



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

## Vývojové vady a jejich vyšetření v rámci biochemického screeningu

# BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program:

Specializace ve zdravotnictví

**Autor:** Andrea Tomanová

**Vedoucí práce:** Ing. Tomáš Nix, Ph.D.

České Budějovice 2018

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Vývojové vady a jejich vyšetření v rámci biochemického screeningu*“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské/diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské/diplomové práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské/diplomové práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 18. 4. 2018

.....

Andrea Tomanová

## **Poděkování**

Touto cestou bych v první řadě ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce, panu Ing. Tomáši Nixovi, Ph.D., především za velmi ochotnou pomoc, cenné odborné rady a veškerou spolupráci. A dále Ústavu biologie a lékařské genetiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy za umožnění stáže na oddělení cytogenetiky pod vedením pana primáře MUDr. Jaroslava Koblase a za účasti odborné asistence pana Ing. Mgr. Bc. Libora Staňka, PCTM.

# Vývojové vady a jejich vyšetření v rámci biochemického screeningu

## Abstrakt

Tato bakalářská práce utváří souhrnný přehled o možnostech prevence vrozených vývojových vad v oboru prenatální diagnostiky, přičemž jejím hlavním zaměřením jsou nejčastější chromozomální vady v České republice.

Teoretická část obecně charakterizuje vrozené vývojové vady a dále je dělí dle základních kritérií. Další část se věnuje popisu jejich prevence a samotné diagnostiky, v jejímž rámci jsou shrnuty základní informace o screeningových programech, které slouží primárně k posouzení rizika výskytu vrozených vývojových vad u každé těhotné pacientky.

Praktická část podává podrobnější popis zvolené screeningové metody, konkrétně biochemického screeningu, a celkové organizace prenatálního screeningu u zvolené populace těhotných pacientek, jejichž narozené potomky postihla vrozená vývojová vada. Tato část tedy zahrnuje i stručný popis postupu při detekci jakékoliv patologie v prvotní části prenatální diagnostiky, přičemž se zaměřuje na cytogenetické vyšetření a jeho výsledky v případě nejčastějších vývojových vad.

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, jak se odlišují nebo naopak shodují statistiky nejčastějších chromozomálních vad, a to z pohledu celonárodní statistiky výskytu v České republice v porovnání se zjištěnými výsledky z vlastní laboratorní praxe.

## Klíčová slova

vrozené vady; prenatální diagnostika; prenatální screening, chromozomální aberace, cytogenetika

# **Developmental defects and their examination in biochemical screening**

## **Abstract**

This thesis forms summary overview about possibilities of prevention of congenital defects in prenatal diagnostics with focus on the most common chromosomal defects in the Czech Republic.

The theoretical part generally characterizes the congenital defects and divides the anomalies according to the basic aspects. The next part deals with the description of prevention and diagnosis, which summarizes basic information about screening programs, which are primarily used to assess the risk of congenital defects for each pregnant patient.

The practical part provides a more detailed description of the chosen screening method, namely biochemical screening, and the overall organization of prenatal screening in the selected population of pregnant patients, whose born children were affected by the congenital defect. This part also includes a brief description of the procedure for detecting any pathology in the primary part of the prenatal diagnosis, focusing on the cytogenetic examination and its results for the most common congenital defects.

The aim of this bachelor thesis was to find out how the statistics of the most frequent chromosomal anomalies differ or coincide, from the point of view of the nationwide statistics of incidence in the Czech Republic compared to the results from own laboratory practice.

## **Key words**

birth defects; prenatal diagnostics; prenatal screening, chromosomal aberrations, cytogenetics

## Obsah

Obsah .....	6
1 Úvod .....	8
2 Současný stav .....	9
2.1 Přehled současného stavu .....	9
2.2 Vrozené vývojové vady .....	9
2.2.1 Dělení VVV na základě období jejich vzniku .....	9
2.2.2 Dělení VVV na základě mechanismu vzniku .....	10
2.2.3 Dělení VVV na základě klinických projevů .....	11
2.2.4 Dělení VVV na základě příčin vzniku .....	11
2.3 Chromozomální aberace .....	12
2.3.1 Strukturní chromozomální aberace .....	12
2.3.2 Numerické chromozomální aberace.....	13
2.4 Prevence a diagnostika .....	15
2.4.1 Prevence .....	15
2.4.2 Primární prevence.....	16
2.4.3 Sekundární prevence – prenatalní diagnostika .....	17
2.5 Prenatální screening chromozomálních aberací.....	20
2.5.1 Screeningové testy v prvním trimestru těhotenství .....	21
2.5.2 Screeningové testy ve druhém trimestru těhotenství .....	21
2.5.3 Screeningové testy v prvním i ve druhém trimestru těhotenství .....	22
3 Cíl práce.....	24
4 Metodika práce.....	25
4.1 Biochemický screening VVV.....	25
4.1.1 Anamnéza .....	25
4.1.2 Ultrazvukové parametry.....	26
4.2 Vyšetření biochemických markerů v laboratorní praxi .....	26

4.3	Biochemický screening v prvním trimestru těhotenství .....	28
4.3.1	Celkové hCG / free $\beta$ -hCG (lidský choriogonadotropin) .....	28
4.3.2	PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein A) .....	28
4.4	Biochemický screening ve druhém trimestru těhotenství .....	29
4.4.1	AFP (alfa – 1 – fetoprotein) .....	29
4.4.2	uE3 (nekonjugovaný estriol) .....	29
4.5	Lékařské postupy v případě patologického nálezu .....	30
4.5.1	Základní cytogenetické vyšetření chromozomů .....	30
4.5.2	Fluorescenční in situ hybridizace (mFISH) .....	31
4.5.3	Metoda mnohobarevného pruhování (mBAND) .....	33
4.6	Statistiky výskytu VVV v ČR dle ÚZIS ČR .....	33
4.7	Statistika efektivity prenatální diagnostiky v ČR dle ÚZIS ČR .....	36
5	Vyhodnocení výsledků .....	39
6	Diskuze .....	43
7	Závěr .....	45
8	Citovaná literatura .....	46
9	Seznam obrázků a příloh .....	49
9.1	Přílohy .....	49
9.2	Obrázky .....	49
9.3	Tabulky .....	50
	Seznam použitých zkratk .....	51
	Přílohy .....	52

# 1 Úvod

Tato bakalářská práce pojednává o problematice vrozených vývojových vad plodu se zaměřením na chromozomální aberace. Tyto chromozomální anomálie nevznikají pouze v důsledku patologických procesů na genetické úrovni, ale značný vliv na ně mají především faktory životního stylu. A to ať už se jedná o nežádoucí užívání návykových látek v období těhotenství, nebo stále se zvyšující průměrný věk prvního těhotenství, což jsou zásadní aspekty zvyšující riziko výskytu vývojových vad. Proto hraje včasné potvrzení či vyloučení onemocnění důležitou roli v péči o těhotnou pacientku. K tomu slouží právě i prenatální screeningová vyšetření, kterým se tato práce primárně věnuje.

Cíl práce spočívá ve vytvoření statistiky vrozených vývojových vad zaznamenaných v rámci své laboratorní praxe a v porovnání této statistiky s celonárodní statistikou výskytu vrozených vývojových vad, konkrétně nejčastějších chromozomálních aberací. Přičemž dalším záměrem je stručné shrnutí etiologie a cytogenetického nálezu nejčastěji vyskytovaných aberací.



## **2 Současný stav**

### **2.1 Přehled současného stavu**

V případě, kdy žena otěhotní, bývá jejím prioritním zájmem zdraví vyvíjejícího se plodu. K diagnostice zdravotního stavu plodu slouží komplexní prenatální diagnostika, jejíž součástí je i včasná detekce vrozených vývojových vad. Tyto diagnostické metody se neustále vyvíjejí a kladou důraz na zachycení jakékoliv patologie tak, aby byly odhaleny v co možná nejranějším stádiu těhotenství. Preferovány jsou přitom metody, které jsou maximálně bezpečné pro matku i plod. Mezi ně se řadí právě biochemický screening.

### **2.2 Vrozené vývojové vady**

Význam pojmu vývojová vada je z lékařského hlediska velmi rozsáhlý, jelikož vývojové vady zasahují prakticky všechny orgánové soustavy a nabývají různého charakteru. Může se jednat o drobné odchylky, které ovlivňují kvalitu života postiženého jedince pouze v zanedbatelné míře, ale také mohou být důsledkem těchto defektů závažné zdravotní obtíže, které nemusí být v některých případech slučitelné se životem. Postižený jedinec tak umírá buď již během intrauterinního vývoje, nebo krátce po narození. Vývojové vady nejsou ani nijak vzácným problémem, jelikož dle statistik v České republice stále přichází na svět 3 – 5 % potomků s určitým typem vývojové vady. (Šípek et al., 2013a)

VVV, jakožto odchylky od fyziologického vývoje jedince, se běžně dělí na základě několika hledisek. Mezi tato hlediska se řadí například mechanismus, příčina či období vzniku, nebo konkrétní klinické projevy těchto vad. (Šípek, © 2010 – 2014; Binder, 2011)

#### **2.2.1 Dělení VVV na základě období jejich vzniku**

##### **Gametopatie**

Poruchy vznikající uvnitř zárodečných buněk v důsledku chyby při rozdělování chromozomů v rámci jejich vývoje nebo dělení. (Mačák, 2012)

##### **Blastopatie**

Jedná se o poruchy zapříčiňující vážné chromozomální anomálie, v jejichž důsledku mohou vznikat zrůdy a vrozené defekty. Tyto odchylky jsou typické pro raná stadia těhotenství, konkrétně pro období 15 dnů po oplodnění. (Mačák, 2012)

### **Embryopatie**

Obzvláště citlivým obdobím pro vznik embryopatií je organogeneze, tedy období tvorby základů orgánů. Tyto vady vznikají od 15. dne od oplození do 12. týdne těhotenství. Podkladem pro vznik bývají často infekce (rubeola) nebo toxiny (léky či chemikálie). (Mačák, 2012; Hájek et al., 2014)

### **Fetopatie**

Fetopatie postihují plod od 3. měsíce až do konce těhotenství, přičemž zde zásadní roli hrají infekce nebo škodliviny, které organogenezi podstatně brzdí, zastavují nebo zásadně poškozují. Významnou příčinou bývá taktéž nekompatibilní Rh faktor matky a plodu, kdy dochází k tzv. *morbus hemolyticus neonatorum*. (Mačák, 2012; Hájek et al., 2014)

## **2.2.2 Dělení VVV na základě mechanismu vzniku**

### **Malformace**

V důsledku dědičných nebo exogenních činitelů vznikají vývojové anomálie. Tyto patologické odchylky vznikají již na začátku vývoje a způsobují defekty orgánů či jejich částí. Příkladem může být defekt neurální trubice, která se při vývoji zcela neuzavře, a tím pádem nedojde ani k jejímu kompletnímu vytvoření. (Ježová, 2013)

### **Disrupce**

Při této poruše se neuplatňují genetické vlivy, ale důvodem vzniku mohou být jak vnitřní, tak vnější faktory. Ty působí patologicky na dosud fyziologicky se vyvíjející orgány a jejich části a způsobují defekty, jako například amniální pruhy. (Ježová, 2013)

### **Deformace**

Zásadní příčinou vzniku deformací je působení mechanického vlivu, v jehož důsledku dochází ke vzniku abnormalit ve tvaru nebo poloze části těla. Tyto abnormality však nevedou k poruchám celkového vývoje, ale odchylují ho mimo původní směr. (Ježová, 2013)

### **Dysplazie**

Příčinou vzniku dysplazií bývá abnormální uspořádávání buněk, které formují příslušné tkáně a následně orgány. (Ježová, 2013)

### **2.2.3 Dělení VVV na základě klinických projevů**

#### **Isolované vady**

Jedná se o vady, pro jejichž výskyt je charakteristické, že není asociativně spojen s dalšími vadami. Příkladem může být izolovaná polydaktylie. (Šípek, © 2008 - 2018)

#### **Sekvence**

Mnohonásobné vady vznikají jako následek patologické kaskády dějů, jejíž vznik inicioval původní patologický zásah. Jedním z příkladů těchto vad je sekvence Potterové. (Šípek, © 2008 - 2018)

#### **Asociace**

Asociace jsou vrozené defekty, pro které je charakteristický výskyt s dalšími vadami, například VATER asociace. (Šípek, © 2008 - 2018)

#### **Syndrom**

Syndrom lze definovat jako komplex příznaků projevujících se souběžně a vytvářejících klinický obraz charakteristický pro dané onemocnění, a to například pro Downův syndrom. (Selikowitz, 2011)

### **2.2.4 Dělení VVV na základě příčin vzniku**

#### **Genetické vlivy**

Za genetické odchylky považujeme změny vznikající na genové úrovni, tedy mutace konkrétních genů a odchylky v chromozomální výbavě člověka, ať už v jejich počtu, nebo celkové stavbě jednotlivých chromozomů. Projev těchto anomálií označujeme jako syndrom - například Downův, Patauův, Edwardsův, aj. (Hájek et al., 2014)

#### **Multifaktoriálně dědičné vady**

Jedná se o vady podmíněné genetickou predispozicí, a zároveň vlivem vnějších faktorů. Patří mezi ně například rozštěpy rtu, patra a neurální trubice, vrozené srdeční vady, a jiné. (Maříková, Seemanová, 2013)

#### **Vlivy vnějšího prostředí, které mají vliv na VVV**

Teratogeny se řadí mezi exogenní faktory zásadně zvyšující riziko nebo přímo zapříčiňující vznik vrozených vývojových vad. Dělí se na faktory chemické, fyzikální a biologické. (Šípek, © 2010 – 2014)

Jako chemický faktor se uplatňuje řada léčiv (cytostatika, antiepileptika nebo některé druhy antibiotik). Dalšími látkami, u nichž byl prokázán taktéž teratogenní vliv, jsou alkohol a drogy. Mutagenní účinky nelze vyloučit ani u všeobecně nebezpečných chemických látek, jako jsou například těžké kovy. (Šípek, © 2010 – 2014)

Mezi nejčastější fyzikální vlivy řadíme záření. V důsledku radioaktivního záření může docházet ke zlomům na chromozomech. Rentgenové záření zase nepříznivě ovlivňuje vývoj neurální trubice. Z tohoto důvodu je proto doporučeno nepodstupovat RTG vyšetření do 3. měsíce těhotenství. Jako další fyzikální teratogen lze zmínit vysokou teplotu. (Šípek, © 2010 – 2014)

Jako biologické teratogeny se uplatňují původci infekčních onemocnění. Tito původci mají zastoupení napříč všemi druhy organismů. Jedná se o viry (herpesviry, cytomegaloviry, rubiviry, HIV), bakterie (*Treponema pallidum* způsobující syfilis) a prvoky (*Toxoplasma gondii*). Přímým teratogenním účinkem se vyznačují i některá onemocnění matky, jež mají chronický charakter, a to například diabetes mellitus či fenylketonurie. (Šípek, © 2010 – 2014)

## **2.3 Chromozomální aberace**

Běžný lidský karyotyp sestává ze 46 chromozomů. Tuto chromozomální výbavu tvoří 22 párů somatických chromozomů (autozomů) a 1 pár chromozomů pohlavních (gonozomů). U ženského pohlaví se jedná o gonozomy XX, u mužského o gonozomy XY. (Mačák, 2012)

