



LABOR AKTUELL SPECIAL

rok 2020

Časopis pro klienty Roche Diagnostics v České a Slovenské republice



Péče o matku a dítě

Vážení přátelé,

do rukou se vám dostává speciální vydání časopisu Labor Aktuell, které jsme se rozhodli věnovat tématům z oblasti perinatologie a prenatalní diagnostiky.

Jednotlivé články od předních českých odborníků jsou věnovány problematice preeklampsie, neinvazivnímu testování vrozených vývojových vad plodu a dalším komplikacím, které mohou nastat u novorozence či těhotné ženy.

„U preeklampsie se v současné době nabízí jednotná strategie propojení prvotrimestrálního screeningu s vhodnými strategiemi druhého a třetího trimestru.“

prof. MUDr. Pavel Calda, CSc.

„Efektivita NIPT v rámci screeningu fetálních aneuploidií je vysoká a dosahuje lepších výsledků než standardní rutinně používané vyhledávací testy.“

prof. MUDr. Ladislav Krofta, CSc., MBA

„Klinické znaky novorozenecké sepse jsou převážně u předčasně narozených novorozenců značně nespecifické, proto je třeba využít a hlavně umět správně interpretovat laboratorní markery.“

MUDr. Anna Baštan, RNDr. Jitka Prošková

„Recentní práce ukazují, že neonatální výsledky jsou lepší, je-li management předčasného odtoku plodové vody před termínem porodu individualizován na podkladě informací o přítomnosti či absenci zanětlivých a infekčních komplikací v amniální dutině.“

prof. MUDr. Marian Kacerovský

Věříme, že se vám obsah tohoto LA Speciálu bude líbit a inspirovat vás v každodenní péči o těhotné.

Na webu časopisu Labor Aktuell www.labor-aktuell.cz můžete najít další zajímavé články z oboru gynekologie.

Přejeme vám příjemné čtení,
redakce časopisu Labor Aktuell



„Matka je nádherná bytost, která, jak někdo řekl, nosí dítě devět měsíců ve svém lůně, dva roky v náručí a celý život v srdci.“

Manuel Fernando Silva

OBSAH

PREEKLAMPSIE

Vyhledávání, prevence a diagnostika preeklampsie

prof. MUDr. Pavel Calda, CSc.

4

Preeklampsie – zkušenosti s vyšetřováním sFLT-1 a PIGF na GPK FN Plzeň

MUDr. Michal Kozeroický

10

Komplexní management preeklampsie

doc. MUDr. Tomáš Binder, CSc.

13

NEINVAZIVNÍ PRENATÁLNÍ TESTOVÁNÍ

Neinvazivní prenatální test fetálních aneuploidí

doc. MUDr. Ladislav Krofta, CSc., MBA

17

Harmony® Prenatal Test – neinvazivní prenatální test

Ing. Jaroslav Vohánka, Ph.D., MBA

24

NOVOROZENECKÁ SEPSE A DALŠÍ KOMPLIKACE

Možnosti laboratorní diagnostiky novorozenecké sepse

MUDr. Anna Baštan, RNDr. Jitka Prošková

26

Novorozenecká sepsa pohledem patologa

MUDr. Marta Ježová, Ph.D.

32

Předčasný odtok plodové vody před termínem porodu

prof. MUDr. Marian Kacerovský, Ph.D., doc. MUDr. Ivana Kacerovská-Musilová, Ph.D.

34





Preeklampsie je těhotenské multisystémové onemocnění a jedna ze závažných příčin morbidity a mortality matek a dětí.¹ Postihuje asi 2–5 % těhotenství.^{2,3} Etiologie je stále neznámá, i když v posledních letech se rozsah vědomostí o patofyziologii tohoto stavu významně zlepšil. Dříve se za preeklampsii považovaly stavy s výskytem vysokého krevního tlaku a proteinurií ve druhé polovině těhotenství. ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) byla první odbornou společností, která v roce 2013 průkopnický definici preeklampsie změnila.⁴ Za preeklampsii začala považovat i stavy spojené s hypertenzí bez proteinurie, následované známkami hematologickými (trombocytopenie), hepatologickými (zvýšení AST, ALT) či neurologickými (např. oční změny) nebo plicními (plicní edém). V roce 2018 přijala tuto rozšířenou definici i FIGO (Mezinárodní federace gynekologů a porodníků).⁵ Kromě funkčních parametrů zmíněných ACOG lze preeklampsii definovat také tehdy, pokud u nového výskytu hypertenze v těhotenství dochází k růstové restrikci plodu (IUGR). Placentární komponenta hraje zřejmě významnou roli v etiologii preeklampsie, takže proto lze samotnou kombinaci hypertenze a IUGR již považovat za projevy preeklampsie.⁶

Vyhledávání, prevence a diagnostika preeklampsie

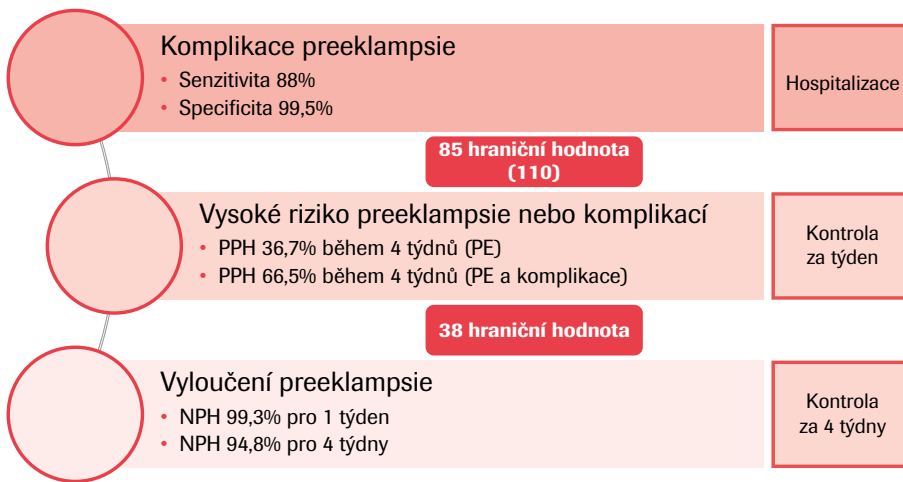
prof. MUDr. PAVEL CALDA, CSc.

Centrum fetální medicíny a ultrazvukové diagnostiky,
Gynekologicko-porodnická klinika 1. lékařské fakulty UK a VFN v Praze

Z výše uvedeného vyplývá, že proteinurie již není pro definici preeklampsie nutná. Tato informace se objevila i v doporučeních Německé společnosti pro gynekologii a porodnictví (DGGG). Nově byly také uznány výhody nových biomarkerů.

Pokud se k hypertenzi přidá změna sérových angiogenních faktorů, lze tento stav považovat za preeklampsii. Již dříve provedené prospektivní studie ukázaly, že poměr sFlt-1/PlGF může pomoci ke správnému stanovení diagnózy v případě nejasné, klinicky přítomné hypertenze. Tímto způsobem lze diagnózu časné preeklampsie stanovit s 89% senzitivitou a 95% specificitou, při hraniční hodnotě poměru 85. Pokud pracujeme s hraniční hodnotou 38, dosáhneme negativní prediktivní hodnoty 99,3 % pro vyloučení vzniku preeklampsie po dobu 7 příštích dnů a 36,7 % během příštích





▲ Graf č. 1: Schéma použití poměru sFlt-1/PlGF v klinické praxi

4 týdnů. V klinické praxi lze v diferenciální diagnostice hypertenzních stavů v těhotenství použít graf s hraničními hodnotami 38 a 85 (viz graf č. 1).

Schéma použití poměru sFlt-1/PlGF v klinické praxi – komentář ke grafu č. 1

Hraniční hodnoty vychází z výsledků studie PROGNOSIS.¹³ Preeklampsie může být vyloučena s vysokou jistotou po dobu jednoho až čtyř týdnů, pokud poměr sFlt-1/PlGF nepřesáhne 38, kontrola by měla proběhnout do 4 týdnů. Pokud je u klinického podezření na preeklampsii hodnota poměru sFlt-1/PlGF 38–85, hrozí vysoké riziko rozvoje preeklampsie během následujících 4 týdnů. Asi u jedné ze 3 těhotných se v následujících 4 týdnech rozvine preeklampsie a ve stejném období je pravděpodobnost asi 66 %, že se rozvine preeklampsie a/nebo alespoň jedna z komplikací. V tomto případě se doporučuje kontrola v týdenním intervalu. Při překročení mezní hodnoty 85 hrozí

vysoké riziko časného výskytu komplikací preeklampsie. Za preeklampsii lze považovat již zvýšený krevní tlak v kombinaci se zvýšeným poměrem sFlt-1/PlGF nad 85.

Pokroky v diagnostice a prevenci preeklampsie

V posledních letech se podařilo zavést screening v prvním trimestru, jakož i predikci a diagnostiku pomocí nových laboratorních markerů ve druhém a třetím trimestru těhotenství.

Rozsáhlé studie prokázaly, že v prvním trimestru lze vyhledat těhotné, u kterých se ve druhé polovině těhotenství rozvine časná preeklampsie. Využívá se k tomu kombinace anamnestických údajů, hodnot středního arteriálního tlaku matky, indexu pulzatility uterinních arterií a angiogenních markerů.^{7,8,9} Podávání nízkých dávek aspirinu rizikovým těhotným vybraným právě tímto postupem významně snižuje výskyt časně preeklampsie. Na predikci rozvoje pozdní preeklampsie

po 37. týdnu má prvotrimestrální screening jen malý vliv.^{10,11} Zdá se, že pomocí angiogenních markerů a identifikací dalších rizikových faktorů během druhého a třetího trimestru těhotenství se podaří zlepšit i diagnostiku a management této formy preeklampsie.^{12,13}

Kombinace anamnézy, biofyzikálních faktorů a biochemie jako součást algoritmu FMF je optimální pro prvotrimestrální screening časně preeklampsie u všech těhotných. PAPP-A v rámci screeningu preeklampsie, nikoliv aneuploidii, má smysl vyšetřovat, resp. zařadit do algoritmu, pokud se nevyšetřuje PlGF. Těhotným s pozitivním prvotrimestrálním screeninem na preeklampsii, tedy těm s vysokým rizikem, by mělo být doporučeno podávání kyseliny acetylsalicylové v dávce 100–150 mg denně až do 36. týdne těhotenství. Užívání by mělo být zahájeno ihned po identifikaci vysokého rizika preeklampsie, ale nejpozději před 16. týdnem těhotenství. Užívat by se měl nepřetržitě, každý den večer. Preventivní podávání kyseliny acetylsalicylové všem těhotným není doporučeno.¹⁴

V současné době není jednotná strategie propojení prvotrimestrálního screeningu s vhodnými strategiemi druhého a třetího trimestru.

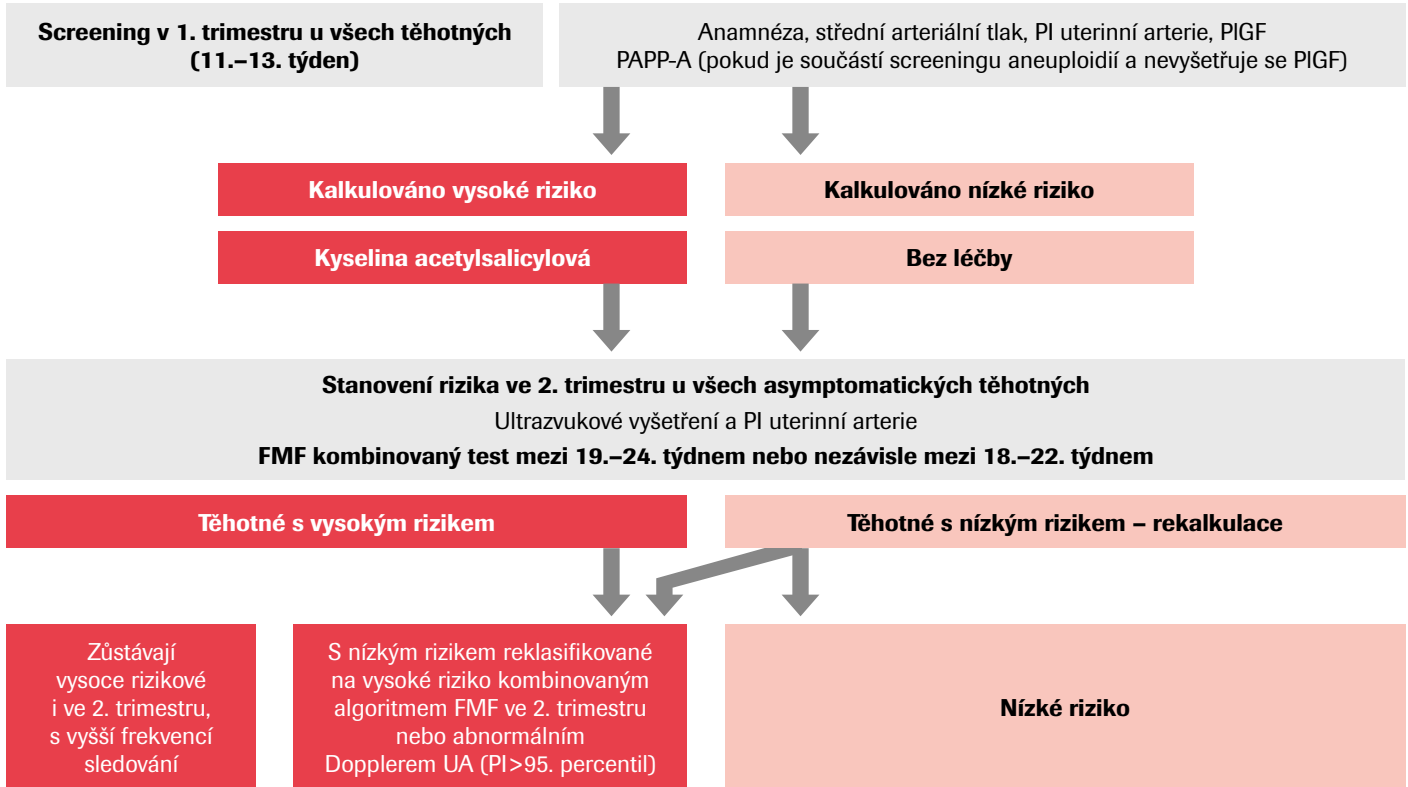
V roce 2003 bylo poprvé prokázáno, že u těhotných s preeklampsií jsou zvýšené sérové hladiny VEGF receptoru 1 a sFlt-1.¹⁵ Důležité bylo zjištění, že placentární exprese sFlt-1 je zvýšená a v séru měřitelná ještě před nástupem symptomů preeklampsie. Naproti tomu hladiny cirkulujícího PlGF jsou sniženy.

Seznam zkratk

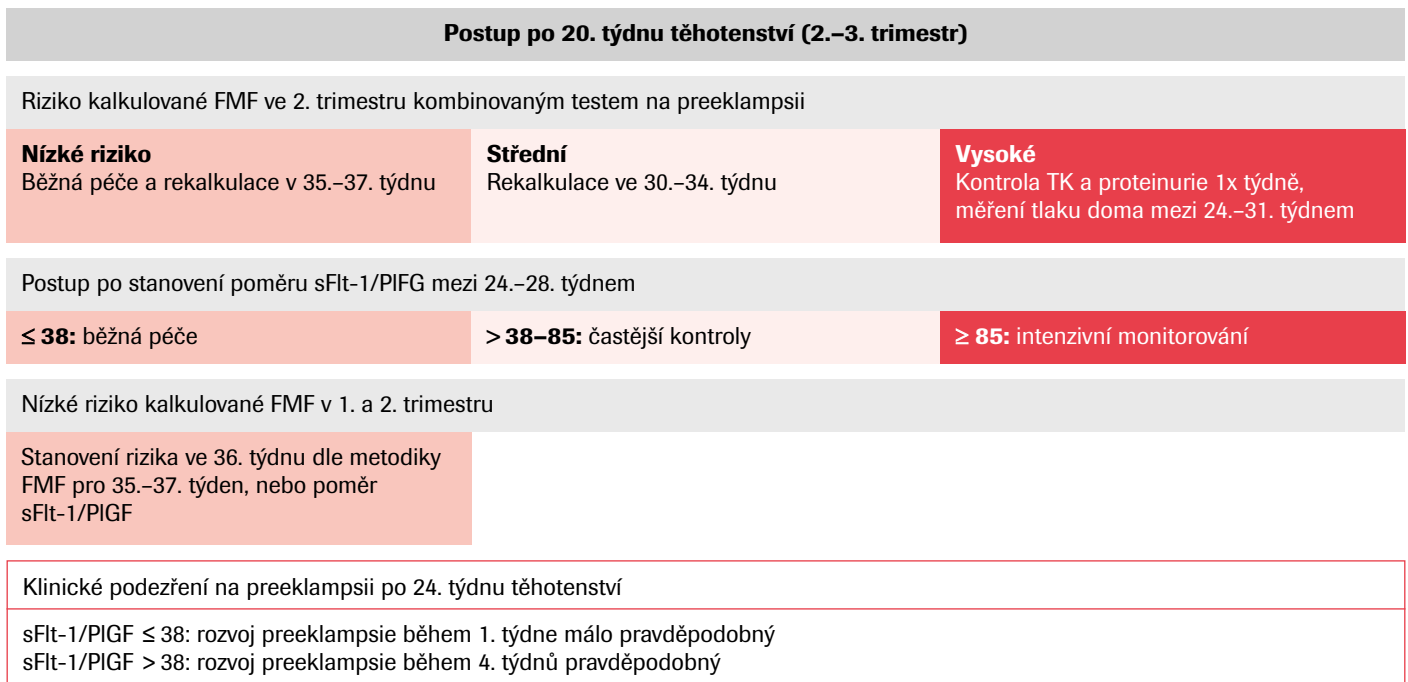
ALT – Alanin transamináza; **AST** – Aspartát aminotransferáza; **CI** – Confidence interval, interval spolehlivosti; **DGGG** – Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe; **FIGO** – Fédération Internationale de Gynécologie et d’Obstétrique, International Federation of Gynecology and Obstetrics; **FMF** – Fetal Medicine Foundation, nadace fetální medicíny se sídlem v Londýně; **HELLP** – Hemolysis Elevated Liver enzymes and Low Platelets; **IUGR** – Intra uterine growth restriction, intrauterinní růstová restrikce plodu; **NPH** – Negativní prediktivní hodnota; **PAPP-A** – Pregnancy-associated plasma protein A; **PE** – Preeklampsie; **PlGF** – Placental growth factor, placentární růstový faktor; **PPH** – Pozitivní prediktivní hodnota; **sFlt-1** – Soluble fms-like tyrosine kinase-1; rozpustná fms podobná tyrosinová kináza 1.



KLINICKÁ HODNOTA DIAGNOSTIKY



▲ Graf č. 2: Screening a management preeklampsie v průběhu těhotenství (první část). Volně podle L.C. Poon, S. Verlohren et al. From first-trimester screening to risk stratification of evolving pre-eclampsia in the second and third trimesters of pregnancy: a comprehensive approach. UOG 2019, doi: 10.1002/uog.21869



▲ Graf č. 3: Screening a management preeklampsie v průběhu těhotenství (druhá část). Volně podle L.C. Poon, S. Verlohren et al. From first-trimester screening to risk stratification of evolving pre-eclampsia in the second and third trimesters of pregnancy: a comprehensive approach. UOG 2019, doi: 10.1002/uog.21869



Podářilo se prokázat, že poměr sFlt-1/PlGF lze použít pro diagnostiku, predikci a prognózu preeklampsie.^{16,17} Následně byly vyhodnoceny automatizované testy pro použití v klinické praxi a byly stanoveny standardní rozsahy a hodnoty separace. S hraniční hodnotou poměru sFlt-1/PlGF 85 lze diagnostikovat časnou preeklampsii <34 + 0 týdnů s citlivostí 89 % a specificitou 97 %. Hraniční hodnota 85 není překročena u těhotných s jinými hypertenzními poruchami, u kterých se nevyvine preeklampsie a ani s ní spojené komplikace. U těhotenské hypertenze a u žen s chronickou hypertenzí nedochází k významnému zvýšení tohoto poměru. Dále se podařilo prokázat, že optimální mezní hodnota pro diagnózu preeklampsie po 34. týdnu těhotenství odpovídá hodnotě poměru sFlt-1/PlGF 110. Dvoufázovým měřením lze dosáhnout citlivosti až 88 % se specificitou až 99,5 %, a tak umožnit spolehlivou diagnózu preeklampsie.^{18,19,20}

Posouzení rizik by mělo být provedeno ve druhém a třetím trimestru bez ohledu na výsledky screeningu v prvním trimestru. Dopplerovské měření v uterinních arteriích se provádí mezi 18. a 22. týdnem těhotenství. U asymptomatických žen považovaných za vysoce rizikové pro rozvoj preeklampsie buď na základě screeningu v prvním trimestru, nebo na základě dopplerovského měření uterinní arterie mezi 18. a 22. týdnem lze vyšetřit poměr sFlt-1/PlGF již mezi 24.–28. týdnem těhotenství. Alternativně je možné kombinovat měření v uterinních arteriích mezi 19. a 24. týdnem s dalšími vyšetřeními, včetně mateřského krevního tlaku, a angiogenními biomarkery. Toto hodnocení lze opakovat mezi 30. a 34. a 35. a 37. týdnem těhotenství, v závislosti na výši rizika. Opětovné posouzení rizika by mělo být provedeno u všech těhotných po 36. týdnu těhotenství, bez ohledu na předchozí klasifikaci rizika. To lze provést pomocí měření poměru sFlt-1/PlGF nebo použitím kombinovaného algoritmu ve 35.–37. týdnu

Kdy vyslovit klinické podezření na PE a vyšetřit sFlt-1/PlGF?

- Opakované zvýšení krevního tlaku nebo již existující hypertenze po 20. týdnu.
- Trombocytopenie, zvýšené hodnoty jaterních testů jinak nevysvětlitelné.
- Intrauterinní růstová restrikce.
- Pozitivní screening na preeklampsii v 1. trimestru.
- Klinické podezření na preeklampsii.
- Poměr sFlt-1/PlGF nenahrazuje základní diagnostiku preeklampsie, tj. měření krevního tlaku, stanovení proteinurie.
- Další laboratorní vyšetření či sledování plodu ultrazvukem a kardiokografem.

V jakém stáří plodu vyšetřovat sFlt-1/PlGF?

- Stanovení má smysl až po 20. týdnu těhotenství, ale ideálně až po 24 + 0 týdnů.
- Měření je možné do porodu, ale klinický význam je především do 37. týdne gravidity.

Jak často vyšetřovat sFlt-1/PlGF?

- Při podezření na PE a hodnotě poměru <38 by se měla kontrola provádět jednou za 4 týdny až do 38. týdne těhotenství. Při překročení hraniční hodnoty je potřeba intervaly zkrátit.

