

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Ústav obecné biologie a genetiky



Lenka Malinová

Kombinovaný screening v 1. trimestru- záchyt chromozomových abnormalit u plodu

*First trimester combined screening-
detection of chromosomal abnormalities in the fetus*

Bakalářská práce

Praha, 2015

Autor práce: **Lenka Malinová**
Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Veřejné zdravotnictví
Typ studia: bakalářský
Forma studia: kombinované

Vedoucí práce: **RNDr. Hana Zoubková, Ph.D.**
Pracoviště
vedoucího práce: **Ústav obecné biologie a genetiky 3. LF UK**

Předpokládaný
termín obhajoby: červen 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci vypracovala samostatně a použila výhradně uvedené citované prameny, literaturu a další odborné zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby má bakalářská práce byla používána ke studijním účelům.

Prohlašuji, že odevzdaná tištěná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do Studijního informačního systému – SIS 3. LF UK jsou totožné.

V Praze dne 27. 4. 2015

Lenka Malinová

Poděkování

Děkuji své školitelce RNDr. Haně Zoubkové, Ph.D. za odborné i pedagogické vedení mé bakalářské práce, primáři MUDr. Jaroslavu Kotlasovi za cenné rady, podněty i připomínky a vedoucí cytogenetické laboratoře UBLG VFN a 1. LF UK Mgr. Mimoze Janashie, CSc. za pochopení a vytvoření pracovních podmínek během celého studia.

Obsah

SEZNAM ZKRATEK	7
1. ÚVOD	8
2. CYTOGENETIKA.....	10
3. LIDSKÝ KARYOTYP.....	11
4. CHROMOZOMÁLNÍ ABNORMALITY	16
4.1. Numerické odchylky	16
4.2. Strukturní aberace.....	17
5. NEJČASTĚJŠÍ GENETICKY PODMÍNĚNÉ SYNDROMY.....	19
5.1. Downův syndrom.....	19
5.2. Edwardsův syndrom.....	22
5.3. Patauův syndrom	23
5.4. Turnerův syndrom	24
5.5. Klinefelterův syndrom	25
5.6. Syndrom tří X „Superfemale“	26
5.7. Syndrom dvou Y „Supermale“	26
6. SCREENING V TĚHOTENSTVÍ	26
6.1. Definice pojmu	26
6.2. Možnosti screeningu v těhotenství	27
6.2.1. „Screening“ prvního trimestru	27
6.2.2. Screening druhého trimestru	28
6.2.3. Screening třetího trimestru.....	29
6.2.4. „Cell free DNA“ (volná DNA)	29
7. DIAGNOSTICKÉ METODY	30
7.1. Biopsie choriových klků (CVS).....	31
7.2. Amniocentéza (AMC).....	33
7.3. Kordocentéza (CC).....	34
8. PŘÍPRAVA MATERIÁLU	34
8.1. Typy tkání pro cytogenetické vyšetření.....	34
8.2. Kultivace tkání pro cytogenetické vyšetření.....	35
8.3. Zpracování kultivovaných buněk.....	36
8.4. Techniky barvení.....	37
8.5. Hodnocení cytogenetického preparátu	38

9. VLASTNÍ STATISTICKÉ ŠETŘENÍ	40
9.1. Cíl práce	40
9.2. Metodika.....	40
9.3. Charakteristika souboru.....	40
10. VÝSLEDKY.....	43
10.1. Současný vývoj prenatální diagnostiky.....	43
10.2. Patologické nálezy	46
10.2.1. Absolutní počty a procentuální vyjádření	46
10.2.2. Druhy patologických nálezů	48
10.2.3. Patologické nálezy v souvislosti s věkem	52
11. DISKUZE	57
12. ZÁVĚR	59
13. SOUHRN.....	60
14. SUMMARY	61
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	62
SEZNAM ON-LINE ZDROJŮ	63
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	64
SEZNAM TABULEK A GRAFŮ	65

Seznam zkratek

AFP	alfa fetoprotein
AMC	aminocentéza – odběr plodové vody
β-hCG	beta human chorionic gonadotrophin – lidský choriový gonadotropin
CC	kordocentéza – odběr pupečnickové krve
CO₂	oxid uhličitý
CVS	chorionic villus sampling – odběr choriových klků
DNA	deoxyribonucleic acid – kyselina deoxyribonukleová
uE	nekonjugovaný estriol
ISCN	International system for human cytogenetic nomenclature
NT	nuchální translucence – šíjové projasnění
PAPP-A	pregnancy-associated plasma protein A
PHA	phytohemagglutinin
QF-PCR	quantitative fluorescence polymerase chain reaction – kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce
Rh faktor	Rhesus faktor – krevně skupinový antigenní systém

1. Úvod

Genetika je rozsáhlý obor zabývající se variabilitou a dědičností u všech živých organismů včetně člověka. Obor lékařské genetiky soustřeďuje mnoho zájmových oblastí, které odrážejí různé směry vývoje genetiky. Hlavní oblasti lékařské genetiky představuje studium lidských chromozomů (cytogenetika), studium struktury a funkce genů (molekulární genetiky), studium genomu a jeho organizace (genomika), studium genetické proměnlivosti lidských populací (populační genetiky), studium genetického řízení vývoje (vývojová genetiky) a aplikace genetiky v diagnostice a léčebně preventivní péči (klinická genetiky).

Obor na přelomu 20. a 21. století zaznamenal prudký rozvoj a pokrok. Stále lepší znalost genetiky a jejích principů umožňuje i vývoj nových terapeutických metod a postupů. Nové znalosti následně umožnily lépe vysvětlit etiologii a patogenezi mnohých onemocnění člověka, včetně těch nejzávažnějších, jako jsou např. nádorová nebo neurodegenerativní onemocnění. Aplikace objevů do praxe umožnila zavádět nová preventivní opatření, příkladem mohou být pre i postnatální screeningová vyšetření. Byly zavedeny nové postupy v prenatální a preimplantační diagnostice. Vše bylo doprovázeno vývojem kvalitnějších a přesnějších diagnostických metod (Thompson and Thompson, 2004).

Klinická genetiky představuje multidisciplinární obor, který se zabývá nejen diagnostikou a léčbou, ale především komplexní péčí o pacienty s dědičnými chorobami. Zaměřuje se nejen na pacienta samotného, ale na celou jeho rodinu včetně preventivních opatření. Často je nutná spolupráce psychologů a dětských lékařů. Klinická genetiky v podstatě sjednocuje veškerou lékařskou praxi. Genetické poradenství kombinuje stanovení rizik s psychologickou a edukační činností. Hlavním úkolem genetiky je sestavení podrobné osobní a rodinné anamnézy, analýza výsledků dosavadních vyšetření a stanovení diagnózy. Následně je pak provedena edukace vyšetřované osoby, popřípadě i ostatních členů rodiny. Na základě všech dostupných informací klient sám zvažuje další postup, má právo na svobodné

rozhodnutí. Musí mít dostatek času vyrovnat se s novými skutečnostmi, rozhodování nelze uspěchat. Názor klienta je třeba akceptovat, a to i v případě, že s jeho rozhodnutím lékař nesouhlasí. Povinností klinického genetika je pomoci volbu klienta realizovat (Panczak a kol., 2013).

2. Cytogenetika

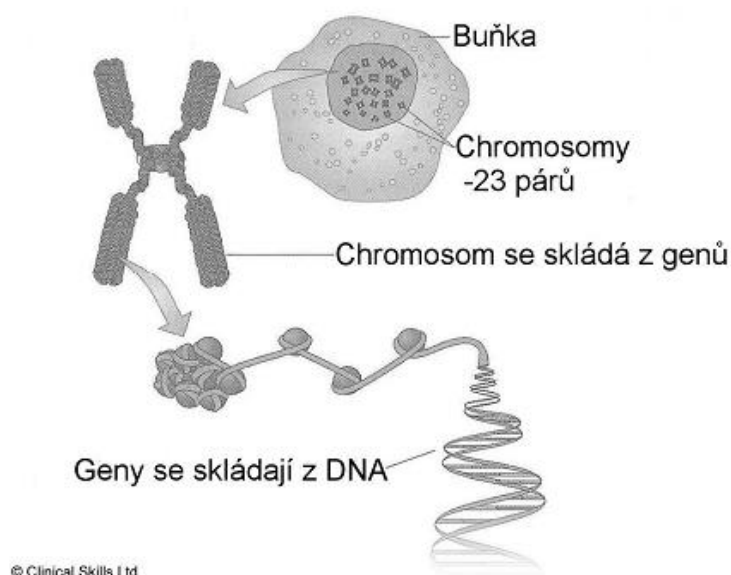
Cytogenetika je poměrně mladá a velmi úzce specializovaná vědecká disciplína. Je to odvětví genetiky, které se zabývá studiem chromozomů, změnami jejich počtu nebo struktury. Přesný počet lidských chromozomů je znám teprve od roku 1956. K rozvoji cytogenetiky přispělo jednak zdokonalení technik kultivace lidských tkání v umělém prostředí, tedy in vitro a také stále se zdokonalující technické konstrukce mikroskopů (Snustad and Simmons, 2009). V cytogenetických laboratořích se zpracovávají vzorky nejrůznějších tkání, včetně nádorových. Výsledkem je stanovení normálního nebo patologického karyotypu. Cytogenetické vyšetření slouží především ke stanovení karyotypu nemocných s vrozenými vývojovými vadami, v prenatální diagnostice k určení chromozomové výbavy plodu, ke zpřesnění diagnózy a určení prognózy některých nádorových onemocnění (Michalová, 1999). Chromozomální vyšetření je nedílnou složkou i celé řady dalších rutinních diagnostických postupů. Je indikováno v případě výskytu mnoha specifických fenotypických příznaků v klinické medicíně jako jsou například poruchy vývoje a růstu, dysmorfické změny, mnohočetné malformace, obojetný genitál i mentální retardace. Chromozomální poruchy se také významně podílejí na mnoha případech poruch reprodukce (Thompson and Thompson, 2004).

Cytogenetické metody jsou na rozdíl od ostatních laboratorních oborů stále záležitostí lidských rukou, používá se minimální přístrojové vybavení. Kvalitně připravený preparát umožňuje vyšší stupeň rozlišení jednotlivých částí chromozomů a tím vyšší možnost zjištění nějaké abnormality.

3. Lidský karyotyp

Základem dědičnosti je kyselina deoxyribonukleová, tzv. DNA. Molekuly DNA se v buněčném jádře nevyskytují volně, vytvářejí komplexy s histony a s bílkoviny nehistonové povahy. Komplex těchto látek se nazývá chromatin. Chromatinová vlákna se během buněčného dělení mnohočetně spirálovitě stáčí a vytvářejí chromozomy (obr. 1).

Obr. 1 – Struktura chromozomu

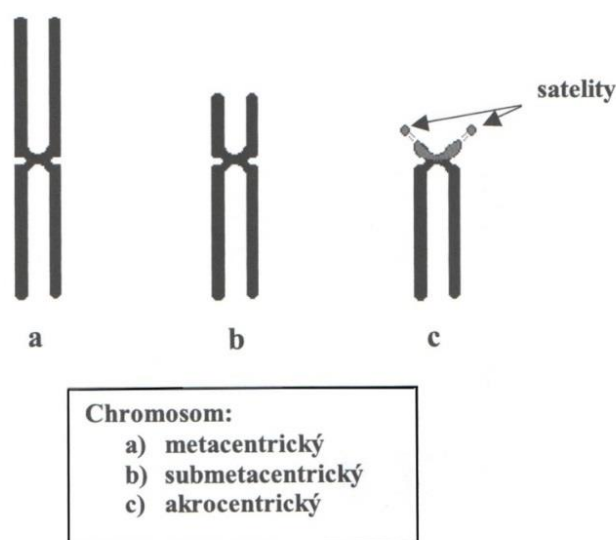


Zdroj: <http://www.eurogentest.org/index.php?id=456>

Každý chromozom je v metafázi mitotického dělení buňky tvořen dvěma sesterskými chromatidami. Každá chromatida obsahuje dvoušroubovici DNA. Sesterské chromatidy jsou vzájemně spojeny v oblasti centromery. Centromera má zásadní význam při dělení buňky, tj. při distribuci chromatid do dceřiných buněk. Chromozom je centromerou rozdělen na dvě části, tzv. raménka. Krátké raménko označujeme p, dlouhé q. Podle polohy centromery na chromozomu pak dělíme chromozomy na tři typy. Metacentrické,

submetacentrické a akrocentrické. U metacentrických chromozomů je centromera uprostřed a raménka p a q jsou přibližně stejně dlouhá. Centromera u submetacentrického typu viditelně rozděluje chromozom na krátká a dlouhá raménka. Centromera akrocentrických chromozomů je velmi blízko konci chromozomu, proto jsou p-raménka velmi krátká (Otová, Mihalová, 2012) (obr. 2).

Obr. 2 – Typy lidských chromozomů



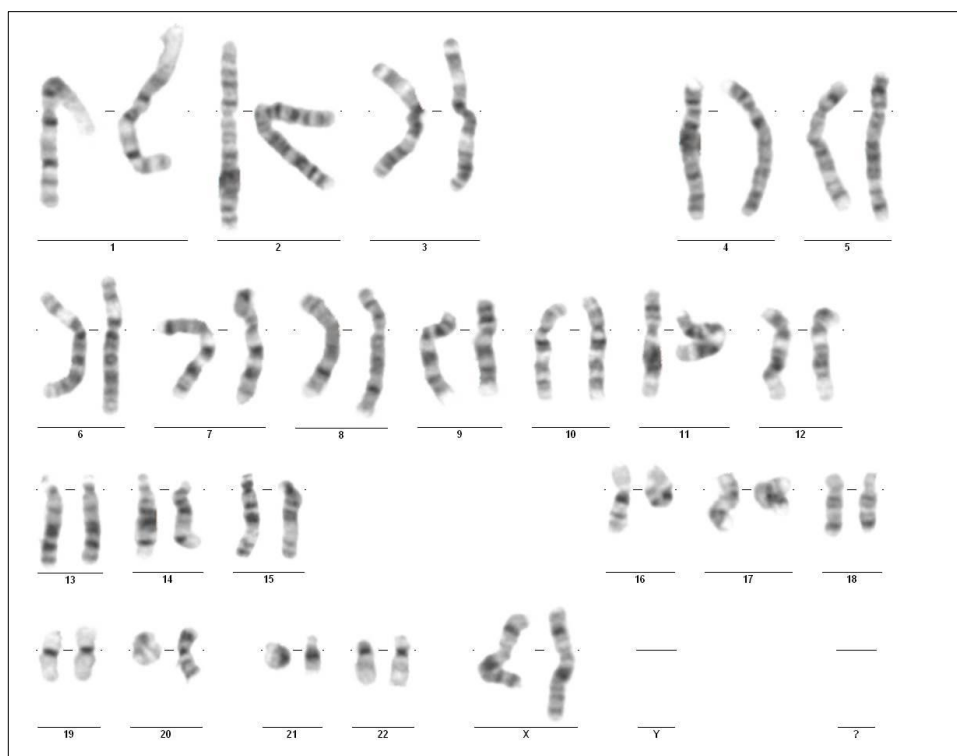
Zdroj: Otová, Mihalová, Základy biologie a genetiky člověka, Karolinum 2012

Počet a tvar chromozomů je druhově specifický. Sadu chromozomů obsaženou v jádře každé buňky jedince označujeme pojmem karyotyp. Lidské somatické buňky jsou diploidní, to znamená, že mají v jádře dvě haploidní sady chromozomů (23+23), z nichž jedna sada pochází od matky, je maternálního původu a druhá od otce, je paternálního původu. Pohlavní buňky matky a otce (vajíčka a spermie) obsahují haploidní, tedy poloviční počet chromozomů. Při procesu oplodnění dojde ke splynutí vajíčka a spermie a vznikne tak opět diploidní zygota, ze které se vyvíjí nový organismus.

Normální lidský karyotyp obsahuje 46 chromozomů. Z nich 22 párů je tzv. autozomů, jeden chromozom je vždy maternálního a druhý paternálního původu. Jsou označovány arabskými číslicemi 1–22 a při vyšetření karyotypu jsou řazeny od největšího po nejmenší. Zbývající pár tvoří pohlavní chromozomy (tzv. gonozomy) X a Y. Ženy mají dva pohlavní chromozomy X a muži mají jeden pohlavní chromozom X a jeden Y. Normální fyziologický karyotyp ženy je zapisován jako 46,XX (obr. 3) a normální karyotyp muže 46,XY.

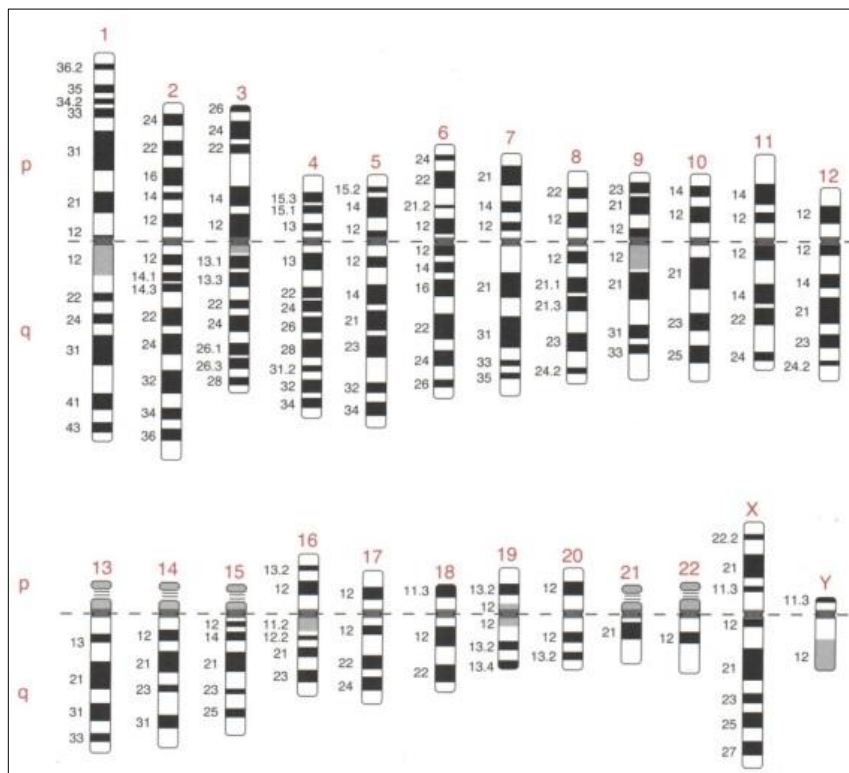
Grafické, schematické vyjádření karyotypu se nazývá karyogram nebo ideogram (Otová, Mihalová, 2012), (obr. 4).

