

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta
Autoreferát dizertační práce



**Nové ultrazvukové markery aneuploidii plodu
v prvním trimestru gravidity.**

Miroslav Břešťák

2015

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova v Praze
a
Akademie věd České republiky

Obor: Experimentální chirurgie

Předseda oborové rady:
prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc.

Školící pracoviště:
**Gynekologicko-porodnická klinika
1. lékařské fakulty UK
Všeobecné fakultní nemocnice v Praze
Apolinářská 18, Praha 2**

Školitel: **prof. MUDr. Pavel Calda, CSc.**

OBSAH

1. Úvod	8
2. Hypotéza a cíl práce	9
3. Materiál a metodika	10
3.1 Měření frakčního zkrácení srdečních komor v prvním trimestru gravidity	10
3.2 Odběry fetálních vzorků (biopsie choria - CVS, amniocentéza - AMC) pomocí vakuových zkumavek	11
4. Výsledky	12
4.1 Frakční zkrácení srdečních komor plodu v prvním trimestru gravidity	12
4.2 Invazivní odběry vakuovými zkumavkami	15
5. Diskuze	15
6. Závěr	16
7. Literatura	18

ABSTRAKT

Prenatální diagnostika se ubírá několika směry - vizualizací plodů a laboratorní biochemickou, cytogenetickou a molekulárně genetickou diagnostikou.

Zatímco vizualizace neznamena a priori pro těhotenství přímé riziko, nezpůsobí zvýšení počtu komplikací, u laboratorních vyšetření tomu tak vždy není. V posledních letech je snaha zavádět do klinické praxe neinvazivní postupy testování fetální DNA z periferní krve matky. Doposud se nejedná o testy diagnostické, v tomto směru jsme odkázáni na invazivní postupy. Rizika, spojená s invazivními metodami prenatální diagnostiky, představují limitaci jejich použití. Pro provedení invazivního odběru fetálního materiálu musí být vždy dobře zvolená a správně provedená indikace. V opačném případě je riziko, spojené s tímto postupem, neodůvodněné.

Množství potenciálních nechtěných těhotenských komplikací a ztrát, technická a také ekonomická náročnost invazivní prenatální diagnostiky vedou ke snaze vyhledávat potenciálně afektované jedince metodami skrínungu a tím minimalizovat nežádoucí dopad invazivní diagnostiky na těhotenskou populaci. Čím přesnější vyhledávací kritéria jsou nalezena, tím menší bude počet těhotných, exponovaných invazivními výkony.

Další možností, jak snížit počet nechtěných komplikací v souvislosti s invazivními výkony, je zjednodušení a zlepšení techniky odběrů fetálních vzorků v průběhu gravidity.

V práci jsme se prioritně zabývali dvěma oblastmi: zjištění vztahu mezi frakčním zkrácením levé a pravé komory a chromozomální výbavou plodu a zjištěním spolehlivosti nové metody odběru vody plodové a biopsie choria pomocí vakuových zkumavek.

Prokázali jsme, že vyšetření funkčních parametrů fetálního srdce již na konci I. trimestru je nejen proveditelné, ale že je možné tímto vyšetřením odlišit plody aneuploidní od plodů s normálním karyotypem. Nalezli jsme rozdíl v hodnotách frakčního zkrácení u plodů euploidních a aneuploidních. Naše

měření dále naznačují, že pravděpodobnou etiologií výskytu trikuspidální regurgitace v prvním trimestru bude zvětšení pravé komory.

Ve druhé části práce jsme prokázali, že námi navržená metoda odběru vody plodové a biopsie choria pomocí vakuových zkumavek je spolehlivá a bezpečná.

Klíčová slova: prenatální diagnostika, ultrazvuk, frakční zkrácení, aneuploidie, invazivní diagnostika, aminocentéza, biopsie choria

ABSTRACT

Prenatal diagnostics is headed in several directions - towards visualization of fetuses and biochemical, cytogenetic and molecular genetic diagnostics in laboratories.

Whereas visualization of fetuses does not a priori represent any direct risk for pregnancy and does not increase the number of potential pregnancy complications, this is not always the case with the laboratory testing. There are known risks connected with invasive methods of prenatal diagnostics.

