

# Prenatální screening vrozených vývojových vad plodu a biochemická diagnostika

## Obsah:

---

1.	Úvod.....	2
2.	Předpoklady pro správné provádění screeningu VVV .....	4
3.	Základní terminologie.....	6
4.	Současné možnosti provádění screeningu VVV .....	6
4.1	Screening v 1. trimestru těhotenství .....	7
4.2	Screening v 2. trimestru těhotenství.....	11
5.	Biochemické markery ve screeningu vrozených vývojových vad.....	12
6.	Ultrazvukové markery ve screeningu vrozených vývojových vad.....	15
7.	Vyhodnocení rizika a faktory ovlivňující výsledky screeningu .....	17
8.	Invazivní výkony a genetická diagnostika .....	18
9.	Neinvazivní diagnostika .....	21

---

---

# 1. Úvod

Z pohledu klinické biochemie je těhotenství obdobím, kdy dochází v organismu ženy k mnoha změnám, které můžeme monitorovat prostřednictvím různých biochemických testů. V současné době existují doporučené postupy, podle kterých by žena v těhotenství měla být vyšetřována. Základním cílem těchto vyšetření je průběžné sledování zdravotního stavu těhotné ženy a také predikce možných zdravotních komplikací, a to jak u ženy, tak u plodu. K těmto prediktivním vyšetřením se řadí také screening některých vrozených vývojových vad. V celosvětovém měřítku se narodí zhruba 6 % dětí, které jsou postiženy nějakou formou vrozené vývojové vady. Téměř polovina těchto narozených dětí se dožívá méně než pěti let života a velká většina přeživších má takovou formu postižení, která velmi výrazně ovlivňuje kvalitu jejich života. Zhruba pouze jedna čtvrtina dětí s vrozenou vývojovou vadou není v průběhu dalšího života nijak výrazně zdravotně a sociálně omezována. Nejčastěji se vyskytujícími vrozenými vadami jsou kongenitální srdeční defekty, defekty neurální trubice, globinová genetická onemocnění a Downův syndrom (trizomie 21. chromozomu), který je nejčastější chromozomální abnormalitou plodu. Prevalence tohoto onemocnění v populaci je zhruba jedno postižené dítě na 800 těhotenství. K dalším chromozomálními abnormalitám patří trizomie 18. chromozomu (Edwardsův syndrom) a trizomie 13. chromozomu (Patauův syndrom). Tyto dva syndromy mají prevalenci při narození zhruba 1 : 6000, resp. 1 : 10 000. Prevalence těchto tří aneuploidii je v časných stádiích těhotenství vyšší, ale zejména v průběhu 1. trimestru část těchto těhotenství spontánně odumírá. Pravděpodobnost výskytu těhotenství s chromozomální abnormalitou je závislá také na věku matky (tabulka 1).

**Tabulka 1 Riziko trizomie 21 nebo jiné chromozomální abnormality v době porodu**

Věk matky v době početí (let)	Trizomie 21	Další chromozomální abnormality
20	1/1480	1/525
25	1/1350	1/475
30	1/940	1/384
35	1/353	1/178
40	1/85	1/62
45	1/30	1/18

Tato skutečnost byla dříve důvodem, proč se nastávajícím matkám starším 35 let nabízelo provedení invazivního zákroku s cílem získat buňky plodu k po-

---

---

souzení jeho genetické výbavy. První invazivní procedurou byl odběr plodové vody (amniocentéza – AMC), který se začal používat v sedmdesátých letech. V osmdesátých letech byly prokázány nižší sérové hladiny AFP u těhotenství nesoucích plod s Downovým syndromem. V té době se už vyšších hladin AFP využívalo jako biochemického markeru ke stanovení rizika otevřených defektů neurální trubice. Rutinně se výpočet rizika přítomnosti trizomie 21, na základě hladiny AFP a věku matky, začal používat v roce 1987. O rok později byl do praxe uveden triple test, který vyhodnocoval riziko Downova syndromu u plodu na základě kombinace hladin tří biochemických markerů, AFP, HCG, uE3 a věku matky. Čtvrtým biochemickým parametrem, který se začal ve screeningu Downova syndromu používat ve druhé polovině devadesátých let, byl inhibin A. Všechny tyto biochemické látky se vyšetřují ve druhém trimestru těhotenství. V devadesátých letech bylo zjištěno, že těhotenství s Downovým syndromem, oproti normálním těhotenstvím, vykazují zvýšené hladiny free  $\beta$  HCG a naopak snížené hladiny PAPP-A v prvním trimestru. V téže době bylo prokázáno, že u plodů s trizomií 21. chromozomu dochází k výraznější koncentraci tekutiny v oblasti šíje. Tento parametr byl označen jako nuchální translucence (NT) a v roce 1996 byl začleněn spolu s PAPP-A, free  $\beta$  HCG a věkem matky do **tzv. kombinovaného testu**. Koncem devadesátých let bylo poprvé stanovení rizika provedeno na základě parametrů měřených jak v prvním, tak ve druhém trimestru těhotenství, formou **tzv. integrovaného testu**. V následujících letech bylo popsáno také několik dalších ultrazvukových parametrů, které jsou využitelné při vyhodnocování a zpřesňování rizik přítomnosti nejčastějších chromozomálních aberací. V roce 1997 byla publikována první práce prokazující výskyt malých fragmentů DNA plodu v krevním oběhu matky. Tento objev byl základem pro mnoho výzkumných prací, které byly v roce 2011 završeny uvedením prvního neinvazivního testu tří nejčastějších chromozomálních aberací. Tento test je, z hlediska vyhodnocení, založen na masivním paralelním sekvenování volných nukleových kyselin v krevním oběhu matky. V současné době (v roce 2012) tento typ testování nenahrazuje stávající diagnostické metody, ale získané výsledky ukazují výrazné zpřesnění současných screeningových postupů a jsou příslibem pro budoucnost. Jejich použití ve větším měřítku zatím brání vysoká technologická náročnost a také vysoká cena testu.

---

---

## 2. Předpoklady pro správné provádění screeningu VVV

Existuje několik způsobů hromadného testování populace. Patří mezi ně pozorování, monitorování a screening. Na rozdíl od prvních dvou uvedených je výstupem screeningu identifikace vysoce rizikových jednotlivců a snaha jim včas a účinně pomoci. Je třeba si také uvědomit, že screening pouze stanovuje riziko možnosti onemocnění a definitivní odpověď týkající se zkoumaného onemocnění dává až diagnostický test. Screening můžeme tedy definovat jako systematickou aplikaci testu či vyšetření, kterým se identifikují jedinci s jistým rizikem pro výskyt určité vady nebo onemocnění. Smyslem screeningu je, aby nebyla prováděna další vyšetření nebo přímé diagnostické testy u osob, u nichž k tomu z hlediska daného onemocnění neexistují žádné medicínské důvody. Správné provádění screeningových vyšetření by mělo splňovat několik základních požadavků. Tyto požadavky platí univerzálně pro jakýkoli screeningový program, a tedy také pro screening vrozených vývojových vad.

