

Zdokonalení prenatálního screeningu aneuploidií a preeklampsie v I.-III. trimestru využitím 1TM-QUAD testu

Milan Macek sr.¹, Radovan Vlček², Martina Pešková¹, Marek Turnovec¹, Markéta Vlčková¹, Pavel Tesner¹, Drahomíra Springer³, Andrea Kestlerová³, Lubica Gelieňová⁴, Tomáš Hrádek⁴, Milan Macek jr.¹

1. Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN Motol
2. Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol
3. Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN
4. Synlab s. s r. o.



Úvod

Cílem studie bylo zdokonalit časný záchyt gravidit se zvýšeným rizikem **aneuploidií**, optimalizace **indikací NIPT** a screening **preeklampsie**, **poruch růstu**, **předčasného porodu/potrátu** využitím nejnovější metody **1TM-QUAD** a hladin **PIGF** v I.-III. trimestru.

Metody

- Určení hladiny **PIGF**, **PAPP-A**, **f β hCG**, **AFP** metodou **1TM-QUAD** testu. Tento test splnil požadavky kontroly kvality v roce 2014.
DELFIAXpress (Perkin Elmer)
- Výpočet rizika chromozomových aberací:
LifeCycle/Elipse 3.2 a LifeCycle 4.0 (Perkin Elmer)
- Výpočet rizika preeklampsie:
Pre-Eclampsia Predictor (Perkin Elmer) - **jen pro I. trimestr**



- **Klinicko-anamnestické údaje:**
 - PE v anamnéze
 - stáří ženy
 - nuliparita
 - hmotnost, BMI
 - etnicita
 - chronická hypertenze
 - kouření
- **Biochemické markery:** **PAPP-A, PIGF**
- **Biofyzikální markery:**
 - TK, střední arteriální tlak (MAP)
 - průtok arteria uterina, index PI (v 11.-13. týdnu)

**KLINICKÝ DOTAZNÍK PRO STANOVENÍ RIZIKA PREEKLAMPSIE - vyplní lékař
(vyplnit pokud požadujete vyšetření PIGF)**

předchozí preeklampsie: ne u těhotné v rodině – u koho:

předchozí IVF: ano / ne – kolikrát a kdy:

Autoimunitní onemocnění:

ne diabetes mellitus sklerodermie thyreopatie artritida

Další onemocnění:

ne chronická hypertenze onemocnění ledvin obezita systémová onemocnění

Užívání látek:

dlouhodobá farmakoterapie: ano / ne – jaké léky:

alkohol: ano / ne – kolik, čeho:

jiné návykové látky: ano / ne – jaké:

Předchozí gravidity:

počet: – poslední gravidita (datum):

vícečetné těhotenství: ano / ne

HELLP syndrom: ano / ne

IUGR (růstová retardace plodu): ano / ne

hydrops plodu: ano / ne

SGA (small-for-gestational-age): ano / ne

mola hydatidosa: ano / ne

gestační diabetes: ano / ne

triploidie: ano / ne

Současná gravidita:

gestační hypertenze: ano / ne gestační diabetes mellitus: ano / ne

Údaje o vyšetření:

TK – levá paže: / – pravá paže: / datum měření:

PI – levá a.uterina: – pravá a.uterina: datum měření:

Současná gravidita, klinický stav po 20. týdnu:

