

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Diagnostický potenciál plodové vody

Zuzana Součková

Bakalářská práce

2017

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2013/2014

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Zuzana Součková**  
Osobní číslo: **C11334**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Diagnostický potenciál plodové vody**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Seznamte se s průběhem těhotenství. Stručně popište fyziologické ale i patologické formy těhotenství. Popište nejčastější komplikace.
2. Seznamte se s pojmem plodová voda. Rozepište její funkce. Z dostupné literatury získejte informace o možném využití plodové vody.
3. Věnujte se jednotlivým diagnostickým metodám zaměřeným na analýzu plodové vody.
4. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy a ze získaných literárních údajů vyvoďte závěry o pozitivních ale i negativních aspektech analýzy plodové vody. Diskutujte možná rizika spojená s jejím odběrem.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.**  
Katedra biologických a biochemických věd


Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Petra Domašinská**

Datum zadání bakalářské práce: **13. prosince 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce: **18. července 2014**

  
prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.  
děkan

L.S.

  
doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 25. února 2014

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše. Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 26. 6. 2017

Zuzana Součková

### Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat konzultantce mé bakalářské práce Mgr. Petře Domašinské a panu profesorovi Ing. Alexandru Čeganovi, CSc. za odborné vedení, cenné rady a velkou trpělivost při psaní mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za psychickou podporu a jejich trpělivost.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce je věnována diagnostickým metodám zaměřeným na analýzu plodové vody. Práce obsahuje stručný popis těhotenství s jeho nejčastějšími komplikacemi, dále se zabývá biochemickými testy, které spolu s cytogenetickou prenatální diagnostikou pomáhají určit chromozomální vady plodu. Cílem práce bylo shrnout možnosti využití plodové vody v praxi k detekci nejčastějších vrozených vývojových vad plodu.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Těhotenství, plodová voda, amniocentéza, vrozené vývojové vady, prenatální diagnostika

## **TITLE**

Diagnostic potential of amniotic fluid

## **ANNOTATION**

Bachelor's thesis is devoted to diagnostic methods focused on analysis of amniotic fluid. The thesis contains a brief description of pregnancy with its most frequent complications, another part is about biochemical tests, which along with cytogenetic prenatal diagnostics to help determine chromosomal defects of the fetus. The goal was to summarize the possibilities of using amniotic fluid in practice to detect most frequent congenital defects of the fetus.

## **KEYWORDS**

Pregnancy, amniotic fluid, amniocentesis, congenital anomalies, prenatal diagnosis

## **OBSAH**

ÚVOD.....	13
1. Fyziologické těhotenství.....	14
1.1. Průběh těhotenství.....	15
2. Rizikové a patologické těhotenství.....	19
2.1. Nejčastější komplikace v těhotenství.....	19
2.1.1. Těhotenstvím indukovaná hypertenze, preeklampsie.....	19
2.1.2. Diabetes mellitus v těhotenství.....	21
2.1.3. Předčasný porod.....	24
2.1.4. Předčasný odtok plodové vody.....	25
2.1.5. Vrozené vývojové vady.....	27
3. Plodová voda.....	33
3.1. Funkce plodové vody.....	34
3.2. Využití plodové vody.....	34
3.2.1. Amniocentéza.....	35
4. Prenatální diagnostika.....	38
4.1. Prenatální screening vrozených vývojových vad plodu.....	38
5. Biochemické vyšetření z krve těhotné.....	40
5.1. Kombinovaný test v I. trimestru.....	40
5.2. Triple test v II. trimestru.....	40
5.3. Ultrazvuk ve III. trimestru.....	41
5.4. Ostatní biochemické metody.....	41
5.4.1. Integrovaný test.....	41
5.4.2. Sekvenční test.....	41
5.4.3. Cell-free-DNA testy.....	42
6. Biochemické vyšetření plodové vody.....	43
6.1. Alfa-fetoprotein.....	43

6.2.	Acetylcholinesteráza .....	44
6.3.	Další markery plodové vody .....	45
6.3.1.	Protein PAPP-A .....	45
6.3.2.	Nekonjugovaný estriol .....	45
6.3.3.	Fosfolipidy .....	45
6.3.4.	Gama-glutamyltransferáza .....	45
6.3.5.	Lidský choriový gonadotropin .....	46
6.3.6.	Infekční agens .....	46
7.	Cytogenetická prenatální diagnostika .....	48
7.1.	Kultivace fetálních buněk .....	48
7.1.1.	Metody barvení preparátů .....	49
7.2.	Diagnostické metody nezávislé na kultivaci fetálních buněk .....	50
7.2.1.	Metoda FISH .....	51
7.2.2.	Metoda PRINS .....	52
7.2.3.	Metoda kvantitativní fluorescenční PCR .....	53
8.	Závěr .....	54
	POUŽITÁ LITERATURA .....	56
	ZDROJE OBRÁZKŮ .....	64
	ZDROJE PŘÍLOH .....	65
	Přílohy .....	66



## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Pozdní blastocysta (1). .....	16
Obrázek 2 Placenta previa překrývající děložní čípek (2). .....	25
Obrázek 3 Downův syndrom – trizomie 21. chromozomu (3). .....	29
Obrázek 4 Edwardsův syndrom – trizomie 18. chromozomu (4). .....	30
Obrázek 5 Amniocentéza a následné vyšetření chromozomů plodu (5). .....	37
Obrázek 6 Tvorba karyotypu pomocí počítačového karyotypovacího systému (6). .....	49
Obrázek 7 Interfázická FISH metoda (7). .....	52
Obrázek 8 Kvantitativní fluorescenční PCR – kapilární elektroforézou (8). .....	53

## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha A <i>Hmotnost a délka plodu během nitroděložního vývoje (1)</i> .....	66
Příloha B <i>Délka těla plodu podle Haasova schématu (1)</i> .....	67
Příloha C <i>Fáze vývoje plodu a vliv teratogenů na plod (2)</i> .....	68
Příloha D <i>Časný nástup preeklampsie pro 20. až 34. týden těhotenství (3)</i> .....	69
Příloha E <i>Pozdní nástup preeklampsie od 34. týdne do konce těhotenství (3)</i> .....	70
Příloha F <i>Četnost Downova syndromu v ČR v letech 1994 až 2011 (4)</i> .....	71
Příloha G <i>Index plodové vody – polyhydramnion (5)</i> .....	72
Příloha H <i>Standardní screeningový test versus neinvazivní prenatální test (6)</i> .....	73
Příloha I <i>Prenatální screening v I. trimestru těhotenství (7)</i> .....	74
Příloha J <i>Stanovení intraamniální infekce pomocí IL-6, cut-off hodnota 1 000 pg/ml (8)</i> .....	75
Příloha K <i>Karyotyp – technika G pruhování (9)</i> .....	76
Příloha L <i>Karyotyp – technika R pruhování (9)</i> .....	76

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

hCG – lidský choriový gonadotropin

VVV – vrozené vývojové vady

WHO – World Health Organisation – Světová zdravotnická organizace

TK – krevní tlak

PlGF – placental growth factor – placentární růstový faktor

VEGF – vascular endothelial growth factor – vaskulární endotelový růstový faktor

TGFb – transforming growth factor b – transformující růstový faktor b

sFlt-1 – soluble fms-like tyrosine kinase 1 – solubilní tyrozinkináza 1

sEng – soluble endoglin – solubilní endoglin

MDA – malonyldialdehyd

DNA – deoxyribonukleová kyselina

MODY – porucha genu pro glukokinázu a genové mutace

HELLP syndrom – Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets – hemolýza, vzestup jaterních enzymů, pokles trombocytů

DM – diabetes mellitus – cukrovka

GDM – gestační *diabetes mellitus* – těhotenská cukrovka

OGTT – orální glukózový toleranční test

PROM – premature rupture of membranes – předčasný odtok plodové vody

PPROM – preterm premature rupture of membranes – předčasný odtok plodové vody před termínem porodu

FIRS syndrom – fetal inflammatory response syndrome – syndrom fetální zánětlivé odpovědi

AFP – alfa – fetoprotein

NIPT – neinvazivní prenatalně diagnostické testy

AFI – amniotic fluid index – index plodové vody

AMC – amniocentéza - odběr plodové vody

PCR – polymerázová řetězová reakce

FISH – fluorescenční in situ hybridizace

CVS – biopsie choriových klků

uE3 – nekonjugovaný estriol

ACHE – acetylcholinesteráza

PRINS – primed in situ labelling

QF PCR – kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce

## **TERMINOLOGIE**

*Preeklampsie:* zvýšený krevní tlak v důsledku gravidity

*Angiogenní faktor:* růstový faktor

*Placenta previa:* růst placenty v dolní části dělohy

*Anencefalie:* nevyvinutí mozku

*Spina bifida:* rozštěp páteře

*Encefalokéla:* výhřez tkání centrální nervové soustavy

*Kraniorachischíza:* rozštěp páteře a lebky

*Oligohydramnion:* snížené množství plodové vody

*Polyhydramnion:* zvýšené množství plodové vody

*Anhydramnion:* bez plodové vody

*Amniocentéza:* odběr plodové vody

*Kordocentéza:* odběr fetální krve z pupečníku

*Fetoskopie:* endoskopická metoda k přímému pozorování plodu

*Nuchální translucence:* šíjové projasnění

*Meningomyelokéla:* výhřez míchy a mozkových plen

*Hydrocefálie:* zmnožení mozkomíšního moku

*Karyotyp:* soubor chromozomů v jádře buňky

*Fluorochrom:* fluorescenční barvivo

## ÚVOD

Téma bakalářské práce nazvané Diagnostický potenciál plodové vody, bylo vybráno na základě praxe absolvované na oddělení lékařské genetiky. Praxe byla velmi zajímavá a zábavná, tudíž bylo jasnou volbou se tomuto tématu nadále věnovat a prohloubit si získané znalosti. Proto je práce zaměřena především na využití plodové vody k diagnostice vrozených vývojových vad plodu. Tomuto téma se chci věnovat i nadále v pracovním životě.

Tato práce stručně seznamuje s průběhem těhotenství a popisuje nejčastější těhotenské komplikace. Dále se věnuje jednotlivým vrozeným vývojovým vadám, jenž jsou Downův syndrom, Edwardsův syndrom a Patauův syndrom, které se detekují při prenatalním screeningu. Prenatální screening je nezbytnou součástí prenatalní diagnostiky. Je důležité těhotné ženy seznámit se všemi možnostmi prenatalního testování a umožnit jim tak sledovat správný vývoj jejich plodu. Především včas detekovat odchylky ve vývoji plodu a následnou možnost podstoupit specifitější invazivní testování, jakým je odběr plodové vody nebo choriových klků.

Práce také popisuje využití a samotný odběr plodové vody a následné možnosti jejího zpracování. Zde je kladen důraz na diagnostické metody, které se používají v praxi, především kultivace fetálních buněk a následné sestavení karyotypu nebo detekce pomocí značených sond metodou FISH nebo kvantitativní fluorescenční PCR metodou.

Úkolem této práce je vyzdvihnout důležitost prenatalního screeningu a cytogenetické prenatalní diagnostiky a shrnout metody používané v praxi, které využívají k detekci vrozených vývojových vad plodovou vodu a krev těhotné.

# 1. Fyziologické těhotenství

Těhotenství je nejkrásnější část života ženy, kdy vzniká nový život. Těhotenství začíná oplodněním vajíčka spermií, pokračuje vývojem plodu a je ukončeno porodem novorozence. Těhotenství je označováno také jako gravidita nebo gestace. Těhotenství probíhá 10 lunárních měsíců po 28 dnech, jelikož i k menstruaci dochází ve stejných 28 denních cyklech. V přepočtu na dny je to 280 dní nebo také 40. týdnů gravidity. Jednotlivé fáze těhotenství se mohou rozčlenit na samotné oplození, implantaci a nidaci vajíčka až po vývoj plodu, jeho organogenezi a porod (1, 2).

Během těhotenství dochází k důležitým fyziologickým změnám v organismu ženy. Tyto tělesné změny se po porodu vrací během několika měsíců do původního stavu. S průběhem přibývajících těhotenství a většími nároky plodu, se tělo ženy přizpůsobuje a dochází ke změnám většiny orgánů. Především patrné jsou anatomické změny, jako postupné zvětšování břicha, rozšíření pánve a celkové zvyšování hmotnosti těhotné (6).

V období těhotenství dochází ženy na pravidelné prohlídky, které jsou součástí prenatální péče, kde se hodnotí zdravotní stav ženy a kontroluje se vývoj plodu. Pro správný vývoj plodu je důležité, aby se těhotná vyváženě stravovala s dostatkem vitamínů, především vitamínu B12 a kyseliny listové, která je nezbytná pro syntézu nukleových kyselin a diferenciaci buněk. Těhotná by se měla vyvarovat kouření, požívání alkoholu či drog, které mohou vážně ohrozit zdraví a život plodu. Neodmyslitelnou součástí prenatální péče je i prenatální screening, který odhalí případné vrozené vady a další odchylky vývoje plodu (2, 6).

Podle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 134/1998 Sb., kterou se vydává seznam zdravotních výkonů s bodovými hodnotami, se dále uvádí „*Fyziologickým těhotenstvím se rozumí těhotenství bez rizikových faktorů v anamnéze, s normálními výsledky všech klinických i laboratorních vyšetření v průběhu gravidity*“ (8).

Jako patologické těhotenství můžeme označit graviditu, u které nedochází ke správnému průběhu nebo u těhotných žen s určitým onemocněním. Těhotné ženy, které v předešlé graviditě potratily, měly předčasný nebo jinak komplikovaný porod, nebo došlo k narození mrtvého plodu nebo plodu s vrozenou vývojovou vadou, pak u těchto žen můžeme konstatovat, že je toto těhotenství považováno za rizikové neboli ohrožené. Těhotné ženy s nepravidelným průběhem těhotenství, jsou pod větší kontrolou lékařů a podstupují častěji i jiná specifitější vyšetření (např. odběr plodové vody) než těhotné ženy s pravidelným průběhem gravidity (2, 9).

## 1.1.Průběh těhotenství

Průběh těhotenství je náročný a specifický proces, který trvá, jak už bylo zmíněno 10 lunárních měsíců, ovšem nejrizikovější období je právě na začátku těhotenství. Následující vývoj plodu se může rozdělit na dvě odlišně definované fáze, kterým je fáze embryogeneze a fáze fetální (3). Fáze embryogeneze je označováno prvních 8 týdnů vývoje plodu po oplodnění vajíčka. První dva týdny vývoje vajíčka se nazývají jako období blastogeneze (oplodnění, rýhování, migrace a nidace) a další vývoj několik dnů trvajících, v němž dochází k tvorbě základů pro plod a základů pro plodové obaly (2).

Jako fáze fetální můžeme nazývat dobu od 9. týdne po oplodnění až do porodu plodu, kdy dochází k vývoji a dozrávání jednotlivých orgánů a s přibývajícím těhotenstvím vzrůstají také schopnosti plodu přizpůsobit se zevním podmínkám života (2, 3).

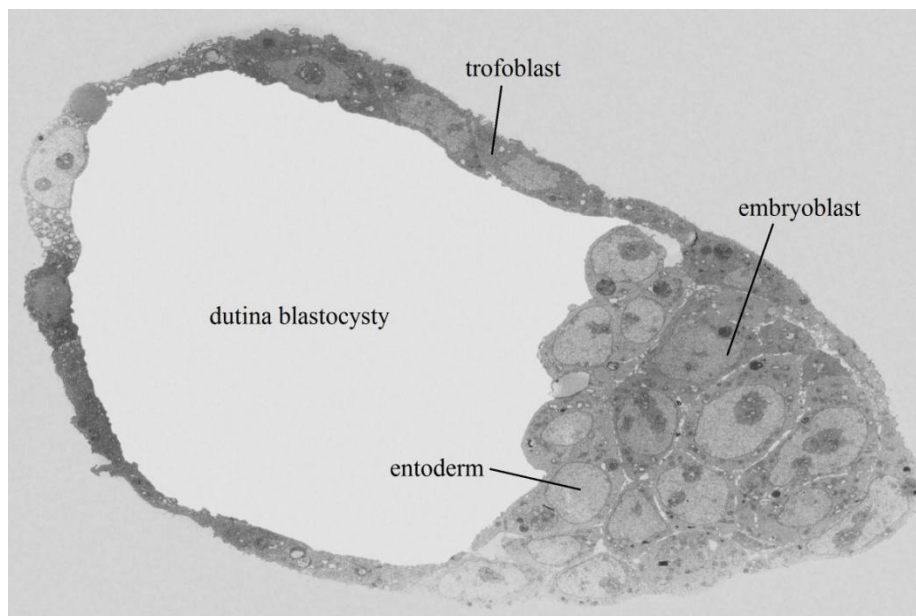
Samotnému vývoji plodu ovšem předchází podstatná fáze, kterou je oplození neboli fertilizace, což je splynutí mužské a ženské pohlavní buňky neboli gamety – spermie a vajíčka (3). Jádra všech lidských buněk obsahují 46 chromozomů. Pohlavní buňky se liší od ostatních buněk polovičním neboli haploidním počtem chromozomů, kterých je 23. Vajíčko má 22 autozomů a jeden gonozom X, což znamená 23 X. Spermie má 22 autozomů a gonozom X nebo Y, tedy 23 X nebo 23 Y (3). Po splynutí spermie s vajíčkem dochází ke vzniku zygoty a plod je buď ženského pohlaví XX nebo mužského pohlaví XY (1). Uvádí se, že spermie jsou schopny oplodnit vajíčko za 24 až 48 hodin po ejakulaci. Vajíčko však ztrácí schopnost oplození už okolo 12 hodin po ovulaci. K vlastnímu oplodnění dochází ve vejcovodu, kdy se sjednotí haploidní jádra obou gamet, a vznikne jedno diploidní jádro neboli první buňka nazývaná zygota (1, 2, 3).

Po oplození následuje dělení zygoty, kdy vznikají 2 buňky neboli blastoméry. Dalším dělením vzniká útvar, který je nazývaný jako morula a je tvořený 8 až 16 buňkami. Během tohoto dělení je vajíčko posunuto vejcovodem do dělohy jako už vzniklá blastocysta, která obsahuje dutinku vyplněnou tekutinou. Z povrchové vrstvy vzniká obal blastocysty nazývaný trofoblast, dále vzniká embryoblast neboli tzv. zárodečný terčík z vnitřního terčovitého shluku buněk. Trofoblast je základ pro vývoj plodových obalů a placenty a naopak embryoblast je základem pro vývoj embrya, viz obrázek č. 1 (3, 4, 7).

Fáze implantace embrya je nejkritičtější krok v celém průběhu začínajícího těhotenství. Nastává zanořením blastocysty v děložní sliznici, což se nazývá nidace. Výživa zanořeného vejce je zajištěna produkty rozpuštěné decidui neboli děložní sliznice v těhotenství. Po narušení kapilár děložní sliznice získává embryo výživu i z krve omývající

primární klky. Dále také trofoblast začíná vytvářet choriové klky, které jsou počátkem tvorby placenty a produkuje lidský choriový gonadotropin (hCG), který mění žluté tělísko na těhotenské, tudíž nedochází k další menstruaci a hCG lze detekovat jak v moči, tak v séru těhotné (1, 2, 3, 4).

V nitru blastocysty lze odlišit a dobře rozpoznat dvě vyvíjející se buněčné vrstvy, kterou je zevní vrstva buněk nazývaná ektoderm, ze které vzniká nervový systém, kůže a smyslové orgány a vnitřní vrstva neboli entoderm, která je základem vnitřních orgánů. Na obrázku č. 1 můžeme pozorovat diferencující se embryoblast, z něhož se utvářejí buňky entodermu. V průběhu vývoje blastocysty se mezi obě vrstvy vsune i třetí zárodečný list zvaný mezoderm, který vychází z mezenchymu a vznikají z něj kosti, svalovina, vazivová tkáň a cévní systém (5).



**Obrázek 1** Pozdní blastocysta (1).

## Vývoj plodu

Fázi embryogeneze můžeme označit jako období, které probíhá od 3. do 8. týdne po oplození. Postupně se vytváří zárodek, jak už bylo řečeno, nazývaný embryo, ze zárodečného terčíku. Dalším vývojem se z plodového vejce utváří plodové blány (obaly), plodový koláč neboli placenta, plodová voda, pupečník a plod. Vyvíjející se plod je následně obklopen obaly a to zevním, který se nazývá chorion a vnitřním, který se jmenuje amnion. Chorion neboli střední plodový obal je vazivový, vytváří primární klky a produkuje hormon hCG. Amnion je průsvitná blána krytá cylindrickým epitelem, která vylučuje amniální tekutinu. Tato tekutina z velké části později vytváří plodovou vodu. Dále si vývoj plodu



shrňeme po jednotlivých lunárních měsících. Orientační hmotnost a délka těla plodu po jednotlivých lunárních měsících je vyobrazena v příloze A (1, 3, 5, 21).

Plodové vejce neboli embryo roste na začátku velmi rychle, viz příloha A, ale čím je plod starší, tím je jeho růst pomalejší. Například 20. den po oplodnění je už embryo okolo 2 mm velké. Postupně se začíná utvářet základ pro srdce a dvě primární aorty, dále se rychle vytváří základy mozku, dobře rozlišitelný je konec hlavový a konec kaudální neboli ocasní (2, 21).

Na konci 1. lunárního měsíce (4. týden, 28. – 32. den) má plodové vejce okolo 2 cm a je celé porostlé klky. Na hlavové části je viditelný přední mozek a jsou utvořeny základy pro oči, uši, nos. Na výbězcích pro končetiny je patrný podklad pro růst prstů. Na těle je pozorovatelné srdce, dále játra a pupečník a 4 žaberní oblouky (2, 3, 4).

Na konci 2. lunárního měsíce (8. týden, 56 – 60 den) je plodové vejce o průměru asi 5 cm s hmotností okolo 5 g. Žaberní oblouky postupně mizí, trup a končetiny jsou v poměru k hlavě malé. Na hlavě můžeme rozpoznat oči, nos, ústa, vnější uši. Dále už také došlo k narovnání trupu, ruce a nohy se obrátily dovnitř, prsty jsou oddělené. Začíná také diferenciací zevních genitálií, lze již rozlišit všechny vnitřní orgány a v kostře plodu dochází k tvorbě osifikačních jader. Po 8. týdnu tohoto vývoje se zárodek označuje jako plod neboli jinak řečeno fetus (2, 3, 4).