- Screening má smysl provádět jen u takových onemocnění nebo poruch, které jsou jasně definované.
  - V případě těchto onemocnění bychom měli dobře znát jejich prevalenci, což u chromozomálních aberací i otevřených defektů neurální trubice platí.
  - Je smysluplné, aby byl screening prováděn u medicínsky závažných onemocnění, pro které existuje efektivní způsob léčby nebo možnost jiného zásahu. V případě prenatalního screeningu je takovouto možností provedení invazivního výkonu, kterým může být buď odběr plodové vody (AMC), nebo odběr choriových klků (CVS). Následně se diagnostika onemocnění nejčastěji provádí buď postupy kulturační cytogenetiky, metodami QF PCR, nebo metodami FISH.
  - Z pohledu pacientů je třeba zajistit rovnocenný přístup k nabízeným screeningovým vyšetřením. V tomto ohledu většinou neexistuje problém z hlediska biochemických vyšetření, ale liší se dostupnost kvalitního ultrazvukového vyšetření.
  - Významnou roli při provádění screeningu hraje také ekonomická efektivita. V tomto případě se hodnotí nejen přímé náklady, spojené s vlastním testováním, ale také nákladnost všech následných procedur, které souvisejí s množstvím pozitivních výsledků screeningu. V širším slova smyslu
-

---

může být ekonomické hodnocení screeningu vrozených vývojových vad posuzováno také v souvislosti s počtem případů, které prošly screeninem a nebyly zachyceny. V tomto případě je třeba zvážit, nakolik lze vyčíslit hodnotu zdravotní péče věnované mnohdy velmi těžce postiženým jedincům, s infaustní prognózou onemocnění. K tomuto ekonomickému hodnocení se přidává ještě etický rozměr rozhodování budoucích rodičů v případě, že je u plodu zjištěna vrozená vývojová vada, která může, nebo také nemusí být slučitelná se životem.

- Dalším požadavkem na provádění screeningu je relativní jednoduchost a místní dostupnost vybavení, na kterém se jednotlivé součásti screeningového vyšetření provádějí. V případě biochemických vyšetření to v současné době již není problém, protože v každém regionu jsou laboratoře disponující odpovídajícím vybavením pro stanovení biochemických parametrů screeningu v 1. a 2. trimestru těhotenství. Tyto laboratoře by měly dodržovat požadavky, které vycházejí z doporučení odborné společnosti. Komplikovanější situace je u provádění ultrazvukových vyšetření, které by se měly soustřeďovat u vysoce erudovaných odborníků, splňujících požadavky FMF Londýn, eventuálně v České republice požadavky Ultrazvukové sekce ČGPS, a disponujících kvalitním ultrazvukovým přístrojem.
  - Screeningový protokol by se měl skládat z jednoduchých testů, což je v případě biochemických vyšetření splněno. Ultrazvuková vyšetření jsou v tomto ohledu mnohem komplikovanější, protože se jedná o vyšetření, jejichž kvalita je závislá na lidském faktoru, použitém přístroji a v neposlední řadě také na konkrétní vyšetřované těhotné ženě. V tomto případě je kladen velký důraz na skutečnost, aby sonografista prováděl dostatečný počet vyšetření a byla zajištěna dlouhodobá porovnatelnost výsledků.
  - Velmi důležitou charakteristikou používaných testů, a tím také celého screeningového protokolu, je znalost distribuce hodnot u postižených a nepostižených jedinců. Pro účely screeningu je třeba, aby překryv těchto hodnot byl dostatečně nízký. Aby screening plnil svůj účel, tzn. odlišoval jednotlivce s nízkým a vysokým rizikem, musíme umět definovat cut-off (hranici mezi pozitivními a negativními výsledky).
-

---

### 3. Základní terminologie

#### Screening vrožených vývojových vad plodu

Biochemické testy a ultrazvuková měření, použítá pro výpočet rizika nejčastějších chromozomálních aberací, trizomie 21. chromozomu (Downův syndrom), trizomie 18. chromozomu (Edwardsův syndrom), trizomie 13. chromozomu (Patauův syndrom) a otevřených defektů neurální trubice.

#### Vyjádření rizika

Číselné vyjádření pravděpodobnosti přítomnosti některé ze sledovaných vrožených vývojových vad. Zpravidla se vyjadřuje v poměru 1 : XXX a výpočet tohoto rizika se provádí pomocí počítačového programu. Tento výpočet zahrnuje jednak anamnestická data těhotné ženy, jednak data z měření biochemických a ultrazvukových parametrů.

#### Základní parametry screeningu

K posouzení efektivity screeningových modelů se používají následující parametry. Senzitivita screeningu (Detection rate) popisuje, s jakou procentuální pravděpodobností screening dané onemocnění nebo vadu zachytí. Falešná pozitivita (False positive rate) určuje, kolik procent výsledků má pozitivní závěr, přičemž plod není ve skutečnosti nijak postižen. Pravděpodobnost pozitivního výsledku s přítomností vrožené vývojové vady (OAPR) vyjadřuje poměr správně pozitivního výsledku ke všem pozitivním výsledkům získaným ve screeningovém procesu. Vztah mezi senzitivitou a falešnou pozitivitou lze vyjádřit pomocí ROC křivky, získané vyhodnocením dat z velkých populačních souborů.

### 4. Současné možnosti provádění screeningu VVV

Péče o těhotnou ženu z pohledu odhalování možných vrožených vývojových vad je založena na spolupráci více odborností a pro úspěšnost tohoto typu screeningu je nutné, aby jejich činnost byla vzájemně provázaná. V první řadě se tato péče odehrává v gynekologických ambulancích, kde by měla žena získat informaci o svém těhotenství a jeho délce. Ošetřující gynekolog by měl ženě vysvětlit, jaké jsou možnosti sledování jejího těhotenství, eventuálně nabídnout možnost provedení prvotrimestrálního screeningu, který zahrnuje jednak biochemické

---

---

vyšetření free  $\beta$  HCG, PAPP-A, jednak vyšetření sonografistou, disponujícím požadovaným průkazem kvality ze strany odborné společnosti. Vlastní hodnocení výsledku screeningu by měl provádět klinický genetik a tento výsledek by měla, prostřednictvím svého gynekologa, obdržet vyšetřovaná žena. Podrobné podmínky provádění biochemické části screeningu vrozených vývojových vad jsou popsány v doporučení odborné společnosti. Výtežnost jednotlivých screeningových testů je popsána v tabulce 2.

