

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra biologických a lékařských věd



**Vyhledávání vícečetných těhotenství pomocí
biochemických markerů v raných stádiích
gravidity**

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Doc. RNDr. Vladimír Semecký, CSc.

Konzultant: Doc. MUDr. Ivan Matouš-Malbohan, CSc.

Hradec Králové, 2014

Bc. Lenka Brjančinová

Prohlášení

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové

podpis

Poděkování

Ráda bych tímto poděkovala panu doc. RNDr. Vladimíru Semeckému, CSc. a především panu doc. MUDr. Ivanu Matoušovi-Malbohanovi, CSc. za usměrnění a odborné vedení počas celé bakalářské práce. Moje poděkování patří i laboratořím AeskuLab k.s., za vytvoření vhodných podmínek během celé práce a každému, kdo se jakýmkoliv způsobem podílel na její realizaci.

Abstrakt

Cílem bakalářské práce je vypracovat algoritmus umožňující záchyt vícečetného těhotenství pomocí hodnot druhotrimestrálních biochemických markerů alfa-1-fetoproteinu a lidského choriového gonadotropinu v séru matek s jedním plodem a s dvojčaty.

Naměřené hodnoty markerů jsou přepočítány na hodnoty MoM, korigovány na hmotnost matek a následně vyneseny do grafů, kde je viditelný posun hodnot mezi graviditami jednočetnými a dvojčetnými.

Po vyzkoušení několika empirických postupů, byl nalezen algoritmus, kterým lze v sledovaném souboru dokázat v 78,75 % vícečetná těhotenství, při 2,50% falešné pozitivitě.

Klíčová slova: vícečetná gravidita, alfa-1-fetoprotein (AFP), lidský choriový gonadotropin (hCG)

Abstract

The bachelor's thesis objective is to work out an algorithm enabling multiple pregnancy detection by second-trimester biochemical markers of alpha-1-fetoprotein and human chorionic gonadotropin in the blood serum of women pregnant with one foetus or twins.

Detected markers' values are converted into MoM values, adjusted to body masses of expectant mothers and subsequently entered into graphs where shifts in values between single and twin pregnancies are visible.

In testing several empirical methods, the algorithm was found by which 78,75 % multiple pregnancies can be proved in the studied group, with false positive ratio of 2,50%.

Key words: multiple pregnancy, alpha-1-fetoprotein (AFP), human chorionic gonadotropin (hCG)

Obsah

ÚVOD A ZADÁNÍ – (CÍL) PRÁCE	1
TEORETICKÁ ČÁST	2
1. Vícečetné těhotenství	2
1.1 Výskyt vícečetných těhotenství	2
2. Etiologie vícečetných (dvojčetných) těhotenství	5
3. Komplikace související s dvojčetným těhotenstvím	6
3.1 Riziko potratu	7
3.2 Syndrom fetu-fetální transfúze	7
3.3 Riziko předčasného porodu	8
3.4 Syndrom mizejícího dvojčete	8
3.5 Riziko intrauterinní růstové retardace	9
3.6 Riziko vzniku vrozených vývojových vad	9
4. Prenatální péče a diagnostika	11
4.1 Biochemický screening II. trimestru	12
4.1.1 Alfa-1-fetoprotein	12
4.1.2 Lidský choriový gonadotropin	13
4.1.3 Nekonjugovaný estriol	14
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	15
5. Cíle výzkumné části	15
6. Metodika výzkumného šetření	15
6.1 Princip metod	15
6.1.1 Stanovení metody AFP	15
6.1.2 Stanovení metody hCG + β	16
6.2 Charakteristika zkoumaného souboru	16
VÝSLEDKY	17
DISKUSE	21

ZÁVĚR	23
Použité zkratky	24
Seznam tabulek	25
Seznam obrázků	25
Seznam grafů	25
Seznam příloh	25
Použitá literatura	26
Přílohy	30

ÚVOD A ZADÁNÍ – (CÍL) PRÁCE

Vícečetná gravidita u člověka není jev fyziologický, neboť lidská děloha je stavěna tak, aby vyhovovala potřebám plného vývoje jediného plodu. Je riziková jak pro matku, tak hlavně pro zárodky (výrazně vyšší úmrtnost i nemocnost dvojčat ve srovnání s jednočetnou graviditou), proto má důležitý klinický význam rychlá diagnostika a dohled nad tímto těhotenstvím.

Toto téma bakalářské práce jsem zvolila proto, že frekvence vícečetných těhotenství má stále více vzestupní tendenci. Zvyšování počtu vícerčat mezi narozenými dětmi bývá obvykle dáváno do souvislosti se zvyšujícím se porodním věkem matek, s užíváním hormonálních přípravků a v neposlední řadě se stále častějším využíváním asistované reprodukce k početí dítěte, kdy především metody mimotělního oplodnění a přenesení více zárodků do dělohy ženy jsou označovány za příčinu zvýšení četnosti výskytu porodů vícerčat.

Cílem práce je v první části rozebrat problematiku vícečetných těhotenství, jejich incidenci, etiologii, specifické komplikace související s tímto tématem, dále popsat úlohu a význam biochemických markerů-lidského choriového gonadotropinu a alfa-1-fetoproteinu v prenatální diagnostice.

Druhá část práce je věnována záchytu dvojčetných těhotenství pomocí druhotrimestrálních biochemických markerů, porovnávání jejich hodnot s jednočetnými graviditami a hledání algoritmů, kterými, pomocí nárůstu hodnot těchto markerů, lze vyslovit podezření na vícečetnou gestaci.

Vícečetné těhotenství je problematika vyžadující důslednou prenatální péči a především individuální přístup.

TEORETICKÁ ČÁST

1. Vícečetné těhotenství

U lidské populace je početí jednoho dítěte obvyklejším jevem, než gravidita vícečetná. Kudela a kol. (2004) popisují, že při mnohočetném těhotenství se v děloze vyvíjí a při porodu se narodí více jak jeden plod, podle jejich počtu se jedná o *gemini* (dvojčata), *trigemini* (trojčata), *quadrigemini* (čtyřčata) apod.

Mnohočetná gravidita znamená zvýšenou zátěž pro systém perinatální péče s případnými důsledky vyšší perinatální mortality a morbidity. Také klade vyšší nároky na rodinu. Vícečetná těhotenství nejsou považována za těhotenství patologická, ale jsou vedena jako gravidity rizikové, proto vyžadují zvýšenou pozornost a péči porodníka (Hájek a kol., 2004).

1.1 Výskyt vícečetných těhotenství

Přibližný výskyt vícečetných gravidit stanovil koncem 19. století Hellin a dle jeho jména bylo užíváno Hellinovo pravidlo, kterým můžeme určit výskyt vícečetných těhotenství různého stupně. Podle něj lze očekávat:

- dvojčata (p) – 1 : 85 porodům = 1,18 %
- trojčata (p^2) – 1 : 85² porodům = 0,013 %
- čtyřčata (p^3) – 1 : 85³ porodům = 1: 614125
- paterčata (p^4) – 1 : 85⁴ porodům = 1: 52200625,

kde p je stupněm četnosti (Breckwoldt a kol., 1997).

Uvedené pravidlo platí jen pro spontánně vzniklá mnohočetná těhotenství a nelze jej považovat za zákon.

V tabulce 1 můžeme vidět četnost porodů v České republice v letech 1950 až 2010. Podle Hellinova pravidla by na 85 porodů měl připadat jeden porod vícerčat. Tomu by odpovídalo zastoupení vícečetných porodů v České republice v roce 1950. Nejvíce vícečetných porodů bylo zaznamenáno v roce 2010, kdy podíl mnohočetných porodů činil 2,14 %.

Tabulka 1: Porody v ČR podle četnosti (1950-2010)

	1950	1960	1970	1980	1990	1995	2000	2005	2010
Počet porodů celkem	189 391	128 860	147 453	153 194	129 908	95 344	89 754	100 546	114 976
v tom :									
jedno dítě	187 148	127 566	146 028	151 738	128 739	94 313	88 363	98 607	112 518
dvojčata	2222	1287	1410	1441	1152	1010	1368	1926	2446
trojčata	21	7	15	15	17	20	22	13	12
čtyřčata	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Podíl vícečetných porodů (v %)	1,18	1	0,97	0,95	0,9	1,08	1,55	1,93	2,14
Počet jednočetných porodů připadajících na 1 porod dvojčat	84,2	99,1	103,6	105,3	111,8	93,4	64,6	51,2	46

Zdroj: Kačerová, E.: Vícečetné porody. Demografie [online] 2012. URL:

http://www.demografie.info/?cz_detail_clanku=&artclID=792

Narození vícerčat je podmíněno několika faktory: genetickými predispozicemi, rasou, věkem ženy, či počtem předešlých těhotenství. V současnosti je biologická zákonitost mezi věkem či pořadím porodu a četností výskytu vícerčat nabourávána asistovanou reprodukcí, protože na asistovanou reprodukci se obracejí především ženy starší 30 let, které dosud dítě nemají (Klupalová, 2011), a tak vzrůstá zastoupení vícerčat mezi prvorozenými dětmi.

V ojedinělých rodinách dochází k častému (geneticky podmíněnému?) výskytu vícečetných těhotenství s čtyřikrát vyšší pravděpodobností jejich opakování (Breckwoldt a kol., 1997).

Genetické predispozice se mohou projevit genem hyperovulace, který způsobuje, že se během jednoho ovulačního cyklu vylučuje více než jedno zralé vajíčko, a tak se zvyšuje pravděpodobnost početí dvojvaječných dvojčat; pokud je sama matka z dvojvaječných dvojčat, pravděpodobnost, že se jí narodí dvojčata, může činit až 1:17 (Eriksson, Fellman, 2004).

Klika (1980) uvádí, že pravděpodobnost narození dvojčat u matek, které již dvojčata dříve porodily, je pětikrát vyšší než u ostatních.

Jistá pravděpodobnost vícečetného těhotenství je i etnicky vázaná. Nejčastěji se vícerčata rodí černochům, a to v některých afrických kmenech až s incidencí 4,9 %. Nejméně se jich rodí u asijských ras, v Japonsku, jen 0,13 % (Hájek a kol., 2004).