Při vývoji plodu neboli fetogenezi, dochází k jeho růstu, zrání a funkční diferenciaci. Především dozrávají jednotlivé orgány, také začínají fungovat ledviny, které tvoří moč a ta je vylučována do plodové vody. Je funkční i trávicí ústrojí, kdy se tvoří hnědé, mazlavé mekonium neboli smolka. Dále je dobře prokazatelná srdeční akce pomocí ultrazvuku a těhotná již pociťuje pohyby plodu. Délku plodu je možno odhadovat podle Haasova schématu, které je znázorněné v příloze B. Ultrazvukem je možné vyhodnotit míry těla a z nich vypočítat hmotnost plodu. Přibývající hmotnost lze sledovat také pomocí růstové křivky plodu (2, 4, 7).

Koncem 3. lunárního měsíce (12. týden) měří plod asi 9 cm a jeho hmotnost je zhruba okolo 20 g. Na ultrazvuku jsou už dobře rozeznatelné prsty, je vytvořen chrupavčitý základ kostry a pohlaví je také již diferenciované. Dále je také vytvořena placenta (2).

Koncem 4. lun. měsíce (16. týden) dochází především k vývoji nehtů a růstu vlasů. Na povrchu těla plodu je chmýří neboli lanugo, což jsou velmi jemné chloupky, jeho kůže je svažštělá, jemná a červená (2).

Koncem 5. lun. měsíce (20. týden) je délka plodu okolo 25 cm a hmotnost dosahuje 250 g. Můžeme velmi dobře zaznamenat pohyby plodu, které jsou prudké a časté. Dále

se tvoří mazová vrstva neboli mázek, který chrání plod před maceračním účinkem plodové vody.

Koncem 6. lun. měsíce (24. týden) dosahuje hmotnost plodu cca 600 g a délka je asi 30 cm. Zde dochází k rozdělení očních víček a také se začíná vyvíjet chrup plodu.

Koncem 7. lun. měsíce (28. týden) je hmotnost plodu cca 1200 g a délka 35 cm. Dochází především k rychlému vývoji mozku a celého nervového systému. Plod má schopnost částečné regulace tělesné teploty. V plicích probíhá tvorba surfaktantu, který umožňuje následné rozvinutí plic.

Koncem 8. lun. měsíce (32. týden) má plod asi 40 cm a jeho hmotnost je okolo 1800 g. Následuje vývoj tukové a svalové tkáně. Kosti plodu jsou plně vyvinuty, ale ještě ne zcela osifikovány.

Koncem 9. lun. měsíce (36. týden) je délka plodu asi 45 cm a hmotnost je okolo 2700 g. Plod je ve většině případů schopen extrauterinního života, tedy mimo dělohu. Také u plodu postupně mizí lanugo a jeho kůže je napjatá.

Koncem 10. lun. měsíce (40. týden) plod vykazuje znaky zralosti, délka je ideálně okolo 48 – 50 cm a hmotnost dosahuje 3000 – 3600 g. Plod má hladkou, růžovou kůži, která je pokrytá mázkem a lanugo se objevuje už jen na zádech. Dále jsou vyvinuty chrupavky, švy a fotanely mezi lebečními kostmi se zužují. Plod je ve většině případů hlavou dolů. Po porodu o sobě dává zdravý novorozenec vědět hlasitým křikem a čilým pohybem. Jeho fyziologické funkce se hodnotí ihned po porodu pomocí tzv. Apgar skóre. Kdy se vyhodnocuje po 1, 5 a 10 minutách srdeční frekvence, barva kůže, dýchání, reakce na podněty a svalové napětí. Tyto jednotlivé funkce se hodnotí 0 až 2 body, které jsou následně sečteny. Výsledných 8 až 10 bodů je normální stav, 4 až 7 bodů označuje mírnou nebo střední hypoxii a 3 a méně bodů vyžaduje neodkladnou resuscitaci novorozence. Celý proces vývoje plodu v jednotlivých týdnech těhotenství, vývoj orgánů a vliv teratogenů na plod je zobrazen v příloze C (1, 2, 3, 4, 76).

## **2. Rizikové a patologické těhotenství**

Těhotenství, které nemá normální fyziologický průběh a u kterého se objeví tzv. rizikové faktory, je označeno za rizikové těhotenství. Tyto faktory mohou ohrozit průběh těhotenství, porodu a zdraví dítěte nebo matky. Pod tyto rizikové faktory můžeme zahrnout *diabetes mellitus* nebo jiné onemocnění endokrinního systému, dále pak hypertenzi, poruchy ledvin a jater, kardiovaskulární poruchy, neurologické poruchy a epilepsii, těhotné s poruchou srážení krve a Rh-negativní ženy. Možným rizikem je i vyšší věk ženy a předchozí komplikovaná těhotenství. Tyto faktory mohou mít za následek např. potrat, předčasný porod nebo porod plodu s vrozenou vývojovou vadou (VVV). V tomto období je matka a plod ve zvýšeném nebezpečí a tyto komplikace mohou vést až k patologickému těhotenství, ke kterému dochází u 20 – 30 % případů. Některé rizikové faktory jsou známy před těhotenstvím, jiné jsou odhaleny až v průběhu těhotenství při všeobecném prenatalním screeningu. Důležité je tyto faktory včas identifikovat a za pomoci specifického screeningu vyhodnotit riziko a zabránit případným komplikacím ohrožujícím zdraví a život plodu (9).

Patologický stav u ženy nebo u plodu přímo ohrožuje jejich zdraví nebo život. Míra ohrožení jejich zdraví závisí na komplikacích patologického těhotenství. Patologické těhotenství se většinou rozvíjí u žen s rizikovými faktory, může se vyskytnout i bez nich, ale to je spíše výjimečné. Tento patologický stav ženy se může vyskytovat již před otěhotněním např. chronická hypertenze, *diabetes mellitus* hlavně u II. typu, onemocnění štítné žlázy, hematologická onemocnění, endokrinní poruchy, neurologické poruchy, genetické vady a vývojové vady dělohy. Dále pak jsou to patologické stavy, které vznikly až v průběhu těhotenství, jako je preeklampsie, gestační diabetes, krvácení v graviditě, předčasný porod, předčasný odtok plodové vody, intraamniální infekce, Rh-izoimunizace, anémie, VVV, intrauterinní růstová retardace plodu a infekční onemocnění matky (hepatitida, HIV, cytomegalovirus, herpes virus, toxoplazmóza a další) (9).

### **2.1. Nejčastější komplikace v těhotenství**

#### **2.1.1. Těhotenstvím indukovaná hypertenze, preeklampsie**

Preeklampsie neboli zvýšený krevní tlak v důsledku gravidity, se obvykle objevuje po 20. týdnu těhotenství. Může se vyskytnout u žen bez předešlých zdravotních problémů, ale častěji se objevuje u žen, které před otěhotněním již hypertenzí trpí. Preeklampsii diagnostikujeme, pokud se k hypertenzi přidá proteinurie a generalizované otoky, zejména

dolních končetin. Riziko vzniku hypertenze v těhotenství je přibližně okolo 7 – 15 %. Větší riziko je u žen prvorodiček, u žen vícerodiček se riziko snižuje na 5-7 %. Preeklampsie patří stále k závažným komplikacím těhotenství, které ohrožují život a zdraví matky i plodu. Podle průzkumů je celosvětově příčinou zhruba 42 % úmrtí rodiček (9, 11).

Arteriální hypertenze je definována dle kritérií Světové zdravotnické organizace (World Health Organisation/International Society of Hypertension – WHO/ISH) hodnotami krevního tlaku (TK) rovnými nebo vyššími než 140/90 mm Hg, které jsou zjištěny opakovaně, tedy alespoň při dvou po sobě jdoucích měřeních. Naměřené hodnoty TK nad 160/110 mm Hg, tedy ukazují na těžkou formu hypertenze rodičky (4).

Preeklampsie může způsobit poškození placenty, ledvin, jater, mozku a jiných orgánů plodu. Dochází zde k vazokonstrikci placentárních cév a invazi trofoblastu do arterií placenty. Placenta je tedy nedostatečně prokrvena a vznikají v ní toxické látky, které poškozují endoteliální buňky v těle rodičky. Je ohrožen vývoj plodu, v důsledku jeho nedostatečné výživy a v nejhorším případě může dojít k potratu plodu (12).

Zvýšené riziko preeklampsie lze očekávat především u těhotných s již existující hypertenzí, u vícečetného těhotenství, dále také u předešlého výskytu v rodině (u matky nebo sestry), u kuřáček, u těhotenství s předchozí preeklampsií, u ledvinného onemocnění nebo diabetu rodičky, u přítomnosti antifosfolipidových protilátek a další riziko může být i věk ženy nad 40 let (3, 4, 9).

Mezi nejčastější příznaky preeklampsie můžeme zařadit zvýšení TK, otoky dolních a horních končetin nebo obličeje, zvýšená proteinurie, nevolnosti a bolesti břicha, bolest hlavy a porucha zraku, rychlý nárůst tělesné hmotnosti v těhotenství (11).

Nejpravděpodobnější příčina vzniku této choroby je porucha rovnováhy angiogenních neboli růstových faktorů. Tyto faktory se dělí na proangiogenní kam patří placentární růstový faktor (PlGF, placental growth factor), vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF, vascular endothelial growth factor) a transformující růstový faktor b (TGFb, transforming growth factor b) a na faktory antiangiogenní kam spadá solubilní tyrozinkináza 1 (sFlt-1, soluble fms-like tyrosine kinase 1) a solubilní endoglin (sEng, soluble endoglin). U preeklampsie dochází ke snižování plazmatických koncentrací proangiogenních faktorů a zvyšování hladin antiangiogenních faktorů, které vedou až k poškození endotelu. Podle rozdílného poměru těchto faktorů, především poměru sFlt-1/PlGF v séru matky, můžeme určit závažnost stavu, jako je preeklampsie, růstová retardace, předčasný porod nebo úmrtí plodu. Velkou výhodou je, že se dysbalance faktorů dá diagnostikovat ještě před jejími klinickými projevy. Podle studie Prognosis byla zjištěna hraniční hodnota poměru sFlt-1/PlGF neboli cut-off hodnota

38 pro rozvoj preeklampsie. Podle přílohy D, kde vidíme hodnotu poměru sérových koncentrací sFlt-1/PlGF menší než 38, což označuje vyloučení preeklampsie v průběhu jednoho týdne. Hodnota poměru sFlt-1/PlGF větší nebo rovna 85 detekuje časný nástup preeklampsie. Pro pozdní nástup preeklampsie, viz příloha E, je hodnota poměru sFlt-1/PlGF větší nebo rovna 110. Hodnota poměru nad 38 detekuje fetální komplikace spojené s preeklampií v průběhu následujících 4 týdnů (11).

Tato metoda zatím není využívána jako screeningová a měla by se provádět pouze u vysoce rizikových těhotných s možným rozvojem preeklampsie. Je tedy nezbytné ji ještě doplnit o klasické metody s konkrétním klinickým stavem těhotné. Metoda se provádí pomocí imunochemických testů Elecsys, které jsou rychlé a diagnostikují všechny rizikové rodičky. Cíl léčby, pomocí stanovení poměru biomarkerů sFlt-1/PlGF, je ovlivnit tuto angiogenní dysbalanci. Metodu je nutné ještě prověřit ve větších studiích k potvrzení její efektivity a bezpečnosti (11).

Dalším markerem preeklampsie je malonyldialdehyd (MDA), který je produktem peroxidace lipidů, čehož se účastní kyslíkové radikály. MDA stoupá již před začátkem klinických příznaků onemocnění. Významným markerem je i kyselina močová. Kyslíkové radikály poškozují též DNA. Nadměrně stoupá tvorba purinů a tím vzrůstá tvorba kyseliny močové. Nález bílkoviny v moči je pozdním znakem, protože se objevuje až u rozvinutého onemocnění (9).

Princip léčby preeklampsie je ve vhodné terapii odpovídající stavu těhotné. U lehčích forem a v nižších týdnech těhotenství je možná stabilizace stavu, dále je možno aplikace kortikoidů, léčba samotné hypertenze, prevence křečí, bilance příjmu tekutin a sledováním průběhu těhotenství. U zralých plodů je lépe těhotenství ukončit, většinou vyvoláním vaginálního porodu. Intenzivní bolest břicha v druhé polovině těhotenství může souviset s rozvíjejícím se HELLP syndromem (projevuje se hemolýzou, zvýšenými jaterními enzymy a poklesem trombocytů, komplikuje těžké formy preeklampsie). Pro všechny typy hypertenzí v graviditě se většinou používají stejná antihypertenziva (např. metyldopa Dopegyt), u lehčích typů hypertenze lze použít kardioselektivní betablokátory (3, 13, 14).

### **2.1.2. Diabetes mellitus v těhotenství**

*Diabetes mellitus* (DM) v těhotenství se dělí na pregestační, který je diagnostikovaný před graviditou (diabetes 1. typu, 2. typu, MODY – genová porucha, může se projevit až v graviditě) a gestační *diabetes mellitus* diagnostikovaný v graviditě (15).

#### **Diabetes mellitus I. typu**

*Diabetes mellitus* I. typu je onemocnění, vyznačující se absolutním nedostatkem inzulínu, způsobeného zánikem  $\beta$ -buněk pankreatu. Na vzniku choroby se podílí genetická predispozice a zevní vlivy (např. virové infekce) (26). Doporučením v tomto případě je plánování gravidity a co nejlepší metabolická kompenzace diabetu, součástí by mělo být i genetické vyšetření. V případě neplánovaného otěhotnění by se genetické testy měly provést co nejdříve. Důležitá je podrobná znalost stavu komplikací diabetu u pacientek, jejichž onemocnění trvá déle než 5 let. Doporučované je provést kontrolní laboratorní testy glykémie a sledovat váhové přírůstky v průběhu těhotenství. Velmi důležitá je i pravidelná kontrola glykovaného hemoglobinu, který je ukazatelem glykémie v časovém rozmezí 4. až 6. týdnů (15).

DM několikrát zvyšuje riziko samovolných potratů, předčasných porodů, VVV, preeklampsie, neúměrný růst plodu a traumatismů při porodu. Těhotnou nejvíce ohrožuje například nefropatie, retinopatie a hypertenze (9).

Porod je optimální časovat na 38. – 39. týden těhotenství. V průběhu porodu se podává inzulín společně s glukózou tak, aby byla udržena stálá hladina glykémie. Po porodu se co nejdříve zahajuje běžné podávání inzulínu v obvyklém denním režimu těhotné ženy (15, 16).

## **Diabetes mellitus II. typu**

*Diabetes mellitus* II. typu je nejčastější metabolickou chorobou, vyznačující se relativním nedostatkem inzulínu, což vede k nedostatečnému využití glukózy a projevuje se hyperglykemií. Onemocnění vzniká při kombinaci porušené sekrece inzulínu a jeho působení v cílových tkáních. Na jeho vzniku se opět podílejí genetické faktory a vlivy zevního prostředí (27). U pacientek s diabetem II. typu platí stejná pravidla jako u těhotných s diabetem typu I. Pokud jsou pacientky léčeny dietou (u obézních doporučena mírně redukční dieta), doporučuje se ponechat dietní režim, je však důležité pravidelně sledovat jejich hladinu glykémie. V případě léčby perorálními antidiabetiky je dobré přejít na inzulínovou léčbu, nejlépe ještě před otěhotněním, či nejdříve po otěhotnění (15, 16).

Diagnostika DM typu II. je obtížná během těhotenství, protože těžké formy gestační DM mají podobné klinické charakteristiky. Na druhou stranu těhotenství žen s diabetem II. typu je relativně vzácné, protože tento typ diabetu je diagnostikován spíše u starších žen, kde již není tak velká pravděpodobnost otěhotnění (15, 16).

## Gestační diabetes mellitus

Gestační *diabetes mellitus* (GDM) je definován, jako porucha tolerance glukózy různé závažnosti, která vzniká v průběhu těhotenství a po porodu většinou spontánně mizí. GDM je onemocnění geneticky podmíněné, má společný základ s genetickou predispozicí pro DM II. typu. Vznik dosud není přesně objasněn, ale bylo zjištěno, že placentární hormony důležité pro vývoj plodu snižují účinek inzulínu a zvyšují tak inzulínovou rezistenci. GDM je tedy způsoben hormonálními změnami v těhotenství a relativním nedostatkem inzulínu (19, 25).

U těhotných žen s diagnostikovaným GDM je nutné sledování hladiny glykémie, vyvážené a pravidelné stravování a především je důležité vyhnout se hladovění a následné ketoacidóze. V případě zhoršené kompenzace GDM, se zahajuje inzulínová léčba. Uvádí se, že u 20 – 30 % žen, které byly léčeny v těhotenství pro GDM, se v budoucnu vyskytuje DM II. typu, proto je důležité i další pravidelné sledování glykémie s odstupem i několika let. Většina těhotných žen (až 50 %) s gestačním diabetem je obézních, proto se po porodu doporučuje úprava životního stylu. To zahrnuje především snížení tělesné hmotnosti a zvýšení fyzické aktivity, aby se tak předešlo výskytu DM II. (9, 20, 25).

GDM se vyskytuje nejčastěji po 20. týdnu těhotenství. Diagnóza je stanovena testováním tolerance glukózy. Rizikové faktory pro gestační diabetes zahrnují pokročilý věk matky, obezitu, porodnickou anamnézu diabetu nebo neúměrné zvětšení plodu a silný výskyt diabetu v rodině. Nejlepší metodou pro diagnostiku GDM je i nadále kontroverzní. U žen s GDM se nemusí objevit žádné příznaky, proto by se měl provést všem ženám v těhotenství orální glukózový toleranční test (OGTT). Tento test se dělá mezi 24. – 28. týdnem těhotenství, u těhotných s rizikovými faktory v 16. – 18. týdnu. OGTT se provádí po zátěži 75 g glukózy (stanovení glykémie na lačno po 2 hodinách). U rizikových pacientek je doporučováno vyšetřit tzv. O'Sullivanův test, po zátěži 50 g glukózy (glykémie za 1 hodinu). V případě positivity O'Sullivanova testu je nutné dovyšetřit ještě standardní OGTT. Pokud se zjistí pomocí OGTT, že glykémie je vyšší nebo rovna 5,5 mmol/l, je nutno doporučit další monitorování hladiny glykémie, upravit dietní režim s dostatečným pohybem (9, 19, 25).

Neléčená hyperglykémie může mít za následek rozvoj diabetické fetopatie a odchylek od normálního růstu a vývoje plodu. Novorozenec s diabetickou fetopatií váží obvykle více než 4 000 g, což může být příčinou porodního poranění. Dále se u novorozence vyskytuje například novorozenecká žloutenka, může být hypoglykemický, hypokalcemický, objevuje se zvýšený sklon k obezitě v pozdějším věku a s tím spojený vznik DM II. typu. Špatná

kompenzace GDM může vést k předčasnému porodu, opakovaným urogenitálními infekcím, preeklamsií a dalším závažným komplikacím (9, 16, 25).

### **2.1.3. Předčasný porod**

Předčasný porod znamená porod dítěte před dokončeným 37. týdnem těhotenství. Podle gestačního věku se dá předčasný porod rozdělit do několika kategorií. Na extrémně předčasný (před 28. týdnem), velmi předčasný (28. až 32. týden) a mírně předčasný porod (32. až 37. týden). Předčasný porod je obrovský celosvětový problém. Významnou roli má především v Africe a jižní Asii, kde je více jak 60 % předčasně narozených dětí. Dle WHO, se odhadem každý rok narodí 15 miliónů dětí předčasně a toto číslo stále roste. A téměř milion dětí zemře každý rok na následky komplikací předčasného porodu (38, 39). V českém zdravotnictví je předčasný porod i nadále závažným problémem. Počet předčasných porodů v České republice se v posledních letech pohybuje okolo 6 % (9).

Předčasně narozené děti mají kratší období prenatalního vývoje a jsou tak náchylnější k různým novorozeneckým komplikacím a vývojovým problémům. Většina studií dokládá, že předčasně narozené děti mají v raném dětství významné zpoždění v růstu i v psychickém vývoji. Důvody předčasných porodů mohou být různé, ať už jsou spontánní nebo vyvolané k časnému porodu nebo porodu císařským řezem. Mezi nejčastější příčiny patří předčasný nástup děložních kontrakcí, předčasný odtok plodové vody před termínem porodu (PPROM), předčasně vyvolaný porod z důvodu nemoci matky nebo plodu, infekce nebo chronické onemocnění, jako je cukrovka a hypertenze, fetální stres, vícečetné těhotenství a další. Rizikovým faktorem může být i placenta previa, kdy placenta roste v dolní části dělohy a může zcela překrýt děložní čípek, jak je vidět na obrázku č. 2. Placenta previa je nejčastější příčinou krvácení ve druhém a třetím trimestru a ohrožuje zdraví plodu i matky. Celosvětový výskyt placenta previa je okolo 5 případů na 1 000 těhotných, v Evropě je to o něco méně, kdy se uvádí 3,6 případů na 1 000 těhotných (9, 17, 38, 39).





**Obrázek 2** Placenta previa překrývající děložní čípek (2).

Předčasný porod může být způsobený různými aspekty, jak již bylo zmiňováno a jeho diagnostika může být někdy obtížná. Ženy mohou pociťovat nepravidelné děložní stahy, bolest v podbřišku a mohou krváčet. Pomocí vaginálního ultrazvuku se může určit zkracování a dilatace děložního hrdla a zvýšení intraabdominálního tlaku, což může identifikovat blížící se předčasný porod. V cervikovaginálním hlenu se může zjistit přítomnost glykoproteinu fibronektinu, který poukazuje na zvýšené riziko předčasného porodu. Při nástupu předčasného porodu se pro utlumení děložních kontrakcí používají tokolytika, například beta-mimetika nebo magnesiumsulfát. Tokolytika se používají po dobu 48 hodin, důležitých k vývoji plicní zralosti plodu. V souvislosti s tím je důležité podávat glukokortikoidy, které zvyšují tvorbu surfaktantu. Surfaktant snižuje povrchové napětí plicních alveolů a umožňuje rozepjetí plic po narození a možnost případného připojení na umělou plicní ventilaci. Jestliže je zjištěna intrauterinní infekce, která je nejčastější příčinou odtoku plodové vody, či brzkého nástupu děložní činnosti, je vždy vyvolán porod (18, 38, 41).

