

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**  
**katedra biologických a lékařských věd**

**Sledování průběhu vícečetných těhotenství  
pomocí biochemických markerů v raných  
stádiích gravidity – II.**

Diplomová práce

Vedoucí bakalářské práce: Doc. RNDr. Vladimír Semecký, CSc.

Konzultant: Doc. MUDr. Ivan Matouš-Malbohan, CSc.

Hradec Králové, 2017 Bc. Lenka Janouchová (roz. Brjančinová)

## **Prohlášení**

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové .....

podpis .....

## **Poděkování**

Ráda bych tímto poděkovala panu doc. RNDr. Vladimíru Semeckému, CSc. a především panu doc. MUDr. Ivanu Matoušovi-Malbohanovi, CSc. za usměrnění a odborné vedení během celé diplomové práce. Moje poděkování patří i paní Ing. Editě Lazarové, CSc. za velkou pomoc se statistickým zpracováním získaných dat. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat i laboratořím AeskuLab k.s. za vytvoření vhodných podmínek během celé práce a také mému manželovi za trpělivost a podporu během celého studia.

## Abstrakt

Cílem diplomové práce je vypracovat algoritmus umožňující záchyt vícečetného těhotenství pomocí hodnot prvotrimestrálního biochemického markeru s těhotenstvím asociovaného plazmatického proteinu A (PAPP-A) v séru matek s jedním plodem a s dvojčaty.

Naměřené hodnoty markerů PAPP-A a volné beta podjednotky lidského choriového gonadotropinu (free  $\beta$  hCG) jsou přepočítány na hodnoty MoM, korigovány na hmotnost matek a následně vyneseny do grafů, kde je viditelný posun hodnot mezi graviditami jednočetnými a dvojčetnými.

Po vyzkoušení několika empirických postupů, byl nalezen algoritmus, kterým lze ve sledovaném souboru dokázat v 83,75 % vícečetná těhotenství.

Při podmínce algoritmu pro hodnoty MoM markeru PAPP-A nebyly v souboru žen s 1 plodem nalezeny žádné falešně pozitivní výsledky.

**Klíčová slova:** vícečetná gravidita, s těhotenstvím asociovaný plazmatický protein A (PAPP-A), volná beta podjednotka lidského choriového gonadotropinu (free  $\beta$  hCG)

## **Abstract**

The diploma thesis objective is to work out an algorithm enabling multiple pregnancy detection using first-trimester with pregnancy associated plasmatic protein A (PAPP-A) biochemical marker in the blood serum of expectant mother pregnant with one foetus or twin foeti.

Detected PAPP-A markers value and free beta subunit of human chorionic gonadotropin (free  $\beta$  hCG) are converted into MoM values, adjusted to body masses of expectant mothers and subsequently entered into graphs where shifts in values between single and twin pregnancies are visible.

After testing a couple of empirical procedures an algorithm was found by means of which 83,78% of multiple pregnancy can be proved in the monitored group.

When algorithm was set for MoM values of PAPP-A marker there were found no false positive results in the group of women with 1 foetus.

**Key words:** multiple pregnancy, with pregnancy associated plasmatic protein A (PAPP-A), free beta subunit of human chorionic gonadotropin (free  $\beta$  hCG)

# Obsah

ÚVOD A ZADÁNÍ – (CÍL) PRÁCE .....	1
TEORETICKÁ ČÁST .....	2
1. Definice vícečetného těhotenství .....	2
2. Incidence a etiologie .....	2
2.1 Incidence vícečetných gravidit .....	2
2.2 Etiologie dvojčetných gestací .....	5
3. Komplikace u dvojčetné gravidity .....	6
3.1 Rizika pro těhotnou ženu .....	6
3.2 Rizika pro plody .....	7
4. Prenatální péče a diagnostika .....	9
4.1 Všeobecná definice prenatální diagnostiky .....	9
4.2 Neinvazivní metody prenatální diagnostiky .....	10
4.2.1 Možnosti provádění screeningu .....	11
4.2.2 Biochemické markery ve screeningu I. trimestru .....	14
4.2.2.1. S těhotenstvím asociovaný plazmatický protein A (Pregnancy Associated Plasma Protein A) .....	14
4.2.2.2 Volná beta-podjednotka lidského choriového gonadotropinu ....	15
4.2.3 Biochemický screening II. trimestru .....	17
4.2.3.1 Alfa-1-fetoprotein .....	17
4.2.3.2 Lidský choriový gonadotropin .....	18
4.2.3.3 Nekonjugovaný estriol .....	18
4.3 Prenatální péče o dvojčetná těhotenství .....	19

4.3.1	Včasná diagnostika .....	19
4.3.2	Chromozomální aberace u dvojčetných gravidit.....	19
4.3.2.1	Biochemický screening I. trimestru dvojčat .....	19
4.3.2.2	Biochemický screening II. trimestru dvojčat .....	20
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....		21
5.	Cíle výzkumné části.....	21
6.	Metodika výzkumného šetření .....	21
6.1	Princip metody .....	22
6.1.1	Stanovení metody PAPP-A.....	22
6.2	Charakteristika zkoumaného souboru.....	23
VÝSLEDKY .....		24
DISKUZE.....		28
ZÁVĚR .....		31
Použité zkratky .....		32
Seznam obrázků .....		34
Seznam tabulek .....		34
Seznam grafů.....		34
Seznam příloh.....		34
Použitá literatura .....		35
Přílohy.....		40

## ÚVOD A ZADÁNÍ – (CÍL) PRÁCE

Vícečetné těhotenství není u člověka charakteristickým reprodukčním vzorem. Ačkoli nelze vícečetnou graviditu nazvat patologií, je v mnohých aspektech odlišná od klasických jednočetných a je mnohdy doprovázena řadou komplikací, proto má důležitý klinický význam rychlá diagnostika a dohled nad touto gestací (Čech, 2006).

Téma diplomové práce jsem si vybrala na základě svého dlouhodobého zájmu o tuto problematiku.

Diplomová práce navazuje na předchozí bakalářskou práci - Vyhledávání vícečetných těhotenství pomocí biochemických markerů v raných stádiích gravidity, ve které jsme se zabývali především druhotrimestrálním screeningem dvojčetných těhotenství.

Cílem diplomové práce je v teoretické části rozebrat problematiku prenatální péče o vícečetná těhotenství, upozornit na důležitost neinvazivních screeningových metod v prenatální diagnostice a popsat význam biochemických markerů – s těhotenstvím asociovaného plazmatického proteinu A (PAPP-A), lidského choriového gonadotropinu ( $\alpha+\beta$  hCG) a alfa-1-fetoproteinu (AFP), které jsou součástí biochemického screeningu vrozených vývojových vad.

Experimentální část práce je věnována záchytu dvojčetných těhotenství pomocí biochemických markerů I. i II. trimestru, porovnávání jejich hodnot s jednočetnými graviditami a hledání algoritmů, kterými, pomocí nárůstu hodnot těchto markerů, lze vyslovit podezření na vícečetnou gestaci.

Vícečetné těhotenství je problematika vyžadující důslednou prenatální péči a především individuální přístup.



# TEORETICKÁ ČÁST

## 1. Definice vícečetného těhotenství

Vícečetné těhotenství představuje současný vývoj více než jednoho fétu. Zpravidla za mnohočetnou gestaci považujeme situaci, kdy se v děloze vyvíjí a posléze narodí více plodů. Podle počtu plodů hovoříme o dvojčatech (*gemini*), trojčatech (*trigemini*), čtyřčatech (*quadrigemini*) a tak dále, jak uvádí Kudela a kol. (2004).

Tento typ gravidity přináší mnoho potenciálních mateřských a fetálních komplikací, a to v průběhu těhotenství i při porodu. Těhotenská rizika mohou mít výrazný vliv na postnatální vývoj dětí. Z medicínského pohledu proto musíme každé vícečetné těhotenství považovat za rizikové, přičemž riziko vzniku komplikací roste s počtem plodů v děloze (Vlk, 2012).

## 2. Incidence a etiologie

### 2.1 Incidence vícečetných gravidit

Výskyt a nárůst vícečetných těhotenství publikovaný v četných studiích, dávají jejich autoři do souvislosti s trendem dvou úzce spolu souvisejících jevů, tj. přesunem rodiček do starších věkových ročníků a nárůstem těhotenství u žen po asistované reprodukci (Štembera, Langhammer, 2009).

Dříve platné Hellinsovo pravidlo (porod jedné spontánně vzniklé dvojčetné gravidity připadající na 97 porodů jednočetných gravidit) tak pozbývá platnosti a reálně vyjádřený poměr porodů dvojčat je nyní přibližně 1 : 80 - 90. Jeden porod trojčat připadá přibližně na 8 000 porodů jednočetných gravidit (Hruban, Gerychová, Dostálová, 2004).

V tabulce 1 můžeme vidět četnost porodů v České republice v letech (1990-2015). V rekordním roce 2010 tvořily vícečetné porody v České republice více než dvě procenta porodů (tedy více než 4% narozených dětí), což řadí Českou republiku k evropským zemím s největším podílem vícečetných gestací (Hájek, Čech, Maršál a kol., 2014).

Srovnáme-li počet jednočetných a vícečetných porodů, lze vyčíslit, že v roce 2015 jedna vícčata připadla na 66 jednočetných porodů. Trend posledních let směřuje k ubývání vícečetných porodů. V roce 2010 totiž jedna vícčata připadala již na každých 46 jednočetných porodů. Na druhou stranu, až do poloviny 90. let se porodníci v průměru setkali s vícečetným porodem až po více než stech jednočetných (Němečková, 2016).

**Tabulka 1: Porody v ČR podle četnosti (1990-2015)**

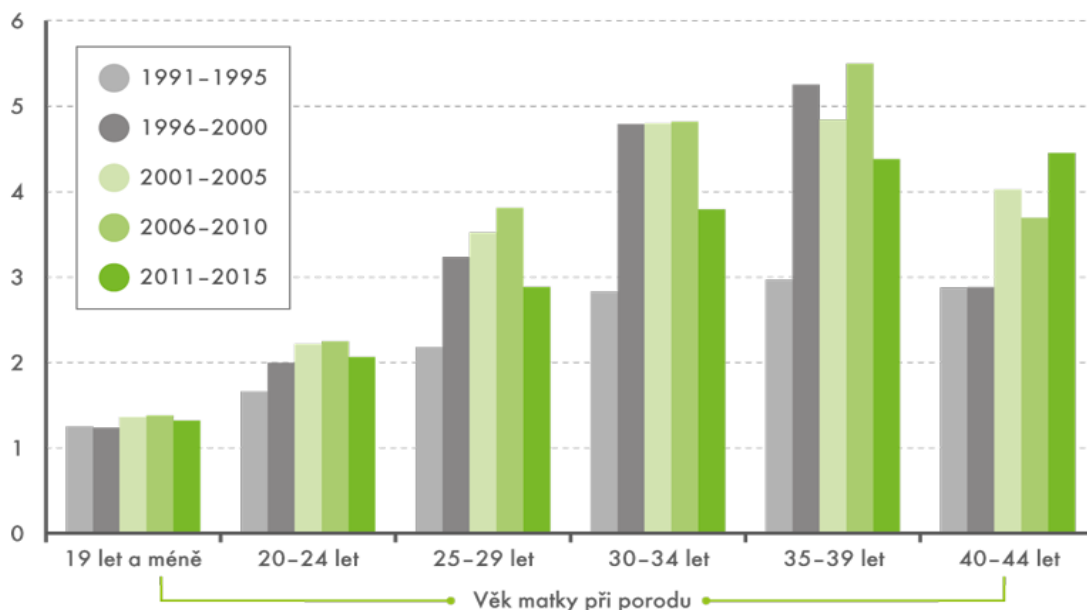
	1990	1995	2000	2005	2010	2015
<b>Počet porodů celkem v tom:</b>	129 908	95 344	89 754	100 546	114 976	109 519
<b>jedno dítě</b>	128 739	94 313	88 363	98 607	112 518	107 889
<b>dvojčata</b>	1152	1010	1368	1926	2446	1617
<b>trojčata</b>	17	20	22	13	12	13
<b>čtyřčata</b>	-	-	1	-	-	-
<b>Podíl vícečetných porodů (v %)</b>	0,9	1,08	1,55	1,93	2,14	1,49
<b>Počet jednočetných porodů připadajících na 1 porod dvojčat</b>	111,8	93,4	64,6	51,2	46	66,7

Zdroj: Kačerová, E.: Vícečetné porody. Demografie [online] 2012. URL: [http://www.demografie.info/?cz\\_detail\\_clanku=&artclID=792](http://www.demografie.info/?cz_detail_clanku=&artclID=792) doplněno o data z ČSÚ

Přes tendenci posledních let zavádět do dělohy pouze jedno embryo, přetrvává vyšší výskyt víceplodých gravidit po hormonálních stimulacích, inseminacích i in vitro řízených cyklech. Frekvence vícčat v programech IVF je stále asi 15x vyšší než po spontánní koncepci (Vlk, 2012).

Pravděpodobnost, že půjde o vícečetné těhotenství, se obecně zvyšuje s věkem matky (graf 1). Zatímco podíl dětí z vícečetných porodů se u žen mladších než 20 let pohybuje mírně nad jedním procentem, u žen starších 35 let je více než čtyřprocentní. Relativně nejčastěji se více dětí najednou rodí ženám ve věkové skupině 35–39 let (Němečková, 2016).

