

PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA (PND) – neinvazivní metody

vytvořilo CMBG FN Brno

zpracovala Mgr. Navaříková ve spolupráci s RNDr. Makaturovou



VYŠETŘOVACÍ METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

Prenatální diagnostika – soubor vyšetření, metod a postupů využívaných v průběhu těhotenství k diagnostice vrozených vývojových vad plodu. Cílem prenatální diagnostiky je odhalit vrozené vady, které jsou neslučitelné se životem, jejich léčba není možná nebo je velmi obtížná.

PND musí být prováděna akreditovanými laboratořemi dle normy ČSN EN ISO 15189. Individuální způsob PND každého páru vyplývá z nedirektivních závěrů klinicko – genetického vyšetření a rozhodnutí partnerů.

- neinvazivní
- invazivní



NI
D

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO

NEINVAZIVNÍ METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY - prenatální screening

Screeningové vyšetření vrozených vad plodu je **orientační metoda**, která slouží k vyhledání těhotných žen se zvýšeným rizikem některých vrozených vad plodu.

- UZ vyšetření plodu
- biochemické vyšetření z krevního séra matky
- **kombinace těchto metod**



Prenatální screening

- v každém těhotenství existuje riziko asi 3 – 5%, že plod ponese nějakou vrozenou vývojovou vadu (VVV) nebo genetické onemocnění – vady různé závažnosti
- toto riziko je platné i **pro zdravé rodičovské páry bez genetické zátěže** v rodině
- **prenatální screening je orientační metodou**, slouží k vyhledávání těhotných žen se zvýšeným rizikem některých VVV plodu
- v ČR je prenatální screening prováděn u všech těhotných
- neexistuje screeningový test, který by vyloučil všechny možné druhy VVV – kombinací různých testů lze odhalit VVV u plodu až u 65 – 95% případů (v závislosti na použité metodě či kombinaci metod)
- metodika screeningu se stále vyvíjí



Prenatální screening

Vrozené vývojové vady (VVV) – odchylky od normálního prenatálního vývoje jedince, které překračují míru variability běžnou v populaci a jsou pro svého nositele patologické. Vrozená vada může narušovat strukturu tkání a orgánů i jejich funkci. Vývojové vady mohou být různě závažné. Vznikají v důsledku působení vnitřních (genetických) a / nebo vnějších faktorů (teratogeny – biologické, chemické, fyzikální faktory), často zůstává příčina neodhalena.

Příklady VVV: rozštěpové vady (rtu a patra, páteře, přední stěny břišní), poruchy vývoje mozku a nervové soustavy (NTD - defekt neurální trubice), dalších vnitřních orgánů, poruchy vývoje končetin



NI
D

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO

Prenatální screening

1) VYŠETŘENÍ PLODU ULTRAZVUKEM

- 1. UZ vyšetření - 11.- 13.t.g.** – zaměřen na časný záchyt VVV, některé VSV (vrozené srdeční vady) plodu
 - určení stáří plodu (předpokládaného termínu porodu)
 - určení velikosti plodu, počtu plodů
- 2. UZ vyšetření - 20.- 22.t.g.** – zaměřen na odhalení VVV, VSV plodu
 - je možné doporučit i speciální UZ vyšetření na dětské kardiologii (výskyt VSV v rodě, podezření na VSV plodu)

sledované markery: - **NT (nuchální translucence – šíjové projasnění)**
(VVV) tloušťka kožní řasy na zadní straně krku plodu, hromadění tekutiny v této oblasti, u Downova syndromu vyšší hodnota NT

- **NB (nasal bone – nosní kůstka)** – chybění kůstky zvyšuje riziko VVV plodu, **TR - trikuspidální regurgitace (VSV)**, **DV - průtok ductus venosus** (spojka mezi pupečnickovou žílou a tělním oběhem plodu) ad



Prenatální screening

1) VYŠETŘENÍ PLODU ULTRAZVUKEM

3. UZ vyšetření - 30.- 32.t.g. - změření velikosti plodu, růstu plodu
- určení polohy placenty
 - určení množství plodové vody