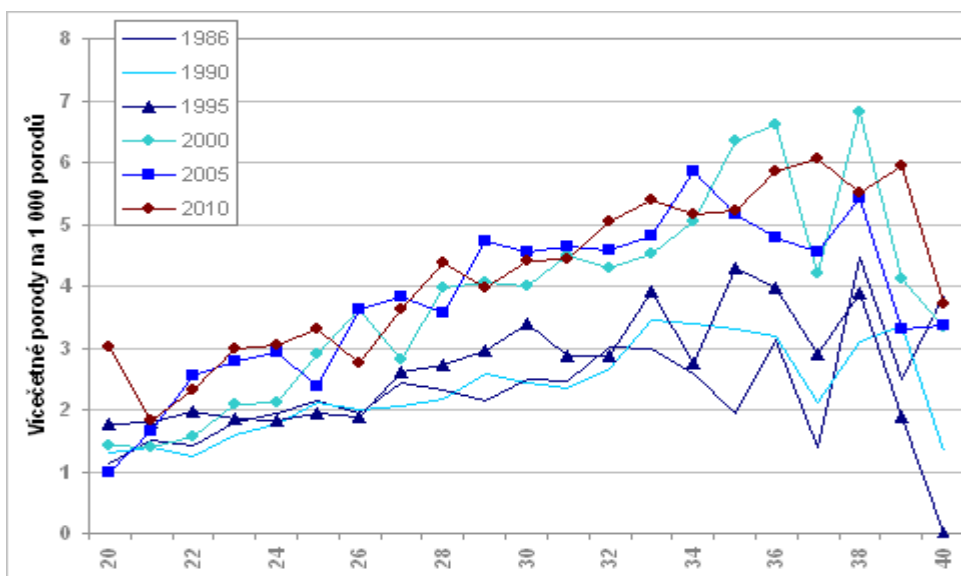
Tyto rozdíly se týkají pouze dizygotních (dvojvaječných) dvojčat (Kudela a kol., 2004). Jednovaječná dvojčata jsou jev velice vzácný, vzácnější než dvojvaječná dvojčata. Celkově se jednovaječná dvojčata vyskytují asi ve čtyřech případech na 1000 porodů (Czyz a kol., 2012).

Na 80–90 těhotenství připadá jeden případ dvojčat, z nichž cca dvě třetiny jsou dizygotní. Počet dvojvaječných dvojčat stoupá s věkem matky a dosahuje statistického maxima u žen s porodním věkem okolo 40. roku (Klika, 1980).

Riziko vícečetných gravidit roste s věkem žen (graf 1), pokud není důsledkem transferu více než 4 embryí při asistované reprodukci, jak uvádějí Hájek a kol. (2000).

V dalším textu se budeme zabývat především těhotenstvím dvojčetným. Gravidity s větším počtem plodů se vyskytují mnohem vzácněji a jsou zatížena v podstatě stejnými komplikacemi a riziky jen s větší pravděpodobností jejich vzniku.

Graf 1: Vícečetné porody podle věku matky (na 1000 porodů)



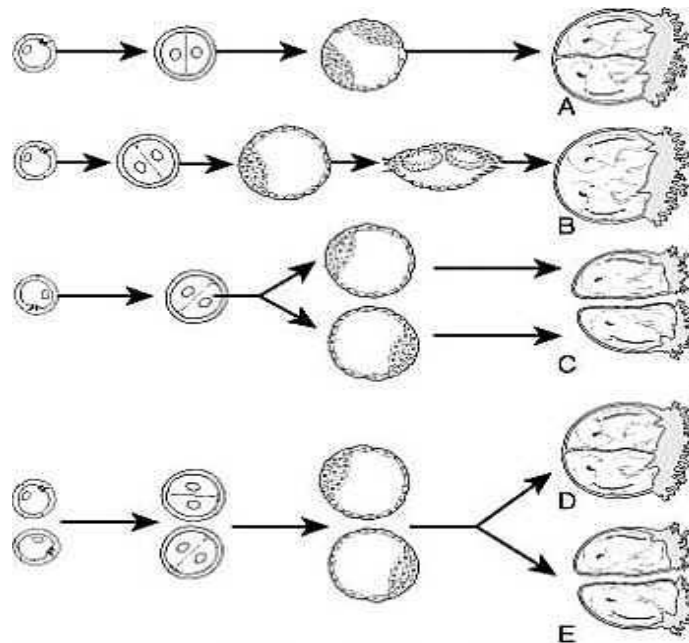
Zdroj: Kačerová, E.: Vícečetné porody. Demografie [online] 2012. URL:

http://www.demografie.info/?cz_detail_clanku=&artclID=792

2. Etiologie vícečetných (dvojčetných) těhotenství

Dvojčata dělíme na *monozygotická* („jednovaječná“) a *dizygotická* („dvouvaječná“).

Obrázek 2: Mechanismy vzniku dvojčat



Zdroj: [http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/Twin+\(Biological\)](http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/Twin+(Biological))

Legenda:

(A) Nejčastější typ monozygotních dvojčat – monochoriati biamniati

(B) Vzácny typ monozygotních dvojčat – monochoriati monoamniati

(C) Monozygotní dvojčata – bichoriati biamniati (placenty mohou být spojené či oddělené)

(D, E) Dizygotní dvojčata se spojenými (D) nebo oddělenými (E) placentami

Monozygotická dvojčata vznikla oplozením jednoho oocytu jednou spermií s následným rozdělením na dvě embrya v období do 14. dne vývoje; jejich genetická výbava je shodná. Další vývoj jednovaječných dvojčat závisí na čase rozdělení embryonální tkáně. Jsou možné následující tři varianty: dvojčata *bichoriální-biamniální* s oddělenými choriovými i amniotickými dutinami (asi 1/3 případů), dvojčata *monochoriální-biamniální* se společnou choriovou

dutinou a tedy i placentou (asi 2/3 případů) a v poslední řadě dvojčata *monochoriální-monoamniální* (výskyt pod 1 % monozygotických dvojčat) se společnou placentou i amniovou dutinou (Koterová, 2008).

Dizygotická dvojčata vznikají oplozením dvou vajíček dvěma spermii a jsou vždy *bichoriální biamniální*, mají oddělené placenty a jejich genetická výbava se liší. Počet placent dvojčat (chorionicita) je faktor, který nejvíce ovlivňuje výskyt komplikací spojených s těhotenstvím. Monoamniální dvojčata jsou velmi vzácná a ohrožena významným výskytem komplikací. Velmi vzácnou komplikací monoamniálních dvojčat jsou tzv. srostlice (conjoined twins) (Koterová, 2008).

3. Komplikace související s dvojčasným těhotenstvím

Péče o dvojčasně těhotenství je náročnější vzhledem k častému riziku prematurity (předčasněho porodu), dále specifickými syndromy ohrožení plodů při vícečetném těhotenství (twin to twin transfúze, častější vrozených vývojových vad, atd.), ale také díky vyšším nárokům, které jsou kladeny na matku, mnohdy starší a s přidruženými komplikacemi, jako je preeklampsie, gestační diabetes nebo kardiovaskulární poruchy (Lomíčková, 2003).

Riziko výrazně stoupá u monochoriálních dvojčat.

U dvojčasněho těhotenství se častěji vyskytuje tzv. raná gestóza (neurovegetativní dysbalance). Je těžší formou těhotenského zvracení, často vyžadujícího hospitalizaci, dále slinění a další poruchy raného těhotenství s vážnějším průběhem.

Ve druhé polovině těhotenství se u dvojplodé gravidity častěji vyskytuje těhotenská anémie, která má vážnější průběh.

Hypertenze a preeklampsie, které byly dříve označovány jako pozdní gestóza, vykazují vzestup na 5-10 násobek. Různé prameny uvádí až šestinásobně zvýšené ohrožení druhého plodu oproti těhotenství s plodem jedním (Fuchs, 2000).

3.1 Riziko potratu

10–30 % klinicky potvrzených gravidit končí spontánním potratem, uvádí odborná literatura. Ve skutečnosti je to téměř 70 % započatých těhotenství, jelikož asi v 50 % případů dojde ke spontánnímu potratu dříve, než je těhotenství klinicky potvrzeno (Hromadová a kol., 2009).

Těhotenské ztráty u gemini bichoriati činí 2,5 % a u gemini monochoriati až 12,7 %. Příčinou potratu u monochoriálních dvojčat bývá časný vznik syndromu twin-to-twin transfúze (Kulovaný a kol., 2002).

3.2 Syndrom fetu-fetální transfúze

Syndrom fetu-fetální transfúze (TTTS), nebo také syndrom twin-to-twin transfúze je vážný patologický stav, vyskytující se při vícečetné graviditě. Je spojen s vysokým rizikem potratu, s vysokou perinatální morbiditou a mortalitou. Nejvíce ohrožená jsou gemini monochoriati biamniati (Vrána a kol., 2008).

U monochoriálních dvojčat dochází k redistribuci krevního objemu od jednoho dvojčete ke druhému arteriovenózními spojkami v placentě, které způsobují transfúzi krve z jednoho plodu (donor) do druhého (recipient). Zatímco dvojče-donor anemizuje a dochází k němu k poklesu cirkulujícího objemu krve (hypovolémii), u recipienta vzniká polycytémie a zvýšení cirkulujícího objemu s hypertenzí až srdečním selháním. Ohroženy jsou tak oba plody (Fuchs, 2000).

V případě těžkého syndromu TTTS bez léčby končí až 90 % gravidit před 26. týdnem gestace intrauterinním úmrtím plodu/plodů. V případě úmrtí jednoho dvojčete, můžeme pozorovat u druhého živého dvojčete neurologické poškození až v 25 % případů (Johnson, Moise, 2007).

V České republice představuje dvojčetná gravidita asi 2 % všech porodů, přitom *gemini monochoriati biamniati* tvoří asi 22 % všech dvojčetných gravidit. Syndrom fetu-fetální transfúze pak vzniká asi u 15–20 % těchto gestací (Vrána a kol., 2008).

3.3 Riziko předčasného porodu

Předčasný porod, je porod před ukončeným 37. týdnem těhotenství. Dvojčata se rodí průměrně v 35. týdnu gestace, trojčata v 33. týdnu gestace a čtyřčata v 29. týdnu gestace (Kulovaný a kol., 2002).

Perinatální úmrtnost je u dvojčat 6x vyšší oproti těhotenstvím jednočetným. Mezi 24. - 32. týdnem těhotenství dochází k předčasnému porodu u gravidity s jedním plodem v 1–2 %, v 9 % u monochoriálních dvojčat a v 5 % u dvojčat bichoriálních (Kulovaný a kol., 2002).

Prematuritu lze podrobněji rozdělit na extrémní, což je porod před 28. týdnem těhotenství, těžkou, což je porod mezi 28. - 30. týdnem těhotenství, dále na střední prematuritu, kdy je porod ukončen mezi 31. - 33. týdnem těhotenství a porod mezi 34. - 36. týdnem těhotenství se označuje jako lehká prematurita. Předčasný porod často způsobují infekce, deformity dělohy a při vícečetném těhotenství nebo polyhydramniu, distenze dělohy (Vavřincová, 2009).

Předčasné porody jsou velkým problémem, jejich počet stoupá z obvyklých 5–6 % při jednom plodu, až na 50 % při mnohočetné graviditě (Fuchs, 2000).

K monitoringu hrozícího předčasného porodu je vhodné ultrazvukové měření děložního čípku – cervikometrie a v indikovaných případech bývá doporučeno provést cerclage, což je operativní uzavření hrdla děložního stehem. Podle současných zkušeností je cerclage metodou nejlepší, i když ne absolutně jistou. Metoda oddálí předčasné otevírání hrdla děložního a s ním související hrozící předčasný porod (Kulovaný a kol., 2002).