### **2.3.1 Strukturní chromozomální aberace**

Tento typ aberací vzniká na podkladě chromozomálních změn, konkrétně jejich zlomů. V důsledku těchto dějů následují patologické změny, jako například ztráty, zdvojení nebo přestavby segmentů, které jsou zapříčiněny abnormalitami ve spojení úseků. Změny ve struktuře se dělí na balancované, kdy nedochází ke změnám v množství genetické informace, a na nebalancované, kdy dochází k úbytku nebo naopak přebytku původního množství genetické informace. Tímto případem mohou být delece (absence části chromozomu), duplikace (znásobení daného úseku chromozomu), či translokace (rozdělení části chromozomu a jeho následné připojení k chromozomu jinému) a další anomálie. (Šípek, © 2010 – 2014)

### **2.3.2 Numerické chromozomální aberace**

Vznik numerických chromozomálních aberací je přisuzován chybnému rozdělení genetického materiálu mezi dceřiné buňky během buněčného dělení. V důsledku této chyby dochází buď ke stavům znásobení celé chromozomální sady, tedy polyploidii, nebo ke stavům, kdy chybí či přebývá pouze některý z chromozomů, tedy aneuploidii vznikajícím v důsledku tzv. nondisjunkce. Mezi aneuploidie se řadí monozomie, kdy jeden z páru chromozomů chybí, a trizomie, kdy je naopak jeden z chromozomů nadpočetný. (Sadler, 1995; Šípek, © 2010 – 2014)

### **Syndromy zapříčiněné aneuploidii autozomů**

#### **Downův syndrom**

Downův syndrom je považován za nejčastější numerickou odchylku v chromozomální výbavě, která je doprovázena jak duševní, tak tělesnou poruchou. Příčinou je nadpočetný chromozom, který je patologicky připojen k 21. páru chromozomů, a způsobuje tak trizomii 21. chromozomu známou pro svůj typický fenotypový projev. K projevu nemoci přitom postačuje i pouhá nadbytečná část chromozomu, která se k 21. páru připojí. Statisticky Downův syndrom postihuje přibližně 1 ze 700 novorozenců dětí napříč všemi etnickými skupinami. Vyšší riziko výskytu je přičítáno vyššímu věku rodičky, konkrétně se riziko znatelně zvyšuje nad 35 let věku. Existují dva patologické děje podněcující ke vzniku této poruchy, a to nondisjunkce, při které dochází k chybnému dělení genetické informace, a translokace. (Selikowitz, 2011; National Down Syndrome Society, 2018)

Fenotypově se Downův syndrom projevuje mongoloidním vzhledem, různým stupněm mentální retardace, malým vzrůstem se sklonem k zavalitosti a poruchami imunity. Dalším typickým projevem je výskyt tzv. opičí rýhy, epikantální řasy a zešíkmených očních štěrbin. U přibližně 1 % jedinců je zaznamenán výskyt jiné formy, tzv. mozaicismu, kdy chromozomální odchylka postihuje jen některé buňky, zatímco zbylé jsou zdravé. Chromozomální odchylky jsou tak fyziologickými buňkami částečně kompenzovány, a patologické projevy poruchy jsou zmírněny. (Selikowitz, 2011; National Down Syndrome Society, 2018)

Karyotyp jedince postiženým Downovým syndromem je: 47, XX (XY), + 21. (Selikowitz, 2011; National Down Syndrome Society, 2018)

### **Edwardsův syndrom**

Tento syndrom je považován za relativně častou chromozomální odchylku, jejíž výskyt je zaznamenáván u asi jednoho z 5000 – 6000 narozených jedinců. Příčina těžkého postižení spočívá v nadpočetném chromozomu 18. Riziko výskytu této trizomie se stupňuje společně s věkem matky. Výskyt této vrozené vady bývá pro postižené jedince tak závažným zdravotním zásahem, že ve vysokém měřítku dochází k úmrtí plodu již během těhotenství. Narození jedinci se pak zřídka dožijí prvního roku života. (Sadler, 2011; Štefánek, © 2011)

Zásadní podíl na úmrtnosti nesou vrozené srdeční vady. Časté obtíže také způsobují problémy s dýcháním a polykáním. Typickým projevem postiženého jedince jsou nízká porodní hmotnost, rozštěpové vady, deformity v obličejové i hlavové části, různé deformace kostí a končetin. Jedinec trpí mentální retardací. (Sadler, 2011; Štefánek, © 2011)

Karyotypový zápis pro Edwardsův syndrom vypadá takto: 47, XX (XY), + 18. (Sadler, 2011; Štefánek, © 2011)

### **Patauův syndrom**

S výskytem u jednoho z 10 000 narozených jedinců se u nás Patauův syndrom řadí mezi vzácně se vyskytující vrozené vady. Svůj podíl na tak nízkém výskytu může však nést i fakt, že určité množství těhotenství, kdy je plod postižen tímto syndromem, končí samovolným potratem. Příčinou patologických změn, které vedou u jedince k celkové degradaci mentálního i fyzického vývinu je nadpočetný 13. chromozom. (Sadler, 2011; Štefánek, © 2011)

Typickým fenotypovým projevem bývá nízká porodní hmotnost, zásadně zpomalený růst, deformace hlavy i obličejové části, včetně deformit a poruch funkce očí, a časté polydaktylie. Výjimku netvoří ani vrozené vady srdce a ledvin. (Sadler, 2011; Štefánek, © 2011)

Karyotyp jedinců s Patauovým syndromem: 47, XX (XY), + 13. (Sadler, 2011; Štefánek, © 2011)

### **Syndromy zapříčiněné aneuploidiemi gonozomů**

V případě gonozomálních odchylek se jedná především o jejich počet, který se liší od běžné chromozomální výbavy ženy (XX) a muže (XY). Odchylky jsou zapříčiněny nondisjunkcí gonozomů v pohlavních buňkách. (Mačák, 2012)

## **Klinefelterův syndrom**

Klinefelterův syndrom se vyskytuje cca u jednoho z 500 – 1000 narozených dětí mužského pohlaví. Pro své latentní projevy však bývá diagnostikován buď zcela náhodně, nebo až v pozdějším věku, kdy se začínají projevovat typické odchylky. Příčinou je nadbytečný pohlavní chromozom. Typickou formou karyotypového zápisu jedince s Klinefelterovým syndromem je: 47, XXY. (Sadler, 2011; Štefánek, © 2011)

Logicky tak dochází převážně k tělesným změnám, které jsou podmíněny hormonální dysbalancí, která je způsobena poruchou produkce hormonu testosteronu. Z toho lze odvodit, že typické projevy tohoto syndromu spočívají v odchylkách pohlavních znaků a funkcí pohlavních žláz. Jedince s Klinefelterovým syndromem charakterizuje vysoký vzrůst s nápadně dlouhými končetinami, menší množství svalové hmoty, zvětšené prsní žlázy, pubické ochlupení ženského typu a vyšší hlas. Typicky bývá narušena funkce varlat, což se projevuje neplodností postiženého jedince. (Sadler, 2011; Štefánek, © 2011)

## **Turnerův syndrom**

Turnerův syndrom je charakterizován přítomností pouze jednoho pohlavního chromozomu. V některých případech nechybí druhý pohlavní chromozom zcela, ale v karyotypu můžeme nalézt jeho část. Tato monozomie je tak jako jediná slučitelná se životem. Výskyt syndromu je zaznamenán i v podobě mozaiky, kdy se absence chromozomu X vyskytuje pouze v některých buňkách. Míra výskytu se pohybuje okolo 1 z 2000 – 3000 narozených dívek, vysoké procento – až 98 % však vyjadřuje množství těhotenství, které v případě tohoto postižení plodu, končí spontánním potratem. (Sadler, 1995; Štefánek, © 2011)

Turnerův syndrom je u dívek spojen buď s úplnou absencí vaječníků, nebo s přítomností útvarů, které zpravidla nenesou žádnou z původních funkcí. V důsledku této anomálie dochází k poruchám dospívání, nepřítomnosti menstruačního cyklu a v návaznosti na tyto patologické procesy i k celkové neplodnosti. Mezi fyzické projevy onemocnění řadíme kožní řasu na krku, nízký vzrůst, často se vyskytující lymfedémy končetin a různé skeletální deformity. (Sadler, 1995; Štefánek, © 2011)

## **2.4 Prevence a diagnostika**

### **2.4.1 Prevence**

Vrozené vývojové vady jsou v první řadě považovány za vážný problém zasahující zdraví. Význam tohoto problému však zasahuje i sféru sociální, a samozřejmě

ekonomickou. I z těchto důvodů se apeluje na předcházení těmto vadám, přičemž tou nejlepší cestou je primární prevence, jelikož si jako prioritní úkol klade přímo zabránění vzniku vrozených vývojových vad. Sekundární druh prevence se již potýká s diagnostikou samotných vad a následném řešení patologických stavů postižených plodů. (Gate-2-biotech, © 2006 – 2018)

#### **2.4.2 Primární prevence**

Prevence zahrnuje nespočet faktorů, jejichž působení má na zdraví matky a plodu zásadní vliv, a tudíž je nezbytné se jejich konkrétním účinkům věnovat. (Gate-2-biotech, © 2006 – 2018)

Souhrnně lze konstatovat, že prioritním zájmem by mělo být plánované rodičovství s co nejvhodnějšími podmínkami k početí potomků, do kterých lze zahrnout odpovídající věk a zdravotní stav ženy. Se vzrůstajícím věkem je spojován četnější výskyt chromozomálních anomálií, především těch numerických. Samotný zdravotní stav ženy může být nepříznivě ovlivněn z různých hledisek, a to počínaje nedostatečně vyváženou stravou z pohledu zastoupení vitaminů, minerálů a jiných důležitých látek. Ženám je proto doporučován stabilní příjem kyseliny listové, která hraje důležitou roli v působení na vývoj plodu a snižování rizika výskytu různých defektů. Paradoxním faktem je, že zvýšená dávka některých vitaminů, a to například vitaminu A, může být pro plod naopak toxická. Nezbytná preventivní opatření se týkají také potenciálně nebezpečných látek, jako jsou teratogeny, alkohol, drogy a některé skupiny léků. (Gate-2-biotech, © 2006 – 2018)

#### **Preimplantační genetická diagnostika**

Vzhledem k tomu, že je preimplantační genetická diagnostika jedinou metodou umožňující odhalit výskyt aneuploidií ještě před početím, lze ji též zahrnout do preventivních metod. (Rutarová, 2008)

Tento druh diagnostiky je využíván v případě fertilizace *in vitro* a je doporučován především těm párům podstupujícím umělé oplodnění, u kterých je zvýšené riziko výskytu geneticky podmíněného onemocnění, dále například pacientkám, které překročily věkovou hranici 35 let, nebo již prodělaly těhotenství, kdy byl plod postižen genetickou vadou. Hlavním záměrem je tedy získat embryo, které nevykazuje žádnou genetickou abnormalitu, v opačném případě je embryo vyřazeno. Nejčastěji se využívá bioptického odběru 1 – 2 blastomer u embrya, které v rámci kultivace v médiu dosáhlo



stáří 3 dnů, tedy stádia 8 buněk. Získané blastomery jsou pak fixovány na sklíčka a odesílány k molekulární a cytogenetické analýze, kdy se využívá metody FISH a PCR. Pokud se v rámci genetické analýzy nepotvrdí žádná abnormalita, embryo může být využito k dalším krokům v procesu IVF. (Rutarová, 2008)

### **2.4.3 Sekundární prevence – prenatalní diagnostika**

Prenatální diagnostiku charakterizuje kombinace vyšetřovacích metod a postupů, jež napomáhají k odhalování vrozených vývojových vad, jejichž klinický obraz buď indikuje velmi obtížnou léčbu, nebo jakékoliv možnosti léčby přímo vylučuje. Mezi tyto případy lze zahrnout i vady s letálními následky. (Hájek et al., 2014)

Dle charakteru zákroku se tento druh diagnostiky dělí na neinvazivní a invazivní. (Hájek et al., 2014)

#### **Neinvazivní metody vyšetření**

Pro neinvazivní diagnostické metody je typické, že nezatěžují organismus ženy jakýmkoliv zásahem, a tím pádem eliminují riziko ztráty plodu. Souhrnným neinvazivním vyšetřením, které zahrnuje několik druhů vyšetření je tzv. prenatalní screening. Tato metoda si klade za úkol vyhledávat pacientky, u nichž existuje několikanásobně vyšší šance na výskyt vrozené vývojové vady u jejich plodu. Součástí je zkoumání anamnézy, přičemž konkrétním cílem je existence geneticky podmíněných onemocnění v rodině, dále ultrasonografie a biochemický screening detekující specifické markery v mateřském séru. (Sadler, 2011, Hájek et al., 2014)

Ať už z důvodu patologického nálezu v rámci předchozího screeningu, riziku vyplývajícího ze zjištěné anamnézy, nebo čistě na vlastní žádost lze v současnosti využít i analýzy DNA samotného plodu, která se získává též z mateřského séra. Na rozdíl od základního prenatalního screeningu toto vyšetření standardně nepodstupují všechny gravidní pacientky. (Sadler, 2011, Hájek et al., 2014)

#### **Ultrazvuková diagnostika**

Využití ultrazvukové diagnostiky v trvání celého těhotenství se staví na prioritní místa v prenatalní diagnostické péči. Standardně se k UZ vyšetření během těhotenství přistupuje celkem 4x, avšak záleží zcela individuálně na lékařském posouzení pro využití dalšího vyšetření v případě výskytu jakékoliv abnormality. (Calda, 2005; Calda, 2012b)

Za obvyklých podmínek se UZ screening provádí pro stanovení gravidity ideálně mezi 11. – 14. týdnem, čímž se stává součástí prvotrimestrálního screeningu, dále mezi

18. – 22. týdnem těhotenství, a následně mezi 30. – 32. týdnem gravidity, kdy je možné vyloučit různé druhy patologií včetně hypotrofizace plodu. Přibližně 1 – 2 týdny před porodem se provádí UZ vyšetření, které však neslouží jako typická součást prenatální diagnostiky, ale už jen jako vyšetření sloužící k posouzení podmínek pro blížící se porod. (Calda, 2005; Calda, 2012b)

### **Vstupní ultrazvukové vyšetření**

Ideálně by mělo být prvotní ultrazvukové vyšetření provedeno ještě před 13. týdnem gravidity. Během úvodního vyšetření se stanovuje gestační stáří plodu, a zároveň případné vícečetné těhotenství, posuzuje se vitalita plodu a dochází k prvotnímu zachytu závažných fetálních abnormalit. (Calda, 2012a)

### **Vyšetření v rámci prvotrimestrálního screeningu**

Prvotrimestrální screening sestává z několika druhů vyšetření, která mají komplexně posoudit stav těhotné pacientky a vyvíjejícího se plodu, a zároveň již vyjádřit míru existujícího rizika výskytu vývojových vad. (Sonek et al., © 2012)

Mimo aspekty, které posuzují toto riziko, se stanovuje například četnost těhotenství a upřesňuje se gestační stáří. Pro detekci rizika se zohledňují ultrazvukové nálezy, kdy je možné na základě posouzení velikosti plodu a specifických markerů detekovat vývojovou vadu již v raném stádiu. Mezi sledované markery patří především nuchální translucence, tedy šíjové projasnění a přítomnost nosní kosti. (Sonek et al., © 2012)

### **Ultrazvuková vyšetření v průběhu těhotenství**

Ultrazvukové vyšetření mezi 18. – 22. týdnem těhotenství je zaměřeno především na stanovení počtu plodů a jejich vitalitu, což je spojeno s posouzením celkové anatomie, biometrických údajů plodu a kontrolou srdeční činnosti. Mimo informace týkající se plodu se dále sleduje i množství plodové vody a uložení placenty. (Calda, 2012a)