Jaký je vztah sFlt-1/PlGF k HELLP laboratorním vyšetřením?

- U každé ženy s podezřením na HELLP by se měl současně vyšetřit poměr sFlt-1/PlGF
- Tento poměr nemůže nahradit obvyklé vyšetření na HELLP.

Kdy je třeba odeslat pacientku ke sledování v perinatálním centru?

- Při hodnotách sFlt-1/PlGF nad 85 není ambulantní sledování vhodné a současně je třeba rozhodnout o eventuální hospitalizaci.

těhotenství. Vysoké riziko preeklampsie stanovené prvotrimestrálním screenin- gem platí pro celé těhotenství. Těhotné, které byly původně v 1. trimestru klasifikovány jako nízkorizikové a u nichž byly mezi 18. a 22. týdnem naměřeny abnormální hodnoty průtoků v uterinní arterii (PI > 95. percentil) nebo které byly dodatečně klasifikovány jako vysoce rizikové pomocí screeningu algoritmem FMF pro 19.–24. týden, by měly být následně reklasifikovány jako vysoce rizikové a sledovány odpovídajícím způsobem.

U těhotných s klinickým podezřením na preeklampsii a nízkými hodnotami poměru sFlt-1/PlGF lze vyloučit nástup preeklampsie během příštích 7 dnů. NPH (negativní prediktivní hodnota) poměru

sFlt-1/PlGF ≤38 pro výskyt PE v průběhu jednoho týdne je 99,3 % (při 95% intervalu spolehlivosti [CI] 97,9–99,9 %). Poměr sFlt-1/PlGF ≤38 vylučuje výskyt dalších komplikací během jednoho týdne také s vysokou spolehlivostí (NPH 98,5 %, CI 96,9–99,5 %). U hodnot nad 38 riziko preeklampsie a souvisejících komplikací stoupá. PPH (pozitivní prediktivní hodnota) poměru sFlt-1/PlGF >38 byla 36,7 % (CI 28,4–45,7 %). U jedné ze tří žen s klinickým podezřením a zvýšeným kvocientem se tedy v následujících 4 týdnech objeví preeklampsie. PPH komplikací souvisejících s preeklampsii při poměru sFlt-1/PlGF >38 je 65,5 % (CI 56,3–74 %). U dvou ze tří žen s poměrem sFlt-1/PlGF >38 se tedy do čtyř týdnů rozvine preeklampsie a/nebo související komplikace.



Nástup PE a komplikací lze predikovat i mezi 24 + 0 a 36 + 6 týdnů těhotenství.

Týká se těhotných:

- s nově vzniklou hypertenzí nebo zhoršením již existující hypertenze;
- s bolestmi hlavy a/nebo horní části břicha;
- s významnými otoky nebo náhlým přírůstkem hmotnosti;
- s patologickým dopplerovským vyšetřením plodu v souvislosti s placentární dysfunkcí (IUGR).

Při manifestní preeklampsii, eklampsii nebo HELLP syndromu nepřináší vyšetření poměru sFlt-1/PlGF další informace, a proto v těchto jasných případech již není přínosem. Současné není stanovení sFlt-1/PlGF možné považovat za screeningové vyšetření preeklampsie ve druhém trimestru a nemělo by se používat u všech těhotných žen.

Dále bylo prokázáno, že střední délka doby zbývajícího těhotenství u žen s poměrem sFlt-1/PlGF >38 je 17 dní ve srovnání s 51 dny u žen s hodnotou ≤38.²¹ Zvláštní pozornost by měla být věnována také opakovaným vyšetřením: u těhotných s rychlým nárůstem hodnot během 2 a 3 týdnů je signifikantně vyšší pravděpodobnost vzniku preeklampsie nebo souvisejících komplikací. Ve skupině pacientek s preeklampií je průměrné zvýšení poměru sFlt-1/PlGF mezi dvěma měřeními do 2 týdnů 31,2, zatímco u pacientek bez preeklampsie je to pouze 1,45.²²



Závěry pro praxi

Kombinace anamnézy, biofyzikálních faktorů a biochemie jako součást algoritmu FMF je optimální pro prvotrimestrální screening časné preeklampsie u všech těhotných. Preventivní podávání kyseliny acetylsalicylové těhotným s vysokým rizikem rozvoje časné preeklampsie snižuje významně rozvoj onemocnění před 32. týdnem těhotenství. Užívání kyseliny acetylsalicylové by mělo být zahájeno nejpozději před 16. týdnem těhotenství. Preventivní podávání kyseliny acetylsalicylové všem těhotným není doporučeno. V současné době se nabízí jednotná strategie propojení prvotrimestrálního screeningu s vhodnými

strategiemi druhého a třetího trimestru. Stanovení poměru sFlt-1/PlGF ve druhé polovině těhotenství se stalo nepostradatelným diferenciativním diagnostickým vyšetřením v klinické praxi. Umožňuje rychle a efektivně vyloučit preeklampsii u žen s hypertenzí, u kterých je klinické podezření na preeklampsii, a predikovat těhotenské komplikace, které jsou způsobeny placentární dysfunkcí. Naměřené hodnoty poměru sFlt-1/PlGF či jeho dynamika umožňují včas reagovat na hrozící rozvoj preeklampsie a poskytují informace o možnostech prodloužení těhotenství. Výsledky vyšetření umožňují modifikovat sledování těhotných, zejména se bezpečně rozhodnout o možnosti ambulantního sledování.



Profesor MUDr. Pavel Calda, CSc., ISUOG fellow

Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN Apolinářská 18, 128 51 Praha 2

Kontakt: pavel.calda@vfn.cz

Pracuje jako vedoucí Centra fetální medicíny a ultrazvukové diagnostiky 1. lékařské fakulty a Všeobecné fakultní nemocnice. Je průkopníkem fetální medicíny v České republice, zakladatelem a předsedou České společnosti pro ultrazvuk v gynekologii a porodnictví ČLS JEP. Je členem mezinárodního sboru poradců American Journal of Obstetrics and Gynecology, členem výboru Evropské gynekologické společnosti, členem redakčních rad mezinárodních časopisů, zakládajícím členem International Society for Abnormally Invasive Placenta a členem jejího výboru. Byl prezidentem několika mezinárodních kongresů, uspořádal desítky workshopů a výukových kurzů. Je šéfredaktorem časopisu Aktuální Gynekologie a Porodnictví www.actualgyn.com, vydal základní učebnici Ultrazvuková diagnostika v těhotenství a gynekologii. Je autorem 174 publikací, má h-index 17 a jeho publikace mají nyní 1459 citací.



LITERATURA

1. Verlohren S, Stepan H, Dechend R (2012) Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia. *Clin Sci* 122: 43–52.
2. Abalos E, Cuesta C, Carroli G, Qureshi Z, Widmer M, Vogel JB, Souza JP. Preeclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG* 2014; 121 Suppl 1: 14–24. DOI: 10.1111/1471-0528.12629.
3. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol* 2009; 33: 130–137. DOI: 10.1053/j.semperi.2009.02.010.
4. American College of Obstetricians and Gynecologists, Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy (2013) Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 122(5): 1122–1131. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88>
5. Poon LC, Shennan A, Hyett JA et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: a pragmatic guide for first-trimester screening and prevention. *Int J Gynaecol Obstet.* 2019; 145: 1–33.
6. Brown MA, Magee LA, Kenny LC, Karumanchi SA, McCarthy FP, Saito S et al (2018) Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice. *Hypertension* 72: 24–43.
7. Brunelli VB, Prefumo F. Quality of first trimester risk prediction models for pre-eclampsia: a systematic review. *BJOG* 2015; 122: 904–914. DOI: 10.1111/1471-0528.13334.
8. Poon LC, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertension* 2009; 53: 812–818. DOI:10.1161/hypertensionaha.108.127977.
9. Tan MY, Syngelaki A, Poon LC, Rolnik DL, O'Gorman N, Delgado JL, Akolekar R, Konstantinidou L, Tsavdaridou M, Galeva S, Ajdacka U, Molina FS, Persico N, Jani JC, Plascencia W, Greco E, Papaioannou G, Wright A, Wright D, Nicolaides KH. Screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2018; 52: 186–195. DOI: 10.1002/uog.19112.
10. Rolnik DL, Wright D, Poon LCY, Syngelaki A, O'Gorman N, de Paco Matallana C, Akolekar R, Cicero S, Janga D, Singh M, Molina FS, Persico N, Jani JC, Plascencia W, Papaioannou G, Tenenbaum-Gavish K, Nicolaides KH. ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 50: 492–495. DOI: 10.1002/uog.18816.
11. Rolnik DL, Wright D, Poon LC, O'Gorman N, Syngelaki A, de Paco Matallana C, Akolekar R, Cicero S, Janga D, Singh M, Molina FS, Persico N, Jani JC, Plascencia W, Papaioannou G, Tenenbaum-Gavish K, Meiri H, Gizurarson S, Maclagan K, Nicolaides KH. Aspirin versus placebo in pregnancies at high risk for preterm preeclampsia. *N Engl J Med* 2017; 377: 613–622. DOI: 10.1056/NEJMoa1704559.
12. Wright D, Tan MY, O'Gorman N, Poon LC, Syngelaki A, Wright A, Nicolaides KH. Predictive performance of the competing risk model in screening for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2019; 220: 199.e191–199.e113. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.11.1087.
13. Zeisler H, Llorba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennstrom M, Olovsson M, Brennecke SP, Stepan H, Allegranza D, Dinkel C, Schoedl M, Dilba P, Hund M, Verlohren S. Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1-to-Placental Growth Factor Ratio and Time to Delivery in Women With Suspected Preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2016; 128: 261–269. DOI: 10.1097/aog.0000000000001525.
14. Poon, L. C., Galindo, A. , Surbek, D. , Chantraine, F. , Stepan, H. , Hyett, J. , Tan, K. H. and Verlohren, S. (2019), From first-trimester screening to risk stratification of evolving pre-eclampsia in the second and third trimesters of pregnancy: a comprehensive approach. *Ultrasound Obstet Gynecol.* Accepted Author Manuscript. doi:10.1002/uog.21869.
15. Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S et al (2003) Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 111:649–658.
16. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF et al (2004) Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 350: 672–683.
17. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP et al (2006) Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 355: 992–1005.
18. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG et al (2010) An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 202: 161.e1–161.e11.
19. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H et al (2012) The sFlt-1/PIGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol* 206: 58.e1–58.e8.
20. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P et al (2014) New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia. *Hypertension* 63: 346–352.
21. Zeisler H, Llorba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström Met al (2016) Soluble fms-like tyrosine kinase-1-to-placental growth factor ratio and time to delivery in women with suspected preeclampsia. *Obstet Gynecol* 128: 261–269.
22. Zeisler H, Llorba E, Chantraine FJ, Vatish M, Staff AC, Sennström Met al (2018) The sFlt-1/PIGF Ratio: ruling out pre-eclampsia for up to 4 weeks and the value of retesting. *Ultrasound Obstet Gynecol* 53(3): 367–375. <https://doi.org/10.1002/uog.19178>.



Preeklampsie je závažné onemocnění vyskytující se jen v těhotenství. Preeklampsie je definována arteriální hypertenzí nad 140/90 mmHg, objevenou po 20. týdnu těhotenství, s přidruženou proteinurií nad 300 mg za den. Důležité je na toto onemocnění myslet u každého těhotenství, protože výrazně zvyšuje mateřskou i neonatální morbiditu a mortalitu. Incidence se pohybuje mezi 2–5 %. Můžeme ji rozdělit na časnou a pozdní preeklampsii, přičemž se jako hranice uvádí 34. týden gravidity. Časná preeklampsie je nejčastěji způsobena dysfunkcí placenty a je zatížena větší morbiditou pro matku i plod. Pozdní forma je způsobena chronickými onemocněními matky (kardiovaskulární onemocnění, diabetes mellitus).

Preeklampsie – zkušenosti s vyšetřováním sFLT-1 a PIGF na GPK FN Plzeň

MUDr. MICHAL KOZEROVSKÝ

Gynekologicko-porodnická klinika FN Plzeň

Rizikové faktory

Mezi hlavní rizikové faktory řadíme preeklampsii vyskytující se v minulé graviditě nebo v rodině, chronickou hypertenzi, renální onemocnění, vícečetné těhotenství, diabetes mellitus. Více se také vyskytuje u nullipar, obézních rodiček, starších těhotných a malnutrických žen.

Etiopatogeneze

Příčina preeklampsie doposud není jasně stanovena, ale nejspíše se jedná o endoteliální dysfunkci u abnormální placentace s následnou generalizovanou vazokonstrikcí. Rozlišujeme 2 fáze – preklinickou a klinickou. Preklinická fáze se vyznačuje abnormální placentací s mělkou a nedostatečnou invazí cytotrofoblastu. Některé spirální arterie zůstávají intaktní, mají vysokou vaskulární rezistenci s malým objemem a následkem je snížená uteroplacentární cirkulace s ischemií placenty. Zároveň dochází k vyplavování biologicky aktivních látek do krevního oběhu matky, čímž se aktivuje oxidační stres, a v důsledku těchto mechanismů vzniká endoteliální dysfunkce. Druhou neboli klinickou fází představují klinické příznaky.

Významnou roli hraje generalizovaná vazokonstrikce způsobená endoteliální dysfunkcí a změny v rovnováze prostaglandinů, především prostacyklinu a tromboxanu A2. Prostacyklin působí vazodilatačně, snižuje krevní tlak, podporuje krevní průtok dělohou a působí proti agregaci destiček. Tromboxan A2 je vazokonstriktor a působí proti prostacyklinu. Při zvýšeném poměru tromboxanu k prostacyklinu se zhoršuje krevní průtok dělohou a dochází k trombotizaci spirálních arterií s následnou ischemií placenty.

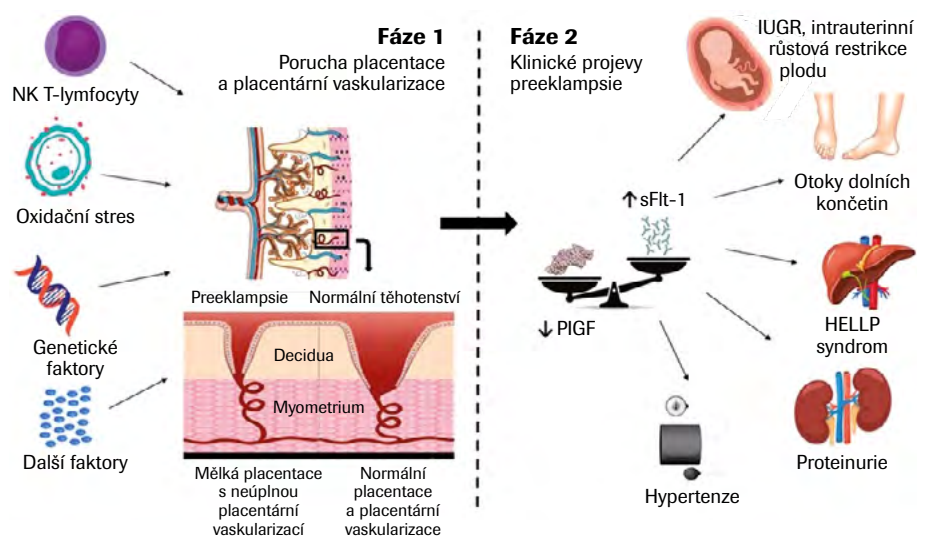
V poslední době došlo k významnému pokroku ve zkoumání příčin a detekce preeklampsie. Jedná se zejména opět o dysbalanci antiangiogenních a angiogenních faktorů.

Mezi hlavní protagonisty antiangiogenních faktorů řadíme solubilní tyrozynázový faktor 1 – sFLT-1. Tento faktor zůstává během prvního a druhého trimestru na stabilních hladinách a ve třetím trimestru mírně narůstá. Ve studiích se uvádí, že těhotné s preeklampií mají vyšší hladiny tohoto faktoru než fyziologické těhotné.

Zástupcem angiogenních faktorů je placentární růstový faktor – PIGF. Hladiny tohoto faktoru s postupující graviditou klesají. Dle uváděných studií hladiny tohoto faktoru začínají významně klesat až 9 týdnů před klinickými příznaky preeklampsie.

Klinický obraz

Klinický obraz preeklampsie je rozmanitý. Preeklampsie může být i zcela asymptomatické onemocnění u lehké formy, naopak u těžké formy může docházet až k poruchám vědomí. U lehké formy se nejčastěji vyskytují otoky dolních končetin. Dále



▲ Obr. č. 1: Ilustrace dvoustupňové patofyziologie preeklampsie, zdroj: <https://www.nature.com/articles/s41371-018-0113-7>



se vyskytují bolesti hlavy, které nesmíme nikdy bagatelizovat, protože mohou být projevem těžké formy preeklampsie a/nebo předzvěstí eklampsie. Z dalších příznaků se objevují problémy zraku, oligurie, nauzea, epigastrická bolest.

Diagnostika

Podezření na preeklampsii můžeme vyjádřit na podkladě klinických symptomů anebo jako náhodný nález při běžné preventivní prohlídce. Jak již bylo výše zmíněno, jedná se o zvýšený arteriální tlak nad 140/90 mmHg a proteinurii nad 300 mg za den. Dále v laboratoři nacházíme zvýšené hladiny kyseliny močové, změny v koagulačních testech, v krevním obraze i zvýšené hodnoty jaterních transamináz.

V poslední době se díky studii PROGNOSIS do popředí diagnostiky dostává detekce antiangiogenních a angiogenních faktorů. Nejsou ani tak důležité jejich samotné hodnoty jako jejich vzájemný poměr. V případě poměru sFLT-1/PIGF <38 je dle studie PROGNOSIS negativní prediktivní hodnota 99,3 % s 80% senzitivitou na 1 týden při vyšetření Roche Elecsys®. Negativní prediktivní hodnota na 3 týdny je 95,7 % se 70% senzitivitou a 82,4% specificitou. Při hodnotách poměru sFLT-1/PIGF >38 se uvádí pozitivní prediktivní hodnota 36,7 % se senzitivitou 66,2 %. Zvýšené riziko vzniku preeklampsie u těhotných do 34. týdne představují hodnoty nad 85 a u těhotných po 34. týdnu nad 110.

Screening

Díky novým poznatkům o významu PIGF můžeme provádět screening preeklampsie již v prvním trimestru. Do kombinovaného screeningu řadíme měření středního arteriálního tlaku těhotné, dopplerovské vyšetření pulzatilního indexu uterinních arterií a náběr mateřské krve

Metoda screeningu	Účinnost detekce		
	PE <34. týden	PE <37. týden	PE ≥37. týden
Maternální parametry	58%	50%	38%
Maternální parametry a navíc:			
MAP	65%	60%	46%
MAP, UTPI	80%	70%	44%
MAP, PIGF	85%	73%	47%
MAP, UTPI, PIGF	90%	75%	47%

▲ Tab. č. 1: FMF: Fetal Medicine Foundation. MAP – Middle Arterial Pressure (střední arteriální tlak); PAPP-A – Pregnancy Associated Plasma Protein-A (s těhotenstvím asociovaný plazmatický protein-A); UtA-PI – Uterine Artery Pulsatility Index (pulzatilní index v děložní tepně); PIGF – Placental Growth Factor (placentární růstový faktor). O’Gorman et al. *Competing Risk Model in Screening for Preeclampsia. Am J Obstet Gynecol* 2016. O’Gorman et al. *Multicenter screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks’ gestation: comparison with NICE guidelines and ACOG recommendations, Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49: 756–760.

na stanovení hladin specifického těhotenského proteinu A (PAPP-A) a PIGF. Následně vypočítávací software stanoví riziko vzniku preeklampsie v průběhu těhotenství (viz příložená tabulka) se senzitivitou 93 % a specificitou 95 % při falešné pozitivitě 5 %.

Prevence

V současné době spolu s rozvojem screeningu preeklampsie v I. trimestru vyvstala otázka možnosti prevence tohoto onemocnění. Na toto nám dala odpověď studie ASPRE, ve které bylo zjištěno, že podání kyseliny acetylsalicylové do 16. týdne u kompliantních pacientek bez dříve diagnostikované arteriální hypertenze může redukovat vznik preeklampsie až o 95 % u žen s pozitivním screeninem. V tomto případě tedy těhotné s pozitivním screeninem užívají 100–150 mg kyseliny acetylsalicylové až do 36. týdne těhotenství. Po 16. týdnu již podání nemá smysl, protože riziko nijak výrazně nesnižuje.

Léčba preeklampsie

Jedinou kauzální léčbou rozvinuté preeklampsie je porod plodu a následně placenty, po kterém dojde k regresi

onemocnění. V těhotenství můžeme pouze redukovat příznaky, zejména arteriální hypertenzi. Primárním antihypertenzivem v těhotenství je metyldopa. Jedná se o centrálně působící lék. Dalšími možnostmi jsou betablokátory a blokátoři kalciových kanálů. Jiným velmi užívaným lékem je magnézium sulfát, který má vazodilatační efekt a u těžké preeklampsie je zároveň prevencí křečí.

Komplikace preeklampsie

Cílem naší léčby je předcházení a/nebo snižování výskytu a závažnosti komplikací. Mezi nejzávažnější komplikace řadíme rozvoj HELLP syndromu, eklampsie nebo diseminované intravaskulární koagulace. Dále nacházíme postižení ledvin, plicní edém, postižení CNS či očí. Nejčastější porodnickou komplikací je předčasné odloučení lůžka neboli abrupce placenty.

Zkušenosti s vyšetřováním sFLT-1 a PIGF na GPK FN Plzeň

První vyšetření bylo provedeno v červnu 2016 a do konce roku 2018 se uskutečnilo přes 4 000 náběrů. Náběr PIGF ke stanovení rizika preeklampsie se u nás



na klinice provádí u všech těhotných při I. trimestrálním screeningu. Všechny těhotné sledované v ambulanci pro riziková těhotenství a těhotné s pozitivním screeningem preeklampsie absolvují náběr na poměr sFLT-1/PIGF při každé návštěvě a následně využíváme vysokou negativní prediktivní hodnotu tohoto poměru. Pod cut-off hodnotou 110, ukazující na zvýšené riziko vzniku preeklampsie u těhotných po 34. týdnu, bylo 3 476 odběrů z celkové počtu 4 060.