Obr. 3 – Karyotyp ženy 46,XX



Zdroj: Cytogenetická laboratoř UBLG VFN a 1. LF UK v Praze

Obr. 4 – Ideogram



Zdroj: Thompson and Thompson, Klinická genetika, 6. vydání, Praha, Triton 2004

Základní identifikace chromozomů je založena na jejich tvaru, velikosti a specifickém pruhování, kterého dosahujeme barvicími technikami. Pruhování vzniká v důsledku střídání světle se barvicích oblastí chromatinu (euchromatin) a tmavých pruhů chromatinu (heterochromatin). Pruhy umožňují identifikovat jednotlivé chromozomy a stanovit případné odchylky. Pruhované chromozomy jsou viditelné po kultivaci buněk a zpracování ve světelném mikroskopu (Michalová, 1999), (obr. 5).

Obr. 5 – Lidské chromozomy po cytogenetickém zpracování



Zdroj: Cytogenetická laboratoř UBLG VFN a 1. LF UK v Praze

4. Chromozomální abnormality

V karyotypu mohou být nalezeny různé odchylky v počtu nebo ve struktuře chromozomů. Tyto odchylky mohou mít za následek klinické projevy a mohou podmiňovat onemocnění obecně označovaná jako chromozomálně podmíněné syndromy. Syndrom bývá definován jako soubor příznaků charakterizujících určitý fenotyp jedince. Častým projevem různých chromozomálně podmíněných syndromů je nízká porodní váha, neprospívání, porucha psychomotorického vývoje dítěte, abnormální umístění očí, uší, různé deformity končetin, vrozené srdeční vady apod. (Otová, Mihalová, 2012).

Odchylky chromozomů mohou být přítomné ve všech buňkách všech tkání nebo jen v některých tkáních. Takové případy jsou nazývány mozaikami neboli chromozomovým mozaicismem (Michalová, 1999).

4.1. Numerické odchylky

Numerická neboli početní odchylka je jakákoliv odchylka od normálního počtu chromozomů. Může být zmnožena celá sada chromozomů nebo pouze změněn počet jednoho či více chromozomů. A to ve smyslu jak zmenšení, tak i zvětšení počtu. Početní odchylky se mohou týkat autozomů (chromozomy 1–22) i gonozomů (chromozom X a Y).

Normální stav, kdy je v buňkách přítomna kompletní sada chromozomů označujeme pojmem euploidie. Pro somatické (tělesné) buňky je to 46 chromozomů, pro pohlavní buňky polovina, tedy 23 chromozomů. Polyploidie znamená zmnožení (násobek) celé sady chromozomů, například 3n–triploidie, značí počet chromozomů 69, 4n–tetraploidie, znamená 92 chromozomů. Vznik triploidních zygot je možný (např. při oplození vajíčka dvěma spermii), ale tyto polyploidní stavy nejsou u člověka slučitelné se životem a těhotenství končí potratem. Změna počtu jednotlivých homologních chromozomů se označuje pojmem aneuploidie. Ve většině

případů se jedná o trizomii $2n+1$, nebo monozomii $2n-1$, kdy celkový počet chromozomů je 47, respektive 45 (Otová, Mihalová, 2012).

4.2. Strukturní aberace

Jedná se o změny ve struktuře chromozomů a chromatid. Změny se mohou týkat jednoho chromozomu nebo se může jednat o přestavby mezi více chromozomy. Strukturní chromozomové aberace vznikají jako následek chromozomální nestability (projevující se vznikem zlomů), způsobené nadměrnou expozicí jedince klastogenům (mutagenům), nebo zhoršenou funkcí reparačních mechanismů. Kritickou lézí, vedoucí ke vzniku zlomů chromozomů, jsou dvouvláknové zlomy DNA. Následky těchto odchylek závisí na tom, zda je i po strukturní přestavbě zachováno normální množství genetické informace. Pokud ne, potom dochází k fenotypovým projevům, které se odvíjejí od toho, jaká a jak velká část genomu chybí či naopak přebývá. Strukturní aberace, kdy je genetický materiál kvantitativně zachován jsou balancované (vyvážené) a jsou obvykle bez klinických příznaků. Hrozí však riziko pro potomstvo, které může zdědit přestavbu v nebalancované podobě s klinickými příznaky.

Jednotlivé typy strukturních aberací tvoří delece, inserce, paracentrická a pericentrické inverze, reciproká a Robertsonská translokace, prstencový (ring) chromozom, marker chromozom a izochromozom.

Delece znamená ztrátu části chromozomu. U terminální delece dochází pouze k jednomu zlomu a ztrátě koncové části chromozomu. Intersticiální delece je stav, kdy je chromozom zlomen uprostřed na dvou místech. Může sice dojít k opětovnému spojení, ale prostřední část je eliminována a v následné buněčné generaci chybí.

Inserce znamená vmezeření části chromozomu, přičemž jsou nutné minimálně tři zlomy.

Inverze je balancovaná strukturální přestavba podmíněná dvěma zlomy na jednom chromozomu, při které je určitý segment chromozomu následkem zlomů přetočen o 180 stupňů a opětovně zařazen do chromozomu. Podle

umístění na chromozomu rozlišujeme dva typy inverze. Pericentrickou inverzi, pokud invertovaný úsek obsahuje centromeru a paracentrickou inverzi, při níž jsou obě místa zlomu na stejném raménku chromozomu (Otová a kol., 2008).

Translokace je přesun či výměna celého nebo jen části chromozomu. Translokací rozlišujeme několik podskupin. Tandemová (jednoduchá) translokace je prostý přesun části chromozomu na jiný chromozom. Reciproká translokace je vzájemná výměna částí ramének mezi chromozomy. Jedná se čistě o výměnu, při níž se zlomené části opět spojí, jen s jiným chromozomem. Robertsonská translokace představuje fúzi – spojení dvou akrocentrických chromozomů (13, 14, 15, 21 a 22) v oblasti centromery, přičemž ke zlomu dochází na obou chromozomech. Reciproká i Robertsonská translokace a pericentrická i paracentrická inverze jsou balancované (vyvážené) strukturní aberace a mohou se vyskytovat i v karyotypu jedince bez klinických příznaků.

Ring chromozom je kruhový chromozom, který vzniká zlomem koncových částí chromozomu a následným spojením volných konců toho samého chromozomu za současné ztráty deletovaných konečků. Jedná-li se o některý z autozomů, jsou tito jedinci vždy těžce postiženi mentálně i fyzicky.

Marker chromozom je malý, zpravidla nadpočetný fragment chromozomu, který si zachoval centromeru. Pro prognózu je důležitý fakt, ze kterého chromozomu fragment pochází, podle toho může i nemusí mít vliv na geneticky podmíněné onemocnění.

Izochromozom je tvořený jen dvěma krátkými nebo dvěma dlouhými raménky téhož chromozomu. Vzniká příčným rozdělením centromery v meióze nebo translokací ramének homologního chromozomu v oblasti centromery (Michalová, 1999; Otová, Mihalová, 2012).

5. Nejčastější geneticky podmíněné syndromy

5.1. Downův syndrom

Jedná se o trizomii chromozomu 21, je to nejčastější syndrom s početní změnou chromozomů. Karyotyp je zapisován jako 47,XX,+21 pro ženské pohlaví nebo 47,XY,+21 pro pohlaví mužské. Z cytogenetického hlediska existují tři základní formy Downova syndromu, forma tzv. volné trizomie, forma translokační a mozaika Downova syndromu. Forma volné trizomie je formou nejběžnější, objevuje se až v 95 % případů. Jedná se o výskyt celého nadbytečného chromozomu 21 v každé buňce. Dochází k tomu vlivem nondisjunkce – špatného rozdělení chromozomů nebo chromatid do dceřiných pohlavních buněk během meiotického (redukčního) dělení. Správně má každá gameta obsahovat haploidní sadu chromozomů, tzn. od každého chromozomu jeden. V případě nondisjunkce má ale jedna dceřiná buňka dva a druhá žádný chromozom. Po spojení s druhou pohlavní buňkou (vajíčko či spermie) během oplození získá výsledná zygota tři stejné chromozomy. Pravděpodobnost vzniku volné trizomie 21 je více méně náhodná, jako nejvýznamnější faktor pro její vznik je uváděn věk matky. Při druhém typu Downova syndromu dochází k translokaci mezi chromozomem 21 a některým akrocentrickým chromozomem, nejčastěji chromozomem 14, přičemž vznikají Robertsonské translokace zmíněné v kapitole 4.2. Translokační forma se klinicky od volné trizomie nijak neliší, ale představuje genetické riziko z hlediska vertikálního přenosu z rodiče na dítě. Nejméně běžným typem Downova syndromu je forma trizomie 21 v mozaice. V karyotypech zhotovených z různých tkání jedince můžeme nalézt jak normální linii buněk 46,XX nebo 46,XY, tak i buňky trizomické 47,XX,+21 nebo 47,XY,+21 (Selikowitz, 2005).

Mezi hlavní klinické příznaky Downova syndromu patří svalová hypotonie, šikmo posazené oči, velký jazyk, vpadlý kořen nosu (obr. 6), typická tzv. opičí rýha ve dlaní (obr. 7), časté vrozené vývojové vady srdce i jiných orgánů. Charakteristická pro Downův syndrom je rovněž mentální

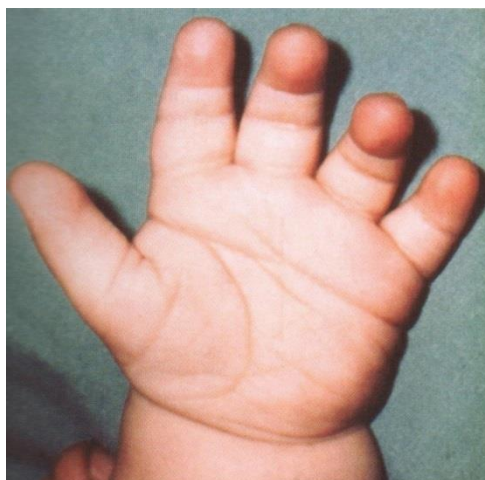
retardace. Každý jedinec s Downovým syndromem má nějaký stupeň mentálního postižení. Většina dětí a dospělých s Downovým syndromem se pohybuje v pásmu lehké nebo středně těžké mentální retardace. Vzhledem k medicínskému pokroku se dnes lidé s Downovým syndromem dožívají často 50–60 let (Otová a kol., 2008). Riziko početí dítěte s Downovým syndromem výrazně závisí na věku matky, kdy exponenciální vzestup míry rizika je patrný zejména od 35 let věku rodičky (obr. 8). V České republice i mnoha jiných zemích je stanovena věková hranice právě 35 let pro indikaci invazivního vyšetření plodu z důvodu vyššího rizika postižení plodu ve vztahu k věku matky v době porodu. S rozvojem screeningových metod záchyt plodů postižených Downovým syndromem, které byly diagnostikovány prenatálně, prudce stoupá (obr. 9).

Obr. 6 – Děti s Downovým syndromem



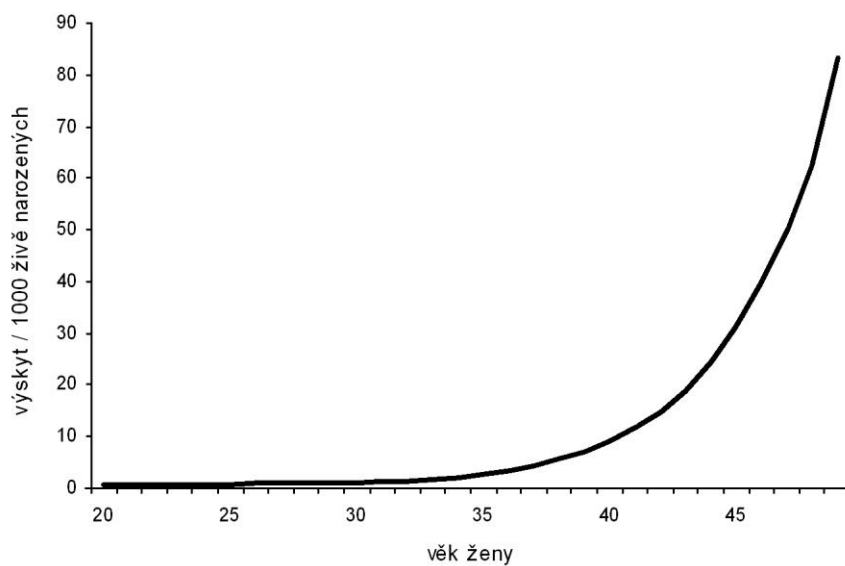
Zdroj: <http://www.repromeda.cz/pocetni-zmeny-chromozomu/>

Obr. 7 – Opičí rýha u Downova syndromu



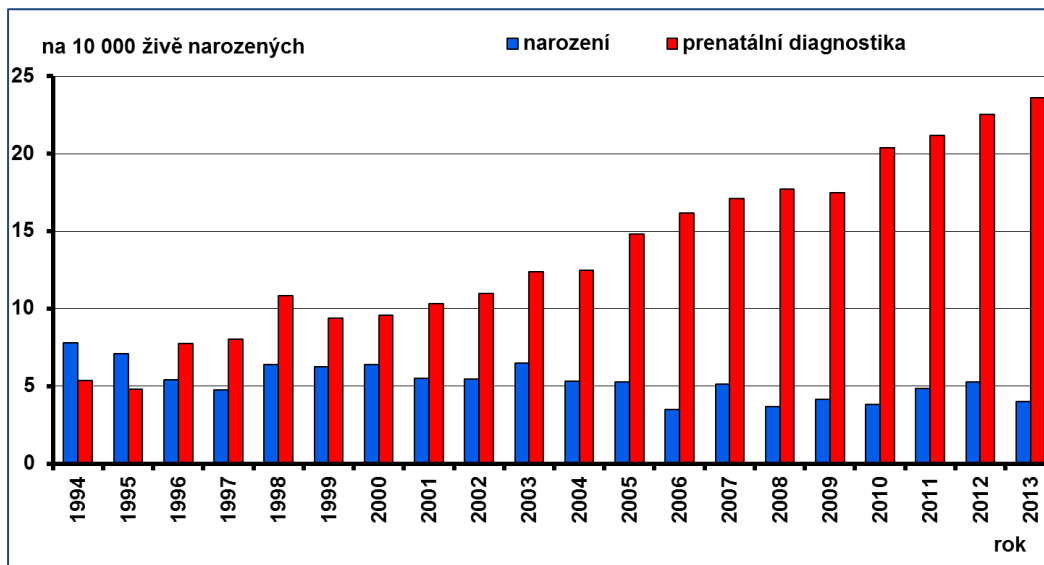
Zdroj: Jones Kenneth Lyons, MD et al, Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation, Elsevier 2013

Obr. 8 – Graf závislosti výskytu Downova syndromu na věku matky



Zdroj: Otová a kol., Lékařská biologie a genetika (1. díl), Karolinum 2008

Obr. 9 – Prenatální záchyt Downova syndromu



Zdroj: http://www.vrozenevady.cz/prezentace/pdf/Gregor_Izakovic_2014.pdf

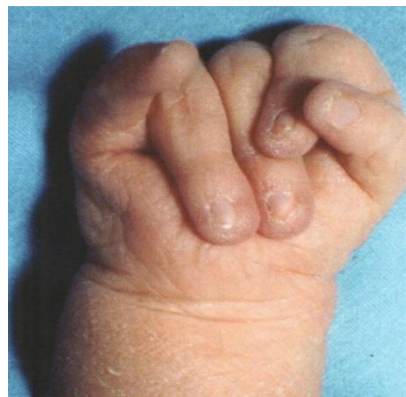
5.2. Edwardsův syndrom

Edwardsův syndrom (obr. 10) je způsoben trizomií chromozomu 18. Karyotyp se zapisuje jako 47,XX,+18 pro ženské pohlaví nebo 47,XY,+18 pro mužské pohlaví. Jde o velmi těžké postižení. Většina plodů je spontánně potracena. 90 % narozených dětí zpravidla umírá během prvního půl roku života. Mezi klinické projevy patří malá ústa, nos i celá dolní čelist, nízko posazené uši, časté jsou vývojové vady srdce a ledvin. Charakteristické je držení prstů v sevřených pěstích s křížením druhého prstu přes třetí a pátého přes čtvrtý (obr. 11). Děti jsou malé, neprospívají, jsou výrazně psychomotoricky retardované (Otová a kol., 2008).