**Tabulka 2 Senzitivita screeningových testů pro Downův syndrom (při 5% pozitivitě)**

Měření NT	64–70
NT, PAPP-A, free $\beta$ -hCG (kombinovaný test)	82–87
Triple test (AFP, hCG, uE3)	69
Kvadruple test (AFP, hCG, uE3, inhibin A)	81
Integrovaný test (NT, PAPP-A, kvadruple test)	94–96
Sérum integrovaný (PAPP-A, kvadruple test)	85–88
Sekvenční integrovaný test	95

V případě pozitivního výsledku screeningu a následného invazivního zákroku se péče o těhotnou ženu přesunuje do laboratoře lékařské genetiky. Dlouhodobě používaným vyšetřením je stanovení genetické výbavy plodu, pomocí sestavení karyotypu, na základě kultivace amniocytů. V posledních letech se stále více využívá také diagnostických postupů založených na fluorescenční *in situ* hybridizaci (FISH), nebo polymerázové řetězové reakci (QF PCR). Tyto metody jsou v porovnání s kultivačními postupy rychlejší, ale na druhé straně nepostihují kompletní spektrum možných genetických onemocnění. V roce 2011 byl do praxe uveden první neinvazivní test trizomie 21., 18. a 13. chromozomu a je zřejmé, že v budoucnu bude tento způsob testování mít stále větší význam.

## 4.1 Screening v 1. trimestru těhotenství

Z pohledu těhotné ženy je přesun screeningu k časnějšímu stadiu těhotenství vítaným okamžikem. Při objektivním hodnocení je ovšem třeba zvážit veškeré souvislosti, které jsou s prvotrimestrálním screeninem spojeny. Tento typ screeningu se provádí od začátku 11. týdne těhotenství, tedy od gestačního stáří 10 týdnů a 0 dnů. Horní hranicí provádění je gestační stáří 13 týdnů a 6 dnů. Jak už bylo uvedeno, screeningové vyšetření v 1. trimestru se sestává ze dvou biochemických testů a vyšetření různého počtu ultrazvukových parametrů. Na základě vyhodnocení

---

mnoha publikovaných prací, které se zabývaly efektivitou tohoto typu screeningu, bylo zjištěno, že jeho výtěžnost se mírně mění v průběhu sledovaného období. Tato skutečnost souvisí se změnou senzitivity jednotlivých screeningových parametrů, které se v průběhu 1. trimestru pro výpočet rizika používají.

**Tabulka 3 Markery 1. trimestru – senzitivita (při 5% FPR)**

Parametr/týden	11.	12.	13.	Průměr v 11.–13. týdnu
NT	63	61	56	60
PAPP-A	42	36	29	36
Free $\beta$ hCG	32	37	43	37
Věk matky, PAPP-A, free $\beta$ hCG	67	66	66	66
Věk matky, NT, PAPP-A, free $\beta$ hCG	85	83	81	83

Díky těmto poznatkům se uspořádání prvotrimestrálního screeningu provádí většinou jako dvoustupňový proces. V prvním kroku, optimálně v průběhu 11. nebo 12. týdne se provedou biochemická vyšetření a následně, s odstupem zhruba 14 dnů, se žena dostaví na vyšetření k ultrazvukovému specialistovi. Vlastní vyhodnocení screeningu se provede po ukončení ultrazvukových vyšetření a zahrnuje výpočet rizika spojující výsledky biochemie a ultrazvuku. Z tohoto důvodu bývá test označován jako „kombinovaný“. Poněkud jinou variantou, z hlediska časového uspořádání provedení biochemie a ultrazvuku, je tzv. OSCAR. V tomto případě se jedná o provedení všech vyšetření a vydání výsledku screeningu v průběhu jednoho dne. Tato metoda je komfortní pro pacientky, ale z důvodů mírně nižší senzitivity se od ní upouští a přednost dostává časově oddělené vyšetřování biochemie a ultrazvuku. Výtěžnost screeningu v 1. trimestru je třeba posuzovat jednak z pohledu hodnocení senzitivity, ale také z toho pohledu, že prevalence výskytu vrozených vad v 1. trimestru je vyšší než ve trimestru druhém. Uvádí se, že více než 25 % patologických těhotenství, které jsou zachyceny v 1. trimestru, by spontánně odumřelo. Z tohoto hlediska tedy nelze objektivně porovnávat výsledky získané v 1. a 2. trimestru těhotenství.

**Tabulka 4 Hodnoty markerů (MoM) u plodů s D. S. v 1. trimestru těhotenství**

Parametr/týden	10.	11.	12.	13.
Free $\beta$	1,72	1,82	1,98	2,21
PAPP-A	0,40	0,46	0,51	0,58
NT		2,18	1,92	1,69



---

### **Kombinovaný test**

Nejběžnější formou screeningu v 1. trimestru je vyšetření sestávající ze dvou biochemických markerů (PAPP-A, free  $\beta$  HCG) a měření nuchální translucence (NT). Výsledek tohoto screeningu je považován za definitivní vyjádření rizika. V tomto případě se používá jeden cut off a zpravidla je to hodnota rizika 1 : 300, která rozděluje těhotné ženy do vysoce rizikové skupiny a skupiny s nízkým rizikem. První skupině žen, která má pozitivní výsledek screeningu, je nabídnuto provedení invazivního zákroku a poté genetické vyšetření získaného biologického materiálu. Pokud je dostupné provedení odběru choriových klků, dává se mu z časových důvodů přednost před provedením amniocentézy. Odběr plodové vody se obvykle provádí až po ukončení 1. trimestru těhotenství. Toto uspořádání screeningu má 85% záchyt plodů s Downovým syndromem při 5% falešné pozitivitě.

### **Kombinovaný kontingenční test**

Pokud se k vyšetřovaným parametrům kombinovaného testu přidají další ultrazuková vyšetření a změní se způsob hodnocení získaných výsledků rizik, hovoříme o tzv. kontingenčním uspořádání kombinovaného testu. Mezi uvedená další ultrazuková vyšetření patří ověřování přítomnosti nosní kůstky (NB), měření fronto-maxillo-faciálního úhlu (FMF), dopplerovské vyšetření trikuspidální regurgitace (TR) a vyšetření *ductus venosus* (DV). Z hlediska hodnocení výsledků jsou pak stanoveny dvě hodnoty cut off, které rozdělí těhotné ženy do tří skupin. První cut off je zpravidla pro riziko 1 : 100 a výsledky s vyšším rizikem jsou označeny jako pozitivní. V těchto případech se ženám nabízí provedení invazivního zákroku a genetická diagnostika. Druhý cut off je nastaven zpravidla pro riziko 1 : 1000. Ženy, které mají výsledek rizika nacházející se mezi těmito dvěma hodnotami, jsou dále vyšetřovány pomocí uvedených ultrazukových markerů a jejich riziko je znovu číselně vyjádřeno. U části žen se tímto způsobem potvrdí opodstatněnost provedení invazivního zákroku. Druhá část žen se naopak provedení invazivního zákroku, díky dalším ultrazukovým vyšetřením, vyhne a jejich definitivní výsledek screeningu je negativní. Stejným způsobem, tedy jako negativní, se hodnotí výsledek rizika nižšího, než je hodnota druhého cut off. Nevýhodou provádění tohoto typu screeningu je jeho dostupnost pouze ve vysoce specializovaných centrech, časová náročnost provádění většího počtu ultrazukových vyšetření a také skutečnost, že ne u všech těhotných žen lze tyto parametry spolehlivě a reprodukovatelně změřit.