Kazuistika

27letá zdravá nullipara s nově nasazenou antihypertenzní terapií Dopegytem 3x1 tbl. byla přijata in gr. h. 32+4 pro suspektní preeklampsii k preventivní hospitalizaci. Při přijetí měla krevní tlak na horní hranici normy – 135/85 mmHg. V moči signifikantní proteinurii a v laboratoři elevaci kyseliny močové s elevací poměru sFLT/PIGF na 362. Subjektivně byla pacientka zcela bez potíží. Pro nízké gestační stáří provedena maturace plodu kortikoidy. Zároveň dle sonografického vyšetření zjištěna růstová restrikce

plodu. Každý den proveden odběr poměru sFLT/PIGF, který se držel na poměrně stálé hladině. Za týden hospitalizace elevace poměru sFLT/PIGF na 476 a mírný nárůst proteinurie. Následující den ráno rychlý vzestup sFLT/PIGF na 698 s výrazným vzestupem proteinurie. Krevní tlak pacientky se stále pohyboval na horní hranici normy. Vzhledem k výše uvedeným laboratorním hodnotám svědčícím pro těžkou preeklampsii pacientka indikována k císařskému řezu a zajištěna intravenózně podaným MgSO₄. Po příjezdu na operační sál při uvádění do anestezie pacientka dostává eklamptický záchvat tonicko-klonických křečí, který po 1 minutě a po podání Apaurinu intravenózně odeznívá. Po zkompenzování stavu pacientky proveden císařský řez a vybaven křičící novorozenec ženského pohlaví in gr. h. 34+0 o hmotnosti 1 570 g. Pooperačně pacientka subjektivně zcela bez potíží s postupnou úpravou laboratorních hodnot. Neurologické konzilium včetně EEG s normálním nálezem. Dle interního konzilia změněna antihypertenzní terapie pro mírnou tachykardii pacientky z Dopegytu na Vasocardin. Šestý pooperační den provedeno kontrolní MRI mozku, kde

popsán nespecifický nález – možný odeznívající mírný posteklamptický edém. 8. pooperační den nedělka zcela bez potíží propuštěna do domácího ošetřování.

Závěr

Preeklampsie je závažné onemocnění v těhotenství, které výrazně zvyšuje morbiditu a mortalitu těhotných i novorozenců. Jediná kauzální léčba je porod plodu s placentou. V poslední době byl zaznamenán výrazný pokrok jak v diagnostice, tak ve screeningu. Stanovení hladin sFLT-1 a PIGF a jejich vzájemného poměru nám pomáhá odlišit těhotné s nízkým a vysokým rizikem vzniku preeklampsie, a tudíž těhotné ušetřit zbytečné hospitalizace, anebo je podrobit častějším kontrolám a zahájení včasné léčby. Při pozitivním screeningu v prvním trimestru můžeme podáním kyseliny acetylsalicylové do 16. týdne gravidity zredukovat propuknutí preeklampsie až o 95 %. S vyšším věkem a vyšší nemocností těhotné populace nám s velkou pravděpodobností bude do budoucna stoupat počet gravidních s preeklapsií.



MUDr. Michal Kozarovský

Gynekologicko-porodnická klinika FN Plzeň

Kontakt: kozarovskym@fnplzen.cz

Atestovaný lékař v oboru gynekologie a porodnictví. Odborný asistent na LF UK v Plzni. Odborný asistent na ZČU FZS.

ZDROJE

1. Vlk R., a kol. Preeklampsie, Praha: Maxdorf; 2015.
2. Měchurová A. Preeklampsie. In Rizikové a patologické těhotenství. Praha: Grada, 2004.
3. Verlohren S., et al. An automated method for the determination of the sFLT-1/PIGF ratio in assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 202(2): 161.e1-161.e11, doi: 10.1016/j.ajog.2009.09.016.
4. Levine, R.J. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *The New England Journal of Medicine*, 2004, 350(7), 672-83.
5. Leahomski S., Calda P. Klinické využití nových biomarkerů preeklampsie. *Actual Gyn.* 2016; 8: 29-33.
6. Schiettecatte J., et al. Multicenter evaluation of the first automated Elecsys sFlt-1 and PIGF assays in normal pregnancies and preeclampsia. *Clin. Biochem.* 2010; 43(9): 768-770, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.02.010.
7. Čech E., Hájek Z., Maršál K., Šrp B., a kol. Porodnictví, 2. přepracované a doplněné vydání, Grada Publishing, a.s., 2006, s. 259.
8. Roberge S., Bujold E., Nicolaidis K. Aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: systematic review and metaanalysis, *Američan Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2018 March; 218(3): 287-293.e1. doi: 10.1016/j.ajog.2017.11.561. Roub 2017 Nov 11.



Článek popisuje poslední poznatky etiopatogeneze formování placenty a zásadní úlohu vzájemného vztahu angiopoetinů a angiotatinů. Průkazné nízké koncentrace angiopoetinu PlGF spolu s patologickými průtoky v uterinních arteriích na konci I. trimestru selektují skupinu těhotných žen s vyšším rizikem pozdějšího vzniku preeklampsie. Pro časnou diagnózu subklinických stadií preeklampsie se osvědčilo využít stanovení poměru sFlt-1/PlGF. Rychle rostoucí hodnota se ukazuje být dostatečně validní pro včasné ukončení těhotenství a zabránění fatálních mateřských a fetálních komplikací.

Komplexní management preeklampsie

doc. MUDr. TOMÁŠ BINDER, CSc.

Gynekologicko-porodnická klinika UJEP a Masarykovy nemocnice, Ústí nad Labem

Úvod

Preeklampsie je pro těhotenství specifické onemocnění. Je definována jako těhotenstvím podmíněná hypertenze s proteinurií. Jedná se o vaskulopatii vznikající na podkladě abnormálního vývoje placenty. Klinicky se zpravidla projevuje až po 20. týdnu gravidity. V důsledku abnormální cévní reakce vede k různě významnému multiorgánovému postižení.

Podle závažnosti rozlišujeme lehkou a těžkou formu preeklampsie a podle doby vzniku rozlišujeme časnou formu preeklampsie, která se manifestuje před 34. gestačním týdnem, a pozdní formu preeklampsie, která se manifestuje po 34. gestačním týdnem. Pozdní forma má z hlediska perinatologických výsledků lepší prognózu. Incidence u těhotných se pohybuje mezi 4 a 8%. Rizikové skupiny jsou uvedeny v **tabulce č. 1**.⁷

Etiopatogeneze preeklampsie

Etiopatogeneze preeklampsie není dosud uspokojivě objasněna. Shoda panuje v tom, že primární příčina je uložena v placentě a že porucha je založena mnohem dříve, než dojde k manifestaci

prvních příznaků. Preeklampsie vzniká na základě nepřiměřené nebo patologické mateřské odpovědi na placentaci. Svou roli zde hrají fetální antigeny a imunitní mateřská odpověď. Tyto „zánětlivé signály“ vedou k lokální ischemii, kdy následná reperfuze vede k oxidačnímu stresu a vaskulárnímu poškození. Nelze tak od sebe oddělovat dvě nejuznávanější teorie vzniku preeklampsie – vaskulární a imunologickou, protože se úzce propojují. Pro omezený prostor nelze zabíhat zcela do podrobností. Uvádíme jen zásadní procesy důležité pro vývoj placenty.

Pro plynulý růst plodu a jeho dobrý stav je nezbytný koordinovaný vývoj stromu fetálního klu. Již před viabilitou

První těhotenství (krátká anamnéza nechráněného styku)
Předchozí preeklampsie
≥ 10 let od posledního porodu
Věkové extrémny těhotné
Body mass index (BMI) ≥ 30
Pozitivní rodinná anamnéza preeklampsie (matka, sestra)
Zachycená hodnota diastolického tlaku ≥ 90 mm Hg ze dvou nezávislých měření
Zachycená proteinurie (orientačně na + nebo ≥ 300 mg/24 hodin)
Vícečetné těhotenství
Gravidita po některé z metod asistované reprodukce
Preexistující hypertenze
Preexistující onemocnění ledvin
Preexistující diabetes
Přítomnost antifosfolipidových protilátek

▲ Tab. č. 1: Rizikové faktory preeklampsie.
Zdroj: archiv autora



▲ Obr. č. 1: Čerstvě porozená placenta s pupečníkem

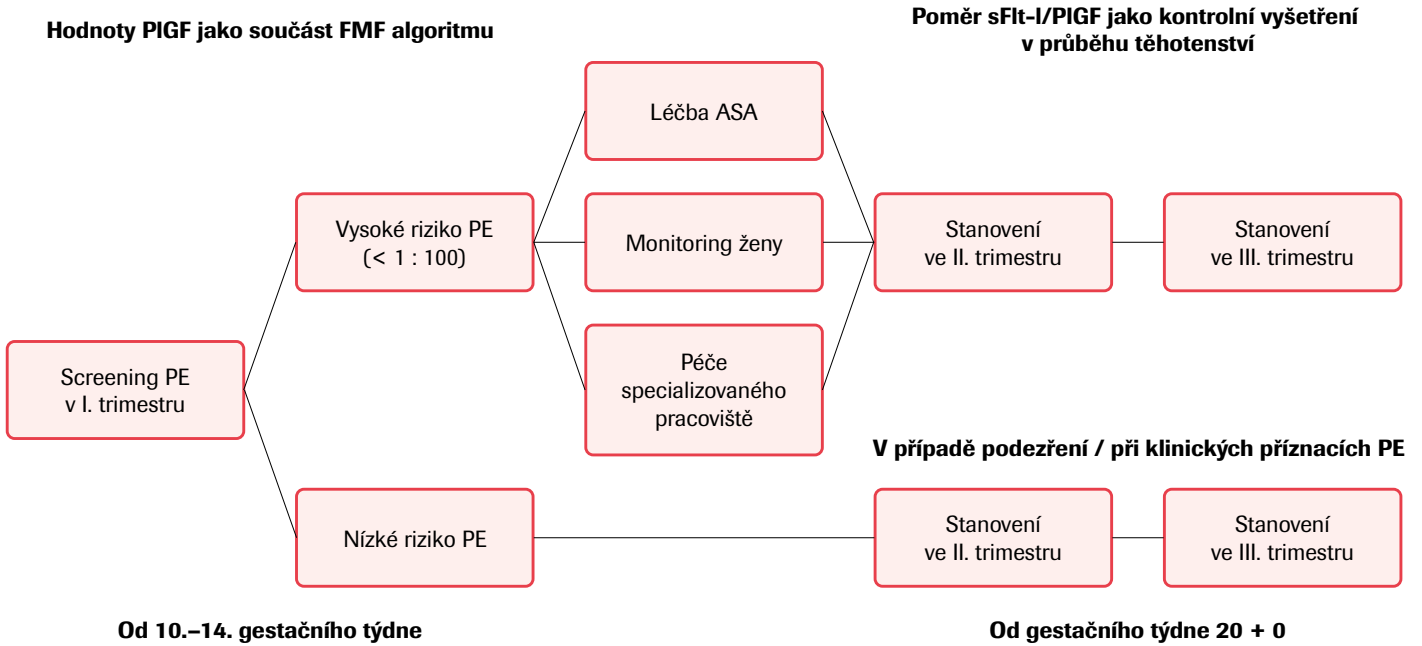
plodu dochází k rozvětvené angiogenezi, v placentě se vytvoří 10–16 generací kmenových klků. Jakmile se objeví vitální známky, vývoj placenty pokročí k vytvoření velkého počtu terminálních klků schopných výměny plynů. Pro tento proces je nezbytná dostatečná trofoblastická invaze, která je dokončena mezi 12. a 14. gestačním týdnem. Hlavním obdobím pro posouzení kvality placentární implantace je 20.–24. gestační týden, protože je trofoblastem dokončena transformace myometrálních spirálních arterií v nízkorezistentní cévy s vysokým průtokem. Tím je zajištěn adekvátní průtok krve v intervilózních prostorách, kde se odehrává fetomaternální výměna. Tento proces je vícestupňovitě regulován a svoji roli v něm hrají NK buňky (natural killer cells), které ovlivňují nejen trofoblastickou invazi, ale i vaskulární změny v placentě svou schopností produkovat cytokiny, které se uplatňují v angiogenezi a ovlivňují vaskulární stabilitu. Patří k nim vaskulární endoteliální růstový faktor (vascular endothelial growth factor, VEGF), placentární růstový faktor (placenta growth factor, PIGF) a angiotensin 2. Tyto angiotensiny hrají zásadní roli v procesu angiogeneze. Proti tomu působí angiotensin – solubilní fms-like

tyrosinkináza 1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1, sFlt-1), jejíž gen kóduje receptor pro vaskulární endoteliální růstový faktor 1 (vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR-1), protein, který reguluje proliferaci a diferenciaci buněk. V průběhu fyziologické gravidity dochází k přiměřené interakci mezi endovaskulárním trofoblastem a deciduálními leukocyty a zejména přirozenými zabíječi (NK buňkami), která následně vyvolá uvolnění VEGF a PIGF. Za přítomnosti zvýšeného zánětlivého stresu, a to i v průběhu fyziologické gravidity, jsou zvýšené koncentrace volného VEGF důležité pro zachování klidového stavu endotelu. Placentou vytvářený sFlt-1 je antagonistou proangiogenních molekul VEGF a PIGF a jeho hodnoty jsou zvýšeny u preeklampsie. Placentární růstový faktor je esenciální faktor placentárního vaskulárního vývoje, proliferace a vaskulární permeability a přežívání endoteliálních buněk. Zvýšená koncentrace cirkulujícího sFlt-1, proteinu z vaskulárního endotelu placenty, je spojena se sníženými cirkulujícími koncentracemi volného VEGF a PIGF, což vede k endoteliálnímu poškození. Míra zvýšení sFlt-1 koreluje se závažností preeklampsie. To je v souladu s hypotézou, že narušení rovnováhy

VEGF (PIGF) a sFlt-1 je jednou z definičních patofyziologických cest vzniku tohoto onemocnění. U gravidit, u kterých následně došlo k rozvoji preeklampsie a růstové restrikci plodu (fetal growth restriction, FGR), byly v prvním trimestru prokázány snížené koncentrace PIGF a naměřeny snížené hodnoty dopplerovského měření průtoku v uterinních arteriích (průkaz noče). Hodnoty sFlt-1 se v této fázi těhotenství neliší od normy. Tyto nálezy potvrzují zásadní roli deciduálních angiogenních růstových faktorů, zejména placentárního růstového faktoru, pro fyziologický vývoj placenty. V průběhu fyziologické gravidity jsou hodnoty sFlt-1 do 29.–33. gestačního týdne stabilní a pak stále rostou až do porodu. Koncentrace PIGF rostou převážně do konce prvního trimestru, vrcholu dosahují kolem 29. gestačního týdne a pak postupně klesají. Zvyšující se poměr sFlt-1/PIGF po 20. týdnu gestace je známkou narušené rovnováhy a slouží k časně diagnostice preklinických stadií časně formy preeklampsie. K diagnostice pozdní formy preeklampsie vzniklé po 34. gestačním týdnem není stanovení poměru sFlt-1/PIGF pro diagnózu již tak průkazné. Ačkoliv příčiny placentární dysfunkce nejsou plně odhaleny, všeobecně je akceptováno, že stavy spojené s placentární dysfunkcí jsou charakterizovány mělkou trofoblastickou invazí a nedostatečnou remodelací mateřských spirálních arterií v I. a II. trimestru těhotenství. To způsobuje nedostatečnou placentární perfuzi v druhé polovině těhotenství. Endoteliální dysfunkce je výrazem excesivní mateřské zánětlivé odpovědi na těhotenství.⁷

Predikce preeklampsie

Screening preeklampsie v pravém smyslu jeho významu neexistuje, ale pokud bychom na konci I. trimestru u všech těhotných stanovovali střední arteriální tlak (mean arterial pressure, MAP), hodnotu PIGF, případně doplněnou



▲ Obr. č. 2: Komplexní management preeklampsie. ASA – kyselina acetylsalicylová, acetylsalicylic acid; FMF – Fetal Medicine Foundation; PE – preeklampsie; PIGF – placentární růstový faktor, placenta; growth factor; sFlt-1 – solubilní fms-like tyrosinkináza 1, soluble fms-like tyrosine kinase. Zdroj: archiv autora

o hodnotu plazmatického specifického těhotenského proteinu A (pregnancy associated plasma protein A, PAPP-A) v krvi matky, a vyšetření doplnili o flowmetrii uterinních arterií, seletovali bychom skupinu žen se zvýšeným rizikem vzniku preeklampsie v pozdějších stádiích těhotenství a cíleně bychom na ně směřovali prenatální péči. Každý abnormální výsledek z uvedených vyšetření ukazuje na zvýšená těhotenská rizika, ale riziko pro preeklampsii není specifické. Integrací všech vyšetření se specifická výrazně zvyšuje, ale i tak to neznamená, že žena s pozitivním výsledkem „I. trimestrálního screeningu“ preeklampií onemocní. Od ideálu testování všech těhotných máme daleko, ale měli bychom se zaměřit alespoň na těhotné ženy uvedené v tabulce I v úvodu článku. Studie ASPRE z roku 2017 prokázala validitu tohoto vyšetření. Pozitivním pacientkám byla v této studii od 11. do 36. gestačního týdne preventivně podávána kyselina acetylsalicylová v dávce 150 mg/den a došlo ke snížení rizika vzniku preeklampsie před 37. gestačním týdnem o 62 %.^{1,2,5}

Časná diagnostika preeklampsie

V současné době je v České republice doporučena depistáž preeklampsie pouze měřením krevního tlaku a orientačním vyšetřením moči na přítomnost bílkoviny při každé návštěvě v prenatální poradně. Studie PROGNOSIS z roku 2016 ukázala na význam stanovení

poměru sFlt-1/PIGF v časně diagnostice preklinických stádií preeklampsie ve II. a III. trimestru těhotenství. Test je doporučeno provádět u všech žen se zvýšeným rizikem preeklampsie, tedy i nezávisle na výsledku testu v I. trimestru. Rychle se zvyšující hodnota poměru sFlt-1/PIGF signalizuje rozvíjející se preeklampií. Komplexní management ukazuje obr. č. 2.





Vyhodnocení a doporučený postup

Vyhodnocení a další doporučený postup jsou vždy dány výrobcem testovacích kitů. Výsledky testu je vždy nutné posuzovat komplexně s výsledky ostatních vyšetření, jako ultrazvukového a dopplerovského vyšetření, s výsledky klasických laboratorních vyšetření při preeklampsii a klinickým stavem těhotné v kontextu s gestačním stářím plodu. Je to významné z hlediska optimální doby ukončení těhotenství.^{3,4,6}

Závěr

Stanovení MAP, dopplerovské vyšetření uterinních arterií a stanovení hodnoty PlGF (PAPP-A) v I. trimestru se zdá být užitečnou metodou selekce žen s potencionálním rizikem vzniku preeklampsie. Stanovení poměru sFlt/PlGF ve II. a III. trimestru je nový užitečný test sloužící k časnému odhalení subklinických stadií preeklampsie.



Přínosem metod je možnost predikce preeklampsie, stratifikace a optimalizace poskytované péče, což může přispět ke zlepšení perinatálních výsledků a odvrácení fatálních komplikací jak u matky, tak u plodu.

Nezávislý odborný článek publikovaný v časopise *Gynekologie a porodnictví* 2020; 4(2): 1-3 díky finanční podpoře společnosti Roche s.r.o., Diagnostics Division.



doc. MUDr. Tomáš Binder, CSc.

Přednosta kliniky, Gynekologicko-porodnická klinika UJEP a Masarykovy nemocnice, Ústí nad Labem
Kontakt: tomas.binder@kzcr.eu

LITERATURA

1. Bujold, E, Roberge S, Lacasse Y, et al. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: A meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2010;116:402–414.
2. Henderson JT, Whitlock EP, O'Connor E, et al. Low-dose aspirin for prevention of morbidity and mortality from preeclampsia: A systematic evidence review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2014;160:695–703.
3. Herraiz I, Llorba E, Verlohren S, Galindo A; Spanish Group for the Study of Angiogenic Markers in Preeclampsia. Update on the Diagnosis and Prognosis of Preeclampsia with the Aid of the sFlt-1/PlGF Ratio in Singleton Pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 2018;43:81–89.
4. Zeisler H, Llorba E, Chantraine F, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med* 2016;374:13–22.
5. Rolnik DL, Wright D, Poon LCY, et al. ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017;50:492–495.
6. Poon LCY, et al. Screening and prevention of preeclampsia. *Maternal Fetal Med* 2019;1:25–30.
7. Phipps E, Prasanna D, Brima W, Jim B. Preeclampsia: updates in pathogenesis, definitions, and guidelines. *Clin J Am Soc Nephrol* 2016;11:1102–1113.



Screening nejčastějších aberací autozomů na podkladě volných fetálních fragmentů DNA v mateřské plazmě reprezentuje v současné době nejefektivnější vyhledávací test trizomie 21. Stále je nutné mít na paměti, že se jedná o test vyhledávací, ne diagnostický. V případě pozitivního nálezu je nutné nález potvrdit invazivní diagnostickou metodou. Testování mikrolečnicích syndromů pomocí NIPT má horší pozitivní prediktivní hodnotu vzhledem k nízké prevalenci onemocnění v populaci. Je vhodné dbát a myslet na mateřské faktory, které mohou mít vliv na výsledek testu. Mezi tyto faktory patří obezita matky, aktivní autoimunitní onemocnění, neoplastický proces a mozaicismus. Rychlý rozvoj technologií v této oblasti zcela jistě ovlivní směr a vývoj prenatální diagnostiky.

Neinvazivní prenatální test fetálních aneuploidií

doc. MUDr. LADISLAV KROFTA, CSc., MBA^{1,2,3}

¹ Ústav pro péči o matku a dítě, Podolské nábřeží 157, 147 00 Praha 4 – Podolí; ² 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy; ³ Katedra gynekologie a porodnictví IPVZ

Úvod

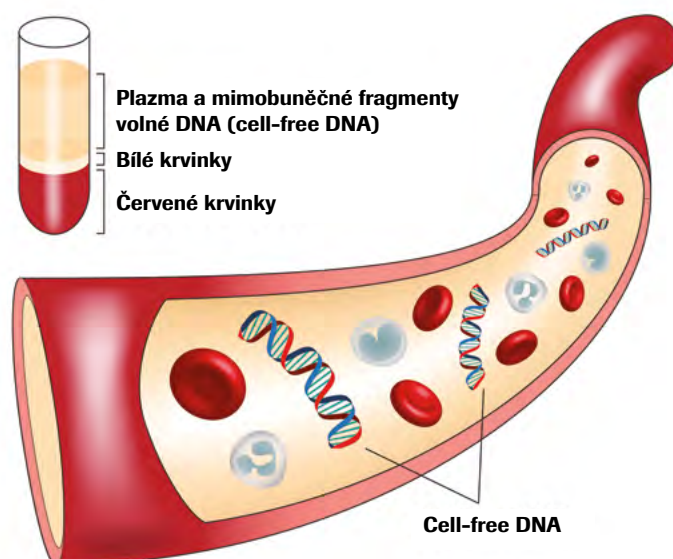
Fragmenty volné DNA a RNA jsou přítomny ve všech tělních tekutinách v určitém dynamickém stavu, který podléhá neustálé obměně. Jedná se o malé extracelulární fragmenty DNA cirkulující v krevním oběhu, pro které se v anglosaské odborné literatuře vžilo označení cell-free DNA (cfDNA). Technologický progres molekulárně genetických postupů posledních dvaceti let učinil tento jedinečný genetický materiál dostupným

pro zcela novou generaci krevních testů vhodných detekovat a monitorovat onemocnění.