Obr. 10 – Edwardsův syndrom



Obr. 11 – Edwardsův syndrom -
postavení prstů

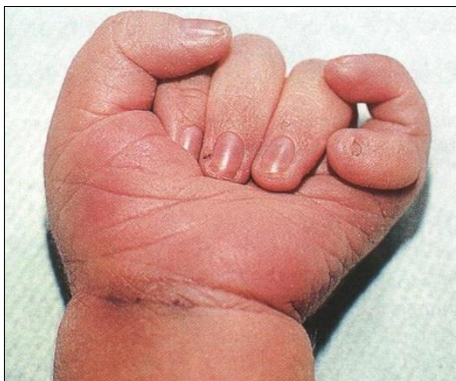


Zdroj: Šmarda, Genetika pro gymnázia, Fortuna 2003; Jones Kenneth Lyons et al, Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation, Elsevier 2013

5.3. Patauův syndrom

U Patauova syndromu se jedná o trizomii chromozomu 13 se zápisem karyotypu 47,XX,+13 pro ženské pohlaví nebo 47,XY,+13 pro mužské pohlaví. Vyskytuje se vzácněji než Downův či Edwardsův syndrom. Děti s tímto syndromem jsou často postiženy rozštěpem rtu i patra, mají vrozené vady srdce, ledvin, zažívacího i pohlavního ústrojí. Častý je i výskyt polydaktylie, nadpočetného prstu (obr. 12). Vzhledem k významným změnám mozkových funkcí většinou umírají v prvních dnech či týdnech života (Otová, Mihalová, 2012).

Obr. 12 – Nadpočetný prst u Patauova syndromu



Zdroj: Jones Kenneth Lyons, MD et al, Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation, Elsevier 2013

5.4. Turnerův syndrom

V karyotypu žen s Turnerovým syndromem nalézáme pouze jeden chromozom X. Jedná se o monozomii se zápisem 45,X. Avšak až okolo 50 % případů Turnerova syndromu je podmíněno jiným karyotypem, nejčastěji se jedná o chromozomální mozaiky zapisované jako 45,X/46,XX; 45,X/47,XXX; případně i 45,X/46,XX/47,XXX. Dále se může jednat o strukturní aberace typu izochromozomu 46,X,i(Xq), vzácně i 46,X,i(Xp), delece krátkých nebo dlouhých ramének chromozomu X se zápisem 46,X,del(Xp) respektive 46,X,del(Xq) nebo dokonce kruhový chromozom X, 46,X,r(X) (Gregor, Šípek, 2014).

Klinické příznaky někdy nejsou jednoznačně patrné, někdy je viditelná kožní řasa na krku nazývaná pterygium colli (obr. 13) nebo široký, štítovitý hrudník se vzdálenými prsními bradavkami. Tyto znaky lze dnes plastickou chirurgií korigovat. Důležitým znakem je však absence vaječníků, které jsou tvořeny pouze vazivovou lištou. U dívek se tedy v pubertě nedostaví menstruace ani ostatní sekundární pohlavní znaky. Často je to první důvod k návštěvě genetické poradny. Ženy jsou většinou malé, což lze ovlivnit podáváním růstového hormonu v dětství, ale po celý život zůstávají neplodné. Dnes ale nejsou výjimkou ani ženy s Turnerovým syndromem,

kteřé díky darovanému oocytu (vajíčku) a substituční hormonální léčbě mohly porodit zdravé dítě (Otová, Mihalová, 2012).

Obr. 13 – Turnerův syndrom-pterygium colli



Zdroj: Dietrich von Schweinitz, Benno Ure, Kinderchirurgie, Springer Verlag Berlin Heidelberg 2013

5.5. Klinefelterův syndrom

Jedná se o trizomii pohlavních chromozomů s karyotypem 47,XXY. Vzácně se však může vyskytovat i karyotyp 48,XXXXY nebo 49,XXXXXY. Fyzicky se jedná o chlapce, kteří až do puberty nemají žádné zvláštní potíže. V dospívání převládá ženský typ rozložení tělesného tuku i ochlupení. Mohou mít zvětšená prsa, tzv. gynekomastii, jejich varlata jsou malá, tuhá, bez tvorby spermií i testosteronu. Právě neplodnost přivádí většinou muže nebo celé páry ke genetickému vyšetření (Michalová, 1999; Kočárek a kol., 2006; Otová, Mihalová, 2012).

5.6. Syndrom tří X „Superfemale“

Syndrom tří X, s karyotypem 47,XXX. Syndrom nemá viditelné klinické příznaky, u některých žen byly popsány poruchy menstruačního cyklu. Většina žen je však plně fertálních, rodí zdravé děti a o své nemoci se zpravidla nikdy nedozví (Michalová, 1999; Kočárek a kol., 2006; Otová, Mihalová, 2012).

5.7. Syndrom dvou Y „Supermale“

Jedinci s karyotypem 47,XYY. Vzhledově se od zdravých jedinců nijak neliší, zpravidla se jedná o vysoké, urostlé muže. Některé studie popisují větší sklon k agresivnímu, impulsivnímu chování, avšak tyto teorie jsou diskutabilní. Sexuální vývoj i plodnost jsou normální (Michalová, 1999; Kočárek a kol., 2006; Otová, Mihalová, 2012).

6. Screening v těhotenství

6.1. Definice pojmu

Pojmem screening je v lékařství označováno plošné vyšetřování předem definované skupiny lidí za účelem vyhledávání chorob v jejich časných stádiích, kdy pacient ještě nemá potíže a klinické příznaky. Cílem screeningu je brzké rozpoznání nemoci nebo odchylky od normy s možností včasným zásahem či péčí snížit nebo úplně zamezit jejímu propuknutí.

Screeningovou metodou je zpravidla forma laboratorních testů. Jakýkoliv screening by měl splňovat následující podmínky. Dostupnost pro celou cílovou skupinu, nesmí být invazivní (akceptován je odběr krve z periferní žíly), musí zaručovat vysokou senzitivitu i specifickou, respektive nízkou falešnou pozitivitu či negativitu, vyšetření musí být jednoduché a ekonomicky únosné (v České republice je většina screeningových vyšetření

hrazena z veřejného zdravotního pojištění). Pro pozitivní vzorky musí být k dispozici cílené diagnostické vyšetření a v případě potvrzení diagnózy, na kterou screening poukázal, musí existovat následné řešení (léčba, možnost volby ukončení těhotenství), (Panczak a kol., 2013).

6.2. Možnosti screeningu v těhotenství

6.2.1. „Screening“ prvního trimestru

První trimestr těhotenství je ideálním obdobím pro výpočet rizika chromozomových odchylek pro plod. Používá se k tomu prvotrimestrální kombinovaný test. V případě tohoto testu nelze mluvit o screeningu v pravém slova smyslu, protože není splněn jeden z výše uvedených bodů a tím je celoplošná dostupnost vyšetření. Měření totiž vyžaduje kromě kvalitního ultrazvukového přístroje také značné zkušenosti a měla by jej provádět pouze akreditovaná pracoviště. Vyšetření je zatím možné podstoupit jen v některých zdravotnických zařízeních v Česku a zatím není hrazeno ze zdravotního pojištění. Na druhé straně senzitivita kombinovaného testu je velmi vysoká, uvádí se až 90 % (Panczak a kol., 2013).

Vyšetření se provádí mezi 10. a 12. týdnem těhotenství a zahrnuje tři hlavní parametry:

1. věk matky
2. výsledky biochemického vyšetření krve, při němž se stanovují hladiny dvou těhotenských hormonů z krve matky PAPP-A (pregnancy asociated plasma protein A) a beta- hCG (human chorionic gonadotrophin). PAPP-A je specifická těhotenská bílkovina produkovaná placentou těhotné ženy. Jeho hladina narůstá od pátého do osmnáctého týdne gravidity. Je nejdůležitějším biochemickým ukazatelem, neboť jeho hladina v mateřské krvi se významně snižuje u gravidit s vývojem plodu postiženým Downovým syndromem (Hájek, Kulovaný, Macek, 2000).

3. měření šíjového projasnění plodu, tzv. nuchální translucence (NT). Mezi 11. a 13. týdnem těhotenství se pod kůží v zátylku plodu hromadí tekutina. Z neznámých příčin je u některých patologických stavů, jako je např. Downův syndrom, této tekutiny zvýšené množství. U plodů se zvýšenou hodnotou NT byly pozorovány ve zvýšené míře i jiné abnormality, jako např. srdeční vady, brániční hernie, defekty skeletu, atd. Kromě nuchální translucence se v prvním trimestru sledují i další ultrazvukové markery, jako vyšetření nosní kůstky nebo rychlost průtoku krve plodu trojcípou chlopní (Caldá a kol., 2007).

Kombinovaný test není diagnostické vyšetření, jednoznačně totiž neurčuje postižení dítěte, pouze vymezuje skupinu žen se zvýšeným rizikem. Riziko je vyhodnoceno počítačovým programem ve tvaru poměru 1: xxxx, který udává pravděpodobnost postižení dítěte. Např. výsledek testu 1: 5000 udává, že z 5000 žen s tímto výsledkem, bude mít jedna žena dítě postižené některou chromozomální odchylkou. To znamená, že čím je druhé číslo v poměru vyšší, tím je míra rizika postižení plodu nižší. Ženám s pozitivním výsledkem testu je nabídnuta genetická konzultace, popř. některá invazivní diagnostická metoda, jako odběr choriových klků nebo plodové vody (Caldá a kol., 2007).

6.2.2. Screening druhého trimestru

Screeningové vyšetření II. trimestru těhotenství, tzv. triple test se provádí mezi 16. a 20. týdnem gravidity. Na rozdíl od „screeningu“ prvotrimestrálního se jedná o pravý screening plošně dostupný všem těhotným ženám, který je plně hrazen ze zdravotního pojištění. Senzitivita triple testu je však uváděna pouze kolem 60–65 %. Screening se zaměřuje zejména na stanovení počtu a vitality plodů, množství plodové vody, podrobné ultrazvukové vyšetření plodu s detailním vyšetřením všech orgánů s cílem odhalit případné odchylky, lokalizaci a morfologii placenty. Dále se zaměřuje na biochemické vyšetření z krve matky, při němž se stanovují hladiny tří hormonů. Jedná se o alfafetoprotein (AFP), choriový gonadotropin (hCG) a nekonjugovaný estriol (uE) (Caldá a kol., 2007; Panczak a kol., 2013).

AFP je glykoprotein, jehož syntéza prudce narůstá do desátého až třináctého týdne těhotenství a po šestnáctém a dvaatřicátém týdnu prudce klesá. Jeho diagnostické využití v prenatalní diagnostice je založeno na patologické propustnosti fetoplacentární bariéry, jako je tomu například u poruch uzávěru neurální trubice nebo právě u chromozomálně podmíněných vrozených vývojových vad. Ve druhém trimestru se hodnotí také krevní obraz, Rh protilátky a provádí se orálně glukózový toleranční test (Hájek, Kulovaný, Macek, 2000).

6.2.3. Screening třetího trimestru

Jedná se především o ultrazvukové vyšetření, které je zaměřeno na přípravu k porodu. Zahrnuje posouzení velikosti plodu vzhledem ke gestačnímu stáří, odhad hmotnosti plodu, polohu placenty vzhledem k porodním cestám, diagnostiku dříve neodhalených vrozených vad plodu (Caldá a kol., 2007).

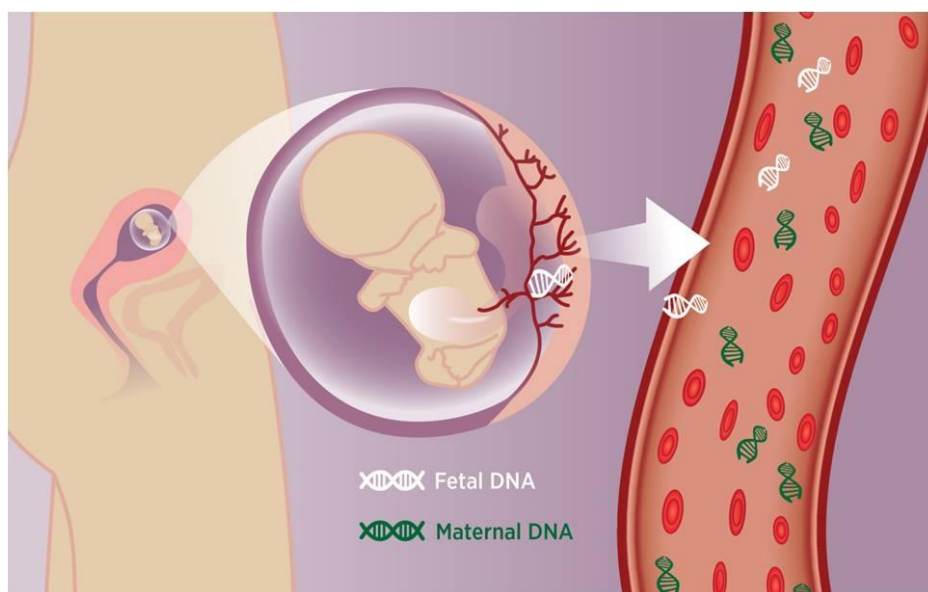
6.2.4. „Cell free DNA“ (volná DNA)

Jedná se o neinvazivní prenatalní test chromozomálních vad plodu, který je nově zaváděn do klinické praxe. V České republice jsou v současné době nabízeny tři takové testy – Harmony, Prenascan a Materni T21 Plus. Test je vhodný od 10. týdne těhotenství. V mnoha případech může nahradit invazivní metody, jako je odběr choriových klků nebo plodové vody, není však doporučován jako test první volby, zejména při ultrazvukovém nálezu.

Metoda je založena na detekci tzv. „volné“ DNA v krvi matky. V krevní plazmě lze prokázat volně kolující úlomky DNA uvolněné z rozpadlých buněčných jader. V plazmě těhotné ženy se vyskytuje jak směs úlomků DNA matky z jejích rozpadlých krevních buněk, tak směs úlomků DNA plodu pocházejících z buněk placenty (obr. 14). Tato část volné DNA patřící plodu se označuje jako fetální frakce a její podíl v krvi matky se v průběhu těhotenství zvyšuje. Díky moderním metodám molekulární genetiky lze každý z miliónů úlomků přiřadit k chromozomu, ze kterého pochází. Tím lze zjistit i nadbytek DNA v případě, že by se u plodu jednalo o některou

numerickou odchylku, např. trizomii, ale i numerické aberace pohlavních chromozomů. Senzitivita testu je uváděna velmi vysoká, 95–99 %, nicméně existuje riziko falešně pozitivního výsledku, který je pak lépe ověřit odběrem choriových klků nebo plodové vody. Test není hrazen ze zdravotního pojištění (Calda a kol., 2007; Panczak a kol., 2013).

Obr. 14 – „Cell free DNA“



Zdroj: <http://www.fetalmedicine.com/harmony-test>

7. Diagnostické metody

Jednotlivé invazivní metody prenatalní diagnostiky se vzájemně liší spolehlivostí výsledku a mírou rizika pro plod. Doposud neexistuje jedna univerzálně použitelná metoda, postupy se vzájemně doplňují. Výběr indikované metody by měl být přísně individuální. Invazivní diagnostická metoda je indikována genetikem většinou na základě abnormálního ultrazvukového nálezu, pozitivního biochemického screeningu nebo závažné rodinné anamnézy. Mezi nejběžnější invazivní výkony patří odběr choriových klků (CVS), odběr plodové vody neboli amniocentéza (AMC) a odběr

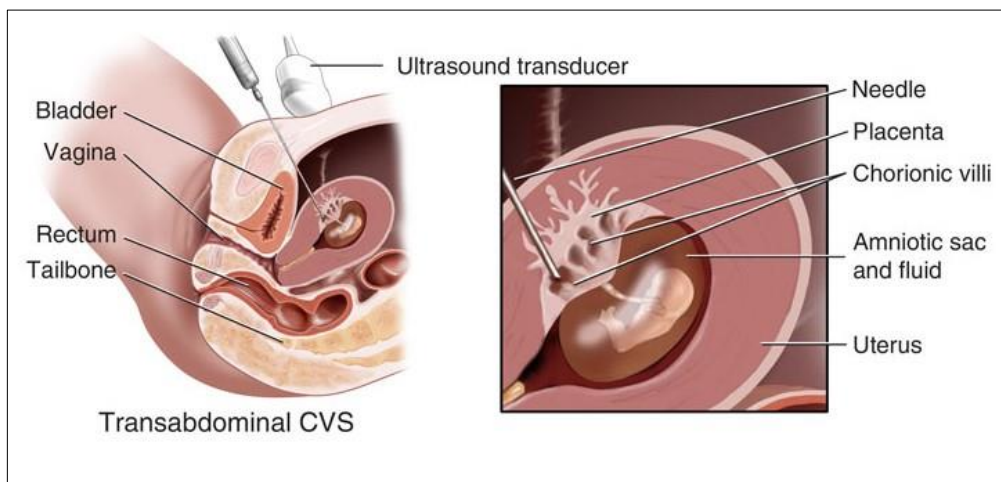
pupečnickové krve neboli kordocentéza (CC). Tyto postupy umožňují získat vzorek obsahující buňky plodu. Z nich jsou potom laboratorními postupy získány chromozomy a stanoven karyotyp plodu (Otová, Mihalová, 2012).

Protože kultivace a zpracování vzorků v laboratoři trvá zvláště u CVS a AMC relativně dlouho, výsledek je k dispozici zhruba za 10 – 12 dní, je možné využít metodu QF-PCR (quantitative fluorescence polymerase chain reaction). Jedná se o molekulárně genetické vyšetření, kde testujeme DNA. Vyšetřují se specifické markery pouze na těch chromozomech, které se v patogenezi chromozomálních aberací uplatňují nejčastěji. Jedná se zpravidla o chromozomy 13, 18, 21, X a Y. Podle počtu, respektive poměru těchto markerů ve vzorku lze odhalit změny v počtu testovaných chromozomů. Výhodou vyšetření je jeho rychlost (do 24 hodin), nevýhodou je značně omezená vypovídací hodnota při identifikaci jiných typů abnormalit. Metoda nenahrazuje kompletní genetické vyšetření, ostatní chromozomové aberace je možné odhalit až karyotypizací nakultivovaných buněk výchozího materiálu (Kohoutová, 2012).