3.4 Syndrom mizejícího dvojčete

Syndrom mizejícího dvojčete se týká 17–20 % případů a jediným vnějším projevem může být slabé krvácení. Při ultrazvukovém vyšetření pozorujeme gestační váčky s rozdílnou velikostí, u jednoho váčku nebývá zastižen fetální pól (empty sac) nebo srdeční akce (Kulovaný a kol., 2002).

V průběhu I. trimestru dochází u tohoto syndromu k postupnému vstřebání zmlklého plodového váčku, druhý plod se přitom vyvíjí až do porodu naprosto normálně (Fuchs, 2000).

Pokud dojde k odumření jednoho z plodů v pozdějším stádiu gravidity, jedná se o syndromu mrtvého plodu. Jde-li o úmrtí jednoho plodu u vícečetného těhotenství, prognózu a postup je nutno stanovit individuálně. V případě monozygotních dvojčat je například riziko úmrtí druhého plodu více než 50 % a těhotenství je třeba ukončit (Hájek a kol., 2004).

3.5 Riziko intrauterinní růstové retardace

I přestože výskyt rizika intrauterinní růstové retardace (IUGR) je častější u vícečetné gestace než u jednočetných, není patogeneze zcela objasněná. Předpokladem může být vliv zmenšeného intrauterinního prostoru na snížený fetální růst. Incidence IUGR u dvojčat je desetkrát vyšší než u jednoplochého těhotenství. Růstová restrikce je patrna zejména u monochoriálních dvojčat, v přítomnosti acardia (nevývin srdce), při intrauterinním odúmrťí jednoho dvojčete, tam, kde jedno z dvojčat je postiženo vrozenými vývojovými vadami a při feto-fetální transfúzi (Roztočil, A., 2008).

3.6 Riziko vzniku vrozených vývojových vad

Kongenitální anomálie či vrozené vývojové vady (VVV) jsou termíny, kterých se užívá k označení vývojových poruch, které jsou přítomny při narození. Příčiny vrozených vad můžeme rozdělit na:

- genetické faktory (jako jsou chromozomální aberace)
- faktory zevního prostředí

Mnoho běžných vrozených vad vzniká společným působením genetických a zevních faktorů, 20–25 % je podmíněno multifaktoriální dědičností, 6–7 % je způsobeno známými chromozomálními abnormalitami a 7 až 8 % mutantními geny. Odhaduje se, že až 10 % vrozených vad u člověka je způsobeno disruptivním působením faktorů zevního prostředí (Persaud, 1990, Thomson, 1991).

U 50–60 % vrozených vad zůstávají příčiny neznámé. Vrozené vady mohou být izolované nebo mnohočetné; klinicky nevýznamné či významné. Izolované nevýznamné anomálie lze najít až u 14 % novorozenců (Jones, 1997).

VVV u dvojčat mají vyšší incidenci ve srovnání s jedináčky, a to především u vrozených vad raného malformačního komplexu: anencefalie, sirenomelie, defekty břišní stěny nebo obličejových rozštěpů (Šípek a kol., 2009).

Šípek a kol. (2009) uvádějí, že v letech 1994–2007 se v České republice narodilo 1 312 930 dětí z jednočetného těhotenství a 42 448 dětí z dvojčetného. Tyto údaje zahrnují živě i mrtvě narozené děti. Množství narozených dvojčat v tomto období vzrostlo z 2,33 % (v roce 1994) až na 4,17 % (v roce 2007).

Incidenci VVV v sledovaném období udávají autoři 339,84 na 10 000 živě narozených plodů z jednočetných gravidit a 424,39 na 10 000 živě narozených plodů z dvojčetných gravidit. U dvojčat byl významně vyšší výskyt vrozených vad nervové soustavy, oběhové soustavy, trávicího traktu, močové soustavy a dalších ve srovnání s plody jednočetnými. Konkrétně se u dvojčat vyskytl ve větší míře kongenitální hydrocefalus, vady srdce, rozštěp rtu a/nebo patra, vrozené vady jícnu, hypospadiie, anorektální malformace, kongenitální hydronefróza, polydaktylie, syndaktylie. Jako další vrozené vady, které byly u dvojčat významnější, udávají autoři, spinu bifidu, syndrom hypoplázie levého srdce, atrézii nebo stenózu duodena, brániční kýlu a Downův syndrom (Šípek a kol., 2009).

Za jeden ze základních kvalitativních ukazatelů, populačních i medicínských je považována intenzita výskytu vrozených vad. V současnosti je populace vystavována různým rizikům a z těchto rizik plynoucím ohrožením, jedním z nich je pak i ohrožení vzniku vrozené vývojové vady. Z hlediska studia zdravotního stavu populace je pak bezesporu důležitá časová i prostorová diferenciacie rizika zvýšené pravděpodobnosti výskytu vrozené vývojové vady a hledání její podstaty. Jakékoli rizikové faktory pro vznik vrozených vad by měly být analyzovány (Šípek a kol., 2009).

4. Prenatální péče a diagnostika

Pro správnou prenatální péči má podstatný význam včasná diagnostika vícečetného těhotenství, která se opírá o výsledky klinického vyšetření.

Prenatální diagnostika je soubor postupů a metod, jejichž úkolem je určit různé odchylky a vady u plodů ještě před narozením. Prenatální diagnostika jako celek je založena na úzké mezioborové spolupráci odborníků různých lékařských specializací – např. gynekologie a porodnictví, lékařské genetiky, klinické biochemie či ultrazvukové diagnostiky (Gregor a kol., 2008).

Vyšetření v rámci prenatální diagnostiky můžeme rozdělit z několika možných pohledů. Z hlediska invazivity (pro plody) lze vyšetření dělit na metody invazivní (kam patří např. odběr plodové vody - amniocentéza) a na metody neinvazivní (např. ultrazvukové vyšetření). Dalším možným dělením je rozdělení na vyšetření screeningová (která jsou prováděna v celé populaci těhotných žen) a na vyšetření cílená (která se provádějí pouze u těhotenství, u kterých máme výrazné podezření na určitou chorobu či vadu) (Calda, 2007; Gregor a kol., 2008).

Úkolem screeningových vyšetření je tedy identifikovat ta těhotenství, u kterých je podezření na určitou aberaci. Mezi screeningová vyšetření patří biochemické testy, ty jsou prováděny z krve matky v I. či ve II. trimestru gravidity. Na základě analýzy vybraných biochemických markerů je možné vypočítat riziko určitých vývojových vad (především pak Downova syndromu). Dalším screeningovým vyšetřením je posléze ultrazvukové vyšetření plodů. Pomocí ultrazvukového vyšetření lze zachytit nejen plody se známkami chromozomových odchylek (jakou je Downův syndrom), ale také plody s jinými strukturálními vývojovými vadami (jakými jsou například různé rozštěpy). V neposlední řadě jsou pak výsledky ultrazvukového vyšetření hodnoceny společně s výsledky biochemického vyšetření v rámci tzv. kombinovaných či integrovaných testů (Calda, 2007; Gregor a kol., 2008).

V další části práce se budeme zabývat právě biochemickým screeningem II. trimestru těhotenství.

4.1 Biochemický screening II. trimestru

Biochemický screening aneuploidí a rozštěpu neurální trubice u dvojčetných gravidit je problematictější než u gravidit jednočetných. Ohledně hraničních cut-off hodnot násobků mediánů (MoM) a přijatelné falešné positivity není jednota. Úskalí detekce Downova syndromu u dizygotních dvojčat v případě postižení pouze jednoho plodu je v tom, že snížená hladina AFP v séru matky (MS-AFP) je zastřena normálním množstvím AFP, jež proniká do krve matky ze zdravého plodu. Celková hodnota MS-AFP se tak přibližuje normální hladině. Obdobná situace je u detekce defektů neurální trubice. Většina center v současné době užívá cut-off hodnotu 3,5-4 MoM. Jak screening aneuploidí, tak defektů neurální trubice u vícečetných gravidit pomocí biochemických markerů má podle některých odborníků limitovanou výpovědní hodnotu, ale nelze ho opomíjet a v některých případech je právě pomocí biochemických markerů zachyceno riziko výskytu vícečetného těhotenství (Calda, 2007).

Optimální dobou pro provádění biochemického screeningu II. trimestru je 16. týden těhotenství, resp. 16. – 18. týden. Pro výpočet výsledného rizika je také nutné přesné určení gestačního stáří. Vyšetřují se sérové hladiny a jejich statistické korekce (uváděné v MoM, multiples of medians) alfa-1-fetoproteinu, lidského choriového gonadotropinu a nekonjugovaného estriolu. Nekonjugovaný estriol je prováděn laboratořemi, splňujícími požadavky na preanalytickou fázi tohoto analytu, jelikož patří mezi labilnější markery, s velmi častou falešnou pozitivitou testů při špatném zacházení s odebranými vzorky (Calda, 2007).

4.1.1 Alfa-1-fetoprotein

Alfa-1-fetoprotein je glykoprotein, jehož zvýšená produkce je prokazatelná od 29. dne po početí.

Probíhá ve žloutkovém vaku, gastrointestinálním traktu, především v játrech. Málo významná tvorba byla zjištěna také v ledvinách a v placentě. Syntéza AFP narůstá v období mezi 10. – 13. týdnem, k prudkému poklesu dochází po 16. a poté v 32. – 34. týdnu.

Snížené hodnoty AFP v mateřském séru mohou být spojovány s vyšším rizikem výskytu chromozomálních odchylek (trizomie 13, 18, 21, aberace gonozomů), poruchami vývoje plodu (např. zánik plodu, mola hydatidosa), ale také s onemocněním matky (např. inzulin-dependentní diabetes mellitus, obezita).

Zvýšené hodnoty AFP můžeme detekovat v případech, kdy dochází k jeho úniku do plodové vody a mateřského séra v místech kožního defektu plodu (např. poruchy uzávěru neurálního systému, břišní stěny, extrofie močového měchýře), komplikace gravidity, tj. poruchy vývoje plodu nebo vývoje placenty. Infekce matky (např. cytomegalová infekce, infekce parvovirem B 19) jsou také provázeny vyššími hladinami AFP. Zvýšení hladiny může způsobit i alkoholismus. Fyziologicky zvýšená syntéza je u vícečetných gravidit (Hájek a kol., 2000).

V současné době se zkouší zavedení AFP jako markeru defektů neurální trubice také do kombinovaného screeningu I. trimestru (Bredaki a kol., 2012).