V roce 1997 byly publikovány první práce o fetálním a placentárním původu cfDNA v mateřské cirkulaci.¹ V rámci péče o těhotnou ženu byla problematika fetální cfDNA a technologie DNA sekvenace velice rychle implementována do širší klinické praxe formou vyhledávacích testů prenatálního screeningu nejčastějších chromozomálních aberací. Jedná se o průlomovou technologii, která představuje revoluci v rámci screeningu vývojových vad.

Biologie cfDNA

Naprostá většina plazmatické cfDNA je uvolněna z hematopoetických buněk



▲ Obr. č. 1: Extracelulární fragmenty DNA cirkulující v krevním řečišti



v rámci normálního buněčného cyklu. Zároveň se na celkovém poolu cfDNA spolupodílí i řada jiných orgánů, příkladem jsou adipocyty tukové tkáně.² Za normálních okolností, není-li žena těhotná, reflektuje genomický profil plazmatické cfDNA individuální karyotyp jedince. Během těhotenství se placentární cfDNA rovněž uvolňuje do mateřské plazmy a tuto lze využít pro účely prenatalní diagnostiky. Tento typ DNA fragmentů pochází ze zevního cytotrofoblastu, do mateřské cirkulace se dostává prostřednictvím apoptózy.³ První průkaz fetoplacentární DNA v cirkulaci matky byl detekován pomocí specifických sekvencí Y chromozomu. CfDNA mající fetoplacentární původ je označována jako cffDNA (cell-free fetal DNA) a je detekována v cirkulaci matky od pátého gestačního týdne. Představuje přibližně 10–15 % celkového objemu cfDNA.⁴ Koncentrace cffDNA se zvyšují s gestačním týdnem a po ukončení těhotenství se koncentrace rychle snižuje až k absolutní eliminaci. CffDNA reprezentuje zdroj informací o probíhající graviditě a neperzistuje do dalšího těhotenství.⁵

Terminologie

V souvislosti s volnou DNA v cirkulaci jsou často ne zcela správně používány některé termíny a označení. Pro klinickou praxi je však nutné znát jejich správný význam. Prenatální test založený na analýze cffDNA mateřské plazmy je označován v anglosaské odborné literatuře pomocí zkratky NIPT (noninvasive prenatal testing). Rovněž se lze v této souvislosti setkat možná s výhodnějším termínem, kterým je neinvazivní prenatální screening (NIPS – noninvasive prenatal screening). Toto označení přesněji vystihuje povahu testu a diferencuje jej od tradičních diagnostických a invazivních diagnostických intervencí hodnotících fetální karyotyp na základě analýzy buněk získaných biopsií choriových klků a odběru plodové

vody. Test fetálních aneuploidií pomocí cffDNA z mateřské plazmy nedosahuje přesnosti diagnostického vyšetření pro aneuploidii a v případě pozitivity vyžaduje provedení diagnostického vyšetření karyotypizací. Existují však i testy využívající cffDNA z mateřské plazmy, splňující požadavky diagnostického testu bez nutnosti verifikace invazivní intervencí. Jedná se o NIPD (noninvasive prenatal diagnosis), tyto jsou však primárně určeny pro detekci paternálních dědičných stavů plodu (unikátní fetální DNA sekvence, které nejsou obsaženy v mateřském genotypu).⁶

Tradiční screeningové metody fetálních aneuploidií

U fyziologicky se vyvíjejícího plodu lze koncem prvního trimestru gestace prokázat kumulaci tekutiny v podkoží oblasti fetálního krku a záhlaví. Sonografický náleznahromaděné tekutiny je v anglosaské odborné literatuře označován termínem nuchal translucency.⁷ V české odborné literatuře se pro nálezn kolekce tekutiny v oblasti záhlaví plodu pozorovaného koncem prvního trimestru vžil termín

šijové projasnění. U zdravých plodů se šíře šijového projasnění zvětšuje s hodnotou CRL. Maximální hodnota se pozoruje kolem 13. týdne a následně se šíře snižuje. Po 14. gestačním týdnem je parametr neměřitelný.^{8,9} Šijové projasnění reprezentuje nejvýznamnější sonografický minor marker I. trimestru těhotenství, který nevykazuje významnou vazbu na biochemické markery mateřského séra I. trimestru free β -hCG a PAPP-A. Závislost mezi parametrem projasnění šíje a biochemickými markery nebyla prokázána u plodů s trizomií 21 ani u plodů s normálním karyotypem. Vzhledem k neexistující závislosti sonografického markeru na biochemických markerech lze obě skupiny kombinovat a využít k individuální kalkulaci rizika chromozomální aberace (trizomie 21) v rámci screeningu. Kombinací hodnoty šijového projasnění, hodnot biochemických markerů a věku těhotné lze detekovat 90 % plodů s trizomií 21 při 5% falešné pozitivitě.¹⁰ Využitím algoritmu pro detekci trizomie 21 lze potvrdit 75 % procent plodů s trizomií 18 a 13. Kombinací s určením srdeční frekvence a zařazením specifického algoritmu pro trizomii 18 a 13 lze docílit 91% detekce trizomie 18 a 87% detekce trizomie



▲ Obr. č. 2: Plod s abnormální hodnotou šijového projasnění (NT 5 mm) u kterého byla následně prokázána abnormální chromozomální výbava (47+21). Šijové projasnění představuje nejvýznamnější sonografický minor marker I. trimestru gestace



13.¹¹ Společně se šíjovým projasněním lze individuální riziko pro chromozomální aberaci dále upřesnit s využitím dalších sonografických markerů I. trimestru gestace. Jedná se o nosní kost, obličejový úhel a dva dopplerovské parametry zahrnující vyšetření fetálního venózního ductu a hodnocení toku na trikuspidální chlopní. Zatímco nosní kost a obličejový úhel mají vztah k chromozomálním aberacím, u dopplerovských parametrů lze v případě venózního ductu navíc prokázat vztah k přítomnosti závažné srdeční vady a riziku fetálního úmrtí. Odchylky toku na trikuspidální chlopní vykazují asociaci s aberacemi chromozomů a se srdečními vadami.

Využití NIPT pro detekci trizomie 21, 18 a 13

Základní princip NIPT u trizomie 21 je založen na detekci zvýšeného počtu DNA fragmentů 21 chromozomu v mateřské plazmě. Plod s trizomií 21 uvolňuje do mateřské cirkulace – v důsledku přítomnosti třetí kopie 21 chromozomu – více DNA fragmentů 21 chromozomu v porovnání s ostatními chromozomy.

DNA sekvenace cfDNA mateřské plazmy, obsahující směs mateřské a fetální DNA, umožňuje podrobný odhad dávky fetálního chromozomu 21 (dvě nebo tři kopie) prostřednictvím určení počtu fragmentů vycházejících z každého chromozomu. Počet fragmentů 21 chromozomu je následně porovnán a vztážen k referenčnímu počtu ostatních předpokládaných diploidních chromozomů. Následná statistická analýza určí, zda je přítomen vyšší počet chromozomu 21. K dispozici je několik NIPT platforem využitelných k detekci aneuploidii:

a) Masivní paralelní sekvenace: v anglosaské odborné literatuře je tento přístup označován jako MPS (massively parallel sequencing) nebo také náhodná celogenomová sekvenace (random whole genome sequencing).

Metoda umožní rychlou sekvenaci malých oddílů „reads“, náhodně vybraných DNA fragmentů na úrovni jednotlivých nukleotidů. Pouze část každého DNA fragmentu je sekvenována. Většinou se jedná o fragment o 36 párech bází. I tato malá část však postačí, aby byl fragment DNA mapován a umístěn na odpovídající chromozom původu.¹² I když uvedená metoda pracuje se směsí DNA fragmentů a nerozlišuje mezi fragmenty mateřskými a fetálními, byly v roce 2008 publikovány práce demonstrující identifikaci fetální trizomie.^{13,14} MPS metoda počítá směrodatnou odchylku odhadovaného počtu každého chromozomu a stanoví

realizován prostřednictvím metody PCR (polymerase chain reaction), kdy dochází k amplifikaci segmentů DNA, které jsou jedinečné pro daný chromozom. Finální DNA směs, která je podrobena sekvenaci, je bohatá na fragmenty uvedených chromozomů a náklady a čas sekvenace jsou tímto redukovány. Individuální odhad rizika trizomií nebo aberací gonozomů je následně počítán s využitím parametrů populačního rizika (mateřský věk a gestační stáří), výsledku sekvenace a fetální frakce. Riziko 1 : 100 a více reprezentuje vysoce rizikovou skupinu.

c) **SNP sekvenace:** v anglosaské odborné literatuře je tento přístup



z-skóre. Pokud je počet fragmentů 21 chromozomu v testovaném vzorku zvýšený o více než 3 směrodatné odchylky oproti normě, je riziko trizomie 21 chromozomu zvýšené.

b) Chromozom selektivní cílená sekvenace: v anglosaské odborné literatuře je tento přístup označován jako CSS (chromosome-selective sequencing). Na rozdíl od předešlé metody, kdy dochází k sekvenaci směsi DNA fragmentů plazmy, je u CSS plazma obohacena o preselektované fragmenty chromozomů 13, 18, 21 a pohlavních chromozomů. Proces obohacení je

označován jako single nucleotide polymorphism based sequencing (sekvenace na podkladě jednonukleotidového polymorfismu). U této metody je DNA extrahována z mateřské plazmy (obsahuje mateřskou cfDNA a cffDNA) a z mateřských leukocytů (pouze mateřská celulární DNA). Následně dochází k cílené amplifikaci ~ 20 000 SNPs chromozomů 21, 18, 13, X a Y. Poté je měřena variabilita na každém SNP lokusu. Fetální genotyp je odvozen na základě porovnání výsledku sekvenace mateřských leukocytů a plazmy. SNP sekvenace je



schopna rozlišit mezi mateřským a fetálním zdrojem DNA a může rovněž obsahovat paternální zdroj genetické informace.¹⁵

Fetální frakce

Důležitým faktorem ovlivňujícím provedení NIPT je údaj o fetální frakci. Fetální frakce udává podíl cfDNA v celkové cfDNA mateřské plazmy.¹⁶ Pokud je podíl fetální frakce nízký, je detekce aneuploidie plodu obtížnější. Je celá řada biologických faktorů, které mají na podíl frakce vliv. Například zvýšená hmotnost těhotné ženy významně negativně souvisí s fetální frakcí. Až 7 % těhotných žen s hmotností nad 100 kg má fetální frakci < 4 %. Řada laboratoří udává podíl fetální frakce kolem 4 % jako hraniční pro analýzu. Vedle hmotnosti matky ovlivňuje hodnotu frakce gestační stáří a typ chromozomální aberace.

Senzitivita a specifická NIPT

Efektivita NIPT v rámci screeningu fetálních aneuploidií je vysoká a dosahuje lepších výsledků než standardní rutinně používané vyhledávací testy. Metaanalýza prací publikovaná v roce 2016 prokázala senzitivitu NIPT pro detekci trizomie 21; 99,3 %, trizomie 18; 97,4 % a trizomie 13; 97,4 %.¹⁷ V témže roce vydává Americká společnost lékařské genetiky a genomiky stanovisko, že lze na základě recentních dat informovat těhotné ženy o možnosti využití NIPT jako nejefektivnějším screeningovém testu pro trizomii 21, 18 a 13.¹⁸ Pro klinickou praxi je rovněž důležitý údaj o specifitě screeningového testu. Test s vysokou specifitou znamená málo falešně pozitivních výsledků, tento parametr vyhledávacího testu je žádoucí, jelikož klesá skupina žen indikovaných k invazivní intervenci pro pozitivitu (falešnou) testu. Specifita pro trizomii 21 je vysoká, 99,9 %. Celková kumulativní falešná pozitivita testu pro

aneuploidie 21, 18, 13 a aberace gonozomů je 0,72 %. Tedy přibližně 1 : 140. Tato relativně suboptimální hodnota jde na vrub X chromozomu a je způsobena nepoznaným mateřským mozaicismem a většinou podmíněnými ztrátami.¹⁹ Pozitivní prediktivní hodnota (PPH) je parametr charakterizující vyhledávací test. Udává pravděpodobnost onemocnění v případě, že je výsledek screeningového testu pozitivní. To znamená v případě NIPT, že výsledek vyšel v pásmu zvýšeného rizika. Senzitivita a specifita jsou charakteristiky testu vlastní, negativní a pozitivní prediktivní hodnota záleží na charakteru složení populace a frekvenci výskytu nemoci, kde je test prováděn. PPH bude nižší v nízkorizikové populaci žen a naopak. PPH je nižší pro chromozomy 13, 18 a pohlavní chromozomy v porovnání s chromozomem 21.

Iniciální studie a využití NIPT byly původně prováděny na vysoce rizikových populacích. Zde dosahovala PPH pro trizomii 21 80–90 %. Recentní data demonstřují, že PPH NIPT předčí výsledky kombinovaného screeningu I. trimestru v neselektované populaci. V kohortě těhotných s průměrným věkem 30 let (riziko trizomie 1 : 700) je PPH NIPT pro trizomii 21 45,5 a pro trizomii 18 40 %. Z uvedeného je zřejmé, že pozitivní výsledek NIPT je nutno potvrdit diagnostickou metodou, zvláště pak, je-li ve hře varianta ukončení těhotenství. V případě, že pár obdrží informaci, že je výsledek NIPT testu negativní a riziko aneuploidie je nízké, je pravděpodobnost přítomnosti fetální aneuploidie velice nízká. I když je tato informace velice uklidňující, test 100% nevyločil přítomnost fetální aneuploidie. Pravděpodobnost falešně negativního testu pro trizomii 21 v rizikové populaci (1 : 100) je udávána v poměru 1 : 10 000. Abychom znali skutečnou falešnou negativitu testu, potřebujeme mít k dispozici rozsáhlé studie na neselektované populaci s větším počtem falešně negativních nálezů.

Selhání metody

Neschopnost předat páru výsledek NIPT testu je spojen s nízkou fetální frakcí, selháním laboratorní metody nebo administrativní chybou. V anglosaské odborné literatuře jsou tyto stavy označeny termínem „no call results“. Jednou z nejčastějších příčin nedostupnosti výsledků NIPT testu je nízká fetální frakce vyšetřovaného vzorku. Podmínkou pro získání výsledku je minimální přítomnost fetální frakce 2–4 %.²⁰ Fetální frakce je ovlivněna řadou biologických faktorů, jako je například váha matky, četnost těhotenství, gestační stáří. Typ NIPT testu má rovněž vliv na frekvenci jeho selhání. Nejvyšší pravděpodobnost selhání je uváděna u sekvenace na podkladě jednonukleotidového polymorfismu (6,4 %). Naopak nejnižší pravděpodobnost selhání je udávána u masivní paralelní sekvenace (1,6 %).²¹ Určité typy fetálních aneuploidií, mezi které patří například trizomie 13 a triploidie, bývají rovněž často spojeny se sníženou fetální frakcí a selháním metody. Proto je nutné počítat s možností přítomnosti fetální aneuploidie v případě, kdy není dostupný výsledek z důvodu nízké fetální frakce, a přizpůsobit tomu genetickou konzultaci. Zvýšená mateřská hmotnost rovněž snižuje fetální frakci a je nutno tímto směrem obězní těhotné informovat.

V roce 2016 publikovaná metaanalýza udává selhání testu mezi 0–12,7 %. V souboru 5 789 žen, které měly iniciální selhání testu a u nichž proběhl druhý odběr, jich 13,9 % mělo opět selhání metody.

Management v případě selhání metody by měl být veden v souladu s možnými příčinami, které k selhání mohou vést. Na prvním místě je třeba uvažovat o možnosti selhání v důsledku možné přítomnosti fetální aneuploidie. Možnosti, které máme k dispozici, jsou následující: a) kombinovaný screening I. trimestru, pokud se těhotná nachází ve vhodném období I. trimestru; b) podrobné



sonografické vyšetření se zaměřením na ultrazvukové markery chromozomální aberace; c) diagnostickou invazivní intervenci. Opakovat NIPT může být úspěšné až v 50 % případů, nicméně může nastat časová prodleva v případě opakovaného selhání metody. Těhotná se může dostat do vyšších gestačních týdnů, což v případě průkazu přítomnosti fetální aneuploidie a případného ukončení gravidity ve vyšším gestačním týdnu není žádoucí. Americká společnost lékařské genetiky a genomiky nedoporučuje NIPT v případě selhání opakovat.¹³

Klinická implementace

Existuje několik návrhů klinické implementace NIPT. V současné době se diskutuje kontingenční model provedení NIPT. Pacientkám, které podstoupily kombinovaný test v I. trimestru s výsledkem vysokého individuálního rizika, je nabídnuta invazivní diagnostická intervence. Ženám s intermediálním individuálním rizikem je nabídnut NIPT.²² Ve Velké Británii proběhly studie sledující efektivitu kontingenčního provedení NIPT u pacientek s kombinovaným testem I. trimestru nebo II. trimestru, u nichž bylo individuální riziko vyšší než

1 : 1000. Výsledky demonstrovaly zvýšenou detekci plodů s trizomií 21, nižší incidenci invazivních diagnostických intervencí a pokles těhotenských ztrát v důsledku komplikace v návaznosti na amniocentézu či biopsii choria, bez rozdílu finančních nákladů mezi skupinami.^{23,24} Na základě uvedených studií subjekt ve Velké Británii mající na starosti

screeningové programy doporučil NIPT u všech těhotných s individuálním rizikem vyšším než 1 : 150. Obdobný trend lze zaznamenat i v ostatních zemích Evropy (Nizozemsko) a Ameriky (Kanada). Americká společnost lékařské genetiky a genomiky navrhuje doporučení NIPT ženám s rizikem fetální aneuploidie.¹³

Další z možností, jak aplikovat NIPT, je jeho univerzální využití v kombinaci se sonografickým vyšetřením konce I. trimestru. Tato varianta je spojena s nejvyšší detekcí, ale i nejvyššími ekonomickými náklady.²⁵

Případy nevhodné k NIPT

NIPT představuje výborný screeningový test pro nejčastější aberace autozomů a gonozomů, ale není schopen podat tak detailní popis stavu jako invazivní diagnostika. Před NIPT by mělo být provedeno sonografické vyšetření mezi 11–14. gestačním týdnem. Až v 16 % případů rizikových pacientek lze detekovat nález popisující odlišnou dataci, vícečetnou

Před podstoupením NIPT je zapotřebí

- Poskytnout rodičům informaci o možnostech a dostupnosti vyhledávacích (screeningových) testů, test není povinný.
- Vysvětlit rozdíl mezi testem screeningovým a diagnostickým.
- Vysvětlit klinické znaky, důsledky a perspektivy onemocnění, které vyhledáváme.
- Jak a kdy test provést: odběr mateřské krve po 10. týdnu gestace.
- Přibližně vysvětlit technologii testu.
- Vysvětlit, v jakém formátu jsou předány výsledky: vysoké riziko; nízké riziko; výsledek nestanoven (no call).
- Vysvětlit výsledek testu: míra detekce; falešná pozitivita, falešná negativita; negativní prediktivní hodnota; pozitivní prediktivní hodnota.
- Nastínit možné kroky pro případ, že výsledek testu bude pozitivní → potvrzení výsledku testu pomocí amniocentézy nebo biopsie choria.
- Vysvětlit limitace testu v případě podezření na jiné chromozomální aberace vyžadující invazivní diagnostickou intervenci s následným testováním.

▲ Tab. 1: Body, které by měly být konzultovány společně s rodiči před absolvováním NIPT



graviditu, zamlklé těhotenství nebo přítomnost strukturální vady.²⁶ Pokud je NIPT proveden u pacientky se zvýšeným rizikem méně běžné chromozomální aberace (jiná než trizomie 21, 18, 13 a X nebo Y), je nutné pacientku informovat o potenciální možnosti nedetekovat klinicky významnou chromozomální aberaci, kterou bychom bez obtíží detekovali pomocí klasické invazivní diagnostiky. Dalšími skupinami, kdy není NIPT vhodný, je sonografický nález strukturální vady, hodnoty abnormálního šíjového projasnění > 3,5 mm nebo extrémně abnormální nález sérových analytů mateřského séra v I. trimestru (byl-li proveden).²⁷ Není vhodné indikovat NIPT u pacientek s vysokým individuálním rizikem na základě výsledku kombinovaného testu I. trimestru. V případě vysokého rizika je indikovaná invazivní diagnostika. Trizomie 21, 13 a 18 představují zhruba 71 % všech chromozomálních aberací.²⁸ Pokud bychom u pacientek s rizikem vyšším než 1 : 50 nebo závažným morfologickým ultrazvukovým nálezem volili NIPT, nepodaří se detekovat 1 případ závažné aneuploidie z 302.²⁹ Pokud konzultujeme pár, který vyžaduje maximum informací týkajících se těhotenství, je vhodnější indikovat rovnou diagnostický test stanovující karyotyp.

NIPT a aberace gonozomů

Prevalence monozomie X (Turnerův syndrom) je udávána mezi 1–1,5 %.³⁰ Je doprovázena vysokým rizikem těhotenské ztráty. NIPT u monozomie X byl zaveden v roce 2012 a řada výrobců v současné době test nabízí. Řada aberací gonozomů však zcela nespĺňuje klasická kritéria pro celoplošný screening. Z tohoto důvodu se kolem NIPT u aberací gonozomů objevují četné, hlavně etické diskuse. Dalším potenciálním zdrojem diskusí je přesnost NIPT u aberací gonozomů, která není tak vysoká jako u trizomie 21, 18 a 13. Příčinou je vyšší potenciál pro maternální biologickou variabilitu X chromozomu.

Míra detekce (detection rate) Turnerova syndromu pomocí NIPT se pohybuje kolem 90,3 % při falešné pozitivitě 0,23 %.

Subchromozomální abnormality

Jsou zodpovědné za celou řadu dobře definovaných genetických syndromů, jako je například 22q11.2 deleční syndrom (Di George sy.), Cri du chat, Prader-Willi sy., Angelman sy. a jiné. Jejich příčina tkví v duplikaci nebo deleci DNA v rámci chromozomu. Řada těchto subchromozomálních abnormalit je příliš malá, aby byla detekována v rámci klasického vyšetření karyotypu, a tak jsou detekovány molekulárně cytogenetickými metodami (microarray). U 1,7 % sonograficky nepodezřelých plodů s normálním výsledkem klasického cytogenetického vyšetření je pomocí microarray detekována klinicky významná abnormalita na subchromozomální úrovni.³¹ Od roku 2013 řada výrobců nabízí NIPT platformu pro screening subchromozomálních abnormalit. Vzhledem k jejich nízké prevalenci (klinicky významné) je pozitivní prediktivní hodnota NIPT screeningu podstatně nižší než u ostatních aberací. Vysoká negativní prediktivní hodnota reflektuje spíše vzácnost jejich výskytu než efektivitu testu samotného.³²

Neshoda výsledku screeningového a diagnostického testu

Karyotyp materiálu získaného amniocentézou odráží skutečný karyotyp plodu, jelikož je stanoven ze skutečně fetálních buněk. V případě NIPT však mohou nastat stavy falešné positivity, jelikož je analyzován materiál DNA mateřského a fetoplacentárního původu. Můžeme tak detekovat odchylku, která má mateřský či placentární původ, nevyskytuje se však u plodu. Příčinami této biologické falešné positivity jsou například syndrom

mizejícího dvojčete, placentární mozaicismus, mateřská mikrodelece nebo neoplazie matky.³³

Zavedení NIPT zásadně změnilo koncepci screeningu vrozených vývojových vad. Jeho dostupnost klade větší nároky na konzultující lékaře a vyžaduje dokonalé pochopení principu, výhod a limitací tohoto testu, včetně jeho umístění do stávajících a etablovaných vyhledávacích testů. Body vhodné k diskusi s rodiči před podstoupením NIPT jsou uvedeny v tabulce 1.