Vyšetření mezi 30. – 32. týdnem opětovně posuzuje biometrii plodu a společně s kontrolou rozměrů a výpočtem hmotnosti se vylučuje hypotrofický stav plodu. Vzhledem k tomu, že tento stav je vyvoláván právě defektní funkcí placenty, kontroluje se i nyní uložení placenty a množství plodové vody. (Calda, 2012a)

### **Biochemický screening**

Biochemická laboratorní vyšetření se provádí pro detekci nejčastějších vad zasahujících chromozomální výbavu. I přesto, že je biochemický screening zaměřen na odhalování těchto vad, podává s ostatními posuzovanými aspekty pouze informaci o míře rizika jejich výskytu, tudíž neslouží k jejich přímé diagnostice. V rámci tohoto screeningu se posuzují konkrétní biochemické markery – konkrétně jejich hladiny v mateřském séru. Jedná se o PAPP – A, free  $\beta$ -hCG, hCG, AFP a uE3. (Polák et al., 2017)

### **Invazivní metody vyšetření**

Vzhledem k rapidnímu vývoji laboratorní diagnostiky se stále rozšiřují možnosti ve využití invazivních metod. Nicméně je prioritní snahou snížit počet těchto invazivních vyšetření prenatalní diagnostiky s ohledem na existující rizika, kdy mohou nastat komplikace spojené s poškozením plodu, vyvoláním potratu či předčasného porodu. Z těchto důvodů by se mělo k těmto vyšetřovacím metodám přistupovat až v případě závažného podezření na některou ze zmiňovaných aberací, tedy nejčastěji na základě pozitivních výsledků prenatalního screeningu jak v I., tak i ve II. trimestru, nebo při posouzení jiných rizikových faktorů, jako například věku matky. (Hájek, 2004; Binder, 2011)

Mezi invazivní diagnostické metody se řadí bioptický odběr vzorku choria (CVS), odběr fetální krve z pupečnickové žíly (kordocentéza) a odběr plodové vody (amniocentéza). Veškerá vyšetření probíhají pod ultrazvukovým dohledem, aby se minimalizovala rizika komplikací. Ze získaného materiálu – tedy buněk choria či plodové vody je možné provést především genetická vyšetření stanovující karyotyp plodu. (Binder, 2011; PUBS – odběr pupečnickové krve, © 2018)

### **Odběr vzorku choria (CVS)**

Dle pokročilosti těhotenství se CVS dělí na časnou, prováděnou mezi 9. – 12. týdnem, a na pozdní, tedy placentocentézu prováděnou po 12. týdnu. K cytogenetickému vyšetření se využívá buněk cytotrofoblastu nebo pluripotentních mezenchymálních buněk mezodermy. Výkon je prováděn zpravidla transabdominálně, tedy přes břišní stěnu s ultrazvukovou kontrolou. K úspěšnému odběru je třeba získat alespoň 10 – 20 mg tkáně. Po vyšetření je nezbytné předpokládat zvýšenou hladinu AFP, který může být v důsledku CVS zvýšen až o 70 %. (Hájek, 2004; Polák et al., 2017)

Další komplikací při diagnostice může být výskyt placentárního mozaicismu, kdy je chromozomální změna přítomna pouze v choriu, nikoliv u plodu, v tomto případě je nutné přistoupit k amniocentéze. Všeobecné riziko ostatních komplikací, jako spontánní potrat, odtok plodové vody, krvácení, a dalších je přibližně 0,5 – 1 %. (Hájek, 2004; Polák et al., 2017)

### **Amniocentéza (AMC)**

Ideální období pro odběr plodové vody je mezi 15. – 22. týdnem těhotenství, kdy se její množství pohybuje okolo 240 – 280 ml, přičemž se během vyšetření odebírá 10 – 20 ml v závislosti na týdnu gravidity. Odběr probíhá též pod kontrolou ultrazvuku pomocí transabdominální punkce. Odebírají se buňky ektodermálního nebo mezodermálního původu, ty následně slouží k cytogenetickému nebo molekulárnímu vyšetření DNA, kdy se využívá metody FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace) a PCR polymerázová řetězová reakce). Získaný vzorek se následně zasílá i k diagnostice biochemických markerů. Riziko komplikací se opět pohybuje kolem 0,5 – 1 %. (Hájek, 2004; Polák et al., 2017)

### **Kordocentéza (KDC)**

Kordocentézou se rozumí odběr fetální krve punkcí pupečnickové vény. K tomuto vyšetření se přistupuje zpravidla až kolem 20. týdne gravidity, a to na základě neurčitých výsledků aminocentézy, požadavku na určení karyotypu plodu, při podezření na infekční onemocnění, jejichž stanovení z plodové vody není většinou možné, a pro stanovení markerů hematologických, imunologických a metabolických. (Hájek, 2004; Polák et al., 2017)

Odběr se provádí punkční jehlou pod ultrazvukovou kontrolou a pro následnou diagnostiku je vyžadováno množství 1 - 2 ml fetální krve. Riziko následných komplikací přitom nepřesahuje 1 %. (Hájek, 2004; Polák et al., 2017)

## ***2.5 Prenatální screening chromozomálních aberací***

K přímému vyloučení či potvrzení výskytu chromozomální vady slouží invazivní vyšetření, která s sebou nesou určitou míru rizika komplikací. Právě i z důvodu snahy vyloučit komplikace v rámci prenatální diagnostiky se začalo přistupovat k využití screeningových programů. Jedná se o metody, které si kladou za úkol vyhledat pacientky s určitým rizikem výskytu aneuploidie. Za pomocí této diagnostiky je pak možné

indikovat invazivní metody pouze u pacientek s vážným podezřením na výskyt chromozomální aberace či s výskytem vývojových vad v rodinné anamnéze nebo předchozích těhotenstvích. (Belošovičová, Calda, 2012; Hájek et al., 2014)

Tato metoda vyhledávání rizikových pacientek by měla splňovat určité požadavky, které v zásadě souvisí se šetrností vůči pacientce – zákrok by měl být bezbolestný a bez negativních pocitů pacientky. Dále by provedení testu mělo být snadné a celkově by ho měla charakterizovat jednoduchost, vysoká spolehlivost a citlivost. Vedlejším aspektem je jeho ekonomická únosnost. I přes veškeré požadavky je však nutné podotknout, že žádný screeningový test není tím ideálním a univerzálním, a tak nelze počítat se 100 % schopností detekovat všechny vývojové vady. (Belošovičová, Calda, 2012; Hájek et al., 2014)

### ***2.5.1 Screeningové testy v prvním trimestru těhotenství***

#### **Kombinovaný test**

Tento test je charakterizován vysokou efektivitou v odhalování trizomií jak 13., 18., tak i 21. chromozomu, a to až v 90 % případů postižení plodu. Výskyt falešně pozitivních výsledků je přitom přibližně do 5 %. Princip vyšetření spočívá v komplexním zohlednění výsledků biochemického a ultrazvukového vyšetření a společně s věkem matky tak probíhá výpočet rizika výskytu aneuploidie. V rámci biochemického screeningu se vyšetřuje PAPP – A a free  $\beta$ -hCG. Ultrazvukové vyšetření zohledňuje parametr nuchální translucence, zachycuje jakékoliv strukturální anomálie a ověřuje četnost těhotenství. (Belošovičová, Calda, 2012)

#### **Kontingenční test**

Kontingenční test je obdobou testu kombinovaného, kdy se vyšetřují prakticky stejné markery a zohledňují totožné aspekty, přičemž jsou ještě začleněny tzv. minormarkery, k nimž řadíme například přítomnost NB – nosní kosti, krevní průtok v ductus venosus, srdeční frekvenci, měření délky kosti stehenní a pažní, a jiné. Míra detekce výskytu trizomií je přitom až 95 %, a to při pouhých 2 % falešně pozitivních detekcí. (Belošovičová, Calda, 2012)

### ***2.5.2 Screeningové testy ve druhém trimestru těhotenství***

#### **Double test**

Double test je využíván ke stanovení rizika výskytu trizomií 18 a 21. Podkladem je vyšetření markerů AFP a hCG. Míra detekce závisí na přítomnosti volné podjednotky  $\beta$ -

hCG. Pokud je součástí testu celá molekula, pohybuje se procento detekce mezi 55 – 60, v případě, že je přítomna volná podjednotka, zvyšuje se míra detekce o 5 % při stejné míře falešné positivity pro obě varianty, a to 5 %. Přes značnou nespolehlivost je test v klinické praxi nadále využíván. (Belošovičová, Calda, 2012)

### **Triple test**

Triple test určuje riziko trizomií 18 a 21 stanovením markerů AFP, hCG, volného E3 a zohledněním věku pacientky. Jako u double testu se v případě přítomnosti volné podjednotky  $\beta$ -hCG zvyšuje míra detekce o 5 %, přičemž s přítomností celé molekuly se detekce pohybuje mezi 60 – 65 % při 5 % falešné pozitivitě. (Belošovičová, Calda, 2012)

### **Quadruple test**

Quadruple test stanovuje riziko výskytu trizomie 18 a 21 na základě vyšetření markerů AFP, hCG, volného E3, inhibinu A, a zohlednění věku pacientky. I v případě quadruple testu je nutné brát v potaz rozdílnost detekce na základě přítomnosti volné podjednotky  $\beta$ -hCG, kdy je o 5 % vyšší, než za přítomnosti celé molekuly, kdy se míra detekce pohybuje mezi 55 – 60 %, a to při 5 % falešně pozitivních případech. (Belošovičová, Calda, 2012)

## **2.5.3 Screeningové testy v prvním i ve druhém trimestru těhotenství**

### **Integrovaný test**

Integrovaný test je v současnosti ze všech testů nejvíce vyzdvihován vzhledem k vysokému procentu detekce a nízké hodnotě falešné positivity. Pomocí integrovaného testu se stanovuje riziko výskytu trizomií 13, 18, i 21. Test zahrnuje vyšetření markeru PAPP – A a ultrazvukového vyšetření šijového projasnění za období prvního trimestru a vyšetření markerů AFP, hCG, volného E3 a inhibinu A za trimestr druhý. (Belošovičová, Calda, 2012)

Nízké procento falešné positivity je v případě tohoto vyšetření nespornou výhodou, ale je zapotřebí brát v potaz podmínku, že se po vyšetření, které probíhá v první trimestru, nebude na případnou pozitivitu reagovat invazivní diagnostikou s navazující karyotypizací, ale vyčká se na výsledek screeningu biochemických markerů v druhém trimestru. Tento aspekt tak může být považován jako hlavní nevýhoda, jelikož ne všechny pacientky jsou ochotné vyčkat. (Belošovičová, Calda, 2012)

Existuje i varianta integrovaného testu, a tou je takzvaný sérum integrovaný test, který se shoduje se základní podobou s tím rozdílem, že není prováděno ultrazvukové

vyšetření. Riziko výskytu všech trizomií se tak vypočítává na základě výsledků biochemického screeningu za první i druhý trimestr a věku těhotné pacientky. Míra detekce dosahuje při 5 % falešné pozitivitě až 86 %. (Belošovičová, Calda, 2012)

### **Sekvenční test**

Sekvenční test se dělí na dvě části, a to na kombinovaný test prováděný v prvním trimestru, a na biochemický screening prováděný ve druhém trimestru. Riziko výskytu všech trizomií je tedy vyhodnocováno na základě věku pacientky, stanovení biochemických markerů PAPP – A, free  $\beta$ -hCG a vyšetření nuchální translucence v rámci ultrazvukového vyšetření v prvním trimestru, a stanovení biochemických markerů AFP, inhibinu A, volného E3 a hCG v trimestru druhém. (Belošovičová, Calda, 2012)

Sekvenční test se od toho integrovaného odlišuje v tom, že se kombinovaný test v prvním trimestru vyhodnocuje buď jako pozitivní, nebo negativní, a v případě jeho pozitivitě se přistupuje k invazivní metodě vyšetření a následnému vyšetření karyotypu. V případě negativitě se standardně provádí screening v rámci druhého trimestru a zpravidla probíhá komplexní vyhodnocení obou druhů screeningu. (Belošovičová, Calda, 2012)

### **3 Cíl práce**

Výzkumná část této bakalářské práce se zabývá výskytem vrozených vývojových vad u narozených dětí. K tvorbě statistiky bylo vybráno 20 těhotných pacientek z gynekologicko – porodnické kliniky v pražském Podolí, u jejichž narozených potomků byla diagnostikována vrozená vývojová vada, a to konkrétně některá z chromozomálních aberací. Užitečným kritériem pro snazší vyhledávání pacientek s patologickým průběhem těhotenství byly především patologické hodnoty biochemického a UZ screeningu provedeného v rámci prenatální diagnostiky.

Cílem bakalářské práce je tvorba souhrnné statistiky tří nejčastějších vrozených vývojových vad zaznamenaných během výzkumu a její porovnání s oficiální národní statistikou výskytu vrozených vývojových vad.



## 4 Metodika práce

### 4.1 Biochemický screening VVV

Biochemický screening je založen na principu monitorování biochemických látek, jejichž produkce je spjata se změnami v organismu ženy v průběhu těhotenství. Produkce těchto látek je zprostředkována fetoplacentární jednotkou. Sledování hladiny těchto specifických látek může přispívat buď ke zhodnocení zdravotního stavu těhotné pacientky, nebo samotného plodu. Pro vyšetření nejčastějších chromozomálních aberací se tyto testy provádí jak v prvním, tak i ve druhém trimestru těhotenství, je však nutné podotknout, že analyzované markery nenesou funkci přímé detekce anomálií, ale pouze vyjadřují míru rizika jejich výskytu. (Polák et al., 2017)

V laboratorní praxi běžně probíhá analýza šesti biochemických látek, a to AFP, hCG, free  $\beta$ -hCG, PAPP-A, uE3 a inhibinu A, přičemž se každá z nich vyznačuje různou mírou citlivosti pro detekci nejčastějších aneuploidií. (Polák et al., 2017)

Nedílnou součástí biochemického screeningu tvoří anamnéza a ultrazvukové vyšetření. Jelikož jsou výsledky biochemického screeningu posuzovány komplexně, je nezbytné, aby žádanka s požadavkem na biochemické vyšetření zahrnovala i výsledky z ultrazvukového vyšetření pacientky a některé z anamnestických údajů. (obr. 1).

Veškeré údaje a výsledky jsou pak základem pro výpočet pravděpodobnosti výskytu vrozené vývojové vady. Hranici hodnot mezi negativitou a pozitivitou si určuje sama laboratoř a míru pravděpodobnosti vyjadřuje například hodnotou 1:100. Pokud je například jako hranice positivity stanovena hodnota 1:50, bude výsledek 1:100 považován jako negativní, zatímco výsledek 1:25 jako pozitivní.