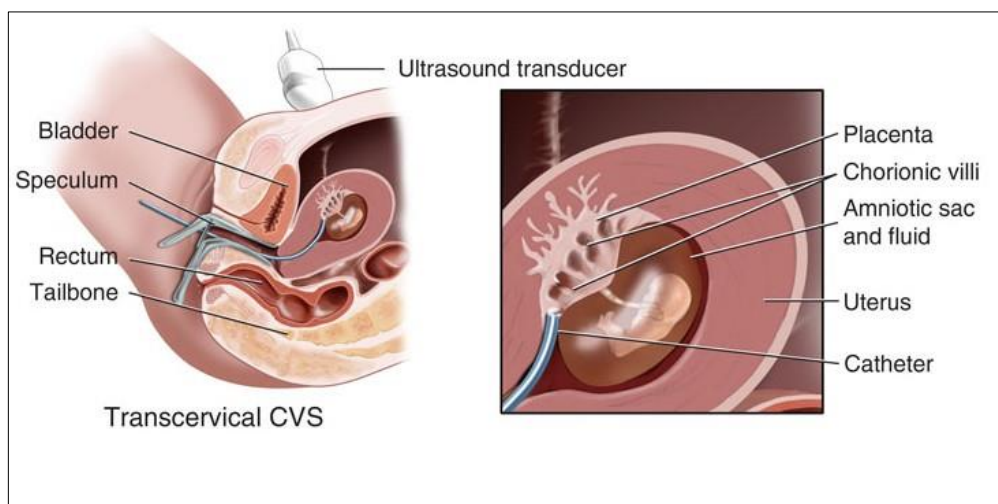
7.1. Biopsie choriových klků (CVS)

Jedná se o invazivní vyšetření, které se obvykle provádí mezi 10. až 14. týdnem těhotenství. Odběr je možný buď transabdominálně (vpich přes stěnu břišní) nebo transcervikálně (speciálním katetrem zavedeným přes děložní hrdlo). Volba metody závisí na umístění placenty v děloze. V České republice se v současné době používá v podstatě pouze technika transabdominální. Výkon je prováděn ambulantně, doporučuje se po něm minimálně 24 hodinový klidový režim. Odběr je prováděn vleže, kdy lékař jedním vpichem tenkou, dlouhou jehlou za stálé kontroly ultrazvukem odebere zhruba 5 – 20 mg placentární tkáně (obr. 15 a, b), (Calda a kol., 2007).

Obr. 15 a – Transabdominální odběr choriových klků



Obr. 15 b – Transcervikální odběr choriových klků



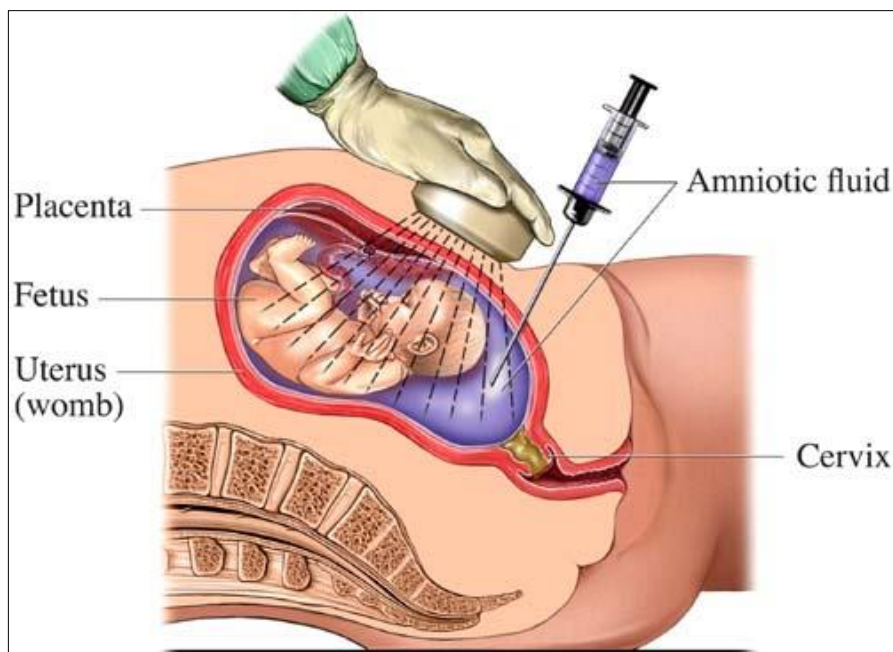
Zdroj: <http://emedicalhub.hubpages.com/hub/Genetic-Testing-During-Pregnancy#slide8060573>

Výhodou metody odběru choriových klků je hlavně posun diagnostiky případných chromozomových vad do ranějšího stadia těhotenství, což má pro pacientku nesporný význam jak klinický, tak především psychický. Nevýhodou této metody je riziko falešně pozitivních či negativních výsledků, protože je vyšetřována extraembryonální tkáň, ne buňky samotného plodu. Určitou nevýhodou je také možná kontaminace vzorku mateřskou tkání, i když toto riziko je hodnoceno jako nízké (Otová, Mihalová, 2012).

7.2. Amniocentéza (AMC)

Odběr plodové vody se provádí po 15. týdnu těhotenství transabdominální punkcí amniální tekutiny za současné kontroly ultrazvukem (obr. 16). V amniální tekutině se nacházejí odloupané epiteliální buňky plodu, které se použijí ke kultivaci. Stejně jako u odběru choriových klků se doporučuje pacientkám dodržet po výkonu klidový režim, riziko ztráty těhotenství je sice velmi nízké, ale přece jen existuje. Naopak spolehlivost aminocentézy je vysoká, možnost kontaminace mateřskou tkání je oproti biopsii choria mnohem nižší (Calda a kol., 2007). Z cytogenetického hlediska nelze opomenout ani kvalitu získaných chromozomů, jejichž rozlišovací schopnost je zpravidla vyšší právě u aminocentézy. Je tedy na lékaři, aby podle konkrétní diagnózy zvolil nejvhodnější způsob odběru.

Obr. 16 – Odběr plodové vody



Zdroj: <http://emedicalhub.hubpages.com/hub/Genetic-Testing-During-Pregnancy#slide8060573>

7.3. Kordocentéza (CC)

Po 18. týdnu těhotenství je možné zvolit metodu odběru fetální krve. Provádí se punkcí pupečnickové cévy, stejně jako předchozí metody transabdominálně za současné kontroly ultrazvukem. Riziko potratu je v podstatě stejné jako u AMC a CVS. Metoda je vysoce spolehlivá, možnost kontaminace mateřskou tkání je takřka nulová. Vzhledem k tomu, že použitým materiálem pro kultivaci jsou v tomto případě lymfocyty plodu, výsledky jsou k dispozici už za 48 nebo 72 hodin. Kordocentéza se také často používá jako ověřovací metoda neinformativního výsledku z biopsie choriových klků nebo aminocentézy, zvláště při nálezů mozaiky (Caldá a kol., 2007).

8. Příprava materiálu

8.1. Typy tkání pro cytogenetické vyšetření

Pro cytogenetické vyšetření karyotypu je nutné použít dělící se buňky. Dělení buněk má z genetického hlediska specifický význam pro uchování a přenos dědičné informace mezi buňkami jedince a mezi generací rodičů a potomků. U mnohobuněčných organismů rozlišujeme dva základní typy buněčného dělení, mitotické (mitóza) a meiotické (meióza). Mitóza je proces dělení somatických buněk, při němž z jedné buňky mateřské vznikají dvě buňky dceřiné s identickou genetickou výbavou. Oproti tomu meióza je specializovaný dvoustupňový typ jaderného dělení, kterým vznikají pohlavní buňky (gamety). Rozdíl mezi oběma děleními je v tom, že meiotické dělení je tzv. redukční, v jeho průběhu dochází ke snížení počtu chromozomů z diploidního počtu na haploidní (Otová a kol., 2008). Nejběžněji se pro cytogenetické vyšetření používají lymfocyty periferní krve. Lymfocyty tvoří 20–45 % všech bílých krvinek, leukocytů (Panczak a kol., 2013). Rozlišujeme

dvě základní skupiny lymfocytů, lymfocyty B a lymfocyty T. Lymfocyty se prostřednictvím svých antigenně specifických receptorů uplatňují při specifické imunitní odpovědi jedince. Je to typ bílých krvinek, který na rozdíl od ostatních skupin, jako jsou neutrofilů, eozinofilů či bazofilů, jsou po určitém stimulu schopny proliferace, tedy dělení. Takovýmto stimulem je např. nejznámější mitogen fytohemaglutinin (PHA). Protože se chromozomy vyskytují v jádře buňky, nelze pro vyšetření použít krvinky červené, protože erytrocyty jsou buňky bezjaderné. Vyšetření se běžně provádí rovněž z kultivovaných buněk plodové vody, tkáně choriových klků nebo fetální krve. Metody odběru těchto tkání jsou popsány v kapitole 6. V některých případech je možné použít i buňky ostatních tkání, například kožní fibroblasty nebo nádorové buňky (Otová, Mihalová, 2012).

8.2. Kultivace tkání pro cytogenetické vyšetření

Odebraný materiál musíme nejprve kultivovat, abychom získali dostatečné množství dělicích se buněk. Kultivace se provádí v termostatu za podmínek vhodných pro růst buněk, tzn. teplota cca 37 °C, popř. inkubátor s CO₂ (obr. 17). Ke vzorku nejprve přidáme kultivační médium. Dnes se používají komerčně vyráběná média. Konkrétní typ použitého média se odvíjí od druhu výchozího materiálu. Pro vzorky periferní a fetální krve se používají média, která již obsahují výše zmíněný mitogen PHA, pro vzorky choriové tkáně či plodové vody se používají média s odlišným složením. Stejně tak doba kultivace závisí na druhu výchozího materiálu. Periferní krev kultivujeme nejčastěji 72 hodin, v naléhavých případech u fetální krve nebo u statimových vyšetření i 48 hodin. U vzorků plodové vody a choriových klků je doba kultivace o něco delší, trvá většinou 8-10 dní (Otová, Mihalová, 2012).

Obr. 17 – Kultivace vzorků v termostatu (vlevo plodová voda, vpravo periferní krev)



Zdroj: Cytogenetická laboratoř UBLG VFN a 1. LF UK v Praze

8.3. Zpracování kultivovaných buněk

Buněčné kultury, které vznikají dělením primárních buněk *in vitro*, nemají nekonečný život, ale mají naprogramovaný určitý počet dělení. Pro dosažení optimálního výsledku je třeba zpracovat vzorek ve fázi, kdy se buňky ještě rychle dělí a zároveň jich musí být pro zpracování dostatečné množství. V takovém případě přidáme buněčný jed kolchicin, který zastavuje buněčné dělení a vzorek zpracováváme. Zpracování zahrnuje sklizeň buněk, hypotonizaci směsi, fixaci, nakapání sedimentu na podložní skla, barvení preparátu a následné hodnocení.

Sklizeň buněk se provádí pomocí enzymu trypsinu. Enzym uvolňuje buněčné kolonie, které pokrývají dno kultivační lahvičky. Následuje přidání hypotonického roztoku, zpravidla se používá roztok chloridu draselného. Díky jeho osmotickému vlivu zvětší jádro svůj objem a chromozomy se ve zvětšeném jádře od sebe separují. Další fází zpracování je fixace buněk směsí methanolu a kyseliny octové a nakapání buněčné suspenze na lehce namražená podložní skla. Při dopadu kapky buněčné suspenze na sklo dochází k prasknutí buněčné membrány, uvolnění a adhezí chromozomů z jádra na podložní sklo. Nakonec se skla suší při 100°C a následně barví.

K barvení se používají různé barvicí techniky, pro cytogenetické preparáty je nejběžnější tzv. G-pruhování.

Technika přípravy cytogenetických preparátů se může v jednotlivých laboratořích lišit drobnými detaily. Cílem všech modifikací postupu zpracování je získat chromozomový preparát s velkým množstvím dobře rozložených mitóz, které jsou na skle uspořádány v optimální hustotě. Příliš hustý preparát znesnadňuje barvení pruhovacími metodami a příliš řídký preparát ztěžuje odečítání karyotypu v mikroskopu (Michalová, 1999).

8.4. Techniky barvení

Existuje mnoho různých způsobů barvení, v praxi se většinou uplatňuje jen několik z nich. První způsob představuje klasické (konvenční) barvení, nejčastěji se používá Giemsovo barvivo. Získáme homogenně zbarvené chromozomy tmavě fialové barvy. Tento způsob barvení se dnes používá zejména pro hodnocení získaných chromozomových aberací neboli zlomů, například při monitorování vlivu profesní radiační zátěže.

Druhou skupinu představují diferenciační barvicí techniky, tzv. pruhování. Tímto způsobem dosahujeme střídání světlých a tmavých proužků po celé délce chromozomů. Pro cytogenetické preparáty je nejpoužívanější metodou G-pruhování, které vzniká v důsledku heterogenity chromatinu. Tmavé oblasti chromozomu jsou tvořeny heterochromatinem a jedná se o oblasti s žádnými nebo nízkým počtem aktivních genů. Oproti tomu světlé úseky tvořené euchromatinem představují důležité geny, které kódují proteiny. Protikladem G-pruhování je reverzní způsob barvení, R-pruhování. Proužky ve srovnání s G-pruhováním vypadají jako pozitiv a negativ (obr. 18).

Třetí skupinu tvoří selektivní barvicí techniky, které umožňují barvení specifických oblastí chromozomů. Jedná se např. o C-barvení, kdy se zbarví centromera a specifické heterochromatinové úseky chromozomu 1,9,16 a Y nebo NOR-barvení pro barvení satelitů akrocentrických chromozomů (Otová, Mihalová, 2012).

Obr. 18 – G a R pruhování

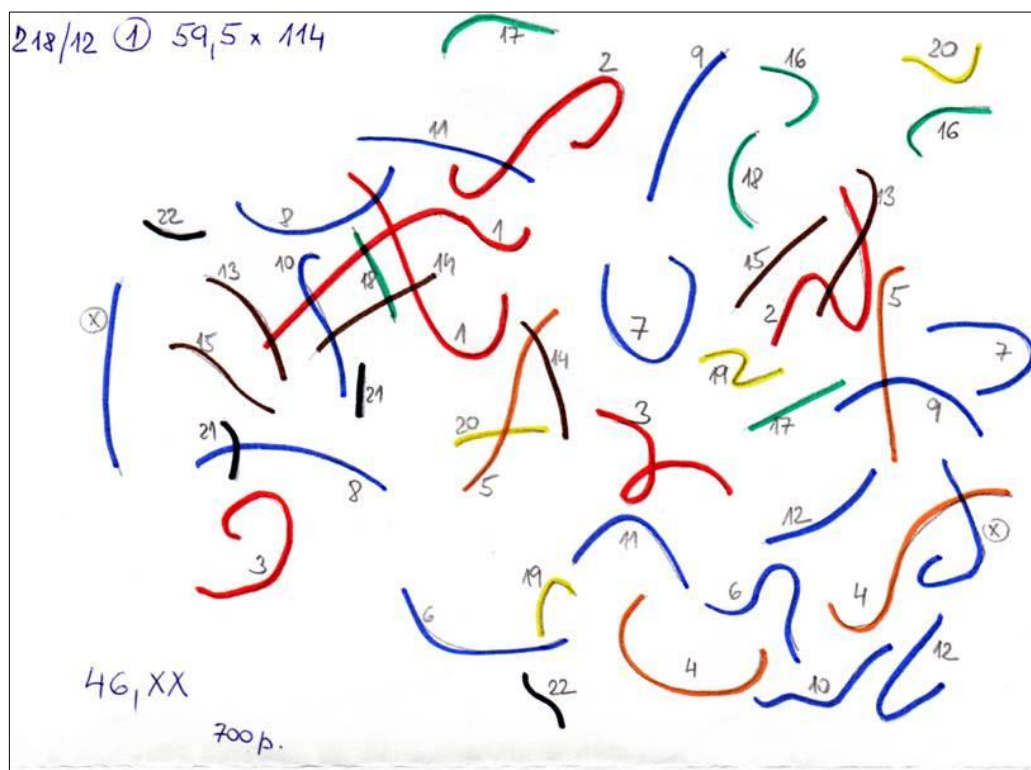


Zdroj: Otová, Mihalová, Základy biologie a genetiky člověka, Karolinum 2012

8.5. Hodnocení cytogenetického preparátu

Preparát se hodnotí pomocí světelného mikroskopu, dnes je možné obraz pomocí kamery převádět na obrazovku počítače. Používají se mikroskopy s vysokou rozlišovací schopností a kvalitní optikou. Nejprve prohlédneme podložní sklo při malém zvětšení takzvaně nasucho (zvětšení 10x), bez použití imerzního oleje. Najdeme-li mitózu vhodnou k analýze, použijeme imerzní objektiv s větším zvětšením (zvětšení 100x), přičemž na analyzované místo na skle kápneme kapku imerzního oleje. Celkové zvětšení obrazu dává součin zvětšení objektivu a okulárů. Máme-li v zorném poli mitózu, chromozomy nejprve spočítáme. Obraz ze zorného pole mikroskopu překreslíme na papír, jednotlivé skupiny chromozomů označujeme barevně a jednotlivé páry autozomů číslováme arabskými číslicemi. Na nákresu musí být rovněž uvedeny souřadnice mikroskopu pro případné pozdější dohledání mitózy (obr. 19). Pečlivě srovnáváme rozložení světlých a tmavých pruhů s ideogramem, případné odchylky zaznamenáváme. Počet takto analyzovaných mitóz se liší podle typu vyšetření, diagnózy nebo požadavků klinického genetika či indukujícího lékaře. Mitózy můžeme též fotografovat a přikládat jako součást dokumentace. K popisu cytogenetických nálezů je vypracován standardizovaný systém mezinárodní nomenklatury ISCN (Michalová, 1999; Otová, Mihalová, 2012).