4.1.2 Lidský choriový gonadotropin

Lidský choriový gonadotropin patří do skupiny glykoproteinů. Molekulu hCG tvoří dvě nekovalentně vázané podjednotky alfa (α) a beta (β). Je syntetizován v buňkách syncytiotrofoblastu. Jeho plazmatická hladina narůstá do 11. týdne, pak prudce klesá až o 80 % a na této úrovni zůstává do konce gravidity. V průběhu těhotenství dochází k pozvolnému zvyšování hladin alfa podjednotky, hladina beta podjednotky se zvyšuje do 10. týdne, následně klesá do 22. týdne, mírně se zvyšuje do 32. týdne a pak mírně klesá do konce gravidity. Beta-podjednotka určuje biologickou specificitu hormonu a vykazuje značnou míru homologie s beta-podjednotkou lidského luteinizačního hormonu (LH), folikuly stimulujícího hormonu (FSH) a tyreotropního hormonu (TSH). V tělních tekutinách je přítomna intaktní molekula hCG i volné podjednotky. V prvním trimestru gravidity je poměr volné β -hCG/hCG přibližně 1–4 %, ve druhém a třetím trimestru tento poměr klesá na 1 %. Syntéza hCG odráží nejen kvalitu a hmotnost trofoblastu, ale také stav průtoku krve v uteroplacentárním systému. Vyšetření volné β -podjednotky hCG má význam

i v onkologické diagnostice (nagonadální, gonadální a extragonadální choriokarcinomy, seminomy a jejich metastázy). Určitá část seminomů produkuje výhradně volnou β -podjednotku. Napomáhá také v rozlišení maligního a benigního trofoblastického nádoru. Ektopická produkce hCG byla popsána také u řady různých histologických typů karcinomů (Hájek a kol., 2000).

Zvýšené hodnoty hCG nalézáme u Downova syndromu (trisomie 21). Mohou být asociovány s intrauterinní růstovou retardací nebo zánikem plodu, hydropsem, který není podmíněný imunitně nebo chromozomální vadou, Noonanovým syndromem, hypertenzí těhotné.

Snížení hladiny hCG může být přítomno u Edwardsova syndromu (trisomie 18), u Patauova syndromu (trisomie 13), u gravidit s *abortus imminens* nebo u těhotných s diabetes mellitus I. typu.

4.1.3 Nekonjugovaný estriol

Jediný marker abnormálního vývoje plodu, který odráží metabolickou aktivitu fetoplacentární podjednotky. Místem syntézy jsou fetální nadledvinky, játra a placenta, kde fázovitě dochází k přeměně cholesterolu na dehydroepiandrosteron sulfát (DHEAS) a jeho hydroxylovanou formu, která se v placentě mění na estriol. Diagnosticky významná je frakce estriolu, která není vázaná na transportní protein, tzv. nekonjugovaný estriol (uE3). Ten představuje v průběhu normálního vývoje plodu 10 % z celkového estriolu.

Snížená hodnota uE3 provází Downův syndrom plodu, hypofunkci nadledvin nebo anencefalii. Hodnoty může ovlivnit také matka nevhodným životním stylem, kouření snižuje sérové hodnoty estriolu asi o 15 % (Hájek a kol., 2000; Loucký, 2012).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5. Cíle výzkumné části

1. Pomocí normálních rozdělení hodnot MoM markerů alfa-1-fetoproteinu a lidského choriového gonadotropinu dokázat posun mezi jednočetnými graviditami a graviditami dvojčetnými.
2. Najít algoritmy, kterými, pomocí nárůstu hodnot těchto biochemických markerů, lze vyslovit podezření na vícečetné těhotenství.

6. Metodika výzkumného šetření

V práci byla použita data z archivů diagnostických laboratoří AeskuLab k.s., které jsou akreditované dle normy ČSN EN ISO 15189. Data pocházejí z let 2010-2014.

Jedná se o hodnoty biochemických markerů AFP a hCG, především o hodnoty korigované na hmotnost matky (MoM), naměřené a přepočtené v rámci screeningu II. trimestru vrozených vývojových vad u osmdesáti žen s jednočetným (viz příloha 1) a u osmdesáti žen s dvojčetným těhotenstvím (viz příloha 2).

6.1 Princip metod

Metody stanovení markerů AFP a hCG se provádí na automatizovaných imunoanalyzátorech Advia Centaur XP. Analýzy používají technologii přímé chemiluminiscence a testy provedené na těchto analyzátorech slouží k diagnostikování in vitro.

6.1.1 Stanovení metody AFP

Jedná se o oboustrannou sendvičovou imunochemickou analýzu využívající přímou chemiluminiscenci a konstantní množství dvou protilátek.

Reagencie Lite obsahuje purifikovanou polyklonální králičí protilátku proti AFP značenou akridinium esterem. Pevná fáze obsahuje monoklonální myší protilátku proti AFP kovalentně vázanou na paramagnetické částice.

Analyzátor automaticky napipetuje 10 μ l vzorku do kyvety, následně napipetuje 50 μ l reagencie Lite a 250 μ l pevné fáze a inkubuje 450 sekund při 37°C. V dalším kroku oddělí, odsaje a promyje kyvety reagenční vodou a napipetuje 300 μ l reagencie Acid a Base pro zahájení chemiluminiscenční reakce. Následně analyzátor generuje výsledky podle zvolených podmínek.

Mezi množstvím AFP ve vzorku pacienta a množstvím relativních světelných jednotek (RLU) změřených přístrojem je přímý vztah (SOP - AeskuLab k.s.).

6.1.2 Stanovení metody hCG + β

Biochemický marker hCG se rovněž stanovuje oboustrannou sendvičovou imunochemickou analýzou využívající přímou chemiluminiscenci.

Reagencie Lite obsahuje afinitně vyčištěnou polyklonální kozí protilátku proti hCG označenou akridinium esterem. V pevné fázi je purifikovaná monoklonální myší protilátka proti hCG, která je kovalentně navázána na paramagnetické částice. Tyto dvě protilátky jsou specifické pro různé epitopy, které jsou přítomné jak ve volné β -podjednotce, tak v β -podjednotce intaktního hCG. Po inkubaci je přidáním reagencí Acid a Base zahájena chemiluminiscenční reakce. Výsledky jsou vyhodnoceny z kalibrační křivky, která je specificky vytvořena pro přístroj dvoubodovou kalibrací a master křivky, dodávané v čárovém kódu na kartě kalibrační křivky Advia Centaur ThCG (SOP-AeskuLab k.s.).

6.2 Charakteristika zkoumaného souboru

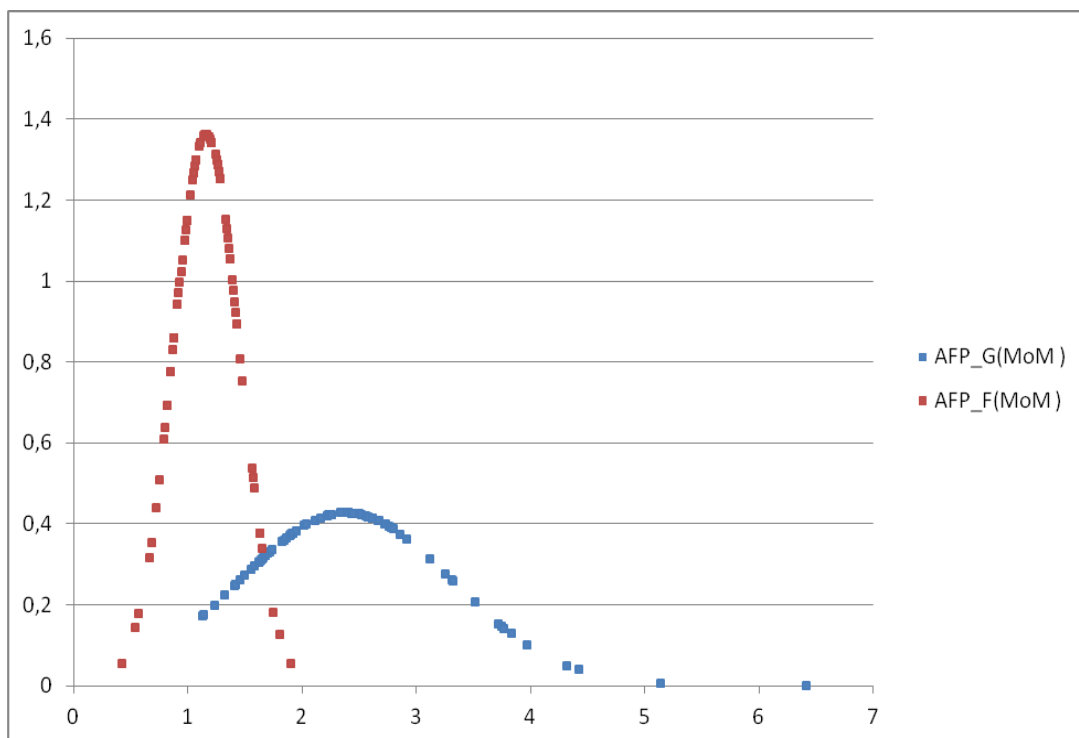
Cílovými skupinami sledovanými v práci je soubor osmdesáti žen s jedním plodem (viz příloha 1) a osmdesáti žen s dvojčaty (viz příloha 2). Jedná se o fyziologická těhotenství, nezatížená odchylkami. Skupina žen je věkově srovnatelná. Z důvodu ochrany osobních údajů jsou pacientky označeny specifickým kódem, který je tvořen dvěma písmeny – iniciály jména a dvěma čísly, kde první označuje věk matky a druhý rok screeningového vyšetření.

VÝSLEDKY

Prvním cílem výzkumné části bylo pomocí normálních rozdělení hodnot MoM markerů alfa-1-fetoproteinu a lidského choriového gonadotropinu dokázat posun mezi jednočetnými graviditami a graviditami dvojčetnými.

Z hodnot MoM pro oba markery jsme vypočítali střední hodnoty a směrodatné odchylky a pomocí funkce NORM.DIST. v programu Microsoft Excel jsme následně stanovili hustoty pravděpodobností normálního rozdělení. Posléze jsme sestrojili křivky těchto hustot, kde na ose x jsou naměřené hodnoty v MoM a na ose y, hodnoty $f(x)$, což je hustota normálního rozdělení pro dané parametry. Křivky mají svá maxima v střední hodnotě (modus).