#### **2.1.4. Předčasný odtok plodové vody**

Předčasný odtok plodové vody (premature rupture of membranes, PROM) je označen jako odtok plodové vody po prasknutí plodových obalů bez předchozí děložní činnosti více než jednu hodinu před začátkem porodu. Liší se tedy od spontánního odtoku plodové vody, kdy dochází k prasknutí plodových obalů po zahájení děložní činnosti a je běžnou součástí porodu. PROM se dělí na předčasný odtok v termínu, u těhotenství staršího více než 37. týdnů (TPROM) a na předčasný odtok před termínem porodu, před 37. týdnem těhotenství (PPROM). Po odtoku plodové vody dochází ke kontaktu plodu s vnitřní brankou, následují děložní kontrakce, které obvykle vedou k předčasnému porodu (43, 44, 45).

K PROM dochází ve 4,5 – 14 % těhotenství z toho 1 – 3 % komplikací přísluší PPRM. PROM přináší velké riziko předčasného porodu a zvyšuje mateřskou a perinatální mortalitu i morbiditu. V USA tvoří přibližně 18 – 20 % perinatální mortality. V České republice se v současné době riziko PROM pohybuje okolo 3,7 %. Ohrožení novorozence závisí na výskytu komplikací v souvislosti s jeho nezralostí nebo vzniku infekcí. Po PROM dochází k porodu obvykle do 24 hodin, se zvyšující se dobou se zvyšuje i riziko infekce (42, 43, 45).

Mezi rizikové faktory PROM můžeme zařadit především infekce (sexuálně přenosné, například chlamydie, mykoplazmatické infekce, infekce způsobené viry a další). Dalším rizikovým faktorem je krvácení, předčasný porod u předcházejícího těhotenství, předčasná děložní činnost, vrozené vývojové vady dělohy, konizace neboli odstranění postižené tkáně děložního čípku, koitus, dále vícečetná těhotenství, kde se uvádí riziko 7 – 20 % u dvojčat. U invazivních zákroků provedených v průběhu těhotenství, jako je amniocentéza, odběr choriových klků nebo fetoskopie, může dojít k poškození membrán, ale k tomu dochází vzácně. Větším rizikem je PROM v předchozím těhotenství, kde je nárůst o 16 – 32 % oproti ženám bez předchozího PROM, které mají riziko okolo 4 % (42, 44, 45).

Nejvyšším rizikem PROM pro matku představuje infekce. U plodu je pak riziko především polymikrobiální infekce, komprese pupečníku, syndrom dechové tísně, intraventrikulární krvácení, nedostatečné vyvinutí plic, deformace kostí a také fetální úmrtí. Důležitou ochranou před infekcí plodu je vaginální mikroflóra, imunitní faktory děložního čípku a membránová bariéra. V plodové vodě jsou látky, které brání růstu bakterií a navíc je epitel placentárních klků schopný tyto škodlivé mikroorganismy zničit. Nejčastější šíření infekce je z dolního genitálního traktu na děložní čípek, dále na plodové obaly a plodovou vodu, kdy dochází k tzv. syndromu infikovaného amnia (SIA). To může dále dojít až k narušení plodových membrán a předčasnému odtoku plodové vody. Z infikované plodové vody se infekce dál šíří na plod a dochází k zánětlivé reakci tzv. syndrom fetální zánětlivé odpovědi neboli FIRS syndrom (fetal inflammatory response syndrome) (45, 74).

Důležitá je včasná diagnostika odtoku plodové vody a dále také vyloučení infekce. Velmi častou příčinou infekce jsou streptokoky skupiny B tzv. GBS skupina, proto se u všech těhotných ve 35. týdnu těhotenství provádí výtěr a následná kultivace na *Streptococcus agalactiae*. K předčasnému odtoku plodové vody a infekci dochází díky těmto mikroorganismům, jenž tvoří enzymy proteázu a lipázu a tím narušují povrch amnia. Při vzniku infekce je důležité stanovení prozánětlivých cytokinů zejména interleukin IL-6 a IL-1, TNF (tumor nekrotizující faktor), C-reaktivní protein (CRP), prokalcitonin, krevní

obraz a diferenciální rozpočet leukocytů. Odhalení infekce dříve než dojde k FIRS, za pomoci amniocentézy je někdy diskutabilní, jelikož se mikroorganismy mohou vyskytovat i v jiných částech pohlavního ústrojí než v plodové vodě. Infekce plodových obalů je průkaznější histologickou technikou než kultivací (18, 43, 74).

Při diagnostice PROM lze využít několik standardních vyšetření, jako je klinické vyšetření v zrcadlech, zobrazení přítomnosti plodové vody v poševní klenbě, biochemické vyšetření plodové vody a vyšetření pomocí ultrazvuku. Ultrazvukem se vyšetřuje poloha plodu a množství plodové vody. Dále se využívá amniocentéza, kdy se stanovuje IL-6 a bakteriální DNA nebo kultivace a pomocí PCR detekce mykoplazmat, což je nevýhodné kvůli časové náročnosti. Při průkazu odtoku plodové vody můžeme využít tzv. Temesváryho test, který je ale málo specifický. Využívá se barevné změny pH pomocí alkalické reakce plodové vody a 5% bromthymolu (43, 44).

Většina testů je založena na diagnostice jednoho nebo více biochemických markerů plodové vody v cervikálním hlenu. Jsou to například markery alfa-fetoprotein (AFP), fetální fibronektin (ffn), inzulínu podobný růstový faktor vazebného proteinu 1 (IGFBP-1), prolaktin, beta podjednotky lidského choriového gonadotropinu ( $\beta$ -hCG), dále například kreatin, močovina, laktát a placentární alfa-mikroglobulin-1 (PAMG-1) (45).

Jednou z možností rychlé detekce je pomocí tzv. PROM-testu, který imunochromatograficky detekuje vazebný protein pro IGF (insulin-like growth factor neboli inzulínu podobný růstový faktor). Jeho koncentrace v plodové vodě je 100 až 1 000 krát vyšší než v séru rodičky. Další jednoduchý a rychlý diagnostický test, který je používán stále častěji především v USA, se nazývá AmniSure ROM test. Je to jednoduchý neinvazivní imunologický test, jehož markerem je glykoprotein placenty PAMG-1 (placentární alfa-mikroglobulin-1). V plodové vodě je jeho koncentrace 1 000 až 10 000 krát vyšší než v cervikálním hlenu. Test se provede pomocí poševního výtěru a dále se výsledek odečte na imunologické destičce. Tento jednoduchý test je spolehlivý v širokém rozmezí těhotenství (11. – 42. týdnů) a s citlivostí 99 %. Anebo další varianta, kdy se aplikuje do plodové dutiny barvivo indigokarmín a únikem modré tekutiny do pochvy během 20 až 30 minut je diagnostikován PROM. Tento test je ovšem invazivní a je spojen s komplikacemi a infekcí (43, 45).

### **2.1.5. Vrozené vývojové vady**

Vrozené vývojové vady jsou defekty orgánů a odchylky od normálního prenatalního vývoje plodu. VVV narušuje strukturu nebo funkci orgánu či tkáně a objevuje se v průběhu

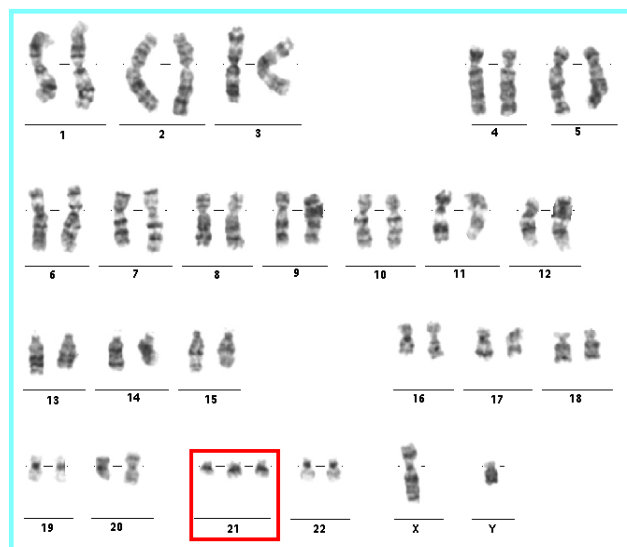
nitroděložního života. Vrozená vada může být identifikována v průběhu těhotenství, při narození nebo později v životě. Tyto vady se objevují přibližně u 3 % novorozenců. Podle WHO se odhaduje, že každý rok na celém světě umírá kvůli VVV okolo 276 000 dětí během čtyř týdnů po jejich narození (49, 50, 51).

Příčinou VVV mohou být změny genetické informace neboli mutace nebo faktory vnějšího prostředí. Tyto vnější vlivy mají teratogenní účinek, a tedy zvyšují pravděpodobnost vzniku vrozených vad. Následkem VVV může být dlouhodobé zdravotní postižení, které má dopad, jak na postiženého jednotlivce tak na jeho rodinu a celou společnost. Závažnost těchto vad se liší od nevýznamných kosmetických odchylek, až po vady neslučitelné se životem. Některým VVV se však dá předcházet, například pomocí očkování, dostatečného příjmu kyseliny listové a jódu. Důležitá je včasná detekce VVV, pomocí pravidelné kontroly a prenatalního screeningu těhotných žen (49, 50, 51).

Mezi nejběžnější a prenatalním screeninem nejsledovanější VVV patří Downův syndrom. Dále se vyskytuje například Edwardsův syndrom, Patauův syndrom, srdeční vady, defekty neurální trubice – spina bifida, anencefalie, encefalokéla a další závažné defekty (49, 51, 52).

### **Downův syndrom**

Downův syndrom je nejznámější syndrom způsobený chromozomální aberací, tedy abnormálním počtem chromozomů v karyotypu. Je způsoben trizomií 21. chromozomu viz obrázek č. 3, tedy přítomností tří chromozomu 21 v každé buňce těla. A je nejčastější vrozenou příčinou mentálního postižení. Příčinou tohoto syndromu je chybný rozestup chromozomu v průběhu prvního či druhého meiotického dělení. V prvotní buňce zůstane chromozom navíc a každá další buňka pokračuje v dělení s touto vadou. Velmi vzácně okolo 1 % je trizomie 21. chromozomu jen v některých buňkách těla v důsledku pozdějšího mitotického dělení a jedná se o tzv. mozaicismus (54, 56).



**Obrázek 3** Downův syndrom — trizomie 21. chromozomu (3).

Tento syndrom má za následek pomalejší vývoj buněk i celého jedince. Má významný dopad na rozvoj mnoha tkání především mozku a srdce. Dochází ke zmenšení objemu mozku, hippocampu a mozečku. Mezi typické rysy Downova syndromu patří vzhůru směřující oční štěrbina, epikantická kožní řasa, nízko posazené uši, velký jazyk, malý nos a ústa, široké ruce, krátké prsty, nižší a mohutnější postava, krátký krk, příčná rýha na dlani a různý stupeň mentální retardace. Dále se častěji vyskytují komplikace, jako jsou srdeční vady, horší funkce štítné žlázy, snížená imunita, poruchy zraku a sluchu. Je zde také zvýšené riziko nádorových onemocnění - leukémie a Alzheimerovy choroby, muži jsou neplodní a u žen je těhotenství ojedinělé. Průměrná délka života v ekonomicky vyspělých zemích je nyní nad 55 let. Nejčastější úmrtí je na vrozené vady srdce (53, 54, 55, 56).

Vznik Downova syndromu je většinou geneticky náhodný jev, jehož příčiny nelze léčit. Léčí se pouze jeho symptomy například operací srdečních vad. Avšak budoucí směr je zaměřen na farmakologickou léčbu pro zlepšení kognitivních funkcí. V nedávných studiích bylo na myších prokázáno, že řada sloučenin (např. pikrotoxin) zlepšuje učení i funkci hippocampu. Nejdůležitější je nadále včasná diagnostika a s tím spojená možnost přerušování těhotenství. V současné době je stále větší poptávka po tzv. neinvazivních prenatálně diagnostických testech (NIPT), které detekují volně cirkulující DNA plodu v krvi matky. Uvádí se, že je to jedna z nejpřesnějších metod detekce Downova syndromu. Tyto testy se také mohou nazývat jako tzv. Cell-free-DNA testy. Jejich nevýhodou je vysoká cena a odhalení pouze nejčastějších chromozomálních vad. Další významnou a neodmyslitelnou součástí detekce je běžný screening v prvním a druhém trimestru pomocí biochemických a ultrazvukových markerů. V případě pozitivního screeningu je doporučován odběr plodové

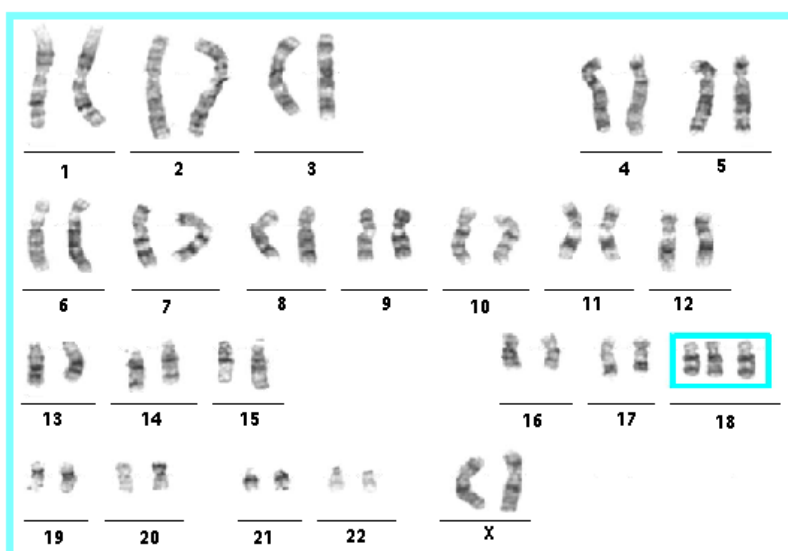
vody či choriových klků, a když dojde k potvrzení trisomie 21, je těhotné nabídnuto umělé ukončení těhotenství. (36, 53, 54, 56, 57).

Riziko výskytu Downova syndromu se prudce zvyšuje s přibývajícím věkem matky nad 35 let a otce nad 50 let. Na 800 až 1 000 dětí připadá podle statistik jedno dítě s Downovým syndromem. V České republice se narodí okolo 50 dětí ročně a ve světě je to přibližně 100 000 dětí s Downovým syndromem. Graf výskytu Downova syndromu v České republice v letech 1994 až 2011 je zobrazen v příloze F (54).

Podle epidemiologických analýz a statistik v České republice v letech 1994 až 2014, byl dosažen největší počet detekce Downova syndromu v roce 2014. V roce 2014 bylo hlášeno 281 případů Downova syndromu, z toho 265 (94 %) případů bylo zachyceno prenatalně a z toho u 259 případů bylo požádáno o přerušování těhotenství. Celkový záchyt Downova syndromu tedy v posledních letech roste, především díky včasné diagnostice pomocí screeningových metod, kdy až 75 % případů je zachyceno v I. trimestru těhotenství (36).

### Edwardsův syndrom

Edwardsův syndrom je způsoben trizomií 18. chromozomu, viz obrázek č. 4. Je to druhá nejčastější vada v numerické odchylce autozomů hned po Downově syndromu. Nejčastější formou je úplná trizomie 18 (94 % případů), kdy každá buňka těla obsahuje 3 kopie chromozomu 18. Dále se vyskytují také mozaiky jako u Downova syndromu



Obrázek 4 Edwardsův syndrom — trizomie 18. chromozomu (4).

nebo také částečná trizomie 18q (58).

Četnost výskytu u novorozenců se odhaduje na 1:6 000 až 1:8 000 avšak celkový výskyt v populaci je mnohem vyšší okolo 1:2 500 až 1:2 600 v důsledku zvyšujícího se věku rodiček. V případě dalšího těhotenství je riziko opakování této vady asi 1 % (58).

Novorozenci s touto vadou se vyznačují nízkou porodní váhou, zpomaleným vývojem, vadami srdce, ledvin a centrálního nervového systému, rozštěpem rtu nebo patra, duševní zaostalostí, dále mají malou abnormálně tvarovanou hlavu, malou čelist i ústa, nízko posazené ušní boltce. Výrazným znakem jsou sevřené pěsti, kdy ukazováček a malíček překrývá ostatní prsty a také výrazná „opičí“ rýha na dlani. Chodidla mají ve tvaru „houpacího křesla“, kde výrazně vystupují paty (55, 59).

Častou komplikací těhotenství je zaostávání růstu plodu, vysoké riziko potratu nebo porození mrtvého plodu. Průměrná doba života je okolo 2 měsíců, 30 % postižených umírá během prvního měsíce, pouze 10 % přežívá jeden rok. K hlavním příčinám úmrtí novorozence patří srdeční selhání v důsledku srdečních vad a dechová nedostatečnost. Důležitá je opět včasná detekce pomocí prenatalního screeningu a možnost ukončit těhotenství. Sledují se markery lidského choriového gonadotropinu, nekonjugovaného estriolu a alfa-fetoproteinu, jejichž hladiny jsou výrazně nižší než u fyziologického těhotenství. A součástí je i ultrazvukové vyšetření, kde je patrné nahromadění malého množství tekutiny v záhlaví plodu neboli nuchální translucence a nepřítomnost nebo špatné vyvinutí nosní kosti. Tento ultrazvukový screening indentifikuje 66,7 % případů Edwardsova syndromu (58, 59).

### **Ostatní vrozené vývojové vady**

K numerickým odchylkám autozomů patří také Patauův syndrom způsobený trizomií 13. chromozomu, s výskytem 1:20 000 až 1:25 000. Objevují se zde časté rozštěpy patra a rtu, nadměrný počet prstů, anomálie obratlů, špatné postavení ušních boltců, těžké VVV vnitřních orgánů, hluchota a různé stupně mentálního postižení. Okolo 50 % novorozenců umírá do konce prvního měsíce po narození (55, 60).

Mezi významné numerické odchylky gonozomů patří Turnerův syndrom, což je vada způsobená chyběním jednoho pohlavního chromozomu X u ženy, čili karyotyp 45, X. Frekvence výskytu je 1:2 500. Tyto ženy se vyznačují nízkým vzrůstem, širokým hrudníkem, kožní řasou v oblasti krku a ramen a také srdečními vadami a sterilitou. Není zde porucha intelektu, ale pouze porucha zraku a motoriky. Dále sem patří Klinefelterův syndrom je to vada způsobená nadpočetným chromozomem X u muže, karyotyp tedy 47, XXY. Frekvence vady je 1:2 000. Znakem této vady je vysoká hubená postava, neplodnost,

zmenšené pohlavní orgány, zvětšená mléčná žláza, snížená mentalita a poruchy učení. V naprosté většině těchto případů končí těhotenství spontánním potratem (55, 61, 62).

Další závažné vady jsou defekty neurální trubice, které patří mezi malformace mozku a míchy. Ve většině případů tyto vady končí úmrtím. Prevencí těchto vad je podávání vitamínů. Především kyseliny listové, jak už bylo zmiňováno, nejlépe už před otěhotněním a v průběhu těhotenství. Důležité jsou screeningové metody – vyšetření hladiny alfa-fetoproteinů a vyšetření ultrazvukem. Tyto defekty řadíme do skupiny rozštěpových vad centrálního nervového systému, kam patří anencefalie neboli nevyvinutí mozku, spina bifida neboli rozštěp páteře, encefalokéla neboli výhřez tkání CNS a kraniorachischízu neboli rozštěp páteře a lebky. Největší zastoupení má spina bifida 50% a anencefalie zhruba 40 % (63).



### 3. Plodová voda

Plodová voda (*liquor amnii*) je čirá nebo lehce mléčně zakalená tekutina (může být zbarvena bilirubinem nebo mekoniem). Je slabě alkalická (pH 7,1 až 7,3). Obsahuje z 99 % vodu a dále glukózu, bílkoviny, močovinu, kreatinin, lipidy, minerální látky, odloupané epiteliální buňky plodu, mázek a chloupky lanuga. V plodové vodě jsou tedy jednak epitelové buňky, ale také fibroblasty fetální kůže plodu, které se získávají amniocentézou, a po jejich kultivaci se určuje karyotyp plodu. Plodová voda vyplňuje amniální dutinu a vytváří ideální podmínky pro růst a vývoj plodu (1, 2, 4).

Na tvorbě plodové vody se podílí mateřská plazma přímou filtrací, fetální plazma průnikem kůže plodu, filtrace z pupečníku, sekret z trávicího a dýchacího ústrojí a později přispívají k tvorbě i ledviny plodu. Od 12. týdne do plodové vody přechází moč plodu, nastává cirkulace, plod ji polyká, vstřebává z trávicího ústrojí a vylučuje ledvinami. Obměna plodové vody je koncem těhotenství cca 500 ml za 24 hodin. Množství plodové vody je ve 20. týdnu asi 500 ml, v 38. týdnu se zvyšuje na 1000 až 1500 ml. Na konci 40. týdne opět klesne na 800 až 1000 ml, to může naznačovat začátek porodu, důsledkem zmenšení fyziologické placentární funkce (4, 22).

Množství plodové vody se v praxi hodnotí nejčastěji odhadem za pomoci ultrazvuku. Normální množství je takové, kdy má plod dostatek prostoru na pohyb. Pro přesné určení množství se používá index plodové vody neboli AFI (amniotic fluid index). Kdy se měří velikost vertikálních dep plodové vody ve čtyřech kvadrantech – nahoře a dole, vlevo a vpravo v centimetrech. Normální hodnota AFI se pohybuje mezi 12 – 24 cm. Za oligohydramnion je považována hodnota AFI menší než 5 cm, za polyhydramnion hodnota nad 24 cm nebo jeden vertikální pól větší než 8 cm viz příloha G (29, 30).

Koncem těhotenství ubývá elektrolytů a zvyšuje se koncentrace fosfolipidů, což se využívá ke stanovení zralosti plodu. Zvyšuje se také koncentrace močoviny, kreatininu a močové kyseliny s vývojem funkce ledvin plodu. Bilirubinu fyziologicky ubývá, výjimky jsou u fetální hemolýzy při Rh izoimunizaci (4, 21).