Prenatální screening

2) BIOCHEMICKÝ SCREENING

(1) biochemický screening v I. trimestru – 10.- 12.t.g. – z krevního séra matky

- sledované parametry:
 - **free β -hCG** (volná β podjednotka lidského choriového gonadotropinu)
 - **PAPP-A** (pregnancy – associated plasma protein A – specifický těhotenský protein) – vysokomolekulární glykoprotein produkovaný placentou během gravidity, přechází do krve matky
 - **PIGF** (placentární růstový faktor) – zvyšuje přesnost kombinovaného testu, asociován s preeklampsií
- věk matky
- tělesná hmotnost matky

Falešná pozitivita testu – 3% (nižší než u BCH screeningu II. trimestru)



Prenatální screening

KOMBINOVANÝ SCREENING

Základním vyšetřením pro stanovení individuálního rizika časných aneuploidií u plodu je **kombinovaný prenatální test**, sestávající z kombinace stanovení minimálně dvou biochemických markerů PAPP-A, free β -hCG v 10. – 12. t.g. a ultrazvukového vyšetření plodu v 11.-13.t.g..

Výsledky hodnotí počítačový program, který stanoví riziko VCA (vrozených chromosomových abnormalit) - Downův, Edwardsův, Patauův syndrom.

Pokud je kombinované riziko některé z vyšetřovaných trisomií vyšší nebo rovné 1/100 nebo je zjištěn pozitivní UZ nález, je indikováno invazivní genetické vyšetření. Týká se 1-3% žen vyšetřených kombinovaným testem.



NI
D

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO

Prenatální screening

2) BIOCHEMICKÝ SCREENING

(2) biochemický screening ve II. trimestru (triple test) – 15.- 18.t.g.

– z krevního séra matky

- sledované parametry: - **AFP** (alfa-fetoprotein) - glykoprotein tvořený játry plodu, vyskytující se v malém množství v plodové vodě, z níž přestupuje do mateřské krve. Na základě hodnoty AFP v krvi ženy je možné uvažovat o odchylkách ve vývoji plodu (zejména rozštěpové vady neurální trubice s otevřenými defekty kůže)
- **hCG** (lidský choriový gonadotropin) nebo **volný β -hCG** hCG je glykoprotein, v průběhu gravidity je produkován trofoblastem placenty
- **uE3** (nekonjugovaný estriol) - hormon tvořený plodem a placentou. Je vylučován ledvinami plodu do plodové vody, část estriolu proniká do krevního oběhu matky, snížen u trisomií, extrémně snížen u X-vázané ichthyózy



NI
D

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO

Prenatální screening

2) BIOCHEMICKÝ SCREENING

(2) biochemický screening ve II. trimestru (triple test) – 15.- 18.t.g.

Test je zaměřen na:

- výpočet pravděpodobnosti výskytu VCA (vrozené chromosomové abnormality) – Downův syndrom (Edwardsův syndrom, Patauův syndrom)
- stanovení rizika rozštěpových vad páteře (NTD – neural tube defects) a defektů přední břišní stěny (AWD - anterior wall defects)
- SLOS (Smith-Lemli-Opitz syndrom – metabolická vada)

Výše individuálního rizika VVV je vypočítána počítačovým programem.

Výpočet rizika je prováděn pouze na základě biochemických vyšetření.

pozitivní výsledek testu (extrémní zvýšení / snížení některého ze sledovaných

biochemických markerů) neznamena přítomnost VVV – **pouze zvýšenou**

pravděpodobnost výskytu (test má vysoké % falešné positivity) – pacientkám

je doporučeno pokračovat ve vyšetření metodami invazivní prenatální diagnostiky



Prenatální screening

2) BIOCHEMICKÝ SCREENING

(2) biochemický screening ve II. trimestru (triple test) – 15.- 18.t.g.

obecně – patologické hodnoty:

- zvýšené riziko Downova sy – snížené AFP + zvýšené hCG

vysoká falešná pozitivita testu – přibližně 5%, většina těhotných s pozitivním výsledkem screeningu porodí zdravé dítě (příčinou falešně pozitivních výsledků může být i nepřesné datování těhotenství)

V případě pozitivního výsledku testu je doporučeno vyšetření metodou invazivní prenatální diagnostiky.