Graf 2: Křivky normálního rozložení hodnot MoM pro marker AFP



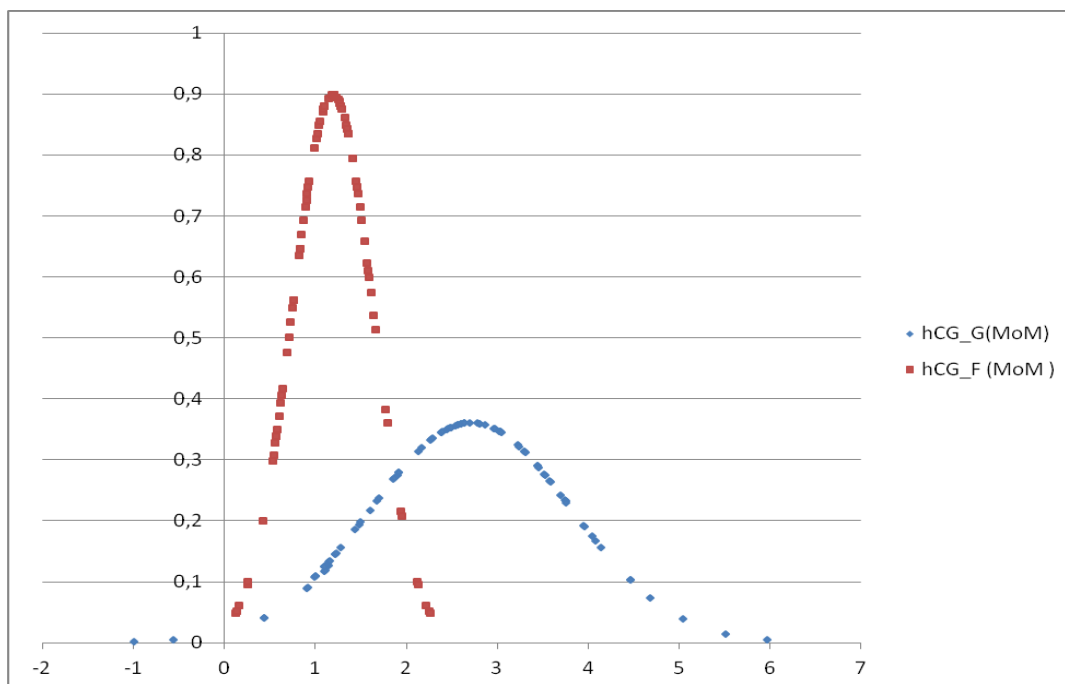
Legenda:

AFP_G (MoM) – hodnoty MoM markeru AFP pro dvojčetné těhotenství (gemini)

AFP_F (MoM) – hodnoty MoM markeru AFP pro jednočetné těhotenství (1fetus)

Z grafů 2 a 3 je vidět značný posun křivek jednočetných a dvojčetných gravidit pro markery AFP a hCG.

Graf 3: Křivky normálního rozložení hodnot MoM pro marker hCG



Legenda:

hCG_G (MoM) – hodnoty MoM markeru hCG pro dvojčetné těhotenství (gemini)

hCG_F (MoM) – hodnoty MoM markeru hCG pro jednočetné těhotenství (1 fetus)

Druhým cílem práce bylo nalézt algoritmy, kterými pomocí nárůstu hodnot MoM biochemických markerů AFP a hCG, lze potvrdit hypotéza, že se jedná o vícečetné těhotenství.

Data byla zpracována v programu Calc, co je vyspělý tabulkový kalkulátor (je alternativou k programu Microsoft Excel). Lze ho použít nejen pro tvorbu tabulek, ale také pro komplexní soustavy propojených dat se vzorci a funkcemi.

Bylo vyzkoušeno několik postupů a jako nejvhodnější se jevil následující. Do programu byly zadány konstantní podmínky pro výpočet, a to:

- 1) Hodnoty násobků mediánů (MoM) markeru AFP větší než 1,3
- 2) Hodnoty násobků mediánů (MoM) markeru hCG větší než 1,3
- 3) Součet hodnot MoM AFP a hCG větší než 3,5

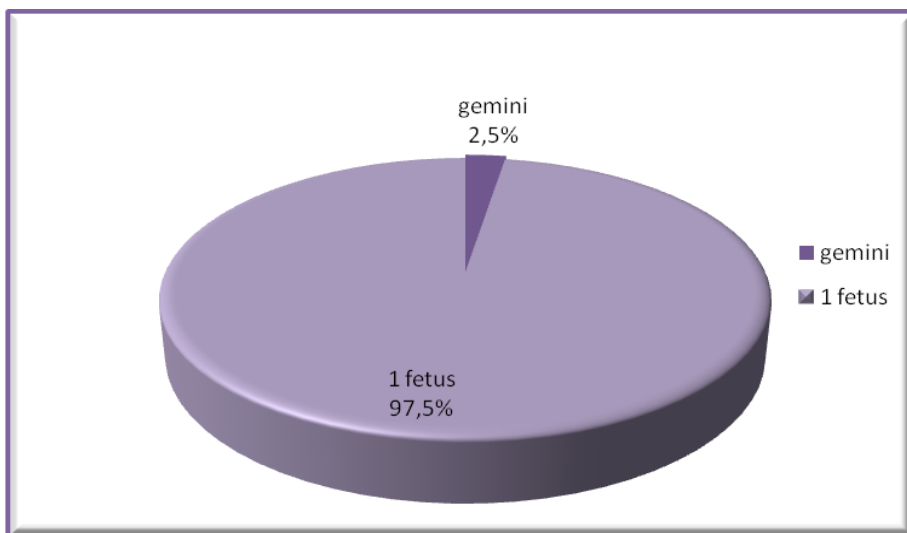
Hodnoty vyhovující pro dvojčata jsou označeny číslem jedna. Parametry vyhovující jednočetným těhotenstvím jsou označeny nulou. Pomocí zadaných podmínek pak program automaticky provede výpočet u zvolených dat.

Prostřednictvím funkcí SUM a AVERAGEA jsme vygenerované výsledky vyhovující pro dvojčata sečetli a určili jejich procentuální výskyt v daném souboru.

Pro obsáhlost tabulek (viz přílohy 3 a 4) zde uvádíme pouze dosažené výsledky, interpretované graficky.

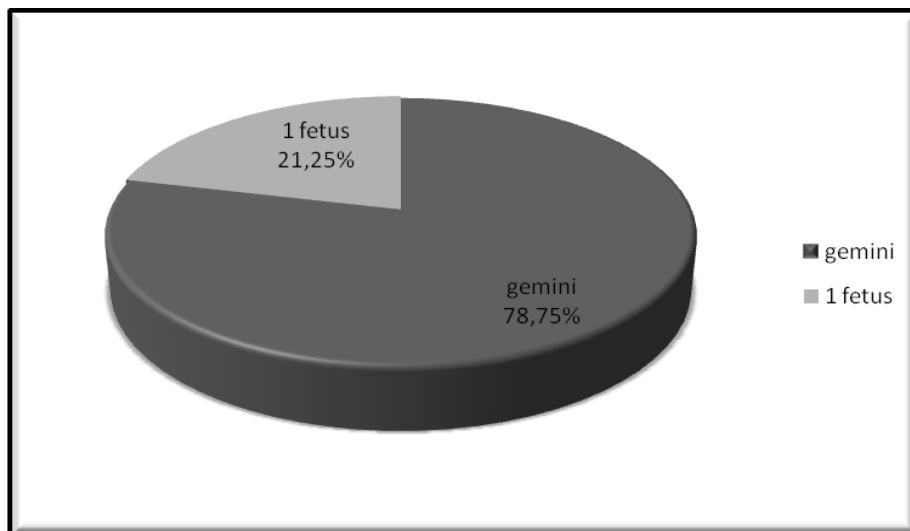
V souboru osmdesáti těhotných žen s jednočetnou gestací jsme po aplikaci našeho empirického postupu našli 78 negativních hodnot skutečně odpovídajících jednočetným graviditám. Pouze 2,5 % výsledků vykazovalo falešnou pozitivitu.

Graf 4: Procentuální zastoupení dvojčat v souboru osmdesáti žen s jednočetným těhotenstvím



Z celkového počtu osmdesáti žen s dvojčetným těhotenstvím činily hodnoty vyhovující dvojčatům stanoveny algoritmem 78,75 %. U sedmnácti žen hodnoty MoM sledovaných biochemických markerů AFP a hCG nesplnily konstantní podmínky algoritmu. Z toho plyne, že 21,25 % výsledků bylo falešně negativních.

Graf 5: Percentuální zastoupení dvojčat v souboru osmdesáti žen s dvojčatným těhotenstvím



DISKUSE

Hájek a kol. (2004) uvádějí, že mnohočetná gravidita představuje zvýšenou zátěž pro systém perinatální péče s případnými důsledky vyšší perinatální mortality a morbidity. Klade i vyšší nároky na rodinu. Vícečetné gestace nejsou považovány za těhotenství patologické, ale jsou vedeny jako gravidity rizikové, proto vyžadují zvýšenou pozornost a péči odborníků.

Pro správnou prenatální péči má podstatný význam včasná diagnostika vícečetného těhotenství, která se opírá o výsledky klinického vyšetření. Součástí klinického vyšetření je biochemický screening. U vícečetných těhotenství je střední hodnota markerů v séru matky, jako jsou AFP, hCG, volná β -hCG a inhibin A asi dvojnásobná, ve srovnání s hodnotami u těhotenství s jedním plodem. Když v matematickém modelu vezmeme v úvahu kalkulace rizika, lze odhadnout, že sérový screening u dvojčat může identifikovat asi 45 % postižených plodu s mírou falešné positivity 5 % (Cuckle, 2010).

I když prospektivní studie demonstrují, že testování séra je efektivní, bylo by ještě potřeba upřesnit poměrné riziko detekce s přijatelně nízkou falešnou pozitivitou, zvláště proto, že invazivní testování u mnohočetných těhotenství je technicky náročnější (Cuckle, 2010). Během práce jsme se snažili právě o upřesnění tohoto poměrného rizika detekce s přijatelně nízkou falešnou pozitivitou.

Experimentální část práce byla věnována záchytu dvojčetných těhotenství pomocí druhotrimestrálních biochemických markerů, porovnávání jejich hodnot s jednočetnými graviditami a hledání algoritmů, pomocí kterých by bylo možno vyslovit podezření na vícečetné těhotenství.

Z grafů 2 a 3 můžeme vidět a prokázat značný posun mezi jednočetnými graviditami a graviditami dvojčetnými. V grafech jsou vyneseny křivky normálního rozdělení hodnot MoM markerů alfa-1-fetoproteinu a lidského choriového gonadotropinu, naměřených v rámci screeningu II. trimestru vrozených vývojových vad (VVV) osmdesáti žen s jednočetným těhotenstvím a osmdesáti žen s dvojčetným těhotenstvím.

Další vytýčený cíl experimentální části byl splněn po vyzkoušení několika empirických postupů, kdy byl nalezen algoritmus, kterým jsme v sledovaném souboru dokázali v 78,75 % vícečetných těhotenství, při 2,50% falešné pozitivitě. Pro lepší názornost byly výsledky vyneseny do grafů 4 a 5.

Výsledky experimentální části odpovídají očekávanému.

Přínos práce vidíme v novém pohledu na využití screeningových biochemických markerů pro záchyt vícečetných těhotenství.

Jelikož ne všechna diagnostická centra s ohledem na preanalytickou fázi využívají nekonjugovaný estriol vrámci screeningu II. trimestru, byly v práci použity pouze biochemické markery AFP a hCG.

V budoucnu by však bylo zajímavé připojit k výzkumu i nekonjugovaný estriol, popřípadě použít prvotrimestrální biochemické markery - specifický těhotenský plazmatický protein (PAPP-A) a volnou β podjednotku hCG.

Calda (2007) uvádí, že biochemický screening aneuploidí a rozštěpu neurální trubice u dvojčetných gravidit je problematictější než u gravidit jednočetných. Má podle některých odborníků limitovanou výpovědní hodnotu, ale nelze ho opomíjet a v některých případech je právě pomocí biochemických markerů zachyceno riziko výskytu vícečetného těhotenství.

ZÁVĚR

Bakalářská práce pojednávala o vícečetných (dvojčetných) těhotenstvích.