Snížené množství plodové vody pod 500 ml se nazývá oligohydramnion bývá u preeklampsie, placentární insuficience a přenášení. Při diagnostice je důležité vyloučit vrozené vývojové vady plodu spojené s poruchou tvorby nebo vylučování moči (nevyvinutí ledvin, neprůchodnost močových cest). Naopak zmnožení plodové vody nad 2000 ml se označuje jako polyhydramnion. I zde je nutné vyloučit vrozené vývojové vady plodu spojené s poruchou pasáže trávicím traktem, fetální anémií nebo infekcí plodu (21, 29).

### 3.1. Funkce plodové vody

Plodová voda tvoří ochranné prostředí pro plod a zajišťuje jeho nerušený vývoj. Rovnoměrně rozepíná děložní svalovinu, chrání placentu před tlakem plodu a tím usnadňuje placentární cirkulaci. Plodová voda má význam pro látkovou výměnu plodu, utváří součást vnitřního prostředí plodu a aktivně se podílí na jeho metabolismu. Dále chrání plod před traumatem zvenčí, chrání také matku před bolestivými pohyby a umožňuje pohyb i samotnému plodu. Při porodu slouží jako dilatátor dolního děložního segmentu, děložního hrdla, děložní branky a zvlhčuje porodní cesty. Reguluje vodní hospodářství i přísun minerálních látek a má baktericidní účinky. Pomocí chemických a genetických vyšetření plodové vody můžeme diagnostikovat stav plodu a za použití amniocentézy (odběr plodové vody) určit karyotyp plodu a odhalit případnou vrozenou vadu (1, 2, 33)

### 3.2. Využití plodové vody

Plodová voda se využívá v prenatální diagnostice, kde pomáhá sledovat vývoj plodu či odhalit onemocnění ohrožující zdraví a život plodu. Odběr plodové vody neboli amniocentéza (AMC) je nejčastěji využívaná invazivní metoda. V praxi se nejvíce využívá v cytogenetické diagnostice, tedy k detekci VVV plodu, proto toto téma bude probráno podrobněji. Vyšetřením plodové vody můžeme vyloučit chromozomální nebo metabolické abnormality u plodu ve II. trimestru od 15. týdne gravidity, odběr před 15. týdnem je pro vyšší riziko komplikací kontraindikován. Plodová voda se používá nejen k vyšetření genetickému, ale i biochemickému, cytologickému a mikrobiologickému. Cytogenetická a biochemická diagnostika je zaměřena především na zjišťování VVV a dědičných poruch metabolismu. Mikrobiologická analýza se provádí pro průkaz infekce nebo zánětu a určení jeho původce, což se hojně využívá při diagnostice předčasného porodu nebo u PPRM (4, 9, 22).

Poprvé byla amniocentéza popsána v roce 1952 Bevisem a Manem. V roce 1966 byla provedena první chromozomální analýza z plodové vody a o dva roky později byla úspěšně provedena prenatální diagnostika Downova syndromu. V Čechách byla amniocentéza zavedena do praxe začátkem sedmdesátých let MUDr. Břešťákem a jeho spolupracovníky (4, 22).

Plodová voda je složena z různých typů fetálních buněk, které jsou získané amniocentézou, pro rutinní prenatální screening dědičných chorob. I když je tato rutinní diagnostika dobře zavedena v praxi, je známo jen málo o původu a vlastnostech těchto buněk. Tyto buňky lze velmi snadno kultivovat a mají i potenciální využití jako kmenové buňky.

Bylo zjištěno, že některé subpopulace kmenových buněk plodové vody jsou schopné rozsáhlé sebeobnovy a udržení dlouhodobého nediferencovaného růstu, ale nevyvolávají tvorbu nádorů. Buňky mají potenciální schopnost diferencovat do kostních, tukových nebo chrupavkových linií. Jelikož tyto buňky nejsou používány pro karyotypyzaci, jsou obvykle vyřazeny a mohou tedy představovat alternativní zdroj kmenových buněk pro buněčnou terapii nebo v regenerativní medicíně (31, 32).

Buňky obsažené v plodové vodě se vyšetřují cytogeneticky, kdy se stanovuje karyotyp. Nebo také imunofluorescenčně (pomocí genové detekce imunofluorescenčních sond) molekulární biologickou analýzou DNA, za pomoci metod PCR – polymerázová řetězová reakce nebo FISH – fluorescenční in situ hybridizace. Podle použité sondy lze diagnostikovat konkrétní poruchy (trizomie 21, 13, 18, monozomie X) (4, 9).

V cytogenetických laboratořích se plodová voda nejčastěji zpracovává dvěma postupy. A to buď přímým zpracováním nekultivovaných amniocytů pro FISH vyšetření nebo standardním vyšetřením karyotypu z plodové vody po kultivaci (24).

### **3.2.1. Amniocentéza**

Indikace k provedení amniocentézy je věk matky nad 35 let, věk otce nad 50 let, pozitivní triple test, rodiče s abnormálním karyotypem, zjištěné vrozené poruchy metabolismu, předchozí porod nebo potrat plodu s chromozomální abnormalitou, patologický vývoj plodu zachycený ultrazvukem a další odchylky (9).

Jedním z nejčastějších důvodů provedení této metody je, jak už bylo řečeno, určení karyotypu plodu a zejména vyloučení trizomie 21. Poruchy monogenně dědičné (mutace v jediném genu) se vyšetřují nejčastěji pomocí biopsie choriových klků (CVS) mezi 9. až 12. týdnem těhotenství. Ale u těhotných, u kterých nebylo možné provést tento odběr, je možné provést tzv. časnou amniocentézu, která se provádí před 16. týdnem těhotenství. Vzhledem k vyššímu riziku časného odběru AMC se v současnosti odběr neprovádí. Tato metoda představuje zvýšené riziko vad dolních končetin plodu a nadměrně vysoké riziko potratu (9, 21, 35).

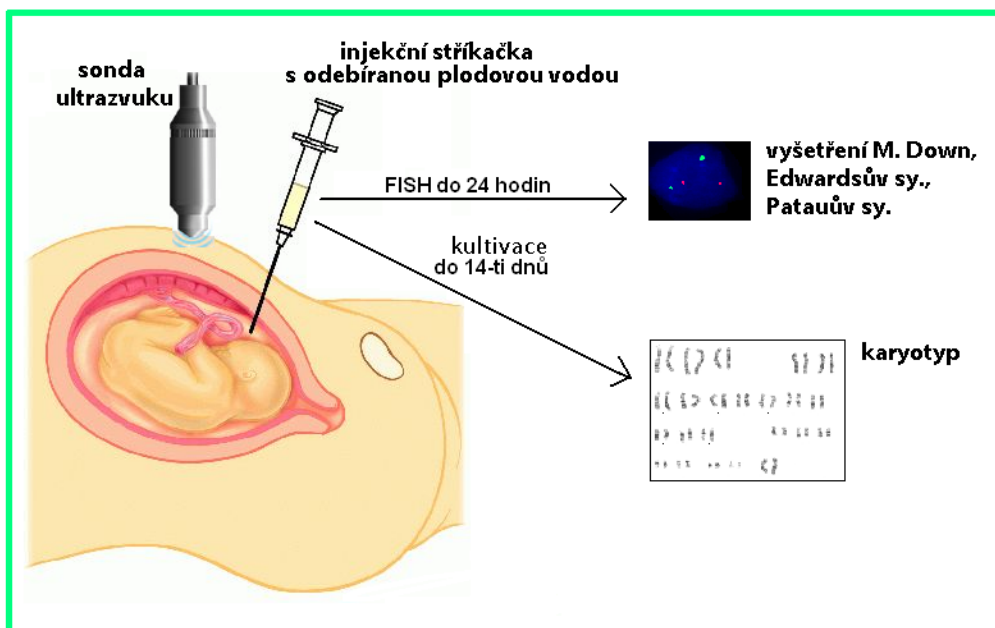
Před provedením amniocentézy je pacientka poučena o možnostech rizik a komplikací spojené s odběrem a podepisuje informovaný souhlas. Odběr je nejlépe provést mezi 16. – 18. týdnem těhotenství. Přerušeno těhotenství je možné až na výjimky do konce 24. týdne. To je důležité brát v úvahu v případě pozdějšího odběru, jelikož samotná kultivace, zpracování a vyhodnocení preparátu trvá 10 až 17 dní (24).

Za pomoci ultrazvuku (UZ) se stanoví gestační věk, životaschopnost a anatomie plodu a lokalizuje se placenta. Dále se vyšetří množství plodové vody a vyhledá se její největší dostupný volný objem. Odběr se provádí punkcí přes stěnu břišní při stálé kontrole ultrazvukem, aby nedošlo k poranění plodu, viz obrázek č. 5. Zásadou správného provedení je sterilní technika. Břišní stěna těhotné je dezinfikována 1% Jodisolem nebo Cutaseptem. Lokální anestezie není nutná, díky ostrosti jehel, která vylučuje bolestivost vpichu. Zákrok lze přirovnat k odběru krve ze žíly nebo injekci do svalu. K aspiraci plodové vody se používají dlouhé spinální jehly, délky 9 nebo 12 cm. Vpich se nejčastěji provádí z volné ruky a poloha hrotu je neustále pod kontrolou ultrazvuku. První 1 – 2 ml je nutno odstranit, neboť může znehodnotit vzorek mateřskými buňkami. Dále je potřeba odebrat minimálně 10 ml. Standardně se odebírá do dvou zkumavek celkem 20 ml plodové vody. Pro vyšetření metodou FISH se odsává 25 ml plodové vody. Toto množství se do několika hodin opět obnoví. Po odběru se kontroluje srdeční činnost plodu. U Rh-negativních žen se aplikuje imunoglobulin anti-Rh (D). Po zákroku odchází těhotná s doprovodem domů a jeden až dva týdny se tělesně šetří. Vzorek je opakovaně kontrolován, identifikován a ihned transportován do cytogenetické laboratoře (22, 24, 35).

Možné problémy při odběru plodové vody představují například obézní pacientky, u nichž by mohla být jehla příliš krátká. Zde se postupuje tak, že se změří vzdálenost od okraje sondy ke středu ložiska plodové vody a použije se jehla delší. Dalším problémem je placenta na přední straně, kdy se musí provést transplacentární punkce, v důsledku toho se může objevit krev ve vzorku. Dále je důležité před vyšetřením zkontrolovat ultrazvukem plod, v případě dvojčat zaznamenat jejich polohy, oddělující membrány a místo uložení placenty, aby nedošlo k odebrání toho samého vzorku (35). Po zákroku se může objevit slabé krvácení nebo částečné odtékání plodové vody. Příčinou je většinou porušení amniální membrány a vyskytuje se ve 2 – 4 %. V tomto případě je důležitý klidový režim s případnou hospitalizací a sledování markerů infekce (leukocyty, diferencíál, C-reaktivní protein) a nadále sledovat ultrazvukem množství plodové vody a vývoj plodu (9, 22).

Další komplikace, které mohou nastat, je předčasné odlučování placenty, zánět plodových obalů a poranění plodu jehlou (ve velmi vzácných případech). Krev v plodové vodě je příměs mateřské krve po transplacentárním vpichu a vyskytuje se v 1 – 2 %. Hnědočerná plodová voda naznačuje starší krvácení, infekci nebo VVV. Zelená plodová voda s příměsí mekonie je u chronické hypoxie plodu. Také riziková anamnéza pacientky (předešlé potraty, léčená sterilita, krvácení v I. trimestru) přispívá k riziku spontánního potratu (9, 22, 24, 33).

Podle analýzy kontrolovaných studií z Velké Británie je riziko potratu po provedené AMC a CVS mnohem menší, než se v současné době uvádí. Studie zahrnuje 42 716 žen, které podstoupily amniocentézu, z nichž 324 prodělaly potrat a 8 899 žen, které podstoupily odběr choriových klků, z nichž 207 žen potratilo. Riziko potratu před 24. týdnem u žen, které podstoupily AMC a CVS bylo 0,81% a 2,18% oproti ženám, které nepodstoupily žádné invazivní metody, u nichž bylo riziko 0,67% a 1,79% oproti AMC a CVS. Výsledky této studie ukazují, že riziko potratu po AMC nebo CVS není výrazně odlišné od těch, které nepodstoupily žádnou invazivní metodu. Odhad rizika připadající na invazivní postup je 0,1% pro amniocentézu a 0,2% pro CVS (37).



**Obrázek 5** Amniocentéza a následné vyšetření chromozomů plodu (5).

## **4. Prenatální diagnostika**

Prenatální diagnostika je soubor metod sloužící k sledování celkového vývoje plodu, je schopná odhalit odchylky ve vývoji a detekovat VVV či jiné závažné komplikace u ještě nenarozených dětí. Česká republika patřila k prvním zemím v Evropě, kdy v roce 1971 byla prenatální genetická diagnostika zavedena do klinické praxe. Nyní tvoří prenatální diagnostika a terapie nový obor nazývaný fetální medicína. Prenatální diagnostika zajišťuje invazivní a neinvazivní metody, které umožňují hodnotit stav a vývoj plodu po celou dobu těhotenství (22).

Prenatální screening je jednoduché a dostupné vyšetření, zaměřené na detekci závažných vad plodu. Biochemický a ultrazvukový screening umožňuje zachytit geneticky rizikové těhotenství už od prvního trimestru. U těhotné se nejprve provádí všeobecný screening, který je součástí všeobecné anamnézy, kde se mohou odhalit případné rizikové faktory. Zjišťuje se věk, výška, váha, povolání, počet předchozích porodů a porodnických komplikací, zdravotní stav, infekce, onemocnění v rodině, krevní obraz, vyšetření moče, krevní skupina a Rh faktor, krevní tlak a další. Na všeobecný screening navazuje screening specifický, kde se provádí speciální vyšetření zaměřená na zjištěné rizikové faktory. Prenatální vývoj a jeho poruchy, lze sledovat s minimálním rizikem pro matku a plod za pomoci nejmodernějších ultrazvukových, cytogenetických a biochemických metod a metod molekulární genetiky (9, 22, 64).

Každá těhotná žena má právo v rámci komplexní prenatální diagnostiky být informována o všech současných možnostech provádění screeningu VVV. V každém těhotenství bývá riziko VVV okolo 3,5 %. Tyto vady mohou být drobné neohrožující život plodu nebo závažné, které jsou neslučitelné s životem. Efektivita screeningu se pozná podle toho, jak velkou část postižených screening odhalil, tedy jakou má screening citlivost. Falešná pozitivita screeningu by měla být nižší než 4 % a citlivost by měla být vyšší než 90 % (21, 65,66).

### **4.1. Prenatální screening vrozených vývojových vad plodu**

Prenatální screening za pomoci biochemických markerů je významnou součástí detekce určitých vrozených vývojových vad. Biochemický screening se vzájemně doplňuje s ultrazvukovým screeningem a zvyšuje se tak efektivita detekce VVV. Biochemické markery se zjišťují ze séra těhotných žen, nejčastěji mezi 5. až 17. týdnem gravidity. Mezi stanovované biochemické markery patří především alfa-fetoprotein (AFP), lidský choriový gonadotropin (hCG), nekonjugovaný estriol (uE3) a další. Pomocí počítačového

systemu, kde se jednotlivé hodnoty vztahují na týden těhotenství, hmotnost, věk těhotné a ultrazvukovém vyšetření, se vyhodnotí individuální riziko VVV plodu. V případě patologického nálezu se přistupuje k invazivním metodám a při jeho ověření se doporučuje umělé přerušení těhotenství (21, 22).

Při screeningovém vyšetření VVV v I. a II. trimestru se používají, jak už bylo řečeno biochemické a ultrazvukové metody. V I. trimestru těhotenství se provádí tzv. kombinovaný test, ve II. trimestru těhotenství tzv. triple test a ve III. trimestru těhotenství se už provádí pouze ultrazvukový screening. Vyhledávají se rizikové faktory hlavně pro vady chromozomální trizomie 21, trizomie 18 a 13 a při jiné indikaci také pro defekty neurální trubice, rozštěpy břišní stěny, vady metabolismu (vada metabolismu cholesterolu – Smith-Lemli-Opitzův syndrom), srdeční vady a jiné porodnické komplikace v těhotenství (21, 65, 66).

Prenatální diagnostika se dělí na metody neinvazivní neboli tzv. screeningové metody, kam řadíme biochemické vyšetření krevního séra matky a ultrazvuk. Dále na metody invazivní, které jsou cílené, do nichž spadá amniocentéza, odběr choriových klků, kordocentéza a fetoskopie. A speciální metody například preimplantační diagnostika embryí (67).

## 5. Biochemické vyšetření z krve těhotné

### 5.1. Kombinovaný test v I. trimestru

Screening v prvním trimestru se označuje jako tzv. kombinovaný test a skládá se z ultrazvukového vyšetření kombinované se stanovením biochemických markerů v séru těhotné ženy, viz příloha I. Celý test probíhá mezi 10. – 14. týdnem těhotenství. Výhodou tohoto testu je, že má vysokou citlivost a odhalí případná rizika VVV plodu – trizomii 21, 18 a 13. Je celosvětově nejvíce rozšířenou metodou screeningu (57, 67, 68).

V 10. – 13. týdnu těhotenství se odebere ženě krev pro stanovení PAPP-A a free-beta-hCG. Tyto hormony jsou vytvářeny placentou a přestupují do mateřské krve. Abnormální hladina těchto hormonů značí těhotenství s Downovým syndromem. V 11. – 14. týdnu těhotenství se provádí ultrazvukové vyšetření, při kterém se sleduje nuchální translucence (šíjové projasnění) a přítomnost nosní kůstky, posuzuje se velikost plodu a jeho srdeční činnost. Je-li výsledek vyšetření vyhodnocen jako negativní, ale riziko je 1 : 101 až 1 : 1 000 prokazuje se ještě trikuspidální regurgitace. Jde o vyšetření zpětného toku krve přes trojcípou srdeční chlopuň za pomoci ultrazvuku (57, 67, 68, 69).

Podle věku matky a výsledků kombinovaného testu se určí riziko genetické vady. V případě pozitivity testu je vyšší riziko narození dítěte s Downovým syndromem a provádí se odběr choriových klků. Výhodou toho screeningu je rozpoznání Downova syndromu již v 13. týdnu těhotenství a možností časného ukončení těhotenství. Nevýhodou je 85 % spolehlivost oproti citlivějšímu integrovanému testu se spolehlivostí 90 %. Další nevýhoda je nejednoznačnost karyotypu při CVS, jelikož je vzorek z tkáně placenty a ta ve 2 % nemusí mít stejnou chromozomální výbavu jako plod. Vyšetření je považováno za nadstandard a není hrazeno zdravotními pojišťovnami. Cena tohoto kombinovaného testu se pohybuje okolo 1 400 Kč (57, 67, 68, 69).

### 5.2. Triple test v II. trimestru

V druhém trimestru se vyšetřují tři biochemické látky a tento test se nazývá, tzv. triple test. Z odběru krve ženy v 16. – 18. týdnu těhotenství se určují hladiny látek AFP, hCG a uE3. Triple test již není nejefektivnější test pro screening Downova syndromu, přesto má stále své místo v rutinní praxi. Díky triple testu můžeme posoudit zralost plodu, jeho stav a funkci placenty. Spolehlivost zachycení postiženého plodu je okolo 70 %, falešná pozitivita se pohybuje na 5 %. Oproti jiným testům je méně citlivý, ale je jednoduchým řešením pro ženy ve vyšším stadiu těhotenství. Při prokázání pozitivity testu následuje amniocentéza.



Výhodou triple testu je, že jeho výsledky mohou být použity do tzv. integrovaného testu. Kde se spojí výsledky z I. trimestru a II. trimestru, doplněného o ultrazvukové vyšetření. Při ultrazvukovém vyšetření se sleduje růst plodu, srdce, kostra, trávicí a nervový systém, končetiny, umístění placenty a množství plodové vody. Další výhodou je, že triple test obsahuje AFP marker, díky němuž lze detekovat defekty neurální trubice již v 16. týdnu. Tento test je zdarma, cena je hrazena zdravotní pojišťovnou (21, 69, 70, 71).

### **5.3. Ultrazvuk ve III. trimestru**

Ve třetím trimestru těhotenství se provádí pouze ultrazvukový screening. Vyšetření ultrazvukem se provádí ve 30. až 32. týdnu těhotenství. Vyšetřuje se především biometrie plodu, kde se hodnotí velikost plodu, velikost a tvar vnitřních orgánů, uložení a funkce placenty a množství plodové vody. Pomocí biofyzikálního profilu se stanovuje také aktivita plodu (72).

### **5.4. Ostatní biochemické metody**

#### **5.4.1. Integrovaný test**

Integrovaný test patří mezi další velmi efektivní metody detekce Downova syndromu. U toho testu se stanovuje riziko genetické vady na základě věku těhotné, výsledků biochemického screeningu v I. trimestru (PAPP-A, beta-hCG), změření nuchální translucence a biochemického screeningu v II. trimestru (uE3, AFP). Integrovaný test má vyšší senzitivitu než kombinovaný test. Jeho senzitivita dosahuje při 5 % falešných pozitivních výsledků až 95 %. Při pozitivním nálezu opět následuje amniocentéza. Nevýhodou tohoto testu je získání výsledků až ve II. trimestru, jelikož se musí hodnotit výsledky I. a II. trimestru současně, jinak by dosahovaly vysoké falešné pozitivivity. Další zásadní nevýhodou je, že výsledky z I. trimestru a ultrazvukového vyšetření se nesmí interpretovat samostatně hned po vyšetření, což je v praxi těžko proveditelné. Vyšetření není hrazené zdravotní pojišťovnou, cena se pohybuje okolo 215 Kč (57, 69, 73).

#### **5.4.2. Sekvenční test**

Tento test udává riziko genetické vady na podkladě stejných markerů jako u integrovaného testu. Hlavní rozdíl mezi těmito testy je v tom, že po provedení kombinovaného testu v I. trimestru těhotenství se výsledek rodičce sděluje. Při pozitivním výsledku kombinovaného testu podstoupí těhotná žena odběr choriových klků. Těhotná s negativním kombinovaným testem následně podstoupí biochemický screening

ve II. trimestru těhotenství (beta-hCG, uE3, AFP). Při pozitivním výsledku sekvenčního testu následuje amniocentéza. Nevýhodou je vysoká falešná pozitivita okolo 10 % a s tím spojený nárůst počtu invazivních výkonů. Ani toto vyšetření nehradí zdravotní pojišťovna a cena je okolo 880 Kč (69, 73).

