metody, které se k tomuto výpočtu používají.

Summary

The presented thesis "*Detection of fetal abnormalities in the 1st trimester of pregnancy*" includes a list of methods used for the detection of fetal abnormalities in the first trimester. At the beginning it briefly summarizes the abnormalities, which can be detected. The second chapter is devoted to various detection methods, in particular, ultrasound examination, invasive methods and biochemical screening. It deals with the various indicators which are assessed during ultrasound examination and the biochemical markers, which can be detected. It describes the combination of detection methods used in practice. The final chapter presents the typical factors that are evaluated when calculating the risk of fetal abnormalities, and the methods used for this calculation.

Seznam použité literatury

- 1 HÁJEK, Z., KULOVANÝ, E., MACEK, M. *Základy prenatální diagnostiky*. Praha: Grada, 2000. ISBN 80-7169-391-x
- 2 ROZTOČIL, A. a kol. *Vyšetřovací metody v gynekologii a porodnictví*. Brno: Institut pro další vzdělávání ve zdravotnictví v Brně, 1998. ISBN 80-7013-255-8
- 3 MOORE, K. L., PERSAUD, T. V. N. *Zrození člověka*. Praha: ISV, 2002. ISBN 80-85866-94-3
- 4 HÁJEK, Z. a kol. *Rizikové a patologické těhotenství*. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0418-8
- 5 SMITH, N. C., SMITH, A. P. M. *Ultrazvuk v porodnictví praktická příručka*. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1107-9
- 6 ZWINGER, A. a kol. *Porodnictví*. Praha: Galén, Karolinum, 2004. ISBN 80-7262-257-9, ISBN 80-246-0822-7
- 7 CHETTY, M., ELSON, J. Biochemistry in the Diagnosis and Managment of Abnormal Early Pregnancy. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 2007, vol. 50, no. 1, p. 55-66
- 8 JONES, K., PEARCE, C. Organizing an acute gynaecology service: equipment, setup and a brief review of the likely conditions that are managed in the unit. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynecology*, 2009, vol. 23, no. 4, p. 427-438

- 9 DUGOFF, L. et al. First-trimester maternal serum PPAP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal traslucency are associated with obstetric complications: A population-based screening study (The FASTER Trial). *American Journal of Obstetrics nad Gynecology*, 2004, p. 1446-51
- 10 CALDA, P. Screening vrozených vad v graviditě. *Moderní gynekologie a porodnictví*, vol. 7, č. 2, únor 1998, s.7 – 20. Dostupné z <http://clanky.gynstart.cz/article.php?sid=121&mode=thread&order=0>
- 11 KUČEROVÁ,I. *Prenatální diagnostika v I. trimestru těhotenství*. 5.4.2005. Dostupné z <http://www.zdravotnickenoviny.cz/scripts/detail.php?id=165984>
- 12 CALDA,P. *Ultrazvukový screening v I. trimestru*, 6.8.2005. Dostupné z <http://www.zdravotnickenoviny.cz/scripts/detail.php?id=168198>
- 13 WALD N.J. at al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *Health Technol Assess.* 2003, 7(3)
- 14 NICOLAIDES, K. H. *UZ screening v 11.-13⁺⁶. gestačním týdnu*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2004. ISBN 80-244-0885-6

15 BURTIS, C. A., ASHWOOD, C. *Teitz textbook of Clinical Biochemistry*. W.B. Asundersr Company, 1999.