#### 4.1.1 Anamnéza

Veškeré anamnestické údaje hrají podstatnou roli v získání důležitých informací, díky kterým lze uceleně posoudit jakékoliv aspekty, který by mohly nést negativní vliv na celkový průběh gravidity, samotného porodu, nebo dokonce zásadním způsobem ovlivnit zdraví či život pacientky a plodu. (Binder, 2011)

V rámci rodinné anamnézy se lékaři zaměřují na výskyt geneticky podmíněných chorob či jiných závažných onemocnění (například diabetes mellitus). (Binder, 2011)

Osobní anamnéza zohledňuje přítomnost dlouhodobých chorobných stavů, infekčních nemocí, prodělané operativní zákroky, případné závislosti, užívané medikamenty nebo výskyt alergií. (Binder, 2011)

Porodní a gynekologická anamnéza sleduje například menstruační cyklus, užívání antikoncepčních přípravků, předchozí těhotenství a charakter jejich průběhu včetně případných komplikací. (Binder, 2011)

Anamnéza současných onemocnění vypovídá informace o případných chorobných stavech, které pacientku doprovází během aktuálního těhotenství. (Binder, 2011)

#### **4.1.2 Ultrazvukové parametry**

Ultrazvukové vyšetření přispívá v rámci prenatalního screeningu získáním několika důležitých markerů, které jsou později zohledňovány společně s anamnézou a výsledky biochemického screeningu. Těmito markery jsou CRL (crown rump length), tedy stanovení temeno-kostrční vzdálenosti, jejíž hodnota se v období 11. – 14. týdne gravidity fyziologicky pohybuje mezi 45 – 84 mm. Tento marker je považován jako zásadní parametr pro odhad rizika jakýchkoliv anomálií plodu jak v prvním, tak i ve druhém trimestru. (Sonek et al., © 2012; Polák et al., 2017)

Dalším základním markerem je NT (nuchální translucence), tedy hodnota šířkového projasnění plodu, která se stanovuje v prvním trimestru. Výsledky se s ohledem na potřeby vyhodnocení kombinovaného testu převádí na mediány. Všeobecně se riziko výskytu chromozomální abnormality úměrně zvyšuje se zvětšující se šířkou. (Sonek et al., © 2012; Polák et al., 2017)

Důležitým aspektem při UZ vyšetření je přítomnost nosní kůstky, tedy marker zvaný NB (nasal bone). Pokud během screeningu v období mezi 11. – 14. týdnem těhotenství nosní kůstka chybí, existuje mnohem vyšší pravděpodobnost, že bude plod postižen geneticky podmíněnou vadou. (Sonek et al., © 2012; Polák et al., 2017)

V rámci vyšetření biometrických parametrů v průběhu druhého trimestru se měří například BPD (biparietal diameter), což je parametr, který udává biparietální průměr hlavy plodu. (Sonek et al., © 2012; Polák et al., 2017)

#### **4.2 Vyšetření biochemických markerů v laboratorní praxi**

Převážná část vzorků určených k diagnostice biochemických markerů pochází ze spolupracující laboratoře GENNET, s.r.o., další část tvoří vzorky od praktických lékařů a z Ústavu pro péči o matku a dítě v pražském Podolí.

Vyšetření biochemických markerů probíhá na biochemickém analyzátoru Cobas e601 (obr. 2), u nekonjugovaného estriolu na analyzátoru UniCel DxI 800 (obr. 3).

Požadovaným materiálem, který je zpracováván, je převážně krevní sérum, u některých markerů to je plazma. (Synlab czech s.r.o., 2018a; Synlab czech s.r.o., 2017)

Markery jsou z mateřského séra nebo plazmy analyzovány elektrochemiluminiscenční metodou. Tato imunoanalytická metoda je modifikovanou verzí chemiluminiscence, kdy je luminiscence generována chemickými reakcemi s tím rozdílem, že jsou tyto reakce iniciovány elektrochemicky. (Synlab czech s.r.o., 2018a)

V případě analyzátoru Cobas e601 je využit sendvičový princip imunoanalytického stanovení. V průběhu inkubace spolu nejdříve reagují biotinylovaná monoklonální protilátka stanovovaného analytu s monoklonální protilátkou stanovovaného analytu, značená rutheniovým komplexem a tvoří tak sendvičový komplex. V druhé fázi inkubace se přidávají mikročástice potažené streptavidinem a komplex vzniklý v předešlém kroku se tak váže na pevnou fázi v důsledku interakce mezi biotinem a streptavidinem. V měřicí komůrce, kam je reakční směs nasáta, jsou mikročástice zachyceny magnetickým polem na povrchu elektrody, zatímco nenavázané složky odstraňuje roztok ProCell. Následně je přivedeným napětím vyvolána chemiluminiscenční emise fotonů, kterou měří fotonásobič. V závěru jsou výsledky hodnoceny z kalibrační křivky. (Synlab czech s.r.o., 2018f)

Stanovení nekonjugovaného estriolu oproti ostatním markerům probíhá na analyzátoru UniCel DxI 800 a jeho principem je kompetitivní imunoenzymatická analýza. Vzorek je v reakční kyvetě smíchán s konjugátem estriolu s alkalickou fosfatázou a paramagnetickými částicemi, které jsou potažené kozí záchytnou protilátkou proti králičím imunoglobulinům a polyklonální králičí protilátkou proti estriolu. Ve vzorku tak estriol soutěží s konjugátem estriolu s alkalickou fosfatázou o vazebná místa na omezené množství specifické protilátky proti estriolu. Vzniklé komplexy se vážou na záchytnou protilátku na pevné fázi. Při následné inkubaci se nenavázané látky odstraňují pomocí separace v magnetickém poli a promytím. V závěrečném kroku je do reakční kyvety aplikován chemiluminiscenční substrát a světlo generované reakcí je měřeno luminometrem. Výsledné množství analytu je opět stanoveno na základě kalibrační křivky. (Synlab czech s.r.o., 2018g)

Vzorky není zapotřebí před vyšetřením nijak upravovat, jen je důležité, aby u nich byla před měřením zachována pokojová teplota, jelikož v důsledku zvýšené teploty může dojít k jejich inaktivaci. V některých případech je také třeba zvýšené pozornosti na stav materiálu, a to konkrétně u hemolytických vzorků. (Synlab czech s.r.o., 2018a; Synlab czech s.r.o., 2017)

Výsledky získané z analyzátoru jsou kontrolovány pro případné neočekávané hodnoty. V případě jakýchkoliv nesrovnalostí se analýza opakuje a provádí se kontrola korelace výsledků s údaji na žádance, v krajních případech dochází i na konzultaci s ošetřujícím lékařem. Naopak, za ideálních podmínek jsou výsledky zaslány zpět laboratoři GENNET, s.r.o., praktickým lékařům a do Ústavu pro péči o matku a dítě v Podolí. Lékaři provádí závěrečné výpočty, indikují rozšířenější diagnostiku a věnují se další péči o těhotné pacientky.

### ***4.3 Biochemický screening v prvním trimestru těhotenství***

#### ***4.3.1 Celkové hCG / free $\beta$ -hCG (lidský choriongonadotropin)***

Tvorba tohoto glykoproteinu je zajištěna syncytiotrofoblastem placenty. Lidský choriongonadotropin se v lidském organismu vyskytuje nejen jako celistvá molekula, ale i jako volná podjednotka. Zásadní úlohou hCG je stimulace funkce žlutého tělíska. (Polák et al., 2017)

Hodnoty hCG se zvyšují v případě postižení plodu trizomií 21, opačný efekt vyvolává přítomnost trizomií 18 a 13, kdy bývají hladiny nižší. Pokud se jedná o pacientku, která podstoupila jakýkoliv druh asistované reprodukce, je zapotřebí počítat s tím, že hodnoty hCG bývají vyšší. Vyšetření hladiny lidského gonadotropinu se provádí jak v prvním, tak i ve druhém trimestru. (Polák et al., 2017)

Za standartních podmínek se ve vybrané laboratorní praxi stanovuje samostatná free  $\beta$ -hCG v rámci prvotrimestrálního screeningu, zatímco celkové hCG společně s  $\beta$  podjednotkou je formou stanovovanou pomocí biochemického screeningu v průběhu druhého trimestru. Vyšetřovaným materiálem je v případě samostatné podjednotky sérum - totožně, jako u kombinovaného stanovení s tím rozdílem, že u kombinovaného stanovení lze využít i plazmu s různými antiagregačními činidly, jako například citrát sodný, heparin, fluorid sodný, K<sub>3</sub>EDTA či Na<sub>2</sub>EDTA, aj. (Synlab czech s.r.o., 2018d; Synlab czech s.r.o., 2018e)

#### ***4.3.2 PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein A)***

Jedná se o glykoprotein, který je během těhotenství produkován placentou, avšak jeho funkce nebyla zcela definována. Spekulace hovoří o účasti při regulaci fetoplacentárního růstu, v období mimo těhotenství je spojen s hojivými procesy nebo opětovným tvarováním kostní tkáně. (Polák et al., 2017)

Při existenci chromozomální anomálie bývají jeho hladiny nižší, přičemž markantní snížení může být varovným signálem pro vysoké riziko potratu. Ovlivnění výsledků metodami asistované reprodukce je obdobné jako u hCG, v případě PAPP-A ovšem záleží i na konkrétním způsobu, který byl k fertilizaci využit, hodnoty tak mohou být ovlivněny jak směrem ke spodní, tak i k horní hranici. (Polák et al., 2017)

Analyzovaným materiálem je mateřské sérum odebrané ve standardní odběrové soupravě nebo v soupravě se separačním gelem. (Synlab czech s.r.o., 2018f)

#### ***4.4 Biochemický screening ve druhém trimestru těhotenství***

##### ***4.4.1 AFP (alfa – 1 – fetoprotein)***

Produkce tohoto onkofetálního proteinu je zprostředkována žloutkovým váčkem a játry samotného plodu. AFP lze strukturou a funkcí připodobnit albuminu. Jeho úloha nespočívá pouze v odhalování rizika výskytu chromozomálních anomálií, ale ve spojení s ultrazvukovou diagnostikou ho lze také využít jako marker detekce poškození neurální trubice a různých druhů malformací plodu. (Polák et al., 2017)

Přítomnost chromozomálních aberací, konkrétně trizomií 21, 18 a 13, naznačují abnormálně snížené hodnoty AFP, naopak vyšší hodnoty se objevují například u různých defektů, malformací, nebo i v případě úmrtí plodu. S vyššími hodnotami je nutné počítat v případě metod asistované reprodukce. (Polák et al., 2017)

AFP je analyzován ze séra v klasické soupravě nebo v soupravě se separačním gelem, dále i z plazmy v K3EDTA, citrátu sodném, nebo heparinizované plazmy. (Synlab czech s.r.o., 2018c)

##### ***4.4.2 uE3 (nekonjugovaný estriol)***

Nekonjugovaný estriol nespadá svým charakterem jako jediný z vyšetřovaných látek pod skupinu proteinů, ale jedná se o steroidní hormon, a zároveň o nejmenší molekulu ze všech zmiňovaných biochemických markerů. Vzniká ve fetálních nadledvinách, játrech a placentě, kde se tvoří v rámci metabolismu cholesterolu. Některé zdroje uvádí, že napomáhá změkčovat děložní čípek před samotným porodem a podílí se na procesu přípravy mléčné žlázy před nástupem laktace. (Polák et al., 2017)

Potenciální riziko výskytu Downova, Edwardsova i Patauova syndromu značí snížené hodnoty, jako je tomu i u AFP, ale z pohledu míry citlivosti ve vztahu k detekci Downova syndromu je estriol považován za spolehlivější marker. Lehce snížené hladiny

jsou očekávané u těhotenství vzniklých za pomoci asistované reprodukce. (Polák et al., 2017)

Ke stanovení volného estriolu se využívá nehemolyzovaného séra. (Synlab czech s.r.o., 2018g)

#### ***4.5 Lékařské postupy v případě patologického nálezu***

Na základě posouzení výsledků komplexního prenatalního screeningu se odvíjí charakter následné péče o těhotnou pacientku. Pokud se během vyšetření odhalí zvýšené riziko výskytu jakékoliv vývojové anomálie plodu, následuje konzultace s lékařem – genetikem, který by měl doporučit nejvhodnější postup s ohledem na celkový stav pacientky, plodu a průběh těhotenství. Nejčastější volbou v případě pozitivity předchozího screeningu je invazivní vyšetření, a to zpravidla odběr choriových klků sloužící k následným molekulárně-cytogenetickým analýzám chromozomových aberací. K tomuto vyšetření se však přistupuje v časnějších fázích těhotenství.

##### ***4.5.1 Základní cytogenetické vyšetření chromozomů***

Analýza chromozomálních defektů a chromozomů samotných dnes spadá pod základní náplň cytogenetických laboratoří. Historie vývoje metod zabývajícími se analýzou genetického materiálu však nesáhá nijak daleko, jelikož k dostatečně kvalitní vizualizaci chromozomů je zapotřebí především kvalitně zpracovaného buněčného preparátu, čehož bylo dosaženo až na počátku 2. poloviny 20. století, kdy bylo zpočátku úspěchem stanovit konkrétní počet chromozomů v karyotypu. Prvotně používané techniky barvení neumožňovaly diferencovat jednotlivé chromozomy, ale sloužily alespoň k jejich rozdělení v rámci 7 tříd, přičemž dělicím kritériem byla jejich velikost a přibližná poloha centromer. (Hatina, Sykes, 1999)

Základním principem pro vyšetření chromozomů je rozdílnost v jejich struktuře, která se mění v závislosti na probíhající fázi buněčného cyklu. Chromozomy obsahující jadernou DNA zaujímají podstatnou část buněčného cyklu tzv. nezkondenzovanou formu, až v průběhu metafáze během buněčného dělení se stávají pro většinu cytogenetických analýz pozorovatelnými, jelikož nabývají hustší a kompaktnější formy. (Primrose, Twyman, 2003)

Důležitou strukturální jednotku, jež spadá pod analyzované struktury chromozomů, tvoří chromatin – jaderná hmota tvořená DNA a proteiny. Chromatin existuje v jádře ve dvou podobách, a to jako euchromatin, který se při barvení zobrazuje světle, zatímco

heterochromatin tmavě, a to na základě rozdílnosti transkripční aktivity. (Primrose, Twyman, 2003)

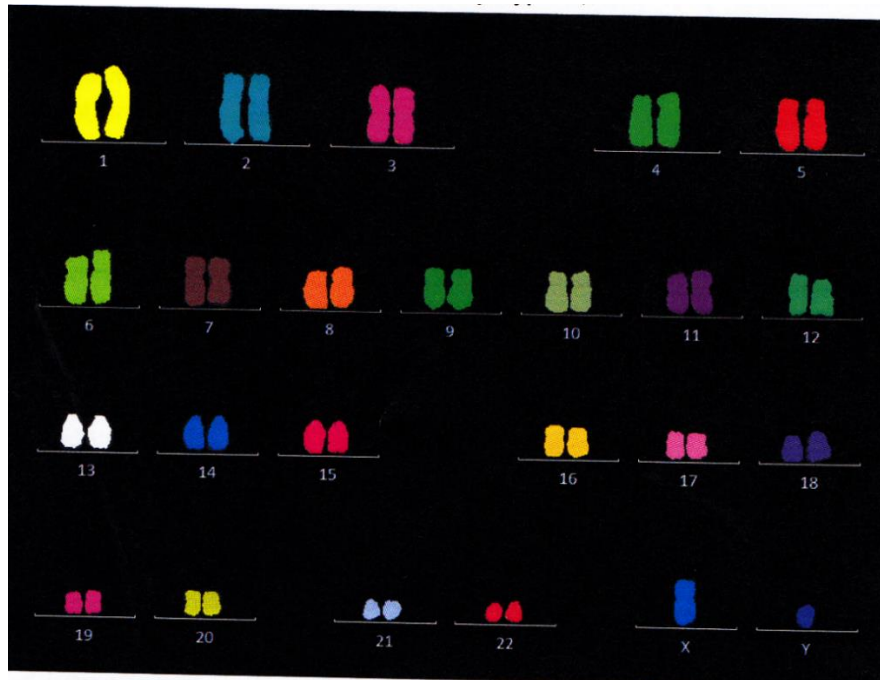
Možnost stanovení a rozdělení jednotlivých chromozomů přinesla až technika proužkování, tzv. chromosome banding. Tato metoda totiž umožnila vizualizaci oblastí uvnitř chromozomů, které se do té doby barvily jednotně. V praxi se můžeme setkat se čtyřmi základními systémy proužkování. Q-banding je vhodným systémem pro vizualizaci Y-chromozomu a využívá chinakrinu, což je fluroescenční barvivo. Pro C-, G-, a R-banding je společným bodem využití Giemsova barvení, ale odlišnost spočívá v přípravě vzorků vyšetřovaných chromozomů. C- banding se využívá k detekci centromer. G-banding (obr. 4) se využívá nejčastěji pro svou přednost ve vizualizaci nejjemnější struktury proužků a předchází mu aplikace trypsinu ke vzorku chromozomů. R-banding využívá techniky, při níž jsou chromozomy ošetřeny teplým fyziologickým roztokem, a v závěru poskytuje výsledek obdobný G-banding technice, ale v reverzní poloze světlých a tmavých proužků. (Hatina, Sykes, 1999)