### 5.4.3. Cell-free-DNA testy

V současné době se uvádí, že Cell-free-DNA testy, nazývané také jako neinvazivní prenatalní testování (NIPT) je nejpřesnější a bezpečnou metodou pro odhalení Downova syndromu a dalších vývojových vad plodu (trizomie 18, 13). Srovnání postupu klasických biochemických testů a NIPT je zobrazeno v příloze H. Tyto testy lze provést od 9. týdne těhotenství, kdy se odebere vzorek krve těhotné ženy a izoluje se z ní volná DNA jejich plodu. Pro provedení NIPT je potřeba odebrat dostatečné množství DNA plodu, což je nazýváno jako tzv. fetální frakce, která musí dosahovat minimálně 2,8 %. Bylo zjištěno, že do periferní krve těhotné se dostávají fetální buňky, například buňky trofoblastu a jaderného erytoblastu. Tyto fetální buňky pocházejí ovšem z placenty, nikoliv však ze samotného plodu. Dle provedení metody můžeme určit 3 NIPT testy. První druh NIPT testu se provádí pomocí srovnávání výchozích chromozomů s vyšetřovanými chromozomy, kde za pomoci paralelního sekvenování DNA se srovnává poměr počtu náhodných sekvencí. Velká nevýhoda těchto testů spočívá v neschopnosti spolehlivě oddělit fetální DNA od té mateřské (u chlapců s Y specifickým DNA je test spolehlivější). Tuto metodu v Čechách nabízí test Prenascan, Materni T21 a Veriti test (Illumina). Další druh NIPT je principiálně stejný s prvním testem, akorát se u něho provádí ještě analýza tzv. SNPs (single nucleotide polymorphism neboli jednonukleotidový polymorfismus), který vychází z odchylek v DNA. Tento test je specifitější jelikož SNPs markery dokáží odlišit fetální frakci od té mateřské. Tento test má ovšem falešně negativní i falešně pozitivní výsledky, stejně jako u prvního testu, jelikož i vyhodnocení je na základě stejného principu. V praxi se používají testy Harmony nebo Clarigo. Poslední druh testu vychází pouze z hodnocení SNP markerů, tudíž jako jediný dokáže se spolehlivostí odlišit fetální frakci od mateřské. Tento test patří k nejlepším testům z NIPT a v praxi je znám pod názvem Panorama test. Další nevýhodou těchto testů je vysoká cena, která se pohybuje od 12 000 do 26 500 Kč, delší čekání okolo 7-14 dní na výsledek testu a to, že odhalí pouze nejčastější typy VVV. V České republice se již tyto testy provádí a je jen otázkou času, kdy se zavedou do běžného prenatalního screeningu. Avšak žádný z testů by neměl nahrazovat důležité ultrazvukové vyšetření (22, 57, 77).

## 6. Biochemické vyšetření plodové vody

Mezi významné metody prenatalní diagnostiky patří biochemické vyšetření plodové vody. Důvodem k biochemickému vyšetření, jak už bylo řečeno výše, je pozitivní triple test. Tomuto vyšetření předchází odběr plodové vody, který se provádí ve II. trimestru gravidity tedy nejčastěji mezi 16. – 18. týdnem. Vyšetření pomáhá diagnostikovat dědičné poruchy metabolismu, cystické fibrózy, poruchy uzávěru CNS a další VVV. Dále také pomáhá sledovat a hodnotit vývoj plodu a průběh těhotenství. Mezi základní a ověřené biochemické markery plodové vody patří alfa-fetoprotein (AFP) a acetylcholinesteráza (ACHE) (22, 24).

### 6.1. Alfa-fetoprotein

Alfa-fetoprotein je specifický glykoprotein plodu a slouží jako přenašeč hydrofobních látek. Jelikož má stejnou úlohu jako albumin, bývá někdy nazýván jako fetální albumin. Jeho syntéza probíhá už od 29. dne v buňkách žlutého tělíska a později hlavně v játrech plodu. U dospělého člověka probíhá syntéza AFP minimálně. Hladina AFP v plodové vodě je úměrná vývoji syntézy u plodu. Hladina AFP v mateřském séru se pomalu zvyšuje do 28. až 32. týdne těhotenství, poté jeho hladina rychle klesá až do období porodu. Přes placentu AFP přechází do séra matky, a tedy slouží jako marker patologické propustnosti fetoplacentární bariéry a ukazuje metabolickou aktivitu plodu. AFP přechází z otevřené nervové trubice do plodové vody a krve matky a jeho zvýšené hodnoty ukazují na poruchy uzávěru CNS. Je potvrzené, že AFP spolehlivě diagnostikuje anencefalii a spinu bifidu (22, 40, 67).

Pro správnou diagnostiku je důležité znát stáří plodu, které se určí pomocí ultrazvuku a porovnat hladiny AFP plodu s jejich danou normou podle gestačního týdne. Při amniocentéze mezi 13. až 15. týdnem se vyskytuje falešná pozitivita u 0,7 % případů. Mezi 18. až 21. týdnem falešná pozitivita stoupá na 1 % a po 21. týdnu až na 1,5 %. Ve III. trimestru jsou odchylky ještě větší a proto je nutné vyšetření doplnit o ACHE a ultrazvuk, tím se falešná pozitivita sníží až na 0,002 % (22).

Při zvýšené hladině AFP je spolehlivě detekováno mezi 13. až 24. týdnem 98,2 % anencefalií, při odběru v 16. až 18. týdnu se detekce zvýší na 99 %. U spina bifida je také detekce 99 % v 16. až 18. týdnu. Zvýšená hladina AFP se může vyskytovat i u Turnerova syndromu, Meckelova syndromu (encefalokéla, polycystické ledviny, polydaktylie), dále také u omfalokély neboli defektu břišní stěny, vyskytuje se i u potratu nebo úmrtí plodu. Snížené hodnoty AFP se vyskytují u Edwardova a Downova syndromu. U takto rizikových těhotenství je nutné provést ještě cílený ultrazvuk plodu. Při hodnocení hladin AFP se hodnotí i barva

vzorku plodové vody. Zvýšené hladiny AFP a hnědá barva vzorku poukazuje na rizikový průběh gravidity, zelená barva vzorku svědčí o přítomnosti smolky a zvyšuje riziko úmrtí plodu (22, 67).

## **6.2.Acetylcholinesteráza**

Acetylcholinesteráza (ACHE) je serinová hydroláza, která se vyskytuje u nervosvalových a cholinergních synapsí v mozku. Jeho hlavní úlohou je ukončení přenosu impulzu v cholinergních synapsích hydrolýzou neurotransmiteru acetylcholinu na acetát a cholin. Tento enzym má vysokou specifickou katalytickou aktivitu, která se využívá při vyšetření plodové vody. Zvýšená hladina AFP a ACHE v plodové vodě nasvědčuje těžkým VVV plodu. Vyšetření ACHE je možné provést od 11. až 20. týdne s vysokou diagnostickou přesností bez falešné pozitivivity. Určité riziko falešné pozitivivity může být po 24. týdnu těhotenství, jelikož může být vzorek kontaminován krví matky. Výhodou vyšetření aktivity ACHE je přesnost diagnostiky, která se v průběhu II. trimestru těhotenství prakticky nemění. Tato přesnost byla zjištěna i ve III. trimestru, a proto se aktivita tohoto enzymu může stanovit až do konce těhotenství. Vyhodnocuje se nejenom aktivita ACHE, ale i elektroforetický průkaz jejích izoenzymů, kdy nález dvou linií je označen za patologický a nález jedné silnější linie naznačuje zvýšené riziko VVV (22, 34).

Pomocí aktivity ACHE se detekuje u plodu okolo 98,6 až 99,7 % anencefálie a spina bifida a okolo 69 až 95 % encefalokéla. Pro vyšetření omfalokély či gastroschizi neboli rozštěpu břišní stěny se určují hladiny AFP a ACHE/CHE (butyrylcholinesteráza a pseudocholinesteráza). Je-li zjištěn rozdíl mezi vysokými hladinami AFP a normální aktivitou ACHE, může se jednat o vrozené poškození ledvin neboli nefrózu. Při vyšetřování ACHE stejně jako u AFP je také velmi důležitý specificky zaměřený ultrazvuk plodu (22).

Bylo zjištěno, že při zvýšené aktivitě ACHE/CHE v plodové vodě nad 95 % a s nálezem dvou izoenzymů se může 100 % diagnostikovat omfalokélu, fetální hydrocephalus neboli nadměrnou vodnatost, dále fetální nádor teratom, atrézii neboli neprůchodnost jícnu, oligohydramnio a úmrtí plodu. A okolo 80 až 90 % spolehlivosti určovat plody s anencefálií, meningomyelokélou neboli výhřez míchy a mozkových plen, a vrozenou hydrocefálií neboli zmnožení mozkomíšního moku. V případě detekce VVV je doporučeno přerušení těhotenství. Nejlepší diagnostika je pomocí ultrazvuku a vyšetřením ACHE/CHE spolu s AFP (22).

## **6.3. Další markery plodové vody**

### **6.3.1. Protein PAPP-A**

Mezi další biochemické markery, které se dají stanovit v plodové vodě, patří například protein PAPP-A (Pregnancy associated protein A). Ten je produkován placentou během těhotenství a přechází do plodové vody. Význam toho proteinu dosud není plně objasněn, ale víme, že ovlivňuje růst, diferenciaci a reparaci buněk plodu. K jeho syntéze dochází od 7. týdne a s přibývajícím těhotenstvím se jeho koncentrace zvyšuje. Jeho absence v plodové vodě může být způsobená syndromem Cornelia de Lange, což je vývojová porucha postihující mnoho částí těla. Při screeningu v I. trimestru mohou snížené hodnoty poukazovat na trizomii 21, v dalších trimestrech už není jeho hodnota tolik významná (22, 67).

### **6.3.2. Nekonjugovaný estriol**

Nekonjugovaný estriol (uE3) je steroidní hormon, jeho prekurzor je cholesterol matky a je možné ho zachytit pouze během těhotenství. V placentě se cholesterol metabolizuje a vstupuje do nadledvinek plodu, dále je krví přenesen do jater plodu a zpět do placenty, kde se přeměňuje na konečný produkt estriol a dostává se do krve matky. V játrech matky je estriol dále konjugován. Jelikož prochází přes placentu, nadledviny a játra plodu odráží tak metabolickou aktivitu tzv. fetoplacentární jednotky. Ve II. trimestru se z krve těhotné detekuje jeho nekonjugovaná frakce. Snížená hladina uE3 je u plodů s trizomií 21, s hypofunkcí nadledvin nebo s anencefálií. Je zjištěno, že kouření snižuje jeho hladiny až o 15 % a dalším důvodem jeho snížení je nezralost nadledvin a jater plodu (22, 67).

### **6.3.3. Fosfolipidy**

Dalším význam mají fosfolipidy, díky nimž můžeme určit vývoj plodu. Při určování zralosti plic plodu se zjišťuje poměr lecitinu a sfingomyelinu (L/S). Poměr L/S 2 : 1 dokazuje zralost fetálních plic, u diabetických matek by tento poměr měl být 3 : 1. Spolehlivějším určením než je poměr L/S, může být vyšetření lamelárních tělísek a jejich fosfolipidů. Jako doplňující analýza vývoje plodu, může být stanovení koncentrace kreatininu v plodové vodě. Nevýhodou těchto testů jsou nespecifické výsledky u diabetických matek a těhotných s hypertenzí či polyhydramniem. (10, 22).

### **6.3.4. Gama-glutamyltransferáza**

V biochemické diagnostice se také mohou stanovit hladiny enzymu gama-glutamyltransferázy (GGT). Zjišťuje se tím autozomální dědičné onemocnění cystická

fibróza, způsobené mutací genu CFTR (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Diagnostika spolu s vyšetření ultrazvukem tvoří vysokou spolehlivost detekce. Biochemické vyšetření by se mělo provádět mezi 17. až 18. týdnem těhotenství. Vyšetření může přispět i k určení VVV, kdy normální aktivita GGT snižuje riziko VVV o 50 % (22).

### **6.3.5. Lidský choriový gonadotropin**

V neposlední řadě je důležité i stanovení hormonů v plodové vodě. Kde abnormální hodnoty stanovovaných hormonů mohou být způsobeny špatnou funkcí placenty, nedostatečností fetálních ledvin a různých poruch endokrinního systému plodu. Důležitým markerem je hCG neboli lidský choriový gonadotropin, který je produkován buňkami placenty. Je to glykoprotein skládající se ze dvou podjednotek  $\alpha$  a  $\beta$ . Pro diagnostiku jsou důležité jeho degradační produkty, kterými je beta-podjednotka hCG. Jeho funkcí je syntéza progesteronu během těhotenství, podpora syntézy testosteronu fetálních varlat a vytváří imunotoleranci matky k plodu. Tento hormon můžeme detekovat v krvi od 8. dne těhotenství, kdy jeho syntéza stoupá 8. až 10. týden, pak jeho hladiny mírně klesají a udržují se až do porodu. Zvýšené hodnoty hCG diagnostikujeme u Downova syndromu nebo u vícečetného těhotenství, nízké hodnoty jsou naopak u Edwardsova syndromu nebo zamlklého potratu (22, 67).

### **6.3.6. Infekční agens**

Plodová voda má bakteriostatický účinek a po celou dobu těhotenství je schopna zastavit růst bakterií jako je *Staphylococcus aureus* nebo *Escherichia coli*. K tomuto bakteriostatickému účinku dochází díky lysozymu a bílkovinám s navázaným stopovým prvkem zinkem. Dále k účinku přispívá transferin, který zabraňuje růstu *Candida albicans* a také cerulopazmin, prealbumin a imunoglobuliny. Další významnou úlohu má také beta-lyzin, který se v plodové vodě vyskytuje mezi 11. až 40. týdnem těhotenství a způsobuje lýzu bakteriálních buněk. Na obranu před viry napomáhá D-interferon fetálního původu. Zajímavé je, že plodová voda umožňuje růst streptokokům skupiny B (22).

Vyšetřením plodové vody na infekční agens se využívá především při podezření na zánět plodových obalů, u předčasného porodu nebo potratu a také u PPRM. Diagnostika se provádí také při zjištění rizikových faktorů z anamnézy těhotné. Při podezření na intraamniální infekci je důležité stanovení cytokinů především IL-6 za pomoci bedside testů z nativní plodové vody, kdy cut-off hodnota je 1 000 pg/ml, viz příloha J. Dříve se diagnostika zabývala především infekcemi způsobujícími malformace nebo vážné poškození plodu (např. syfilis, rubeola, toxoplazmóza, cytomegalovirus, *Haemophilus*

*influenzae*), které jsou součástí běžného screeningu. V dnešní době se zkoumají spíše skryté infekce, mající původ v poševním prostředí a nové biomarkery intraamniální infekce a zánětu. Diagnostickou metodou je nadále kultivace v kombinaci s PCR, kdy se stanovují genitální mykoplazmata nebo detekce ribozomální 16s RNA (75).

## 7. Cytogenetická prenatalní diagnostika

Základem cytogenetické prenatalní diagnostiky je analýza chromozomů plodu, která patří mezi standardní vyšetření v prenatalní diagnostice. Tato analýza spočívá v kultivaci různých typů fetálních buněk a jejich následné diagnostice. Diagnostika se provádí pomocí mikroskopické techniky, která zachytí všechny chromozomálně podmíněné VVV analýzou chromozomálních aberací, tedy změny v počtu a struktuře chromozomů plodu. Vyšetření se provádí buď přímým zpracováním nekultivovaných amniocytů nejčastěji metodou FISH (fluorescence in situ hybridisation) a metodou PCR (polymerázová řetězová reakce). Nebo se amniocyty kultivují, a z nich se pak vyšetřuje karyotyp plodu za pomoci počítačového karyotypovacího systému (22, 24, 67).

### 7.1. Kultivace fetálních buněk

Pro cytogenetické vyšetření fetálních buněk se nejčastěji používají buňky plodové vody tzv. amniocyty, které se získají amniocentézou mezi 16. až 18. týdnem těhotenství. Nejlépe je provést kultivaci amniocytů do II. trimestru, tedy v rozmezí 16. až 24. týdne, kdy je úspěšnost kultivování buněk 99,5 %. V dalším trimestru schopnost kultivovat buňky rychle klesá, jelikož zbyla už pouze třetina buněk tvořících kolonie. A dále je potřeba brát v úvahu, že možnost přerušení těhotenství, při detekci VVV, je až na výjimky do 24. týdne (22, 24).

Z odebrané plodové vody jsou buňky odděleny centrifugací. Buňky pocházejí z membrány amnia, z kůže a ze sliznic plodu, tedy z bronchopulmonálního systému, z vývodných cest uropoetického a gastrointestinálního systému. In vitro můžeme rozlišit buňky dle struktury na buňky fibroblastoidní, které rostou velmi aktivně a produkují kolagen, dále na buňky fibroepiteloidní, které také rostou velmi aktivně a produkují například hCG, estrogeny a progesteron, poslední jsou buňky epiteloidní, které vytvářejí husté kolonie, ale rostou pomalu a špatně in vitro (22, 24)

Tyto buňky jsou pak nasazeny do kultivačního média, například Changova média a jsou pěstovány ve sterilních kultivačních lahvích v termostatu bez přístupu oxidu uhličitého. Na dně kultivační láhve vyrostou z životaschopných buněk po 6 až 7 dnech kolonie. Růst kolonií je kontrolován mikroskopem ve fázovém kontrastu a v případě potřeby je kultivační médium vyměněno. Pro správnou kultivaci je nutné dodržet sterilní podmínky, a proto se s kulturami pracuje v laminárních boxech. Na konci kultivační doby se přidává Colcemid, který zastaví buňky v mitóze. Dále se buňky zpracovávají pomocí hypotonického roztoku chloridu draselného, který uvolňuje chromozomy od dělicího vřetenka. Poté se buňky



ještě fixují směsí methalonu a ledové kyseliny octové. Nativní preparát se pak barví technikou G a R pruhování. Vyhodnocování karyotypu se provádí analýzou 20 pruhovaných mitóz, z nichž zhruba polovina mitóz je s G pruhováním a druhá polovina s R pruhováním. Vyhodnocuje se pomocí světelného mikroskopu a počítačového karyotypovacího systému Ikaros (META), viz obrázek č. 6 (22, 24).

### 7.1.1. Metody barvení preparátů

Přípravené nativní preparáty se v praxi nejčastěji barví dvěma technikami a to již zmiňovanými G a R pruhováním. Po obarvení preparátů těmito metodami se ponechává ještě několik nezbarvených skel pro případné doplnění vyšetření o další techniky, jako například FISH, C pruhování, Q pruhování, silver staining neboli barvení stříbrem, nepruhované nabarvení a další (24).

#### Metoda G pruhování

Technika G pruhování neboli trypsin-Wrightovo barvivo, je nejdůležitější metoda pruhování v rutinní praxi, viz příloha K. Díky působení trypsinu a následnému obarvení Giemsovým roztokem, lze rozlišit heterochromatinové úseky chromozomů s jednotlivými světlými a tmavými pruhy danými pro každý chromozom. Každý pruh je označen číslem pro přesnou lokalizaci určitého genu na chromozomu. Před obarvením je důležité skla vysušit v teplovzdušné troubě. Nedostatečně obarvené chromozomy lze napruhovat znovu po působení trypsinu. Při zpracování vzorku je také potřebný Sørensenův pufr, Gurrův pufr a Wrightova barva (22, 24).



**Obrázek 6** Tvorba karyotypu pomocí počítačového karyotypovacího systému (6).

#### Metoda R pruhování

Technika R pruhování je reverzní k metodě G pruhování, jelikož se barví euchromatinové úseky chromozomů, které se nebarví při G pruhování, viz příloha L. Výhodou této metody oproti G pruhování je obarvení telomér neboli terminálních částí

chromozomů. Barvit se dají čerstvá nebo se skla s nakapaným vzorkem uloží do ledničky a vyšetří druhý den. Technika je založena na působení vysoké teploty okolo 87 °C, která je potřebná k denuraci vzorku za pomoci denaturačního roztoku dihydrofosforečnanu sodného. Poté se vzorek barví roztokem Giemsa-Romanowského (22, 24).

## **7.2. Diagnostické metody nezávislé na kultivaci fetálních buněk**

Diagnostické molekulární metody, mezi které řadíme především FISH a PCR, velmi ovlivnily a vylepšily prenatalní cytogenetiku. Tyto metody jsou schopné s vysokou citlivostí lokalizovat specifické sekvence DNA díky hybridizaci, neboli spojení vyšetřovaného vlákna DNA s komplementárním vláknem značeným sondou. K hybridizaci se mohou využít celé chromozomy nebo jejich části či specifické lokusy, klidová jádra izolovaných buněk a tkáně. Pomocí těchto technik se určují strukturní změny počtu chromozomů v metafázi i v klidovém jádru, různé chromozomální translokace a strukturální změny vzniklé v důsledku chemické nebo radiační mutagenity. Kromě nejpoužívanějších metod FISH a kvantitativní fluorescenční PCR existují ještě další techniky, jako je PRINS a CGH (Komparativní genomová hybridizace), které se vzájemně doplňují a kombinují. (22).

Molekulární cytogenetické metody bez předešlé kultivace buněk plodu se využívají především v situacích, které potřebují rychlou diagnostiku, jako například pozitivní biochemický screening, patologický nález na ultrazvuku, vysoký věk matky se zvýšeným rizikem autozomální trizomie, dále také těhotenství po 22. týdnu, při stresu a psychické zátěži těhotné z očekávaných výsledků, při diagnostice chromozomální aberace u předešlého těhotenství, také při sledování úspěšnosti chemoterapie nebo transplantace kostní dřeně (24, 67).

Velkou výhodou těchto metod je získání výsledku do 2 dnů na rozdíl od čekání na výsledek klasické kultivace, která trvá okolo 10 dní. Metodu lze využít i v případě, kdy kultivace dostatečně nenaroste, preparát je ve špatné kvalitě nebo u těhotné, kde je indikován další invazivní odběr. Vyšetření je hrazeno zdravotní pojišťovnou v případě doporučení lékaře, jinak si ho platí sama rodička. Tyto vyšetření nenahrazují klasickou kultivaci, jelikož se nevyšetřuje celý karyotyp. K diagnostice je odebíráno 5 ml plodové vody navíc k přímému zpracování. V praxi se vždy současně nasazují i amniocyty na kultivaci, pro klasické vyšetření karyotypu (24, 67).