**Graf 1: Podíl dětí narozených z vícečetných těhotenství podle věku matky při porodu, 1991-2015 (v %)**



Zdroj: Němečková, M.: Vícečetných porodů je již méně. Statistika a my [online] 2016. URL: <http://www.statistikaamy.cz/2016/12/vicacetnych-porodu-je-jiz-mene/>

K dalším faktorům ovlivňujícím četnost výskytu víceplodých gravidit patří kromě věku matky a metod asistované reprodukce i rasa, parita, dědičnost a hodnota BMI (Body mass index).

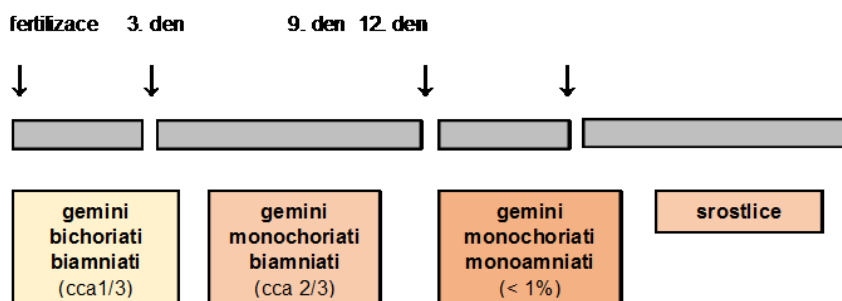
Tyto faktory jsme podrobněji popsali v předchozí práci „Vyhledávání vícečetných těhotenství pomocí biochemických markerů v raných stádiích gravidity“.

V dalším textu se budeme zabývat především těhotenstvím dvojčetným. Gestace s větším počtem plodů se vyskytují mnohem vzácněji a jsou zatížena stejnými komplikacemi a riziky, jen s větší pravděpodobností jejich vzniku.

## 2.2 Etiologie dvojčetných gestací

Dle vzniku dělíme dvojčata na jednovaječná a dvojevaječná.

**Obrázek 1: Schéma vzniku dvojčat**



Zdroj: Čech, E., Hájek, Z., Maršál, K.: Porodnictví. 2014

Dvojevaječná neboli dizygotická dvojčata tvoří dvě třetiny všech dvojčat. Tato dvojčata vznikají oplozením dvou vajíček dvěma odlišnými spermii. Dizygotická dvojčata mají vždy samostatné obaly, vytvářejí tedy dvě samostatné placenty, dva amniální vaky, dva žloutkové váčky a dvě embrya. Označujeme je za *gemini bichoriati, biamniati*. Jejich genetická výbava se liší, mohou být stejného či odlišného pohlaví (Vlk, 2012).

Oproti tomu jednovaječná neboli monozygotická dvojčata vznikají oplozením jednoho oocyту jednou spermii. Jejich genetická výbava je shodná a jsou vždy stejného pohlaví. Na době rozdělení embryonální tkáně závisí jejich chorionicita a amnionicita.

Dojde-li k rozdělení embryblastu do 3. dne po fertilizaci, vzniknou dvojčata *bichoriální-biamniální*. Představují asi třetinu všech monozygotických dvojčat. Každý plod má svou placentu, samostatné amnion a prakticky je ultrazvukově nelze odlišit od dvojčat dizygotických.

Při disociaci embryblastu po 3. dnu od oplození vznikají dvojčata *monochoriální-biamniální* (se společnou choriovou dutinou a tedy i placentou), po 9. dnu pak dvojčata *monochoriální, monoamniální*. Mají vždy společné chorion a tudíž společnou placentu a představují pouze 1% všech monochoriálních dvojčat (Vlk, 2012).

Počet placent dvojčat (chorionicita) je faktor, který nejvíce ovlivňuje výskyt komplikací spojených s těhotenstvím. Monoamniální dvojčata jsou velmi vzácná a ohrožena významným výskytem komplikací. Velmi vzácnou komplikací monoamniálních dvojčat jsou tzv. srostlice (conjoined twins) (Koterová, 2008).

### **3. Komplikace u dvojčetné gravidity**

#### **3.1 Rizika pro těhotnou ženu**

Dvojčetné těhotenství je spojeno se zvýšenou mateřskou nemocností. Komplikace související s těhotenstvím se u žen s touto gestací vyskytují až sedmkrát častěji než při těhotenství jednočetném a mateřská úmrtnost je až trojnásobná (The ESHRE Capri Workshop Group, 2000).

Na počátku těhotenství jsou ženy s vícečetnou gestací ohroženy zvýšeným rizikem spontánního potratu, který je charakterizovaný vaginálním krvácením. Potrat může nastat i v pozdější fázi těhotenství, nicméně v I. trimestru je riziko jeho vzniku podstatně vyšší (Kozubíková, 2012).

V důsledku působení zvýšených hladin progesteronu se u žen s dvojčaty častěji vyskytují rané gestózy (Hájek, Čech, Maršál a kol., 2014). Hojně se u matek dvojčat vyskytuje *hyperemesis gravidarum* (Roztočil a kol., 2008). Jedná se o nadměrnou nauzeu a zvracení, které u těhotné ženy přetrvává po celý den. Onemocnění bývá spojeno se ztrátou tělesné hmotnosti, s dehydratací a s rozvratem iontů (Roztočil a kol., 2008).

Matky dvojčat častokrát trpí kardiovaskulárními poruchami, či gestačním diabetem. Ve druhé polovině těhotenství u nich častěji dochází k rozvoji hypertenze, preeklampsie, eklampsie a tyto komplikace mají i horší prognózu.

Incidence anémie je oproti jednočetnému těhotenství až dvojnásobná. Příčinou je kromě hemodiluce i nedostatek železa, a proto by měla být doporučena jeho suplementace (Studničková a kol., 2016).

Pravděpodobnost ukončení těhotenství císařským řezem je v České republice u jednočetného těhotenství cca 25 %, u dvojčetného těhotenství cca 80 % a při více než dvou plodech téměř 100 % (Studničková a kol., 2016).

V bezprostředním poporodním období dochází na základě distenze dělohy častěji k děložní atonii a excesivním krevním ztrátám, které si častěji vyžádají i provedení hysterektomie (Yasmeen, Iqbal, 2006).

Díky zvýšeným rizikům a požadavkům se často u těchto žen vyskytují také psychické obtíže. Ty mnohdy přetrvávají až do období šestinedělí, nejčastěji poporodní blues a poporodní deprese. Vícečetná gravidita vyžaduje i častější hospitalizaci než gravidita jednočetná (Roztočil a kol., 2008).

### **3.2 Rizika pro plody**

Předčasným ukončením těhotenství nebo porodem pouze jednoho plodu skončí až 50% dvojčat, která jsou diagnostikována do 10. týdne těhotenství. Častou příčinou bývá odumření jednoho plodu (syndrom mizejícího dvojčete). Nejčastěji k této spontánní redukci dochází v I. trimestru těhotenství a může, ale také nemusí, být doprovázena vnějšími projevy, jako je špinění nebo slabé poševní krvácení (Roztočil a kol., 2008).

Plody dvojčetného těhotenství jsou častěji ohroženy i poruchou růstu. Rozdílná velikost fetů (více než 25 % hmotnosti) je diagnostickým kritériem selektivní růstové restrikce plodu (sIUGR). Incidence IUGR u dvojčat je desetkrát vyšší než u jednoplochého těhotenství a komplikuje cca 15 % monochoriálních gravidit. Mortalita sIUGR je v porovnání s transfúzním syndromem (TTTS, Twin to Twin Transfusion Syndrome) relativně nižší (10 % proti 55 % u TTTS), přesto je nezbytné plody s růstovou restrikcí pečlivě dispenzarizovat, protože zhruba ve 20% případů se stav plodů může komplikovat rozvojem TTTS (Lewi, Cannie, Blickstein, 2007).

K rozvoji transfúzního syndromu (TTTS, Twin to Twin Transfusion Syndrome) či „Twin Anemia-Polycythemia Sequence“ (TAPS) může dojít na základě nebalancovaných cévních spojek.

U syndromu feto-fetální transfúze pozorujeme u jednoho plodu (příjemce, recipient) hypervolémii, polyurii a polyhydramnion, u druhého (dárce, donor) se rozvíjí hypovolémie, oligurie a anhydramnion.

TAPS představuje mírnější formu TTTS a jedná se o spíše pozdní komplikaci, při které je jeden z plodů anemický a druhý polyglobulický (Studničková a kol., 2016).

Těhotenství s více než s jedním plodem je velmi často komplikováno předčasným porodem. Riziko předčasného porodu před 32. i před 37. týdnem je u dvojčetného těhotenství až pětinasobné (Helmerhorst a kol., 2004).

Podle doporučeného postupu České gynekologické a porodnické společnosti se těhotenství s bichoriálními dvojčaty ukončuje nejpozději ve 38. týdnu (38 + 6), monochochoriální biamniální ve 36. týdnu (36 + 6) a monoamniální ve 34. týdnu (34 + 6) (Lubušký, Krofta, Vlček, Roztočil, Hájek, 2013).

Existuje však vysoké riziko, že z důvodu komplikací se bude muset těhotenství ukončit dříve, případně dojde k předčasnému porodu spontánně. S předčasným porodem souvisí i nízká a velmi nízká porodní hmotnost novorozence (< 2500 g), která se přirozeně u dvojčetné gravidity vyskytuje častěji, stejně tak závažné postižení plodu jako například dětská mozková obrna. Perinatální mortalita je u dvojčat přibližně trojnásobná (Helmerhorst a kol., 2004).

V neposlední řadě je jednou ze závažných komplikací dvojčetného těhotenství riziko vzniku vrozených vývojových vad (VVV).

Výskyt vrozených vývojových vad u dvojčetné gravidity je v porovnání s jednočetnou dvojnásobná. Dle statistických dat zachytíme v ČR vrozenou vadu u 3-4% jednočetných těhotenství a 5-10% dvojčat. Shodná incidence VVV u jednovaječných dvojčat činí asi 15%, u dvojvaječných dvojčat se pravděpodobnost výskytu té samé vady u obou plodů víceméně neliší od případů fetů z jednotlivých jednočetných těhotenství (Vlček, 2012).

Autoři Vlček a Komár (2008) dělí strukturální vady do tří skupin:

1. vady specifické pro monochooriální gestace: srostlice, akardius, transfúzní syndrom, TAPS

2. vady, které nejsou specifické pouze pro dvojčetná těhotenství, ale mají u těchto gravidit vyšší incidenci: defekty neurální trubice, holoprocencefalie, hydrocefalus, vrozené vady srdce, gonadální dysgeneze nebo extrofie močového měchýře

3. vady (či tzv. polohové deformity), které jsou podmíněné mechanickým vlivem v omezeném amniálním prostoru: vrozené luxace kyčlí a deformace dolních končetin (pedes equinovares).

Intenzita výskytu vrozených vad je považována za jeden ze základních kvalitativních ukazatelů, populačních i medicínských. Z hlediska studia zdravotního stavu populace je pak bezesporu důležitá časová i prostorová diferenciací rizika zvýšené pravděpodobnosti výskytu vrozené vývojové vady a hledání její podstaty. Jakékoli rizikové faktory pro vznik vrozených vad by měly být analyzovány (Šípek a kol., 2009).

## **4. Prenatální péče a diagnostika**

### **4.1 Všeobecná definice prenatální diagnostiky**

Prenatální diagnostika je soubor postupů a metod, jejichž úkolem je určit různé odchylky a vady u plodů ještě před narozením. Prenatální diagnostika jako celek je založena na úzké mezioborové spolupráci odborníků různých lékařských specializací – např. gynekologie a porodnictví, lékařské genetiky, klinické biochemie či ultrazvukové diagnostiky (Gregor a kol., 2008).

Vyšetření v rámci prenatální diagnostiky můžeme rozdělit jednak z hlediska časového a z hlediska metodického.

Prenatální diagnostika z hlediska časového:

- I. trimestr – diagnostika prováděna do 14. týdne těhotenství
- II. trimestr – diagnostika prováděna do 18. týdne těhotenství
- III. trimestr – diagnostika prováděna od 19. týdne těhotenství do porodu



Prenatální diagnostika z hlediska vyšetřovací metody:

- Neinvazivní, tzv. screeningové metody: biochemické vyšetření krevního séra matky a ultrazvuk
- Invazivní, tj. cílené metody (aminocentéza, odběr choriových klků, kordocentéza, fetoskopie)
- Speciální, preimplantační diagnostika embryí

V další části práce se budeme zabývat hlavně neinvazivními metodami. Odběr plodové vody (amniocentéza v II. trimestru), resp. odběr choriových klků (I. trimestr), pro karyotypizaci jsou specifická vyšetření po pozitivním výsledku screeningu. Tyto invazivní metody s sebou nesou jednak objektivní riziko fetální ztráty (0,5-1%) a jednak jsou pro mnoho těhotných žen, subjektivně, velmi nepříjemnou zkušeností (Novotný a kol., 2011). Takže nalezení optimální metodiky screeningu má svůj etický rozměr.

## 4.2 Neinvazivní metody prenatální diagnostiky

Screening obecně je metodika určená k vyhledávání osob se zvýšeným rizikem určité choroby ještě před její klinickou manifestací. Není diagnostickým testem. Obvykle je prováděn dostupnými metodami, a teprve pozitivní výsledek spouští sérii speciálních náročnějších vyšetření, případně preventivních opatření. Screeningový test by měl být nabízen plošně a systematicky určité konkrétní populační skupině osob (Novotný a kol., 2011).