Obr. 19 – Nákres mitózy



Zdroj: Cytogenetická laboratoř UBLG VFN a 1. LF UK v Praze

9. Vlastní statistické šetření

9.1. Cíl práce

Cílem bakalářské práce je studium případů žen, které pro diagnózu pozitivního prvotrimestrálního screeningu podstoupily některou z metod prenatalního invazivního vyšetření, tj. odběr choriových klků nebo plodové vody. Podstatou práce bylo zjištění, u jakého procenta ze skupiny žen s pozitivním prvotrimestrálním testem se invazivním vyšetřením skutečně prokázala genetická chromozomální abnormalita. Zároveň jsem se zabývala procentuálním zastoupením jednotlivých geneticky podmíněných vad a věkovými údaji pacientek. Výsledky statistického šetření jsem porovnávala s daty publikovanými pro Českou republiku. Analyzovaná data zahrnují všechna cytogenetická vyšetření navazující na odběr choriových klků nebo výkon aminocentézy z let 2011–2013. Na zpracování či hodnocení většiny vzorků jsem se v laboratoři sama podílela. Výsledky jsem zpracovávala do přehledných tabulek a grafů.

9.2. Metodika

V bakalářské práci jsou použity údaje z databáze cytogenetické laboratoře Ústavu biologie a lékařské genetiky VFN a 1. LF UK v Praze. Jedná se o statistické zpracování výsledků cytogenetických vyšetření po odběru choriových klků a plodové vody v letech 2011–2013. Vzorky byly zpracovány standardními laboratorními postupy popsány v kapitole 8.

9.3. Charakteristika souboru

Celkový soubor tvoří těhotné ženy, které podstoupily odběr choriových klků nebo plodové vody z důvodu jakékoliv indikační příčiny. Odběry byly prováděny kontinuálně během let 2011–2013.

K bližší analýze jsem si vybrala skupinu těhotných žen z celkového souboru, které podstoupily invazivní vyšetření s následnou karyotypizací

plodu pouze na základě indikace pozitivního screeningu prvního trimestru. Tyto hodnoty byly dále brány jako výchozí pro výpočet procentuálního zastoupení patologických nálezů.

Celkový soubor tvořilo 1023 vyšetřených těhotných žen, z toho 373 v roce 2011, 354 v roce 2012 a 296 v roce 2013. Odběrů choriových klků bylo během celého tříletého období provedeno 276, aminocentéz 747.

Pro pozitivní screening prvního trimestru bylo vyšetřeno 272 případů, z toho 85 v roce 2011, 88 v roce 2012 a 99 v roce 2013. Odběr choriových klků pro pozitivitu prvotrimestrálního testu byl proveden celkem 190 krát, aminocentéza 82 krát.

Absolutní počty provedených výkonů CVS a AMC v jednotlivých letech znázorňuje tabulka 1.

Tab. 1 Počet provedených invazivních výkonů

	2011		2012		2013		2011-2013	
	celkem	CVS	celkem	CVS	celkem	CVS	celkem	CVS
		AMC		AMC		AMC		AMC
Celkový soubor	373	78	354	93	296	105	1023	276
		295		261		191		747
Pozitivní screening	85	57	88	64	99	69	272	190
		28		24		30		82

Analyzovaný soubor jsem rozdělila do tří věkových kategorií, ženy do 30 let (včetně), 30–35 let (včetně) a ženy nad 35 let. V první skupině do 30 let bylo vyšetřeno celkem 54 případů, z toho 40 odběrů choriových klků a 14 případů aminocentézy. Ve druhé skupině žen mezi 30–35 rokem bylo vyšetřeno 75 případů, z toho 53 odběrů choriových klků a 22 aminocentéz a ve třetí skupině žen nad 35 let bylo celkem 143 případů, z toho 97 odběrů choriových klků a 46 případů aminocentéz (tab. 2).

Nejmladší pacientce v analyzovaném souboru bylo v době výkonu (podstoupila CVS) 19 let, s výsledkem normálního ženského karyotypu 46,XX. Naopak nejstarší pacientkou byla 45letá žena, která rovněž podstoupila

odběr choriových klků také s výsledkem normálního ženského karyotypu 46,XX. Nejmladší pacientkou s patologickým nálezem byla 24 letá žena s výsledkem 47,XX,+22 (trizomie chromozomu 22).

Tab. 2 Počty invazivních výkonů ve věkových kategoriích

věk	celkem	CVS	AMC
do 30	54	40	14
30 - 35	75	53	22
nad 35	143	97	46
celkem	272	190	82

10. Výsledky

10.1. Současný vývoj prenatalní diagnostiky

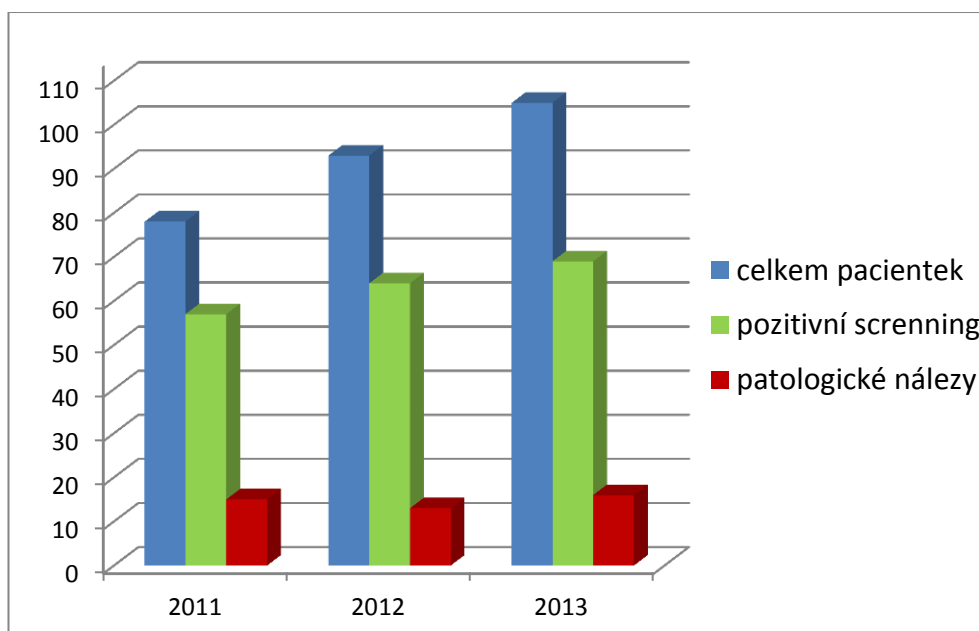
Statistickým šetřením byla zjištěna dvě zásadní fakta:

- a) pomalu každoročně klesá celkové množství žen, které podstupují některý z invazivních výkonů prenatalní diagnostiky, buď odběr choriových klků nebo odběr plodové vody (graf 3).
- b) z provedených výkonů přibývá biopsií choria na úkor aminocentéz (graf 1,2). Tento trend ve změně zastoupení jednotlivých invazivních metod je celorepublikový (obr. 20) a je dáván do souvislosti s rostoucí úlohou přesnějšího prvotrimestrálního kombinovaného screeningu. Značná část prenatalní diagnostiky se tak přesouvá do časnějších fází gravidity, což je také v souladu s celorepublikovými údaji (obr. 21, 22).

Grafy 1, 2, 3 udávají počty celkového množství žen, které měly pozitivní test prvního trimestru a patologických nálezů. Údaje jsou zobrazeny nejprve pro jednotlivé metody zvlášť (CVS, AMC) (graf 2, 3), pak i pro obě metody invazivní prenatalní diagnostiky dohromady (graf 4).

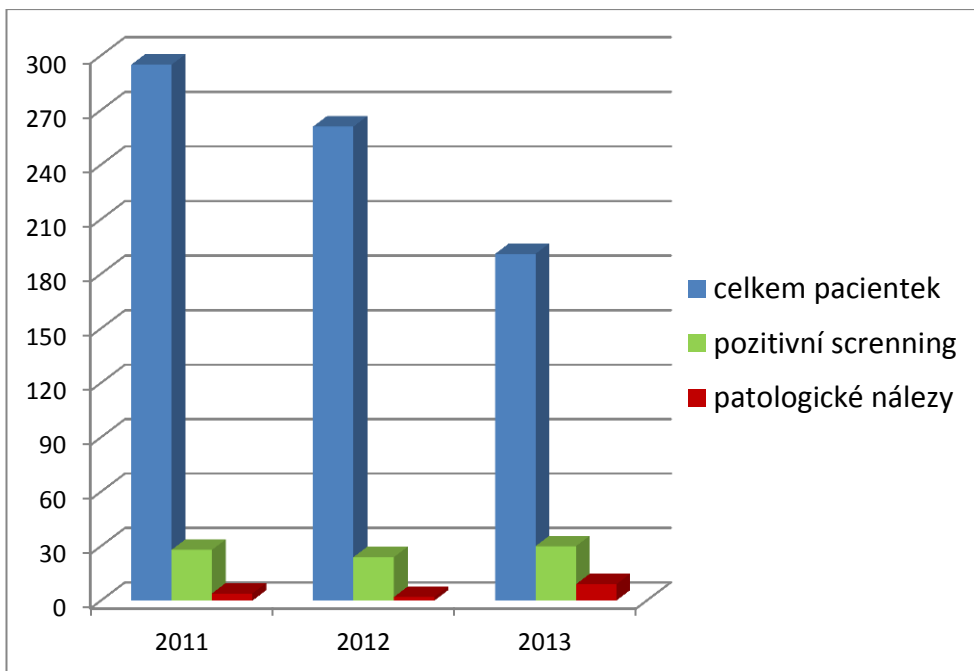
Graf 1 – Odběry choriových klků v letech 2011–2013

CVS



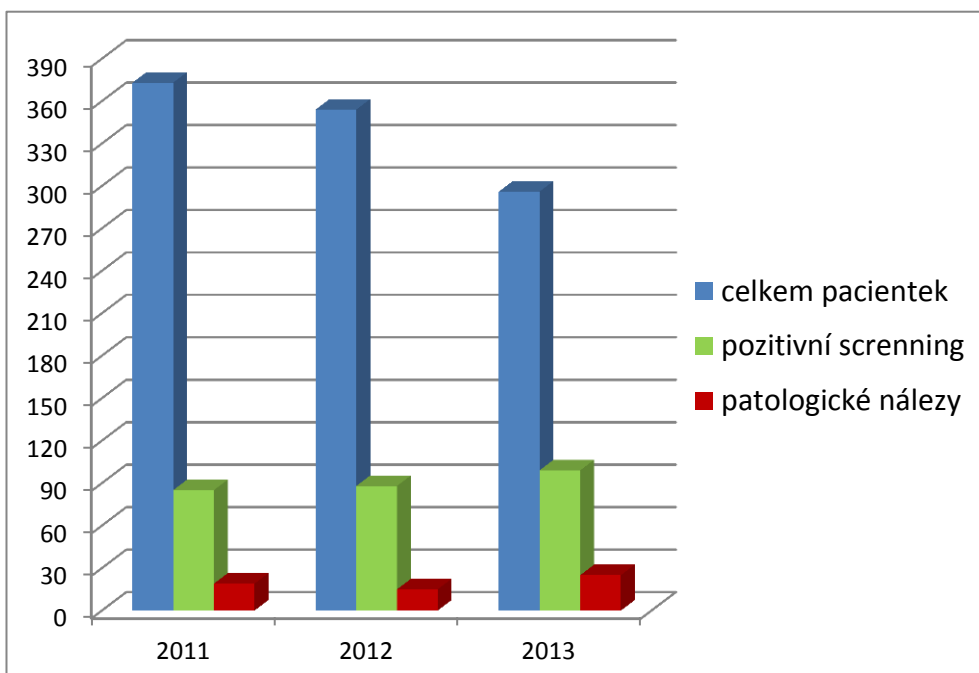
Graf 2 – Odběry plodové vody v letech 2011–2013

AMC

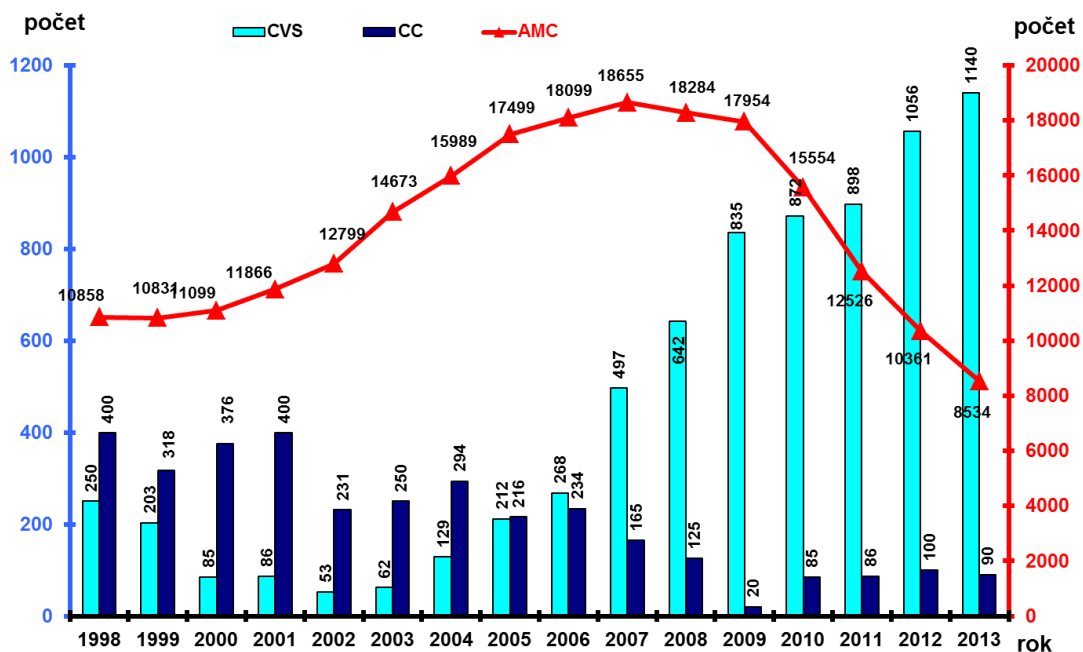


Graf 3 - Odběry choriových klků a plodové vody dohromady v letech 2011–2013

CELKEM CVS + AMC

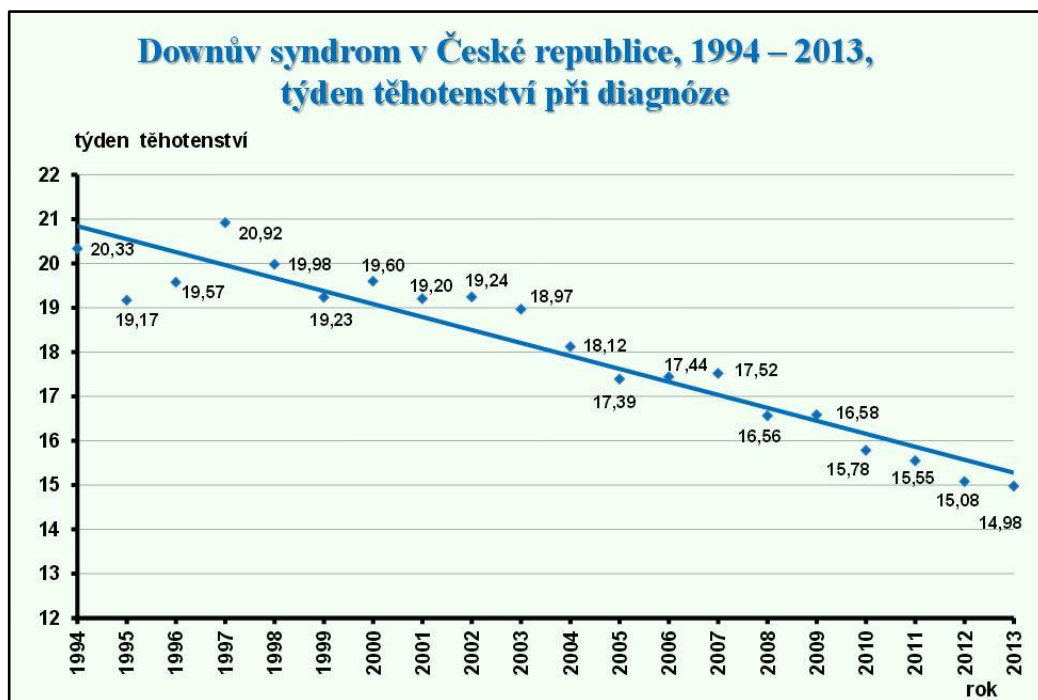


Obr. 20 – Vývoj prenatalní diagnostiky v ČR 1998–2013



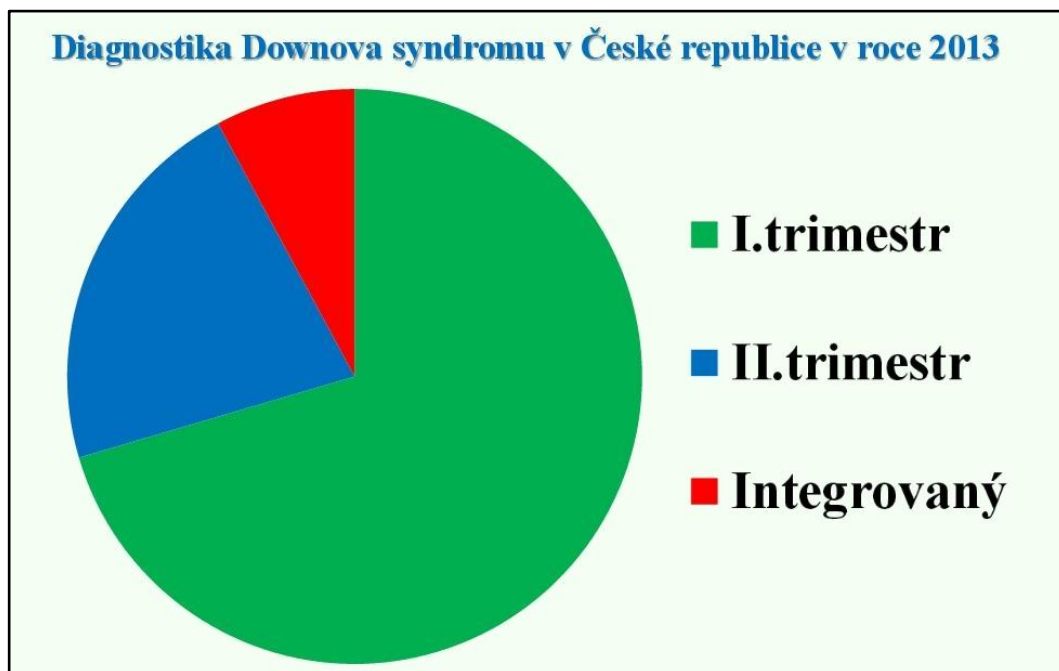
Zdroj: http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Kapras_2015_Gregor.pdf