### 7.2.1. Metoda FISH

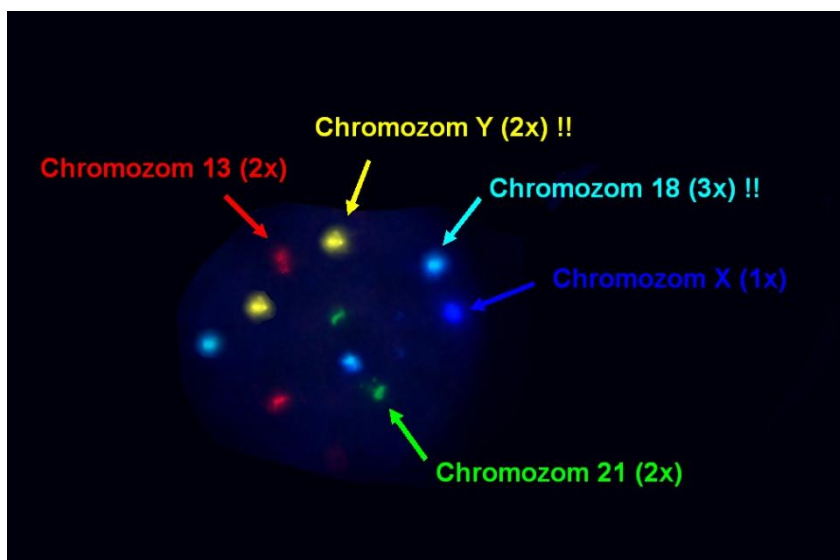
Metoda FISH neboli fluorescence in situ hybridisation je rychlá a spolehlivá metoda s vysokou citlivostí, která se využívá nejen v prenatalní diagnostice, ale třeba i v postnatální diagnostice nebo onkogenetice. Technika FISH umožňuje přímou vizualizaci genetických změn v buňce. FISH využívá in situ hybridizace, což znamená, že k hybridizaci tedy navázání komplementární značené sondy dochází ve vyšetřovaném vzorku, nikoliv v izolované DNA. Sonda je komplementární jednořetězcový úsek DNA, který je značený fluorescenčně, biotinem nebo digoxigeninem. Sondy pro specifické chromozomové struktury se dělí na centromerické pro alfa a beta-satelitní DNA, dále na celochromozové neboli malovací, které hybridizují na celý chromozom a na lokusově specifické neboli genové (28, 67).

Hybridizace chromozomu začíná fixací vzorku na podložní sklíčko a následnou denaturací při 80 °C, kdy se z dvouvláknové DNA stane jednovláknová s navázanou značenou sondou. Poté se nenavázaná sonda odmyje od pozadí a dobarví se DNA. Fluorescenční signály sond se vizualizují ve fluorescenčním mikroskopu s filtry pro jednotlivé fluorochromy. Metoda může být zjednodušena pomocí navázání haptenu, který označí specifickou sekvenci DNA a poté reaguje s přidávanými protilátkami proti haptenu. Vytvoří se komplex haptenu a protilátky s navázaným fluorochromem, což je fluorescenční barvivo (například fluorescein isothiokyanát, rhodamin nebo texaská červeň), jehož signály vidíme opět ve fluorescenčním mikroskopu (22).

Existují sondy používající tzv. unikátní sekvence, díky nimž lze detekovat terminální části chromozomů neboli teloméry. Tyto sondy jsou schopné odhalit mikrodeleční syndromy nebo různé translokace chromozomů, které mohou být příčinou mentálního postižení (22).

V praxi se využívají i nejnovější metody tzv. mnohobarevné fluorescenční in situ hybridizace (mFISH), díky níž se detekují chromozomové odchylky v mitózách a barevně se odliší všechny chromozomy, které můžou lépe určit chromozomální přestavby a markery chromozomů. Nebo se také používá tzv. mnohobarevné pruhování s vysokou rozlišovací schopností (mBAND). Metody FISH (mFISH, mBAND) se používají vždy cíleně v závislosti na klasické kultivaci buněk. Pro přímou detekci se používá jen tzv. interfázická FISH (I-FISH), která se provádí na nedělících se buňkách, bez ohledu na klasickou kultivaci, viz obrázek č. 7 (22, 24).

Nevýhodou je, že u vzorků hrozí i riziko kontaminace mateřskými buňkami, u čerstvě odebraných vzorků to může činit až 21 %, u kultivovaných amniocytů se to pohybuje okolo 0,2 %. Metodou FISH můžeme diagnostikovat nejčastější chromozomální vady, jakými je například Downův syndrom, Edwardsův syndrom, Patauův syndrom, Turnerův syndrom nebo Klinefelterův syndrom (22, 24).



Obrázek 7 Interfázická FISH metoda (7).

### 7.2.2. Metoda PRINS

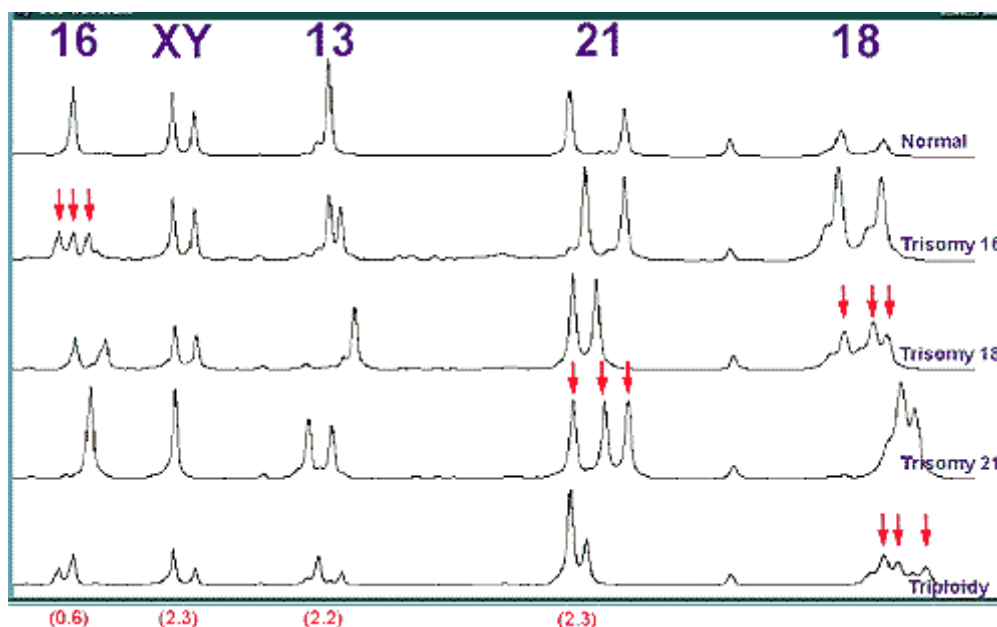
Další metoda využívaná i v prenatalní cytogenetické diagnostice je metoda PRINS neboli Primed in situ labelling. Tato metoda je založena na stejném principu jako technika FISH, ale ve srovnání s FISH je jednodušší, specifičtější a časově méně náročná. Často je metoda kombinována s metodou FISH, jelikož metoda PRINS je přesnější v detekci chromozomálních numerických odchylek v buněčných jádrech. Hybridizace probíhá jako u metody FISH, kdy specifická chromozomová sekvence je hybridizována ke komplementární sekvenci DNA. Rozdíl je v tom, že DNA je pak dále amplifikována tedy zmnožena za pomoci PCR metody s fluorescenčně značenými nukleotidy. V praxi se to pak provádí pomocí směsi fluorescenčně značených nukleotidů, specifických primerů a enzymu DNA polymerázy, která syntetizuje komplementární řetězec DNA, podle předlohy čili templátu původní DNA. Tato směs se pak nanáší na sklo s templátovou DNA (22, 48).

Vyhodnocení probíhá opět pomocí fluorescenčního mikroskopu s filtry pro jednotlivé fluorochromy, kde detekujeme signály sond a sledujeme morfolonii chromozomů (48).

### 7.2.3. Metoda kvantitativní fluorescenční PCR

Nejnovější metodou pro rychlou prenatalní diagnostiku je kvantitativní fluorescenční PCR (QF PCR – quantitative fluorescence polymerase chain reaction, kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce). Metoda QF PCR odhaluje nejčastější VVV, jako je trizomie chromozomů 21, 18 a 13 a detekuje také pohlavní chromozomy X a Y, viz obrázek č. 8. Výhodou této techniky je velmi rychlá detekce VVV jen z malého množství buněk plodu. Vyšetření QF PCR je hotové za 4 až 6 hodin, takže výsledky mohou být oznámeny těhotné v den odběru nebo hned další den po odběru plodové vody. U této metody se využívá tzv. STR markery (short tandem repeats, krátké tandemové repetice), což jsou vysoce polymorfní sekvence v DNA. Princip techniky je založený na amplifikaci neboli zmnožení STR, které jsou přítomné na vybraných chromozomech a jsou fluorescenčně značeny pomocí primerů. Množství fluorescenčně značených sekvencí STR se měří elektroforeticky po oddělení délek fragmentů DNA a odpovídá zhruba intenzitě pruhu (46, 47, 67).

QF PCR patří mezi kvantitativní techniky, které vyšetřují přítomnost kopií určitých chromozomů. Detekce Downova syndromu může probíhat pomocí multiplexních reakcí, které obsahují primery pro šest polymorfních STR sekvencí, které jsou umístěné v kritické oblasti 21 chromozomu a další dva páry primerů pro odlišení mozaiky trizomie 21 od kontaminace mateřskými buňkami plus další dva páry primerů pro určení pohlaví plodu (46, 47).



**Obrázek 8** Kvantitativní fluorescenční PCR – kapilární elektroforézou (8).

## 8. Závěr

Cílem této práce bylo informovat o využití plodové vody, diagnostických metodách, prenatalních testech a seznámit se s nejčastěji detekovanými vrozenými vývojovými vadami plodu. Další záměr bylo shrnout problematiku detekce vývojových abnormalit plodu, vyzdvihnout výhody i nevýhody neinvazivního a invazivního testování a důležitost prenatalní diagnostiky pro zdraví dítěte.

V práci byly popsány metody, které se používají rutinně v praxi. V rámci našich volitelných praxí byly tyto metody vyzkoušeny v laboratořích lékařské genetiky, kde nám bylo umožněno vyšetřit si vlastní karyotyp a účastnit se odběru plodové vody a jeho následnému zpracování. Proto byla celá práce zaměřena hlavně na analýzu plodové vody v genetické laboratoři. Díky vlastním poznatkům a odborné literatuře byla vypracována literární rešerše, která přehledně shrnuje tuto problematiku.

Plodová voda má několik diagnostických využití ať už to jsou biochemické a cytologické testy zaměřené na diagnostiku VVV, nebo mikrobiologické testy používané pro určení infekce nebo zánětu. Důležitou roli zde má především informovanost těhotných žen o možnostech prenatalního testování.

Potvrdilo se, že hlavní metodou neinvazivního testování je stále Triple test, i když dnes nepatří mezi nejefektivnější screeningové testy a jeho spolehlivost je jen okolo 70 % (69). Je to nejspíš dáno jeho dlouhodobým až rutinním zavedením a hrazením zdravotní pojišťovnou. Doufám, že tento test postupně nahradí spolehlivější testy s minimální falešnou pozitivitou a předejde se tak stresu těhotných žen a zmenšení počtu invazivních výkonů. Mezi další biochemické testy ještě patří například kombinovaný test, integrovaný test nebo sekvenční test.

V budoucnu se do běžné praxe jistě zavedou i tzv. neinvazivní prenatalní testy nazývané jako cell-free-DNA testy nebo také NIPT. Tyto testy jsou založené na analýze volné DNA plodu separované z krve těhotné a dosahují vysoké spolehlivosti, avšak záleží na jakém principu jsou testy založené. Nejlepším se v tomto ohledu ukázal test s názvem Panorama, který je díky analýze SNPs markerům nejspolehlivější, oproti ostatním na trhu nabízeným NIPT testům, díky jejichž principu může dojít k falešně pozitivním či negativním závěrům. Bohužel ani tyto neinvazivní prenatalní testy nejsou stoprocentní a neodhalí všechny VVV, proto je důležité tyto testy doplnit nezbytným ultrazvukovým screeningem. Významnou roli zde zastávají i pravidelné gynekologické prohlídky a pestrá strava těhotné, především podávání kyseliny listové už před otěhotněním.

I když se prenatální péče a diagnostické metody neustále zdokonalují, zůstává zde stále dost vysoké procento žen, které porodí dítě s vrozenou vývojovou vadou. Těchto dětí je okolo 3 % (49). Nejspíš je to dáno dnešní dobou, kdy se ženy zaměřují spíše na budování své kariéry než zakládáním rodiny a zvyšuje se tak neustále jejich věk, kdy se rozhodnou pro otěhotnění. To s sebou přináší i problémy samotného oplodnění a zvyšováním počtu IVF neboli umělých oplodnění.

Jak už bylo zmíněno spolehlivější screeningové metody ovšem nemohu nahradit invazivní metody a ultrazvuk. Screeningové metody mohou detekovat pouze zvýšené či snížené riziko VVV, konečné rozhodnutí a vyvrácení nebo potvrzení VVV je provedeno až invazivními metodami, především amniocentézou (AMC) nebo odběrem choriových klků (CVS). Nevýhodou AMC oproti screeningovým testům je invazivní zákrok a delší čekání na výsledek, okolo 10 dní. Proto je nutné počítat s časovou rezervou, jelikož možnost přerušení těhotenství je až na výjimky do 24. týdne. V případě časové tísně lze však využít metody FISH nebo QF PCR, jejichž výsledky jsou známy maximálně do 2 dnů. Nevýhodou FISH a QF PCR je, že nevyšetří celý karyotyp oproti AMC. U nekultivovaných amniocytů může být navíc kontaminace mateřskými buňkami. Proto by tyto metody neměly být nahrazovány AMC, ale měly by sloužit k doplnění vyšetření.

Je dobré zdůraznit, že riziko potratu po AMC je naprosto minimální a mnohem menší než se v současnosti uvádělo, protože se vycházelo pouze z výsledků potratu žen po AMC. Ovšem nové výsledky zveřejnila kontrolovaná studie z Velké Británie, která do svého výzkumu zahrnula i ženy, které nepodstoupily žádné invazivní vyšetření. Bylo zjištěno, že riziko potratu u žen, které podstoupili AMC bylo 0,81 %, oproti ženám bez invazivních zákroků, u kterých bylo riziko 0,67 %. Z těchto výsledků lze tedy konstatovat, že riziko potratu po AMC není výrazně odlišné a skutečně se odhaduje na 0,1 % (37).

Na závěr lze říci, že je důležité využít potenciálu diagnostických invazivních a neinvazivních metod v gynekologicko-porodnické praxi a snížit tak riziko VVV nebo těhotenských a porodních komplikací. Především zlepšit prenatální péči a seznámit těhotnou se všemi nejmodernějšími metodami, tudíž i zlepšit dostupnost těchto metod z hlediska financování zdravotními pojišťovnami. Zvést tyto moderní metody do klinické praxe a na základě jednotlivých rizik těhotné doporučit vhodné vyšetření, které vychází jak z nejnovějších lékařských poznatků tak i z ověřených rutinních metod. Cílem by mělo být zlepšení psychického i fyzického stavu těhotné, zajištění nejlepší prenatální i neonatální péče a komfortu matky v tak důležité životní fázi, jakou je těhotenství.

## POUŽITÁ LITERATURA

- (1) ROZTOČIL, Aleš et al. *Porodnictví*. 1. vyd. Brno: IDVPZ, 2001, 333 s. ISBN 80-701-3339-2.
- (2) MACKŮ, František, Jaroslava MACKŮ. *Průvodce těhotenstvím a porodem*. Vyd. 1. Eva Baumová. Jan Klíma. Praha: Grada, 1998, 328 s. ISBN 80-716-9589-0. Výchovná pomůcka pro studující středních a vyšších zdravotnických škol.
- (3) BINDER, Tomáš et al. *Porodnictví*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2011, 297 s. ISBN 978-802-4619-071.
- (4) HÁJEK, Zdeněk et al. *Porodnictví*. 3., zcela přeprac. a doplň. vyd. Jitka Straková. Praha: Grada, 2014, 538 s. ISBN 978-802-4745-299.
- (5) BRECKWOLDT, Meinert et al. *Gynekologie a porodnictví*. 1. vyd. Překlad Vladimír Šabata. Eva Hatarová, Alžběta Stančevová. Martin: Osveta, 1997, 648 s. ISBN 80-88824-56-7.
- (6) Těhotenství: fyziologické. *Porodnice.cz* [online]. Mother-Care-Centrum, c2002-2016 [cit. 2016-06-12]. Dostupné z: <http://asistentky.porodnice.cz/tehotenstvi-fyziologicke>
- (7) ČECH, Evžen, Zdeněk HÁJEK a Karel MARŠÁL. 1999. *Porodnictví*. 1. vyd. Praha: Grada, 432 s. ISBN 80-716-9355-3.
- (8) ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 134/1998 Sb.: Ministerstva zdravotnictví ze dne 2. června 1998, kterou se vydává seznam zdravotních výkonů s bodovými hodnotami. In: *Sbírka zákonů*. Praha, 1998, ročník 1998, číslo 134.
- (9) HÁJEK, Zdeněk. 2004. *Rizikové a patologické těhotenství*. 1. vyd. Luděk Neužil. Praha: Grada, 443 s., čb. obr. ISBN 80-247-0418-8.
- (10) LEIFER, Gloria. *Úvod do porodnického a pediatrického ošetrovatelství*. Vyd. 1. české. Praha: Grada, 2004, 993 s. ISBN 80-247-0668-7.
- (11) LEAHOMSCHI, Sergiu a Pavel CALDA. Klinické využití nových biomarkerů preeklampsie: New biomarkers of preeclampsia - clinical impact. *Actual gynecology and obstetrics* [online]. Praha, 2016, **2016**(8), 29-33 [cit. 2016-06-10]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: [http://www.actualgyn.com/pdf/cz\\_2016\\_195.pdf](http://www.actualgyn.com/pdf/cz_2016_195.pdf)
- (12) JANKŮ, Petr. 2007. Hypertenze v těhotenství: Gynekologicko-porodnická klinika MU, Brno. *INTERNÍ MEDICÍNA PRO PRAXI* [online]. **2007**(2): 91-95 [cit. 2015-05-15]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2007/02/09.pdf>



- (13) MĚCHUROVÁ, Alena. 2003. Hypertenze v graviditě. *Levret: Moderní babičtví* [online]. (2): 1-7 [cit. 2015-05-15]. Dostupné z: <http://www.levret.cz/publikace/casopisy/mb/2003-2/?pdf=156>
- (14) MĚCHUROVÁ, A. a K. ANDĚLOVÁ. 2013. HYPERTENZE V GRAVIDITĚ – DOPORUČENÝ POSTUP. *Česká gynekologie: supplementum* [online]. (78): 45-47 [cit. 2015-05-15]. Dostupné z: <http://www.gynultrazvuk.cz/data/clanky/6/dokumenty/p-2009-hypertenze-v-gravidite.pdf>
- (15) ČECHUROVÁ, D. a K. ANDĚLOVÁ. Doporučený postup péče o diabetes mellitus v těhotenství 2014: Doporučení České diabetologické společnosti ČLS JEP. *Diabetes a těhotenství* [online]. 2014, 18. 2. 2014, : 1-11 [cit. 2015-09-20]. Dostupné z: [http://www.diab.cz/dokumenty/DP\\_DM\\_tehotenstvi\\_CDS\\_2014.pdf](http://www.diab.cz/dokumenty/DP_DM_tehotenstvi_CDS_2014.pdf)
- (16) ANDĚLOVÁ, Kateřina. DIABETOLOGICKÁ SPOLEČNOST ČLS JEP. *Diabetes mellitus v těhotenství: Doporučené postupy pro praktické lékaře*. 2001, 1-5. Dostupné také z: [www.cls.cz/dokumenty2/os/r095.rtf](http://www.cls.cz/dokumenty2/os/r095.rtf)
- (17) CRESSWELL, Jenny A., Carine RONSMANS, Clara CALVERT a Véronique FILIPPI. Prevalence of placenta praevia by world region: a systematic review and meta-analysis. *Tropical Medicine* [online]. 2013, 18(6), 712-724 [cit. 2016-08-13]. DOI: 10.1111/tmi.12100. ISSN 13602276. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/tmi.12100>
- (18) HÁJEK, Z. Předčasný porod, příčiny a léčebný postup. *ProLékaře.cz: Časopis lékařů českých* [online]. Praha: MeDitorial, c2008-2016 [cit. 2016-08-13]. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/casopis-lekaru-ceskych-clanek/predcasny-porod-priciny-a-lecebny-postup-26078>
- (19) RULFOVÁ, Blanka. *GESTAČNÍ DIABETES MELLITUS: Bakalářská práce* [online]. Brno, 2010 [cit. 2015-09-30]. Dostupné z: [https://is.muni.cz/th/258770/lf\\_b/GESTACNI\\_DIABETES\\_MELLITUS.pdf](https://is.muni.cz/th/258770/lf_b/GESTACNI_DIABETES_MELLITUS.pdf). Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně. Vedoucí práce Jitka Pokorná.
- (20) Nutrition Recommendations and Interventions for Diabetes-2006: A position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* [online]. 2006, 29(9): 2140-2157 [cit. 2015-09-30]. DOI: 10.2337/dc06-9914. ISSN 0149-5992. Dostupné z: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc06-9914>
- (21) KOBILKOVÁ, Jitka, et al. *Základy gynekologie a porodnictví*. 1. vyd. Praha: Galén, c2005. ISBN 80-726-2315-X.