#### **4.5.2 Fluorescenční *in situ* hybridizace (mFISH)**

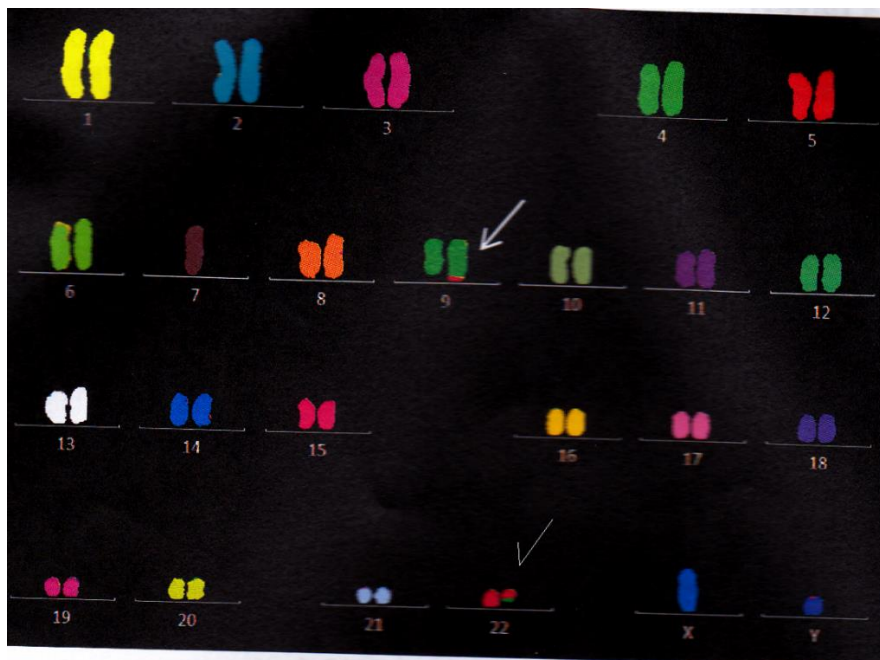
Pro vyšetření karyotypu, které je prováděno pomocí mnohobarevné fluorescenční *in situ* hybridizace, je zapotřebí buněk dělících se v procesu metafáze. (Synlab czech s.r.o., 2018b)

Využívá se neradioaktivně značených DNA sond, u kterých probíhá hybridizace k daným úsekům DNA chromozomů fixovaných k podložnímu sklíčku, a to na základě vzájemné komplementarity. Sondy jsou značené pomocí několika flurochromů. Samotnou hybridizací a následnou detekcí vzniká mnohobarevný obraz, který je za pomoci fluorescenčního mikroskopu snímán CCD (Charged-coupled device) kamerou, pro kterou je charakteristická její vysoká citlivost a přítomnost několika optických filtrů, jenž se vyznačují úzkým spektrem odpovídajícím použitým flurochromům. (Synlab czech s.r.o., 2018b)

Obraz je nadále zpracován speciálním softwarem, který proměřuje intenzitu fluorescenčních signálů vycházejících od jednotlivých chromozomů. Na základě této analýzy jsou homologním párům přiřazeny klasifikační barvy, pomocí nichž je možné chromozomy rozdělit na autozomy a gonozomy (obr. 5; obr. 6), což umožňuje karyotypizaci dle ISCN nomenklatury. (Synlab czech s.r.o., 2018b)



Obr. 5 – Fyziologický karyotyp  
(Synlab czech s.r.o., 2018b)

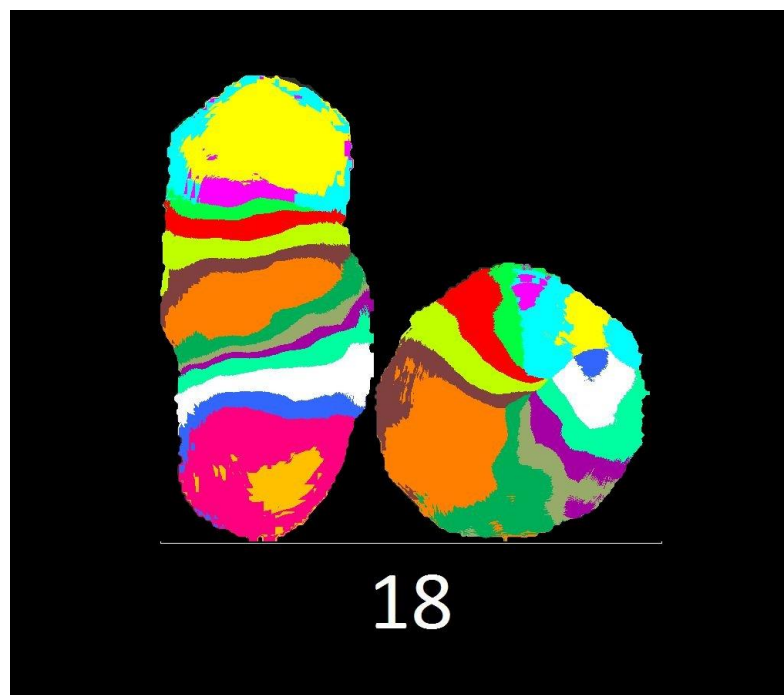


Obr. 6 – Aberantní karyotyp  
(Synlab czech s.r.o., 2018b)



### 4.5.3 Metoda mnohobarevného pruhování (mBAND)

Princip této metody spočívá ve využití parciálních sond, komplementárních k variabilně rozsáhlým překrývajícím se úsekům DNA analyzovaného chromozomu. Tyto sondy jsou též značeny pěti flurochromy. Po hybridizaci dochází v důsledku částečného překryvu fluorescenčních signálů jednotlivých sond k souvislým změnám v intenzitě signálů všech fluorochromů podél analyzovaných chromozomů. Za pomoci analýzy intenzity těchto signálů přiřazuje počítačový software ke konkrétním chromozomálním oblastem různé klasifikační barvy. Výsledkem je specifický obraz sledovaného chromozomu s mnohobarevnými pruhy (obr. 7). (Synlab czech s.r.o., 2018b)



Obr. 7 – Výsledný obraz techniky mBAND

(Zdroj: MetaSystems Group, Inc., 2017)

Tato analýza není limitována konkrétním stupněm kondenzace chromozomů a je adekvátním způsobem analýzy rozsahu chromozomálních aberací, a to zejména delecí a inverzí. Dále umožňuje mapovat zlomová místa v rámci komplexních přestaveb chromozomální výbavy. (Synlab czech s.r.o., 2018b)

### 4.6 Statistiky výskytu VVV v ČR dle ÚZIS ČR

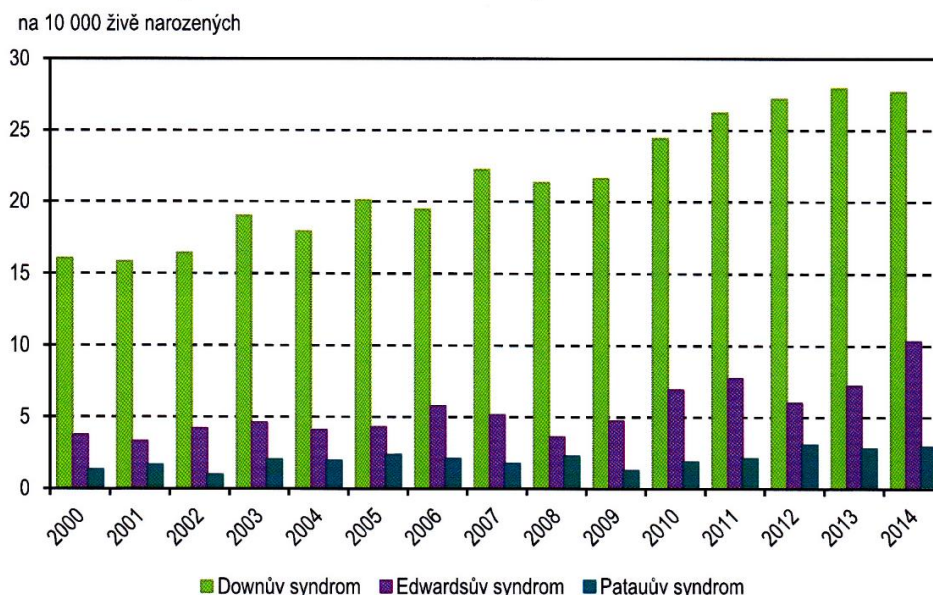
Dle publikace ÚZIS ČR o vrozených vadách v ČR, která je zaměřena na období 2013 – 2014, lze získat stručný přehled o statistice narozených s VVV za léta 2013 – 2014, a zároveň nechybí přehledné srovnání i se statistikou z minulých let. Vše je uspořádáno v

přehledných tabulkách a grafech, které jsou systematicky seřazeny a rozděleny na základě posuzovaných aspektů, a to například druhu VVV, pohlaví narozených jedinců, věku rodičky, a jiných kritérií. (ÚZIS ČR, © 2017)

Při tvorbě statistiky a jejím posuzování je nutné zohlednit fakt, že během procesu sestavování statistiky docházelo k různým změnám metodiky hlášení VVV dotýčným registrům. Například do roku 1993 probíhala hlášení pouze některých diagnóz, zatímco od roku 1994 se již hlásí všechny diagnostikované VVV. Právě z těchto důvodů je zapotřebí posuzovat diagnózy jednotlivě, nebo se v posuzování zaměřit pouze na období výskytu VVV, během kterého nenastala žádná změna v metodice hlášení či v celkové šířce spektra sledovaných diagnóz. (ÚZIS ČR, © 2017)

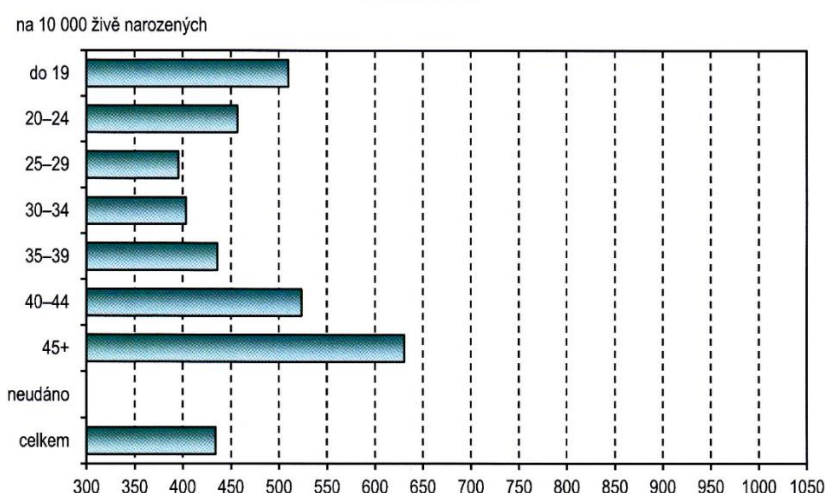
Dle závěrečného souhrnu MUDr. Šípka k celkové incidenci chromozomálních aberací, a to především k výskytu nejčastějších trizomií (obr. 8), je patrné, že riziko těchto anomálií se zvyšuje společně s narůstajícím věkem rodiček, přičemž celková statistika výskytu VVV ve vztahu k věku rodiček je též zohledněna v přehledném grafu (obr. 9). Zvyšující se incidence těchto VVV je přisuzována právě vyššímu počtu rodiček nad 35 let věku a zvyšujícímu se věku rodiček všeobecně, což dokládá fakt, že v roce 2014 byl zaznamenán nadpoloviční počet rodičích pacientek starších 30 let. (ÚZIS ČR, © 2017)

**Graf XVI. Výskyt Downova, Edwardsova a Patauova syndromu mezi živě narozenými, ČR, 2000–2014**



Obr. 8 – Graf incidence nejčastějších trizomií  
(ÚZIS ČR, © 2017)

#### 4. Živě narození s vrozenou vadou podle věku matky, v roce 2013



Obr. 9 - Graf narozených s VVV podle věku rodičky (ÚZIS ČR, © 2017)

Komplexní statistika výskytu nejčastějších chromozomálních aberací od roku 2000 do roku 2013 v absolutních hodnotách je znázorněna v souhrnné tabulce (obr. 10; obr. 11).

Z celkového shrnutí je patrné, že nejčastěji diagnostikovanou chromozomální aberací je Downův syndrom, dále syndrom Edwardsův, jež je diagnostikován jen v několika případech častěji než syndrom Turnerův. (ÚZIS ČR, © 2017)

#### 2.1 Vývoj vybraných vrozených vad u živě narozených dětí - absolutně

Kód dg. VV	Druh vrozené vady	2000 <sup>1)</sup>	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Q90	Downův syndrom	58	54	35	58	43	49	47
Q91.0-3	Edwardsův syndrom	9	7	8	7	2	3	9
Q91.4-7	Patauův syndrom	6	5	3	2	2	-	1
Q96	Turnerův syndrom a jeho varianty	4	7	1	3	8	11	4

Obr. 10 – Tabulka vývoje vrozených vad v letech 2000 – 2010 (ÚZIS ČR, © 2017)

#### 2.1 Vývoj vybraných vrozených vad u živě narozených dětí - absolutně

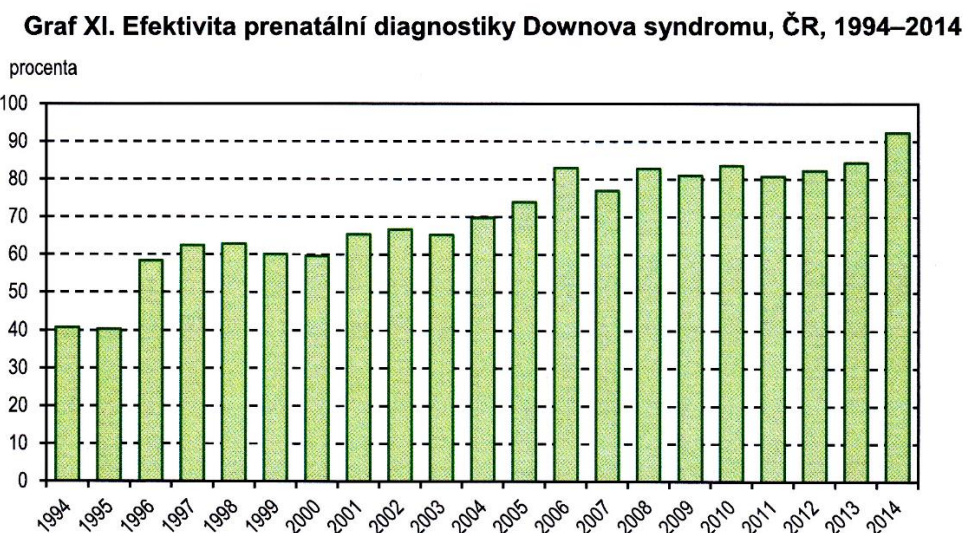
2011	2012	2013				Druh vrozené vady	Kód dg. VV
		celkem	chlapci	dívky	neurč. pohlaví		
55	50	46	28	18	-	Downův syndrom	Q90
8	7	2	1	1	-	Edwardsův syndrom	Q91.0-3
1	1	3	2	1	-	Patauův syndrom	Q91.4-7
1	4	9	x	9	-	Turnerův syndrom	Q96