The number of potential unintentional pregnancy complications and losses as well as the technical and economic aspects of invasive prenatal diagnostics lead to attempts of identifying ways of detecting any potentially affected individuals by screening methods, thus minimizing the undesirable impact of invasive diagnostics on the pregnant population. The more precise the selective criteria, the lesser the number of pregnant women exposed to invasive exams.

Another way of decreasing the number of unintentional complications in relation to invasive diagnostics is to simplify and improve the fetal samples harvesting methods during pregnancy.

The work primarily focused on two areas: Determination of the relation between fraction shortening of the left and right ventricles and a fetal chromosomal complement, and verification of reliability of a new method of amniotic fluid and chorion villus sampling using new vacuum tubes.

We have confirmed that it is possible to routinely measure functional parameters of the fetal heart as early as towards the end of the first trimester of pregnancy and that the measuring results may be used to distinguish between the aneuploid fetuses and the fetuses with normal karyotype. We have identified differences in fraction shortening values in euploid and aneuploid fetuses. Our measuring further suggests that potential etiology of tricuspid regurgitation in the first trimester of pregnancy is an enlarged right ventricle.

In the second part of the work, we have proved that the

method of harvesting samples of amniotic fluid and performing chorion villus sampling, using vacuum tubes developed by us, is reliable and safe.

Keywords: prenatal diagnostics, ultrasound, fraction shortening, aneuploidy, invasive diagnostics, amniocentesis, chorionic villus sampling

1. ÚVOD

Pokroky v ultrazvukové diagnostice, zejména zlepšení rozlišovací schopnosti ultrazvukových přístrojů v posledních 15 letech umožnily zlepšení vizualizace plodu již na konci prvního trimestru. Embryology popsaný vývoj embrya a plodu byl potvrzen sono-embryologickými studii (1, 2, 3, 4).

Lze předpokládat, že zdravá embrya a do určité míry i plody stejného stáří jsou v určitém rozmezí stejně veliká a jsou si navzájem vývojově podobná. Základní podmínkou je normální ovulace, oplodnění a nidace.

Oproti tomu lze předpokládat, že embrya či plody, které vykazují abnormální znaky (velikost, podobu nebo například odlišné hemodynamické parametry cirkulace) jsou nositeli vrozené vývojové vady.

Jednou z nejčastěji se vyskytujících vrozených vývojových vad a zároveň nejčastější vrozenou příčinou mentální retardace (incidence 1 na 500 - 1000 živě narozených) je trizomie 21. chromozomu (Downův syndrom - DS). DS patří do skupiny tzv. aneuploidií - tedy stavu, kdy počet chromozomů v jádře neodpovídá normálnímu počtu pro daný živočišný druh.

Vzhledem k četnosti výskytu a známým, statisticky propracovaným závislostem výskytu DS na věku matky a dalších parametrech (biochemických, sonomorfologických) je obvykle uváděn jako modelová vada. Proto je také skríníng aneuploidií v těhotenství zjednodušeně označován jako skríníng DS.

Diagnostika DS se opírá vždy o průkaz třetího, nadpočetného 21. chromozomu v buňkách vyšetřovaného jedince. Tento průkaz je v současné době možný buď pomocí DNA analýzy, nebo vyšetřením karyotypu plodu. K laboratornímu vyšetření je třeba získat materiál, který pochází z produktu početí, z plodového vejce. V praxi se jedná o vzorek choriové tkáně či vody plodové (výjimečně fetální krve). Tento materiál lze získat buď biopsií choria nebo punkcí amnia či punkcí pupečníku plodu. Uvedené výkony jsou provázány asi 0,5-1% rizikem komplikací, včetně nechtěné ztráty těhotenství (5, 6, 7, 8).

Množství potenciálních nechtěných těhotenských komplikací a ztrát, technická a také ekonomická náročnost invazivní prenatalní diagnostiky vedou ke snaze vyhledávat potenciálně afektované jedince metodami skríningu a tím minimalizovat nežádoucí dopad invazivní diagnostiky na těhotenskou populaci.