V teoretické části jsme se věnovali výskytu a etiologii těchto gestací, komplikacemi, kterými jsou provázeny a významem screeningových biochemických markerů alfa-1-fetoproteinu a lidského choriového gonadotropinu.

Experimentální část práce vypovídala o využití hodnot MoM sledovaných biochemických markerů korigovaných na hmotnost matek. Pomocí těchto hodnot jsme v prvním kroku dokázali posun mezi jednočetnými a dvojčetnými graviditami a v kroku druhém, po aplikaci nalezeného algoritmu, jsme v sledovaném souboru dokázali v 78,75 % vícečetná těhotenství při 2,50% falešné pozitivitě.

Domníváme se, že cíle práce byly naplněny. Zohlednění získaných dat v běžné praxi by mohlo pomoci zkvalitnit prenatální péči o vícečetná těhotenství. Předpokládáme, že tato témata budeme zpracovávat v dalších navazujících výzkumech.

Použité zkratky

AFP	alfa-1-fetoprotein
α -hCG	alfa podjednotka hCG
β -hCG	beta podjednotka hCG
DHEA	dehydroepiandrosteron
DHEAS	dehydroepiandrosteron sulfát
f β -hCG	volná (free) beta podjednotka hCG
FSH	folikuly stimulující hormon
hCG	lidský choriový gonadotropin
IUGR	intrauterinní růstová retardace
LH	luteinizační hormon
MoM	multiples of median; násobky mediánu
MS-AFP	maternal serum AFP; AFP v mateřském séru
PAPP-A	specifický těhotenský plazmatický protein
RLU	relative light units; relativní světelné jednotky
ThCG	total hCG; celkové hCG
TSH	thyreotropní hormon
TTTS	twin-to-twin transfusion syndrome; syndrom fetu-fetální transfúze
uE3	unconjugated estriol; nekonjugovaný estriol
VVV	vrozené vývojové vady

Seznam tabulek

Tabulka 1: Porody v ČR podle četnosti (1950-2010).....	3
--	---

Seznam obrázků

Obrázek 1: Mechanismy vzniku dvojčat	5
--	---

Seznam grafů

Graf 1: Vícečetné porody podle věku matky (na 1000 porodů)	4
Graf 2: Křivky normálního rozložení hodnot MoM pro marker AFP	17
Graf 3: Křivky normálního rozložení hodnot MoM pro marker hCG.....	18
Graf 4: Percentuální zastoupení dvojčat v souboru osmdesáti žen s jednočetným těhotenstvím.....	19
Graf 5: Percentuální zastoupení dvojčat v souboru osmdesáti žen s dvojčetným těhotenstvím.....	20

Seznam příloh

Příloha 1: Naměřené hodnoty biochemických markerů AFP a hCG u těhotných žen s 1 plodem.....	30
Příloha 2: Naměřené hodnoty biochemických markerů AFP a hCG u těhotných žen s dvojčaty	31
Příloha 3: Aplikace algoritmu u dat jednočetné gestace.....	32
Příloha 4: Aplikace algoritmu u dat dvojčetné gestace	33

Použitá literatura

1. AESKULAB,k.s. Laboratoř biochemie a hematologie. *Standardní operační postupy pro stanovení choriogonadotropinu v séru metodou přímé chemiluminiscence soupravou Total hCG Siemens na analyzátoru Advia Centaur XP*: Praha, listopad 2013. 32 s.
2. AESKULAB,k.s. Laboratoř biochemie a hematologie. *Standardní operační postupy pro stanovení alfa-1-fetoproteinu v séru metodou přímé chemiluminiscence soupravou AFP Lite Siemens na analyzátoru Advia Centaur XP*: Praha, listopad 2013. 29 s.
3. BRECKWOLDT, M. a kol. *Gynekologie a porodnictví*. 1. vydání. Martin: Osveta, 1997. 648 s. ISBN 80-888-2456-7.
4. BREDAKI, F.E., POON, L.C., BIRDIR, C., ESCALANTE, D., NICOLAIDES, K.H. First-Trimester Screening for Neural Tube Defects Using Alpha-Fetoprotein. *Fetal Diagnosis and Therapy* [online]. 2012, vol. 31, issue 2, s. 109-114. DOI: 10.1159/000335677 [cit. 2014-04-05]. Dostupný z www: http://www.researchgate.net/publication/221873390_First-trimester_screening_for_neural_tube_defects_using_alpha-fetoprotein
5. CALDA, P. *Ultrazvuková diagnostika v těhotenství: pro praxi*. 1.vydání. Praha: Aprofema, 2007. 268 s. ISBN 978-80-903706-1-6
6. CUCKLE, S.H., MAYMON, R.: Down syndrome risk calculation for a twin fetus taking account of the nuchal translucency in the co-twin. *Prenatal Diagnosis* [online]. 2010. DOI: 10.1002/pd.2557 [cit. 2014-04-05]. Dostupný z www: <http://www.fetalmedicine.com/old/fmf/FMF-czech.pdf>
7. CZYZ, W., MORAHAN, J.M., EBERS, G.C. et al. Genetic, environmental and stochastic factors in monozygotic twin discordance with a focus on epigenetic differences. *BMC Med.* [online]. 2012, vol. 10: 93. DOI: 10.1186/1741-7015-10-93 [cit. 2014-04-05]. Dostupné z www: <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/10/93>
8. ČECH, E. a kol. *Porodnictví*. 2. přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2006. 554 s. ISBN 978-80-247-1303-8

9. ERIKSSON, W., FELLMAN, J.: Demographic Analysis of the Variation in the Rates of Multiple Maternities in Sweden Since 1751. *Human Biology*. 2004, Volume 76, Number 3, June 2004, 343–359.
10. FUCHS, V. Vícečetná těhotenství. *Medicína v praxi*. 2000, roč. 2. s. 42 – 43. ISSN: 1212-8759
11. GREGOR, V., ŠÍPEK A., HORÁČEK J. Prenatální diagnostika a její úspěšnost v České republice. *Prakt. Léč.* [online]. 2008, roč. 88, č. 4 [cit. 2014-04-05]. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/prakticky-lekar-clanek/prenatalni-diagnostika-a-jeji-uspesnost-v-ceske-republice-68>
12. GREGOR, V., ŠÍPEK A., HORÁČEK J. Prenatální diagnostika vrozených vad v České republice – aktuální data. *Prakt. Léč.* [online]. 2011, roč. 91, č. 2 [cit. 2014-04-05]. Dostupný z www: <http://www.prolekare.cz/prakticky-lekar-clanek/prenatalni-diagnostika-vrozenych-vad-v-ceske-republice-aktualni-data-34411>
13. HÁJEK, Z., KULOVANÝ, E., MACEK, M. *Základy prenatální diagnostiky*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2000. 432 str. ISBN:80-7169-391-X
14. HÁJEK, Z. a kol. *Rizikové a patologické těhotenství*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2004. 444 s. ISBN 80-247-0418-8
15. HROMADOVÁ, L., TRÁVNÍK, P., VESELÁ, K., VESELÝ, J., TAUWINKLOVÁ, G., ORÁČOVÁ, E. Těhotenské ztráty po metodách asistované reprodukce. *Praktická gynekologie* [online]. 2009, roč. 13, č. 2, s. 93 – 98. ISSN 1803-6597 [cit. 2014-03-06]. Dostupný z www: <http://www.prolekare.cz/prakticka-gynekologie-clanek/tehotenske-zraty-po-metodach-asistovane-reprodukce-34051>
16. JOHNSON, A., MOISE, K. J., Syndrom twin-to-twin transfuze – nové metody léčby zlepšující přežití. *Gynekologie po promoci* [online]. 2007, roč. 7, č. 3, s. 60 – 64. ISSN 1213-2578 [cit. 2014-04-05]. Dostupný z www: <http://www.tribune.cz/clanek/10723-syndrom-twin-amp-to-amp-twin-transfuze-amp-nove-metody-lecby-zlepsujici-preziti>

17. JONES, K. L. *Smith's recognizable patterns of human malformation*. 5th edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 1997.
18. KLIKA, E. *Embryologie člověka – 1. díl: Obecná embryologie a teratologie, obrazová část*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1980. 70 s.
19. KLUBALOVÁ, M.: *Porodnost a potratovost v ČR od roku 1960*. BP VŠE Praha, 2011, 59 s.
20. KOTEROVÁ, K. Vícečetné těhotenství. *Moderní babictví* [online]. Praha: Levret, 2008, roč. 2008, č. 16, s. 5 [cit. 2014-04-05]. Dostupné z [www: www.levblikace/casopisy/mb/2008-16/?pdf=2](http://www.levblikace/casopisy/mb/2008-16/?pdf=2)
21. KUDELA, M. *Základy gynekologie a porodnictví: pro posluchače lékařské fakulty*. 1. vydání. Olomouc: Univerzita Palackého, 2004. 273 s. ISBN 80-244-0837-6.
22. KULOVANÝ, E., ŠPÁLOVÁ, I., VLK, R. Vícečetné těhotenství. *Moderní gynekologie a porodnictví* [online]. 2002, roč. 11, č. 2, s. 287 – 295. ISSN 1211-1058 [cit.2012-01-06]. Dostupný z [www: http://www.levret.cz/texty/casopisy/mgp/obsahy/vol11c2/kulovany.php](http://www.levret.cz/texty/casopisy/mgp/obsahy/vol11c2/kulovany.php)
23. LOMÍČKOVÁ, T. Prenatální péče při vícečetném těhotenství. *Moderní gynekologie a porodnictví*. 2003, roč. 12, č. 2, s. 233-236.
24. LOUCKÝ, J. Prenatální screening vrožených vývojových vad plodu a biochemická diagnostika. *GynUltrazvuk* [online]. [cit. 2014-04-05]. Dostupný z [www: http://www.gynultrazvuk.cz/data/staticky-text/1/dokumenty/raabe-16el-pln-c5-5-bez.pdf](http://www.gynultrazvuk.cz/data/staticky-text/1/dokumenty/raabe-16el-pln-c5-5-bez.pdf)
25. MACKŮ, F. *Porodnictví*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 1996. 147 s. ISBN 80-7184-290-7.
26. MACKŮ, F. *Průvodce těhotenstvím a porodem*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 1998. 328 s. ISBN 80-7169-589-0.
27. MOORE, KL., PERSAUD, TVN. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1995.