Obr. 21 – Pokles týdnu těhotenství při stanovení diagnózy



Zdroj: http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Kapras_2015_Gregor.pdf

Obr. 22 – Podíl screeningu 1. trimestru pro stanovení diagnózy



Zdroj: http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Kapras_2015_Gregor.pdf

10.2. Patologické nálezy

10.2.1. Absolutní počty a procentuální vyjádření

Z analyzovaného souboru, tzn. ze souboru žen vyšetřených pro pozitivní prvotrimestrální screening bylo celkem zachyceno 59 patologických nálezů. Z odběrů choriových klků to bylo celkem 44 patologických nálezů, z toho 10 ve skupině žen do 30 let, 12 ve skupině 30–35 let a 22 patologií ve skupině žen nad 35 let. Patologických nálezů z odběrů plodové vody bylo zachyceno celkem 15 případů, z toho 2 ve skupině do 30 let, 4 ve skupině 30–35 let a 9 případů ve skupině žen nad 35 let. Absolutní počty patologií a jejich rozložení v jednotlivých letech znázorňuje tabulka 3.

Tab. 3 Počty patologických nálezů v jednotlivých letech v závislosti na věku

Patologie věk	2011		2012		2013		2011-2013	
	CVS	AMC	CVS	AMC	CVS	AMC	CVS	AMC
do 30	3	0	4	0	3	2	10	2
30 - 35	4	1	5	2	3	1	12	4
nad 35	8	3	4	0	10	6	22	9
celkem	15	4	13	2	16	9	44	15

V procentuálním vyjádření vychází celkový záchyt patologických nálezů v roce 2011 na 22 %, z toho 26 % ze CVS a 14 % z AMC. V roce 2012 byl záchyt patologií 17 %, z toho 20 % z choriových klků a 8 % z plodové vody a v roce 2013 bylo zachyceno 25 % patologických nálezů, přičemž 23 % z CVS a 30 % z AMC. Celkový záchyt patologických nálezů během celého tříletého období je 22 %. Podrobné absolutní počty nálezů v jednotlivých letech z jednotlivých druhů invazivního vyšetření včetně procentuálního vyjádření jsou uvedeny v tabulce 4.

Tab. 4 Procentuální vyjádření patologických nálezů

Patologie v %		Pozitivní screening		Patologie		Počet v %	
			celkem		celkem	CVS AMC	celkem
2011	CVS	57	85	15	19	26 %	22 %
	AMC	28		4		14 %	
2012	CVS	64	88	13	15	20 %	17 %
	AMC	24		2		8 %	
2013	CVS	69	99	16	25	23 %	25 %
	AMC	30		9		30 %	

10.2.2. Druhy patologických nálezů

Co se týče kvalitativního rozložení nejčastějších geneticky podmíněných syndromů, nejvíce je zastoupen Downův syndrom, který tvoří 44 % patologických nálezů z celkového počtu (graf 6). Druhou největší skupinou patologických nálezů jsou ostatní chromozomové aberace, které tvoří v součtu CVS a AMC 25 % patologických nálezů (graf 6). Jedná se o chromozomální abnormality, zjištěné pouze cytogenetickou analýzou, tzn. stanovením karyotypu z kultivovaných buněk choriových klků nebo buněk plodové vody. Konkrétně se jedná o tyto zápisy karyotypů (číslo v hranaté závorce udává počet hodnocených mitóz):

45,X[5]/46,XY[6]

mozaika Turnerova syndromu a normálního mužského karyotypu

46,XX,t(6;9)[25]/46,XX[50]

mozaika ženského karyotypu s translokací chromozomů 6 a 9 a normálního ženského karyotypu

47,XY,+mar[4]/46,XY[46]

mozaika mužského karyotypu s marker chromozomem a normálního mužského karyotypu

92,XXYY[18]/46,XY[2]

mozaika tetraploidie a normálního mužského karyotypu

47,XXY

Klinefelterův syndrom

46,X,del(Y)(q11.2.)pat

mužský karyotyp s delecí chromozomu Y paternálního původu

46,XX,der(15)t(Y;15)(q12;p11)

ženský karyotyp s nebalancovanou translokací chromozomů 15 a Y

47,XX,+2[20]/46,XX[15]

mozaika ženského karyotypu s trizomií chromozomu 2 a normálního ženského karyotypu

47,XX,+22

ženský karyotyp s trizomií chromozomu 22

mos 46,X,der(X)[5]/45,X[11]/46,XX[64]

mozaika ženského karyotypu s derivací chromozomu X, Turnerova syndromu a normálního ženského karyotypu

47,XY,+2[35]/46,XX[41]
mozaika mužského karyotypu s trizomií chromozomu 2 a normálního ženského karyotypu

69,XXX
triploidie s ženským karyotypem

46,XY,inv(10)
mužský karyotyp s inverzí chromozomu 10

46,XY,del(3)(p25)
mužský karyotyp s delecí chromozomu 3

46,XX,der(18)
ženský karyotyp s derivací chromozomu 18

V pořadí třetí nejpočetnější skupinou patologických nálezů je Edwardsův syndrom, který byl oběma metodami invazivní prenatalní diagnostiky zachycen ve 20 %. Další dvě skupiny nálezů tvoří Patauův a Turnerův syndrom, přičemž každý syndrom vykazuje 5% zastoupení (graf 6). Absolutní počty patologických nálezů v jednotlivých letech zachycených metodou odběru choriových klků nebo plodové vody znázorňuje tabulka 5.

Tab. 5 Absolutní počty jednotlivých druhů patologických nálezů

	2011		2012		2013		celkem
	CVS	AMC	CVS	AMC	CVS	AMC	
Down	5	5	3	1	7	5	26
Edwards	1	2	2	0	4	3	12
Patau	0	0	2	0	0	1	3
Turner	0	0	2	0	1	0	3
ostatní	3	3	4	1	4	0	15

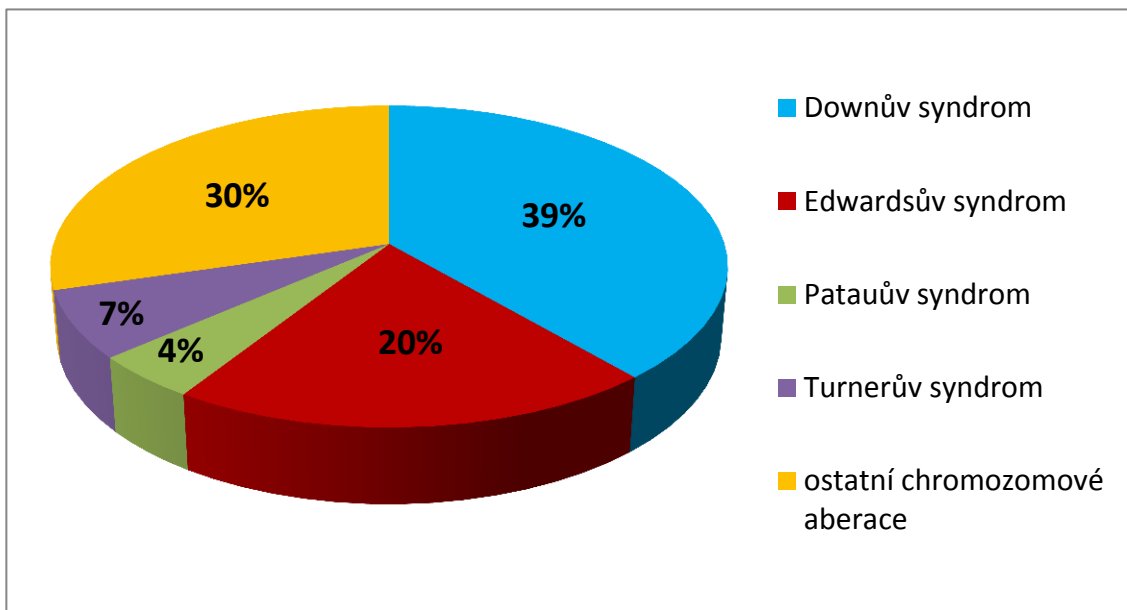
Grafy 4, 5, 6 uvádějí procentuální zastoupení počtu jednotlivých druhů patologických nálezů pro jednotlivé diagnostické metody (CVS, AMC) nejprve zvlášť (graf 4, 5), následně i dohromady (graf 6).

Srovnáním svých poznatků s údaji z Národního registru vrozených vývojových vad pro Českou republiku jsem potvrdila domněnku nejčastějšího

zastoupení jednotlivých chromozomálních abnormalit ze zachycených patologických nálezů při odběru choriových klků nebo plodové vody (obr. 23).

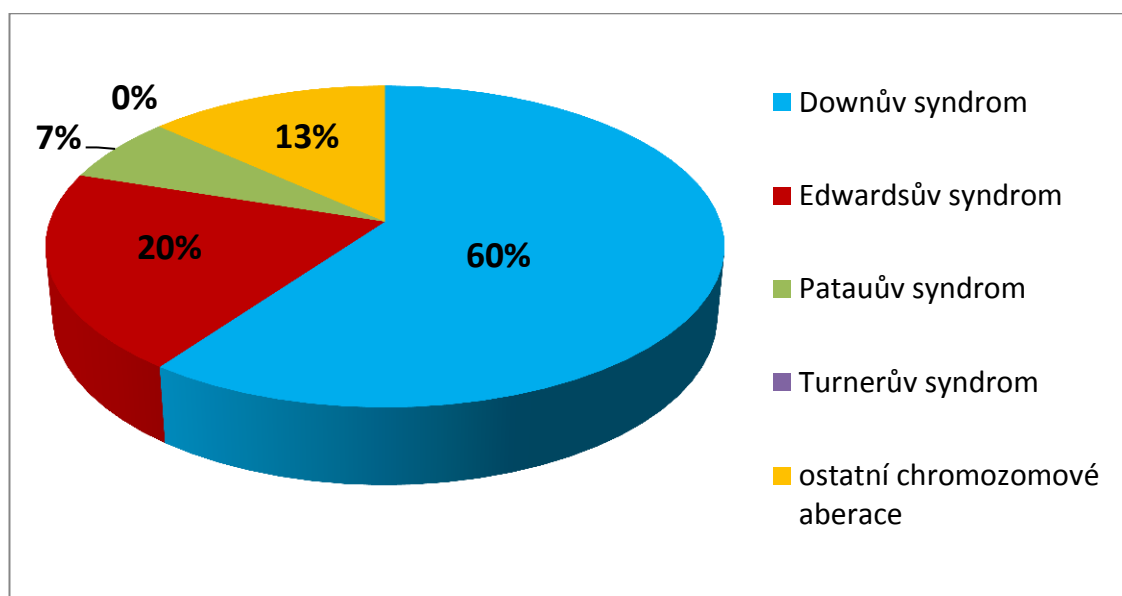
Graf 4 – Druhy patologií z odběru choriových klků (2011–2013)

CVS



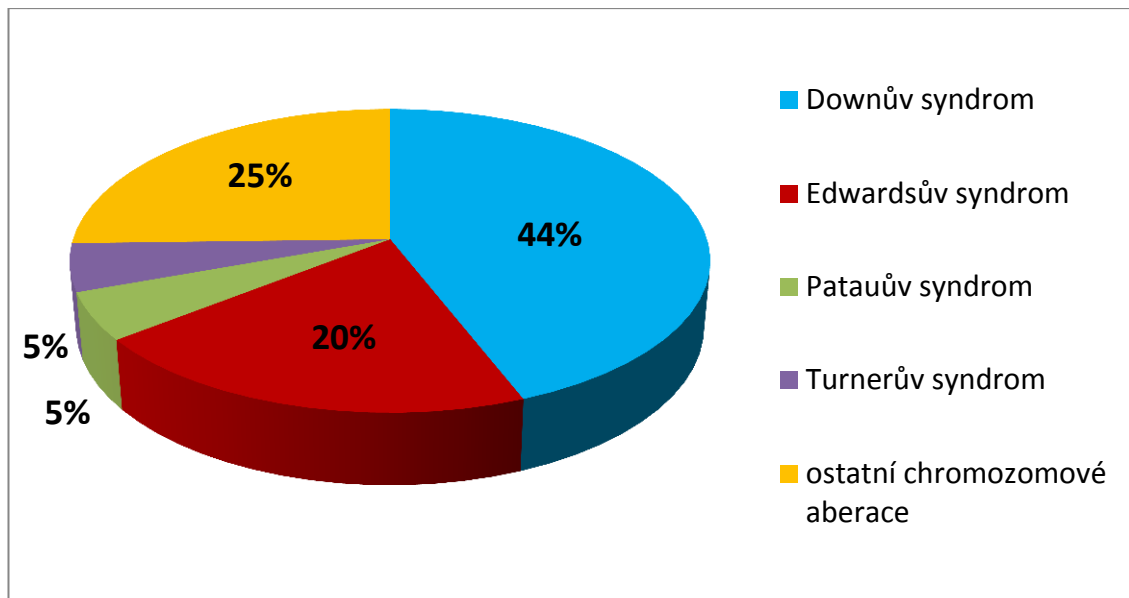
Graf 5 – Druhy patologií z odběru plodové vody (2011–2013)

AMC

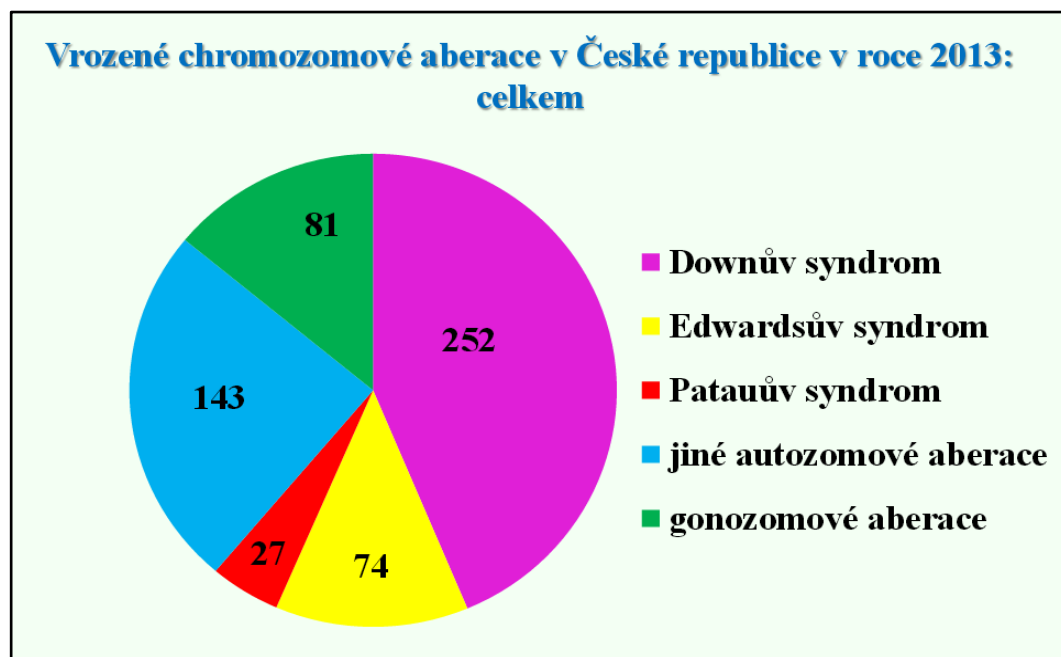


Graf 6 – Druhy patologií celkem z CVS a AMC (2011–2013)