2. HYPOTÉZA A CÍL PRÁCE

V práci jsem se zabýval dvěma oblastmi:

- A. zjištěním vztahu mezi frakčním zkrácením levé a pravé komory a chromozomální výbavou plodu
 - B. zjištěním spolehlivosti nové metody odběru vody plodové a biopsie choria pomocí vakuových zkumavek.
- A. Cílem první a základní části práce bylo zjištění vztahu mezi frakčním zkrácením levé a pravé komory a chromozomální výbavou plodu při ultrazvukovém vyšetření plodu na konci I. trimestru. Položili jsme si tyto otázky:
1. zda lze nejen měřit, ale i hodnotit obvyklé hemodynamické parametry - frakční zkrácení levé a pravé komory - již na konci prvního trimestru.
 2. zda jsou v těchto parametrech statisticky signifikantní rozdíly mezi populací plodů euploidních a aneuploidních
 3. jaký je vztah mezi frakčním zkrácením levé a pravé komory a fenoménem zpětného toku na trojcípé chlopní.
- B. Navazující část práce se zabývá otázkami kolem zlepšení a zjednodušení invazivních prenatalních výkonů - odběru vody plodové a biopsie choria, základních diagnostických metod při stanovení fetálního karyotypu. Cílem této části práce bylo zjistit spolehlivost nové metody odběru vody plodové a biopsie choria pomocí námi navržené modifikace za použití vakuových odběrových systémů.

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1 Měření frakčního zkrácení srdečních komor v prvním trimestru gravidity

V období mezi CRL 45 - 84mm byla měřena hodnota frakčního zkrácení LV a RV u plodů s neznámým karyotypem, bez viditelné srdeční vady. Cílem této studie bylo porovnání hodnot pravostranného a levostranného frakčního zkrácení srdečních komor u plodů s pro-kázanou trizomií 21. chromozomu s plody ostatními. Dále bylo porovnáváno měření pravostranného frakčního zkrácení u plodů s normálním výsledkem kontingenčního testu, bez zvýšeného rizika aneuploidie, bez evidence srdeční vady s detekovatelnou a bez detekovatelné trikuspidální regurgitace.

Ultrazvukové měření bylo prováděno v rámci kontingenčního testu v prvním trimestru, nebo před provedením biopsie choria (CVS). U každého plodu bylo také provedeno standardní měření CRL diametru. V době pořizování záznamů M-mode nebyl znám karyotyp plodů.

Techniky měření frakčního zkrácení v pravé (SFRV) a levé (SFLV) komoře jsou identické. Měření bylo prováděno v jedné ze dvou zobrazovacích rovin - buďto ve čtyřdutinové projekci, přičemž komorové septum bylo zobrazeno kolmo na průběh akustického signálu nebo v rovině krátké osy srdeční, v řezu přes obě komory ve výši atrioventrikulárních chlopní. Obraz srdce byl zvětšen tak, aby zabíral zhruba $\frac{3}{4}$ plochy obrazu. Rovina měření M-mode byla vedena kolmo na komorové septum, těsně pod úroveň A-V chlopní. Pro toto měření byla použita 7 MHz abdominální konvexní sonda [M7C, Vivid7 Dimension, Logic 9(GE)]. Měření prováděl jeden operátor (M.B.). Každé měření bylo elektronicky archivováno. Vyšetření sonoanatomie srdce plodu bylo standardní součástí celého vyšetřovacího algoritmu.

Ze zaznamenaného M-mode obrazu byly změřeny hodnoty maximálního diastolického rozměru levé (LVDD) a pravé (RVDD) komory a minimálního systolického rozměru levé (LVSD) a pravé (RVSD) komory ve stejném srdečním cyklu.

Hodnota SF je vypočtena jako poměrné zkrácení podle vzorce - $[(VDD-VSD)/VDD]*100$.