Závěr

Screening nejčastějších typů autozomálních aneuploidií (trizomie 21, 18 a 13) na podkladě cfDNA v mateřské cirkulaci patří v současné době k nejlepšímu vyhledávacímu testu s mimořádnou senzitivitou a specifitou. Implementace tohoto testu do klinické praxe představuje pro zdravotníky výzvu. Důvodů je několik, technologie je zcela nová a rychle se dále vyvíjí, stále se učíme správně porozumět biologii cfDNA v mateřské plazmě a nelze opomenout ani ekonomické hledisko. Co se týče trizomie 21, 18 a 13, jedná se o screeningový test pro nízko i vysoko rizikovou populaci těhotných, který však kvůli existenci vzácné falešné positivity nedosahuje přesnosti diagnostického testu. Přesah NIPT k ostatním chromozomálním odchylkám a mikrodelečním syndromům nás nutí revidovat naše dosavadní zažitá pohledy na prenatalní screening.



doc. MUDr. Ladislav Krofta, CSc., MBA

Ústav pro péči o matku a dítě, Podolské nábřeží 157, Praha 4 – Podolí

Kontakt: ladislav.krofta@post.cz

Pracuje jako zástupce ředitele ÚPMD, je odborným asistentem na 3. LF UK v Praze a člen katedry gynekologie a porodnictví Institutu postgraduálního vzdělávání. Vystudoval 1. LF UK v Praze s atestací z gynekologie a porodnictví, urogynekologie a fetomaternální medicíny. Mimo to působí v řadě českých a zahraničních odborných organizací.

LITERATURA

- Lo YM, Corbetta N, Chamberlain et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997; 350: 485–487.
- Haglic M, Vora NL, Basu S et al. Increased death of adipose cells, a path to release cell-free DNA in to systemic circulation of obese women. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 202213–2219.
- Alberry M, Maddocks D, Jones M et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* 2007; 27: 415–418.
- Wang E, Batey A, Struble C et al. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn* 2013; 33: 662–666.
- Hui L, Vaughan JI, Nelson M. Effect of labor on postpartum clearance of cell-free fetal DNA from the maternal circulation. *Prenat Diagn* 2008; 28: 304–308.
- Hill M, Twiss P, Verhoef T et al. Non-invasive prenatal diagnosis for cystic fibrosis: detection of paternal mutations, exploration of patient preferences and cost analysis. *Prenat Diagn* 2015; 35: 950–958.
- Nicolaidis KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992; 304: 867–869.
- Braithwaite J, Morris R, Economides D. Nuchal translucency measurements: frequency distribution and changes with gestation in a general population. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102: 957–962.
- Pajkrt E, de Graaf I, Mol B et al. Weekly nuchal translucency measurements in normal fetuses. *Obstet Gynecol* 1998; 91: 208–211.
- Kagan KO, Wright D, Baker A et al. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31: 618–624.
- Kagan KO, Wright D, Valencia C et al. Screening for trisomy 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free β -hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Human Reproduction* 2008; 23: 1968–1975.
- Lo YM. Non-invasive prenatal testing using massively parallel sequencing of maternal plasma DNA: from molecular karyotyping to fetal whole-genome sequencing. *Reprod Biomed Online* 2013; 27: 593–598.
- Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U et al. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 16266–16271.
- Chiu RW, Chan KC, Gao Y et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 20458–20463.
- Zimmerman B, Hill M, Gemelos G et al. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenat Diagn* 2012; 32: 1233–41.
- Canick JA, Palomaki GE, Kloza et al. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn* 2013; 33: 667–74.
- Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2016; 6: e010002.
- Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 2016; 18: 1056–1065.
- Gil MM, Quezada MS, Revello R et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 249–266.
- Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F et al. The importance of determining the limit of detection of non-invasive prenatal testing methods. *Prenat Diagn* 2016; 36: 304–311.
- Yaron Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon. *Prenat Diagn* 2016; 36: 391–396.
- Gil MM, Revello R, Poon LC et al. Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol*; 47: 45–52.
- Chitty LS, Wright D, Hill M et al. Uptake, outcomes, and costs of implementing non-invasive prenatal testing for Down's syndrome into NHS maternity care: prospective cohort study in eight diverse maternity units. *BMJ*; 354: i3426.
- Chitty LS, Cameron L, Daley R et al. RAPID Non-invasive prenatal testing (NIPT) evaluation study. *Executive Summary*. 2015.
- Nicolaidis KH, Syngelaki A, Ashoor G et al. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 207: 374.e1–6.
- Vora NL, Robinson S, Hardisty SS et al. The utility of a prerequisite ultrasound at 10-14 weeks in cell free DNA fetal aneuploidy screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 47: 465–469.
- Petersen OB, Vogel I, Ekelund C et al. Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: population-based study from a country with existing first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 43: 265–71.
- Wellesley D, Dolk H, Boyd PA et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *Eur J Hum Genet* 2012; 20: 521–526.
- Maxwell S, Dickinson JE, Murch et al. The potential impact of NIPT as a second-tier screen on the outcomes of high-risk pregnancies with rare chromosomal abnormalities. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2015; 55: 420–426.
- Hook EB, Warburton D. Turner syndrome revisited: review of new data supports the hypothesis that all viable 45, X cases are cryptic mosaics with a rescue cell line, implying an origin by mitotic loss. *Hum Genet* 2014; 133: 417–424.
- Wapner RJ, Martin CL, Levy B et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 2175–2184.
- Hui L. Cell-free DNA testing for 22q11.2 deletion syndrome: appraising the viability, effectiveness and appropriateness of screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 137–141.
- Hartwig TS, Ambye L, Sorensen S et al. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT)-a systematic review. *Prenat Diagn* 2017; 37: 527–539.



Od roku 2012, kdy se poprvé na trhu objevily neinvazivní prenatalní testy, se toho příliš v technologii a principech nezměnilo. Vyšetření postižení plodu nejčastějšími a nejzávažnějšími chromozomálními vadami (Downův syndrom, Edwardsův syndrom, Patauův syndrom) je založeno na odběru krve těhotné ženy, ze které se izoluje volná mimobuněčná DNA plodu. Provedení neinvazivního testu se s výhodou může využít především tam, kde kvůli abnormálnímu výsledku biochemického screeningu z krve ženy nebo vyššímu věku matky, případně rizikové rodinné anamnéze u nejbližších příbuzných či nálezům v předchozím těhotenství, je zvýšené riziko Downova, Edwardsova či Patauova syndromu.

Harmony® Prenatal Test – neinvazivní prenatalní test

Ing. JAROSLAV VOHÁNKA, Ph.D., MBA

Roche s.r.o., Diagnostics Division

Testy Harmony® (správně Harmony® Prenatal Test) jsou zasílány do certifikované CLIA laboratoře v San José (Kalifornie) nebo do certifikovaných laboratoří v Evropě, kde jsou nejpozději do jednoho pracovního týdne zpracovány. Výsledky jsou po provedení validního testu zasílány zpět lékaři prostřednictvím e-mailu.

Za úspěšností testu Harmony® stojí velká zaslepená studie NEXT, která zahrnovala 23 tisíc těhotných žen ve věku od 18 do 48 let.^{1,2,3,4,5} V současné době se pomocí Harmony® vyšetřuje ve více než 100 zemích celého světa a počet provedených a reportovaných testů přesáhl 1,4 milionu.

Velmi důležitým parametrem pro správné posouzení výsledku je měření obsahu fetální frakce, která je v testu sledována. Test Harmony® má extrémně nízkou falešnou pozitivitu (< 0,1 %) a vysokou pozitivní prediktivní hodnotu pro trizomii 21. Ve studii NEXT s Harmony® činila pozitivní prediktivní hodnota 81 % v porovnání s 3,4 % pro kombinovaný screeningový test v prvním trimestru. Vyšší přesnost

harmony®

a nižší falešná pozitivita krevního testu Harmony® současně minimalizují obavy žen z invazivního vyšetření.

Cílený přístup k sekvenování

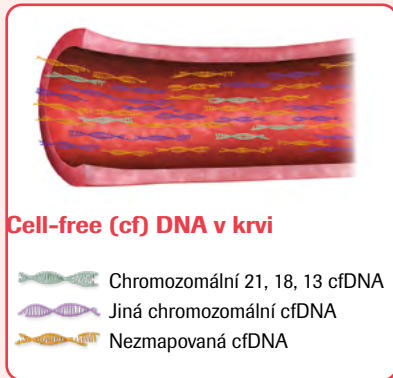
Testy Harmony® jsou založeny na unikátní kombinaci chromozomální

Harmony® Test – základní vyšetření	Trizomie 21 (Downův syndrom) Trizomie 18 (Edwardsův syndrom) Trizomie 13 (Patauův syndrom)
Doplňkové testy	Určení pohlaví plodu Monozomie X* Aneuploidie chromozomu X a Y* 22q11.2 delece* <i>*Jednočetná těhotenství</i>
Validované pro širokou populaci (u žen od ukončeného 10. týdne těhotenství)	<ul style="list-style-type: none"> Jednočetná i vícečetná těhotenství Těhotenství, která vznikla přirozeným početím nebo při umělém oplodnění vlastních oocytů Vysoce riziková a méně riziková těhotenství Věk matky nižší i vyšší 35 let
Klinické využití ve screeningu u běžné populace	Harmony® je nejrozšířenější test založený na principu cell-free DNA, což dokládá více než 148 000 těhotenství popsaných ve 48 recenzovaných publikacích ⁶

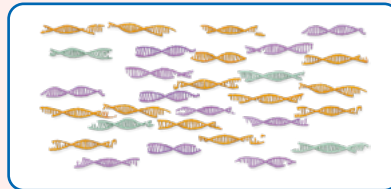


Cílený přístup k sekvenování

Chromozomy 13, 18 a 21 dohromady tvoří méně než 10 % genomu. Cílené sekvenování pouze vybraných regionů umožňuje podrobnější analýzu a díky tomu přesnější a spolehlivější výsledky.^{7,9-11}

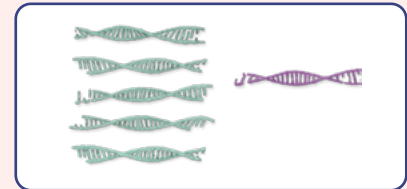


Jiné metody NIPT / masivní paralelní shotgun sekvenování



Náhodná analýza

Harmony® (DANSR™)



Podrobnější analýza a jasnější výsledky

Seznam zkratk: NIPT (Non-invasive Prenatal Testing) – neinvazivní prenatální testy; SNP (Single Nucleotide Polymorphism), technologie založená na principu rozlišení nukleových kyselin dle jednotlivých nukleotidových polymorfizmů, nikoliv celých genomů; MPSS (Massive Parallel Shotgun Sekvenování) – masivní paralelní shotgun sekvenování.

kvantifikace a SNP technologie, která se nazývá DANSR™ (**D**igital **A**nalysis of **S**electe**d** **R**egions), a na početním algoritmu FORTE™ (**F**etal **F**raction **O**ptimized **R**isk of **T**risomy). DANSR cílí na oblasti, které jsou na chromozomech specifické a umožňují tak daleko hlubší analýzu chromozomu oproti běžnému a náhodnému masivnímu paralelnímu

shotgun sekvenování MPSS nebo SNP sekvenování, jež se často používají u jiných konkurenčních NIPT testů. Navíc DANSR™ a celý design testu byly přizpůsobeny měření fetální frakce cell-free DNA ve vzorku reprezentujícím procento DNA, které přechází z plodu do oběhu matky. Technologicky je poté analýza provedena pomocí DNA microarrays.

Přesné stanovení fetální frakce

FORTE™ algoritmus umožňuje přesně odlišit mezi vysoce a nízké rizikovými výsledky dokonce i při malé fetální frakci:^{8,9}

- započítává maternální rizikové faktory a přesné měření fetální frakce DNA,
- započítává individuální skóre každého pacienta.



Ing. Jaroslav Vohánka, Ph.D., MBA

Roche s.r.o., Diagnostics Division

Kontakt: jaroslav.vohanka@roche.com

Ve společnosti Roche pracuje od roku 2007. Do konce roku 2018 vedl molekulární, tkáňovou a sekvenační skupinu.

Od ledna 2019 řídí novou divizi Roche DIS (Diagnostics Information Solutions) s cílem zavést nejnovější řešení pro

onkologické multioborové týmy a pomoci jim v klinickém rozhodování. Volný čas tráví především s rodinou, na zahradě, na rybách nebo na výletech.

LITERATURA

- 1 Stokowski et al (2015), *Prenat Diagn*, doi: 10.1002/pd.4686.
- 2 Norton et al (2015), *N Engl J Med*. Apr 23; 372(17): 1589-97.
- 3 Nicolaidis et al (2012), *Am J Obstet Gynecol*. 207: 374.e1-6.
- 4 Gil et al (2013), *ULTRASOUND Obstet Gynecol*. Jul; 42(1): 34-40.
- 5 Verweij et al (2013), *Prenat. Diagn. Jun*; 33(6): 1-6.
- 6 Demonstrated by 48 peer-reviewed published studies using the Harmony prenatal test as of Jan 2018. For the entire 48 references, please go to harmonytest.com/references
- 7 Sparks et al (2012), *Prenat Diagn. Jan*; 32(1): 3-9.
- 8 Sparks et al (2012), *Am J Obstet Gynecol. Apr*; 206(4): 319.e1-9.
- 9 Juneau et al (2014), *Fetal Diagn Ther.*; 36(4): 282-6.
- 10 Rava et al (2014), *Clin Chem. Jan*; 60(1): 243-50.
- 11 Jensen et al (2013), *PLoS One.*;8 (3): e57381.



Neonatologie zaznamenala za poslední desetiletí obrovský pokrok, a to převážně v péči o předčasně narozené novorozence. Co však zůstává stále palčivým problémem a tématem mnoha výzkumných skupin, je novorozenecká sepe. Péče o předčasně narozené novorozence se soustřeďuje do perinatologických center (v ČR 12), je to tedy okruh velmi úzký. Avšak se septickým novorozencem se setkává i lékař pracující na oddělení fyziologických novorozenců. V tomto článku uvádíme přehled běžně užívaných laboratorních markerů. Druhou část sdělení věnujeme novým možnostem diagnostiky sepse.

Možnosti laboratorní diagnostiky novorozenecké sepse

MUDr. ANNA BAŠTAN,¹ RNDr. JITKA PROŠKOVÁ²

¹ Dětská klinika Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice Olomouc

² Oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice Olomouc

Úvod

Novorozeneckou sepsi dělíme na časnou, tzv. early-onset sepsis (EOS), a pozdní, tzv. late-onset sepsis (LOS). EOS je definována jako sepe, která vznikla přestupem bakterií vertikálně z matky na dítě před porodem nebo během něj a objeví se do 72 hodin od porodu.

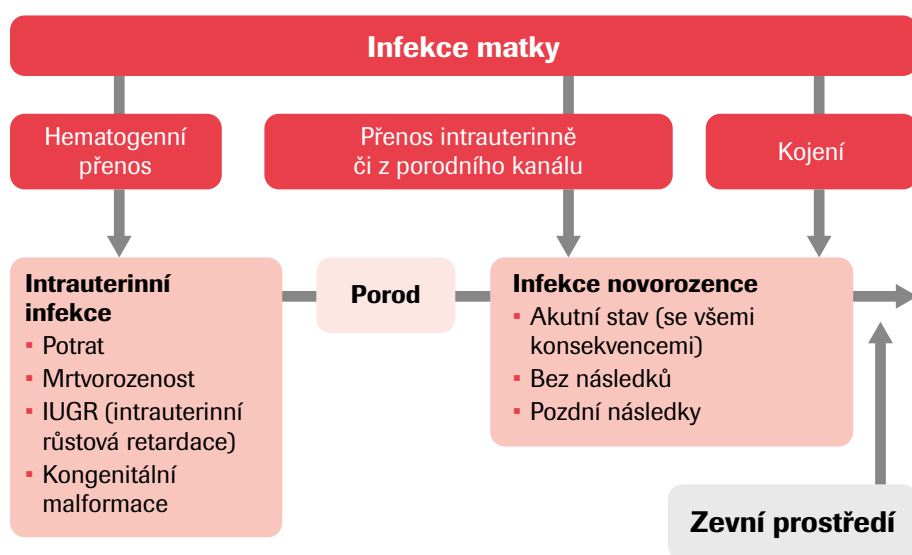
Naproti tomu pozdní sepsi definujeme jako sepsi vzniklou až po 72 hodinách života novorozence a je způsobena

patogeny získanými během porodu či častěji „díky“ pobytu dítěte v nemocnici.¹

Včasná diagnostika a zahájení terapie rozhodují zásadním způsobem o osudu dítěte. Novorozenecká sepe je důležitou příčinou morbidit a mortality novorozenců.

Klasická definice sepse se opírá o výskyt klinických příznaků zánětlivé reakce organismu (SIRS) a průkaz patogenní bakterie v krevním vzorku (pozitivní hemokultura).

Interpretace výsledků je však komplikovaná (viz níže) a klinické příznaky zánětlivé reakce organismu jsou v novorozeneckém období nespecifické, proto je zapotřebí dalších laboratorních diagnostických nástrojů.



▲ Cesty přenosu kongenitálních infekcí a časné a pozdní novorozenecké sepse a jejich následky. Upraveno dle Vergnano S., Heath, P.T. Fetal and neonatal infections. *Medicine* 41(12). 723-729 (2013).



Laboratorní markery sepsy – běžně využívané

Hemokultura

Zlatým standardem v diagnostice sepsy je průkaz původce z hemokultury. Jak již bylo řečeno, u novorozence je interpretace výsledků mnohdy složitá. Výsledek nemáme k dispozici dříve než za 24 či 48 h. Výtěžnost vyšetření klesá kvůli částečnému antenatálnímu podání ATB matce, technickým potížím či malému množství odebraného vzorku. Minimální požadované množství by mělo být 1 ml, ideálně 2 ml, což v případě novorozence není množství zanedbatelné.²

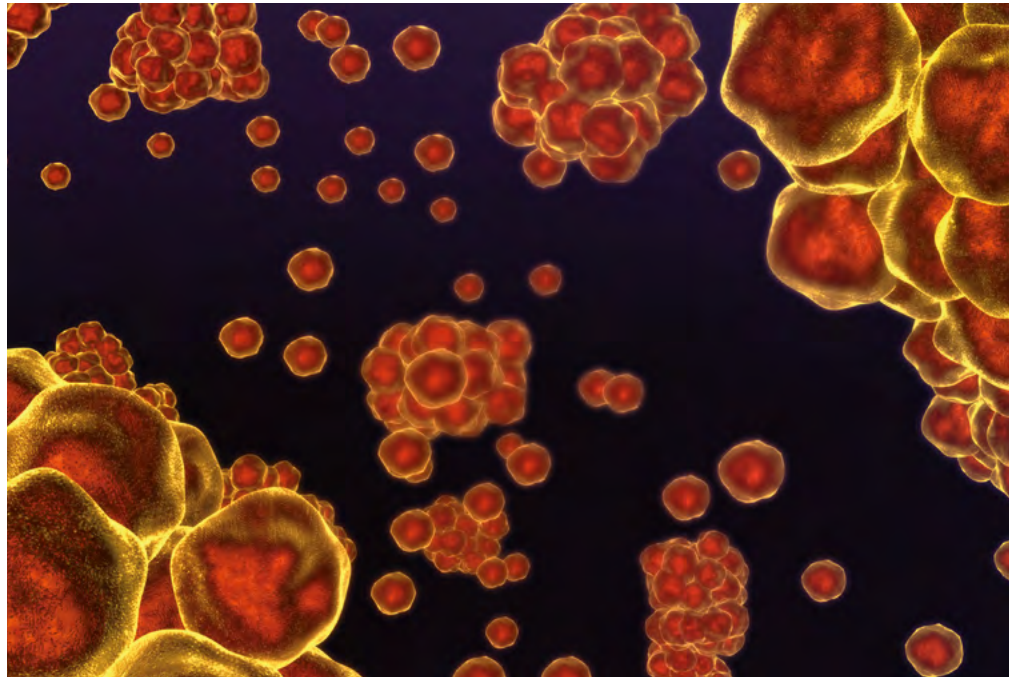
C-reaktivní protein

C-reaktivní protein (CRP) je syntetizován játry a patří mezi tzv. proteiny akutní fáze. Je to nejčastěji používaný laboratorní marker infekce. V porovnání s ostatními markery sepsy je levný a běžně dostupný ve všech nemocnicích. Interpretace hodnoty CRP v akutní fázi infekce je ale sporná. CRP není vhodným markerem pro včasnou diagnostiku časně novorozenecké sepsy, je však vhodný k monitoraci léčby, jelikož jeho hladina klesá po eradikaci infekčního stimulu.³

Stimulem pro vyplavení CRP je interleukin-6.^{4,5} Bender a kol. ve své studii z roku 2008 uvádějí, že medián maximální hladiny CRP je po infekčním stimulu 16–24 h, a zároveň zjistili, že CRP začne stoupat v době, kdy sérové hladiny IL-6 již klesají.⁶ Je to také marker nespecifický – zvýšené koncentrace CRP byly pozorovány i u neinfekčních stavů, jako je aspirace mekonium, nekróza tkáně, ale i po operaci.^{7,8}

Prokalcitonin

Prokalcitonin (PCT) je peptid, který je kódován CALC-1 genem lokalizovaným na chromozomu 11, a je prekurzorem kalcitoninu. Bakteriální infekce má za následek zvýšení exprese CALC-1 a následné uvolnění prekurzorů kalcitoninu ze všech tkání a buněk.⁹



▲ 3D ilustrace znázorňuje *Staphylococcus aureus* na černém pozadí, autor sonorileto, zdroj: Shutterstock

Prokalcitonin je využíván k diagnostice bakteriálních infekcí a k hodnocení prognózy septických onemocnění. V diagnostice časně novorozenecké sepsy je však hlavním úskalím jeho fyziologické zvýšení v prvních hodinách a dnech života. Nejvyšších fyziologických hodnot dosahuje mezi 18. a 30. hodinou života a k poklesu na obvyklé hodnoty dochází až během 48 hodin.^{10,11}

V diagnostice pozdní novorozenecké sepsy patří PCT svou dynamikou mezi střednědobé laboratorní markery infekce, jeho reakce je tedy rychlejší ve srovnání s CRP a také rychleji reaguje na úspěšnou ATB léčbu infekce.¹² Hladina PCT koreluje s tíží infekce, není ovlivněna virovými infekty.^{13,14} Při zohlednění fyziologického postnatálního vzestupu je PCT dobrým a poměrně specifickým markerem bakteriální infekce v novorozeneckém věku.