28. PERSAUD, TVN. *Environmental Defects of Human Causes Birth*. Springfield: Charles C Thomas, 1990.
29. ROZTOČIL, A. *Moderní porodnictví*. 1. vydání. Praha: Grada, 2008. 405s. ISBN 978-802-4719-412.
30. ŘEŽÁBEK, K. *Léčba neplodnosti*. 4. vydání. Praha: Grada Publishing, 2008. 171 s. ISBN 978-80-247-2103-3
31. ŠÍPEK, A., GREGOR, V., HORÁČEK, J., ŠTEMBERA, Z., ŠÍPEK, A. jr., KLASCHKA, J., SKIBOVÁ, J., LANGHAMMER, P., PETRŽÍLKOVÁ, L., WIESNEROVÁ, J. Zvýšené incidence vrozených vad u dvojčat aktuální data v ČR. *Neonatologické listy* [online]. 2009, roč. 15, č. 1, s. 13 – 20. ISSN 1211-1600 [cit.2014-03-26]. Dostupný z www: <http://www.neonatology.cz/upload/neonatologie.web360.cz/Neolisty/neolisty20091.pdf>
32. THOMSON, MW., MCINNES, RR., WILLARD, HF. In Thomson-Thomson, *Genetics in medicine*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1991.
33. VAVŘINCOVÁ, B. Předčasný porod. *Aktuální gynekologie a porodnictví* [online]. 2009, č. 1, s. 45 – 49. ISSN 1803-9588 [cit. 2014-04-05]. Dostupný z www: http://www.actualgyn.com/pdf/cz_2009_13.pdf
34. VRÁNA, T., GERYCHOVÁ, R., JANKŮ, P., VENTRUBA, P. Syndrom fetó-fetální transfúze. *Praktická gynekologie* [online]. 2008, roč. 12, č. 2, s. 82 – 85. ISSN 1803-6597 [cit.2014-03-26]. Dostupný z www: <http://www.prolekare.cz/prakticka-gynekologie-clanek?ida=1416>

Přílohy

Příloha 1: Naměřené hodnoty biochemických markerů AFP a hCG u těhotných žen s 1 plodem

II. trimestr - 1 fetus											
	Kod pac.	AFP [µg/l]	AFP (MoM)	hCG [IU/l]	hCG (MoM)		Kod pac.	AFP [µg/l]	AFP (MoM)	hCG [IU/l]	hCG (MoM)
1.	PL 29/10	51	1,63	40 100	1,27	41.	HM 33/11	39	1,05	35 998	1,46
2.	NR 30/10	36	1,11	14 727	0,64	42.	PE 31/11	47	1,48	61 730	2,22
3.	BA 31/10	50	1,41	19 302	0,75	43.	ZE 33/11	63	1,8	20 656	0,57
4.	JZ 25/10	30	0,92	12 694	0,56	44.	VO 32/11	32	1,28	27 878	1,32
5.	BZ 23/10	46	1,39	33 405	1,18	45.	ZL 27/11	35	1,05	45 263	1,51
6.	LD 28/10	36	0,95	14 718	0,6	46.	SM 34/11	42	1,27	48 131	1,57
7.	HL 29/10	37	0,99	28 187	1,1	47.	VV 27/11	45	1,19	67 898	1,94
8.	ZH 31/10	68	1,9	20 194	0,73	48.	CHM 25/11	56	1,43	95 776	2,25
9.	ŠL 30/10	42	1,46	26 510	1,1	49.	HL 31/11	37	1,06	32 727	1,09
10.	DM 35/10	42	1,25	27 739	1,04	50.	WL 29/11	55	1,36	16 726	0,62
11.	KP 24/10	35	1,15	54 598	2,12	51.	ŠH 30/11	48	1,26	43 122	1,66
12.	NS 33/10	68	1,75	36 891	1,35	52.	KV 29/11	29	0,87	21 695	0,69
13.	KM 35/10	43	1,33	24 147	1,01	53.	BN 31/11	38	0,97	45 966	1,45
14.	DR 30/10	42	1,26	50 845	1,77	54.	KM 28/11	47	1,28	35 188	1,2
15.	LR 29/10	48	1,1	18 781	0,76	55.	SM 19/11	26	0,66	40 219	1,36
16.	SL 25/10	55	1,56	22 363	0,92	56.	MM 26/12	55	1,43	32 109	1,19
17.	HL 27/10	25	0,79	16 899	0,58	57.	KS 30/12	31	1,04	17 293	0,82
18.	HJ 23/10	47	1,37	35 515	1,14	58.	MK 24/12	18	0,54	45 889	1,35
19.	GJ 32/10	26	0,8	26 838	1,23	59.	ŠB 27/11	37	1,4	40 026	1,59
20.	PP 22/10	30	0,82	13 001	0,53	60.	KL 33/12	43	1,2	40 323	1,64
21.	DS 25/10	32	0,85	52 177	1,46	61.	KT 30/12	30	0,85	42 772	1,36
22.	VV 32/10	37	0,88	57 520	1,95	62.	JM 26/12	29	0,94	13 929	0,57
23.	KT 24/10	22	0,75	43 088	1,29	63.	LM 30/12	24	0,72	24 332	0,89
24.	KV 24/10	22	0,57	22 527	0,76	64.	SI 28/12	37	0,99	25 136	0,71
25.	PV 26/10	25	0,88	16 259	0,42	65.	KM 35/12	34	1,21	16 296	0,83
26.	BM 27/10	57	1,37	32 403	1,21	66.	BE 29/12	44	1,34	36 168	1,79
27.	PJ 33/10	31	0,93	40 089	1,2	67.	DR 32/12	50	1,63	34 249	0,99
28.	HG 27/10	50	1,65	38 430	1,54	68.	LD 21/12	62	1,42	53 528	1,58
29.	TR 32/10	32	1,14	25 640	0,93	69.	SZ 26/12	37	1,16	27 868	0,87
30.	HL 30/10	50	1,57	27 028	0,91	70.	ZP 30/12	28	0,68	22 467	0,63
31.	JM 31/11	46	1,58	37 414	1,26	71.	KM 28/13	40	0,97	32 511	1,28
32.	VH 29/11	61	1,63	26 546	1,08	72.	PŽ 25/13	26	0,82	39 621	1,25
33.	BT 28/11	23	0,88	37 947	1,47	73.	ZM 33/13	38	1,07	39 633	1,02
34.	ČD 30/11	47	1,26	58 089	2,13	74.	VL 23/13	39	1,07	31 854	1,19
35.	KE 27/11	39	1,25	22 309	1,05	75.	LI 30/13	36	1,02	47 532	1,49
36.	MB 29/11	42	1,21	44 475	1,21	76.	PK 22/13	46	1,27	100 639	2,26
37.	TP 24/11	41	1,24	21 637	1,34	77.	CHV 28/13	32	0,91	17 378	0,54
38.	DN 30/11	33	1,17	35 995	1,61	78.	HN 30/13	34	0,91	27 054	0,83
39.	BS 23/11	38	1,35	40 671	1,41	79.	RM 27/13	35	1,16	32 433	0,9
40.	BB 22/11	32	0,98	55 947	1,28	80.	ET 28/13	39	1,07	27 799	0,85

Naměřené hodnoty jsou přepočítány softwarem ALPHA a Prisca na hodnoty MoM.

Příloha 2: Naměřené hodnoty biochemických markerů AFP a hCG u těhotných žen s dvojčaty

II. trimestr - gemini											
	Kod pac.	AFP [µg/l]	AFP(MoM)	hCG [IU/l]	hCG (MoM)		Kod pac.	AFP [µg/l]	AFP(MoM)	hCG [IU/l]	hCG (MoM)
1.	DM 25/10	56	1,68	44 283	1,9	41.	ME 31/11	66	3,97	49 066	3,75
2.	ŘK 32/10	92	2,4	38 688	1,28	42.	BH 28/12	80	2,26	79 390	2,78
3.	OP 22/10	61	2,04	76 022	3,22	43.	PM 27/12	80	2,52	30 254	1,16
4.	NŠ 30/10	69	3,83	48 669	4,46	44.	JM 33/12	86	2,76	50 016	2,26
5.	ŘP 31/10	46	3,32	22 732	2,4	45.	BK 28/12	78	2,5	47 685	1,86
6.	BL 25/10	93	2,78	55 175	2,17	46.	PK 24/12	48	2,62	77 089	5,97
7.	VM 32/10	117	4,42	83 466	3,74	47.	PI 34/12	103	2,43	32 303	1,23
8.	HH 26/10	99	2,73	75 846	2,81	48.	JA 31/12	94	2,62	139 657	3,44
9.	KR 36/10	92	2,58	34 285	1,7	49.	HK 37/12	126	3,12	69 850	2,44
10.	FI 32/10	57	2,24	49 701	2,64	50.	KL 29/12	86	2,34	74 709	2,28
11.	ML 34/10	56	3,72	41 927	3,46	51.	WH 33/12	69	2,22	45 705	1,68
12.	DB 27/10	77	1,72	47 938	1,92	52.	RM 32/12	69	1,84	89 910	3,02
13.	ZR 34/10	89	1,92	108 776	4,08	53.	VZ 34/12	69	2,24	59 412	2,64
14.	RA 27/10	74	1,74	109 052	3,3	54.	HV 34/12	101	2,67	87 431	3,03
15.	HM 34/10	72	1,64	75 367	2,96	55.	HK 36/12	70	1,91	71 863	2,29
16.	NM 35/10	58	1,63	38 507	1,87	56.	ČM 37/12	53	1,65	40 670	1,15
17.	KA 28/10	78	1,9	66 644	2,56	57.	LS 29/13	170	3,77	76 659	2,39
18.	BJ 34/10	67	1,55	76 575	3,31	58.	MM 27/13	107	3,31	65 733	2,13
19.	SE 34/10	60	1,5	44 981	1,92	59.	HI 35/13	69	1,92	73 418	2,38
20.	ŠI 25/10	51	1,41	45 771	2,49	60.	MR 35/13	61	1,82	121 756	3,58
21.	SJ 27/10	50	1,14	42 627	1,6	61.	VV 28/13	53	1,66	54 847	1,44
22.	ŠZ 31/10	65	1,62	77 850	3,3	62.	SI 28/13	120	3,51	129 536	3,53
23.	ZZ 31/10	77	2,58	72 529	2,56	63.	MS 37/13	63	1,95	75 229	2,46
24.	SK 36/11	89	2,86	93 221	4,04	64.	HT 31/13	73	1,68	31 685	1
25.	KV 29/11	73	2,72	79 604	2,86	65.	MA 28/13	62	1,46	68 679	2,97
26.	JA 31/11	72	2,22	60 106	2,6	66.	NJ 35/13	62	1,58	31 546	1,22
27.	KP 29/11	100	6,41	93 582	5,51	67.	DM 27/13	71	1,9	59 972	2,54
28.	SA 30/11	66	2,44	100 523	4,14	68.	MM 25/13	77	1,62	60 889	3,44
29.	CHŠ 34/11	64	2,4	102 607	4,68	69.	PG 28/13	81	2,16	39 437	1,22
30.	GM 27/11	66	3,75	53 933	3,59	70.	KM 29/13	73	1,89	88 149	3,76
31.	HK 29/11	42	1,42	97 963	3,52	71.	KM 20/13	45	1,42	110 675	3,96
32.	BD 28/11	111	2,8	88 841	2,48	72.	ND 34/14	39	1,13	33 824	1,13
33.	LM 25/11	66	1,86	84 210	2,6	73.	ŠJ 30/14	59	1,62	72 793	2,8
34.	HE 32/11	80	2,56	33 760	1,1	74.	RN 28/14	43	1,32	93 914	3,05
35.	JT 33/11	95	2,4	79 924	3,24	75.	BD 33/14	74	2,02	71 529	2,7
36.	ŠM 29/11	69	2,23	32 504	1,48	76.	RO 36/10	99	2,92	23 622	1,1
37.	MA 26/11	68	4,32	57 806	3,7	77.	HR 18/10	79	1,7	33 716	1
38.	TI 29/11	51	1,71	34 661	1,5	78.	DE 28/10	82	5,14	75 956	4,46
39.	BJ 29/11	71	2,11	102 858	3,03	79.	HV 27/12	71	2,66	108 382	5,04
40.	KP31/11	55	3,25	56 720	3,95	80.	VK 28/13	43	1,23	29 506	0,99

Naměřené hodnoty jsou přepočítány softwarem ALPHA a Prisca na hodnoty MoM.