3.2 Odběry fetálních vzorků (biopsie choria - CVS, amniocentéza - AMC) pomocí vakuových zkumavek

Odběry vody plodové a biopsie choria se obvykle provádějí pomocí jehly a injekční stříkačky, kterou operátor mechanicky generuje aspirační podtlak. Tato technika má dvě nevýhody. Operátor drží v jedné ruce ultrazvukovou sondu a druhou rukou manipuluje s odběrovou jehlou a zároveň obsluhuje injekční aspirační stříkačku. Aspiraci může provádět i asistence. Každopádně se jedná o technicky poměrně náročný výkon, v případě asistence pak jednoznačně interferují pohyby asistenta a operátora. Může tedy dojít k nežádoucím pohybům odběrové jehly. Další potenciální riziko tohoto systému je možnost kontaminace vzorku, který je bezprostředně po odběru z aspirační injekční stříkačky rozdělován do dvou transportních nádob. Tedy - v průběhu aspirace je výkon znesnadněn nutností mechanického vytváření podtlaku operátorem či asistentem a následně může být vzorek kontaminován během otevřené manipulace mimo laboratoř. Oba tyto rizikové faktory hrají roli, pokud jde o rizika komplikací invazivní prenatální diagnostiky.

Použití podtlakových aspiračních zkumavek eliminuje obě tato potenciální rizika. Podtlak je generován „automaticky“ (v odběrových zkumavkách je definovaný podtlak) a celý odběrový systém je uzavřený, prakticky bez rizika kontaminace vzorku.

Odběrový systém se sestává ze standardní odběrové jehly, jednorázového držáku a adaptéru vacutainer/luer (Becton Dickinson No 364815 a No 36730) a z příslušné vakuové zkumavky. Pro odběr vody plodové se používají skleněné zkumavky bez aditiva (Becton Dickinson No 368430), pro odběr choriových klků zkumavky s předem daným natrium heparinem (Becton Dickinson No 368480).

Po zavedení jehly je na její konus nasazen adaptér s držákem a následně odběrová zkumavka. Další manipulace stran asistence již není nutná.

V případě odběru vody plodové se použijí obvykle dvě aspiranční zkumavky, které slouží zároveň jak pro odběr, tak pro transport odebraného vzorku do laboratoře.

Pro odběr choriové tkáně zavádíme jehlu transabdominálně do dutiny děložní v podélné ose do vrstvy choriové tkáně, aniž bychom narušili kontinuitu amnia. Po zavedení jehly maximálně distálně asistence odstraní z jehly mandrén, nasadí adaptér s držákem a odběrovou zkumavku. Zkumavka vytváří kontinuální definovaný podtlak. Poté operatér pomalu odběrovou jehlu s celým odběrovým systémem vyjme. Následně je odběrová jehla zavedena do zkumavky přes gumový uzávěr a operatér instiluje 2ml kultivačního či transportního media.

4. VÝSLEDKY

4.1 Frakční zkrácení srdečních komor plodu v prvním trimestru gravidity

V roce 2008 - 2009 jsme vyšetřili 58 jednočetných gravidit. Ve dvou případech se nepodařilo získat odpovídající zobrazení. Z 56 získaných a hodnocených měření byla u 7 plodů prokázána trizomie 21. chromozomu, 49 plodů bylo chromozomálně normálních. Hodnoty SFLV u euploidních plodů byly statisticky signifikantně nižší, než u plodů s trizomií 21: 38,00 (95% CI: 33,72-42,27) versus 52,07 (43,72-56,13) ($p < 0,05$). Statisticky signifikantní rozdíl mezi těmito dvěma skupinami byl zjištěn také pro hodnoty šíjového projasnění (NT): 1,78 (95% CI: 1,08-2,48) pro euploidní plody versus 5,06 (95% CI: 3,61-6,71) pro plody s trizomií 21 ($p < 0,05$). Mezi oběma skupinami nebyly nalezeny statisticky signifikantní rozdíly pro hodnoty CRL [euploidní: 66,81 mm (95% CI: 58,28-75,35 mm) versus trizomie 21: 74,68 mm [95% CI: 65,23-79,59 mm ($p=0,05$)], LVDD [euploidní: 3,35 mm (95% CI: 2,67-4,03 mm) versus trizomie 21: 3,66 mm (95% CI: 2,69-4,06 mm)]

($p=0,19$), a LVSD [euploidní: 2,09 mm (95% CI: 1,58-2,60 mm) versus trizomie 21: 1,78 mm (95% CI: 1,17-2,20 mm) ($p=0,28$)]. Z 28 případů, u kterých byla sledována délka času pro změření SFLV, bylo u dvou případů (7,14 %) potřeba méně než 60s, u 22 případů (78,57 %) trvalo měření od 60 do 120s a ve dvou případech (7,14 %) bylo potřeba 240s. Ve dvou zbývajících případech (7,14%) se ani po dlouhé době nepodařilo získat uspokojivý M-mode obraz.