Obr. 11 – Tabulka vývoje vrozených vad v letech 2011 – 2013 (ÚZIS ČR, © 2017)

#### 4.7 Statistika efektivity prenatalní diagnostiky v ČR dle ÚZIS ČR

Část statistik publikace ÚZIS ČR „Vrozené vady u narozených v roce 2013 – 2014“ se věnuje také výslednému vlivu prenatalní diagnostiky v ČR. Dle primáře oddělení lékařské genetiky v Thomayerově nemocnici, MUDr. Gregora, významně roste vliv prenatalní diagnostiky ve vztahu k výslednému počtu zaznamenaných VVV. Zásadní podíl na tom nese přesun diagnostiky do raných fází gravidity, což přispívá jak k rozsáhlejšímu záchytu aberací, tak k možnosti přistoupit k invazivním diagnostickým metodám mnohem dříve. V rámci statistik se sleduje jak vývoj neinvazivní, tak invazivní prenatalní diagnostiky. (ÚZIS ČR, © 2017)

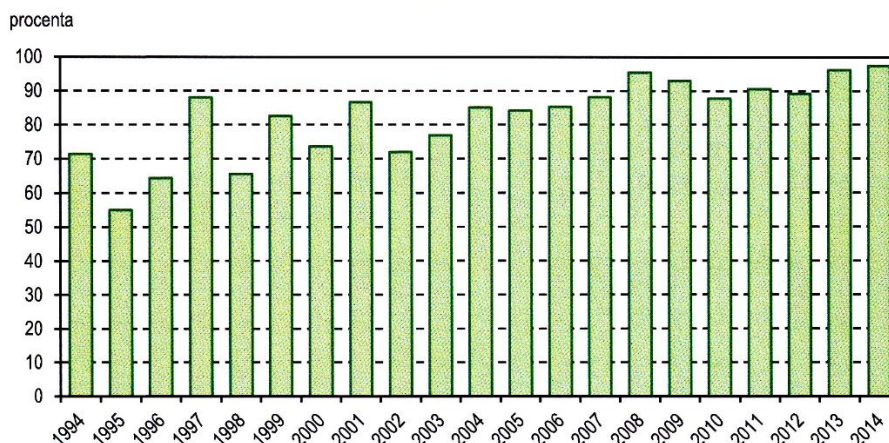
Ve statistických grafech je věnována pozornost především efektivitě záchytu Downova syndromu (obr. 12). (ÚZIS ČR, © 2017)



Obr. 12 - Graf efektivity prenatalní diagnostiky u Downova syndromu (ÚZIS ČR, © 2017)

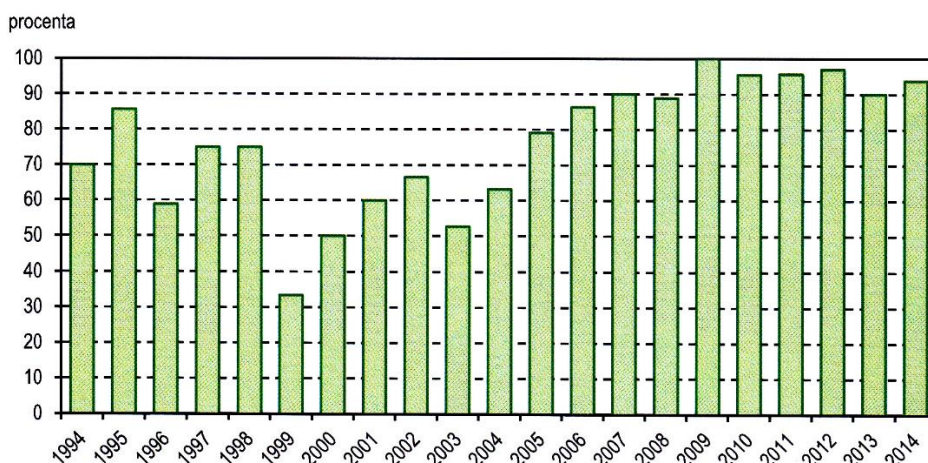
Dále je efektivita prenatalní diagnostiky sledována i u ostatních trizomií, tedy u Edwardsova syndromu (obr. 13) a u Patauova syndromu (obr. 14). (ÚZIS ČR, © 2017)

**Graf XII. Efektivita prenatalní diagnostiky Edwardsova syndromu, ČR, 1994–2014**



Obr. 13 - Graf efektivity prenatalní diagnostiky u Edwardsova syndromu (ÚZIS ČR, © 2017)

**Graf XIII. Efektivita prenatalní diagnostiky Patauova syndromu, ČR, 1994–2014**

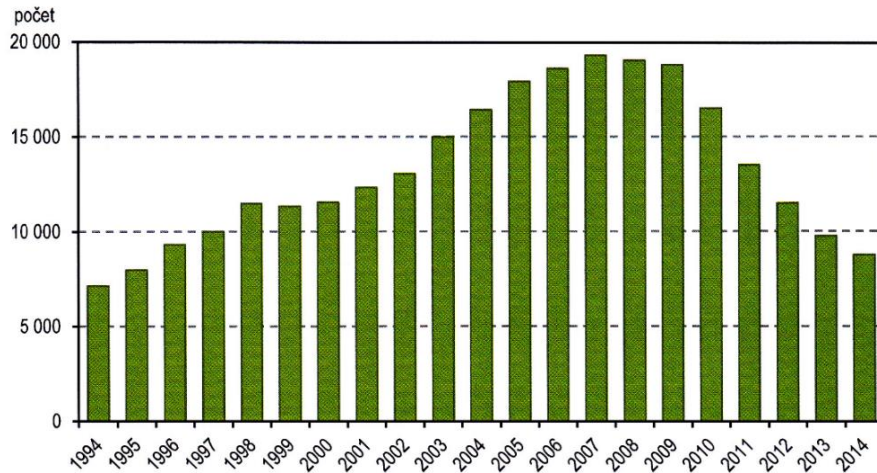


Obr. 14 - Graf efektivity prenatalní diagnostiky u Patauova syndromu (ÚZIS ČR, © 2017)

Ze souhrnných statistik je zřetelné, že se efektivita prenatalní diagnostiky zvyšuje napříč všemi zmiňovanými aberacemi, přičemž nejvyšší záchyt je zaznamenán u Downova syndromu. Nezanedbatelný podíl na tom nesou komplexní změny screeningových programů v ČR. Důraz je přitom kladen na časnější diagnostiku VVV, tedy využívání diagnostiky v rámci prvního trimestru, díky čemuž dochází k poklesu počtu provedených invazivních diagnostických zákroků, nebo alespoň k možnosti využít časnější invazivní metody s nízkým rizikem následných komplikací. (ÚZIS ČR, © 2017)

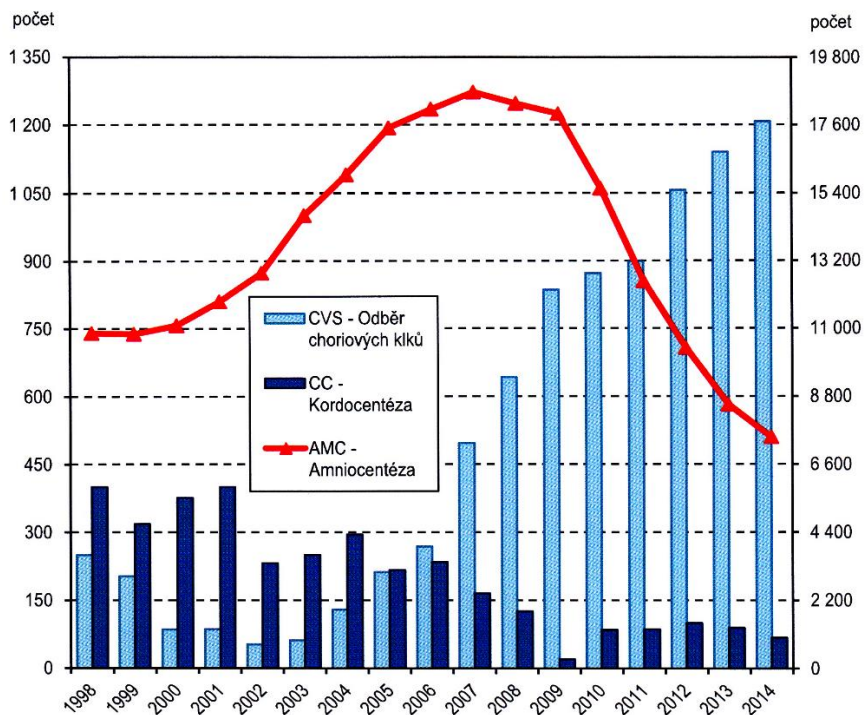
Vývoj invazivní diagnostiky je také součástí zpracované statistiky (obr. 15), kdy se ÚZIS ČR zaměřuje i na četnost jednotlivých invazivních metod (obr. 16). (ÚZIS ČR, © 2017)

**Graf I. Vývoj počtu provedené invazivní prenatální diagnostiky vrozených vad v ČR, 1994–2014**



Obr. 15 - Graf vývoje počtu invazivní prenatální diagnostiky (ÚZIS ČR, © 2017)

**Graf III. Vývoj prenatální diagnostiky vrozených vad v ČR, 1998–2014**

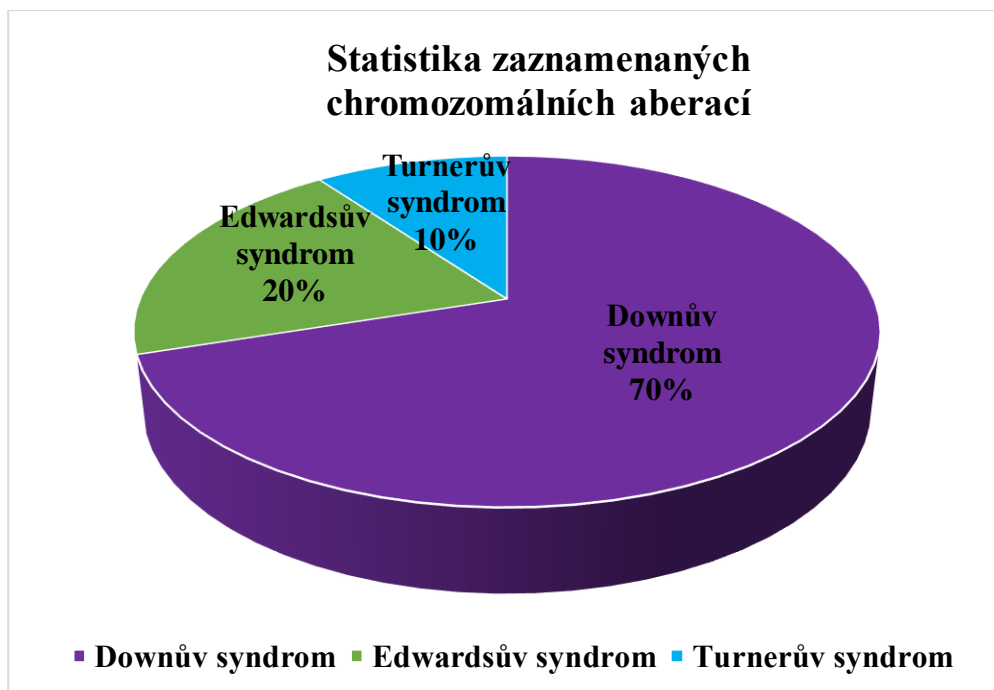


Obr. 16 - Graf vývoje invazivní prenatální diagnostiky (ÚZIS ČR, © 2017)

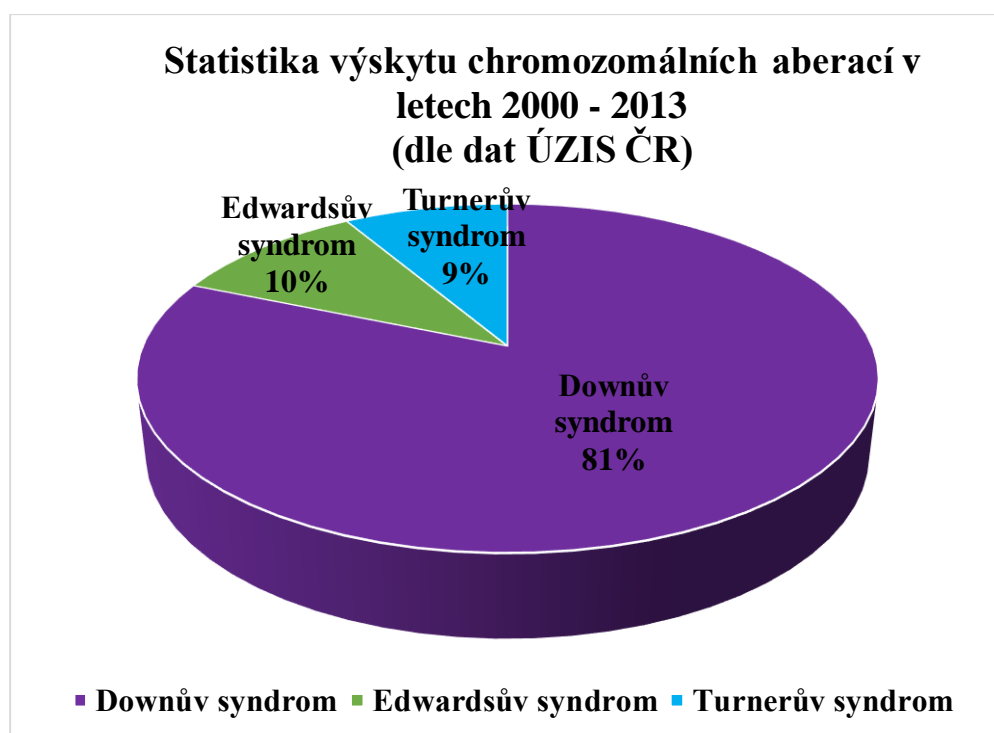
## 5 Vyhodnocení výsledků

Tabulka č. 1 – Přehled diagnostikovaných chromozomálních aberací u jednotlivých pacientek

Pacientka	Věk	Cytogenetický nález	Diagnóza
č. 1	28	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 2	31	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 3	34	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 4	42	genetické vyš. odmítnuto	Downův syndrom
č. 5	19	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 6	29	monozomie chromozomu X	Turnerův syndrom
č. 7	37	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 8	32	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 9	38	trizomie 18. chromozomu	Edwardsův syndrom
č. 10	21	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 11	35	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 12	34	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 13	22	trizomie 18. chromozomu	Edwardsův syndrom
č. 14	39	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 15	30	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 16	41	trizomie 18. chromozomu	Edwardsův syndrom
č. 17	32	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 18	36	trizomie 21. chromozomu	Downův syndrom
č. 19	37	trizomie 18. chromozomu	Edwardsův syndrom
č. 20	43	monozomie chromozomu X	Turnerův syndrom