Stanovení PCT má ve své nabídce již většina laboratoří a výsledky jsou k dispozici ve statimovém režimu. PCT se stanovuje imunochemicky s vysokou přesností a citlivostí, cena vyšetření je oproti CRP více než desetinásobná.

Interleukin-6

Dalším proteinem akutní fáze využívaným v rámci časně diagnostiky novorozenecké sepsy časně i pozdní je interleukin-6 (IL-6). IL-6 je cytokin, který hraje jednu z hlavních rolí v obraně organismu, a to díky svému imunitnímu a hematopoetickému působení a – jak už bylo řečeno – schopnosti vyvolat odpověď akutní fáze.¹⁵ Cytokiny jsou malé molekuly, jejichž poločas v séru jsou minuty až hodiny.¹⁶ Jakmile dojde k uvolnění složek bakteriální buněčné stěny, hladina IL-6 rychle vzroste a maximálních hladin dosahuje v řádu několika hodin.¹⁷ Jde o velmi časný marker novorozenecké sepsy. Vzhledem k jeho krátkému poločasu je již 24 hodin po infekčním stimulu v plazmě téměř neměřitelný a není tedy vhodný k monitorování léčby.¹⁸

Překážkou pro dostupnost IL-6 na některých pracovištích zůstává jeho vysoká cena. Dnem 1. ledna 2020 nabyla účinnost vyhláška č. 269/2019 Sb., která mimo jiné přináší zařazení nového výkonu 81301 – *Stanovení interleukinu IL6 v lidském séru a plazmě pro odbornost 801 (klinické biochemie)*. Tím by se měla zlepšit dostupnost IL-6 na některých



▲ Ilustrační foto z Novorozeneckého oddělení FN Olomouc

pracovištích, protože dříve byl výkon vázán pouze na odbornost 813 (alergologie a klinická imunologie).

Všechna jmenovaná vyšetření ve FN Olomouc provádíme také z pupečnickové krve. Cut-off hodnoty vyšetření, které používáme v naší nemocnici, jsou uvedeny v tab. č. 1.

Laboratorní markery sepse – „nové“

Existuje celá řada slibných laboratorních markerů sepse. Jejich užití je však zatím koncentrováno převážně do perinatologických center, a to v rámci probíhajících studií.

Kalprotektin

Kalprotektin je členem rodiny S100 proteinů.¹⁹ Je to antimikrobiální protein,

který se nachází v cytosolu buněk vrozené imunity a uvolňuje se bezprostředně po interakci hostitel-patogen. Pro tuto svou vlastnost se používá jako laboratorní známka aktivace granulocytů a mononukleárů.²⁰ Měření hladiny tohoto S100 proteinu je již rutinně zavedeno např. v gastroenterologii v rámci diagnostiky nespecifických střevních zánětů či v revmatologii pro strategii biologické léčby juvenilní idiopatické artritidy.²¹⁻²³

Studii zaměřených na diagnostiku novorozenecké sepse je však zatím stále málo. V roce 2011 se Terrin a spol. zaměřili na diagnostiku pozdní novorozenecké sepse. Porovnávali kalprotektin s běžně užívanými laboratorními markery (leukocyty, trombocyty, poměr nezralých a zralých forem neutrofilů, CRP). Sérová koncentrace kalprotektinu byla signifikantně vyšší ($p < 0,001$) u novorozenců

s potvrzenou sepsí oproti novorozencům neinfekčním a zdravým.²⁴

O 4 roky později, v roce 2015, Decembrino a spol. také porovnávali diagnostické možnosti a přesnost již zavedených laboratorních znaků (leukocyty, neutrofilů, trombocyty, CRP) a kalprotektinu u novorozenecké sepse (tentokrát nerozlišovali sepsi časnou a pozdní). Data z této studie ukazují, že by kalprotektin mohl být užíván jako časný marker sepse. Jeho sérová hladina není ovlivněna stářím, pohlavím, způsobem porodu či počtem leukocytů.²⁵

Dynamika tohoto proteinu během novorozenecké sepse není zatím detailně prozkoumána, ale z dostupné literatury se zdá, že se jedná o marker pozdní, vhodný spíše pro monitoraci klinického stavu a léčby.

CD64

CD64 je vysoko afinní Fc receptor, tedy receptor, který specificky váže Fc oblast protilátek. Za fyziologických okolností je exprimován převážně monocytů a velmi slabě neaktivními neutrofilů.²⁶ Při aktivaci imunitního systému vidíme výrazný nárůst exprese CD64 na neutrofilech, a to do jedné hodiny po invazi bakteriálním patogenem.²⁷ Tento Fc receptor je možné rychle a elegantně detekovat pomocí průtokové cytometrie, kde je zapotřebí velmi malého množství krve, což je v případě nezralého novorozence velkou výhodou.²⁸ Exprese CD64 je u septických novorozenců signifikantně vyšší ve srovnání s neinfekčními pacienty.²⁹⁻³³

Presepsin

Presepsin je solubilní fragment molekuly CD14. CD14 je glykoprotein exprimovaný na membránách makrofágů, monocytů a granulocytů. Fyziologickou funkcí presepsinu je identifikace antigenů bakterií, virů a plísní a spuštění signální dráhy zprostředkované toll-like receptory. Po aktivaci této signální dráhy

Stáří dítěte	CRP mg/l	PCT ug/l	IL-6 ng/l
při narození	>4	>1	>30 (2. h života >300)
24 h	>10	>100	>300
48 h	>10	>50	>300

▲ Tab. č. 1: Cut-off hodnoty vyšetření

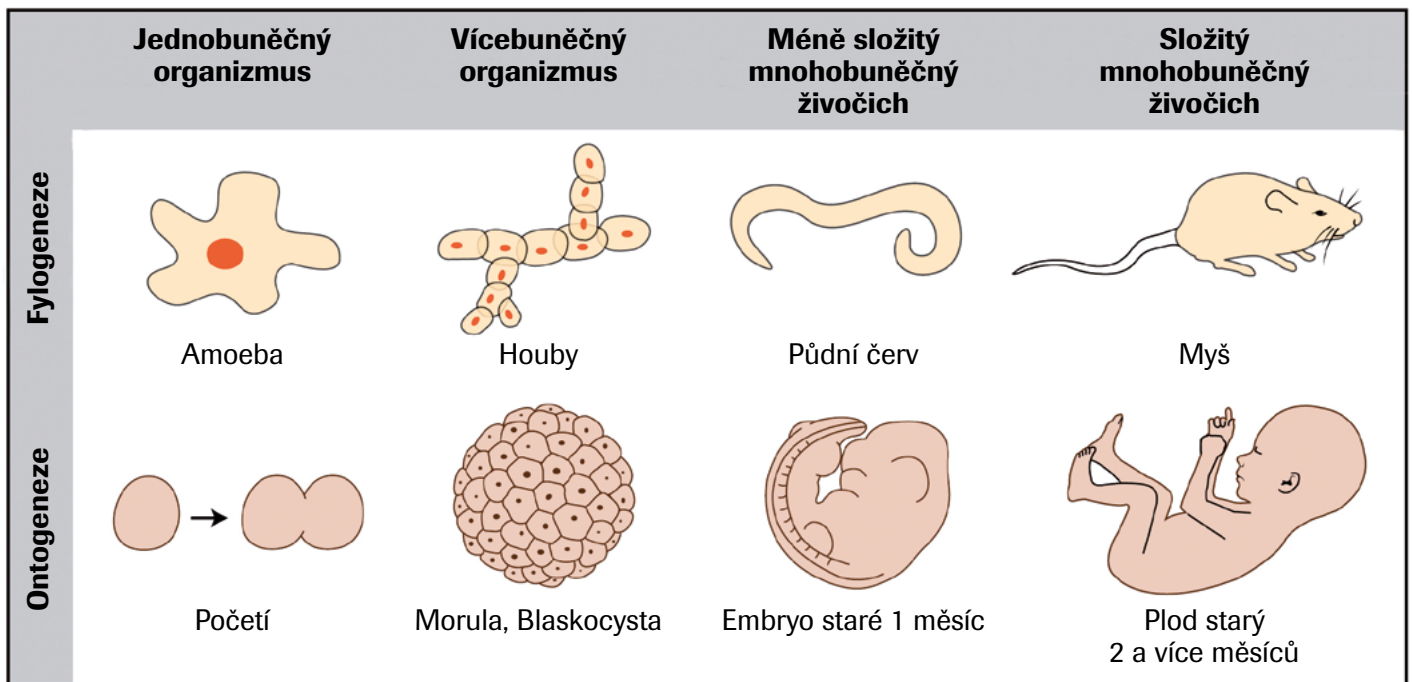


je CD14 odloučen z buněčné membrány a detekován v krvi.³⁴ Studií zabývajících se presepsinem jakožto možným laboratorním markerem novorozenecké sepsy je celá řada, avšak užití v praxi zatím běžné není. Jako u všech „nových“ markerů je třeba detailně prozkoumat jeho dynamiku, stanovit cut-off hodnoty a zjistit jeho chování v prvních hodinách života novorozence.

Diskuse

Základní poučka pediatrie zní, že dítě není malý dospělý. O novorozenci to platí dvojnásob. Novorozenecké období je charakteristické nezralým a rozvíjejícím se imunitním systémem a tím se novorozenec stává vulnerabilnějším vůči infekci. Včasná diagnostika novorozenecké sepsy je základním předpokladem pro

úspěšnost léčby a outcome dítěte. Existuje řada klinických i laboratorních znaků novorozenecké sepsy. Klinické znaky jsou však převážně u předčasně narozených novorozenců značně nespecifické, proto je třeba využít a hlavně umět správně interpretovat markery laboratorní. Je třeba znát jejich fyziologickou dynamiku a k hodnocení výsledků je nutno přistupovat individuálně.



Autonomní vrozená buněčná imunita

Nezávislá na ostatních buňkách

Nutriční vrozená imunita

Komunikace mezi buňkami; žádné buňky se nespécializovaly na obranu

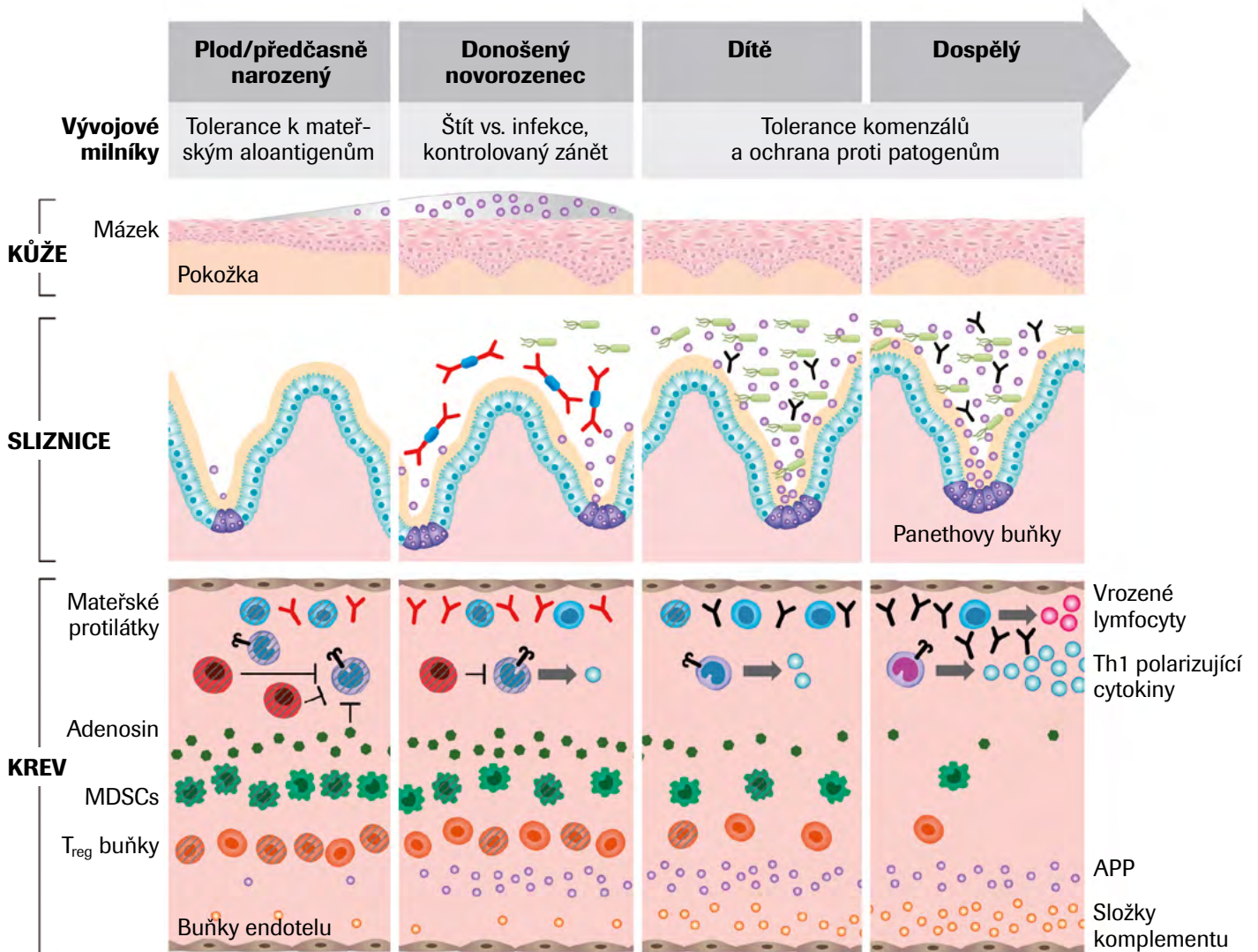
Vrozená imunita založená na leukocytech

Specializované buňky v obraně hostitele

Antigen-specifická získaná imunita

Specializované buňky a tkáně

▲ Obr. č. 1: **Klíčové prvky imunity.** Obrana hostitele proti infekci se vyvíjela v průběhu evoluce (fylogeneze) a dále se vyvíjí po celou dobu života daného jedince (ontogeneze). U jednobuněčného stadia (améba, stadium brzy po koncepci) je buněčná autonomní imunita klíčem k přežití. Biochemická komunikace mezi mnohobuněčnými organismy jakými jsou např. houby je zprostředkována pomocí tzv. nutriční imunity, to stejné se děje v průběhu stadia moruly a blastuly. Imunita méně komplexních mnohobuněčných živočichův jako např. *C. elegans* je typem vrozené imunity založené na expresi leukocytů. Stejně tak je tomu v prvním měsíci embryonálního vývoje. U vysoce komplexních živočichů již popisujeme klasickou získanou imunitu založenou na spolupráci vysoce specializovaných buněk a tkání imunitního systému a to stejně jako u plodu od 2. měsíce těhotenství.³⁵



Antimikrobiální proteiny a peptidy (APP)	Adenosin	Buňky adult-like (produkce v kostní dřeni):
Kolonizující bakterie	Složky komplementu	
Mateřské sekreční IgA	Efektorové cytokiny	Monocyty
Mateřské IgA	Th1 polarizující cytokiny	Vrozené lymfocyty
Endogenní IgG	CD71 – jaderné erytrocyty	Myeloidní supresorové buňky
TLRs (toll like receptors)	Fetální buňky (produkce v játrech)	T _{reg} buňky

▲ Obr. č. 2: **Ontogeneze přirozené obrany hostitele (plodu, novorozence a kojence) vůči patogenu.** Mezi základní bariérové obranné mechanismy patří fyzikální, chemická a funkční složka epitelu kůže a sliznice. Je třeba tento vývoj chápat i v kontextu vývoje jedince jako takového (plod, novorozenec, kojeneček atd.). (A) **Kůže.** Fyzikální a chemická složka je – a to především u předčasně narozených novorozenců – zredukovaná. Oproti tomu mázeK u donošených novorozenců exprimuje velké množství APP (antimikrobiální protein a peptid). (B) **Sliznice.** Současně se zmnóžením střevní mikroflóry se mění také struktura novorozenecké střevní sliznice, a to zvětšením krypt a zmnóžením Panethových buněk. Funkční změna představuje zvýraznění exprese APP. (C) **Krev.** Krev novorozence má relativně nízkou koncentraci komplementu a APP a vysokou koncentraci imunopresivního purinového metabolitu adenosinu. Plazma obsahuje jednak mateřské protilátky, které se transplacentárně přenášejí od poloviny těhotenství, a na straně druhé také protilátky, které se do krve novorozence a kojence dostávají z mateřského mléka. Vrozená imunita se dá detekovat od konce prvního měsíce těhotenství, přičemž následné změny jsou způsobeny převážně rostoucí expozicí mikrobům životního prostředí. Monocyty exprimují PRR (Pattern recognition receptors, např. Toll-like receptory; TLR) s odlišnou funkční odpovědí, jako je například menší produkce Th1 polarizujících cytokinů na většinu podnětů. Získaná imunita se vyvíjí od 4. měsíce těhotenství.³⁵



MUDr. Anna Baštan, roz. Medková

Fakultní nemocnice Olomouc, Dětská klinika, JIRP, I. P. Pavlova 6, Olomouc
Kontakt: medkova.andula@gmail.com

Studium všeobecného lékařství úspěšně zakončila na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy. Lékařské povolání zahájila na Novorozeneckém oddělení Nemocnice na Bulovce. Od roku 2015 pracuje na Dětské klinice Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, t. č. na Jednotce intenzivní a resuscitační péče. Ve svém Ph.D. studiu se věnuje diagnostice novorozenecké sepsy.

RNDr. Jitka Prošková

Fakultní nemocnice Olomouc, Oddělení klinické biochemie, I. P. Pavlova 6, Olomouc
Kontakt: jitka.proskova@fnol.cz

Absolventka PŘF UP Olomouc – obor Analytická chemie. Atestace z Vyšetřovacích metod v klinické hematologii a v klinické biochemii. Ve zdravotnických laboratořích pracuje od roku 1999. V současnosti jako zástupce vedoucího Oddělení klinické biochemie ve Fakultní nemocnici Olomouc. Ve volném čase ráda čte, cestuje nebo tráví čas v přírodě.



LITERATURA

- Hornik, C., Fort, P., Clark, R. & Al, E. Early and late onset sepsis in very-low-birth-weight infants from a large group of neonatal intensive care units. *Early Hum Dev* 88, 69–74 (2012).
- Neal, P. R. et al. Volume of blood submitted for culture from neonates. *J. Clin. Microbiol.* 24, 353–356 (1986).
- Ehl, S., Gehring, B. & Pohlandt, F. A detailed analysis of changes in serum C-reactive protein levels in neonates treated for bacterial infection. *Eur. J. Pediatr.* 158, 238–242 (1999).
- Cekic, C. et al. Evaluation of the relationship between serum ghrelin, C-reactive protein and interleukin-6 levels, and disease activity in inflammatory bowel diseases. *Hepatogastroenterology* 61, 1196–1200 (2014).
- Worthmann, H. et al. Lipopolysaccharide binding protein, interleukin-10, interleukin-6 and C-reactive protein blood levels in acute ischemic stroke patients with post-stroke infection. *J. Neuroinflammation* 12, 13 (2015).
- Bender, L. et al. Early and late markers for the detection of early-onset neonatal sepsis. *Dan. Med. Bull.* 55, 219–223 (2008).
- Ng, P. C. et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. *Arch. Dis. Child. - Fetal Neonatal Ed.* 77, F221 LP-F227 (1997).
- Pourcyrus, M., Bada, H. S., Korones, S. B., Baselski, V. & Wong, S. P. Significance of Serial C-Reactive Protein Responses in Neonatal Infection and Other Disorders. *Pediatrics* 92, 431 LP – 435 (1993).
- Müller, B. et al. Ubiquitous Expression of the Calcitonin-I Gene in Multiple Tissues in Response to Sepsis. *J Clin Endocrinol Metab.* 86, 396–404 (2016).
- Chiesa, C. et al. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis* 26, 664–72 (1998).
- Sachse, C., Dressler, F. & Henkel, E. Increased Serum Procalcitonin in Newborn Infants without Infection. *Clin. Chem.* 44, 1343 LP – 1344 (1998).
- Becker, K., Snider, R. & Nylen, E. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: Clinical utility and limitations. *Crit. Care Med.* 36, 941–952 (2008).
- Meisner, M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin. *Clin Chim Acta* 323, 17–29 (2002).
- Rossum, A. M. C. Van, Wulkan, R. W. & Oudesluys-Murphy, A. M. Procalcitonin as an early marker of infection in neonates and children. *Lancet Infect. Dis.* 4, 620–630 (2004).
- Modi, N. et al. A case definition for national and international neonatal bloodstream infection surveillance. *Arch. Dis. Child. - Fetal Neonatal Ed.* 94, F8 LP-F12 (2008).
- De Jong, H. K., Van Der Poll, T. & Wiersinga, W. J. The systemic pro-inflammatory response in sepsis. *J. Innate Immun.* 2, 422–430 (2010).
- Krueger, M. et al. Cord blood levels of interleukin-6 and interleukin-8 for the immediate diagnosis of early-onset infection in premature infants. *Biol Neonate* 80, 118–123 (2001).
- Abdollahi, A., Shoaib, S., Nayyeri, F. & Shariati, M. Diagnostic value of simultaneous measurement of procalcitonin, interleukin-6 and hs-CRP in prediction of early-onset neonatal sepsis. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 4, (2012).
- Donato, R. et al. Functions of S100 proteins. *Curr. Mol. Med.* 13, 24–57 (2013).
- Stríž, I. & Trebichavský, I. Calprotectin - A pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiol. Res.* 53, 245–253 (2004).
- ME, L. A., I, de L. H. G., M, M. V., JA, N. V. & F, A. P. Faecal calprotectin, an useful marker in discriminating between inflammatory bowel disease and functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterol Hepatol.* 40, 125–131 (2017).
- Zhulina, Y. et al. The prognostic significance of faecal calprotectin in patients with inactive inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 44, 495–504 (2016).
- Anink, J. et al. MRP8/14 serum levels as a predictor of response to starting and stopping anti-TNF treatment in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 17, 200 (2015).
- Terrin, G. et al. Serum calprotectin: An antimicrobial peptide as a new marker for the diagnosis of sepsis in very low birth weight newborns. *Clin. Dev. Immunol.* 2011, (2011).
- Decembrino, L., De Amici, M., Pozzi, M., De Silvestri, A. & Stronati, M. Serum Calprotectin: A Potential Biomarker for Neonatal Sepsis. *J. Immunol. Res.* 2015, 147973 (2015).
- Fjaertoft, G., Hakansson, L., Ewald, U., Foucard, T. & Venge, P. Neutrophils from Term and Preterm Newborn Infants Express the High Affinity Fc[gamma]-Receptor I (CD64) During Bacterial Infections. *Pediatr Res* 45, 871–876 (1999).
- van der Meer, W., Pickkers, P., Scott, C., van der Hoeven, J. & Gunnewiek, J. Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression: comparative trends during experimental human endotoxemia. *J Endotoxin Res* 13, 94–100 (2007).
- Umlauf, V. N., Dreschers, S. & Orlikowsky, T. W. Flow cytometry in the detection of neonatal sepsis. *Int. J. Pediatr.* 2013, 763191 (2013).
- El-Raggal, N. M., El-Barbar, M. N., Youssef, M. F. & El-Mansy, H. A. Neutrophil-surface antigens CD11b and CD64 expression: a potential predictor of early-onset neonatal sepsis. *Egypt J Pediatr Allergy Immunol* 2, 90–100 (2004).
- Mohamed, I., Abdel-Azeem, M., Maher, S. & Mohamed, F. Original article Neutrophil CD64 in early-onset neonatal sepsis. *J Pediatr Allergy Immunol* 8, 19–25 (2010).
- Streimish, I. et al. Neutrophil Cd64 as a Diagnostic Marker in Neonatal Sepsis. *Pediatr Infect Dis J.* 31, 777–781 (2012).
- Du, J. et al. Diagnostic utility of neutrophil CD64 as a marker for early-onset sepsis in preterm neonates. *PLoS One* 9, (2014).
- Halek, J., Novak, M., Medkova, A., Furst, T. & Juranova, J. The role of nCD64 in the diagnosis of neonatal sepsis in preterm newborns. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* (2018).
- https://www2.ike.m.cz/plm_lp/_LP_18011-L0000006.htm.
- Kollmann, T.R., Kampmann, B., Mazmanian, S.K., Marchant A., Levy, O. Protecting the Newborn and Young Infant from Infectious Diseases: Lessons from Immune Ontogeny *Immunity* 46: 350-362 (2017).