Dále bylo zhodnoceno 62 měření, provedených v období 9/2008 - 2/2010. Tento soubor obsahuje také 58 měření z předchozí části studie. U 4 vyšetření nebylo možné další měření provést. Ve skupině hodnocených 58 plodů byla u 9 plodů diagnostikována trizomie 21. chromozomu. Porovnáním těchto dvou skupin byly zjištěny signifikantně vyšší hodnoty SFRV u plodů s trizomií 21 (průměr: 48,6 mm; rozsah hodnot: 36-56,25 mm) oproti plodům euploidním (průměr: 34,11 mm; rozsah hodnot: 22,73-43,48 mm) ($p < 0,0001$) Analogicky pro medián: 50,0 u plodů s trizomií 21. chromozomu, respektive 34,6 u plodů euploidních. Statisticky signifikantní rozdíl byl nalezen také v hodnotách NT: vyšší hodnoty u plodů trizomických (průměr: 5,36 mm; rozsah hodnot: 3,2-8,9mm) v porovnání s plody euploidními (průměr: 1,78mm; rozsah hodnot: 1,2-6,1mm) ($p < 0,0001$). Také hodnoty CRL byly u plodů trizomických mírně zvýšené (průměr 72,9 mm; rozsah hodnot: 61-80 mm) oproti skupině plodů euploidních (průměr: 66,8 mm; rozsah hodnot: 45,2-83,1 mm) ($p=0,041$). V obou skupinách nebyly nalezeny statisticky signifikantní rozdíly pro hodnoty RVSD (průměr: 1,56 mm; rozsah hodnot: 1,2-2,3 mm u plodů trizomických oproti průměrným hodnotám: 1,67 mm; rozsah hodnot: 1,3-2,4 mm ve skupině plodů euploidních) ($p=0,17$). Avšak pro hodnoty RVDD byl nalezen statisticky signifikantní rozdíl mezi jednotlivými skupinami. U plodu s prokázanou trizomií 21. chromozomu byly hodnoty RVDD vyšší (průměr: 3,08 mm; rozsah: 2,2-4,7 mm) než u plodů euploidních (průměr: 2,54; rozsah hodnot: 1,9-3,6 mm) ($p=0,03$).

V další části studie bylo hodnoceno celkem 69 těhotných. Plody byly rozděleny do dvou skupin: skupina bez evidence trikuspidální regurgitace (TCR [-]) ($n=44$) a skupina, kde byla trikuspidální regurgitace přítomna (TCR [+]) ($n=25$). Mezi oběma skupinami nebyly signifikantní rozdíly, pokud jde o

mateřský věk (TCR [-]: průměr 31,39 let (rozsah hodnot: 21-39); TCR [+]: průměr 31,96 let (rozsah hodnot: 25-43) ($p=0,84$)), hodnoty CRL (TCR [-]: průměr 71,13 mm (rozsah hodnot: 58,0-84,1); TCR [+]: průměr 61,97 mm (rozsah hodnot: 49,2-82,3) ($p=0,56$)).