---

---

### **Kombinovaný test jako součást integrovaného testu**

Kombinovaný test, jak je popsán výše, může být i součástí tzv. integrovaného testu, který spojuje vyšetření provedená v 1. a 2. trimestru těhotenství do jednoho výsledku. Pokud by se jednalo o plně integrovaný test, výsledek kombinovaného testu v 1. trimestru se samostatně nehodnotí a získané výsledky biochemických a ultrazvukových vyšetření se vyhodnocují až po provedení dalších biochemických vyšetření ve 2. trimestru. Tento způsob hodnocení screeningu má sice statisticky nejvyšší účinnost, ale nereaguje na jasně pozitivní výsledky kombinovaného testu v 1. trimestru a z pohledu těhotných žen může být vnímán, do jisté míry, jako stresující. Sekvenční forma integrovaného testu tuto nevýhodu odstraňuje, přičemž je zachována vysoká senzitivita screeningového protokolu. Vlastní uspořádání vychází ze statistických výpočtů, podle kterých je u kombinovaného testu v prvním trimestru stanoven cut off označující jako pozitivní pouze ženy s extrémně vysokým rizikem. Zpravidla se používá hranice 1 : 30 nebo 1 : 50. U těchto jednoznačně pozitivních výsledků je ženám nabídnuto provedení invazivního výkonu a už se neprovádějí další screeningová vyšetření ve druhém trimestru. Ostatní ženy naopak pokračují do druhého trimestru, kde se jim provedou biochemická stanovení HCG, uE3 a AFP, eventuálně inhibinu A, a vyjádří se jedno riziko, vypočítané ze všech provedených testů a ultrazvukových měření. Tímto způsobem se zajistí nejen nejvyšší možná senzitivita screeningu (> 90 %), ale také velmi nízká falešná pozitivita.

### **Biochemické markery v 1. trimestru jako součást sérového integrovaného testu**

V případě, že neexistuje možnost kvalitního ultrazvukového vyšetření ženy v 1. trimestru těhotenství, je možno algoritmus screeningu založit pouze na vyšetřování biochemických parametrů. Abychom docílili co možná nejvyšší efektivity screeningového procesu, je vhodné kombinovat výpočet rizika na základě vyšetření biochemických parametrů v 1. i 2. trimestru těhotenství. Zpravidla se provádí vyšetření PAPP-A v 1. trimestru, a tento výsledek se integruje po provedení biochemických testů ve druhém trimestru do jednoho výsledného rizika. Senzitivita tohoto testu je zhruba srovnatelná se základním kombinovaným testem, prováděným v 1. trimestru, tedy kolem 85 %, při 5% falešné pozitivitě.

---

---

## 4.2 Screening v 2. trimestru těhotenství

Testování žen ve druhém trimestru je historicky starší než prvotrimestrální screening a na rozdíl od něj je výpočet rizika prováděn pouze na základě biochemických vyšetření. V tomto období těhotenství je možné provádět vyšetření HCG, ať už volné  $\beta$  podjednotky nebo celkového HCG, alfa-fetoproteinu, nekonjugovaného estriolu nebo inhibinu A. Tato biochemická vyšetření mohou být hodnocena buď izolovaně, pouze v rámci vyjádření rizika ve 2. trimestru, nebo se mohou stát součástí integrovaného testu. Z hlediska průběhu těhotenství se tato vyšetření provádějí od 15. týdne do 22. týdne těhotenství. Je ovšem žádoucí, aby se tato vyšetření ve druhém trimestru prováděla co možná nejdříve, tzn. spíše na jeho začátku. V průběhu druhého trimestru se provádějí také ultrazvuková vyšetření plodu, ale žádný z ultrazvukových markerů se přímo nepoužívá v rámci algoritmů pro výpočet rizika. Na rozdíl od biochemických parametrů vyšetřovaných v 1. trimestru se senzitivita druhotrimestrálních biochemických markerů v průběhu času nijak nemění.

**Tabulka 5 Markery 2. trimestru – senzitivita (15.–18. týden) (při 5% FPR)**

Parametr v 2. trimestru	Senzitivita
AFP	42 %
uE3	52 %
free $\beta$ cg	61 %
total cg	53 %
Inhibin-A	59 %

**Tabulka 6 Hodnoty markerů (MoM) u plodů s D. S. v 2. trimestru těhotenství**

Parametr v 2. trimestru	
AFP	0,74
uE3	0,61
hCG	1,91
Inhibin-A	2,00

### **Samostatné biochemické testování pouze ve druhém trimestru**

Pokud se provádí výpočet rizika pouze na základě stanovení obsahu těchto biochemických látek, pak jsou jednotlivé screeningové protokoly označovány podle toho, kolik se jich při výpočtu rizika používá. Pokud se provádí pouze stanovení HCG a AFP, tento test je označován jako double test, pokud se vy-

---

---

šetřuje i nekonjugovaný estriol, pak hovoříme o triple testu. Neefektivnějším způsobem vyšetřování ve druhém trimestru je kvadruple test, kdy jako čtvrtý parametr je vyšetřován inhibin A. Druhotrimestrální forma screeningu by měla být určena především ženám, které z různých důvodů neabsolvovaly screening v 1. trimestru.

### **Biochemické testování v 2. trimestru těhotenství jako součást integrovaného testu**

Pokud těhotná žena absolvuje screeningová vyšetření v prvním trimestru těhotenství a následně má vyšetřeny také biochemické parametry ve druhém trimestru, je možno tyto výsledky spojit do jednoho výsledného rizika v rámci integrovaného testu. Sekvenční varianta integrovaného testu je z pohledu žen zřejmě neefektivnější formou screeningu a je popsána v kapitole výše.

## **5. Biochemické markery ve screeningu vrozených vývojových vad**

Fetoplacentární jednotka produkuje několik biochemických substancí, které jsou měřitelné v séru těhotné ženy. Bylo zjištěno, že u těhotenství nesoucích plod s Downovým syndromem nebo s některou z dalších chromozomálních aberací jsou jejich hodnoty odlišné od těhotenství se zdravým plodem. Tato skutečnost je využívána při posouzení rizika přítomnosti sledované vrozené vývojové vady. V běžné praxi se využívá šest biochemických látek, které mají různé senzitivity pro záchyt Downova syndromu (tabulka 3, 5). Pět z těchto látek patří mezi glykoproteiny (AFP, total HCG, free  $\beta$  HCG, PAPP-A, inhibin A). Glykoproteiny jsou zpravidla rozpustnější než běžné proteiny a mají také delší poločas přetrvávání ve vaskulárním systému. Nekonjugovaný estriol patří mezi steroidní hormony. Tyto markery se vzájemně odlišují svou molekulovou hmotností. Nejmenší molekulovou hmotnost má nekonjugovaný estriol a nejvyšší PAPP-A. Vlastní analýza se u menších molekul provádí zpravidla pomocí kompetitivní imunoanalýzy, s jedním vazebným antigenním místem a u větších molekul se využívá imunometrických metod se dvěma vazebnými místy. Detekce proběhnuvší reakce může být měřena pomocí radioaktivity, fluorescenčně nebo chemiluminiscenčně.