Před zahájením screeningového programu by měla být posouzena jeho smysluplnost, vyhodnocena ekonomická efektivita, tj. náklady na screening by měly být nižší než náklady související s léčbou daného onemocnění a dále by měly být verifikovány jeho parametry:

- Senzitivita = detekční účinnost DR (Detection Rate) – je definovaná jako podíl počtu nemocných s pozitivním testem a celkového počtu testovaných nemocných. Tento parametr nám udává pravděpodobnost pozitivity testu, je - li vyšetřovaná osoba skutečně nemocná. Vyjadřuje

procentuální část všech postižených onemocnění, kteří byli screeningem odhaleni (Racek a kol., 2006).

Specifičnost – je definovaná jako podíl počtu zdravých osob s negativním testem a celkového počtu testovaných zdravých jedinců. Tento parametr znamená pravděpodobnost negativního výsledku u zdravé osoby. V případě screeningu nám specifičnost určuje tzv. falešná pozitivita (Racek a kol., 2006).

- Falešná pozitivita – FPR (False Positivity Rate) je procentuální část screeningovaných s pozitivním výsledkem testu, u kterých však specifičtější diagnostická vyšetření ani pozdější průběh onemocnění nepotvrdí.

V ideálním případě by měl test 100% senzitivitu i specifičnost, tedy by spolehlivě oddělil skupinu zdravých od nemocných. Toho nelze v reálných podmínkách dosáhnout, proto by screeningový test měl být nastaven tak, aby jeho senzitivita byla 100% na úkor specifiity. Takto nastavený screening sice zachytí všechny nemocné, ale vzhledem k nižší specifitě označíme jako pozitivní i jedince bez onemocnění s tzv. falešně pozitivním výsledkem.

- Skutečná pozitivita – OAPR (Odds of being Affected with a Positive Result) nám pak vyjadřuje poměr mezi správně pozitivními a falešně pozitivními výsledky.

Zatímco falešná pozitivita a senzitivita screeningu odrážejí především vlastnosti screeningové metody jako takové, skutečná pozitivita souvisí i s prevalencí onemocnění (Novotný a kol., 2011).

## **4.2.1 Možnosti provádění screeningu**

### **Kombinovaný test**

Nejběžnější formou screeningu v I. trimestru je vyšetření sestávající z věku těhotné, dvou biochemických markerů (PAPP-A, free  $\beta$  hCG) a ultrazvukového měření šíjového projasnění plodu (NT).

Výsledek tohoto screeningu je považován za definitivní vyjádření rizika. V tomto případě se používá jedna hodnota cut off, která rozděluje těhotné ženy do vysoce rizikové skupiny a skupiny s nízkým rizikem. Skupině žen, která má pozitivní výsledek screeningu, je nabídnuto provedení invazivního zákroku a poté genetické vyšetření získaného biologického materiálu. Toto uspořádání screeningu má 85% záchyt plodů s Downovým syndromem při 5% falešné pozitivitě (Loucký, 2012).

### **Kombinovaný kontingenční test**

Pokud se k vyšetřovaným parametrům kombinovaného testu přidají další ultrazvuková vyšetření a změní se způsob hodnocení získaných výsledků rizik, hovoříme o tzv. kontingenčním uspořádání kombinovaného testu. Mezi nové UZ parametry patří ověřování přítomnosti nosní kůstky (NB), měření fronto-maxillo-faciálního uhlu (FMF), dopplerovské vyšetření trikuspidální regurgitace (TR) a vyšetření *ductus venosus* (DV).

Z hlediska hodnocení výsledků jsou pak stanoveny dvě hodnoty cut off, které rozdělí těhotné ženy do tří skupin.

Ženy, které mají výsledek rizika nacházející se mezi těmito dvěma hodnotami, jsou dále vyšetřovány pomocí vzpomínaných ultrazvukových minormarkerů. U části žen se potvrdí opodstatněnost provedení invazivního zákroku. Druhá část žen se naopak provedení invazivního zákroku, díky dalším ultrazvukovým parametrům, vyhne a jejich definitivní výsledek screeningu je negativní. Nevýhodou provádění tohoto typu screeningu je jeho dostupnost pouze ve vysoce specializovaných centrech, časová náročnost provádění většího počtu ultrazvukových vyšetření a také skutečnost, že ne u všech těhotných žen lze tyto parametry spolehlivě a reprodukovatelně změřit (Loucký, 2012).

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

Kombinovaný test, může být i součástí tzv. integrovaného testu, který spojuje vyšetření provedená v prvním a druhém trimestru gestace do jednoho výsledku. V případě plně integrovaného testu se výsledek kombinovaného testu v I. trimestru samostatně nehodnotí a získané výsledky biochemických a ultrasonografických vyšetření se vyhodnocují až po provedení

druhotrimestrálních biochemických vyšetření. Tento způsob hodnocení screeningu má sice statisticky nejvyšší účinnost, ale nereaguje na jasně pozitivní výsledky kombinovaného testu v I. trimestru a z pohledu gravidních žen může být vnímán, do jisté míry, jako stresující (Loucký, 2012).

Sekvenční forma integrovaného testu tuto nevýhodu eliminuje, přičemž je zachována vysoká senzitivita screeningového protokolu. Uspořádání vychází ze statistických výpočtů, podle kterých je u kombinovaného testu v prvním trimestru stanovena hodnota cut off označující jako pozitivní pouze ženy s extrémně vysokým rizikem. U těchto jednoznačně pozitivních výsledků je ženám nabídnuto provedení invazivního výkonu a už se neprovádějí další screeningová vyšetření ve druhém trimestru. Ostatní ženy naopak pokračují do II. trimestru, kde se jim provedou biochemická stanovení a vyjádří se riziko, vypočítané ze všech provedených testů a ultrazvukových měření. Tímto způsobem se zajistí nejen nejvyšší možná senzitivita screeningu (> 90 %), ale také velmi nízká falešná pozitivita (Loucký, 2012).

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

Algoritmus screeningu je možné založit pouze na vyšetřování biochemických parametrů a to v případě, že neexistuje možnost kvalitního ultrazvukového vyšetření ženy v I. trimestru gravidity. Na docílení co možná nejvyšší efektivity screeningového postupu, je vhodné kombinovat výpočet rizika na základě vyšetření biochemických parametrů v prvním i druhém trimestru těhotenství. Zpravidla se provádí vyšetření PAPP-A v prvním trimestru, a tento výsledek se integruje po provedení biochemických testů ve druhém trimestru do výsledného rizika. Senzitivita tohoto testu je zhruba srovnatelná se základním kombinovaným testem, prováděným v I. trimestru, tedy kolem 85 %, při 5% falešné pozitivitě (Loucký, 2012).

### **Samostatné biochemické testování pouze ve II. trimestru**

V případě, že se provádí výpočet rizika jen na základě stanovení obsahu těchto biochemických látek, pak jsou jednotlivé screeningové protokoly označovány podle toho, kolik se jich při výpočtu rizika používá. Pokud se

provádí pouze stanovení celkového hCG a AFP, tento test je označován jako double test, pokud se vyšetřuje i nekonjugovaný estriol, pak hovoříme o triple testu (Loucký, 2012).

Nejefektivnějším způsobem vyšetřování ve druhém trimestru je kvadruple test, kdy je jako čtvrtý parametr vyšetřován inhibin A.

Screening vrozených vývojových vad ve II. trimestru by měl být určen především ženám, které z různých důvodů neabsolvovaly I. trimestrální vyšetření.

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

Pokud těhotná žena absolvuje screening v prvním trimestru gravidity a následně má vyšetřeny také biochemické analyty ve druhém trimestru, je možno tyto výsledky spojit do jednoho výsledného rizika v rámci integrovaného testu. Sekvenční varianta integrovaného testu je z pohledu žen zřejmě nejefektivnější formou screeningu (Loucký, 2012).

V České republice klesá počet laboratoří, které provádí pouze druhotrimestrální test a relativně stoupá procento integrovaných testů, II. trimestrální test se dělá převážně jako součást integrovaného testu. Integrace zvyšuje počet zachycených chromozomálních aberací (Springer a kol., 2017).

### **4.2.2 Biochemické markery ve screeningu I. trimestru**

Dle společného doporučení České společnosti klinické biochemie (ČSKB ČLS JEP), doporučené laboratorní markery pro biochemický screening I. trimestru jsou PAPP-A a volná  $\beta$  podjednotka hCG (optimální odběr 9+1 až 11+3 týden těhotenství).

#### **4.2.2.1. S těhotenstvím asociovaný plazmatický protein A (Pregnancy Associated Plasma Protein A)**

PAPP-A je vysokomolekulární tetramer, jedná se o metaloproteinázu závislou na zinku štěpící IGFBP-4 (insulin like growth factor binding protein-4).

Čtyři polypeptidové řetězce jsou spárovány disulfidickými můstky do dvou dimerů, které jsou nekovalentně vázány. Každý dimer obsahuje jednu podjednotku PAPP-A a jednu podjednotku glykosylované proformy hlavního bazického eozinofilního proteinu (proMBP) (Kučerová, 2005).

PAPP-A je syntetizován v těhotenství v syncytiotrofoblastu, kromě toho také ve fibroblastech, osteoblastech, buňkách hladkého svalstva cév.

Brambati a kol. (1991, 1994) poprvé upozornili na snížené hodnoty PAPP-A v séru těhotných s plodem postiženým Downovým syndromem. Sérová koncentrace PAPP-A byla signifikantně snížena mezi 8.-14. týdnem gestace, výrazněji mezi 8.-11. týdnem než mezi 12.-14. týdnem. V první systematické studii prokázali, že kombinace rizikových faktorů věku a snížených hladin PAPP-A (0,27-0,31 MoM) může dosáhnout vysoké detekce plodů s Downovým syndromem - až 71 %.

Také zjistili souvislost nízkých hladin PAPP-A s trisomiemi 13 a 18 (M. Edwards, M. Patau). Cuckle (1995) počátkem 90. let publikoval práci, kde rovněž prokazuje vysokou diagnostickou spolehlivost tohoto markeru. Stanovil zde také hodnoty mediánu PAPP-A u trisomie 21 v závislosti na gestačním stáří, 0,29 MoM mezi 5.-10. týdnem a 0,42 MoM mezi 11.- 14. týdnem gestace. Ve studii Spencera a spol. (1999) byl průměrný medián u postižených gravidit v 10.-14. týdnu těhotenství 0,51 MoM. Po 14. týdnu těhotenství snížené hladiny PAPP-A ztrácejí pro Downův syndrom na diagnostickém významu.

Zvýšené sérové hodnoty jsou ke konci gravidity u preeklampsie, u předčasného porodu je trend k nižším hodnotám. V současné době se PAPP-A uplatňuje také jako marker akutního infarktu myokardu a prognostický marker u pacientů se selháním ledvin (Hájek, Kulovaný, Macek, 2000; Loucký, 2012).

#### **4.2.2.2 Volná beta-podjednotka lidského choriového gonadotropinu**

Lidský choriový gonadotropin je glykoprotein syntetizovaný v buňkách syncytiotrofoblastu a je složený ze dvou podjednotek alfa a beta. Dynamika obou podjednotek v průběhu gravidity je odlišná. V časných fázích těhotenství

se zvyšuje celkové hCG i podjednotka beta. Hladina se zvyšuje do 11. týdne těhotenství, poté prudce klesá (Kučerová, 2005).

Vysoké hladiny volné  $\beta$  podjednotky hCG v I. trimestru byly pozorovány v séru matek plodů postižených Downovým syndromem a představují tak další důležitý biochemický marker trisomie 21 (Cuckle, 1995). Hladiny volné  $\beta$  podjednotky hCG jsou v postižených graviditách vyšší až o 80 % a dosud tato změna nebyla spolehlivě vysvětlena (Kučerová, 2005).

Hodnoty mediánů v prvním trimestru u gravidit s trisomií 21 se mění v závislosti na gestačním týdnu, průměrná hodnota 2,15 MoM v týdnech 10.-14. byla publikována ve studii Spencera a spol. (1999). U trisomie 18 jsou však hladiny volné beta hCG snižené.

V tabulce 2, můžeme vidět, že biochemický marker volná beta podjednotka hCG spolu s nekonjugovaným estriolem mají náročnější požadavky na preanalytickou fázi. Pro analýzu je vhodné doručit tyto analyty do laboratoře do tří hodin po odběru, nejpozději však do osmi hodin. Po odběru je potřeba co nejdříve separovat sérum.

Autorka Springer (2011) uvádí, že se jedná o labilní markery i co se týče analytiky, vyskytuje se u nich problém s dosažením reprodukovatelnosti výsledků.

**Tabulka 2: Preanalytické požadavky**

Analyt	Odebíraný materiál	Stabilita séra (plazmy) +20 až 25° C	Stabilita séra (plazmy) +4 - +8°C	Změna hladiny při nedodržení preanalytiky
<b>volná <math>\beta</math> hCG</b>	Plná krev	6h	1d	↑↑
<b>hCG</b>	Plná krev	12h	3d	-
<b>AFP</b>	Plná krev	12h	7d	-
<b>volný estriol (uE3)</b>	Plná krev	6h	1d	↓↓
<b>PAPP-A</b>	Plná krev	12h	3d	-

Zdroj: ČSKB, Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství. Dostupné [http://www.cskb.cz/res/file/doporučení/2014/vvv\\_20141110.pdf](http://www.cskb.cz/res/file/doporučení/2014/vvv_20141110.pdf)

### **4.2.3 Biochemický screening II. trimestru**

Optimální dobou pro provádění biochemického screeningu II. trimestru je 16. týden těhotenství, resp. 16. – 18. týden. Pro výpočet výsledného rizika je také nutné přesné určení gestačního stáří. Vyšetřují se sérové hladiny a jejich statistické korekce (uváděné v MoM, multiples of medians) alfa-1-fetoproteinu, lidského choriového gonadotropinu a nekonjugovaného estriolu. Nekonjugovaný estriol je prováděn laboratořemi splňujícími požadavky na preanalytickou fázi tohoto analytu, jelikož patří mezi labilnější markery s velmi častou falešnou pozitivitou testů při špatném zacházení s odebranými vzorky (Calda, 2007).