Význam triple testu: - pro těhotné, které přijdou k lékaři v pozdějším stádiu těhotenství
- jako součást integrovaného testu



NI
D

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO

Prenatální screening

KOMBINACE TESTŮ:

- 1) BCH screening I. trimestru + UZ vyšetření plodu v I. trimestru – **kombinovaný screening**
– vysoký záchyt patologií při nízké falešné pozitivitě, časný výsledek
- 2) BCH screening I. + II. trimestru + UZ screening I. trimestru – **integrováný screening**
nebo sekvenční screening (výsledky lze sdělit v I. i II. trimestru – lepší pro psychiku těhotné) – nejvyšší záchyt patologií při nízké falešné pozitivitě
(některá pracoviště nedoporučují absolvování screeningu II. trimestru po absolvování testů v I. trimestru; je nutná vždy integrace – tj. zpracování výsledku v jedné laboratoři)



MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ PRENATÁLNÍ VYŠETŘENÍ

NEINVAZIVNÍ METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

cfDNA / cffDNA

- **cfDNA** – volná mimobuněčná (cell-free) DNA v krevní plazmě matky – většina cfDNA je maternálního původu, 4-25% celkové cfDNA tvoří cffDNA volná mimobuněčná (cell free) DNA, která pochází z placenty
- **izolace volné nebuněčné DNA** z periferní krve těhotné, lze odlišit volnou DNA plodu od mateřské volné DNA
- délka fragmentů mimobuněčné DNA plodu 150-200 bp, reprezentují kompletní genetickou informaci



NI
D

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO

MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ PRENATÁLNÍ VYŠETŘENÍ

NEINVAZIVNÍ METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

detekce volné nebuněčné fetální DNA (cff DNA) v krevní plazmě těhotné NIPT (neinvazivní prenatální testování),

V současnosti je screeningová alternativa invazivního vyšetření plodu v indikovaných případech

- cffDNA lze v krevní plazmě matky detekovat od 4. t.g.
- její množství stoupá během těhotenství, po porodu vymizí
- vyšetření není časově omezeno

- **detekce aneuploidií, mikrolečních syndromů, stanovení pohlaví plodu, Rh faktoru plodu, výjimečně patogenních de novo mutací – např. achondroplazie**

cfNIPT – prenatální diagnostika ze směsi fetálních a mateřských fragmentů DNA v mateřské plazmě



NI
D

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO

MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ PRENATÁLNÍ VYŠETŘENÍ

NEINVAZIVNÍ METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

srovnání NIPT a standardního screeningu

NIPT je moderní technikou využívající masivní paralelní, nebo cílené sekvenování volné fetální DNA (cffDNA) z krve matky pro detekci chromosomových vad plodu. Základním rozdílem z pohledu získávané informace je skutečnost, že NIPT vyhodnocuje přímo genetickou výbavu plodu, kdežto standardní screening pro hodnocení využívá parametrů asociovaných s hledaným onemocněním. NIPT přináší těhotným ženám velmi přesné informace v brzkém stádiu těhotenství, ale nemůžeme je považovat za diagnostickou metodu. NIPT nabízí jednoduchost provedení a vysokou přesnost bez obavy z invazivního zákroku. Jednotlivé neinvazivní testy se od sebe mohou odlišovat způsobem vyjádření výsledku, přesností, spektrem vyšetřovaných onemocnění a možnostmi použití.

NIPT je pojišťovnou nehrazené screeningové vyšetření, spolehlivá detekce plodu s Downovým syndromem, metoda zachytí více než 99% plodů s touto chromosomovou vadou. Pozitivní nálezy NIPT musí být potvrzeny přímým genetickým vyšetřením tkání plodu, např. aminocentézou. NIPT není plnohodnotnou náhradou invazivního vyšetření, pokud je detekována VVV u plodu nebo u žen s jinou genetickou zátěží, např. monogenní choroby, nosičství VCA a v dalších případech.



NI
D

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
BRNO

MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ PRENATÁLNÍ VYŠETŘENÍ

NEINVAZIVNÍ METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

Další materiál pro neinvazivní testování:

- testování z jednotlivých buněk plodu (jaderných erytrocytů nebo buněk trofoblastu) kolujících v oběhu matky (cbNIPT)

Obsah prezentace je v souladu s aktuálními
doporučeními Společnosti lékařské genetiky a genomiky
ČLS JEP (www.slg.cz)

Kontakt pro dotazy: Navarikova.Marta@fnbrno.cz