---

---

### **Total HCG a free $\beta$ HCG**

Lidský choriogonadotropin (hCG) patří mezi glykoproteiny. Syntéza HCG probíhá v syncytiotrofoblastu placenty. Jeho molekula je tvořena dvěma nekovalentně vázanými podjednotkami  $\alpha$  a  $\beta$ , s celkovou molekulovou hmotností kolem 38 kDa.  $\beta$  podjednotka určuje biologickou specifitu hormonu a  $\alpha$  podjednotka je analogická s  $\alpha$  podjednotkou lidského lutropinu (LH), follitropinu (FSH) a tyrotropinu (TSH). V tělních tekutinách je přítomna jak intaktní molekula hCG, tak i volné podjednotky. V moči se také nacházejí degradační produkty, např. tzv.  $\beta$ -core fragment. Molekula HCG stimuluje v průběhu těhotenství funkci žlutého tělíska. U těhotenství s plodem s Downovým syndromem nacházíme vyšší hladiny HCG než u těhotenství s normálním plodem, a to jak v 1., tak i v 2. trimestru těhotenství. U trizomie 18. a 13. chromozomu nacházíme naopak hladiny nižší. U těhotenství, která vznikla technikami asistované reprodukce, jsou hladiny HCG mírně zvýšené. Stanovení koncentrace free  $\beta$  hCG v krvi se uplatňuje především při včasné diagnostice trizomie 21, během prvního trimestru gravidity, kdy je poměr free  $\beta$  hCG/hCG přibližně 1–4% zatímco ve druhém a třetím trimestru tento poměr klesne na 1%. Vyšetření free  $\beta$  hCG se využívá nejen ve screeningu vrozených vývojových vad, ale také v onkologické diagnostice.

### **PAPP-A**

PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A) je glykoproteinem, který vzniká v průběhu těhotenství v placentě. Jeho molekulová hmotnost je zhruba 700 kDa, a strukturálně je sestaven ze čtyř podjednotek. Dvě větší podjednotky jsou označovány jako PAPP-A a dvě můstkové podjednotky nesou označení pro-MBP. PAPP-A je metaloproteinázou štěpící IGFBP-4. Jeho funkce v těhotenství není zcela prokázána, ale předpokládá se, že by se mohl účastnit regulace fetoplacentárního růstu. U těhotenství s chromozomálními aberacemi jsou hladiny v 1. trimestru nižší a velmi nízké hladiny mohou také předpovídat blížící se odumření plodu. Podobně jako u HCG, také hladiny PAPP-A jsou ovlivněny technikami asistované reprodukce. V případě PAPP-A ovšem záleží přímo na postupu, jakým těhotenství vzniklo. U *in vitro* fertilizace nebo ovulační indukce jsou hodnoty nižší, naopak u intrauterinní inseminace jsou hodnoty PAPP-A zpravidla vyšší. Jeho funkce mimo těhotenství je spojena s proliferativními procesy při hojení nebo kostní remodelaci.

---

---

### **AFP (alfa-1 fetoprotein)**

AFP je důležitý sérový onkofetální protein, který je v těhotenství produkován žloutkovým váčkem a fetálními játry. Strukturálně a funkčně je podobný albuminu, ale má odlišné antigenní determinanty. Jeho molekulová hmotnost je 70 kDa. AFP je markerem, který je využíván nejen pro screening chromozomálních aberací, ale také pro detekci otevřených defektů neurální trubice. Zvýšené hodnoty AFP v mateřské krvi umožňují záchyt anencefalie v 90 %, u ostatních případů poruch uzávěru neurální trubice v 85 %. Kromě toho lze zachytit i některé další malformace plodu, pro které je zvýšení hladiny AFP v séru těhotné rovněž typické: omfalokéla, *gastroschisis*, thorakoabdominální defekt, ageneze ledvin, odumření plodu, teratom, hydrocefalus, mnohočetné malformace, *hygroma colli cysticum*, oligohydramnion, kongenitální nefróza, Meckelův syndrom a encefalokéla. U žen, které otěhotněly pomocí technik asistované reprodukce, jsou zpravidla vyšší hodnoty AFP po intrauterinní inseminaci nebo u těhotenství s darovaným vajíčkem. Naopak u žen s IDDM jsou hodnoty AFP mírně sniženy. Výrazně snížené hladiny AFP se objevují při pomalém vývoji plodu, toxemii, placentárním tumoru, nebo u plodů s Downovým nebo Edwardsovým syndromem. Nižší hodnoty jsou charakteristické také pro trizomii chromozomu 13.

### **uE3 (nekonjugovaný estriol)**

Nekonjugovaný estriol je nejvýznamnějším estrogením hormonem v průběhu těhotenství. V porovnání s dalšími biochemickými látkami, využívanými pro účely screeningu, se jedná o malou molekulu s molekulovou hmotností 0,3 kDa. Místem vzniku jsou fetální nadledvinky, fetální játra a placenta, kdy postupně dochází k přeměně cholesterolu na DHEA sulfát a jeho hydroxylovanou formu, která se pak v placentě mění na nekonjugovaný estriol. Tento steroidní hormon má relativně krátký poločas rozpadu, s dobou přetrvávání v krevním oběhu kolem 20–30 minut. Účinkem se jedná o velmi slabý estrogen, u něhož se někdy uvádí, že má změkčovací účinek na cervix před porodem a že se účastní reakcí, které předcházejí přípravě mléčné žlázy před laktací. Estriol je z hlediska screeningu Downova syndromu o něco lepším markerem než AFP, ale to platí za předpokladu dodržení podmínek preanalytické fáze vyšetření. Podobně jako u AFP, také u nekonjugovaného estriolu nacházíme u všech tří hlavních syndromů snížené hladiny této látky v krevním oběhu matky. Mírně nižší hodnoty nacházíme také u těhotenství, která

---

---

vznikla v režimu asistované reprodukce. Výrazně nižší hodnoty mohou indikovat přítomnost Smith-Lemli-Opitzova syndromu.

### **Inhibin A**

Další možností, jak zvýšit efektivitu screeningu ve 2. trimestru těhotenství, je testování hladiny inhibinu A. Tento protein patří do nadrodiny proteinů TGF- $\beta$ . Inhibin má heterodimerní strukturu a existuje ve formě Inhibinu A a B, které se odlišují  $\beta$  podjednotkou. Molekulová hmotnost tohoto proteinu je zhruba 32 kDa. Jeho funkcí je regulace produkce FSH a GnRH. Funkce v těhotenství spočívá v inhibici produkce FSH. Místem vzniku inhibinu A u žen je hypofýza, ovaria a placenta a u mužů Sertoliho buňky. Právě placentární produkce inhibinu A se dá využít ve screeningu Downova syndromu, kdy zvýšené hodnoty této látky mohou signalizovat vyšší riziko přítomnosti tohoto onemocnění u plodu. Podobně jako u dalších biochemických látek ve druhém trimestru, také u inhibinu A mohou být jeho hladiny ovlivněny u těhotenství, která vznikla při asistované reprodukci. V tomto případě jsou hladiny tohoto parametru zvýšené až o třetinu. V menší míře jsou hladiny této látky ovlivněny také rasou matky, kouřením nebo hmotností matky.