Novorozeneckou sepsí se označuje bakteriální sepse propukající v prvním měsíci po porodu. Je pro ni typický náhlý vznik symptomů, velmi rychlá deteriorace a vysoká mortalita i přes adekvátní a včas nasazenou léčbu. Sepse novorozence nemusí mít dobře definované ložisko.

Novorozenecká sepse pohledem patologa

MUDr. MARTA JEŽOVÁ, Ph.D.

Ústav patologie; FN Brno

Etiologie

Grampozitivní bakterie:

- Hemolytický streptokok skupiny B (*Streptococcus agalactiae*) – přechodně kolonizuje pochvu 15–25 % těhotných žen. Ač kolonizace novorozenců od infikovaných matek představuje cca 60 %, jen 1 % onemocní. Bakterie je vyvolavatelem časně i pozdní novorozenecké sepse a nejčastějším původcem novorozeneckých meningitid. Klinickou manifestaci ovlivňuje sérotyp.
- *Listeria monocytogenes* – obdobně spouštěč časně i pozdní sepse.
- *Staphylococcus aureus* – je původcem septikemií, pyodermií, osteomyelitid a komplikovaných pneumonií.

- *Staphylococcus epidermidis* – vyvolává pozdní sepsi, nozokomiální infekce zejména při déle zavedených centrálních žilních katétrech.

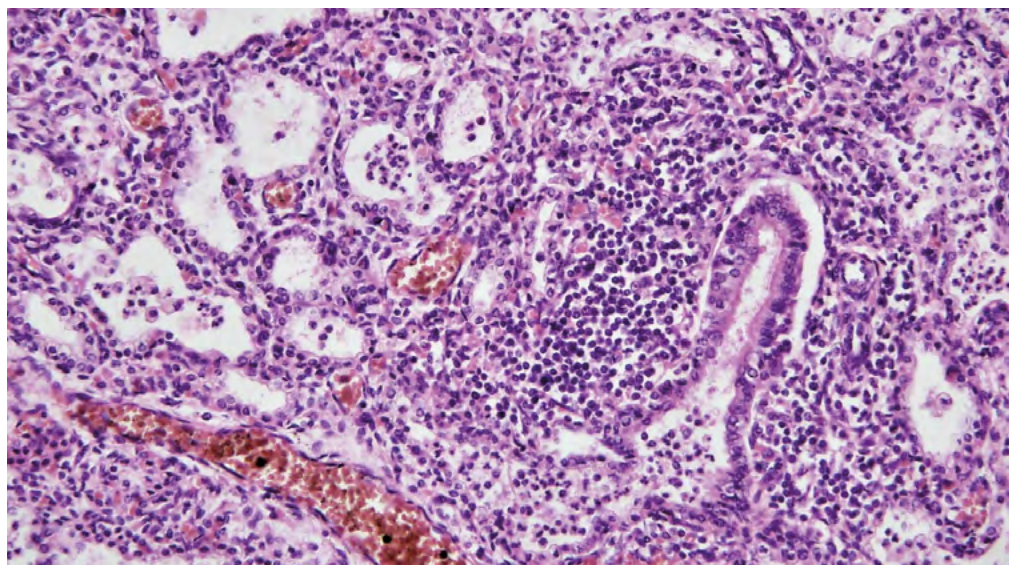
Gramnegativní bakterie:

- *E. coli* – častý původce sepse a novorozenecké meningitidy, závažné jsou nozokomiální infekce rezistentními kmeny.
- *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*
- *Haemophilus influenzae*.

Klinické znaky

Charakteristické jsou:

- velmi nespecifické příznaky;
- letargie, zvýšená dráždivost, hůře vybavné novorozenecké reflexy;
- nestabilní teplota – jak horečka, tak hypotermie;
- dechové obtíže – zrychlené dýchání, apnoe, obtížné dýchání;
- problémy s krmením;
- mírná žloutenka;
- křeče.



▲ Adnátní pneumonie (tj. vrozený zápal plic) u nezralého novorozence, histologický preparát barvený hematoxylinem-eosinem. Snímek z archivu MUDr. Marty Ježové, Ph.D.



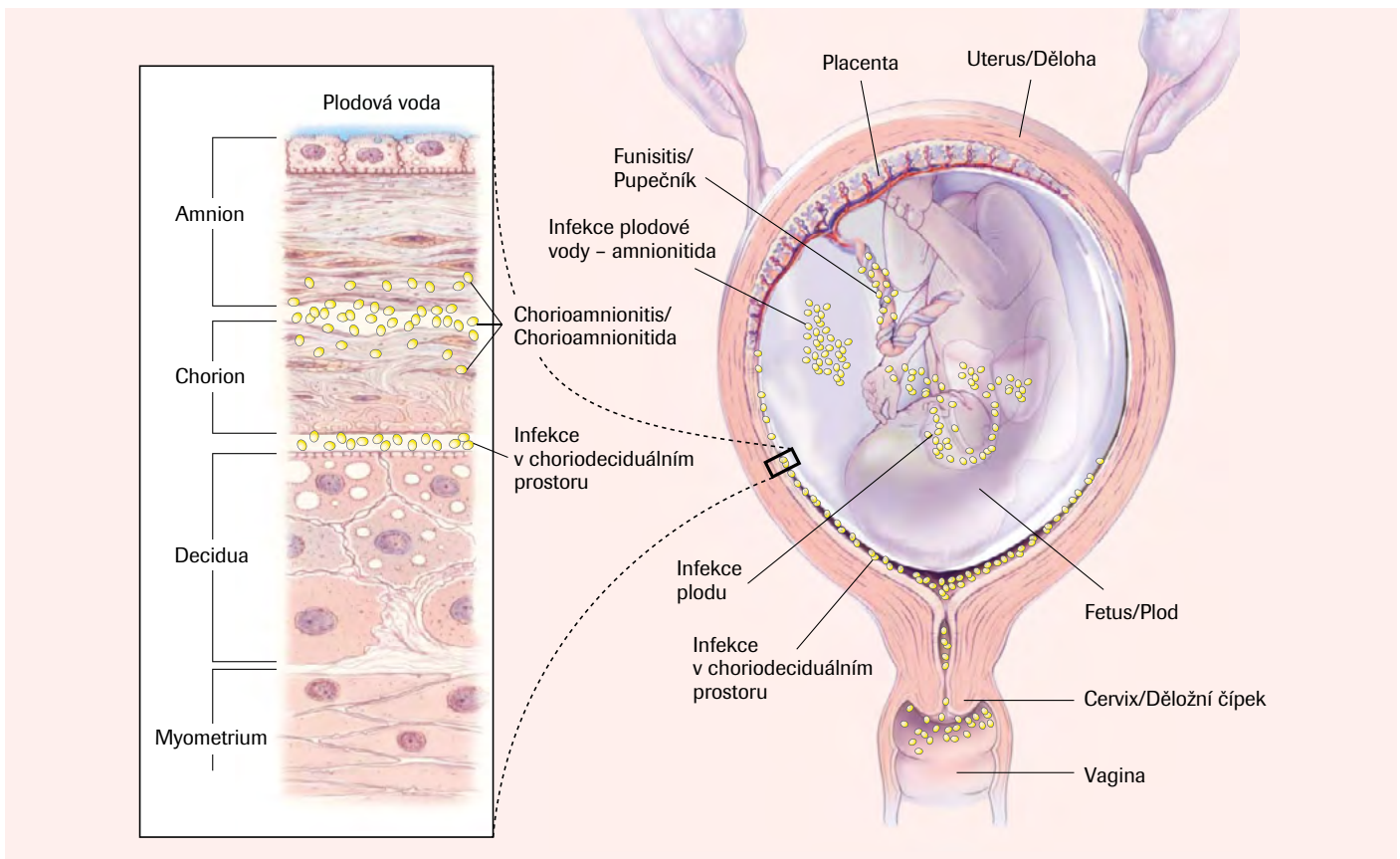
Klasifikace

Časná novorozenecká seps

- v prvních 7 dnech života, příznaky se většinou objeví v prvních hodinách po porodu
- anamnesticky zjistíme patologický porod: předčasný porod, histologicky potvrzená chorioamnionitida, předčasný odtok plodové vody, dlouhý obtížný porod, horečka matky za porodu
- přenos se děje přímým kontaktem s mikroorganismy kolonizujícími porodní cesty nebo spolkáním a aspirací infikované plodové vody in utero; nejčastější vyvolavatel je streptokok skupiny B
- fulminantní systémové onemocnění s dominujícími respiračními příznaky
- mortalita je velmi vysoká
- častým pitevním nálezem je pneumonie, někdy s hyalinními blankami; plíce jsou makroskopicky nevzdušné, překrvené; zřídka přítomna meningitida

Pozdní novorozenecká seps

- projeví se po 7. dni života, obvykle ve druhém až čtvrtém týdnu po porodu
- bakterie jsou přeneseny buď během porodu (většina případů infekce streptokokem skupiny B), nebo až po porodu od matky a ošetřujícího personálu, kontaminovanými přístroji
- v porodnické anamnéze nejsou výše uvedené rizikové faktory
- mortalita je nižší než u sepsé časné
- typickou komplikací bakteriemie je rozšíření na mozkové pleny a plexus chorioideus; purulentní meningitida má u novorozence neurčité příznaky, ztuhnutí šije a napjatá velká fontanela se objevují pozdě; komplikace a trvalé následky u přeživajících (hydrocefalus) nejsou výjimkou



▲ Záněty dělohy vyvolané bakteriální infekcí mohou vznikat na rozhraní mateřské a fetální tkáně (tj. v choriodeciduálním prostoru), v plodových obalech (amnion a chorion), uvnitř placenty, v plodové vodě, v pupeční šňůře nebo v těle plodu. Bakteriální zánět plodových obalů se odborně nazývá „chorioamnionitida“; infekce pupeční šňůry „funisitida“; infekce plodové vody „amnionitida“. Přestože placentární (choriové) klky hrají primární roli v transplacentárním přenosu infekcí z matky na plod, jako např. v případě malárie, bakteriální zánět samotné placenty (villitida) je vzácný. Upraveno dle Goldenberg RL et al. N Engl J Med 2000; 342: 1500-1507.



MUDr. Marta Ježová, Ph.D.

Vedoucí lékařka Bioptické stanice pracoviště dětské medicíny Dětské nemocnice, Černopolní 9, 625 00 Brno

Kontakt: jezova.marta@fnbrno.cz

Bioptická stanice se zabývá především pediatrickou onkologií. Bioptická laboratoř zajišťuje: zpracování bioptického materiálu; zhotovování tkáňových bloků; standardní histopatologickou diagnostiku; peroperační biopsii.



Předčasný odtok plodové vody před termínem porodu (preterm prelabor rupture of membranes; PPRM) je definovaný jako porušení plodových obalů s odtokem plodové vody před 37. týdnem těhotenství, předcházející nástupu pravidelné děložní činnosti.^{1,2} Někteří autoři však k potvrzení diagnózy PPRM požadují nejméně hodinový interval (tzv. latenci) mezi odtokem plodové vody a nástupem děložní činnosti.^{3,4} PPRM je zodpovědný zhruba za 30–40 % všech předčasných porodů a komplikuje celkem 2–4 % všech těhotenství.^{1,2,5} Největší počet případů tvoří PPRM mezi 34. a 37. týdnem těhotenství (tzv. pozdní PPRM).⁶

Patofyziologie PPRM je multifaktoriální.^{1,2} Za možné mechanismy spjaté s rozvojem PPRM jsou považovány: infekce v choriodeciduálním prostoru, mikroby indukované intraamniální zánět, snížení obsahu kolagenu v plodových obalech, lokalizovaný defekt plodových obalů, nadměrné rozpětí plodových obalů a senescence či apoptóza buněk plodových obalů.^{1,2,7-9} Také byla popsána řada rizikových faktorů ze stran matky, dělohy, placenty a plodu. Mezi nejčastější materské faktory patří: PPRM v minulém těhotenství, krvácení v průběhu těhotenství, chronická terapie kortikosteroidy, onemocnění pojivové tkáně, předčasný porod v minulé graviditě, kouření, abusus kokainu, nízký body mass index a nízký socioekonomický status matky.^{1,10} Ze strany dělohy a placenty to jsou: anomálie dělohy, abrupce placenty, cervikální insuficience, konizace, nadměrná distenze dělohy, mikroby indukovaný intraamniální zánět a fetální růstová restrikce.^{7,11} Ze strany plodu je to jen jeden, nicméně důležitý rizikový faktor – vícečetné těhotenství.⁷

Předčasný odtok plodové vody před termínem porodu

prof. MUDr. MARIAN KACEROVSKÝ, Ph.D.^{1,2}
doc. MUDr. IVANA KACEROVSKÁ-MUSILOVÁ, Ph.D.¹

¹ Porodnická a gynekologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové

² Centrum biomedicínského výzkumu, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Zánětlivé či mikrobiální komplikace PPRM

PPROM je poměrně často komplikován přítomností mikroorganismů a/nebo zánětu v plodové vodě (intraamniální zánět).⁶ Tyto situace komplikují zhruba 30–35 % všech PPRM.⁶ Prevalence těchto komplikací je vyšší u PPRM v nižších gestačních týdnech.⁶ Dominujícími mikroorganismy v plodové vodě jsou genitální mykoplazmata, zejména *Ureaplasma parvum* a *Ureaplasma urealyticum*.^{6,12}

Intraamniální zánět je charakterizován zvýšenou hladinou inflamatorních mediátorů v plodové vodě. Intraamniální

zánět může být vyvolán mikroorganismy v plodové vodě (intraamniální infekce) či endogenními látkami uvolněnými z plodových obalů a placenty do plodové vody (sterilní zánět).¹³ V klinické praxi se k diagnostice intraamniálního zánětu používá vyšetření vzorku plodové vody odebraného transabdominálně či vaginálně. Klasické ukazatele intraamniálního zánětu jsou hladiny bílých krvinek, glukózy a laktátu v plodové vodě.¹⁴ Nadřazené těmto klasickým ukazatelům je stanovení hladiny interleukinu (IL)-6.¹⁴ Diskriminační hladina IL-6 v plodové vodě, stanovená pomocí ELISA za účelem identifikace intraamniálního zánětu, je 2 600 pg/ml.¹⁵ Stanovení hladiny IL-6 v plodové vodě pomocí ELISA není z klinického pohledu příliš přínosné, neboť klinik potřebuje znát výsledek hladiny IL-6 v řádu maximálně hodin. Proto se ke stanovení hladiny IL-6 v plodové vodě také používá bedside test na principu imunochromatografie, kdy se výsledky kvantifikují pomocí snímače Milenia POCScan. Při použití této metody je diskriminační hodnota IL-6 pro stanovení



intraamniálního zánětu 745 pg/ml.¹⁶ Pro rychlé stanovení hladiny IL-6 v plodové vodě je také možné použít elektrochemiluminiscenční imunostanovení „ECLIA“ na analyzátoch Elecsys® a cobas e. V tomto případě stanovení trvá jen 18 minut. Diskriminační hodnota pro stanovení intraamniálního zánětu při použití této metody je 3 000 pg/ml.

Diagnostika PPROM

PPROM je víceméně diagnóza klinická. Zlatým standardem pro diagnózu PPROM, kterým je rozpoznáno více než 90 % všech případů, je anamnestický údaj o odtoku plodové vody, který je potvrzen průkazem odtoku plodové vody z hrdla či její přítomností v zadní klenbě poševní při vyšetření v zrcadlech.^{2,17} Lze však použít i jiné testy, jako Temešváryho test (založený na změně pH v pochvě), nebo specifické testy detekující přítomnost buď insulin like growth-binding proteinu-1 (Actim-PROM™ test), či placentárního alfa-mikroglobulinu-1 (Amnisure® test).^{1,18} Snížené množství plodové vody při ultrazukovém vyšetření nemůže samo potvrdit diagnózu PPROM, může však v některých případech přispět ke stanovení diagnózy.² Temešváryho test má senzitivitu 90 % a falešnou pozitivitu 17 % (při kontaminaci močí, krví či spermatem).¹⁹ Přestože specifické testy pro detekci PPROM (Actim-PROM™ test či Amnisure® test) mají velmi vysokou senzitivitu a specificitu

pro detekci PPROM, je nutné pozitivitu těchto testů v některých případech velmi obezřetně interpretovat (např. v situaci, kdy je dostatečné množství plodové vody při ultrazukovém vyšetření a klinický průkaz odtoku plodové PPROM je negativní). Tyto testy totiž citlivě detekují jak přítomnost plodové vody, tak aktivaci neporušených plodových obalů (také proto jsou v mírných modifikacích používány u pacientek se symptomy předčasného porodu k predikci rizika porodu do 7 dnů).²⁰ V nejasných případech je tedy lepší nepovažovat pozitivitu těchto testů jako průkaz PPROM a raději vyčkat na jasný klinický průkaz odtoku plodové vody.

Management PPROM

Pacientky s PPROM lze sledovat a léčit za hospitalizace, ale i ambulantně.

Dostupné studie, které srovnávají perinatální a neonatální výsledky mezi těmito různými přístupy k PPROM, jsou kontroverzní.²¹⁻²³ V našich podmínkách však pacientky s PPROM mají být vždy hospitalizovány, dle gestačního stáří v perinatologickém či intermediárním centru intenzivní péče.

Při rozvaze o managementu PPROM je nejprve nutno vyloučit přítomnost klinické chorioamnionitidy (horečka matky nad 37,5 °C a přítomnost nejméně dvou z následujících příznaků: tachykardie matky > 100 úderů za minutu, tachykardie plodu > 160 úderů za minutu, hnisavý vaginální fluor, citlivost dělohy, bolesti břicha a leukocytóza > 15 tisíc/mm³), závažné krvácení (PPROM je často spojen s abrupcí placenty či subchoriálním hematodem) a známky hypoxie plodu/ů. Nález klinické chorioamnionitidy je sice v okamžiku přijetí pacientky s PPROM relativně vzácný, může se však rozvinout v průběhu latence. Těhotenství s PPROM komplikované některou z výše uvedených situací by mělo být co nejdříve vedeno ke svému ukončení, a to způsobem adekvátním aktuální porodnické situaci.

Mateřská leukocytóza a stanovení hladin C-reaktivního proteinu v mateřském séru mají nízkou senzitivitu a specificitu pro predikci jak klinické chorioamnionitidy, tak subklinických infekčních a zánětlivých komplikací (histologická





chorioamnionitida, intraamniální zánět).²⁴ Dostupná literární data nepodporují přínos těchto vyšetření.^{25,26} Nicméně z klinické praxe víme, že longitudinální sledování těchto ukazatelů jistou vypovídající hodnotu má. Náhlý a prudký vzestup leukocytózy se současnou tachykardií matky, při negativních hodnotách C-reaktivního proteinu, často předchází rozvoji závažné klinické chorioamnionitidy způsobené *Escherichia coli*. Rozvoji klinické chorioamnionitidy velmi často předchází také náhlý vzestup hladin C-reaktivního proteinu v mateřském séru. Nicméně izolovaná hodnota hladin leukocytů či C-reaktivního proteinu má velmi omezený diagnostický přínos v rozpoznání klinické chorioamnionitidy či subklinických infekčních a zánětlivých komplikací.²⁵⁻²⁷

Přítomnost fetální tachykardie predikuje 20–40 % případů klinické chorioamnionitidy s falešnou pozitivitou kolem 3 %.^{28,29} Kardiotokografie je proto užitečná v diagnostice fetální tachykardie, která může představovat pozdní známku klinické chorioamnionitidy. U pacientek s PPRM je doporučováno vyšetření teploty a pulzů matky, jakož i auskultace ozev plodu à 4–8 hodin.^{24,30,31}

U pacientek s PPRM by měl být proveden odběr materiálu ke stanovení

vagino-rektální kolonizace beta-hemolytickým streptokokem. Pokud je prokázána pozitivita na beta-hemolytického streptokoka, mělo by být postupováno v souladu s doporučeným postupem zabývajícím se touto problematikou.