Hodnoty RVDD pro skupinu TCR [-] byly: (průměr 2,73mm; rozsah hodnot 1,7-3,7 mm), pro skupinu TCR [+] (průměr 2,95mm; rozsah hodnot 2,2-4,4mm). Hodnoty RVSD ve skupině TCR [-]: (průměr 1,75mm; rozsah hodnot 1,0-2,4mm). RVSD ve skupině TCR [+]: (průměr 1,88mm; rozsah hodnot 1,2-2,9mm). Hodnoty RVDD a RVSD rostou lineárně ve vztahu ke gestačnímu stáří v obou skupinách: RVDD ($r=0,37$) RVSD ($r=0,36$) pro skupinu TCR [-]; RVDD ($r=0,21$) RVSD ($r=0,20$) pro skupinu TCR [+]. Regresní křivka vztahu RVDD na gestačním stáří je pro skupinu TCR [-] charakterizována rovnicí $y=x(0,047)-0,59$. Regresní křivka vztahu RVSD ke gestačnímu stáří pro skupinu TCR [-] je $y=x(0,03)-0,41$. Vypočtená střední odchylka RVDD pro TCR [-] je 0,013mm (průměr: -0,98-0,8) a 0,29mm (průměr: -0,61-1,94) pro skupinu TCR [+], což je statisticky signifikantně vyšší hodnota ($p<0,05$). Vypočtená střední odchylka RVSD je 0,035mm (průměr: -0,67-0,67) pro skupinu TCR [-] a 0,17mm (průměr: -0,35-0,88) pro skupinu TCR [+]. Rozdílná regrese naznačuje možnost odlišného trendu ve vývoji RVSD pro obě skupiny (vyšší pro TCR [+]), avšak statistický rozdíl je malý ($p=0,13$).

Střední hodnota SFRV pro skupinu TCR [-] je v našem souboru 36,07 (průměr: 30,00-41,94) a 36,35 (průměr: 20,00-52,00) pro skupinu TCR [+]. Hodnoty SFRV nevykazují závislost na gestačním stáří: (TCR [-]: $r=0,001$; TCR [+]: $r=0,01$). Hodnoty SFRV jsou v obou skupinách obdobné ($p=0,84$).

Hodnoty NT naměřené v obou skupinách jsou: (průměr 1,98mm; rozsah hodnot 1,4-3,2) pro TCR [-] a (2,02mm; rozsah hodnot 1,2-2,9) pro TCR [+]. Hodnota NT roste s gestačním stářím (TCR [-]: $r=0,28$; TCR [+]: $r=0,30$). Mezi oběma skupinami nejsou v těchto parametrech statisticky signifikantní rozdíly ($p=0,41$).

4.2 Invazivní odběry vakuovými zkumavkami

Navrhli jsme, publikovali a zavedli do praxe komfortnější způsob transabdominálního odběru choria a vody plodové. Opublikovali jsme 377 odběrů s následným vyšetřením vzorků choria a 1219 odběrů vody plodové. V současné době používáme nadále pouze tento typ uzavřených odběrových systémů. Faktický počet v praxi provedených odběrů je tedy násobně vyšší. Publikovaná data jsou nadále průběžně ověřována a potvrzována v klinické praxi. Jedna z nesporných výhod tohoto systému je signifikantně kratší interval učení. Výhody používání vakuových zkumavek při odběrech vzorků v rámci invazivní prenatalní diagnostiky byly ověřeny v praxi a publikovány, jako jakýsi „vedlejší produkt“ této práce se závěrem, že spolu se zvýšením pohodlí operátora, a v konečném důsledku i pacientky, je jejich nejvýznamnějším přínosem a neoddiskutovatelnou výhodou uzavřenost celého procesu, díky které lze zabránit možné kontaminaci vzorků během odběrů a manipulace mimo laboratorní prostředí. Znamenali jsme také neobvykle malé množství komplikací a to jak na straně těhotných, tak i v průběhu zpracovávání odebraných vzorků v jednotlivých laboratořích.

5. DISKUZE

I když frekvence invazivních výkonů stále klesá a jejich spektrum se postupně mění, zůstává invazivní diagnostika nadále jedinou spolehlivou metodou prenatalní diagnostiky aneuploidií.

Množství komplikací, které jsou zaznamenány v souvislosti s invazivní prenatalní diagnostikou závisí jednak na erudici operátora, a jednak na množství provedených výkonů. Cesta ke snížení nechtěných těhotenských ztrát je tedy dvojitá - jednak zpřesnění screeningových metod, kterého důsledkem je snížení počtu invazivních výkonů a jednak zlepšení techniky provádění invazivních výkonů, čehož důsledkem je menší interindividuální odchylka a kratší výukový interval. Zvýšení komfortu operátora obecně vede obvykle k lepším operačním

výsledkům a nezřídka bývá i významným zlepšením komfortu pro pacienta.