zvýšený TK: ano / ne

zvracení: ano / ne

bílkovina v moči: ano / ne

snížená pohyblivost plodu: ano / ne

bolest hlavy: ano / ne

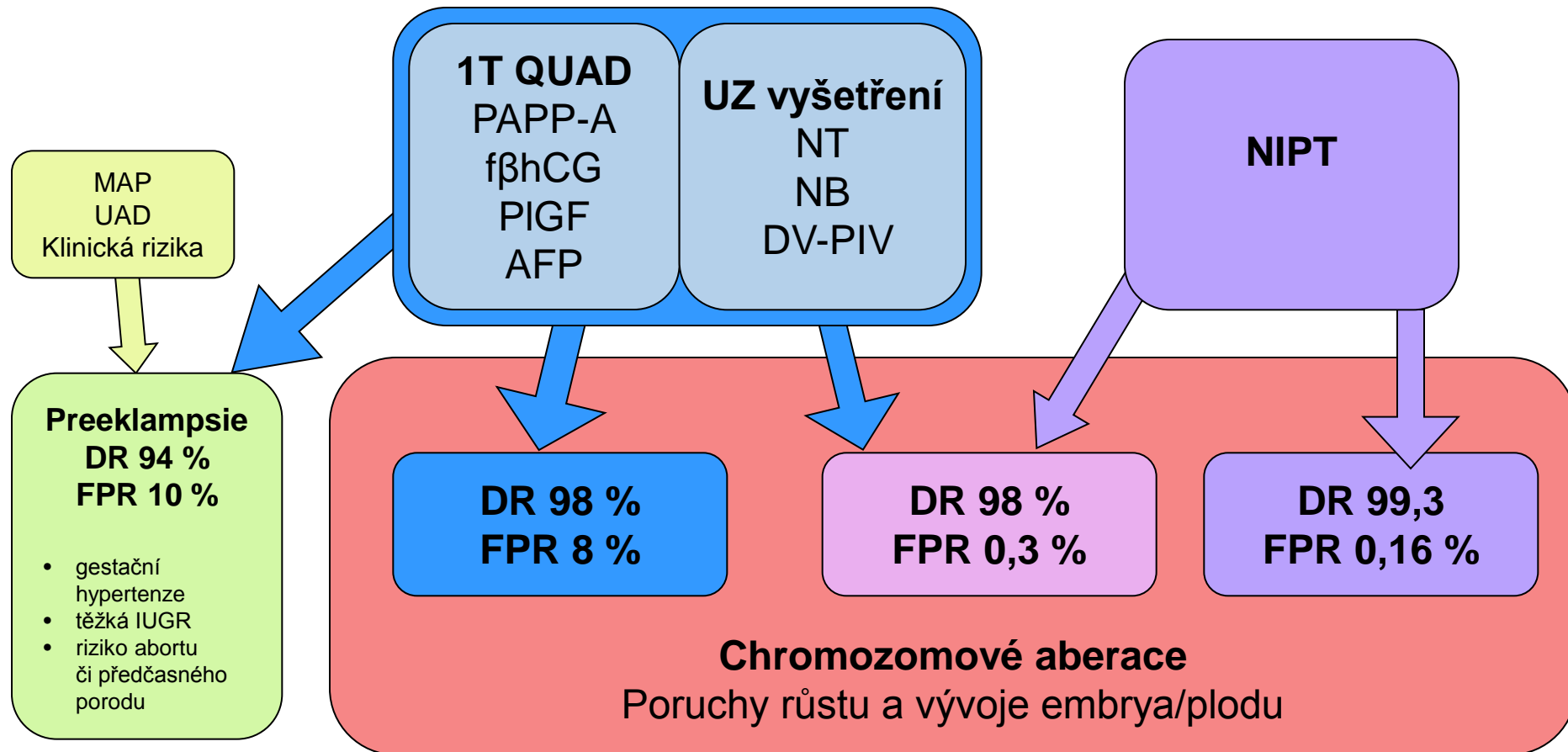
opožděný růst plodu: ano / ne

bolesti v nadbříšku: ano / ne

Vyšetřované vzorky

Metody	
Určení hladin PIGF u kontrol v 9.-18. týdnu	800 vzorků
Retrospektivní studie hladin PIGF u pacientek s PE (24.-41. týden) v termínu ukončení gravidity	100 vzorků
Retrospektivní studie sér ze screeningu u gravidit s rizikem PE	280 vzorků
Screening preeklampsie a aneuploidií v I. trimestru	116 vzorků
Validace 1TM-QUAD testu	200 vzorků
Celkem vzorků	1496 vzorků

Nová strategie screeningu I. trimestru



1TM QUAD a NIPT sníží počet indikací amniocentézy minimálně 10x

Zvýšení efektivity kombinovaného screeningu 1TM QUAD metodou

- Záchyt gravidity s rizikem PE (1/64 - 1,6 %)
- Zvýšení kvality screeningu: 4,7 %
 - zjištění zvýšeného rizika trisomie 21 (2/64 - 3,1 %)
 - zjištění diagnosticky významného rizika (1/64 - 1,6 %)

Zvýšení screeningové spolehlivosti u 1TM QUAD metody

Rizika +21	PAPP-A + fβhCG + NT		PAPP-A + fβhCG + NT + AFP + PIGF	
	N	%	N	%
1 : 2 000 - 5 000	8	16,7	0	0,0
1 : 5 000 - 10 000	17	35,4	7	14,6
1 : 10 000 - 20 000	13	27,1	7	14,6
1 : 20 000 - 50 000	9	18,8	7	14,6
1 : 50 000 - 100 000	1	2,1	27	56,3
Celkem	48		48	