Následně by pozornost měla být zaměřena na gestační stáří, ve kterém k PPRM došlo. Před dokončením 34. týdnem těhotenství je jednoznačně preferovaným postupem expektace (tzv. konzervativní management).² Tento postup je superiorní aktivnímu postupu (tj. vyvolání porodu či ukončení elektivním císařským řezem po dokončení indukce plicní zralosti) zejména ze dvou důvodů: i) riziko přítomnosti mikroby indukovaného či sterilního zánětu pod 34. týdnem je zhruba 35%, tudíž většina PPRM je bez těchto komplikací; ii) riziko závažných forem krátkodobé neonatální morbidity (novorozenecké úmrtí, respirační morbidita, intraventrikulární krvácení a jiné), s výjimkou časně novorozenecké sepse, klesá se stoupajícím gestačním stářím.^{6,32}

Problematika managementu PPRM po dokončeném 34. týdně těhotenství je téma stále kontroverzní, neboť neexistuje jasný konsenzus. Na jedné straně stojí riziko, sice malé, časně novorozenecké sepse, na straně druhé ne zcela zanedbatelné riziko respirační morbidity.^{33,34}

Práce holandských autorů ukázaly, že aktivní management nesnižuje riziko rozvoje časně novorozenecké sepse a nezlepšuje perinatální výsledky u PPRM po dokončeném 34. týdnu těhotenství.^{33,35} Přestože aktivní management nezlepšoval krátkodobé novorozenecké výsledky, byl spojen s nižším výskytem neurologických obtíží u dětí ve věku 2 let, ve srovnání s konzervativním managementem.³⁶ V chování dětí žádný rozdíl mezi aktivním a konzervativním managementem nebyl.³⁶ Recentní australská práce navíc ukázala, že konzervativní management u PPRM po dokončeném 34. týdnu těhotenství vedl ke snížení rizika respirační morbidity a nutnosti ventilační podpory u novorozenců, byl však spojen se zvýšeným rizikem mateřských komplikací – s poporodním krvácením, horečkou během porodu, poporodním podáním antibiotik a s delším pobytem v nemocnici. Na druhou stranu byl však konzervativní management spojen s nižší frekvencí císařských řezů. Incidence časně novorozenecké sepse byla v obou skupinách srovnatelná.³⁷

Recentní práce ukazují, že neonatální výsledky jsou lepší, je-li management PPRM individualizován na podkladě informací o přítomnosti či absenci zánětlivých a infekčních komplikací v amniální dutině.^{38,39} Přítomnost intraamniálního zánětu je spojena s intenzivnější fetální zánětlivou odpovědí a vyšší incidencí syndromu zánětlivé odpovědi plodu. Při konzervativním managementu je expozice plodů tomuto hostilnímu prostředí delší. Proto tyto novorozenci mají horší neonatální morbiditu než novorozenci z těhotenství, která jsou při potvrzení infekčních a zánětlivých intraamniálních komplikací vedena aktivně.⁴⁰ V případě individuálního managementu pacientek s PPRM je nutné provedení transabdominálního či vaginálního odběru vzorku plodové vody. V transabdominálně odebraném vzorku plodové vody je možno stanovit přítomnost mikroorganismů v plodové vodě kulturačními či



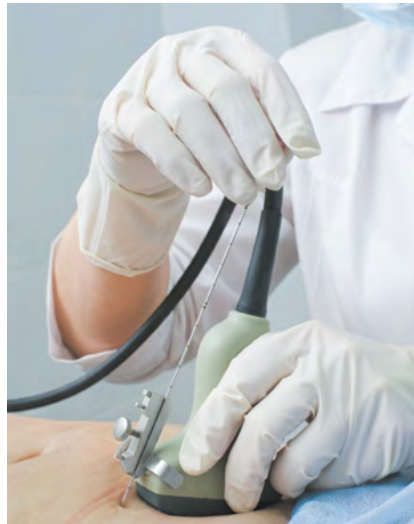
nekultivačními technikami, jakož i přítomnost intraamniálního zánětu stanovením IL-6 v plodové vodě.⁶ Z vaginálně odebraného vzorku plodové vody je možné stanovit riziko přítomnosti intraamniálního zánětu stanovením IL-6 v odebrané tekutině.⁴¹

Kortikosteroidy u PPRM

Velká metaanalýza čítající patnáct randomizovaných kontrolovaných studií, jež zahrnovala více než 1 400 žen s PPRM, ukázala, že podání kortikosteroidů redukuje riziko syndromu dechové tísně novorozence, intraventrikulárního krvácení, nekrotizující enterokolitidy a riziko neonatálního úmrtí. Na druhé straně nebylo zvýšené riziko vzniku infekce matky či novorozence.⁴² Podání kortikosteroidů se řídí doporučeným postupem o jejich podání k indukci plicní zralosti.

Antibiotika u PPRM

Antibiotika je vhodné podat všem ženám s PPRM. Podání antibiotik u PPRM prodlužuje latenci, snižuje potřebu podání surfaktantu nezralému novorozenci, snižuje riziko vzniku bronchopulmonální dysplazie, redukuje výskyt sonografických abnormalit na mozku novorozence před jeho propuštěním, snižuje počty pozitivních kultivačních nálezu v krvi novorozence a také redukuje frekvenci výskytu histologické chorioamnionitidy.⁴³ Vzhledem k tomu, že genitální mykoplazmata jsou nejčastějšími bakteriemi nalézány v plodové vodě u PPRM, je erytromycin optimálním antibiotikem pro PPRM.⁴⁴ V současné době však v České republice erytromycin pro intravenózní podání není dostupný. Za této situace je možné použít u PPRM stejná antibiotika, která používáme na GBS profylaxi. Druhou alternativou je podání antibiotik primárně cílených na genitální mykoplazmata, neboť jsou přítomna v plodové vodě zhruba u jedné třetiny pacientek s PPRM.⁶



V tomto případě preferujeme claritromycin (Klacid), protože genitální mykoplazmata jsou v současné době často rezistentní na azitromycin.

Tokolýza u PPRM

Dostupné studie nepotvrzují benefit podání terapeutické tokolýzy. Její podání nevede k signifikantnímu prodloužení těhotenství a nesnižuje neonatální mortalitu a morbiditu.⁴⁵⁻⁴⁸ Podání profylaktické tokolýzy také neprodloužilo latenci (alespoň na 10 dnů) ve srovnání s ženami, které tuto tokolýzu nedostaly.^{49,50}

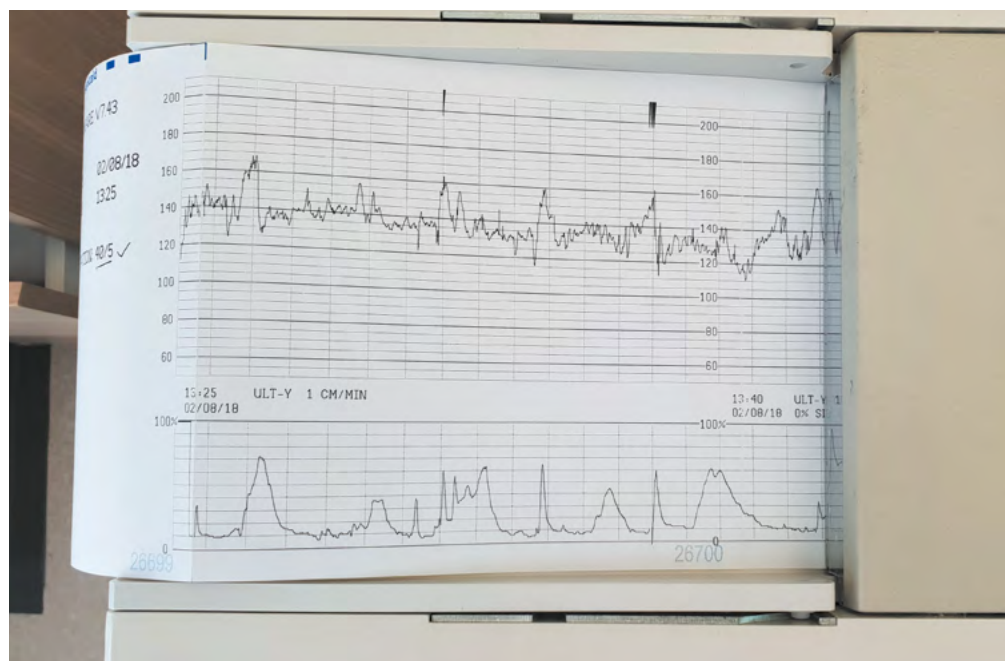
Vedení porodu u pacientek s PPRM

Vedení porodu závisí na aktuálních porodnických podmínkách. Obecně lze konstatovat, že je-li plod v poloze podélné hlavičkou a nejsou-li přítomny jiné porodnické kontraindikace ke spontánnímu vedení porodu, je možno vést porod spontánně bez ohledu na gestační stáří. Při poloze plodu koncem pánevním je od dokončeného 28. týdne těhotenství preferován porod císařským řezem, neboť je spojen s nižší neonatální morbiditou a mortalitou.⁵¹

Cerkláž a PPRM

Pokud dojde u žen s naloženým cerklážovým stehem k PPRM, je vhodné steh odstranit. Není totiž dostatek důkazů o tom, že by ponechání stehu in situ po odtoku plodové vody bylo spojeno se zlepšením perinatologických či neonatálních výsledků.⁵²

Práce Giraldo-Isaza a kol. sice potvrdila, že ponechání cerklážového stehu in situ více než 24 hodin po odtoku plodové vody prodloužilo těhotenství více než o 48 hodin, ale také ukázala, že se





zvýšilo riziko rozvoje klinické chorioam-nionitidy a úmrtí novorozence na časnou novorozeneckou sepsi.⁵³ Galyean a kol. nenašel mezi skupinami žen s ponechaným a odstraněným cerklážovým stehem po PPRM rozdíl v prodloužení latence, výskytu infekce a v neonatálních výsledcích. Nicméně pokud byl steh neodkladně odstraněn po odtoku plodové vody, byl zde trend ke snížení infekční morbidity.⁵⁴

Prevence a predikce PPRM

V současné době PPRM představuje těhotenskou patologii, která není preventabilní a prediktabilní. Nicméně recentní práce provedená na tkáňových modelech z plodových obalů naznačují, že progesteron či 17-alfa hydroxyprogesteron kaproát mohou působit preventivně proti zeslabení plodových obalů a jejich následné ruptuře.⁵⁵

PPROM a další gravidita

PPROM je spojen se zvýšeným rizikem rozvoje komplikací v následném jednočetném těhotenství (opakování PPRM, preeklampsie, těhotenstvím indukovaná hypertenze, operační vaginální porod, císařský řez, nutnost příjmu novorozence na novorozeneckou jednotku intenzivní péče).⁵⁶ Nicméně PPRM ne-redukuje šanci na další těhotenství.⁵⁶



prof. MUDr. Marian Kacerovský, Ph.D.

Porodnická a gynekologická klinika, Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta Hradec Králové
Centrum biomedicínského výzkumu, Fakultní nemocnice Hradec Králové
Kontakt: kacermar@fnhk.cz

Výzkumná skupina vedená Marianem Kacerovským se od roku 2008 systematicky věnuje problematice intraamniálních komplikací u pacientek s předčasným odtokem plodové vody.

LITERATURA

1. Mercer BM: Preterm premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 2003; 101(1): 178-193.
2. Mercer BM: Preterm premature rupture of the membranes: current approaches to evaluation and management. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2005; 32(3): 411-428.
3. Simhan HN, Canavan TP: Preterm premature rupture of membranes: diagnosis, evaluation and management strategies. *BJOG* 2005; 112 Suppl 1: 32-37.
4. Canavan TP, Simhan HN, Caritis S: An evidence-based approach to the evaluation and treatment of premature rupture of membranes: Part II. *Obstet Gynecol Surv* 2004; 59(9): 678-689.
5. Henderson JJ, McWilliam OA, Newnham JP, Pennell CE: Preterm birth aetiology 2004-2008. Maternal factors associated with three phenotypes: spontaneous preterm labour, preterm pre-labour rupture of membranes and medically indicated preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25(6): 642-647.
6. Musilova I, Kutova R, Pliskova L, Stepan M, Menon R, Jacobsson B, et al.: Intraamniotic Inflammation in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PLoS One* 2015; 10(7): e0133929.
7. Mercer BM, Goldenberg RL, Meis PJ, Moawad AH, Shellhaas C, Das A, et al.: The Preterm Prediction Study: prediction of preterm premature rupture of membranes through clinical findings and ancillary testing. *The National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Am J Obstet Gynecol* 2000; 183(3): 738-745.
8. Menon R, Boldogh I, Hawkins HK, Woodson M, Polettini J, Syed TA, et al.: Histological evidence of oxidative stress and premature senescence in preterm premature rupture of the human fetal membranes recapitulated in vitro. *Am J Pathol* 2014; 184(6): 1740-1751.
9. Menon R, Boldogh I, Urrabaz-Garza R, Polettini J, Syed TA, Saade GR, et al.: Senescence of primary amniotic cells via oxidative DNA damage. *PLoS One* 2013; 8(12): e83416.
10. Parry S, Strauss JF, 3rd: Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med* 1998; 338(10): 663-670.
11. Ananth CV, Savitz DA, Williams MA: Placental abruption and its association with hypertension and prolonged rupture of membranes: a methodologic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1996; 88(2): 309-318.
12. Kacerovsky M, Musilova I, Hornychova H, Kutova R, Pliskova L, Kostal M, et al.: Bedside assessment of amniotic fluid interleukin-6 in preterm prelabor rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211(4): 385 e381-389.
13. Romero R, Miranda J, Chaemsaitong P, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Dong Z, et al.: Sterile and microbial-associated intra-amniotic inflammation in preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015; 28(12): 1394-1409.
14. Romero R, Yoon BH, Mazor M, Gomez R, Gonzalez R, Diamond MP, et al.: A comparative study of the diagnostic performance of amniotic fluid glucose, white blood cell count, interleukin-6, and gram stain in the detection of microbial invasion in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169(4): 839-851.
15. Yoon BH, Romero R, Moon JB, Shim SS, Kim M, Kim G, et al.: Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185(5): 1130-1136.
16. Chaemsaitong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Martinez-Varea A, Dong Z, Yoon BH, et al.: A point of care test for interleukin-6 in amniotic fluid in preterm prelabor rupture of membranes: a step toward the early treatment of acute intra-amniotic inflammation/infection. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29(3): 360-367.
17. Caughey AB, Robinson JN, Norwitz ER: Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. *Rev Obstet Gynecol* 2008; 1(1): 11-22.
18. Mariona FG, Cabero L: Are we ready for a new look at the diagnosis of premature rupture of membranes? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25(4): 403-407.
19. Gorodeski IG, Haimovitz L, Bahari CM: Reevaluation of the pH, ferning and Nile blue sulphate staining methods in pregnant women with premature rupture of the fetal membranes. *J Perinat Med* 1982; 10(6): 286-292.
20. Hezelgrave NL, Shennan AH, David AL: Tests to predict imminent delivery in threatened preterm labour. *BMJ* 2015; 350: h2183.



21. Ellestad SC, Swamy GK, Sinclair T, James AH, Heine RP, Murtha AP: Preterm premature rupture of membrane management-inpatient versus outpatient: a retrospective review. *Am J Perinatol* 2008; 25(1): 69-73.
22. Catt E, Chadha R, Tang S, Palmquist E, Lange I: Management of Preterm Premature Rupture of Membranes: A Comparison of Inpatient and Outpatient Care. *J Obstet Gynaecol Can* 2016; 38(5): 433-440.
23. Beckmann M, Gardener G: Hospital versus outpatient care for preterm pre-labour rupture of membranes. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2013; 53(2): 119-124.
24. Ismail MA, Zinaman MJ, Lowensohn RI, Moawad AH: The significance of C-reactive protein levels in women with premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151(4): 541-544.
25. Trochez-Martinez RD, Smith P, Lamont RF: Use of C-reactive protein as a predictor of chorioamnionitis in preterm prelabour rupture of membranes: a systematic review. *BJOG* 2007; 114(7): 796-801.
26. van de Laar R, van der Ham DP, Oei SG, Willekes C, Weiner CP, Mol BW: Accuracy of C-reactive protein determination in predicting chorioamnionitis and neonatal infection in pregnant women with premature rupture of membranes: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 147(2): 124-129.
27. Stepan M, Cobo T, Musilova I, Hornychova H, Jacobsson B, Kacerovsky M: Maternal Serum C-Reactive Protein in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PLoS One* 2016; 11(3): e0150217.
28. Ferguson MG, Rhodes PG, Morrison JC, Puckett CM: Clinical amniotic fluid infection and its effect on the neonate. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151(8): 1058-1061.
29. Carroll SG, Papaioannou S, Nicolaides KH: Assessment of fetal activity and amniotic fluid volume in the prediction of intrauterine infection in preterm prelabor amniorrhexis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172(5): 1427-1435.
30. Carlan SJ, O'Brien WF, Parsons MT, Lense JJ: Preterm premature rupture of membranes: a randomized study of home versus hospital management. *Obstet Gynecol* 1993; 81(1): 61-64.
31. Romem Y, Artal R: C-reactive protein as a predictor for chorioamnionitis in cases of premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150(5 Pt 1): 546-550.
32. Rodriguez-Trujillo A, Cobo T, Vives I, Bosch J, Kacerovsky M, Posadas DE, et al.: Gestational age is more important for short-term neonatal outcome than microbial invasion of the amniotic cavity or intra-amniotic inflammation in preterm prelabor rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2016; 95(8): 926-933.
33. van der Ham DP, van der Heyden JL, Opmeer BC, Mulder AL, Moonen RM, van Beek JH, et al.: Management of late-preterm premature rupture of membranes: the PPRMEXIL-2 trial. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 207(4): 276 e271-210.
34. Kacerovsky M, Musilova I, Andrys C, Hornychova H, Pliskova L, Kostal M, et al.: Prelabor rupture of membranes between 34 and 37 weeks: the intra-amniotic inflammatory response and neonatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 210(4): 325 e321-325 e310.
35. van der Ham DP, Vijgen SM, Nijhuis JG, van Beek JJ, Opmeer BC, Mulder AL, et al.: Induction of labor versus expectant management in women with preterm prelabor rupture of membranes between 34 and 37 weeks: a randomized controlled trial. *PLoS Med* 2012; 9(4): e1001208.
36. van der Heyden JL, Willekes C, van Baar AL, van Wassenaer-Leemhuis AG, Pajkrt E, Oudijk MA, et al.: Behavioural and neurodevelopmental outcome of 2-year-old children after preterm premature rupture of membranes: follow-up of a randomised clinical trial comparing induction of labour and expectant management. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2015; 194: 17-23.
37. Morris JM, Roberts CL, Bowen JR, Patterson JA, Bond DM, Algert CS, et al.: Immediate delivery compared with expectant management after preterm pre-labour rupture of the membranes close to term (PPROMT trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2016; 387(10017): 444-452.
38. Porreco RP, Heyborne KD, Shapiro H: Amniocentesis in the management of preterm premature rupture of the membranes: a retrospective cohort analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2008; 21(8): 573-579.
39. Archabald KL, Buhimschi IA, Bahtiyar MO, Dulay AT, Abdel-Razeq SS, Pettker CM, et al.: Limiting the Exposure of Select Fetuses to Intrauterine Infection/Inflammation Improves Short-Term Neonatal Outcomes in Preterm Premature Rupture of Membranes. *Fetal Diagn Ther* 2016.
40. Musilova I, Andrys C, Drahosova M, Soucek O, Stepan M, Bestvina T, et al.: Intraamniotic inflammation and umbilical cord blood interleukin-6 concentrations in pregnancies complicated by preterm prelabour rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016: 1-11.
41. Musilova I, Bestvina T, Hudeckova M, Michalec I, Cobo T, Jacobsson B, et al.: Vaginal fluid interleukin-6 concentrations as a point-of-care test is of value in women with preterm prelabour rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 215(5): 619 e611-619 e612.
42. Harding JE, Pang J, Knight DB, Liggins GC: Do antenatal corticosteroids help in the setting of preterm rupture of membranes? *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184(2): 131-139.
43. Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W, Group OC: Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomised trial. ORACLE Collaborative Group. *Lancet* 2001; 357(9261): 979-988.
44. Singh K, Mercer B: Antibiotics after preterm premature rupture of the membranes. *Clin Obstet Gynecol* 2011; 54(2): 344-350.
45. Christensen KK, Ingemarsson I, Leideman T, Solum T, Svenningsen N: Effect of ritodrine on labor after premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 1980; 55(2): 187-190.
46. Weiner CP, Renk K, Klugman M: The therapeutic efficacy and cost-effectiveness of aggressive tocolysis for premature labor associated with premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159(1): 216-222.
47. Garite TJ, Keegan KA, Freeman RK, Nageotte MP: A randomized trial of ritodrine tocolysis versus expectant management in patients with premature rupture of membranes at 25 to 30 weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157(2): 388-393.
48. Nijman TA, van Vliet EO, Naaktgeboren CA, Oude Rengerink K, de Lange TS, Bax CJ, et al.: Nifedipine versus placebo in the treatment of preterm pre-labor rupture of membranes: a randomized controlled trial: Assessment of perinatal outcome by use of tocolysis in early labor-APOSTEL IV trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016; 205: 79-84.
49. How HY, Cook CR, Cook VD, Miles DE, Spinnato JA: Preterm premature rupture of membranes: aggressive tocolysis versus expectant management. *J Matern Fetal Med* 1998; 7(1): 8-12.
50. Levy DL, Warsof SL: Oral ritodrine and preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1985; 66(5): 621-623.
51. Berghenhegouwen L, Vlemmix F, Ensing S, Schaaf J, van der Post J, Abu-Hanna A, et al.: Preterm Breech Presentation: A Comparison of Intended Vaginal and Intended Cesarean Delivery. *Obstet Gynecol* 2015; 126(6): 1223-1230.
52. Pergialiotis V, Gkioka E, Bakoyiannis I, Mastroleon I, Prodromidou A, Perrea D: Retention of cervical cerclage after preterm premature rupture of the membranes: a critical appraisal. *Arch Gynecol Obstet* 2015; 291(4): 745-753.
53. Giraldo-Isaza MA, Berghella V: Cervical cerclage and preterm PROM. *Clin Obstet Gynecol* 2011; 54(2): 313-320.
54. Galyean A, Garite TJ, Maurel K, Abril D, Adair CD, Browne P, et al.: Removal versus retention of cerclage in preterm premature rupture of membranes: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211(4): 399 e391-397.
55. Kumar D, Springel E, Moore RM, Mercer BM, Philipson E, Mansour JM, et al.: Progesterone inhibits in vitro fetal membrane weakening. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213(4): 520 e521-529.
56. Aris IM, Logan S, Lim C, Choolani M, Biswas A, Bhattacharya S: Preterm prelabour rupture of membranes: a retrospective cohort study of association with adverse outcome in subsequent pregnancy. *BJOG* 2016.



Roche s.r.o., Diagnostics Division
Na Valentince 3336/4, 150 00 Praha 5
www.roche-diagnostics.cz, www.labor-aktuell.cz



Časopis je možné bezplatně objednat na adrese vydavatele či zasílání zrušit na webu časopisu: www.labor-aktuell.cz. Stanoviska a názory podepsaných příspěvků se nemusejí shodovat se stanovisky a názory redakce a vydavatele.

Copyright © Roche 2020. Registrace MK ČR 7374, ISSN 1214-7672.

Foto na obálce: 3D ilustrace plodu v 35. týdnu těhotenství (autor SciePro), doplněno motivem Žena a dítě, linie mateřství (autor Rusyn Viktoriia). Obojí Shutterstock.

MC-CZ-00091