- (22) HÁJEK, Zdeněk, Milan MACEK a Eduard KULOVANÝ. *Základy prenatalní diagnostiky*. 1. vyd. Praha: Grada, 2000. ISBN 80-716-9391-X.
- (23) Prenatální screening vrožených vývojových vad u plodu. GREGOR, Vladimír. GYN - FEM, S.R.O. *Gynekologická ambulance GYN - FEM: Porodnictví* [online]. Praha: GYN - FEM, 2007 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z: <http://www.gynfem.cz/prenatalni-screening-vrozenych-vyvojovych-vad-u-plodu>
- (24) LABORATORNÍ PŘÍRUČKA: Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky. RABASOVÁ, Jana a Lenka BYDŽOVSKÁ. *Fakultní nemocnice Hradec Králové* [online]. Hradec Králové: Fakultní nemocnice, 2011 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z: <https://www.fnhk.cz/oleg/olg-soubory-ke-stazeni>
- (25) Gestační diabetes mellitus: aneb Co mohu o čekat? BARTOŠOVÁ, Petra a Zuzana STRAKOVÁ. *PORGYN* [online]. Olomouc: Fakultní nemocnice Olomouc, 2012 [cit. 2016-04-30]. Dostupné z: [https://www.fnol.cz/pdf/pacientske\\_brozurky/PORGYN\\_Gestacni%20DM.pdf](https://www.fnol.cz/pdf/pacientske_brozurky/PORGYN_Gestacni%20DM.pdf)
- (26) Doporučený postup péče o diabetes mellitus 1. typu. *Diab* [online]. Praha: Česká diabetologická společnost, 2011 [cit. 2016-04-30]. Dostupné z: [http://www.diab.cz/dokumenty/standard\\_dm1\\_12.pdf](http://www.diab.cz/dokumenty/standard_dm1_12.pdf)
- (27) Doporučený postup péče o diabetes mellitus 2. typu. *Diab* [online]. Praha: Česká diabetologická společnost, 2012 [cit. 2016-04-30]. Dostupné z: [http://www.diab.cz/dokumenty/dm2\\_12.pdf](http://www.diab.cz/dokumenty/dm2_12.pdf)
- (28) JENSEN, Ellen. Technical Review: In Situ Hybridization. *The Anatomical Record* [online]. 2014, **297**(8), 1349-1353 [cit. 2016-06-19]. DOI: 10.1002/ar.22944. ISSN 19328486. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ar.22944>
- (29) EUBUŠKÝ, Marek. *Doporučená ultrazvuková vyšetření v těhotenství*. Praha: Mladá fronta, 2014. ISBN 978-80-204-3083-0.
- (30) CALDA, Pavel. ULTRAZVUKOVÉ VYŠETŘENÍ V GRAVIDITĚ. *MEDICÍNA PRO PRAXI* [online]. Praha, 2005, **2005**(3), 117-119 [cit. 2016-05-21]. Dostupné z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2005/03/08.pdf>
- (31) NORONHA, Irene L., Rita C. CAVAGLIERI, Felipe L. JANZ, Sergio A. DUARTE, Marco A.B. LOPES, Marcelo ZUGAIB a Sergio P. BYDŁOWSKI. The potential use of stem cells derived from human amniotic fluid in renal diseases. *Kidney International Supplements* [online]. ScienceDirect, 2011, **1**(3), 77-82 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1038/kisup.2011.18. ISSN 21571716. Dostupné z: <http://ac.els->

[cdn.com/S2157171615310170/1-s2.0-S2157171615310170-main.pdf?\\_tid=55f47e00-1f7b-11e6-b73c-00000aab0f01&acdnat=1463852706\\_2105f5d861b58de62c6a77a8986d79e3](http://cdn.com/S2157171615310170/1-s2.0-S2157171615310170-main.pdf?_tid=55f47e00-1f7b-11e6-b73c-00000aab0f01&acdnat=1463852706_2105f5d861b58de62c6a77a8986d79e3)

(32) PRUSA, A.-R. Oct-4-expressing cells in human amniotic fluid: a new source for stem cell research? *Human Reproduction: Oxford Journals* [online]. 2003, **18**(7), 1489-1493 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1093/humrep/deg279. ISSN 1460-2350. Dostupné z: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/18/7/1489.full>

(33) UNDERWOOD, Mark A, William M GILBERT a Michael P SHERMAN. Amniotic Fluid: Not Just Fetal Urine Anymore. *Journal of Perinatology* [online]. 2005, **25**(5), 341-348 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1038/sj.jp.7211290. ISSN 0743-8346. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/sj.jp.7211290>

(34) COLOVIC, Mirjana B., Danijela Z. KRSTIC, Tamara D. LAZAREVIC-PASTI, Aleksandra M. BONDZIC a Vesna M. VASIC. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*[online]. 2013, **11**(3), 315-335 [cit. 2016-06-16]. DOI: 10.2174/1570159X11311030006. ISSN 1570159x. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article>

(35) SMITH, N. C. a A. Pat M. SMITH. *Ultrazvuk v porodnictví: praktická příručka*. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1107-9.

(36) ŠÍPEK JR., Antonín, Vladimír GREGOR a Antonín ŠÍPEK. Může neinvazivní prenatální diagnostika zlepšit záchyt Downova syndromu v České populaci?: Could the non-invasive prenatal diagnostics improve the detection rate of the Down syndrome in the Czech Republic? *Aktuální gynekologie a porodnictví* [online]. Praha, 2016, **2016**(8), 20 [cit. 2016-06-12]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: [http://www.actualgyn.com/pdf/cz\\_2016\\_190.pdf](http://www.actualgyn.com/pdf/cz_2016_190.pdf)

(37) AKOLEKAR, R., J. BETA, G. PICCIARELLI, C. OGILVIE a F. D'ANTONIO. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics* [online]. 2015, **45**(1), 16-26 [cit. 2016-05-23]. DOI: 10.1002/uog.14636. ISSN 09607692. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/uog.14636/full>

(38) Preterm birth. *World Health Organization: Media centre* [online]. 2015 [cit. 2016-05-26]. Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>

(39) ZAIDI, Iram, Muhamad Nishad THAYATH, Shikha SINGH a Anju SINHA. Preterm Birth: A Primary Etiological Factor for Delayed Oral Growth and Development. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry* [online]. US National Library of Medicine National Institutes of Health. 2015, **2015 Sep-Dec**(8(3)), 215–219 [cit. 2016-05-26]. DOI: 10.5005/jp-

- journals-10005-1316. PMC4647043. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4647043/>
- (40) VALÍK, Dalibor et al. Doporučení výboru ČSKB: Doporučení k využití nádorových markerů v klinické praxi. *Česká společnost klinické biochemie: Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně* [online]. 2008 [cit. 2016-06-16]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--tumorove-markery>
- (41) KOTEROVÁ, Kateřina. PŘEDČASNÝ POROD. *Moderní babičtví* [online]. Praha: LEVRET, 2008, **2008**(15), 1-5 [cit. 2016-05-27]. Dostupné z: <http://www.levret.cz/publikace/casopisy/mb/2008-15/?pdf=11>
- (42) MĚCHUROVÁ, A. a V. ROKYTOVÁ. DOPORUČENÉ POSTUPY V PERINATOLOGII: DOPORUČENÝ POSTUP – PŘEDČASNÝ ODTOK PLODOVÉ VODY. *Asistentky.porodnice* [online]. c2002-2016 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: <http://asistentky.porodnice.cz/upload/doporucene-postupy-v-perinatologii/04-predcasny-odtok-plodove-vody.pdf>
- (43) GUOTHOVÁ, Júlia. *Předčasný odtok plodové vody: Premature rupture of membranes*. Praha, 2010, 45 s. Diplomová práce. UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE 3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA. Vedoucí práce Doc. MUDr. Alena Měchurová, Csc.
- (44) MĚCHUROVÁ, A. Současné názory na management odtoku plodové vody. *Česká gynekologie: supplementum* [online]. 2013, **2013**(78), 15-18 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: <http://www.gynultrazvuk.cz/data/clanky/6/dokumenty/p-2013-soucasne-nazory-na-management-odtoku-plodove-vody.pdf>
- (45) CAUGHEY, Aaron B, Julian N ROBINSON a Errol R NORWITZ. Contemporary Diagnosis and Management of Preterm Premature Rupture of Membranes. *Obstetrics & Gynecology* [online]. 2008, **2008 Winter**(1(1)), 11–22 [cit. 2016-05-31]. PMC2492588. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2492588/>
- (46) QF - PCR. *Pragostem: cesta kvalitní vědy ke zdraví člověka* [online]. Praha: Pragostem, c2011 [cit. 2016-06-19]. Dostupné z: <http://www.pragostem.cz/qf-pcr.html>
- (47) KOVAČOVICOVÁ, Kristína et al. Direct PCR: využití v rychlé prenatalní diagnostice trizomie chromozomu 21. *XV. celostátní konference DNA diagnostiky: Praha 24.-25. listopadu 2011* [online]. Praha: Společnost lékařské genetiky ČLS JEP, 2011 [cit. 2016-06-19]. Dostupné z: <http://dna2011.slg.cz/abstrakta/107>
- (48) Experimentální metody z molekulární biologie: Fyzická lokalizace repetitivních sekvencí DNA na rostlinných chromozomech - FISH & PRINS. *Katedra buněčné biologie a*

- genetiky* [pdf]. Olomouc: Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, 2016 [cit. 2016-06-19]. Dostupné z: <http://genetika.upol.cz/download.aspx?id=122&t=0>
- (49) ŠÍPEK, Antonín. Vrozené vývojové vady. *Genetika-Biologie: Váš zdroj informací o genetice a biologii*[online]. c2010-2014 [cit. 2016-06-04]. Dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/vrozene-vyvojove-vady>
- (50) ŠÍPEK, Antonín et al. Definice a rozdělení vrozených vad. *Vrozené vývojové vady: Informační portál o vrozených vadách a jejich výskytu v ČR* [online]. c2008-2013 [cit. 2016-06-04]. Dostupné z: [http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=definice\\_vady](http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=definice_vady)
- (51) Congenital anomalies. *World Health Organization* [online]. 2015 [cit. 2016-06-04]. Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs370/en/>
- (52) Vrozené vady u narozených. *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR: Institute of Health Information and Statistics of the Czech Republic* [online]. Praha, c2010-2016 [cit. 2016-06-04]. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/category/tematicke-rady/zdravotnicka-statistika/vrozene-vady>
- (53) WISEMAN, F. K., K. A. ALFORD, V. L.J. TYBULEWICZ a E. M.C. FISHER. Down syndrome--recent progress and future prospects. *Human Molecular Genetics* [online]. 2009, **18**(R1), R75-R83 [cit. 2016-06-04]. DOI: 10.1093/hmg/ddp010. ISSN 0964-6906. Dostupné z: <http://www.hmg.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/hmg/ddp010>
- (54) Downův syndrom: Základní informace. *DownSyndrom.cz* [online]. Praha: Společnost rodičů a přátel dětí s Downovým syndromem, 2014 [cit. 2016-06-04]. Dostupné z: <http://www.downsyndrom.cz/zakladni-informace.html>
- (55) ŠÍPEK, Antonín. Chromozomové aberace. *Genetika-Biologie: Váš zdroj informací o genetice a biologii*[online]. c2010-2014 [cit. 2016-06-04]. Dostupné z: <http://www.genetika-biologie.cz/chromozomove-aberace>
- (56) ŠÍPEK, Antonín. Downův syndrom: Q90. *Vrozené vývojové vady: Informační portál o vrozených vadách a jejich výskytu v ČR* [online]. c2008-2013 [cit. 2016-06-04]. Dostupné z: [http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=downuv\\_syndrom](http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=downuv_syndrom)
- (57) FRISOVÁ, Veronika. Přehledová práce: Screening chromozomálních vad plodu: možnosti a vhodnost využití jednotlivých metod. *Actual Gyn* [online]. Profema - centrum fetální medicíny, 2016, **2016**(8), 21-22 [cit. 2016-06-04]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: [http://www.actualgyn.com/pdf/cz\\_2016\\_191.pdf](http://www.actualgyn.com/pdf/cz_2016_191.pdf)
- (58) CEREDA, Anna a John C CAREY. The trisomy 18 syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2012, **7**(1), 81- [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1186/1750-1172-7-81. ISSN 1750-1172. Dostupné z: <http://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-7-81>

- (59) BĚLOBRÁDKOVÁ, Iva. Lékařská genetika: Edwardsův syndrom. *GenetikaPardubice.cz* [online]. Pardubice, 2013 [cit. 2016-06-05]. Dostupné z: <http://www.genetikapardubice.cz/hla/syndromy/e>
- (60) BĚLOBRÁDKOVÁ, Iva. Lékařská genetika: Patauův syndrom. *GenetikaPardubice.cz* [online]. Pardubice, 2013 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.genetikapardubice.cz/hla/syndromy/patauuu>
- (61) BĚLOBRÁDKOVÁ, Iva. Lékařská genetika: Turnerův syndrom. *GenetikaPardubice.cz* [online]. Pardubice, 2013 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.genetikapardubice.cz/hla/syndromy/turneruv-syndrom>
- (62) BĚLOBRÁDKOVÁ, Iva. Lékařská genetika: Klinefelterův syndrom. *GenetikaPardubice.cz* [online]. Pardubice, 2013 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.genetikapardubice.cz/hla/syndromy/klinefelteruv-syndrom>
- (63) ŠÍPEK, Antonín. Spina bifida: Q05. *Vrozené vývojové vady: Informační portál o vrozených vadách a jejich výskytu v ČR* [online]. c2008-2013 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: [http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=spina\\_bifida](http://www.vrozene-vady.cz/vrozene-vady/index.php?co=spina_bifida)
- (64) Screening vrozených vad v těhotenství. *Gennet: Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny*[online]. Praha [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.gennet.cz/genetika/screening-vrozenych-vad-v-tehotenstvi/>
- (65) Doporučený postup č. 1: Provádění všeobecného prenatálního screeningu vrozených vývojových vad. *Společnost lékařské genetiky: České lékařské společnosti J. E. Purkyně* [pdf]. Praha: ČJS LEP, 2014 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www1.lf1.cuni.cz/~dbezd/Data/DOP-Priloha2-2014.pdf>
- (66) STEJSKAL, David. Prenatální screening vrozených vad. *Moderní babičství* [online]. Praha, 2004, **2004**(4), 1-4 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.levret.cz/publikace/casopisy/mb/2004-4/?pdf=130>
- (67) NOVOTNÝ, Dalibor, Tomáš ADAM, Kateřina ADAMOVÁ, Lucie ROUBALOVA a Ivana FELLNEROVÁ. Prenatální a perinatální laboratorní diagnostika: [od fyziologie k medicíně : integrace vědy, výzkumu odborného vzdělávání a praxe]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011, 60 s. ISBN 978-80-244-2913-7.
- (68) Kombinovaný test: screening Downova syndromu v I. trimestru. *Prediko* [online]. Zlín, c2001-2014 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.prediko.cz/tehotensky-screening/kombinovany-test>

- (69) BĚLOBRÁDKOVÁ, Iva. Prenatální screening VVV. *GenetikaPardubice.cz* [online]. Pardubice, 2013 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.genetikapardubice.cz/ftp/prenatalniscreening.PDF>
- (70) REYNOLDS, Tim. The triple test as a screening technique for Down syndrome: reliability and relevance. *International Journal of Women's Health* [online]. 2010, **2010**(2), 83–88 [cit. 2016-06-06]. PMC2971727. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2971727/>
- (71) Triple test: screening ve II. trimestru. *Prediko* [online]. Zlín, c2001-2014 [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.prediko.cz/tehotensky-screening/triple-test>
- (72) Ultrazvuková vyšetření v těhotenství. *Gennet: Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny*[online]. Praha [cit. 2016-06-06]. Dostupné z: <http://www.gennet.cz/iii-trimestr>
- (73) Metodika screeningu v I. trimestru: určeno lékařům a pracovníkům ve zdravotnictví. *Oddělení ultrazvukové diagnostiky a Centrum fetální medicíny* [online]. Praha, 2012 [cit. 2016-06-07]. Dostupné z: <http://cfm.gynpor.cz/screening-v-i-trimestru/54-metodika-screening-lekari>
- (74) MĚCHUROVÁ, Alena. Infekce v etiologii předčasného porodu. *Zdraví Euro: Postgraduální medicína*[online]. Praha: Ústav pro péči a matku a dítě, 2007 [cit. 2016-08-14]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/infekce-v-etilogii-predcasneho-porodu-285074>
- (75) ŠPAČEK, Jiří, Vladimír BUCHTA a Petr JÍLEK. *Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí*. Praha: Grada, 2013, 360 s. ISBN 978-80-247-4554-1.
- (76) Apgar skóre (skóre Apgarové). *Velký lékařský slovník* [online]. Praha: Maxdorf, c1998-2016 [cit. 2016-08-28]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/lexikon-pojem/apgar-skore-skore-apgarove>
- (77) PUTZOVÁ, Martina, Marcel HASCH, Barbora GOMOLČÁKOVÁ, Ivan ŠUBRT a Michal MICHAL. Výhody využití cíleného sekvenování v neinvazivním prenatálním testování. *Actual Gyn* [online]. 2017, **2017**(9), 10-13 [cit. 2017-05-21]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: <http://www.actualgyn.com/clanek/2017/208>

## ZDROJE OBRÁZKŮ

- (1) DUMKOVÁ, Jana. Prvopočátky vývoje: Od oplození k implantaci. *Interaktivní embryologický atlas člověka: Multimediální elektronický výukový materiál* [online]. 2. aktualizované vydání. Brno: Masarykova univerzita, 2013 [cit. 2016-08-29]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js13/atlas/web/atlas.html>
- (2) Placenta previa. *Mayo Clinic: Diseases and Conditions* [online]. USA: Mayo Foundation for Medical Education and Research, c1998-2016 [cit. 2016-08-30]. Dostupné z: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/placenta-previa/multimedia/placenta-previa/img-20005784>
- (3) BĚLOBRÁDKOVÁ, Iva. Lékařská genetika: Downův syndrom. *Genetika Pardubice* [online]. Pardubice: Bělobrádková, 2013 [cit. 2016-08-30]. Dostupné z: <http://www.genetikapardubice.cz/hla/syndromy/downuv-syndrom>
- (4) BĚLOBRÁDKOVÁ, Iva. Edwardsův syndrom. *Genetika Pardubice* [online]. Pardubice: Bělobrádková, 2013 [cit. 2016-08-30]. Dostupné z: <http://www.genetikapardubice.cz/hla/syndromy/e>
- (5) BĚLOBRÁDKOVÁ, Iva. Lékařská genetika: Amniocentéza. *Genetika Pardubice* [online]. Pardubice: Bělobrádková, 2013 [cit. 2016-08-30]. Dostupné z: <http://www.genetikapardubice.cz/hla/dulezite-informace/amniocenteza>
- (6) Karyotypování. *Lucia cytogenetics* [online]. Praha: Laboratory Imaging, c2016 [cit. 2016-08-31]. Dostupné z: <http://www.lucia.cz/cs/front-page/lucia-karyo>
- (7) FISH. *Sanatorium Helios* [online]. Brno: Sanatorium Helios SK, 2015 [cit. 2016-08-31]. Dostupné z: <http://www.sanatoriumhelios.sk/fish>
- (8) PENA, Sérgio D.J. Molecular Cytogenetics I: PCR-based diagnosis of human trisomies using computer-assisted laser densitometry. *Scielo: Genetics and Molecular Biology* [online]. Brazil: Genetics and Molecular Biology, 1998 [cit. 2016-08-31]. Dostupné z: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-47571998000300005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47571998000300005)



## ZDROJE PŘÍLOH

- (1) HÁJEK, Zdeněk et al. *Porodnictví*. 3., zcela přeprac. a doplň. vyd. Jitka Straková. Praha: Grada, 2014, 538 s. ISBN 978-802-4745-299.
- (2) Těhotenství a farmakoterapie. MAŇASKOVÁ, Dana. *Medicinman.cz* [online]. Praha: Maňasková, 2010 [cit. 2016-08-30]. Dostupné z: <http://medicinman.cz/?p=nemoci-symp/tehotenstvi-medikace>
- (3) BÁLKOVÁ, Olga. Studie PROGNOSIS. *Mojemedicina.cz: průvodce světem medicíny* [online]. Praha: Roche, c2016 [cit. 2016-08-30]. Dostupné z: <https://www.mojemedicina.cz/pro-lekare/praxe/laboratorni-medicina/gynekologie-a-porodnictvi-laboratorni-testy/studie-prognosis/>
- (4) ŠÍPEK, Antonín. Proč se zvyšuje četnost Downova syndromu? *Gate2Biotech: Biotechnologický portál* [online]. České Budějovice: Jihočeská agentura pro podporu inovačního podnikání, 2012 [cit. 2016-08-30]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/procese-zvysuje-cetnost-downova-syndromu/>
- (5) Ultrasound assessment of amniotic fluid volume. SUCHET, Ian B. *The Ultrasound of Life* [online]. Kanada: Suchet, c2013 [cit. 2016-08-30]. Dostupné z: <http://www.fetalultrasound.com/online/text/3-063.HTM>
- (6) LOUCKÝ, J., D. SPRINGER a I. ŠUBRT. Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2015, **2015**(1), 27–30 [cit. 2016-08-31]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2015/2015-1/KBM-1-2015-dop-vvv-27.pdf>
- (7) CALDA, Pavel. Screening v prvním trimestru. APROFEMA. *Abc tehotenství* [online]. Praha: 3K Technology, 2012 [cit. 2016-08-31]. Dostupné z: <http://www.abctehotenstvi.cz/txt/co-prinasi-screening-v-prvnim-trimestru>
- (8) KACEROVSKÝ, Marian. IL-6 v detekci intraamniální infekce u pacientek s předčasným odtokem plodové vody. *Moje medicína: průvodce světem medicíny* [online]. Hradec Králové: Kacerovský, 2015 [cit. 2016-08-31]. Dostupné z: <https://www.mojemedicina.cz/pro-lekare/praxe/laboratorni-medicina/gynekologie-a-porodnictvi-laboratorni-testy/il-6-v-detekci-intraamnialni-infekce-u-pacientek-s-predcasnym-odtokem-plodove-vo/>
- (9) LABORATORNÍ PŘÍRUČKA: Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky. RABASOVÁ, Jana a Lenka BYDŽOVSKÁ. *Fakultní nemocnice Hradec Králové* [online]. Hradec Králové: Fakultní nemocnice, 2011 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z: <https://www.fnhk.cz/oleg/olg-soubory-ke-stazeni>