CELKEM CVS + AMC



Obr. 23 – Četnost jednotlivých chromozomálních aberací v ČR v roce 2013



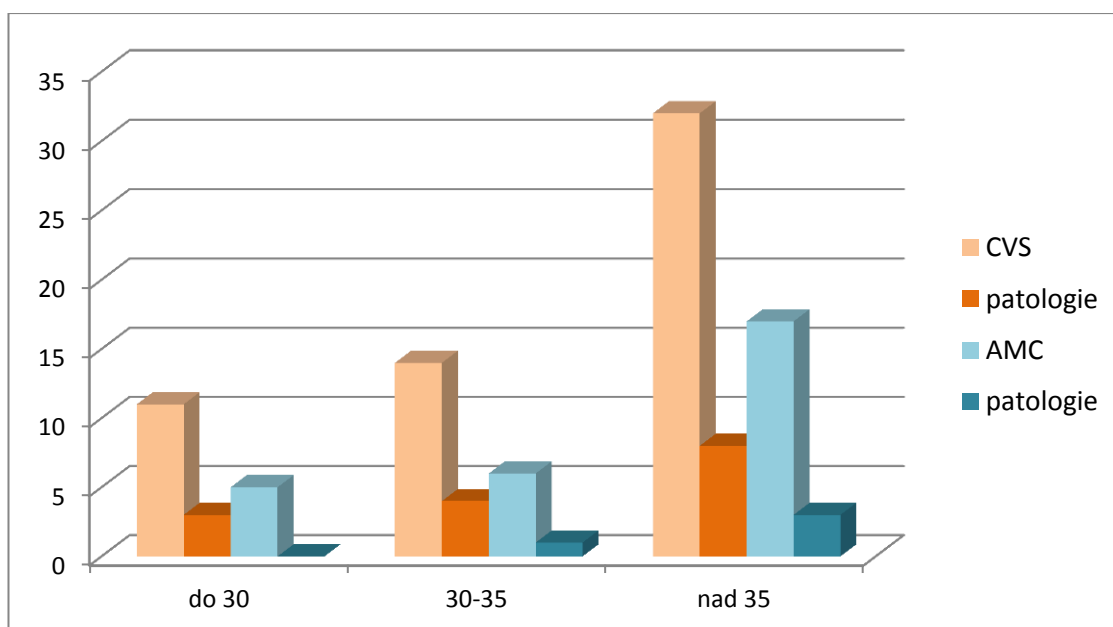
Zdroj: http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Kapras_2015_Gregor.pdf

10.2.3. Patologické nálezy v souvislosti s věkem

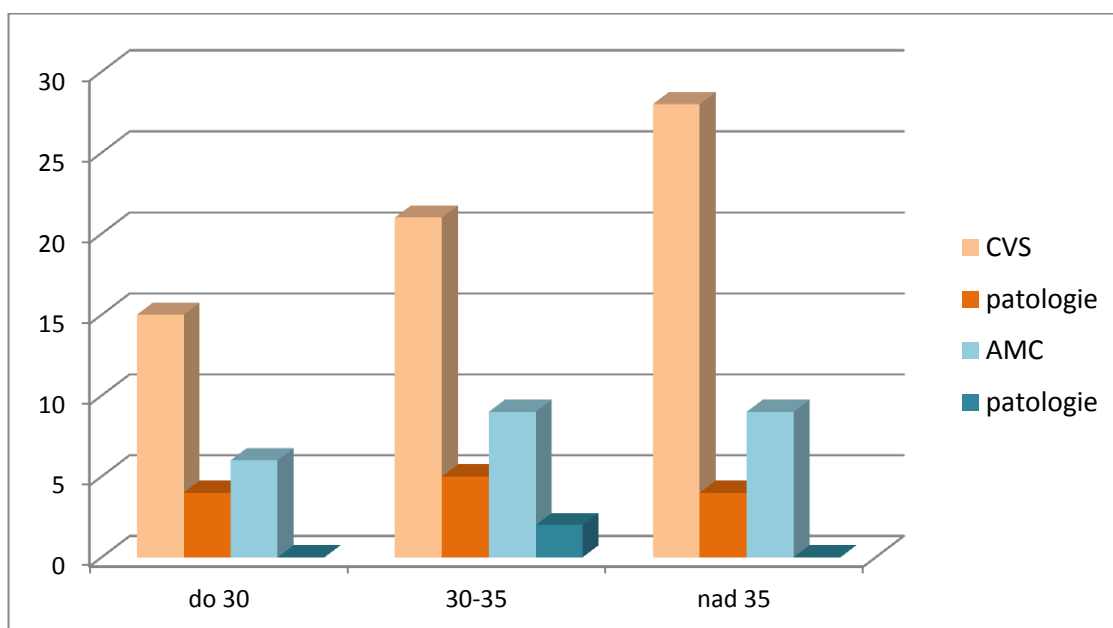
Grafy 7 až 12 znázorňují počty případů odběrů CVS a AMC z analyzovaného souboru včetně zachycených patologických nálezů v závislosti na jednotlivých věkových kategoriích. Počty jsou uvedeny nejprve zvlášť pro jednotlivé roky a jednotlivé druhy výkonů (graf 7, 8, 9), potom i pro oba výkony v jednotlivých letech dohromady (graf 10, 11, 12).

Z grafů vyplývá, že pokud jde o absolutní čísla, počet vyšetřených případů se stoupajícím věkem vzrůstá a nejvíce patologií bylo dle očekávání zachyceno u žen ve věku nad 35 let. Nicméně relativní poměr zastoupení patologických nálezů z celkového množství vyšetřených žen zůstává v každé kategorii téměř stejný. To ukazuje na skutečnost, že klíčovou indikací k samotné invazivní diagnostice nebude vyšší věk matky, ale spíše screening (obr. 24).

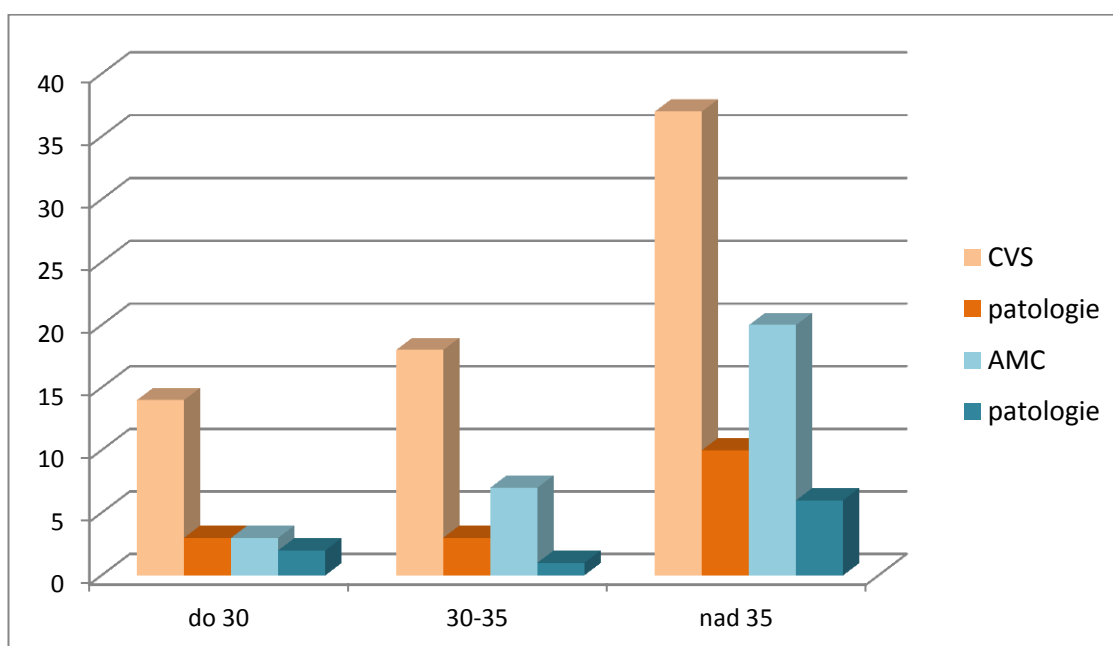
Graf 7 – Počet patologií z jednotlivých výkonů v závislosti na věkové kategorii (2011)



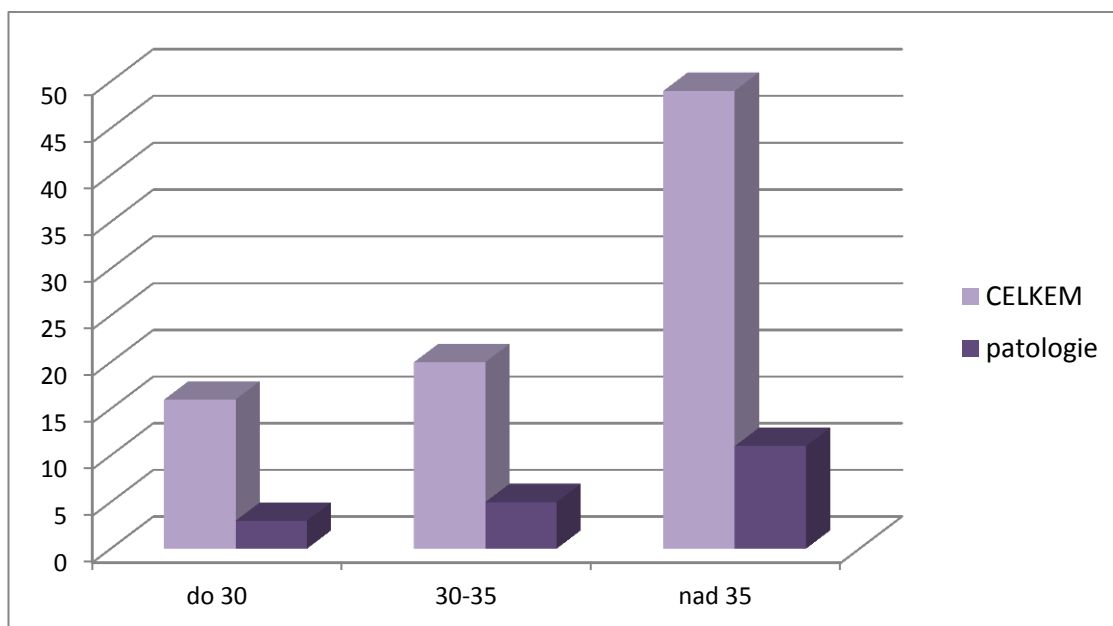
Graf 8 – Počet patologií z jednotlivých výkonů (CVS, AMC) v závislosti na věkové kategorii (2012)



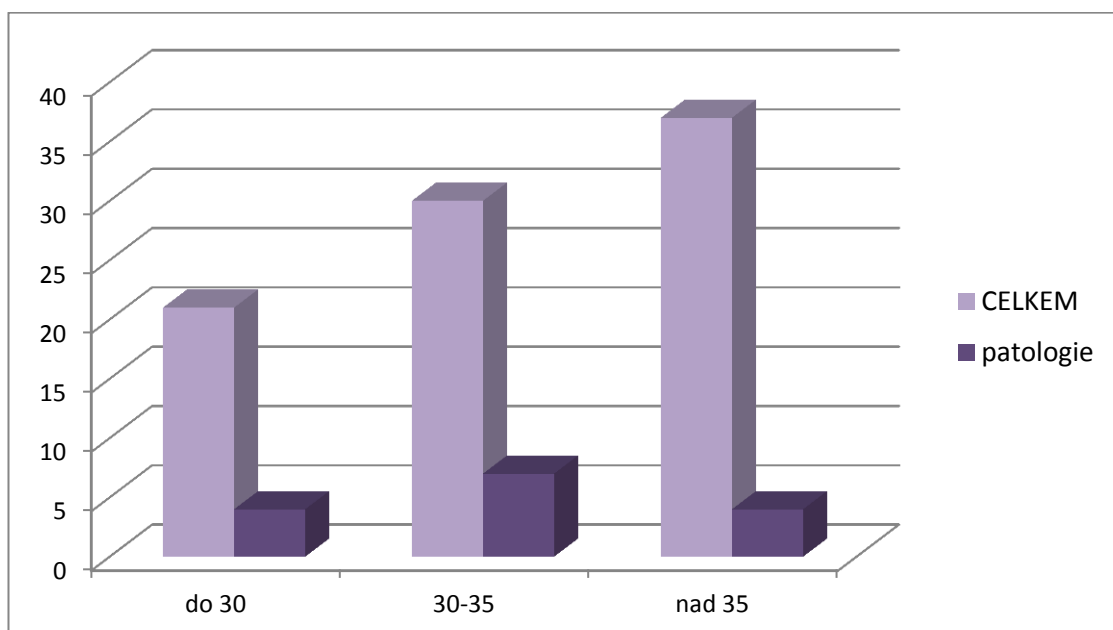
Graf 9 – Počet patologií z jednotlivých výkonů (CVS, AMC) v závislosti na věkové kategorii (2013)



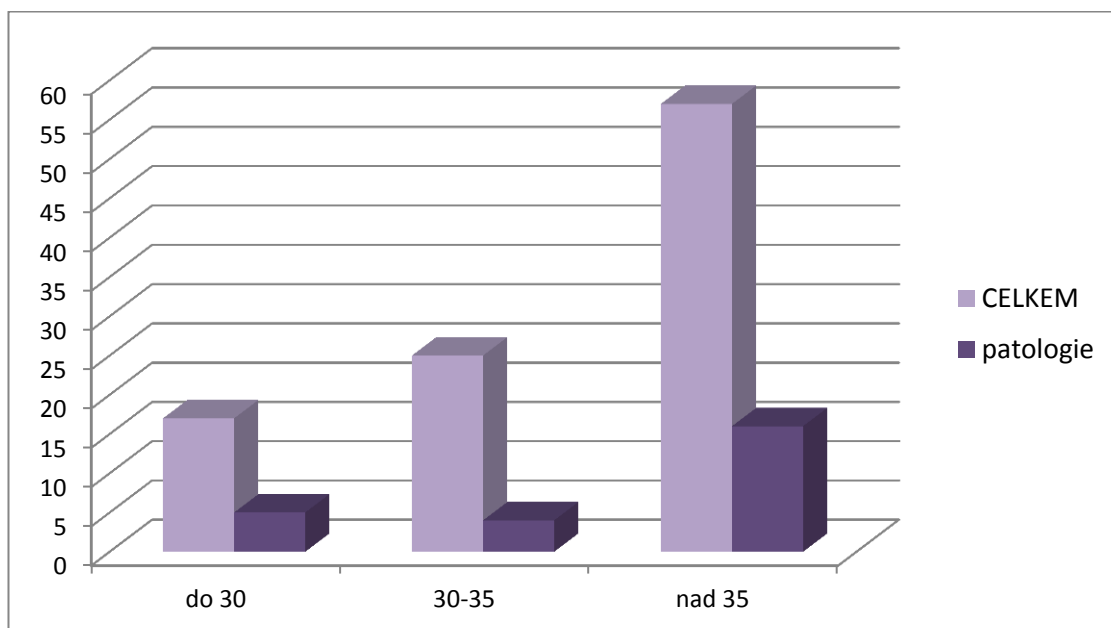
Graf 10 – Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2011)



Graf 11 – Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2012)



Graf 12 – Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2013)



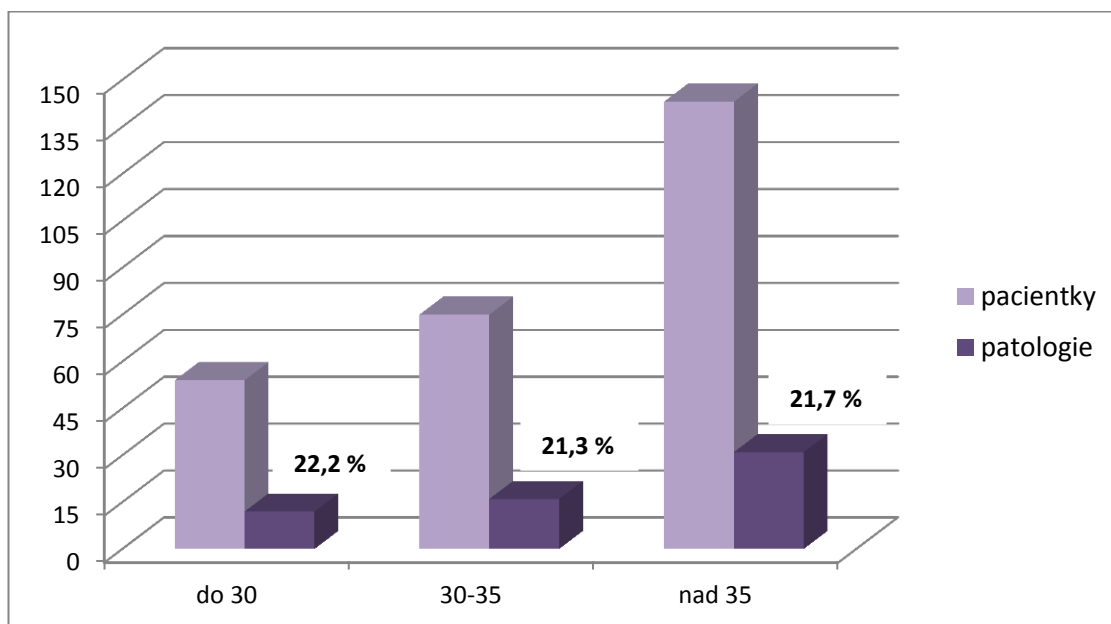
Tabulka 6 a graf 13 ukazují celkové počty a procentuální zastoupení patologických nálezů v jednotlivých věkových kategoriích za celé tříleté období dohromady.

Z výsledků vyplývá, že procento patologických nálezů ve všech věkových skupinách je velmi podobné, v průměru činí necelých 22 %. Tato skutečnost je dána faktem, že parametr věku hraje u kombinovaného testu prvního trimestru výrazně menší roli, než u triple testu v druhém trimestru. Jak se v průběhu uplynulých let mění procentuální zastoupení indikací k prenatálnímu vyšetření jako je právě screening, ultrazvukový nález nebo věk matky, ukazuje obr. 24.