## **6. Ultrazvukové markery ve screeningu vrozených vývojových vad**

Kvalitní ultrazvuková diagnostika hraje při sledování průběhu těhotenství nezastupitelnou úlohu. Role ultrazvuku není spojena zdaleka jen s měřením ultrazvukových parametrů pro účely screeningu, ale zahrnuje také vyšetření morfologie plodu. Z pohledu screeningových protokolů se dnes využívá několik markerů, které se měří zejména v 1. trimestru těhotenství. Existují i vyšetření prováděná ve druhém trimestru těhotenství, ale z pohledu screeningu je obtížné jejich konkrétní začlenění do stávajících screeningových protokolů. Senzitivita vyšetřovaných ultrazvukových parametrů v 1. trimestru ukazuje, že se jedná o velmi efektivní příspěvek do algoritmu screeningových postupů, který má ovšem některá omezení. Na rozdíl od stanovení biochemických parametrů se jedná o vyšetření, jejichž kvalita je vysoce závislá na operátorovi a jeho zkušenostech. Nejedná se tedy o snadno standardizované vyšetření a jeho provedení vyžaduje vysoce erudovaného pracovníka.

---

---

Dalším komplikujícím faktorem, z hlediska jednoduchého provedení těchto měření, je rozdílná tělesná stavba těhotných žen, kdy obtížnost provedení a výsledek ultrazvukového vyšetření je mezi různými ženami neporovnatelný. Významnou roli hraje také pozice plodu, která v některých případech kvalitní provedení ultrazvukového vyšetření komplikuje, nebo dokonce úplně vylučuje.

### **Šijové projasnění – NT (nuchální translucence)**

Jedná se o nejdůležitější ultrazvukový marker v 1. trimestru, který je posuzován podle přísných kritérií odborných ultrazvukových společností, v období 11.–14. týdne těhotenství. Samotná podstata šijového projasnění spočívá v měření šíře prosáknutí kožní řasy v zátylku, která bývá při svém zvětšení podezřelým signálem možné chromozomální aberace. Mezi nejčastější chromozomální aberace související s tímto rozšířením nuchální translucence patří Downův syndrom. Měření této nejdůležitější struktury je nutno provádět zásadně podle doporučení, protože existuje velké riziko falešného výsledku při nedodržení těchto pravidel. Dle posledních studií bylo zjištěno, že souvislost vysokých hodnot NT je asociována i s možnými časnými projevy vrozených srdečních vad, které jsou následně odhaleny v 2. trimestru.

### **Nosní kost – NB**

Nosní kost je dalším zásadním ultrazvukovým markerem, který je posuzován v období 11.–14. týdne těhotenství, v souvislosti s časnou diagnostikou chromozomálních aberací. Nosní kost je posuzována podle charakteru vývoje a osifikace. Při chromozomálních poruchách je vysoký výskyt tzv. absence nebo hypoplazie nosní kosti už v 1. trimestru, což je jednoznačně dalším možným varovným signálem a indikací k dalším vyšetřením.

### **Fronto-maxillo-faciální úhel – FMF**

Jedná se o ultrazvukový marker, který spočívá ve zhodnocení úhlu mezi horní čelistí a čelní kostí. Principem je odhalení nápadného oploštění obličeje, které je typické pro děti s chromozomálními aberacemi.

### **Trikuspidální regurgitace – TR**

Dalším důležitým markerem je posouzení charakteru toku krve na trojčipé chlopni v pravé komoře srdeční. Jedná se nejen o detailní posouzení anatomie

---



---

srdce a jeho chlopní, ale o průtokovou křivku, kdy u plodů s Downovým syndromem dochází ke zpětné pulzaci a jejímu projevu na průtokové křivce.

### ***Ductus venosus – DV***

Jedním z nejnáročnějších ultrazvukových markerů je posouzení průtoku krve drobné cévní spojky pod játry, která se nazývá *ductus venosus*. Pro plody s chromozomální aberací nebo špatnou prognózou pro přežití bývá tato křivka s průkazem buď nulového toku, nebo dokonce reverzního, což bývá špatným prognostickým faktorem pro budoucnost plodu.

## **7. Vyhodnocení rizika a faktory ovlivňující výsledky screeningu**

Individuální riziko je vyjádření pravděpodobnosti přítomnosti postiženého plodu, vztažené k průměrnému riziku skupiny, která má pro hodnocení stejné vstupující atributy. V případě screeningu Downova syndromu se výpočet rizika odvozuje od mnoha vstupních informací. Primární riziko těhotné ženy je vyjádřeno jejím věkem, počtem plodů a rodinnou anamnézou. Při výpočtu rizika dále hraje roli mnoho faktorů, které se v průběhu celého screeningového procesu musejí vzájemně dokonale provázet. Pro kvalitní vyhodnocení je nesmírně důležité správné stanovení gestačního stáří plodu. V současné době se jednoznačně upřednostňuje datace dle UZ vyšetření. Součástí prvotrimestrálního screeningu je v prvním kroku změření CRL (crown-rump length, temeno-kostrční vzdálenost), které se v algoritmech dále využívá jako jedna ze vstupních měřených veličin. Na kvalitě tohoto měření velmi významně závisí výsledek vyhodnocovaného rizika. Významnou roli má také kvalita používaných diagnostických prostředků. Požadavky na jednotlivé biochemické testy jsou vyjádřeny v doporučeních odborných společností. Pro ultrazvukovou diagnostiku jsou definovány mezinárodně uznávané standardy a postupy, jak měření provádět. Výsledek screeningu může být ovlivněn nejen měřením biochemických a ultrazvukových parametrů, ale také hmotností těhotné ženy, rasou, vícečetným těhotenstvím, IDDM, kouřením nebo tím, že těhotenství vzniklo za přispění technik asistované reprodukce. K provázání všech těchto informací se využívají speciální počítačové programy. Porovnatelnost výsledků je dána matematickým modelem, který jednotlivé programy používají. Pro unifikaci kvantitativních výsledků vyšetření,

---

---

tzn. biochemických testů a měření NT, se využívá konceptu porovnání výsledků biochemických vyšetření a NT, prostřednictvím násobku mediánu (multiple of median – MoM). Tímto způsobem je možné srovnávat jednak výsledky mezi různými laboratořemi, jednak se odstraní problém při porovnávání výsledků vyšetření v různých týdnech těhotenství a také se odstraní rozdíly při použití různých jednotek, protože hodnoty MoM jsou bezrozměrná čísla.