#### **4.2.3.1 Alfa-1-fetoprotein**

Alfa-1-fetoprotein je glykoprotein, jehož zvýšená produkce je prokazatelná od 29. dne po početí. Je podobný albuminu (fetální albumin).

Syntéza probíhá ve žloutkovém vaku, gastrointestinálním traktu, především v játrech. Málo významná tvorba byla zjištěna také v ledvinách a v placentě. Syntéza AFP narůstá v období mezi 10. – 13. týdnem, k prudkému poklesu dochází po 16. a poté v 32. – 34. týdnu.

Snížené hodnoty AFP v mateřském séru mohou být spojovány s vyšším rizikem výskytu chromozomálních odchylek (trizomie 13, 18, 21, aberace gonozomů), poruchami vývoje plodu (např. zánik plodu, mola hydatidosa), ale také s onemocněním matky (např. inzulin-dependentní diabetes mellitus, obezita).

Zvýšené hodnoty AFP můžeme detekovat v případech, kdy dochází k jeho úniku do plodové vody a mateřského séra v místech kožního defektu plodu (např. poruchy uzávěru neurálního systému, břišní stěny, extrofie močového měchýře), komplikace gravidity, tj. poruchy vývoje plodu nebo vývoje placenty. Infekce matky (např. cytomegalová infekce, infekce parvovirem B 19) jsou také provázeny vyššími hladinami AFP. Zvýšení hladiny může způsobit i alkoholismus. Fyziologicky zvýšená syntéza je u vícečetných gravidit (Hájek a kol., 2000).



#### **4.2.3.2 Lidský choriový gonadotropin**

Lidský choriový gonadotropin patří do skupiny glykoproteinů. Je nejvýznamnějším těhotenským hormonem. Tvoří se v buňkách syncytiotrofoblastu placenty. Molekulu hCG tvoří dvě nekovalentně vázané podjednotky alfa ( $\alpha$ ) a beta ( $\beta$ ). V tělních tekutinách je přítomna intaktní molekula hCG i volné podjednotky. V prvním trimestru gravidity je poměr volné  $\beta$ -hCG/hCG přibližně 1–4 %, ve druhém a třetím trimestru tento poměr klesá na 1 %. Beta-podjednotka určuje biologickou specifitu hormonu (IMMUNOTECH, 2001).

Plazmatická hladina hCG narůstá do 11. týdne, pak prudce klesá až o 80 % a na této úrovni zůstává do konce gravidity. Obecně se předpokládá, že fyziologickou úlohou hCG v raném těhotenství je stimulace syntézy progesteronu ve žlutém tělísku. Dále se předpokládá, že hCG stimuluje produkci testosteronu v gonádách plodů mužského pohlaví a působí na kůru fetálních nadledvinek. Syntéza hCG také odráží nejen kvalitu a hmotnost trofoblastu, ale i stav průtoku krve v uteroplacentárním systému (Hájek a kol., 2000).

Zvýšené hodnoty hCG nalézáme u Downova syndromu (trisomie 21). Mohou být asociovány s intrauterinní růstovou retardací nebo zánikem plodu, hydropsem, který není podmíněný imunitně nebo chromozomální vadou, Noonanovým syndromem, hypertenzí těhotné (Hájek a kol., 2000).

Snížení hladiny hCG může být přítomno u Edwardsova syndromu (trisomie 18), u Patauova syndromu (trisomie 13), u gravidit s *abortus imminens* nebo u těhotných s diabetes mellitus I. typu (Hájek a kol., 2000).

#### **4.2.3.3 Nekonjugovaný estriol**

Nekonjugovaný estriol je jediný marker abnormálního vývoje plodu, který odráží metabolickou aktivitu fetoplacentární podjednotky. Místem syntézy jsou fetální nadledvinky, játra a placenta, kde fázovitě dochází k přeměně cholesterolu na dehydroepiandrosteron sulfát (DHEAS) a jeho hydroxylovanou formu, která se v placentě mění na estriol. Diagnosticky významná je frakce estriolu, která není vázaná na transportní protein, tzv. nekonjugovaný estriol

(uE3). Ten představuje v průběhu normálního vývoje plodu 10 % z celkového estriolu.

Snížená hodnota uE3 provází Downův syndrom plodu, hypofunkci nadledvin nebo anencefalii. Hodnoty může ovlivnit také matka nevhodným životním stylem, kouření snižuje sérové hodnoty estriolu asi o 15 %. Velmi nízké hodnoty jsou i u Smith-Lemli-Opitz syndromu (Hájek a kol., 2000; Loucký, 2012).

### **4.3 Prenatální péče o dvojčetná těhotenství**

#### **4.3.1 Včasná diagnostika**

Přední význam pro správně vedenou prenatální péči u dvojčetného těhotenství má včasná a přesná diagnostika. Zakládá se na výsledcích klinického vyšetření, např. abnormálně velká děloha, větší hmotnostní přírůstky a neobvykle zvýšené hladiny hormonů zjištěných biochemickým screeningovým testem. Do 20. týdne těhotenství jsou doporučovány návštěvy v prenatální poradně alespoň jednou za tři týdny, v období 20. - 26. týden nejlépe jednou za dva týdny a od 27. týdne jednou týdně. Tento postup je jen doporučovaný a záleží na zvyklostech lékaře. Samozřejmě v případě, že žena bude mít nějaké problémy, je důležité včas navštívit svého gynekologa (Jonášová, 2008).

#### **4.3.2 Chromozomální aberace u dvojčetných gravidit**

U dvojčetných gestací ve srovnání s těhotenstvím s jedním plodem je prenatální diagnostika chromozomálních abnormalit komplikovanější, jednak protože metody invazivního testování mohou poskytnout nejisté výsledky nebo mohou být spojeny s vyšším rizikem potratu a také se plody mohou v abnormalitě lišit.

##### **4.3.2.1 Biochemický screening I. trimestru dvojčat**

U normálních těhotenství s dvojčaty ve srovnání s jednoplodým těhotenstvím jsou střední hodnoty volné  $\beta$  podjednotky hCG a PAPP-A v séru matky s korekcí na váhu matky asi 2,0 MoM. U těhotenství dvojčat s trizomií 21 je střední hladina volné  $\beta$  hCG signifikantně vyšší a PAPP-A nižší než

u normálních dvojčat. Při falešné pozitivitě screeningu 10 % (ve srovnání s 5 % u jednoho plodu) by kombinace fetální nuchální translucence (NT) a biochemie séra matky mohla identifikovat asi 85,90 % těhotenství s trizomií 21 (Spencer, Nicolaides 2003). Chorionicita není spojena se signifikantními rozdíly v hodnotách volné  $\beta$  podjednotky hCG nebo PAPP-A v mateřském séru v prvním trimestru těhotenství.

#### **4.3.2.2 Biochemický screening II. trimestru dvojčat**

U jednoplodých těhotenství může screening na trizomii 21 pomocí kombinace věku matky a biochemie mateřského séra detekovat 50,70% případů trizomie 21 s rozsahem falešné positivity 5% (Cuckle 1998).

U dvojčetných těhotenství je střední hodnota markerů v séru matky, jako jsou AFP, hCG, volná beta podjednotka hCG a inhibin A asi dvojnásobná, ve srovnání s hodnotami u těhotenství s jedním plodem. Když se v matematickém modelu vezme v úvahu přepočtení rizika, bylo odhadnuto, že sérový screening u dvojčat může identifikovat asi 45 % postižených plodů s mírou falešné positivity 5 % (Cuckle, 1998).

I když prospektivní studie poukazují, že testování séra je efektivní, bylo by ještě třeba upřesnit následující problémy:

- a) poměrné riziko detekce s přijatelně nízkou falešnou pozitivitou, zvláště proto, že invazivní testování u dvojčetných těhotenství je technicky náročnější,
- b) při pozitivním výsledku screeningu nenajdeme žádný znak, který by naznačoval, který z plodů může být postižen,
- c) jestliže neexistuje shoda v chromozomální aberaci, další management pomocí selektivního ukončení nese zvýšené riziko ve druhém trimestru ve srovnání s prvním trimestrem (Nicolaides, Dhaifalah, 2004).

# EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

## 5. Cíle výzkumné části

1. Pomocí normálních rozdělení hodnot MoM markerů PAPP-A a volné  $\beta$  podjednotky hCG dokázat posun mezi jednočetnými graviditami a graviditami dvojčetnými.
2. Najít algoritmus, kterým, pomocí nárůstu hodnot biochemického markeru PAPP-A, lze vyslovit podezření na vícečetné těhotenství.
3. Porovnat výsledky získaného algoritmu pro biochemický marker I. trimestru PAPP-A s výsledky získané předešlým výzkumem biochemických markerů II. trimestru AFP a hCG.

## 6. Metodika výzkumného šetření

V práci byla použita data z archivů diagnostických laboratoří AeskuLab k.s., které jsou akreditované dle normy ČSN EN ISO 15189. Data pocházejí z let 2007-2017.

Jedná se o hodnoty biochemických markerů PAPP-A a free  $\beta$  hCG, především o hodnoty korigované na hmotnost matky (MoM), naměřené a přepočtené v rámci screeningu I. trimestru vrozených vývojových vad.

Hodnoty MoM biochemického markeru PAPP-A byly naměřeny u osmdesáti žen s jednočetným (příloha 1) a u osmdesáti žen s dvojčetným těhotenstvím (příloha 2).

Hodnoty MoM biochemického markeru free  $\beta$  hCG byly naměřeny v souboru pětáctyřiceti žen s jednočetným (příloha 1) a pětáctyřiceti žen s dvojčetným těhotenstvím (příloha 2).

Jedním z důvodů, proč je dat pro marker free  $\beta$  hCG pouze 45, je, že laboratoře AeskuLab, k.s., na žádost gynekologů, začlenili tento marker do screeningu I. trimestru až v roce 2012 a také screening I. trimestru podstupovalo daleko méně žen, než v posledních letech.

Kvůli nedostatečnosti dat pro marker free  $\beta$  hCG nelze tyto ze statistických důvodů použít pro druhý cíl práce. Dalším z důvodů, proč jsme data nepoužili, jsme už zmiňovali v kapitole výše. Jedná se o labilní marker a v případě nedodržení preanalytické fáze negativně ovlivňuje celý kombinovaný screening I. trimestru. A v neposlední řadě jsme chtěli udělat výzkum dostupnější pro malé laboratoře, které používají pouze biochemický marker PAPP-A.

## 6.1 Princip metody

Metoda stanovení markeru PAPP-A se provádí na plně automatizovaném imunoanalyzátoru Roche Diagnostics Cobas e411. Analyzátor je plně automatický, softwarem řízený systém pro kvantitativní i kvalitativní imunochemické analýzy. Pracuje na principu elektrochemiluminiscence (ECL). Využívá k tomu 28 analytických protokolů a kroků, které jsou předdefinovány a nemohou být operátorem změněny. Počet pipetovacích kroků, popř. příprava vzorku závisí na zvolené metodě. Jeden dávkovací cyklus trvá 42 s, výkon analyzátoru je 86 testů/hod. Řídící software provádí obousměrný přenos dat, vyhodnocení a dokumentaci výsledků kontroly kvality a vzorků. Informace o reagentech, kalibrátorech a kontrolách jsou ukládány automaticky z dvourozměrného (2D) čárového kódu, stejným způsobem je možná i identifikace vzorků. Přístroj se ovládá pomocí dotykové obrazovky. Vzorky mohou být vkládány nepřetržitě, statimové vzorky jsou zpracovávány přednostně. Reagencie (až 18 souprav v karuselu) jsou uchovávány v analyzátoru při konstantní teplotě  $20 \pm 3$  °C. Stav analyzátoru je monitorován v reálném čase (Roche Diagnostics, 2011).

### 6.1.1 Stanovení metody PAPP-A

Jedná se o sendvičový princip stanovení. Celková doba analýzy činí 18 minut. V prvním kroku dochází k inkubaci 15  $\mu$ l vzorku s biotinylovou monoklonální protilátkou proti PAPP-A a monoklonální protilátkou proti PAPP-A, značenou rutheniovým komplexem, jednotlivé protilátky reagují za tvorby sendvičového komplexu. Druhá inkubace probíhá po přidání mikročástic, potažených streptavidinem. Komplex se váže na pevnou fázi prostřednictvím interakce mezi biotinem a streptavidinem. Reakční směs je poté nasáta

do měřicí komůrky, kde jsou mikročástice zachyceny magnetickým polem na povrchu elektrody. Nenavázané složky jsou odstraněny roztokem ProCell. Přivedené napětí na elektrodě vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem. Výsledky jsou zjištěny z kalibrační křivky, která je specificky vytvořena pro přístroj dvojbodovou kalibrací, a master křivky, dodávané v čárovém kódu reagentie (Roche Diagnostics, 2016).