## Přílohy

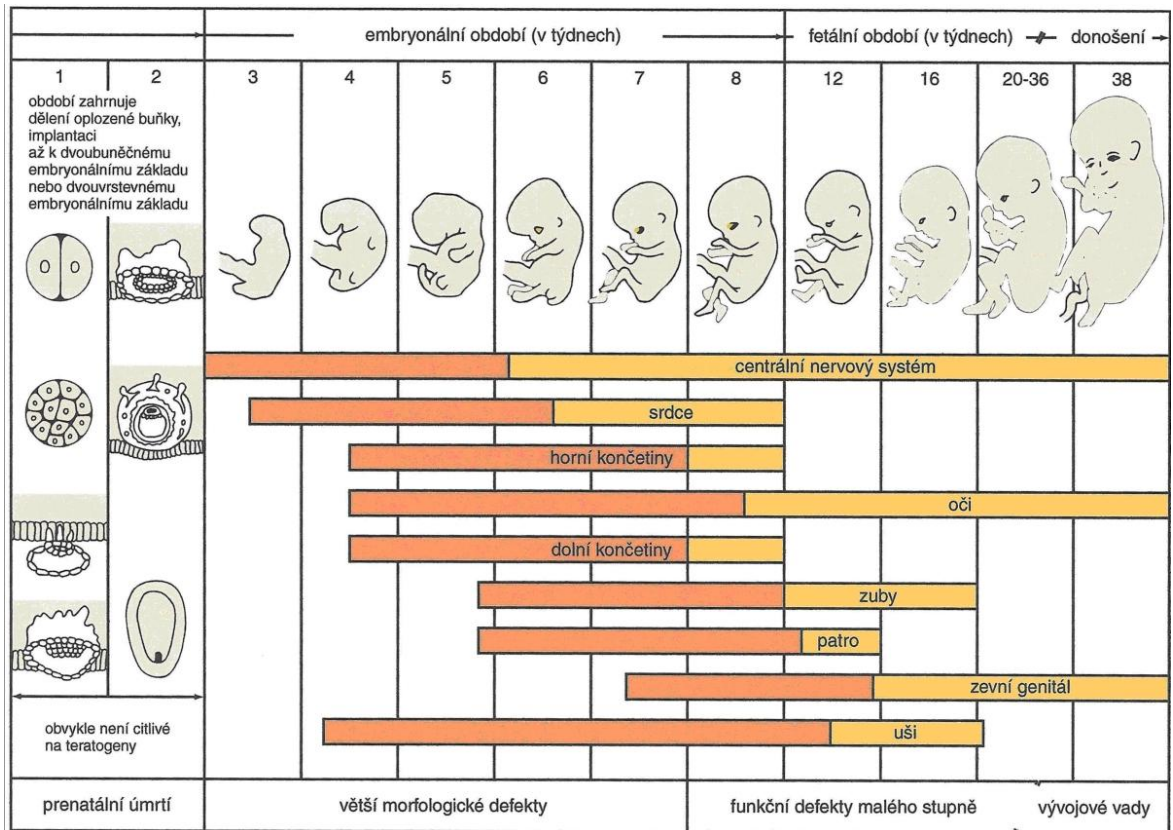
Příloha A *Hmotnost a délka plodu během nitroděložního vývoje (1)*

Hmotnost a délka těla plodu během nitroděložního vývoje		
Stáří plodu (lunární měsíce)	Hmotnost (g)	Délka těla (cm)
1	–	0,7 – 0,8
2	3 – 5	2,2 – 2,5
3	13 – 15	7 – 9
4	100 – 200	10 – 17
5	250 – 280	18 – 27
6	500 – 700	28 – 34
7	1100 – 1300	34 – 39
8	1500 – 1900	40 – 43
9	2500 – 2800	42 – 47
10	3200 – 3700	48 – 50

Příloha B *Délka těla plodu podle Haasova schématu (1).*

Délka těla plodu podle Haase		
konec 1. měsíce	1 x 1	1 cm
konec 2. měsíce	2 x 2	4 cm
konec 3. měsíce	3 x 3	9 cm
konec 4. měsíce	4 x 4	16 cm
konec 5. měsíce	5 x 5	25 cm
konec 6. měsíce	5 x 6	30 cm
konec 7. měsíce	5 x 7	35 cm
konec 8. měsíce	5 x 8	40 cm
konec 9. měsíce	5 x 9	45 cm
konec 10. měsíce	5 x 10	50 cm

Příloha C Fáze vývoje plodu a vliv teratogenů na plod (2).



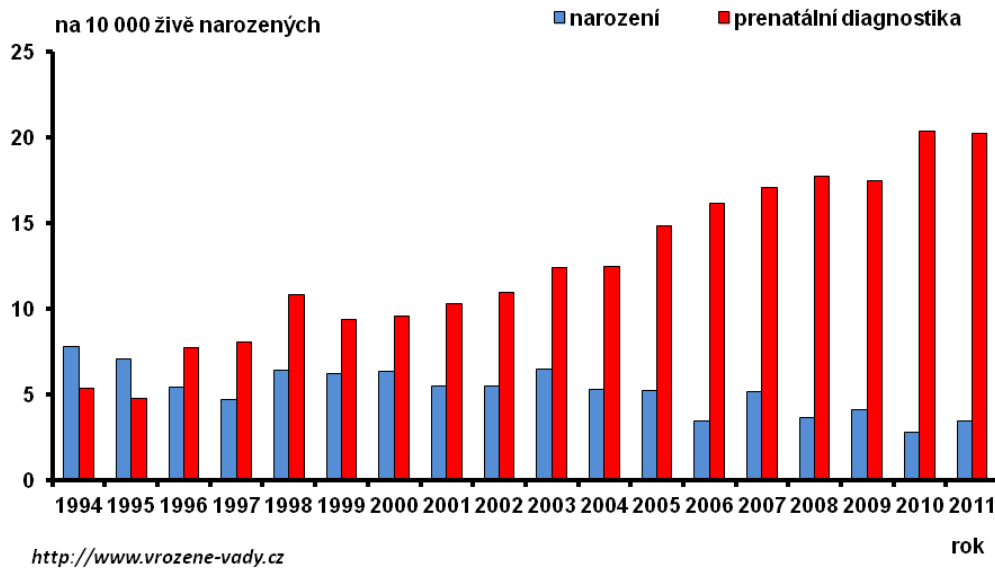
Příloha D Časný nástup preeklampsie pro 20. až 34. týden těhotenství.(3).

<b>sFlt-1/PIGF</b> ≥ 85	▶ Diagnóza	▶ <b>99,5% specifčnost</b> žena trpí preeklampsií Senzitivita: 88,0 %
<b>sFlt-1/PIGF</b> < 85 ≥ 38	▶ Predikce rule-in během příštích 4 týdnů	▶ <b>38,6% PPV</b> žena má vysoké riziko pro vývoj preeklampsie během příštích 4 týdnů
<b>sFlt-1/PIGF</b> < 38	▶ Predikce rule-out pro příští 1 týden	▶ <b>99,1% NPV</b> ženu nepostihne preeklampsie v průběhu příštího 1 týdne

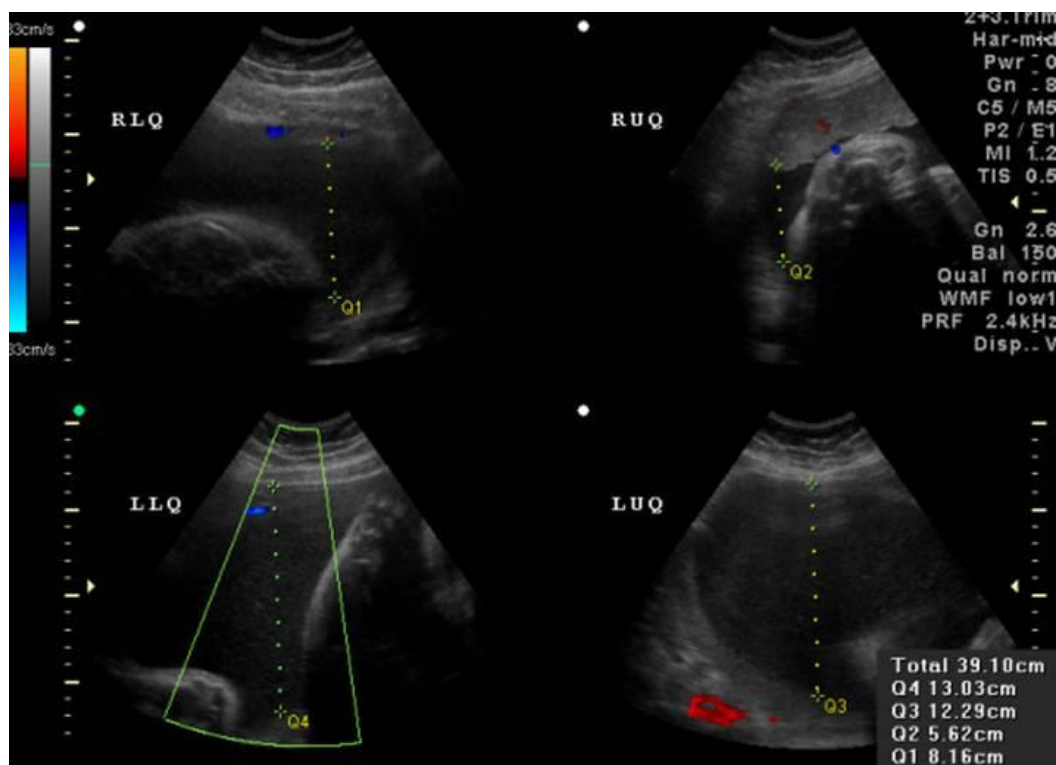
Příloha E *Pozdní nástup preeklampsie od 34. týdne do konce těhotenství (3).*

<b>sFlt-1/PIGF</b> $\geq 110$	▶ Diagnóza	▶ <b>95,5% specifičnost</b> žena trpí preeklampsií Senzitivita: 58,2 %
<b>sFlt-1/PIGF</b> $< 110$ $\geq 38$	▶ Predikce rule-in během příštích 4 týdnů	▶ <b>38,6% PPV</b> žena má vysoké riziko pro vývoj preeklampsie během příštích 4 týdnů
<b>sFlt-1/PIGF</b> $< 38$	▶ Predikce rule-out pro příští 1 týden	▶ <b>99,1% NPV</b> ženu nepostihne preeklampsie v průběhu příštího 1 týdne

## Incidence Downova syndromu, ČR 1994 - 2011

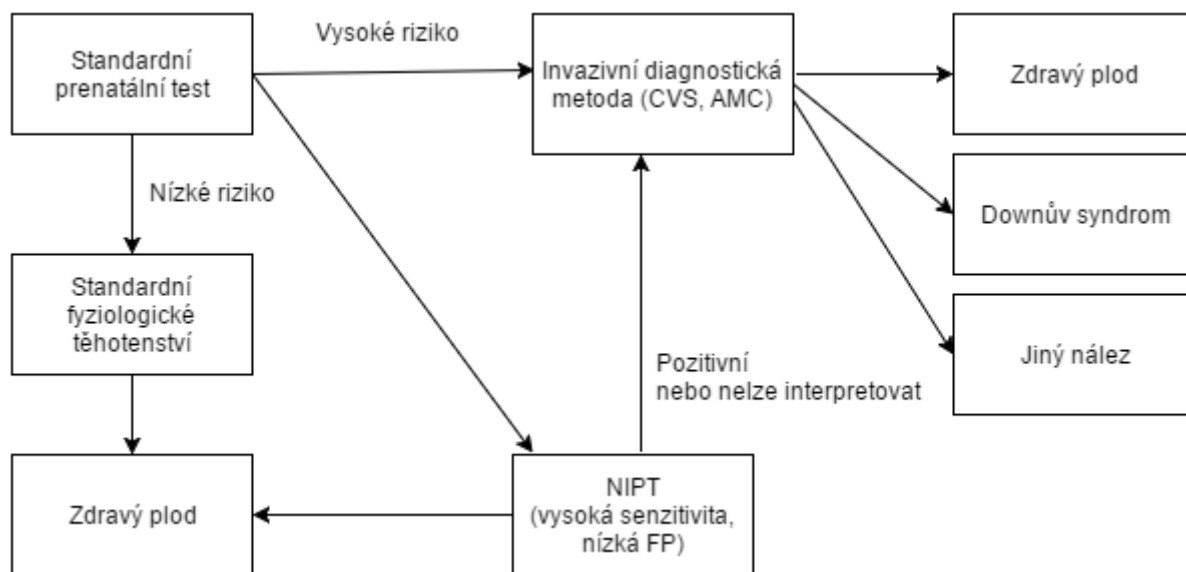


Příloha G *Index plodové vody – polyhydramnion (5).*

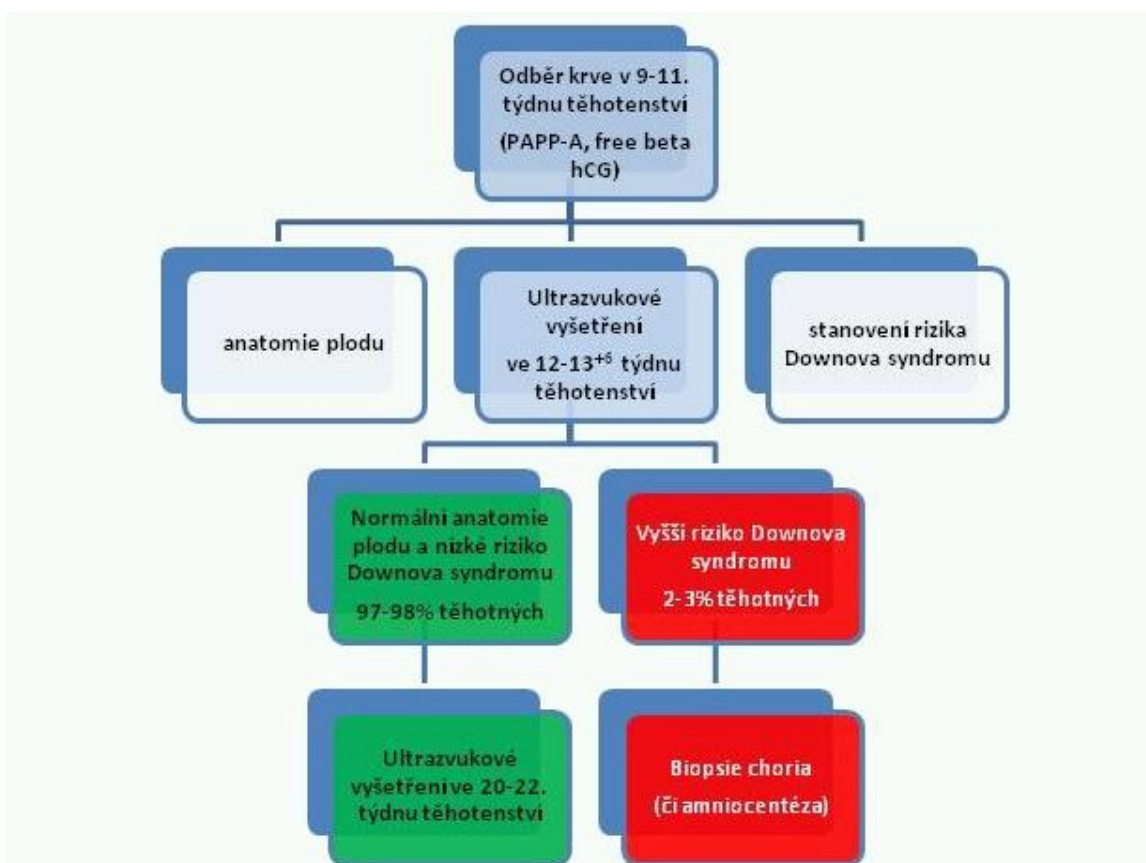


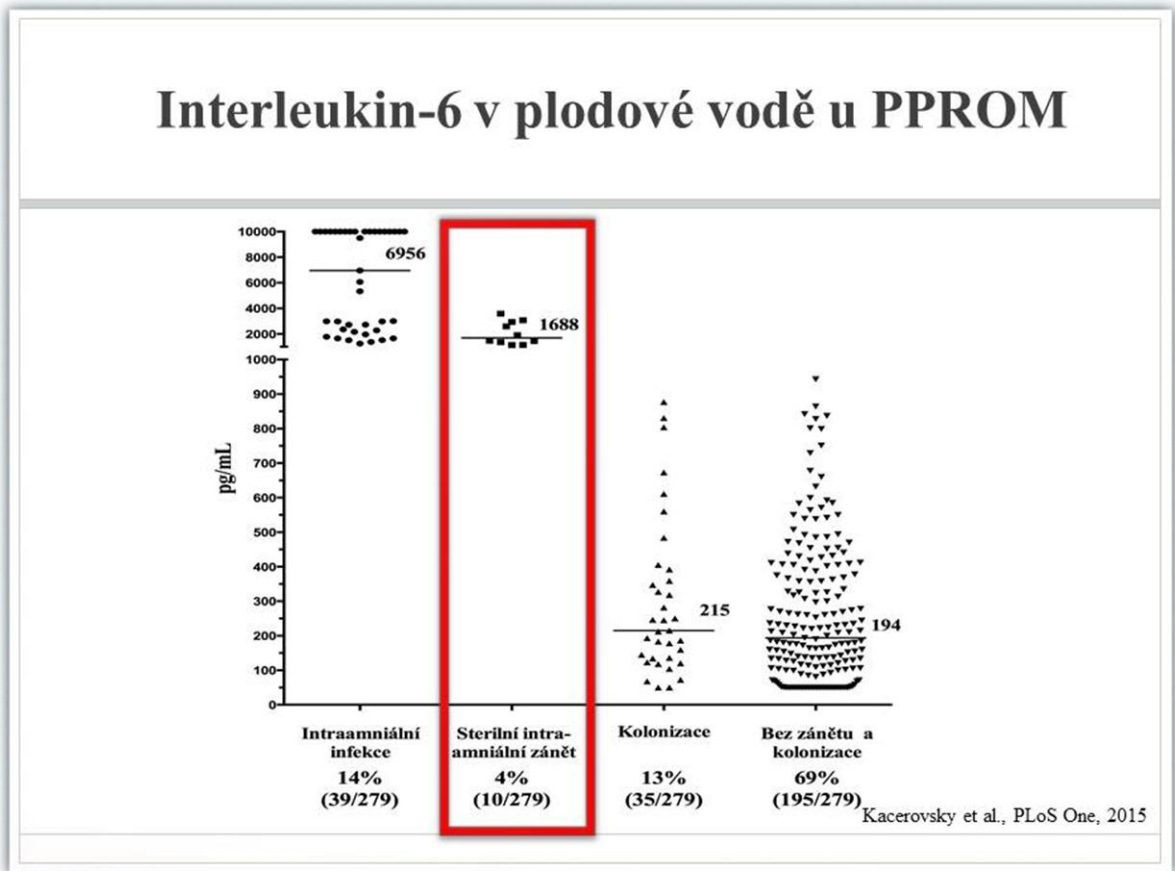


Příloha H *Standardní screeningový test versus neinvazivní prenatalní test (6).*

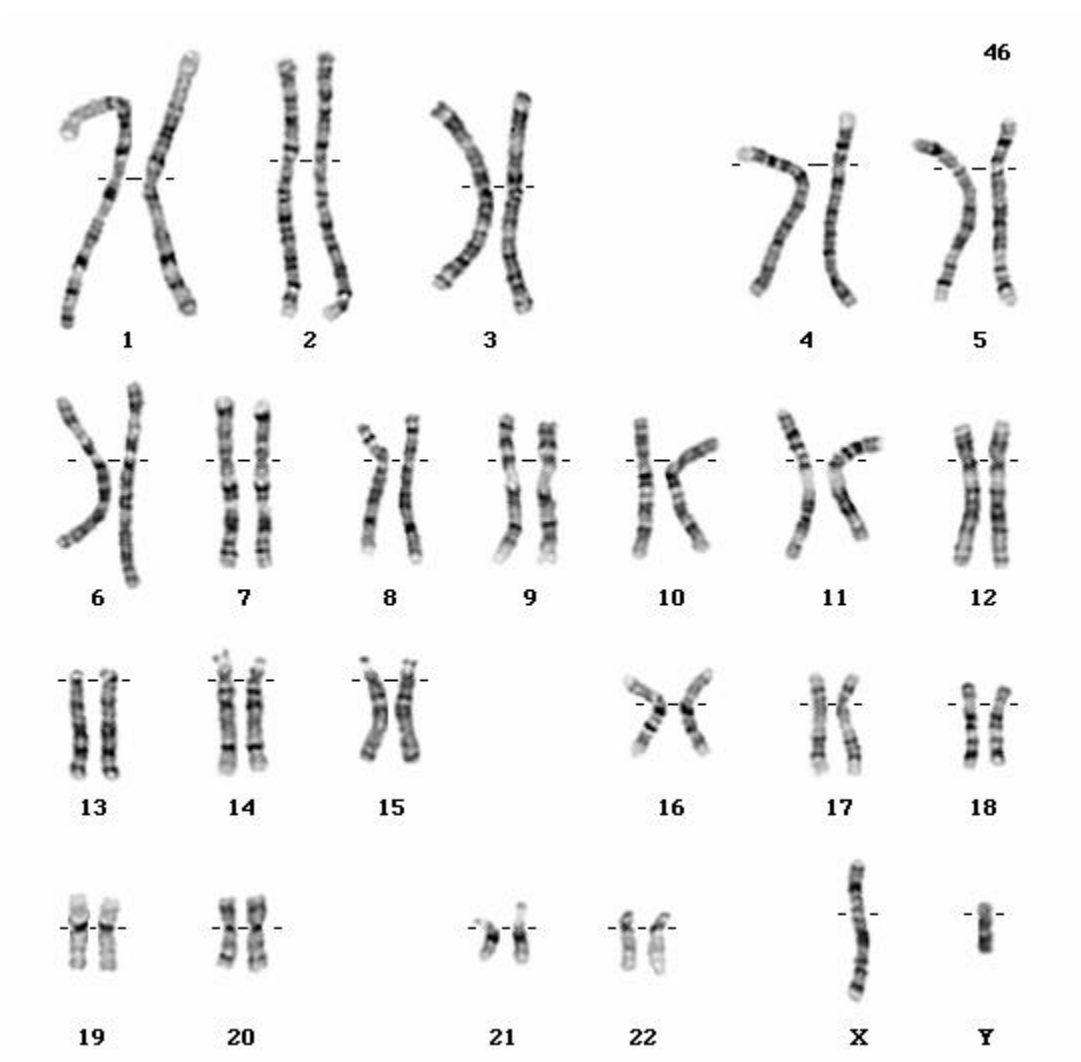


Příloha I Prenatální screening v I. trimestru těhotenství (7).





Příloha K Karyotyp – technika G pruhování (9).



Příloha L Karyotyp – technika R pruhování (9).