Příloha 3: Aplikace algoritmu u dat jednočetné gestace

II.trimestr - 1 fetus					
	Kod pac.	AFP (MoM)	hCG (MoM)	AFP(MoM)+ hCG (MoM)	0- SINGLE; 1- GEMINI
1.	PL 29/10	1,63	1,27	2,9	0
2.	NR 30/10	1,11	0,64	1,75	0
3.	BA 31/10	1,41	0,75	2,16	0
4.	JZ 25/10	0,92	0,56	1,48	0
5.	BZ 23/10	1,39	1,18	2,57	0
6.	LD 28/10	0,95	0,6	1,55	0
7.	HL 29/10	0,99	1,1	2,09	0
8.	ZH 31/10	1,9	0,73	2,63	0
9.	ŠL 30/10	1,46	1,1	2,56	0
10.	DM 35/10	1,25	1,04	2,29	0
11.	KP 24/10	1,15	2,12	3,27	0
12.	NS 33/10	1,75	1,35	3,1	0
13.	KM 35/10	1,33	1,01	2,34	0
14.	DR 30/10	1,26	1,77	3,03	0
15.	LR 29/10	1,1	0,76	1,86	0
16.	SL 25/10	1,56	0,92	2,48	0
17.	HL 27/10	0,79	0,58	1,37	0
18.	HJ 23/10	1,37	1,14	2,51	0
19.	GJ 32/10	0,8	1,23	2,03	0
20.	PP 22/10	0,82	0,53	1,35	0
21.	DS 25/10	0,85	1,46	2,31	0
22.	VV 32/10	0,88	1,95	2,83	0
23.	KT 24/10	0,75	1,29	2,04	0
24.	KV 24/10	0,57	0,76	1,33	0
25.	PV 26/10	0,88	0,42	1,3	0
26.	BM 27/10	1,37	1,21	2,58	0
27.	PJ 33/10	0,93	1,2	2,13	0
28.	HG 27/10	1,65	1,54	3,19	0
29.	TR 32/10	1,14	0,93	2,07	0
30.	HL 30/10	1,57	0,91	2,48	0
31.	JM 31/11	1,58	1,26	2,84	0
32.	VH 29/11	1,63	1,08	2,71	0
33.	BT 28/11	0,88	1,47	2,35	0
34.	ČD 30/11	1,26	2,13	3,39	0
35.	KE 27/11	1,25	1,05	2,3	0
36.	MB 29/11	1,21	1,21	2,42	0
37.	TP 24/11	1,24	1,34	2,58	0
38.	DN 30/11	1,17	1,61	2,78	0
39.	BS 23/11	1,35	1,41	2,76	0
40.	BB22/11	0,98	1,28	2,26	0
41.	HM 33/11	1,05	1,46	2,51	0
42.	PE 31/11	1,48	2,22	3,7	1
43.	ZE 33/11	1,8	0,57	2,37	0
44.	VO 32/11	1,28	1,32	2,6	0
45.	ZL 27/11	1,05	1,51	2,56	0
46.	SM 34/11	1,27	1,57	2,84	0
47.	VV 27/11	1,19	1,94	3,13	0
48.	CHM 25/11	1,43	2,25	3,68	1
49.	HL 31/11	1,06	1,09	2,15	0
50.	WL 29/11	1,36	0,62	1,98	0
51.	ŠH 30/11	1,26	1,66	2,92	0
52.	KV 29/11	0,87	0,69	1,56	0
53.	BN 31/11	0,97	1,45	2,42	0
54.	KM 28/11	1,28	1,2	2,48	0
55.	SM 19/11	0,66	1,36	2,02	0
56.	MM 26/12	1,43	1,19	2,62	0
57.	KS 30/12	1,04	0,82	1,86	0
58.	MK 24/12	0,54	1,35	1,89	0
59.	ŠB 27/11	1,4	1,59	2,99	0
60.	KL 33/12	1,2	1,64	2,84	0
61.	KT 30/12	0,85	1,36	2,21	0
62.	JM 26/12	0,94	0,57	1,51	0
63.	LM 30/12	0,72	0,89	1,61	0
64.	SI 28/12	0,99	0,71	1,7	0
65.	KM 35/12	1,21	0,83	2,04	0
66.	BE 29/12	1,34	1,79	3,13	0
67.	DR 32/12	1,63	0,99	2,62	0
68.	LD 21/12	1,42	1,58	3	0
69.	SZ 26/12	1,16	0,87	2,03	0
70.	ZP 30/12	0,68	0,63	1,31	0
71.	KM 28/13	0,97	1,28	2,25	0
72.	PŽ 25/13	0,82	1,25	2,07	0
73.	ZM 33/13	1,07	1,02	2,09	0
74.	VL 23/13	1,07	1,19	2,26	0
75.	LI 30/13	1,02	1,49	2,51	0
76.	PK 22/13	1,27	2,26	3,53	0
77.	CHV 28/13	0,91	0,54	1,45	0
78.	HN 30/13	0,91	0,83	1,74	0
79.	RM 27/13	1,16	0,9	2,06	0
80.	ET 28/13	1,07	0,85	1,92	0

Gemini – celkem:	2
	2,50%

Výsledky jsou vygenerovány programem podle zadaného algoritmu

Příloha 4: Aplikace algoritmu u dat dvojčetné gestace

II. trimestr - gemini					
	Kod pac.	AFP(MoM)	hCG (MoM)	AFP(MoM)+ hCG (MoM)	0-SINGLE; 1-GEMINI
1.	DM 25/10	1,68	1,9	3,58	1
2.	ŘK 32/10	2,4	1,28	3,68	0
3.	OP 22/10	2,04	3,22	5,26	1
4.	NŠ 30/10	3,83	4,46	8,29	1
5.	ŘP 31/10	3,32	2,4	5,72	1
6.	BL 25/10	2,78	2,17	4,95	1
7.	VM 32/10	4,42	3,74	8,16	1
8.	HH 26/10	2,73	2,81	5,54	1
9.	KR 36/10	2,58	1,7	4,28	1
10.	FI 32/10	2,24	2,64	4,88	1
11.	ML 34/10	3,72	3,46	7,18	1
12.	DB 27/10	1,72	1,92	3,64	1
13.	ZR 34/10	1,92	4,08	6	1
14.	RA 27/10	1,74	3,3	5,04	1
15.	HM 34/10	1,64	2,96	4,6	1
16.	NM 35/10	1,63	1,87	3,5	0
17.	KA 28/10	1,9	2,56	4,46	1
18.	BJ 34/10	1,55	3,31	4,86	1
19.	SE 34/10	1,5	1,92	3,42	0
20.	ŠI 25/10	1,41	2,49	3,9	1
21.	SJ 27/10	1,14	1,6	2,74	0
22.	ŠZ 31/10	1,62	3,3	4,92	1
23.	ZZ 31/10	2,58	2,56	5,14	1
24.	SK 36/11	2,86	4,04	6,9	1
25.	KV 29/11	2,72	2,86	5,58	1
26.	JA 31/11	2,22	2,6	4,82	1
27.	KP 29/11	6,41	5,51	11,92	1
28.	SA 30/11	2,44	4,14	6,58	1
29.	CHŠ 34/11	2,4	4,68	7,08	1
30.	GM 27/11	3,75	3,59	7,34	1
31.	HK 29/11	1,42	3,52	4,94	1
32.	BD 28/11	2,8	2,48	5,28	1
33.	LM 25/11	1,86	2,6	4,46	1
34.	HE 32/11	2,56	1,1	3,66	0
35.	JT 33/11	2,4	3,24	5,64	1
36.	ŠM 29/11	2,23	1,48	3,71	1
37.	MA 26/11	4,32	3,7	8,02	1
38.	TI 29/11	1,71	1,5	3,21	0
39.	BJ 29/11	2,11	3,03	5,14	1
40.	KP31/11	3,25	3,95	7,2	1
41.	ME 31/11	3,97	3,75	7,72	1
42.	BH 28/12	2,26	2,78	5,04	1
43.	PM 27/12	2,52	1,16	3,68	0
44.	JM 33/12	2,76	2,26	5,02	1
45.	BK 28/12	2,5	1,86	4,36	1
46.	PK 24/12	2,62	5,97	8,59	1
47.	PI 34/12	2,43	1,23	3,66	0
48.	JA 31/12	2,62	3,44	6,06	1
49.	HK 37/12	3,12	2,44	5,56	1
50.	KL 29/12	2,34	2,28	4,62	1
51.	WH 33/12	2,22	1,68	3,9	1
52.	RM 32/12	1,84	3,02	4,86	1
53.	VZ 34/12	2,24	2,64	4,88	1
54.	HV 34/12	2,67	3,03	5,7	1
55.	HK 36/12	1,91	2,29	4,2	1
56.	ČM 37/12	1,65	1,15	2,8	0
57.	LS 29/13	3,77	2,39	6,16	1
58.	MM 27/13	3,31	2,13	5,44	1
59.	HI 35/13	1,92	2,38	4,3	1
60.	MR 35/13	1,82	3,58	5,4	1
61.	VV 28/13	1,66	1,44	3,1	0
62.	SI 28/13	3,51	3,53	7,04	1
63.	MS 37/13	1,95	2,46	4,41	1
64.	HT 31/13	1,68	1	2,68	0
65.	MA 28/13	1,46	2,97	4,43	1
66.	NJ 35/13	1,58	1,22	2,8	0
67.	DM 27/13	1,9	2,54	4,44	1
68.	MM 25/13	1,62	3,44	5,06	1
69.	PG 28/13	2,16	1,22	3,38	0
70.	KM 29/13	1,89	3,76	5,65	1
71.	KM 20/13	1,42	3,96	5,38	1
72.	ND 34/14	1,13	1,13	2,26	0
73.	ŠJ 30/14	1,62	2,8	4,42	1
74.	RN 28/14	1,32	3,05	4,37	1
75.	BD 33/14	2,02	2,7	4,72	1
76.	RO 36/10	2,92	1,1	4,02	0
77.	HR 18/10	1,7	1	2,7	0
78.	DE 28/10	5,14	4,46	9,6	1
79.	HV 27/12	2,66	5,04	7,7	1
80.	VK 28/13	1,23	0,99	2,22	0

Gemini – celkem:	63
	78,75%