## **6.2 Charakteristika zkoumaného souboru**

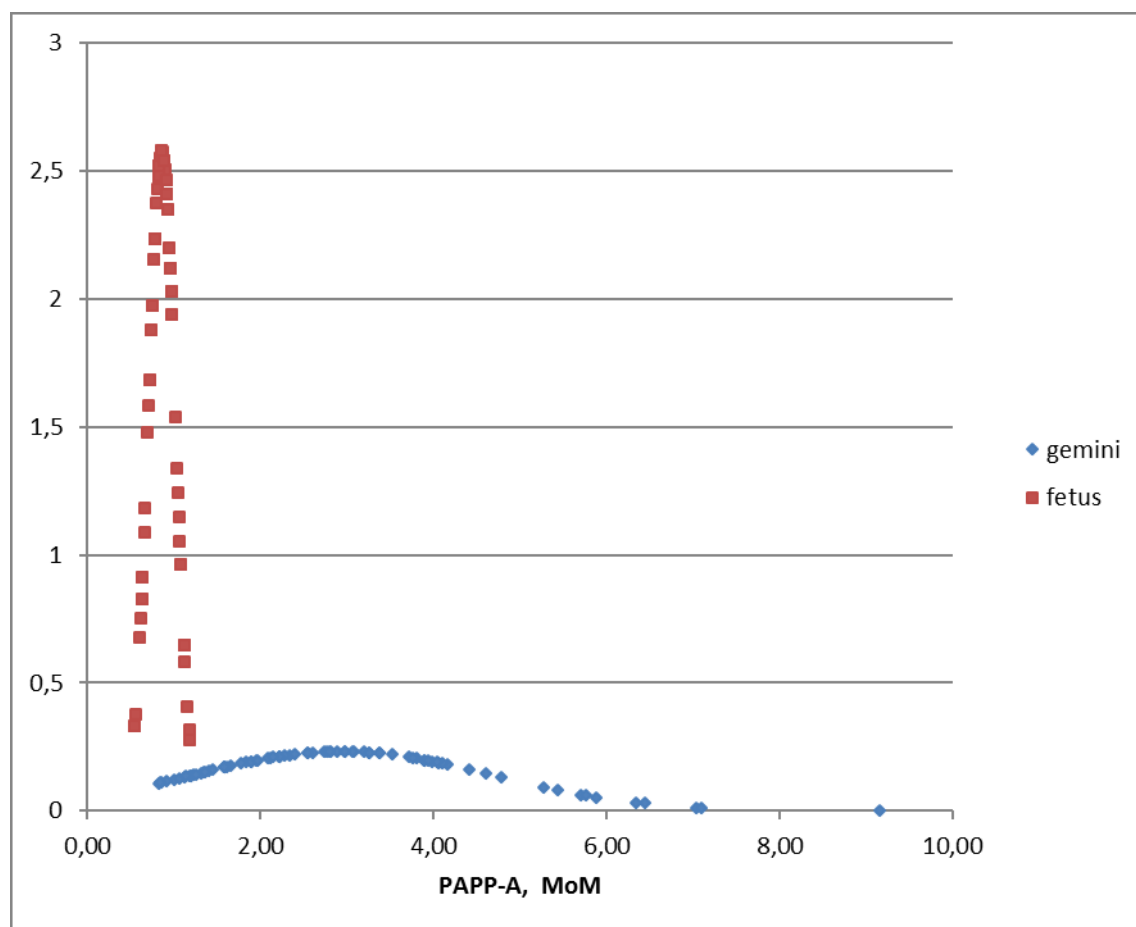
Cílovými skupinami sledovanými v práci je soubor osmdesáti žen s jedním plodem (viz příloha 1) a osmdesáti žen s dvojčaty (viz příloha 2). Jedná se o fyziologická těhotenství, nezatížená odchylkami. Skupina žen je věkově srovnatelná. Z důvodu ochrany osobních údajů jsou pacientky označeny specifickým kódem, který je tvořen dvěma písmeny – iniciály jména a dvěma čísly, kde první označuje věk matky a druhý rok screeningového vyšetření.

## VÝSLEDKY

Prvním cílem výzkumné části bylo pomocí normálních rozdělení hodnot MoM markerů PAPP-A a volné beta podjednotky hCG dokázat posun mezi jednočetnými graviditami a graviditami dvojčetnými.

Z hodnot MoM pro markery jsme vypočítali střední hodnoty a směrodatné odchylky a pomocí funkce NORM.DIST. v programu Microsoft Excel jsme následně stanovili hustoty pravděpodobností normálního rozdělení. Posléze jsme sestrojili křivky těchto hustot, kde na ose x jsou naměřené hodnoty v MoM a na ose y, hodnoty  $f(x)$ , což je hustota normálního rozdělení pro dané parametry. Křivky mají svá maxima v střední hodnotě (modus).

**Graf 2: Křivky normálního rozložení hodnot MoM pro marker PAPP-A**



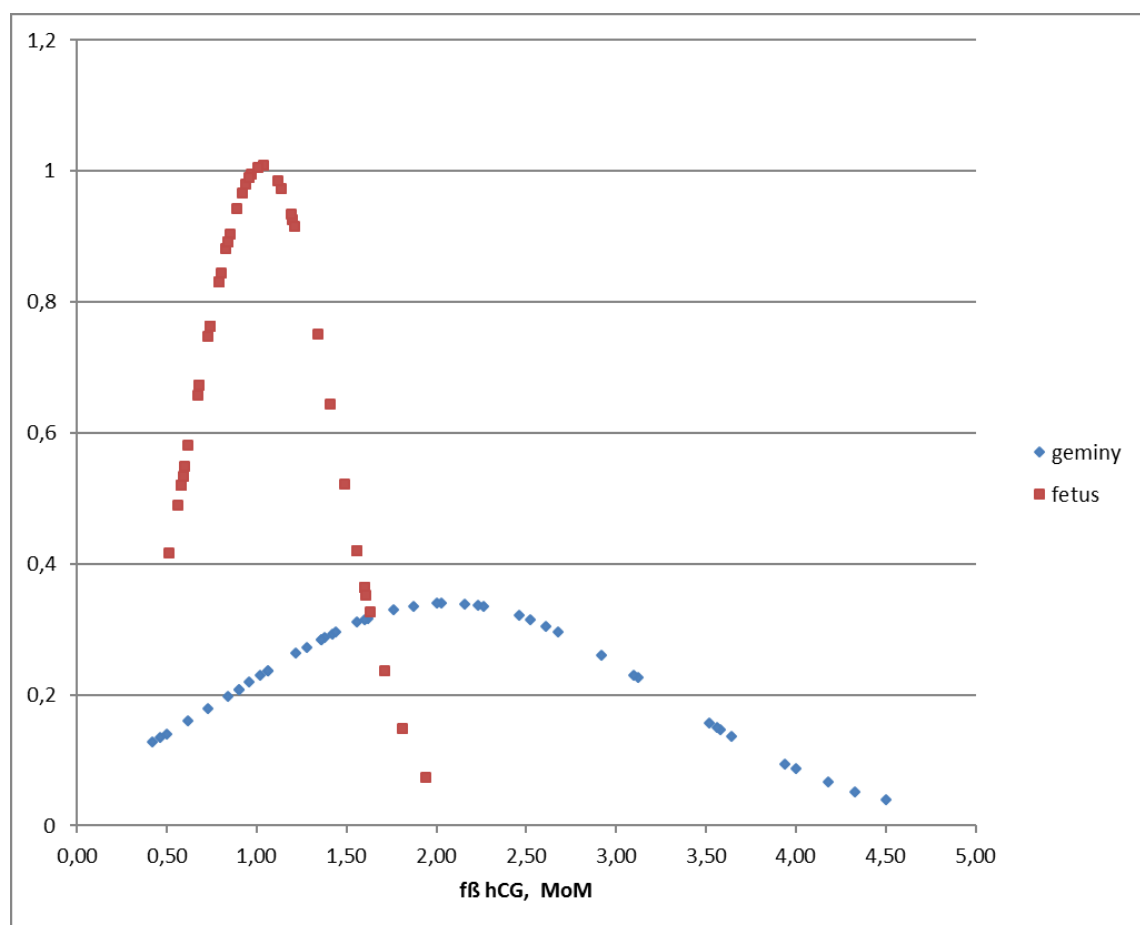
Legenda:

PAPP-A (MoM) gemini – hodnoty MoM markeru PAPP-A pro dvojčetné těhotenství

PAPP-A (MoM) fetus – hodnoty MoM markeru PAPP-A pro jednočetné těhotenství

Z grafu 2 je vidět značný posun křivek jednočetných a dvojčetných gravidit pro marker PAPP-A.

**Graf 3: Křivky normálního rozložení hodnot MoM pro marker free  $\beta$  hCG**



Legenda:

PAPP-A (MoM) gemini – hodnoty MoM markeru free beta podjednotky hCG pro dvojčetné těhotenství

PAPP-A (MoM) fetus – hodnoty MoM markeru free beta podjednotky hCG pro jednočetné těhotenství



Z grafu 3 je sice vidět posun, ale překrytí křivek je větší než u markeru PAPP-A, tudíž rozlišení jednočetných a dvojčetných gestací pomocí křivek je obtížnější.

Druhým cílem práce bylo nalézt algoritmus, kterým lze pomocí nárůstu hodnot MoM biochemického markeru PAPP-A potvrdit hypotézu, že se jedná o vícečetné těhotenství.

Data byla zpracována v programu Calc, což je vyspělý tabulkový kalkulátor (je alternativou k programu Microsoft Excel). Lze ho použít nejen pro tvorbu tabulek, ale také pro komplexní soustavy propojených dat se vzorci a funkcemi.

Bylo vyzkoušeno několik postupů a jako nejvhodnější se jevil následující. Do programu byla zadána konstantní podmínka pro výpočet, a to:

- Hodnoty násobků mediánů (MoM) markeru PAPP-A větší než 1,3

Hodnoty vyhovující pro dvojčata jsou označeny číslem jedna. Parametry vyhovující jednočetným těhotenstvím jsou označeny nulou. Pomocí zadané podmínky pak program automaticky provede výpočet u zvolených dat.

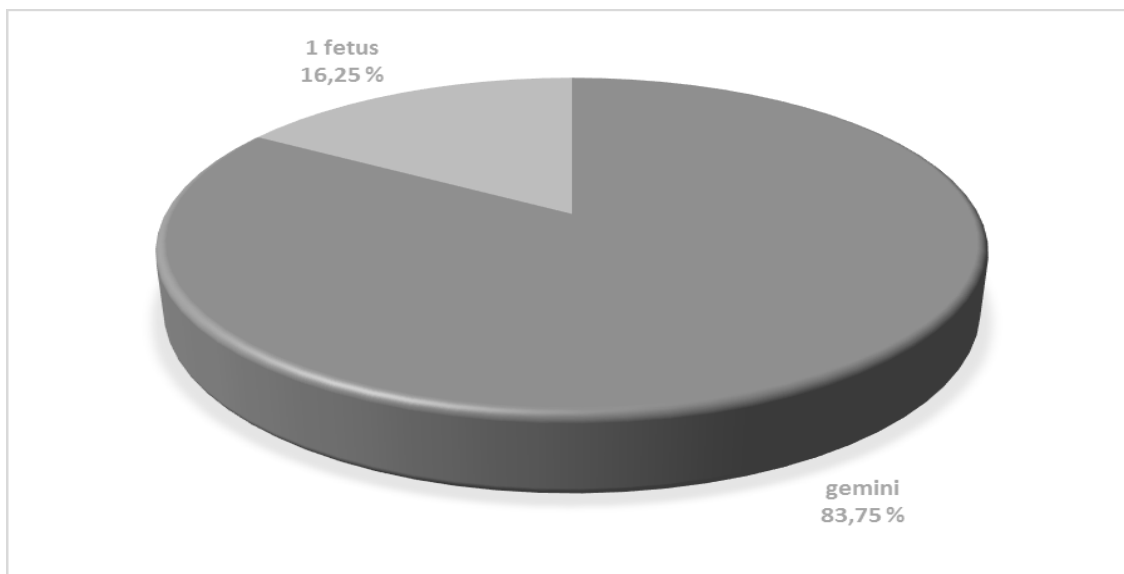
Prostřednictvím funkcí SUM a AVERAGEA jsme vygenerované výsledky vyhovující pro dvojčata sečetli a určili jejich procentuální výskyt v daném souboru.

U osmdesáti těhotných žen s dvojčetnou gestací jsme po aplikaci našeho empirického postupu našli 67 hodnot skutečně odpovídajících dvojčetným graviditám, což činí 83,75 procentní záchyt. U třinácti žen hodnoty MoM sledovaného biochemického markeru PAPP-A nespĺnily konstantní podmínku algoritmu. Z toho plyne, že 16,25 % výsledků bylo falešně negativních.

Při podmínce algoritmu pro hodnoty MoM markeru PAPP-A nebyly v souboru žen s 1 plodem nalezeny žádné falešně pozitivní výsledky.

Pro obsáhlost tabulek (viz přílohy 3 a 4) zde uvádíme pouze dosažené výsledky, interpretované graficky.

Graf 4: Percentuální zastoupení dvojčat v souboru 80 žen s dvojčetoným těhotenstvím



Třetím cílem práce bylo porovnat výsledky získaného algoritmu pro biochemický marker I. trimestru PAPP-A s výsledky získané předešlým výzkumem biochemických markerů II. trimestru AFP a hCG.

Výsledky předešlého výzkumu markerů II. trimestru AFP a hCG získané v rámci bakalářské práce „Vyhledávání vícečetných těhotenství pomocí biochemických markerů v raných stádiích gravidity“ byly:

- 78 negativních hodnot skutečně odpovídajících jednočetným graviditám v souboru osmdesáti těhotných žen s jednočetnou gestací.
- 2,5 % výsledků vykazovalo falešnou pozitivitu.
- Hodnoty vyhovující dvojčatům z celkového počtu osmdesáti žen s dvojčetoným těhotenstvím činily 78,75 %.
- Falešně negativních bylo 21,25 % výsledků.