### **Matematický výpočet rizika**

Po změření všech biochemických a ultrazvukových parametrů se vlastní výpočet rizika provádí v počítačovém programu. Kromě identifikačních údajů pacienta se zadávají výše uvedená anamnestická data a výsledky měření. Počítačový program pracuje s regresními křivkami jednotlivých měřených parametrů v závislosti na gestačním stáří. Tvar regresní křivky vychází z dostatečného počtu naměřených dat a měl by být pravidelně kontrolován. Jakákoli změna při použití diagnostického testu je důvodem pro ověření platnosti regresní křivky, nebo pro její novou kalkulaci. Vlastní výsledkový list zpravidla obsahuje výsledky biochemických měření, které jsou uvedeny jak v absolutních hodnotách, tak jsou vyjádřeny jako násobky mediánu pro dané gestační stáří. U jednotlivých typů screeningu se zpravidla používají různé hodnoty cut off, které od sebe oddělují negativní a pozitivní hodnoty rizik. Nastavení cut off vychází z výsledků velkých populačních souborů tak, aby byly zajištěny vyhovující parametry screeningu, tzn. co možná nejvyšší senzitivita, při definované falešné pozitivitě screeningu. Zpravidla se senzitivity screeningových postupů srovnávají za podmínky 5% falešné positivity. Výsledek rizika je vyjádřen jako hodnota 1 : XXX. Pokud je riziko vyšší než cut off, tak je obvykle ženě, po genetické konzultaci, nabídnuto provedení invazivního zákroku a následné vyšetření získaného genetického materiálu plodu některou z diagnostických metod.

## **8. Invazivní výkony a genetická diagnostika**

### **Odběr choriových klků (CVS)**

Choriové klky (CVS – chorionic villus sampling) jsou prstovité výběžky placentárního původu. Struktura se postupně vyvíjí od primárních klků (13.–14. den), až do terciárního stadia, kdy dochází k postupnému vývoji krevních cév. Choriové klky jsou spolu s choriovou ploténkou, z níž vybíhají, součástí placenty. Placenta

---

---

obsahuje shodný genetický materiál jako plod, a proto je možno tento biologický materiál použít ke stanovení karyotypu plodu. Odběr CVS patří k časným metodám prenatální diagnostiky. Touto invazivní metodou je možno získat vzorek tkáně a stanovit karyotyp plodu v období mezi 11. až 15. týdnem těhotenství. V případě patologického nálezu je tak možno ukončit těhotenství dříve. Pro nastávající matku se tedy jedná o výkon, který je méně fyziologicky i psychicky náročný. Vlastní odběr choriových klků se provádí dvojím způsobem. V prvním případě se jedná o výkon prováděný přes děložní čípek (transcervikálně), nebo ve druhém případě přes břišní stěnu (transabdominálně). Tento druhý způsob je používán častěji. V obou případech se jedná o výkony prováděné za sterilních podmínek, v lokální anestezii a pod ultrazvukovou kontrolou.

### **Odběr plodové vody (AMC)**

Plodová voda je čirá tekutina, která se zakaluje s blížícím se termínem porodu, jejíž pH je neutrální až slabě alkalické. Z 99 % je tvořena vodou a dále obsahuje velmi malé množství bílkovin, glukózy, močoviny, minerálních látek a kreatininu. V této tekutině jsou obsaženy i částice epitelu, odloupané z povrchu plodu, mázky a chloupky lanuga.

Odběr plodové vody je považován za invazivní diagnostickou metodu. Běžně se při ní odebírá 10–20 ml tekutiny z plodového vaku. Zákrok probíhá v lokální anestezii, pod ultrazvukovou kontrolou. Nejčastěji se provádí kolem 15. a 16. týdne těhotenství. Bezprostředně po odběru plodové vody je žádoucí 30- až 60minutový odpočinek, dle individuální fyziologie ženy, a následně klidový režim po dobu 2–4 dnů, během kterých se obsah plodové vody znovu v plodovém vaku obnoví. Při odběru plodové vody se uvádí riziko potratu asi 0,5–1 %.

### **Kultivační cytogenetická diagnostika**

Důvodem pro vyšetření karyotypu nemusí být vždy jen pozitivní výsledek screeningu na nejčastější chromozomální aberace. K dalším možným důvodům patří vyšší věkové riziko, výskyt aneuploidie v rodině nebo v průběhu předchozího těhotenství a přenašečství strukturální aberace u některého z rodičů, případně také anomální počet pohlavních chromozomů. Odebraný biologický materiál je transportován do laboratoře a zpracování probíhá podle charakteru odběru. V případě CVS jsou klky opatrně rozděleny na menší kousky na Petriho misce a přeneseny do kultivační tkáňové nádoby, kde jsou zvlhčeny médiem a umístěny do termostatu ke kultivaci. Stále je třeba kontrolovat, aby dělící se buňky byly

---

---

médiiem zvlhčeny po celou dobu kultivace. Po dostatečném nárůstu (kontrola fázovým mikroskopem) jsou buňky odstraněny ode dna kultivační nádoby roztokem trypsinu, stejně jako u plodových vod, a jsou hypotonizovány a fixovány. Poté jsou buňky v mitotické fázi nanášeny na podložní sklo, obarveny a hodnoceny ve světelném mikroskopu. Výsledky jsou k dispozici za 2–3 týdny od odběru. Podobným způsobem se postupuje také u diagnostiky z amniocytů. V tomto případě je sediment amniocytů přenesen do kultivačního média, kde dochází různou rychlostí k adhezi na stěny tkáňové kultivační nádoby a dochází k jejich růstu v termostatu s CO<sub>2</sub> atmosférou. Po odstranění ze dna kultivační nádoby, hypotonizaci a fixaci buněk jsou tyto nanášeny na mikroskopické sklo. V dalším kroku je preparát obarven a poté hodnocen ve světelném mikroskopu.

### **Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH)**

K rychlému stanovení nejčastějších trizomií je možno použít metodu FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace), kdy je k amniocytům přidána fluorescenční sonda a ve fluorescenčním mikroskopu je možno pozorovat výskyt barevných signálů označujících fyziologický nebo patologický počet příslušných chromozomů. Tato metoda umožňuje stanovení předběžného výsledku do 48 hodin. Tím se při závažném nález, ukazujícím na možnost výskytu trizomie, výrazně zkrátí časové rozmezí k dodání výsledku, oproti běžné kultivaci.

### **Kvantitativní fluorescenční PCR (QF-PCR)**

Metoda kvantitativní fluorescenční PCR (QF-PCR) – tzv. Amnio-PCR, nezahrnuje vyšetření celého karyotypu. V optimálním případě umožňuje rychlou detekci (během 24 hodin) nejčastějších změn počtu chromozomů 13, 18, 21, X a Y (Patauův syndrom, Edwardsův syndrom, Downův syndrom) a určení pohlaví ze vzorku plodové vody, s nízkým rizikem falešné pozitivivity/negativity. Oproti klasickému kultivačnímu postupu stanovení karyotypu tedy pacientka získá v případě pozitivního nález více času pro rozhodování o dalším osudu těhotenství. QF-PCR zahrnuje amplifikaci, detekci a analýzu krátkých, opakujících se sekvencí (STR). Pro amplifikaci chromozomálně specifických sekvencí se používají fluorescenčně značené primery, vázané na marker specifický pro konkrétní chromozom, takže počet kopií každého markeru (a tedy i chromozomu) je úměrný signálu. Vzniklé PCR produkty jsou separovány a analyzovány pomocí automatického genetického analyzátoru.