Předpokladem je, že snížení míry falešné positivity, teoreticky pod 0,1 a následně zvýšení detekčního potenciálu nad 0,99 by mohlo potenciál skrínungu srovnat s potenciálem diagnostiky. Přitom v tomto ohledu je jedna z priorit snížení počtu invazivních prenatalních výkonů na minimum. Tyto výkony sebou nesou riziko pro graviditu, jsou spojeny s možností ztráty těhotenství (kolem 0,5%) (5, 6, 7, 8).

Nakolik se v budoucnu těžiště skrínungu a posléze pravděpodobně i diagnostiky aneuploidií přesune do oblasti neinvazivního testování fetální DNA z periferní krve matky, nelze dnes odhadnout. V současné době nelze tyto postupy pro jejich senzitivitu, specifitu a zejména známou a publikovanou možnost falešné negativity, považovat za diagnostické (9, 10, 11).

6. ZÁVĚR

- A. V první a základní části práce jsme se zabývali vztahem mezi frakčním zkrácením levé a pravé komory a chromozomální výbavou plodu při ultrazvukovém vyšetření plodu na konci I. trimestru. Prokázali jsme, že:
 1. již na konci I. trimestru lze měřit a hodnotit hemodynamické parametry fetálního srdce - frakční zkrácení levé a pravé komory.
 2. Prokázali jsme, že rozdíly v naměřených hodnotách frakčního zkrácení levé a pravé komory srdeční mezi plody euploidními a aneuploidními jsou statisticky signifikantní. Potenciálně lze pomocí těchto měření modifikovat riziko výskytu některých typů aneuploidií, zejména trizomie 21. chromozomu.
 3. prokázali jsme, že fenomén trikuspidálním regurgitace na konci prvního trimestru souvisí s dilatací pravé komory srdeční.

- B. Ve druhé části práce jsme prokázali, že námi nově navržená metoda odběru vody plodové a biopsie choria pomocí vakuových zkumavek se spolehlivostí a bezpečností neliší od dosud používané metody. Prokázali jsme, že námi nově navržená metoda významně snižuje výukový interval a má potenciál ke snížení počtu komplikací souvisejících s těmito invazivními výkony.

7. LITERATURA

1. JIRASEK, J. E. Prenatal development: growth, differentiation, and their disturbances. In: Sciarra J. J. (ed): Gynecology and Obstetrics. 1998, Vol.2. Chap. 14: 1-16. Revised edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
2. BLAAS, H-G. K. Detection of structural abnormalities in the first trimester using ultrasound. Best Practice. 2014, vol. 28, issue 3, s. 341-353.
3. BLAAS, H-G. K., EIK-NES, S. H. Sonoembryology and early prenatal diagnosis of neural anomalies. Prenatal Diagnosis. 2009, vol. 29, issue 4, s. 312-325.
4. TIMOR-TRITSCH, I. E., PEISNER, D. B., RAJU, S. Sonoembryology: An organ-oriented approach using a high-frequency vaginal probe. Journal of Clinical Ultrasound. 1990, vol. 18, issue 4, s. 286-298.
5. HARALDSDOTTIR, K. R., H GOTTFREDSOTTIR, H., GEIRSSON, R. T. Fetal loss after amniocentesis and chorionic villus sampling in Iceland. Laeknabladid. 2014, roč. 100, č. 3, s. 147-51.
6. EVANS, M. I., WAPNER R. J. Invasive Prenatal Diagnostic Procedures 2005. Seminars in Perinatology. 2005, vol. 29, issue 4, s. 215-218.
7. AKOLEKAR, R., BETA, J., PICCIARELLI, G., OGILVIE, C., D'ANTONIO, F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. Ultrasound in Obstetrics. 2014.
8. MUJEZINOVIC, F., ALFIREVIC, Z. Procedure-Related Complications of Amniocentesis and Chorionic Villous Sampling. Obstetrics. 2007, vol. 110, issue 3, s. 687-694.
9. BENN, P., CUCKLE H. Theoretical performance of non-invasive prenatal testing for chromosome imbalances using counting of cell-free DNA fragments in maternal plasma. Prenatal Diagnosis. 2014, vol. 34, issue 8, s. 778-783

10. SMITH, M., LEWIS, K. M., HOLMES, A., VISOOTSAK, J. A Case of False Negative NIPT for Down Syndrome-Lessons Learned. *Case Reports in Genetics*. 2014, vol. 2014, s. 1-3.