## DISKUZE

Hájek a kol. (2004) uvádějí, že mnohočetná gravidita představuje zvýšenou zátěž pro systém perinatální péče s případnými důsledky vyšší perinatální mortality a morbidity. Klade i vyšší nároky na rodinu. Vícečetné gestace nejsou považovány za těhotenství patologické, ale jsou vedeny jako gravidity rizikové, proto vyžadují zvýšenou pozornost a péči odborníků.

Pro správnou perinatální péči má podstatný význam včasná diagnostika vícečetného těhotenství, která se opírá o výsledky klinického vyšetření. Součástí klinického vyšetření je biochemický screening.

Kolektiv autorů Springer, Loucký, Gregor a spol. (2017) uvádí, že se zvyšuje počet vyšetřených těhotných žen v prvním trimestru. V roce 2016 bylo ve II. trimestru vyšetřeno 46,6 tisíc těhotných. V I. trimestru 69,3 tisíce těhotných. A také klesá počet laboratoří, které provádí pouze druhotrimestrální test a relativně stoupá procento integrovaných testů, II. trimestrální test se dělá převážně jako součást integrovaného testu. Integrace zvyšuje počet zachycených chromozomálních aberací.

Výhody prvotrimestrálního screeningu jsou hlavně časný záchyt nejen chromozomálních aberací, ale i dalších odchylek, širší možnosti neinvazivního vyšetřování, vyšší senzitivita testu při nízké falešné pozitivitě (Springer, 2011).

Nevýhodou je, že není zatím dostupný všem. Je nutná týmová spolupráce a ne všechny ženy se dostaví včas pro screening (Springer, 2011).

Ze zmíněných důvodů jsme výzkum zaměřili právě na screeningové markery I. trimestru.

Experimentální část práce byla věnována záchytu dvojčetných těhotenství pomocí prvotrimestrálních biochemických markerů, porovnání jejich hodnot s jednočetnými graviditami, hledání algoritmu, pomocí kterého by bylo možno vyslovit podezření na vícečetné těhotenství a porovnání s dosaženými výsledky předešlého výzkumu. V práci jsme vytyčili 3 cíle:

Cíl č. 1: Pomocí normálních rozdělání hodnot MoM markerů PAPP-A a volné  $\beta$  podjednotky hCG dokázat posun mezi jednočetnými graviditami a graviditami dvojčetnými.

Domníváme se, že se nám cíl podařilo naplnit. Z grafu 2 můžeme vidět a prokázat značný posun mezi jednočetnými graviditami a graviditami dvojčetnými. V grafu 2 jsou vyneseny křivky normálního rozdělení hodnot MoM markeru PAPP-A, naměřeného v rámci screeningu I. trimestru vrozených vývojových vad osmdesáti žen s jedním plodem a osmdesáti žen s dvojčaty.

V grafu 3 je posun také viditelný, ale překrytí křivek normálního rozdělení hodnot MoM markeru volná  $\beta$  podjednotka hCG je větší než pro PAPP-A, tudíž rozlišení jednočetných a dvojčetných gestací pomocí křivek je obtížnější. Jedním z důvodů, proč posun u křivek není tak jednoznačný by mohl být ten, že na jejich tvorbu bylo použito čtyřicet pět hodnot násobků mediánu markeru free  $\beta$  hCG u žen s jednočetným těhotenstvím a čtyřicet pět hodnot u žen s dvojčetným těhotenstvím. Dat pro marker free  $\beta$  hCG je pouze 45, protože laboratoře Aeskulab, k.s., na žádost gynekologů, začlenili tento marker do kombinovaného screeningu I. trimestru až v roce 2012 a také screening I. trimestru podstupovalo daleko méně žen, než v posledních letech.

Cíl č. 2: Najít algoritmus, kterým lze pomocí nárůstu hodnot biochemického markeru PAPP-A vyslovit podezření na vícečetné těhotenství.

Předpokládáme, že se nám podařilo splnit i další vytyčený cíl experimentální části. Po vyzkoušení několika empirických postupů, byl nalezen algoritmus, kterým jsme ve sledovaném souboru osmdesáti těhotných žen s dvojčetnou gestací určili 67 hodnot skutečně odpovídajících dvojčetným graviditám. Což činilo 83,75 procentní záchyt. U třinácti žen hodnoty MoM sledovaného biochemického markeru PAPP-A nespĺnily konstantní podmínku algoritmu. Z toho plyne, že 16,25 % výsledků bylo falešně negativních.

Při podmínce algoritmu pro hodnoty MoM markeru PAPP-A nebyly v souboru žen s 1 plodem nalezeny žádné falešně pozitivní výsledky.

Cíl č. 3: Porovnat výsledky získaného algoritmu pro biochemický marker I. trimestru PAPP-A s výsledky získanými předešlým výzkumem biochemických markerů II. trimestru AFP a hCG.

Výsledky předešlého výzkumu markerů II. trimestru AFP a hCG byly získané v rámci bakalářské práce „Vyhledávání vícečetných těhotenství pomocí biochemických markerů v raných stádiích gravidity“.

Protože se nejedná o stejné soubory žen, nelze výsledky porovnat přímo. Z uvedených dat vyplývá, že výsledky dosažené po aplikaci algoritmu na hodnoty MoM markeru I. trimestru se jeví být lepšími než jak je tomu u markerů II. trimestru. V interpretaci výsledků však musíme být velice obezřetní. A to kvůli tomu, že jsme v rámci I. trimestru použili pouze marker PAPP-A, neboť marker free  $\beta$  hCG nebylo možné kvůli nedostatečnosti dat ze statistických důvodů použít. Proto jsme mohli stanovit pouze jednu podmínku algoritmu, kdežto v předešlé práci empirický postup pro markery II. trimestru AFP a hCG sestával z tří podmínek.

Přínos práce vidíme v novém pohledu na využití screeningových biochemických markerů pro záchyt vícečetných těhotenství.

V budoucnu by bylo zajímavé zpracovat data v rámci integrovaného screeningu, který představuje nejspolehlivější způsob záchytu vrozených vývojových vad.

Calda (2007) uvádí, že biochemický screening aneuploidí a rozštěpu neurální trubice u dvojčetných gravidit je problematictější než u gravidit jednočetných. Má podle některých odborníků limitovanou výpovědní hodnotu, ale nelze ho opomíjet a v některých případech je právě pomocí biochemických markerů zachyceno riziko výskytu vícečetného těhotenství.

## ZÁVĚR

Diplomová práce pojednává o vícečetných (dvojčetných) těhotenstvích.

V teoretické části jsme se věnovali výskytu a etiologii těchto gestací, komplikacemi, kterými jsou provázeny. Rozebrali jsme problematiku prenatální péče o vícečetná těhotenství, důležitost neinvazivních screeningových metod v prenatální diagnostice a popsali význam biochemických markerů – s těhotenstvím asociovaného plazmatického proteinu A (PAPP-A), lidského choriového gonadotropinu ( $\alpha+\beta$  hCG) a alfa-1-fetoproteinu (AFP), které jsou součástí biochemického screeningu vrozených vývojových vad.

Experimentální část práce vypovídala o využití hodnot MoM sledovaných biochemických markerů korigovaných na hmotnost matek. Pomocí těchto hodnot jsme dokázali posun mezi jednočetnými a dvojčetnými gestacemi.

Po aplikaci nalezeného algoritmu, jsme v sledovaném souboru dokázali v 83,75 % vícečetná těhotenství. Při podmínce algoritmu pro hodnoty MoM markeru PAPP-A nebyly v souboru žen s 1 plodem nalezeny žádné falešně pozitivní výsledky.

Dále jsme porovnali výsledky získaného algoritmu pro biochemický marker I. trimestru PAPP-A s výsledky získanými předešlým výzkumem biochemických markerů II. trimestru AFP a hCG.

Domníváme se, že cíle práce byly naplněny. Zohlednění získaných dat v běžné praxi by mohlo pomoci zkvalitnit prenatální péči o vícečetná těhotenství.

## Použité zkratky

AFP	alfa-1-fetoprotein
$\alpha$ -hCG	alfa podjednotka hCG
$\beta$ -hCG	beta podjednotka hCG
BMI	body mass index, index tělesné hmotnosti
DHEAS	dehydroepiandrosteron sulfát
DR	detection rate, detekční účinnost, senzitivita
DV	<i>ductus venosus</i> , žilní spojka přítomná v zárodečném období placentálních savců
ECL	elektrochemiluminiscence
f $\beta$ -hCG	volná (free) beta podjednotka hCG
FMF	frontomaxilo-faciální úhel
FPR	false positivity rate, falešná pozitivita
hCG	lidský choriový gonadotropin
IGFBP-4	insulin like grown factor binding protein-4, IGF-vazební bílkovina-4
IUGR	intrauterinní růstová retardace
IVF	in vitro fertilizace
MoM	multiples of median; násobky mediánu
MS-AFP	maternal serum AFP; AFP v mateřském séru
NB	nasal bone, nosní kůstka
NT	nuchální translucence, šíjové projasnění

OAPR	odds of being affected with a positive result, skutečná pozitivita
PAPP-A	specifický těhotenský plazmatický protein A
proMBP	podjednotka glykosylované proformy hlavního bazického eozinofilního proteinu
ThCG	total hCG; celkové hCG
TAPS	Twin Anemia-Polycythemia Sequence, forma TTTS
TR	trikuspidální regurgitace, zpětný tok krve- následek nedomykavosti trojcípé chlopně
TTTS	twin-to-twin transfusion syndrome; syndrom feto-fetální transfúze
uE3	unconjugated estriol; nekonjugovaný estriol
UZ	ultrazvuk
VVV	vrozené vývojové vady



## Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma vzniku dvojčat .....	5
--	---

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Porody v ČR podle četnosti (1990-2015).....	3
Tabulka 2: Preanalytické požadavky .....	16

## Seznam grafů

Graf 1: Podíl dětí narozených z vícečetných těhotenství podle věku matky při porodu, 1991-2015 (v %) .....	4
Graf 2: Křivky normálního rozložení hodnot MoM pro marker PAPP-A.....	24
Graf 3: Křivky normálního rozložení hodnot MoM pro marker free $\beta$ hCG .....	25
Graf 4: Percentuální zastoupení dvojčat v souboru 80 žen s dvojčetným těhotenstvím.....	27

## Seznam příloh

Příloha 1: Naměřené hodnoty biochemických markerů PAPP-A a volné $\beta$ hCG u těhotných žen s 1 plodem .....	40
Příloha 2: Naměřené hodnoty biochemických markerů PAPP-A a volné $\beta$ hCG u těhotných žen s dvojčaty .....	41
Příloha 3: Aplikace algoritmu u dat jednočetné gestace.....	42
Příloha 4: Aplikace algoritmu u dat dvojčetné gestace .....	43

## Použitá literatura

1. BRAMBATI, B., LAZANIA, S., TUILUI, L. Ultrasound and Biochemical Assessment of the First Trimester Pregnancy. In CHAPMAN, M., GRUDZINSKAS, JG., et al. The embryo: Normal and abnormal development and growth. London: Springer Verlag, 1991. p. 263. ISBN 978-1-4471-1804-6
2. BRAMBATI, B., TUILUI, L., BONACCHI, I. et al. Biochemical screenig for Down's syndrome in the first trimester. In GRUDZINSKAS, JG., et al. (Eds), Screening for Down's syndrome, 1994, p. 285-294.
3. CALDA, P. Ultrazvuková diagnostika v těhotenství: pro praxi. 1. vydání. Praha: Aprofema, 2007. 268 s. ISBN 978-80-903706-1-6
4. CUCKLE, H. Improved parameters for risk estimation in Down's syndrome screening. *Prenatal Diagnosis*, 1995, vol. 15, iss. 11, p. 1057–1065.
5. CUCKLE, H. Down.s syndrome screening in twins. *Journals of Medical Screening*. [online]. 1998, vol. 5, p. 3-4. DOI: 10.1136/jms.5.1.3. [cit. 2017-04-07]. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1136/jms.5.1.3>
6. ČECH, E. a kol. *Porodnictví*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2006. 554 s. ISBN 978-80-247-1303-8
7. GREGOR, V., ŠÍPEK, A., HORÁČEK, J. Prenatální diagnostika a její úspěšnost v České republice. *Prakt. Léč.* [online]. 2008, roč. 88, č. 4, s. 228-233. ISSN 1805-4544 [cit. 2017-08-01]. Dostupné z: <http://www.prolekare.cz/prakticky-lekar-clanek/prenatalni-diagnostika-a-jeji-uspesnost-v-ceske-republice-68>
8. HÁJEK, Z., KULOVANÝ, E., MACEK, M. *Základy prenatální diagnostiky*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2000. 432 str. ISBN:80-7169-391-X
9. HÁJEK, Z. a kol. *Rizikové a patologické těhotenství*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2004. 444 s. ISBN 80-247-0418-8

10. HÁJEK, Z., ČECH, E., MARŠÁL, K. a kol. *Porodnictví 3.*, zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2014. 579 s. ISBN 978-80-247-4529-9
11. HELMERHORST, FM., et al. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *The BMJ* [online]. 2004, 328, p. 261. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.37957.560278.EE> [cit. 2017-08-01]. Dostupné z: <http://www.bmj.com/content/328/7434/261>
12. HRUBAN, L., GERYCHOVÁ, R., DOSTÁLOVÁ, Z. Využití ultrazvukové diagnostiky při sledování vícečetného těhotenství, *Praktická gynekologie* [online]. 2004, roč. 2004, č. 3. ISSN 1801–8750 [cit. 2017-04-07]. Dostupné z: [http://www.prolekare.cz/pdf?ida=pg\\_04\\_03\\_01.pdf](http://www.prolekare.cz/pdf?ida=pg_04_03_01.pdf)
13. IMMUNOTECH A BECKMAN COULTER COMPANY *Screening vrozených vývojových vad v I. a II. trimestru*. 2001 Praha (infoline), s.16
14. JONÁŠOVÁ, I. *Prenatální péče a porod při vícečetném těhotenství*. Hradec Králové, 2008. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze. Lékařská fakulta v Hradci Králové.
15. KOTEROVÁ, K. Vícečetné těhotenství. *Moderní babictví* [online]. Praha: Levret, 2008, roč. 2008, č. 16, s. 5. ISSN 1214-5572 [cit. 2017-08-01]. Dostupné z: [www.levblikace/casopisy/mb/2008-16/?pdf=2](http://www.levblikace/casopisy/mb/2008-16/?pdf=2)
16. KOZUBÍKOVÁ, B. *Rizika a komplikace vícečetné gravidity v průběhu těhotenství a porodu*. Zlín, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta humanitních studií.
17. KUČEROVÁ, I. Prenatální diagnostika v I. trimestru těhotenství. *Postgraduální medicína* [online]. 2005, roč. 2005, č. 2. ISSN: 1212-4184 [cit. 2017-08-01]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/prenatalni-diagnostika-v-i-trimestru-tehotenstvi-165984>
18. KUDELA, M. *Základy gynekologie a porodnictví: pro posluchače lékařské fakulty*. 1. vydání. Olomouc: Univerzita Palackého, 2004. 273 s. ISBN 80-244-0837-6.