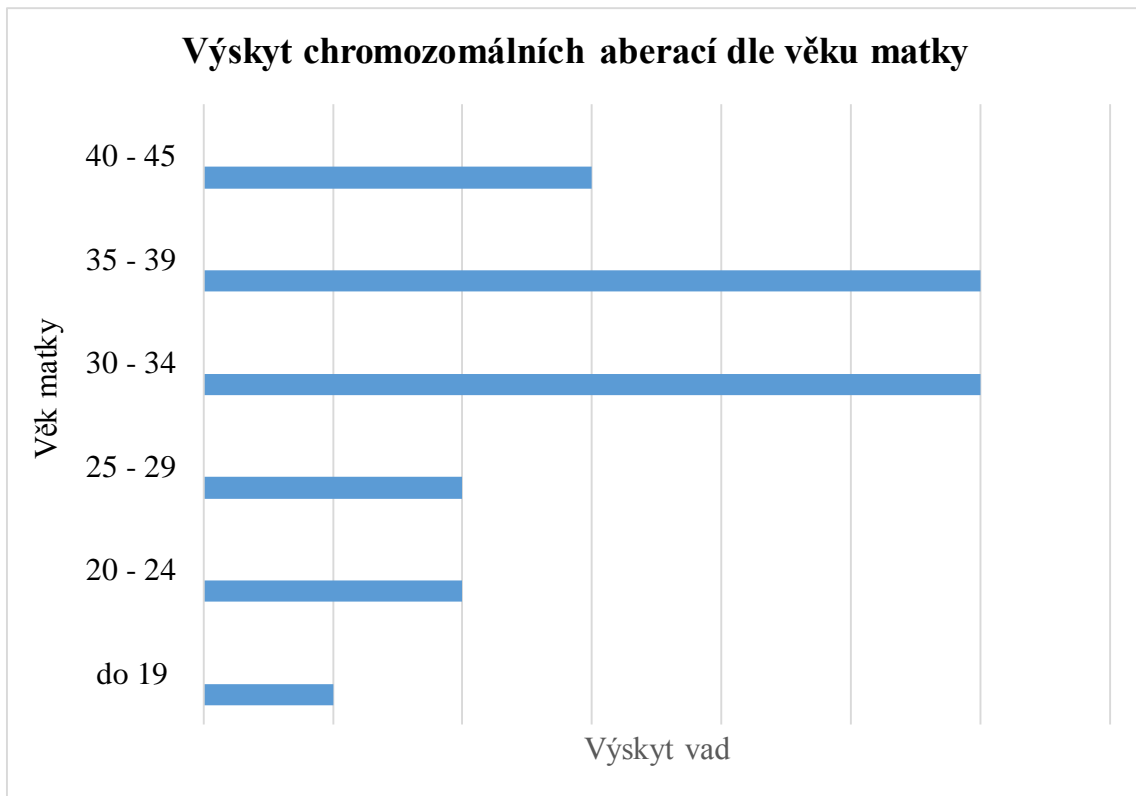


Obr. 17 - Graf statistiky zaznamenaných chromozomálních aberací



Obr. 18 - Graf statistiky výskytu chromozomálních aberací v letech 2000-2013

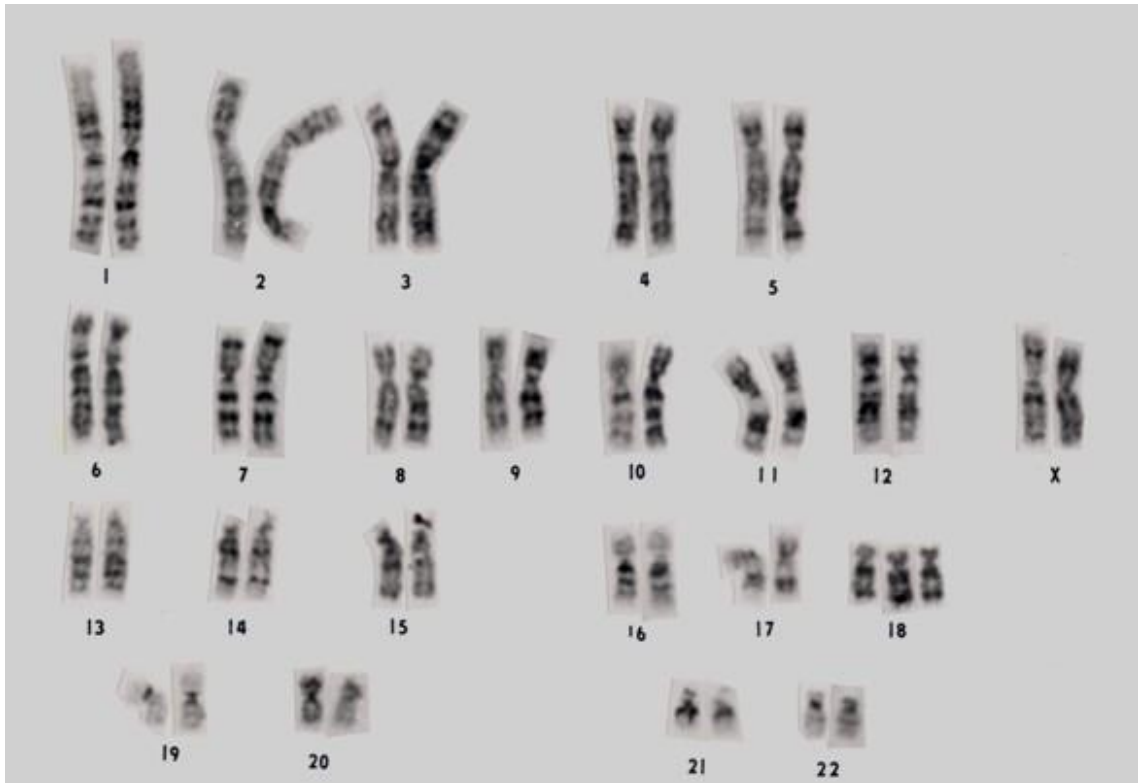




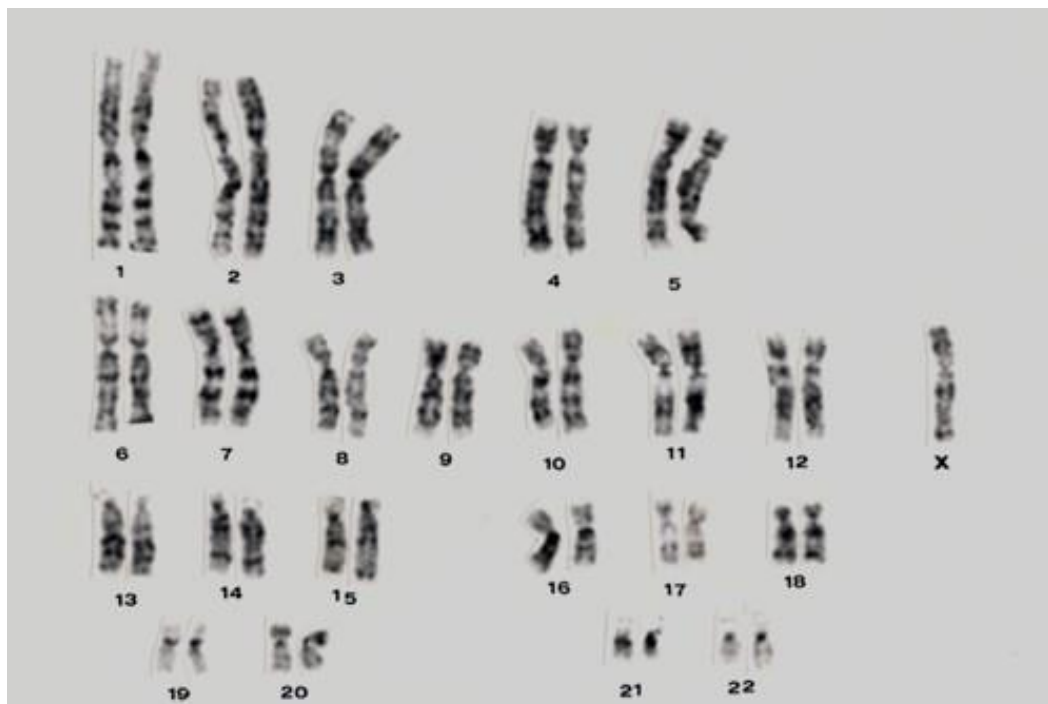
Obr. 19 - Graf výskytu chromozomálních aberací dle věku matky



Obr. 20 – Cytogenetický nález trizomie 21. chromozomu – Downův syndrom (archiv Ústavu biologie a lékařské genetiky VFN)



Obr. 21 - Cytogenetický nález trizómie 18. chromozomu – Edwardsův syndrom (archiv Ústavu biologie a lékařské genetiky VFN)



Obr. 22 - Cytogenetický nález monozómie chromozomu X – Turnerův syndrom (archiv Ústavu biologie a lékařské genetiky VFN)

## 6 Diskuze

Primárním cílem této práce byl sběr dat zaměřený na vrozené vývojové vady, a to konkrétně na chromozomální aberace diagnostikované u narozených potomků. Tento sběr dat probíhal v Ústavu biologie a lékařské genetiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy. Na základě těchto dat byla utvořena souhrnná statistika výskytu tří nejčastějších chromozomálních aberací.

Získaná data a výsledné statistiky byly následně využity ke komparativním účelům, které se zakládaly na porovnání statistiky dat získaných z vlastní laboratorní praxe a oficiální statistiky výskytu VVV vytvořené ÚZIS ČR.

Výzkumný soubor tvořilo 20 pacientek s jejich narozenými potomky, jejichž diagnostika proběhla v Ústavu biologie a lékařské genetiky Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, nebo v Ústavu péče o matku a dítě v pražském Podolí, ve věku od 19 – 43 let. Vzhledem k nižšímu počtu pacientek bylo snahou zaznamenat diagnostikované případy chromozomálních aberací chronologicky, nikoliv náhodně – tedy tak, aby následné statistiky nabývaly očekávané autenticity. Do souhrnné statistiky byly zahrnuty případy aberací diagnostikovaných v letech 2000 – 2013, přičemž bylo v mém zájmu se co nejvíce přiblížit kritériím statistik zpracovaných ÚZIS ČR, kterým jsem se věnovala v kapitole 4.6.

V rámci laboratorní praxe bylo zjištěno, že nejčastěji diagnostikovanou chromozomální aberací byl Downův syndrom, který byl zaznamenán u 70 % narozených potomků. Druhou nejčastěji se vyskytující chromozomální aberací byl Edwardsův syndrom, diagnostikovaný u 20 % narozených a třetí příčku v četnosti výskytu zaujal Turnerův syndrom, jenž postihl 10 % narozených potomků.

Z těchto dat vyplývá, že výzkum potvrdil data zaznamenaná ÚZIS ČR v letech 2000 – 2013, a to z pohledu pořadí nejčastějších chromozomálních aberací, které se naprosto shoduje, zatímco procentuální zastoupení diagnostikovaných aberací se mírně odchyluje, jelikož dle ÚZIS ČR byl v letech 2000 – 2013 zaznamenán výskyt Downova syndromu v 81 % případů, Edwardsův syndrom u 10 % diagnostikovaných a Turnerův u 9 % postižených chromozomální aberací. Směrodatné bylo i porovnání věkových skupin pacientek, které byly nejvíce zatíženy výskytem VVV. Na základě vyhodnocení ÚZIS ČR to byla skupina 45 let a starší, v rámci vlastní laboratorní praxe to byly nejčastěji skupiny ve věku 30 – 34 let a 35 – 39 let.

Veškeré odchylky přisuzují nízkému počtu pacientek, které byly do statistiky zahrnuty, jelikož v porovnání s celonárodní statistikou ÚZIS ČR bylo předem pravděpodobné, že u některých věkových skupin nebude zaznamenán jediný zástupce, což se nepotvrdilo a každá věková skupina, zahrnutá do statistik, tak měla své zastoupení.

## 7 Závěr

Tématem této bakalářské práce byly vrozené vývojové vady. V rámci teoretické části bylo všeobecně specifikováno jejich dělení na základě různých kritérií, přičemž další část byla zaměřena na chromozomální aberace. Závěr teoretické části byl věnován prenatální diagnostice, a to především jejímu členění a druhům.

Jelikož byla práce zaměřena na vyšetření VVV v rámci biochemického screeningu, tak se metodická část věnovala konkrétním screeningovým programům v rámci prenatální diagnostiky. Blíže byly specifikovány postupy a členění biochemického screeningu, funkce konkrétních biochemických markerů a jejich způsob a princip vyšetření. Byla zdůrazněna nutnost pohlížet na screeningové programy jako na komplexní vyšetření, která vyhodnocují pouze míru rizika, nikoliv přítomnost samotných VVV. Ve snaze přiblížit postupy, které následují v případě vyhodnocení vyšší míry rizika výskytu VVV, byla věnována pozornost i několika druhům cytogenetických vyšetření, která bývají naopak zásadním nástrojem pro detekci chromozomálních anomálií.

V závěrečné části metodiky byly shrnuty statistiky ÚZIS ČR v letech 2000 – 2013, na jejichž základě bylo vyhodnoceno, že nejčastější chromozomálními aberacemi za toto období byly trizomie 21 – tedy Downův syndrom, dále trizomie 18 – tedy syndrom Edwardsův a, jako třetí nejčastější, monozomie chromozomu X – tedy Turnerův syndrom. Tato statistika byla potvrzena na základě tvorby statistiky z vlastní laboratorní praxe, kdy bylo potvrzeno pořadí a procentuální zastoupení se pouze mírně lišilo. Fakt, že výskyt VVV je přisuzován stále se zvyšujícímu věku těhotných pacientek, byl podpořen výsledky získanými během praxe, jelikož průměrný věk pacientek, u jejichž potomků byla diagnostikována chromozomální aberace, byl 33 let, přičemž je známo, že riziko výskytu se významně zvyšuje překročením věkové hranice 35 let.

Tato práce tak podává přehlednou statistiku nejčastějších VVV se zaměřením na chromozomální aberace, a zároveň apeluje na zásadní úlohu prenatální diagnostiky, jelikož čím časněji je odhaleno zvýšené riziko anomálie, tím více následných diagnostických možností je pro pacientku dostupných. Anomálie je tak případně odhalena a specifikována brzy, a i přes nepřívětivou situaci je tak možné zabránit komplikacím, které mohou mít závažný dopad na samotné zdraví a psychiku. Dále je třeba brát v potaz i dopady týkající se sociální či ekonomické situace těhotné pacientky, které by se v poměru se zdravím mohly jevit jako nepodstatné, avšak v reálném životě jsou dost důležitým aspektem, ovlivňujícím jak zdraví, tak i samotnou psychiku.