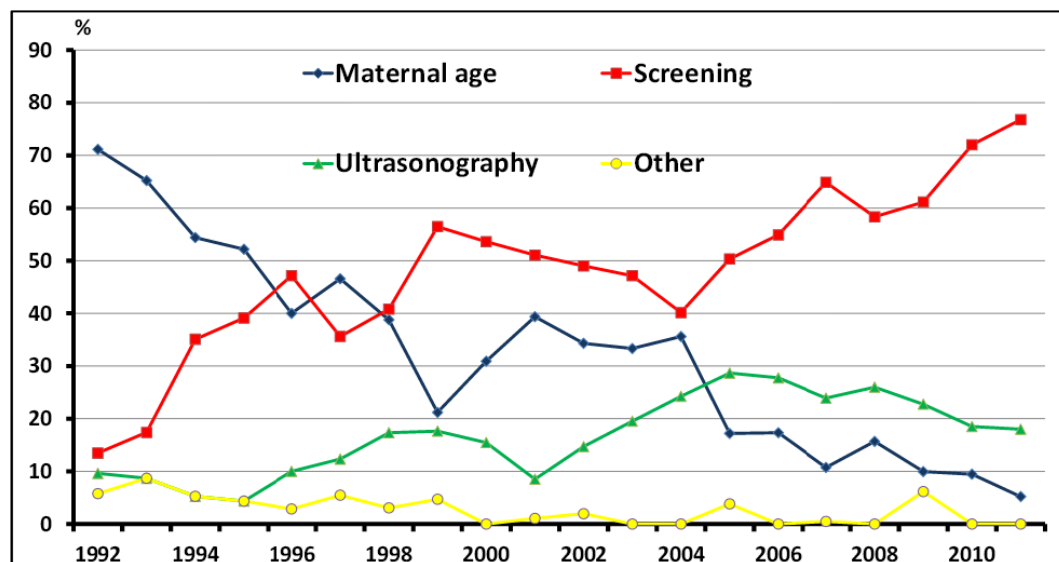
Tab. 6 Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2011–2013)

	pacientky	patologie	patologie v procentech
do 30	54	12	22,2%
30-35	75	16	21,3%
nad 35	143	31	21,7%

Graf 13 – Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2011–2013)



Obr. 24 – Změna indikací k prenatalní diagnostice v průběhu let 1992–2012 v ČR



Zdroj: http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Kapras_2015_Gregor.pdf

11. Diskuze

Cílem mé bakalářské práce bylo zjistit u jakého počtu, respektive procenta žen, které podstoupily odběr choriových klků nebo plodové vody z důvodu pozitivního prvotrimestrálního testu, se cytogenetickým vyšetřením karyotypu plodu skutečně prokázala nějaká chromozomální abnormalita. Dále mě zajímalo procentuální zastoupení zjištěných nejčastějších geneticky podmíněných syndromů a souvislosti patologických nálezů s věkem vyšetřovaných žen.

Výsledky mého statistického šetření ukázaly, že zjištěné absolutní počty invazivních prenatalních vyšetření ve sledovaných letech 2011–2013 vykazují pokles. Důvody tohoto trendu jsou podle mého názoru následující.

Za prvé oproti roku 2008, kdy byl dle Demografické ročenky Českého statistického úřadu absolutní počet těhotných žen i živě narozených dětí v historii nejvyšší, došlo k výraznému poklesu celkové porodnosti v České republice a tím logicky i ke snížení absolutního počtu vyšetřených žen (ČSÚ, 2015).

Druhým, daleko důležitějším faktem je, že se v klinické praxi postupně ustupuje od screeningu v II. trimestru (tzv. triple testu). Ten měl výrazně nižší specifitu a na základě vysoké falešné pozitivivity bylo indikováno i vyšší procento žen k invazivnímu vyšetření (Panczak a kol., 2013). Dostupnost kombinovaného testu prvního trimestru se v posledních letech zlepšila, i když se stále nejedná o vyšetření, které by bylo jakoukoliv zdravotnickou normou stanoveno jako skutečný screening – tedy dostupný pro všechny těhotné ženy a hrazený z veřejného zdravotního pojištění. Protože kombinovaný test prvního trimestru se provádí mezi 10.–12. týdnem gravidity, následné invazivní vyšetření těhotenství v případě jeho pozitivivity bylo možno posunout do časnějších fází (Gregor, Šípek, 2015). Proto došlo k výraznému nárůstu vyšetření choriových klků (CVS), které se provádí již ve 13., respektive 14. týdnu gravidity a které nahrazuje postupně vyšetření plodové vody. Tento trend potvrzují i údaje z Národního registru vrozených vad (Gregor, Šípek, 2015).

Další otázkou, kterou jsem se ve své práci zabývala, byly patologické nálezy. Celkem bylo za tříleté období zachyceno 59 patologických nálezů, přičemž nejvíce byl dle očekávání zastoupen Downův syndrom, následuje Edwardsův a Patauův syndrom. S tímto faktem korespondují i data uváděná pro Českou republiku (Gregor, Šípek, 2015). Zajímavou skutečností je záchyt ostatních chromozomových aberací, které tvoří dle mého šetření 25 % všech patologických nálezů. Jedná se o chromozomální abnormality zjištěné pouze kultivací buněk výchozího materiálu a následným cytogenetickým stanovením karyotypu plodu. Tyto odchylky nejsou rutinní metodou rychlé detekce základních aneuploidií zachyceny (QF-PCR analýza).

Co se týče parametru věku, zjistila jsem, že záchyt chromozomových aberací se v jednotlivých věkových skupinách těhotných žen téměř neliší, v našem souboru jde vždy o 21–22 % z invazivních vyšetření. Pokud jde o absolutní čísla, bylo dle očekávání nejvíce patologií zachyceno u žen ve věku nad 35 let. Nicméně stejné relativní zastoupení patologií v této skupině ukazuje, že klíčovou indikací k samotné invazivní diagnostice nebude vyšší věk matky, ale spíše screening (Gregor, Šípek, 2015).

Registr vrozených vad má v České republice dlouhou tradici, oficiální sledování výskytu vrozených vad bylo v tehdejší Československu zahájeno již v roce 1964, jako v jednom z prvních států na světě vůbec (Šípek a kol., 2009). Nová studie autorů z Národního registru vrozených vad ČR (<http://www.vrozene-vady.cz>) tuto hypotézu potvrzuje (konkrétně na případu Downova syndromu) i na celonárodní úrovni. V dřívějších letech (1998–2003) byly případy Downova syndromu u žen starších 35let diagnostikovány většinou na základě pouhé „věkové“ indikace. Naopak v pozdějším období, po zavedení prvotrimestrálního kombinovaného screeningu, již tento rozdíl není patrný a trendy záchytu se pro jednotlivé věkové skupiny žen neliší. Tato skutečnost odpovídá i mému vlastnímu zjištění.

12. Závěr

Vlastním statistickým šetřením jsem získala ucelený přehled o realitě současného vývoje v oblasti prenatalní diagnostiky. Zpracování tématu záchytu chromozomových abnormalit u plodů v důsledku pozitivního screeningu prvního trimestru těhotenství pro mě bylo obohacující zkušeností, a to nejen v oblasti profesní.

Preventivní péče o těhotné ženy je dlouholetou nedílnou součástí českého zdravotnictví. Vždy patřila a patří ve srovnatelných podmínkách k vysoce kvalitním. Z výsledků bakalářské práce vyplývá, že moderní přístupy jako kombinovaný test prvního trimestru, výrazně zefektivnily péči o těhotné ženy. Výsledkem je menší počet invazivních vyšetření jak v absolutních tak v relativních hodnotách. I přes organizačně technické nedostatky (kombinovaný test prvního trimestru zatím nemá charakter celoplošného screeningu) vykazuje Česká republika vysoký záchyt prenatalních postižení plodů, zejména numerických chromozomálních aberací.

Porovnáním výsledků s hodnotami publikovanými pro Českou republiku práce jednoznačně potvrdila současný celorepublikový trend vývoje prenatalní diagnostiky i fakt, že klasické cytogenetické vyšetření má i nadále nezastupitelné místo v prenatalní diagnostice a slouží jako důležitá dostupná metoda laboratorního vyšetření.

Připočítáme-li skutečnost, že se diagnostika posouvá do ranějších fází těhotenství, je význam pro veřejné zdraví obrovský, ať už ho hodnotíme z pohledu společenského, humánního či ekonomického.

13. Souhrn

Bakalářská práce se zabývá problematikou zachytu patologických nálezů u těhotných žen, přicházejících na genetické vyšetření z důvodu positivity screeningového testu prvního trimestru.

První část práce přibližuje teoretické základy genetiky jako vědního oboru, v druhé části jsou analyzována data z vlastního statistického šetření.

Cílem práce bylo zjistit procento zachycených patologických nálezů z vybraného souboru žen, procentuální zastoupení jednotlivých geneticky podmíněných vad a získání přehledu o korelaci počtu patologických nálezů s věkem vyšetřovaných žen.

Výsledky bakalářské práce dokazují, že screening prvního trimestru těhotenství hraje v prenatalní diagnostice čím dál větší úlohu a kombinovaný prvotrimestrální test se stává klíčovou indikací pro invazivní prenatalní diagnostiku.

14. Summary

The main topic of this Bachelor's Study is the early detection of cytogenetic abnormalities in pregnant women undergoing prenatal diagnostics due to positive results of the First Trimester Screening Test (FTS).

The first part of the study takes a close look at the fundamentals of genetics as a science. The analytical data and statistical results of my own research are presented in the second part. The aim of this Bachelor's Study is to determine the incidence of the main cytogenetically caused aberrations in selected group of pregnant women, proportions of different aberrations and their correlation with the age of women.

In conclusion, this study shows that the First Trimester Screening Test (FTS) becomes to be more effective and the combined FTS plays a crucial part in invasive prenatal diagnostics.

Seznam použité literatury

- CALDA, Pavel a kol. *Ultrazvuková diagnostika v těhotenství (pro praxi)*. Praha: Aprofema, 2007. ISBN 978-80-903706-1-6
- GARDNER, R.J. McKinley, SUTHERLAND, G.R., et al. *Chromosome abnormalities and genetic counseling*. 4th edition. Oxford University Press, 2012. ISBN 978-0-19-537533-6
- HÁJEK, Zdeněk, KULOVANÝ, Eduard, MACEK, Milan. *Základy prenatalní diagnostiky*. Praha: Grada Publishing, 2000. ISBN 80-7169-391-X
- JORDE, Lynn B. et al. *Medical Genetics*. 2nd edition. St. Louis: Mosby, 2000. ISBN-0323-01253-1
- KOČÁREK, Eduard a kol. *Klinická cytogenetika I*. Praha: Karolinum, 2006. ISBN-80-246-1069-8
- KOHOUTOVÁ, Milada a kol. *Lékařská biologie a genetika (2. díl)*. Praha: Karolinum, 2012. ISBN 978-80-246-1873-9
- LYONS, J.K. , et al. *Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation*, Elsevier: 2013. ISBN 978-1-4557-3811-3
- MICHALOVÁ, Kyra. *Úvod do lidské cytogenetiky*. Brno: IDV PZ, 1999. ISBN 80-7013-281-7
- OTOVÁ, Berta a kol. *Lékařská biologie a genetika (1.díl)*, Praha: Karolinum, 2008. ISBN 978-80-246-1594-3
- OTOVÁ, Berta, MIHALOVÁ, Romana. *Základy biologie a genetiky člověka*. Praha: Karolinum, 2012. ISBN 978-80-246-2109-8
- PANCZAK, Aleš a kol. *Lékařská biologie a genetika (3. díl)*. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2415-0
- SELIKOWITZ, Mark. *Downův syndrom*. Praha: Portál, 2005. ISBN 80-7178-973-9
- SNUSTAD, Peter, SIMMONS, Michael J. *Genetika*. Brno: Masarykova Univerzita 2009. ISBN 978-80-210-4852-2
- SCHWEINITZ von, Dietrich, URE, Benno. *Kinderchirurgie*. Berlin: Springer-Verlag, 2013. ISBN 978-3-642-29778-6
- ŠÍPEK, A., GREGOR V., HORÁČEK J. *Historie a současnost registrace vrozených vad v České republice*. Časopis Lékařů českých, 2009
- ŠMARDA, Jan. *Genetika pro gymnázia*. Praha: Fortuna, 2003. ISBN 80-7168-851-7
- THOMPSON & THOMPSON. *Klinická genetika, 6. vydání*. Praha: Triton, 2004. ISBN 80-7254-475-6

Seznam On-line zdrojů

Český statistický úřad: *Demografická ročenka* [online]. [cit. 12.3.2015].
Dostupné z:

https://www.czso.cz/csu/czso/obyvatelstvo_hu

Eurogentest: *Chromosomové změny* [online]. Překlad: Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN v Motole, březen 2008 [cit. 19.8.2014].
Dostupné z:

<http://www.eurogentest.org/index.php?id=456>

CHAITANYA, Ganesh: *Genetic Testing During Pregnancy* [online]. HubPages, Portál pro podporu informační gramotnosti [cit. 3.12.2014]. Dostupné z:

<http://emedicalhub.hubpages.com/hub/Genetic-Testing-During-Pregnancy#slide8060573>

The Fetal Medicine Centre: *Harmony test* [online]. [cit. 18.9.2014].
Dostupné z:

<http://www.fetalmedicine.com/harmony-test>

Sanatorium Repromeda, Centrum reprodukční medicíny: *Početní změny chromozomů* [online]. [cit. 18.9.2014]. Dostupné z:

<http://www.repromeda.cz/pocetni-zmeny-chromozomu/>

GREGOR, V., ŠÍPEK, A., ŠÍPEK Jr., A: *Vrozené chromozomové aberace v České republice v období 1994 – 2013*. [online]. Přednáška - XXV. IZAKOVIČOV MEMORIÁL, 2.10.2014, Trenčianske Teplice [cit. 3.12.2014]. Dostupné z:

http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Gregor_Izakovic_2014.pdf

GREGOR, V., ŠÍPEK, A., ŠÍPEK Jr., A: *Vrozené chromozomové aberace v České republice v období 1994 – 2013*. [online]. Přednáška – KAPRASŮV DEN, 18.2.2015, Purkyňův ústav, Praha [cit. 20.3.2015]. Dostupné z:

http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Kapras_2015_Gregor.pdf

Seznam obrázků

Obr. 1 – Struktura chromozomu	11
Obr. 2 – Typy lidských chromozomů	12
Obr. 3 – Karyotyp ženy 46,XX	13
Obr. 4 – Ideogram	14
Obr. 5 – Lidské chromozomy po cytogenetickém zpracování	15
Obr. 6 – Děti s Downovým syndromem	20
Obr. 7 – Opičí rýha u Downova syndromu	21
Obr. 8 – Graf závislosti výskytu Downova syndromu na věku matky	21
Obr. 9 – Prenatální záchyt Downova syndromu	22
Obr. 10 – Edwardsův syndrom	23
Obr. 11 – Edwardsův syndrom-postavení prstů	23
Obr. 12 – Nadpočetný prst u Patauova syndromu	24
Obr. 13 – Turnerův syndrom-pterygium colli	25
Obr. 14 – „Cell free DNA“	30
Obr. 15 a – Transabdominální odběr choriových klků	32
Obr. 15 b – Transcervikální odběr choriových klků	32
Obr. 16 – Odběr plodové vody	33
Obr. 17 – Kultivace vzorků v termostatu (vlevo plodová voda, vpravo periferní krev)	36
Obr. 18 – G a R pruhování	38
Obr. 19 – Nákres mitózy	39
Obr. 20 – Vývoj prenatální diagnostiky v ČR 1998–2013	45
Obr. 21 – Pokles týdnu těhotenství při stanovení diagnózy	45
Obr. 22 – Podíl screeningu 1. trimestru pro stanovení diagnózy	46
Obr. 23 – Četnost jednotlivých chromozomálních aberací v ČR v roce 2013	51
Obr. 24 – Změna indikací k prenatální diagnostice v průběhu let 1992–2012 v ČR	56

Seznam tabulek a grafů

Tab. 1	Počet provedených invazivních výkonů	41
Tab. 2	Počty invazivních výkonů ve věkových kategoriích	42
Tab. 3	Počty patologických nálezů v jednotlivých letech v závislosti na věku	47
Tab. 4	Procentuální vyjádření patologických nálezů	47
Tab. 5	Absolutní počty jednotlivých druhů patologických nálezů	49
Tab. 6	Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2011–2013)	55
Graf 1 –	Odběry choriových klků v letech 2011–2013	43
Graf 2 –	Odběry plodové vody v letech 2011–2013	44
Graf 3 –	Odběry choriových klků a plodové vody dohromady v letech 2011–2013	44
Graf 4 –	Druhy patologií z odběru choriových klků (2011–2013)	50
Graf 5 –	Druhy patologií z odběru plodové vody (2011–2013)	50
Graf 6 –	Druhy patologií celkem z CVS a AMC (2011–2013)	51
Graf 7 –	Počet patologií z jednotlivých výkonů v závislosti na věkové kategorii (2011)	52
Graf 8 –	Počet patologií z jednotlivých výkonů (CVS, AMC) v závislosti na věkové kategorii (2012)	53
Graf 9 –	Počet patologií z jednotlivých výkonů (CVS, AMC) v závislosti na věkové kategorii (2013)	53
Graf 10 –	Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2011)	54
Graf 11 –	Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2012)	54
Graf 12 –	Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2013)	55
Graf 13 –	Celkový počet patologických nálezů z CVS a AMC dohromady v závislosti na věkových kategoriích (2011–2013)	56