---

---

## 9. Neinvazivní diagnostika

Současné možnosti prenatalního screeningu, díky kombinaci biochemického testování matky s ultrazukovým vyšetřováním plodu, umožňují vyšší než 90% záchyt nejčastějších chromozomálních aberací. Bohužel u současných screeningových metod je část těhotných žen po průchodu screeningem označena jako pozitivní a zpravidla poté absolvuje některou z invazivních procedur za účelem získání buněk plodu a následně provedení jejich genetické analýzy. Tyto invazivní metody s sebou jednak nesou malé, ale objektivní riziko fetální ztráty a jednak jsou pro mnoho těhotných žen, subjektivně, velmi nepříjemnou zkušeností. V roce 1997 byla publikována práce, která poprvé popsala výskyt fetální mimobuněčné DNA v krevním oběhu matky. Díky tomuto objevu bylo v následujících letech vyvinuto velké úsilí mnoha vědeckých týmů, aby bylo možno tohoto faktu využít pro přímou detekci genetické výbavy plodu, prostřednictvím jednoduše realizovatelného odběru krve matky. Fragменты mimobuněčné DNA jsou v krevním oběhu matky detekovatelné zhruba od čtvrtého týdne těhotenství. Jejich zastoupení, v poměru k mimobuněčné mateřské DNA, je v průměru kolem 10%. Důležitou vlastností z hlediska praktického využití je skutečnost, že doba přetrvávání v mateřské cirkulaci je kolem 24 hodin. V krevním oběhu matky se nacházejí také fetální buňky, ale na rozdíl od extracelulární DNA jsou detekovatelné od sedmého týdne těhotenství a jsou zastoupeny v mnohem menším poměru k mateřským buňkám. V krvi matky lze identifikovat až 27 let po porodu plodu. V roce 2011 bylo publikováno několik prací, které prokázaly, že přítomnost mimobuněčných fragmentů fetálních nukleových kyselin v krevním oběhu matky lze využít pro detekci nejčastějších chromozomálních aberací. Výsledky všech těchto prací ukázaly, že metodou masivního paralelního sekvenování lze odhalit téměř 100% hledaných chromozomálních aberací, přičemž počet nevyhodnocených vzorků byl zanedbatelně nízký. Na druhé straně je třeba uvést, že tyto práce zahrnovaly testování vysoce rizikové populace a není zcela zřejmé, jaké výsledky by byly získány u běžné populace. Princip tohoto testování vychází ze skutečnosti, že každý fragment mimobuněčné DNA lze přiřadit ke konkrétnímu chromozomu. Pokud se zaměříme např. na chromozom 21 a nalezneme vyšší podíl fragmentů odpovídajících tomuto chromozomu, tak lze usuzovat, že se jedná o těhotenství s trizomií 21. chromozomu. Proces vyhodnocování je poměrně časově i ekonomicky náročný a v tomto ohledu jej nelze srovnávat s klasickými postupy, které se využívají

---

---

u současného typu screeningu. Koncem roku 2011 byl v USA uveden do praxe první komerčně dostupný test tohoto typu. Z praktického hlediska je tento typ testování nejen mnohem ekonomicky náročnější, ale také není zdaleka tak místně a populačně dostupný jako stávající screeningové metody. Tato situace popisuje stav v polovině roku 2012, přičemž je zřejmé, že rychlý rozvoj v oblasti sekvenovacích technik přinese taktéž rychlý rozvoj tohoto typu testování s přímým dopadem do praxe.

---

---

## Literatura:

1. Evans, I. M. Prenatal diagnosis: the next generation. AACC webinar, December 2011.
  2. Lepage, N. Improved utilization of second trimester sample. AACC webinar, December 2011.
  3. Wald, N., Leck, I. Antenatal and Neonatal Screening. Oxford University Press, 2000.
  4. ACOG Practice Bulletin Number 77: Screening for Fetal Abnormalities, 2007.
  5. Palomaki, G., Neveux, L., Donnemfeld, A., et al. Quality assessment of routine nuchaltranslucency measurements: a North American laboratory perspective. *Genet Med* 2008;10(2): 131–138.
  6. The Fetal Medicine Foudation, <http://www.fetalmedicine.com/fmf/FMF-czech.pdf>
  7. Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství, <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2011/2011-1/dop-vvv.pdf>
  8. Palomaki, G., Lambert-Messerlian, G., Canick, J. A Summary Analysis Of Down Syndrome Markers in the Late First Trimester: *Advances in Clin Chem*(43), 2008:177–210.
  9. Loucký, J. Význam nejistoty měření při antenatálním screeningu Downova syndromu. *Actual Gyn.* 2010; 2: 5–9.
  10. Loucký, J., Springer, D., Zima, T. Možnosti screeningu Downova syndromu v České republice. *Čes. Gynek.*, 2008, 73, 3, s. 160–162.
  11. Prenatal screening: Fundamentals and Innovations, Providence, April 2010, Conference.
-

- 
12. Canick, J. A., Lambert-Messerlian, G. M., Palomaki, G. E., Neveux, L. M., et al. First and Second Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Trial Research Consortium. Comparison of serum markers in first-trimester down syndrome screening, *Obstet Gynecol.* 2006 Nov; 108(5): 1192–1199.
  13. Wald, N. J., Rodeck, C., Hackshaw, A. K., Walter, J., et al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the serum, urine and ultrasound screening study (SURUSS). 2003, *Health Technol Assess* 7: 1–87.
  14. Cicero, S., Spencer, K., Avgidou, K., Faiola, S., Nicolaides, K. Maternal serum biochemistry at 11-13(+6) weeks in relation to the presence or absence of the fetal nasal bone on ultrasonography in chromosomally abnormal fetuses: an updated analysis of integrated ultrasound and biochemical screening: *Prenat Diagn* 2005 Nov; 25(11): 977–983.
  15. Lo, Y. M., Corbetta, N., Chamberlain, P. F., Rai, V., et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997 Aug 16; 350(9076): 485–487.
  16. Palomaki, G. E., et al. DNA Sequencing of Maternal Plasma to Detect Down Syndrome: An International Clinical Validation. *Genet Med* 2011; Nov; 13(11): 913–920.
  17. Wright, C. Cell-free fetal nucleic acids for non-invasive prenatal diagnosis. Report of the UK Expert Working Group. CHG Foudation, 2009.
  18. Palomaki, G., et al. DNA Sequencing of Maternal Plasma Reliably Identifies Trisomy 18 and Trisomy 13, as well as Down syndrome: An International Collaborative Study. *Genet Med.* 2012 Mar; 14(3): 296–305.
-