19. LEWI, L., CANNIE, M., BLICKSTEIN, I., et al. Placental sharing, birthweight discordance, and vascular anastomoses in monochorionic diamniotic twin placentas. *Am J Obstet Gynecol* [online] 2007, vol. 197, iss. 6, p. 587.e1–587.e8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2007.05.009> [cit. 2017-08-01] Dostupný z: [http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(07\)00621-7/fulltext](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(07)00621-7/fulltext)
20. LOUCKÝ, J. Prenatální screening vrozených vývojových vad plodu a biochemická diagnostika. *GynUltrazvuk* [online]. [cit. 2017-08-01]. Dostupný z : <http://www.gynultrazvuk.cz/data/staticky-text/1/dokumenty/raabe-16el-pln-c5-5-bez.pdf>
21. ĽUBUŠKÝ, M., KROFTA, L., VLK, R. Ultrazvuková vyšetření v průběhu prenatální péče o vícečetná těhotenství – doporučený postup ČGPS ČLS JEP. *Čes Gynekol*, 2013, 78 (2), s. 135–139. ISSN 1210-7832
22. NĚMEČKOVÁ, M. Vícečetných porodů je již méně. *Statistika a my* [online] 2016, roč. 2016, č. 11-12. ISSN 1804-7149 [cit. 2017-04-07]. Dostupný z: <http://www.statistikaamy.cz/2016/12/vicetnych-porodu-je-jiz-mene/>
23. NICOLAIDES K.H., DHAIFALAH, I.A. ed. *UZ screening v 11 – 13+6. gestačním týdnu*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2004, s. 117. ISBN 80 – 244 – 0885 – 6.
24. NOVOTNÝ, D., ADAM, T., ADAMOVÁ, K., ROUBALOVÁ, L., FELLNEROVÁ, I. Prenatální a perinatální laboratorní diagnostika: [od fyziologie k medicíně: integrace vědy, výzkumu odborného vzdělávání a praxe]. 2011, 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 60 s. ISBN 978-80-244-2913-7.
25. RACEK, J. a kol. *Klinická biochemie*. Praha: Galén 2006, s. 329. ISBN 80-7262-324-9
26. ROZTOČIL, A. a kol., 2008. *Moderní porodnictví*. Praha: Grada, ISBN 978 – 80 – 247 – 1941 – 2.
27. ROZTOČIL, A., HÁJEK, Z. Vedení porodu vícečetného těhotenství – doporučený postup. *Čes Gynekol*, 2013, 78, s. 24–25. ISSN 1210-7832

28. SPENCER, K., SOUTER, V., TUL, N., et al. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* [online] 1999, vol. 13, iss. 4, p. 231-237. DOI: 10.1046/j.1469-0705.1999.13040231.x [cit.2017-07-11]. Dostupný z: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046-j.1469-0705.1999.13040231.x/full](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1469-0705.1999.13040231.x/full)
29. SPENCER, K., NICOLAIDES KH. Screening for trisomy 21 in twins using first trimester ultrasound and maternal serum biochemistry in a one-stop clinic: a review of three years experience. *BJOG* [online] 2003; vol. 110, iss. 3, p. 276-280. DOI: 10.1046/j.1471-0528.2003.02222.x [cit. 2017-08-01]. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1471-0528.2003.02222.x/full>
30. SPRINGER, D., LOUCKÝ, J., GREGOR, V. a kol. *Současný stav biochemického screeningu chromozomálních aberací* [online] 2017 Praha: ČLS JEP [cit.2017-08-01] Dostupné z: <http://www1.lf1.cuni.cz/~dbezd/Data/kaprasuv-den-2017.pdf>
31. SPRINGER, D. *Screening VVV v I. a II. trimestru těhotenství* [online] 2011 Praha, ÚLBLD VFN a 1.LF UK [cit.2017-08-01] Dostupné z: <http://ulbld.lf1.cuni.cz/file/717/Prenat%C3%A1ln%C3%AD%20screening%20v%20t%C4%9Bhotenstv%C3%AD-Springer%20D.pdf>
32. STUDNIČKOVÁ, M., VOJTĚCH, J., VELEBIL, P. a kol. Komplikace vícečetného těhotenství. *Postgraduální medicína* [online]. 2016, roč. 18, č. 4, s. 375-380. ISSN 1212-4184 [cit.2017-04-07]. Dostupné z: <http://www.lubusky.com/clanky/103.pdf>
33. ŠÍPEK, A., GREGOR, V., HORÁČEK a kol. Zvýšené incidence vrozených vad u dvojčat aktuální data v ČR. *Neonatologické listy* [online]. 2009, roč. 15, č. 1, s. 13 – 20. ISSN 1211-1600 [cit.2017-04-07]. Dostupné z: <http://www.neonatology.cz/upload/neonatologie.web360.cz/Neolisty/neolisty20091.pdf>

34. ŠTEMBERA, Z., LANGHAMMER, P. Vývoj vrozených vývojových vad u dvojčat v ČR v mezinárodním srovnání. *Česká gynekologie* [online]. 2009, roč. 74, č. 2, s. 97-101. ISSN 1805-4455 [cit. 2017-04-07]. Dostupné z: [http://kramerius.medvik.cz/search/nimg/IMG\\_FULL/uuid:3e670fa7-69b7-11e3-93fe-d485646517a](http://kramerius.medvik.cz/search/nimg/IMG_FULL/uuid:3e670fa7-69b7-11e3-93fe-d485646517a)
35. The ESHRE Capri Workshop Group. Multiple gestation pregnancy. *Hum Reprod* [online] 2000, vol.15, iss. 8, p. 1856–1864. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/15.8.1856> [cit. 2017-04-11]. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humrep/article/15/8/1856/670875/Multiple-gestation-pregnancy>
36. VLK, R., KOMÁR, M. Význam ultrazvukového vyšetření při vícečetném těhotenství. *Moderní gynekologie a porodnictví* [online] 2008, roč. 17, č. 3, s. 336-348 ISSN 1211-1058 [cit. 2017-08-01]. Dostupné z: <http://www.levret.cz/publikace/casopisy/mgp/vol17c3/clanek?c=1>
37. VLK, R. Ultrazvuk v manažmentu dvojčat. *Moderní gynekologie a porodnictví*. 2012, roč. 21, č. 4, s. 385-400. ISBN 978-80-87070-68-0
38. ROCHE DIAGNOSTICS *Příbalový leták reagentie PAPP-A* [online]. 2016, verze 5.0, s. 4 [cit. 2017-04-17] Dostupný z: <http://objednavky.roche-diagnostics.cz/objednavky/info/04854098200p.pdf>
39. ROCHE DIAGNOSTICS *Cobas e411 imunochemický analyzátor-stolní analyzátor velkých možností* [online]. Praha, 2011 [cit. 2017-08-01] Dostupné z: [http://www.roche-diagnostics.cz/content/dam/diagnostics\\_czechrepublic/cs\\_CZ/documents/produkty/PD/cobas\\_4000/cobas%20e411\\_ceska\\_brozura.pdf](http://www.roche-diagnostics.cz/content/dam/diagnostics_czechrepublic/cs_CZ/documents/produkty/PD/cobas_4000/cobas%20e411_ceska_brozura.pdf)
40. YASMEEN, N., ALEEM, M., IQBAL, N. Maternal and fetal complications in multiple pregnancies. *Ann K Ed Med Coll*. 2006; vol. 12, no. 4, p. 512-514.

## Přílohy

### Příloha 1: Naměřené hodnoty biochemických markerů PAPP-A a volné $\beta$ hCG u těhotných žen s 1 plodem

I. trimestr - 1 fetus											
	Kod pac.	PAPP-A [IU/l]	PAPP-A (MoM)	f $\beta$ hCG [IU/l]	f $\beta$ hCG (MoM)		Kod pac.	PAPP-A [IU/l]	PAPP-A (MoM)	f $\beta$ hCG [IU/l]	f $\beta$ hCG (MoM)
1.	KŠ 24/07	1,87	1,08	-	-	41.	KT 28/13	1,09	0,77	106,80	1,60
2.	KUV 30/07	1,95	0,92	-	-	42.	ČP 34/13	2,81	0,78	47,80	1,04
3.	HZ 30/07	1,69	0,75	-	-	43.	OJ 33/13	1,50	0,83	62,00	0,97
4.	BM 35/08	1,83	0,89	-	-	44.	KZ 27/13	1,69	0,71	109,70	1,94
5.	JJ 31/08	1,21	0,63	-	-	45.	SB 30/13	1,29	0,83	113,90	1,63
6.	OD 34/08	1,57	0,70	-	-	46.	PJ 27/13	1,79	0,78	46,80	0,85
7.	GR 30/08	1,48	1,08	-	-	47.	MV 29/13	1,12	0,64	104,60	1,56
8.	ŠM 31/08	1,23	0,72	-	-	48.	ZV 32/13	1,89	1,19	27,60	0,62
9.	KD 35/08	1,25	0,78	-	-	49.	SP 30/14	2,02	0,92	91,70	1,49
10.	MK 33/08	1,08	0,78	-	-	50.	NN 34/14	1,41	0,55	28,40	0,74
11.	KA 36/08	2,10	0,82	-	-	51.	DD 27/14	1,69	0,82	24,30	0,58
12.	PP 32/09	1,17	0,72	-	-	52.	ZM 29/14	1,37	0,77	76,80	1,81
13.	KE 36/09	1,29	0,91	-	-	53.	OT 31/14	1,71	0,78	58,00	1,20
14.	BM 32/09	1,47	1,13	-	-	54.	TM 36/14	1,32	0,81	64,10	0,94
15.	FZ 31/09	1,09	0,64	-	-	55.	CM 32/14	1,71	1,12	40,30	0,74
16.	PK 29/09	1,47	1,04	-	-	56.	ŠP 34/15	1,20	0,56	44,00	0,68
17.	KJ 29/09	2,03	0,74	-	-	57.	BL 28/15	1,32	0,61	37,10	0,84
18.	NL 26/09	1,36	0,96	-	-	58.	MA 25/15	1,47	0,97	34,80	0,59
19.	TE 31/10	3,69	0,84	-	-	59.	PB 27/15	1,84	0,98	26,90	0,60
20.	PZ 34/10	1,50	0,66	-	-	60.	WT 34/15	1,46	0,98	41,70	0,73
21.	GT 32/10	2,02	0,90	-	-	61.	PG 34/15	1,33	0,67	43,80	0,79
22.	ŠS 26/10	1,74	0,90	-	-	62.	NH 24/15	1,35	0,82	108,10	1,71
23.	MH 40/10	1,09	1,05	-	-	63.	PM 34/15	1,54	0,93	71,56	1,56
24.	ČM 27/10	1,57	1,18	-	-	64.	FE 32/15	1,56	0,96	34,50	0,51
25.	GJ 32/10	1,36	1,02	-	-	65.	SL 26/15	1,23	1,12	76,30	1,12
26.	ŠZ 34/10	1,22	0,62	-	-	66.	PK 28/16	1,38	0,83	30,40	0,56
27.	PL 32/10	1,41	0,78	-	-	67.	KJ 30/16	1,54	0,95	57,40	0,92
28.	JJ 34/11	1,11	0,85	-	-	68.	VR 35/16	1,78	0,97	85,90	1,21
29.	KK 33/11	1,32	0,83	-	-	69.	TJ 28/16	1,15	0,63	83,30	1,19
30.	ŠJ 30/11	1,56	0,96	-	-	70.	MK 31/16	2,03	0,89	31,80	0,68
31.	ŽL 36/11	0,97	0,55	-	-	71.	SA 35/16	1,50	0,92	56,10	0,89
32.	ME 28/11	1,61	0,95	-	-	72.	PJ 28/16	0,98	1,07	35,20	0,67
33.	SJ 27/11	2,34	1,12	-	-	73.	PI 31/16	1,44	0,87	79,10	1,34
34.	LH 33/12	1,51	0,92	-	-	74.	BD 25/16	1,67	0,89	56,60	1,60
35.	ŠA 22/12	1,22	0,80	-	-	75.	KA 30/16	1,60	0,86	84,30	1,61
36.	RM 35/12	1,76	0,82	33,85	0,58	76.	HR 33/17	1,27	0,93	62,30	1,01
37.	TZ 29/12	2,13	0,84	67,60	1,14	77.	PN 28/17	2,11	1,16	34,49	0,79
38.	TK 33/12	1,40	0,86	44,10	0,84	78.	KM 32/14	2,91	1,06	25,93	0,74
39.	VK 30/13	1,74	0,97	56,40	0,83	79.	PK 31/17	1,65	0,74	55,52	0,96
40.	LA 31/13	1,32	0,75	88,20	1,41	80.	HE 29/17	1,50	0,91	55,24	0,80

Naměřené hodnoty jsou přepočítány softwarem ALPHA a Prisca na hodnoty MoM.