## 8 Citovaná literatura

1. BELOŠOVIČOVÁ, H., CALDA, P, 2012. Screening Downova syndromu v prvním, druhém, nebo obou trimestrech? *Aktuální gynekologie a porodnictví* [online]. Roč. 4, s. 14 – 21. [cit. 2018-01-14].  
Dostupné z: [http://www.actualgyn.com/pdf/cz\\_2012\\_67.pdf](http://www.actualgyn.com/pdf/cz_2012_67.pdf)
2. BINDER, Tomáš, 2011. Porodnictví. 1. vyd. Praha: Karolinum. 297 s. ISBN 978-80-246-1907-1
3. CALDA, P, 2005. Ultrazvukové vyšetření v graviditě. *Medicína pro praxi* [online]. Roč. 3, s. 117 – 119. [cit. 2018-01-14].  
Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2005/03/08.pdf>
4. CALDA, P, 2012a. Ultrazvuková diagnostika v gynekologicko – porodnické praxi. *Moderní gynekologie a porodnictví*, Roč. 21, č. 4, s. 358 – 424. [cit. 2018-01-14]. ISSN 1211- 1058
5. CALDA, P., BŘEŠŤÁK, M, 2012b. Doporučený postup k provádění rutinního ultrazvukového vyšetření v těhotenství. *Aktuální gynekologie a porodnictví* [online]. Roč. 4, s. 22 – 30. [cit. 2018-01-14]. ISSN 1803-9588  
Dostupné z: [http://www.actualgyn.com/pdf/en\\_2012\\_68.pdf](http://www.actualgyn.com/pdf/en_2012_68.pdf)
6. Gate-2-biotech: vše o českých biologických technologiích na jednom místě, © 2006 – 2018. *Primární prevence vývojových vad* [online]. JAIP. [cit. 2018-01-14].  
Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/primarni-prevence-vyvojovych-vad/>
7. HÁJEK, Z, 2004. Rizikové a patologické těhotenství. Vydání 1. české. Praha: Grada. 443 s. ISBN 80-247-0418-8
8. HÁJEK, Z., ČECH, E., MARŠÁL, K, 2014. Porodnictví: 3., zcela přepracované a doplněné vydání. 3., zcela přepracované a doplněné vydání (v tiráži 1. vyd.). Praha: Grada. XXIII, 538 s. ISBN 978-80-247-4529-9
9. HATINA, Jiří, SYKES, Brian D, 1999. Lékařská genetika: problémy a přístupy. Praha: Academia. 296 s. ISBN 80-200-0700-8
10. JEŽOVÁ, M. aj, 2013. *Fetopatologie a vývojová patologie embrya a plodu* [online]. [cit. 2018-01-08]. Dostupné z: [http://atlases.muni.cz/atlases/feto/atl\\_cz/pvhot.html](http://atlases.muni.cz/atlases/feto/atl_cz/pvhot.html)

11. LOUCKÝ, J. aj, 2015. Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. Roč. 23, č. 44, s. 27 – 30. [cit. 2018-].  
Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2015/2015-1/KBM-1-2015-dop-vvv-27.pdf>
12. MAČÁK, J. a kol, 2012. *Patologie*. 2. vyd. Praha: Grada. 347 s. ISBN 978-80-247-3530-6
13. MAŘÍKOVÁ, Taťána, SEEMANOVÁ, Eva, 2013. *Klinická genetika: praktické aplikace*. 1. vyd. Praha: Karolinum. 59 s. ISBN 978-80-246-2318-4
14. *National Down Syndrome Society*, © 2018. [online]. [cit. 2018-01-08]. Dostupné z: <https://www.ndss.org/about-down-syndrome/down-syndrome/>
15. POLÁK, P., LOUCKÝ, J., TOMEK, V, 2017. *Prenatální diagnostika vrozených vývojových vad*. Praha: Maxdorf. 288 s. ISBN 978-80-7345-499-9
16. PRIMROSE, S. B., TWYMAN, Richard M, 2003. *Principles of genome analysis and genomics*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing. VIII, 263 s. ISBN 1-40510-120-2
17. *PUBS – odběr pupečnickové krve*, © 2018. [online]. GENNET. [cit. 2018-02-01].  
Dostupné z: <https://www.gennet.cz/pubs-odber-pupecnikove-krve>
18. RUTAROVÁ, Jana, 2008. Preimplantační genetická diagnostika: přínosy, rizika. *Časopis lékařů českých*. Roč. 147, č. 11, s. 589-590. ISSN 0008-7335
19. SADLER, T. W., 1995. *Langman's medical embryology*. 7th ed. Baltimore [etc.]: Williams and Wilkins. XI, 460 s. ISBN 0-683-07489-X
20. SADLER, T. W., 2011. *Langmanova lékařská embryologie*. 1. české vyd. Praha: Grada. XVIII, 414 s. ISBN 978-80-247-2640-3
21. SELIKOWITZ, Mark, 2011. *Downův syndrom: definice a příčiny, vývoj dítěte, výchova a vzdělání, dospělost*. Vyd. 2. Praha: Portál. 197 s. ISBN 978-80-7367-882-1
22. SONEK, J. D., NICOLAIDES, K. H., JANKU, P, 2012. *Česká gynekologie* [online]. Screening at 11 – 13<sup>+6</sup> weeks' gestation. 77, č. 2, s. 92-104. [cit. 2018-01-14].  
Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/ceska-gynekologie-clanek/screening-v-11-13-6-tydnu-tehotenstvi-37579>
23. SYNLAB CZECH S.R.O., 2017. PI.PJ/BIO 07 – interní dokument. *Pracovní instrukce pro práci na UniCel Dxl 800*.

- 24.SYNLAB CZECH S.R.O., 2018a. PI.PJ/BIO 06 - interní dokument. *Pracovní instrukce pro práci na Cobas e601.*
- 25.SYNLAB CZECH S.R.O., 2018b. SOP A.PCE/GEN 06 - interní dokument. *Molekulárně-cytogenetická analýza chromozomových aberací metodou mnohobarevné fluorescenční in situ hybridizace (mFISH) a mnohobarevného pruhování s vysokou rozlišovací schopností (mBAND).*
- 26.SYNLAB CZECH S.R.O., 2018c. SOP A.PCE/GEN 62 - interní dokument. *AFP (Alfa-1-fetoprotein).*
- 27.SYNLAB CZECH S.R.O., 2018d. SOP A.PCE/GEN 63 - interní dokument. *Volná  $\beta$ -hCG podjednotka (free  $\beta$ -hCG).*
- 28.SYNLAB CZECH S.R.O., 2018e. SOP A.PCE/GEN 64 - interní dokument. *Celkové hCG +  $\beta$  podjednotka (hCG +  $\beta$ ).*
- 29.SYNLAB CZECH S.R.O., 2018f. SOP A.PCE/GEN 65 - interní dokument. *PAPP A.*
- 30.SYNLAB CZECH S.R.O., 2018g. SOP A.PCE/GEN 66 - interní dokument. *Estriol volný ( $uE_3$ ).*
- 31.ŠÍPEK, A. aj, © 2008 - 2018. *Vrozené vady* [online]. [cit. 2018-01-08]. Dostupné z: <http://www.vrozene-vady.cz/>
- 32.ŠÍPEK, Antonín, © 2010 - 2014. *Genetika – biologie* [online]. [cit. 2018-01-08]. Dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/>
- 33.ŠÍPEK, A. aj, 2012. Cytogenetické varianty v klinické pediatrické praxi: přehledové články. *Pediatric pro praxi* [online]. Roč. 13, č. 6, 398 – 400 s. [cit. 2018-01-14]. Dostupné z: <https://pediatriepropraxi.cz/pdfs/ped/2012/06/10.pdf>
- 34.ŠÍPEK, A., GREGOR, V. aj, 2013. Primární prevence vrozených vad a úloha kyseliny listové. *Aktuální gynekologie a porodnictví* [online]. Roč. 5, 47 – 51 s. [cit. 2018-01-04]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: [http://www.actualgyn.com/pdf/cz\\_2013\\_103.pdf](http://www.actualgyn.com/pdf/cz_2013_103.pdf)
- 35.ŠÍPEK, A. aj, 2013. Prevalence vybraných vrozených vad v České republice: vývojové vady ledvin, srdce a vrozené chromozomové aberace. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*. Roč. 62, č. 3, s. 112 – 128. ISSN 1210-7913
- 36.ŠTEFÁNEK, J, © 2011. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF* [online]. [cit. 2018-01-14]. Dostupné z: <http://www.stefajir.cz/>
- 37.ÚZIS ČR, © 2017. *Vrozené vady narozených v roce 2013 – 2014*. 140 s. ISSN 1801-4798



## **9 Seznam obrázků a příloh**

### **9.1 Přílohy**

1. Příloha 1: Žádanka pro biochemický screening s odebraným vzorkem séra
2. Příloha 2: Analyzátor Cobas e601
3. Příloha 3: Analyzátor UniCel Dxl 800
4. Příloha 4: Metoda G–pruhování chromozomů

### **9.2 Obrázky**

1. Obrázek 1: Žádanka pro biochemický screening s odebraným vzorkem séra
2. Obrázek 2: Analyzátor Cobas e601
3. Obrázek 3: Analyzátor UniCel Dxl 800
4. Obrázek 4: Metoda G-pruhování chromozomů
5. Obrázek 5: Fyziologický karyotyp
6. Obrázek 6: Aberantní karyotyp
7. Obrázek 7: Výsledný obraz techniky mBAND
8. Obrázek 8: Graf incidence nejčastějších chromozomálních aberací
9. Obrázek 9: Graf narozených s VVV podle věku rodičky
10. Obrázek 10: Tabulka vývoje vrozených vad v letech 2000 – 2010
11. Obrázek 11: Tabulka vývoje vrozených vad v letech 2011 - 2013
12. Obrázek 12: Graf efektivity prenatalní diagnostiky u Downova syndromu
13. Obrázek 13: Graf efektivity prenatalní diagnostiky u Edwardsova syndromu
14. Obrázek 14: Graf efektivity prenatalní diagnostiky u Patauova syndromu
15. Obrázek 15: Graf vývoje počtu invazivní prenatalní diagnostiky
16. Obrázek 16: Graf vývoje invazivní prenatalní diagnostiky
17. Obrázek 17: Graf statistiky zaznamenaných chromozomálních aberací
18. Obrázek 18: Graf statistiky výskytu chromozomálních aberací v letech 2000 - 2013
19. Obrázek 19: Graf výskytu chromozomálních aberací dle věku matky
20. Obrázek 20: Cytogenetický nálezn trizomie 21. chromozomu – Downův syndrom
21. Obrázek 21: Cytogenetický nálezn trizomie 18. chromozomu – Edwardsův syndrom
22. Obrázek 22: Cytogenetický nálezn monozomie chromozomu X – Turnerův syndrom

### **9.3 Tabulky**

1. Tabulka 1: Přehled diagnostikovaných chromozomálních aberací u jednotlivých pacientek

## Seznam použitých zkratk

AFP	- alfa - 1 - fetoprotein
AMC	- aminocentéza
CCD	- zařízení s vázanými náboji (charged-coupled device)
CRL	- temeno-kostrční délka (crown-rump length)
CVS	- odběr choriových klků (chorion villi sampling)
DNA	- deoxyribonukleová kyselina
E <sub>3</sub>	- nekonjugovaný estriol
FISH	- fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
FSH	- folikuly stimulující hormon
hCG	- choriový gonadotropin
ISCN	- International system for cytogenetic nomenclature
IVF	- <i>in vitro</i> fertilizace
K <sub>3</sub> EDTA	- tri-draselná sůl kyseliny etylen-diamin-tetraoctové
KDC	- kordocentéza
PAPP – A	- plazmatický protein A
PCR	- polymerázová řetězová reakce
RTG	- rentgen
UZ	- ultrazvuk
ÚZIS ČR	- Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR
VFN	- Všeobecná fakultní nemocnice v Praze
VVV	- vrozené vývojové vady

## Přílohy

Příloha 1: Obrázek 1: Žádanka pro biochemický screening s odebraným vzorkem séra

Pojišťovna	IČZ 07-161-000	laboratoř Synlab s.r.o. Kostelní 9 17000 Praha 7 - Letná
	Odbornost 603	
<b>Screening ve II. trim. + integrovaný test</b>		
Pacient		podpis a razítko lékaře
Rodné číslo		<b>GENNET, s.r.o.</b> (23) Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny Ambulance lékařské genetiky (208) Kostelní 9, 170 00 Praha 7 Tel: 222 313 000
Datum nar.	PM 6.7.2017	07 199 001
Diagnóza	Z369	
zpráva	Anamnéza	Požadavek
Počet plodů: 1 UZ provedl(a) Externí sonografista dne 3.11.2017 Optimum pro odběr v II. trim. od 22.10.2017 do 5.11.2017. <i>6.10.2017</i> <i>CRL 74,5 = 13+1</i> <i>LT 1,78</i> <i>PROVEDENO V NĚMČICKU</i>	<input type="checkbox"/> IDM <input type="checkbox"/> ART <input type="checkbox"/> Kuřačka Odběr dne: <i>3.11.2017</i> Hmotnost: <i>70,5</i> Kg	<input checked="" type="checkbox"/> AFP <input checked="" type="checkbox"/> hCG <input checked="" type="checkbox"/> uE3 <input type="checkbox"/> INH-A
zařízení GENNET, s.r.o. Praha	<i>KARTÁ</i>	<b>GENNET</b>
	<i>7-7</i>	

Zdroj: vlastní foto

Příloha 2: Obrázek 2: Analyzátor Cobas e601



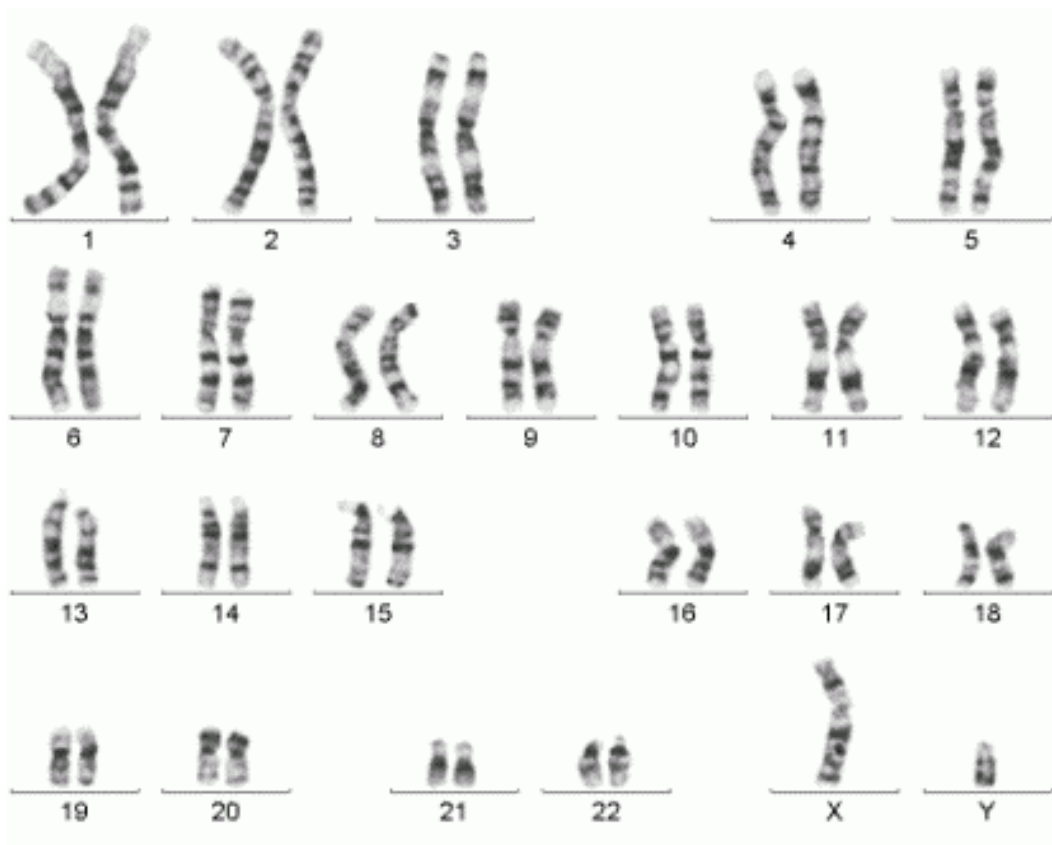
Zdroj: vlastní foto

Příloha 3: Obrázek 3: Analyzátor UniCel Dxl 800



Zdroj: <http://www.beckmancoulter.com>

Příloha 4: Obrázek 4: Metoda G-pruhování chromozomů



Zdroj: <http://www.biologie-lfhk.cz>