11. SREBNIAK, M. I., DIDERICH K. E. M., NOOMEN P., DIJKMAN A., DE VRIES F. A. T., VAN OPSTAL D. Abnormal non-invasive prenatal test results concordant with karyotype of cytotrophoblast but not reflecting abnormal fetal karyotype. *Ultrasound in Obstetrics*. 2014, vol. 44, issue 1, s. 109-111.

SEZNAM PUBLIKACÍ:

1. publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

a) s impakt faktorem

CALDA, P., **BRESTAK M.** Amniocentesis vs standard syringe technique for amniocentesis: experience with 1219 cases. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2009, vol. 201, issue 6, 593.e1-593.e3. DOI: 10.1016/j.ajog.2009.06.023. (IF - 3.278)

CALDA, P., **BRESTAK, M.** Chorionic villus vacu-sampling in 377 consecutive cases. *Prenatal Diagnosis*. 2009, vol. 29, issue 11, s. 1075-1077. DOI: 10.1002/pd.2345. (IF - 1.707)

CALDA, P., **BRESTAK, M.**, TOMEK, V., OSTADAL, B., SONEK, J. Left ventricle shortening fraction: a comparison between euploid and trisomy 21 fetuses in the first trimester. *Prenatal Diagnosis*. 2010, 30(4), s. 368-71. DOI: 10.1002/pd.2500. (IF - 2.152)

BRESTAK, M., SONEK, J., TOMEK, V., MCKENNA, D., CALDA, P. Shortening fraction of the right ventricle: a comparison between euploid and trisomy 21 fetuses at week 11 to week 13 and 6 days of gestation. *Prenatal Diagnosis*. 2011, vol. 31, issue 8, s. 760-764. DOI: 10.1002/pd.2760. (IF - 2.106)

BRESTAK, M., CALDA, P., MCKENNA, D., SONEK, J. Comparison of right ventricular measurements and SFRV in fetuses with and without tricuspid regurgitation at 11 0 and 13 6 weeks' gestation. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal*

Medicine. 2013, s. 1-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/14767058.2013.863867>. (IF - 1,311)

b) bez impakt faktorů

CALDA, P., **BŘEŠŤÁK, M.**, FISCHEROVÁ, D. *Ultrazvuková diagnostika v těhotenství a gynekologii*. 2., kompletně přeprac. a rozš. vyd. Praha: Aprofema, 2010, 496 s. ISBN 978-809-0370-623.

2. **publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace**
a) s impakt faktorem

CALDA, P., NOVOTNÁ, M., ČUTKA, D., **BŘEŠŤÁK, M.**, HAŠLÍK, L., GOLDOVÁ, B., VÍTKOVÁ, I., VANĚČKOVÁ, M., SEIDL, Z. A case of an epignathus with intracranial extension appearing as a persistently open mouth at 16 weeks and subsequently diagnosed at 20 weeks of gestation. *Journal of Clinical Ultrasound*. 2011, vol. 39, issue 3, s. 164-168. DOI: 10.1002/jcu.20762. (IF - 0,808)

b) bez impakt faktorů

CALDA, P., FISCHEROVÁ, D., **BŘEŠŤÁK, M.** Doporučení k posouzení komplikací vývoje plodu v I. trimestru (zamlklý potrat, ektopická gravidita, těhotenství neznámé lokalizace). *Actual Gyn*. 2013, č. 5, s. 78-80.

CALDA, P., **BŘEŠŤÁK, M.** Doporučení k provádění rutinního ultrazvukového vyšetření v těhotenství. *Actual Gyn*. 2012, č. 4, s. 22-30.

CALDA, P., **BŘEŠŤÁK, M.**, DOSEDLA, E., VALTROVÁ, H. Nové možnosti včasné UZ diagnostiky a prevence rozštěpových vad u plodu. *Česká gynekologie*. 2010, 75(4), s. 379.

CALDA, P., HASLÍK, L., **BŘEŠŤÁK, M.**, RYGL, M. Prenatal diagnosis and neonatal management of anorectal malformation--a case report. *Prague Med Rep*. 2009, 110(3), s. 255-260.