Příloha 2: Naměřené hodnoty biochemických markerů PAPP-A a volné  $\beta$  hCG u těhotných žen s dvojčaty

I. trimestr - gemini											
	Kod pac.	PAPP-A [IU/l]	PAPP-A(MoM)	$\beta$ hCG [IU/l]	$\beta$ hCG (MoM)		Kod pac.	PAPP-A [IU/l]	PAPP-A(MoM)	$\beta$ hCG [IU/l]	$\beta$ hCG (MoM)
1.	CU 32/07	2,92	2,74	-	-	41.	FJ 35/13	7,67	4,06	60,50	0,84
2.	KM 31/07	2,15	2,77	-	-	42.	KI 21/13	1,83	1,06	30,10	0,50
3.	FI 31/07	5,21	3,08	-	-	43.	VK 28/13	2,58	1,66	65,40	1,02
4.	TŠ 31/07	1,29	1,20	-	-	44.	ŠM 37/13	5,80	3,90	171,50	2,26
5.	LA 30/08	1,59	1,84	-	-	45.	MS 37/13	7,72	6,44	169,80	2,92
6.	SM 36/08	5,19	5,28	-	-	46.	HK 29/13	5,58	4,10	131,80	2,16
7.	LV 30/08	9,31	3,53	-	-	47.	TA 35/13	4,49	1,78	200,60	3,10
8.	SK 36/08	6,89	3,90	-	-	48.	NJ 35/13	6,35	2,54	49,10	1,28
9.	SA 33/08	3,22	1,96	-	-	49.	DM 27/13	4,04	3,20	51,70	1,36
10.	ŠM 30/08	1,59	1,90	-	-	50.	KM 29/13	7,00	4,60	93,10	2,03
11.	RJ 24/08	8,29	7,04	-	-	51.	DP 30/14	8,37	6,34	98,40	1,42
12.	VD 36/08	5,85	3,26	-	-	52.	KL 30/14	1,35	1,32	167,70	2,46
13.	ČB 30/09	4,91	5,88	-	-	53.	SP 33/14	0,87	0,92	35,30	0,73
14.	JR 39/09	4,78	4,78	-	-	54.	TL 34/14	1,45	1,14	37,80	0,62
15.	SL 32/09	1,87	2,81	-	-	55.	GA 30/14	1,17	0,82	42,30	0,90
16.	PS 34/09	1,74	1,18	-	-	56.	BM 29/14	2,02	1,26	64,60	1,06
17.	PA 32/09	9,28	9,16	-	-	57.	CHD 34/14	2,03	2,54	240,40	3,58
18.	VL 37/09	2,59	1,12	-	-	58.	PN 32/15	4,13	2,12	192,70	4,50
19.	JK 39/09	0,71	1,00	-	-	59.	ŘM 32/15	1,78	1,34	67,10	1,60
20.	BHL 39/10	7,40	3,99	-	-	60.	MŠ 34/15	2,20	1,45	28,80	0,46
21.	NŠ 30/10	8,17	7,10	-	-	61.	PH 38/15	3,89	2,88	53,60	1,22
22.	ŘP 31/10	3,72	3,80	-	-	62.	ŠK 28/15	3,94	4,04	324,60	3,94
23.	PD 30/10	3,95	2,60	-	-	63.	FM 35/15	11,50	5,70	95,20	1,44
24.	ML 34/10	2,74	4,16	-	-	64.	SM 34/15	8,27	5,44	295,40	4,33
25.	RA 27/10	2,94	2,22	-	-	65.	MI 34/15	2,53	1,58	102,30	1,56
26.	ŠI 45/10	5,95	1,89	-	-	66.	ZJ 31/15	3,46	1,97	188,70	4,00
27.	ŠZ 31/10	2,94	2,34	-	-	67.	GM 24/15	3,14	2,22	80,90	4,18
28.	KP 28/10	6,25	3,72	-	-	68.	JK 36/15	8,51	3,38	79,60	2,00
29.	HM 34/11	2,14	1,40	-	-	69.	SD 25/16	1,68	1,62	147,50	2,61
30.	GM 27/11	6,22	2,40	-	-	70.	EL 30/16	4,97	2,98	94,20	1,87
31.	EP 35/11	7,00	4,41	-	-	71.	PI 36/16	0,85	0,84	21,10	0,42
32.	ŠM 29/11	2,11	2,22	-	-	72.	PL 32/16	1,94	2,08	100,70	1,38
33.	MA 26/11	3,90	3,06	-	-	73.	AA 24/16	7,19	2,80	60,30	1,36
34.	BJ 29/11	5,16	3,38	-	-	74.	JK 32/16	2,72	3,26	149,30	2,68
35.	KP 31/11	1,93	1,20	-	-	75.	KL 37/16	8,21	2,15	86,60	3,56
36.	ZT 31/12	4,94	3,76	179,20	3,12	76.	HK 24/16	1,49	1,58	48,30	1,06
37.	TD 36/12	1,06	0,85	142,70	2,23	77.	ZJ 40/16	3,95	2,97	159,30	3,52
38.	JA 31/12	2,45	1,58	172,40	2,52	78.	PJ 40/16	2,69	1,36	67,20	0,96
39.	JP 30/12	1,98	1,22	59,00	0,90	79.	SM 35/17	6,07	5,76	114,70	1,76
40.	VZ 34/12	2,39	2,28	91,00	1,62	80.	SL 30/17	6,32	3,94	176,50	3,64

Naměřené hodnoty jsou přepočítány softwarem ALPHA a Prisca na hodnoty MoM.



Příloha 3: Aplikace algoritmu u dat jednočetné gestace

I. trimester - 1 fetus			
	Kod pac.	PAPP-A (MoM)	0- fetus; 1- gemini
1.	KŠ 24/07	1,08	0
2.	KUV 30/07	0,92	0
3.	HZ 30/07	0,75	0
4.	BM 35/08	0,89	0
5.	JJ 31/08	0,63	0
6.	OD 34/08	0,70	0
7.	GR 30/08	1,08	0
8.	ŠM 31/08	0,72	0
9.	KD 35/08	0,78	0
10.	MK 33/08	0,78	0
11.	KA 36/08	0,82	0
12.	PP 32/09	0,72	0
13.	KE 36/09	0,91	0
14.	BM 32/09	1,13	0
15.	FZ 31/09	0,64	0
16.	PK 29/09	1,04	0
17.	KJ 29/09	0,74	0
18.	NL 26/09	0,96	0
19.	TE 31/10	0,84	0
20.	PZ 34/10	0,66	0
21.	GT 32/10	0,90	0
22.	ŠS 26/10	0,90	0
23.	MH 40/10	1,05	0
24.	ČM 27/10	1,18	0
25.	GJ 32/10	1,02	0
26.	ŠZ 34/10	0,62	0
27.	PL 32/10	0,78	0
28.	JJ 34/11	0,85	0
29.	KK 33/11	0,83	0
30.	ŠJ 30/11	0,96	0
31.	ŽL 36/11	0,55	0
32.	ME 28/11	0,95	0
33.	SJ 27/11	1,12	0
34.	LH 33/12	0,92	0
35.	ŠA 22/12	0,80	0
36.	RM 35/12	0,82	0
37.	TZ 29/12	0,84	0
38.	TK 33/12	0,86	0
39.	VK 30/13	0,97	0
40.	LA 31/13	0,75	0
41.	KT 28/13	0,77	0
42.	ČP 34/13	0,78	0
43.	OJ 33/13	0,83	0
44.	KZ 27/13	0,71	0
45.	SB 30/13	0,83	0
46.	PJ 27/13	0,78	0
47.	MV 29/13	0,64	0
48.	ZV 32/13	1,19	0
49.	SP 30/14	0,92	0
50.	NN 34/14	0,55	0
51.	DD 27/14	0,82	0
52.	ZM 29/14	0,77	0
53.	OT 31/14	0,78	0
54.	TM 36/14	0,81	0
55.	CM 32/14	1,12	0
56.	ŠP 34/15	0,56	0
57.	BL 28/15	0,61	0
58.	MA 25/15	0,97	0
59.	PB 27/15	0,98	0
60.	WT 34/15	0,98	0
61.	PG 34/15	0,67	0
62.	NH 24/15	0,82	0
63.	PM 34/15	0,93	0
64.	FE 32/15	0,96	0
65.	SL 26/15	1,12	0
66.	PK 28/16	0,83	0
67.	KJ 30/16	0,95	0
68.	VR 35/16	0,97	0
69.	TJ 28/16	0,63	0
70.	MK 31/16	0,89	0
71.	SA 35/16	0,92	0
72.	PJ 28/16	1,07	0
73.	PI 31/16	0,87	0
74.	BD 25/16	0,89	0
75.	KA 30/16	0,86	0
76.	HR 33/17	0,93	0
77.	PN 28/17	1,16	0
78.	KM 32/14	1,06	0
79.	PK 31/17	0,74	0
80.	HE 29/17	0,91	0

Gemini celkem:	0
	- %

Výsledky jsou vygenerovány programem podle zadaného algoritmu.

Příloha 4: Aplikace algoritmu u dat dvojčetné gestace

I. trimestr - gemini			
	Kod pac.	PAPP-A (MoM)	0 - fetus; 1- gemini
1.	CU 32/07	2,74	1
2.	KM 31/07	2,77	1
3.	FI 31/07	3,08	1
4.	TŠ 31/07	1,20	0
5.	LA 30/08	1,84	1
6.	SM 36/08	5,28	1
7.	LV 30/08	3,53	1
8.	SK 36/08	3,90	1
9.	SA 33/08	1,96	1
10.	ŠM 30/08	1,90	1
11.	RJ 24/08	7,04	1
12.	VD 36/08	3,26	1
13.	ČB 30/09	5,88	1
14.	JR 39/09	4,78	1
15.	SL 32/09	2,81	1
16.	PS 34/09	1,18	0
17.	PA 32/09	9,16	1
18.	VL 37/09	1,12	0
19.	JK 39/09	1,00	0
20.	BHL 39/10	3,99	1
21.	NŠ 30/10	7,10	1
22.	ŘP 31/10	3,80	1
23.	PD 30/10	2,60	1
24.	ML 34/10	4,16	1
25.	RA 27/10	2,22	1
26.	ŠI 45/10	1,89	1
27.	ŠZ 31/10	2,34	1
28.	KP 28/10	3,72	1
29.	HM 34/11	1,40	1
30.	GM 27/11	2,40	1
31.	EP 35/11	4,41	1
32.	ŠM 29/11	2,22	1
33.	MA 26/11	3,06	1
34.	BJ 29/11	3,38	1
35.	KP 31/11	1,20	0
36.	ZT 31/12	3,76	1
37.	TD 36/12	0,85	0
38.	JA 31/12	1,58	1
39.	JP 30/12	1,22	0
40.	VZ 34/12	2,28	1
41.	FJ 35/13	4,06	1
42.	KI 21/13	1,06	0
43.	VK 28/13	1,66	1
44.	ŠM 37/13	3,90	1
45.	MS 37/13	6,44	1
46.	HK 29/13	4,10	1
47.	TA 35/13	1,78	1
48.	NJ 35/13	2,54	1
49.	DM 27/13	3,20	1
50.	KM 29/13	4,60	1
51.	DP 30/14	6,34	1
52.	KL 30/14	1,32	1
53.	SP 33/14	0,92	0
54.	TL 34/14	1,14	0
55.	GA 30/14	0,82	0
56.	BM 29/14	1,26	0
57.	CHD 34/14	2,54	1
58.	PN 32/15	2,12	1
59.	ŘM 32/15	1,34	1
60.	MŠ 34/15	1,45	1
61.	PH 38/15	2,88	1
62.	ŠK 28/15	4,04	1
63.	FM 35/15	5,70	1
64.	SM 34/15	5,44	1
65.	MI 34/15	1,58	1
66.	ZJ 31/15	1,97	1
67.	GM 24/15	2,22	1
68.	JK 36/15	3,38	1
69.	SD 25/16	1,62	1
70.	EL 30/16	2,98	1
71.	PI 36/16	0,84	0
72.	PL 32/16	2,08	1
73.	AA 24/16	2,80	1
74.	JK 32/16	3,26	1
75.	KL 37/16	2,15	1
76.	HK 24/16	1,58	1
77.	ZJ 40/16	2,97	1
78.	PJ 40/16	1,36	1
79.	SM 35/17	5,76	1
80.	SL 30/17	3,94	1

Gemini celkem:	67
	83,75 %