Kazuistické srovnání klasického kombinovaného screeningu (dual) a 1TM QUAD testu

Sledované údaje	I. trimestr		I. trimestr		II. trimestr	
	„Dual“		„Quad“		„Double“	
	Hodnota	MoM	Hodnota	MoM	Hodnota	MoM
AFP (u/ml)	-	-	36,24	2,28	164,7	4,38
fβhCG (mg/ml)	163,6	4,15	161,1	4,64	5987,0	0,38
PAPP-A (mU/l)	8380,0	2,09	4542,0	1,32	-	-
PIGF (pg/ml)	-	-	8,9	0,21	34,8	-
NT	1,2	0,73	1,2	0,73	-	-
NB	+ (2,1 mm)	-	+	-	-	-
Riziko celkové	1:5500		1:928			
Riziko dle biochemie	1:490		1:91			
Stáří dle CRL	13+1				17+0	
Stáří dle PM	15+1				19+0	

- UZ vyšetření v 18. týdnu (dle CRL) prokázalo **zánik plodu** asi před 10 dny.
- Hladiny PIGF v **13. týdnu** odpovídají **3. percentilu 9. týdne**, při kontrole ve **17. týdnu** odpovídají **5. percentilu** tohoto týdne.

Indikace NIPT dle výše rizik aneuploidie v I. trimestru metodou 1TM-QUAD

Riziko T21	Autoři	NIPT		AMC	
		n/N	%	n/N	%
1:150-1:2000	Chitty (2014)	13/68	19,12	4/68	5,88
1:100-1:2000	Chitty (2014)	13/68	19,12	4/68	5,88
1:50-1:2000	Cuckle (2014)	15/68	23,53	2/68	2,94
>1:50	reziduální riziko po 1:50-1:2000	-	-	2/68	2,94
>1:2000	perspektivní možnost	17/68	25,00	-	0,00
>1:300	Vermesch (2014)	5/68	7,35	-	0,00

- Kombinace NIPT u **20 % gravidních** umožní dosáhnout **DR 98 %** a **FPR 0,3 %** (Cuckle 2014).
- Strategie **>1:300 nahrazuje AMC**, nezahrnuje však rizika mezi 1:300 a 1:2000.

Hladiny PIGF ve II. trimestru u českých žen

Týden	Počet vzorků	3. perc.	5. perc.	25. perc.	Medián	75. perc.	95. perc.
14	25	17,0	18,9	29,7	40,6	55,5	87,1
15	69	20,8	23,2	36,4	49,7	68,0	106,7
16	77	25,4	28,4	44,6	60,9	83,2	130,7
17	69	31,1	34,7	54,5	74,6	101,9	160,1
18	15	38,0	42,5	66,8	91,3	124,9	196,3

Naše výsledky z 20. týdne navazují na dosud publikované výsledky (Saffer et al 2013) pro **21.-38.** týden percentilových hladin PIGF. Díky tomu můžeme odhadovat **rizika preeklampsie** dle hladin PIGF ve **II. i III. trimestru**.

Význam PIGF a PAPP-A při screeningu v I. a II. trimestru

Časná preeklampsie

Vzorek	I. trimestr		2. trimestr
	PIGF	PAPP-A	PIGF
373/09	negativní	negativní	N/A
222/09	negativní	negativní	N/A
439/08	negativní	pozitivní	N/A
115/09	pozitivní	negativní	N/A
364/12	negativní	pozitivní	negativní
437/12	pozitivní	negativní	pozitivní
633/11	negativní	negativní	negativní
222/09	negativní	negativní	N/A
665/12	negativní	pozitivní	pozitivní
Pozitivita	5/9 (55,6 %)		2/4 (50 %)
	5/9 (55,6 %)		

Střední preeklampsie

Vzorek	I. trimestr		2. trimestr
	PIGF	PAPP-A	PIGF
778/04	negativní	negativní	N/A
0113/09	N/A	N/A	pozitivní
414/13	negativní	negativní	pozitivní
49/11	pozitivní	pozitivní	pozitivní
494/11	negativní	negativní	negativní
494/12	pozitivní	pozitivní	negativní
295/06	negativní	pozitivní	N/A
536/17	pozitivní	pozitivní	negativní
Pozitivita	6/7 (85,7 %)		3/6 (50 %)
	6/8 = 75 %		

Pozdní preeklampsie

Vzorek	I. trimestr		2. trimestr
	PIGF	PAPP-A	PIGF
742/09	negativní	negativní	pozitivní
198/09	pozitivní	pozitivní	pozitivní
549/12	pozitivní	pozitivní	negativní
452/09	pozitivní	pozitivní	negativní
459/10	pozitivní	pozitivní	N/A
Pozitivita	4/5 (80 %)		2/4 (50 %)
	5/5 = 100 %		

N/A – vzorek neodebrán.

Celkem záchyt 16/22 (72,7 %)

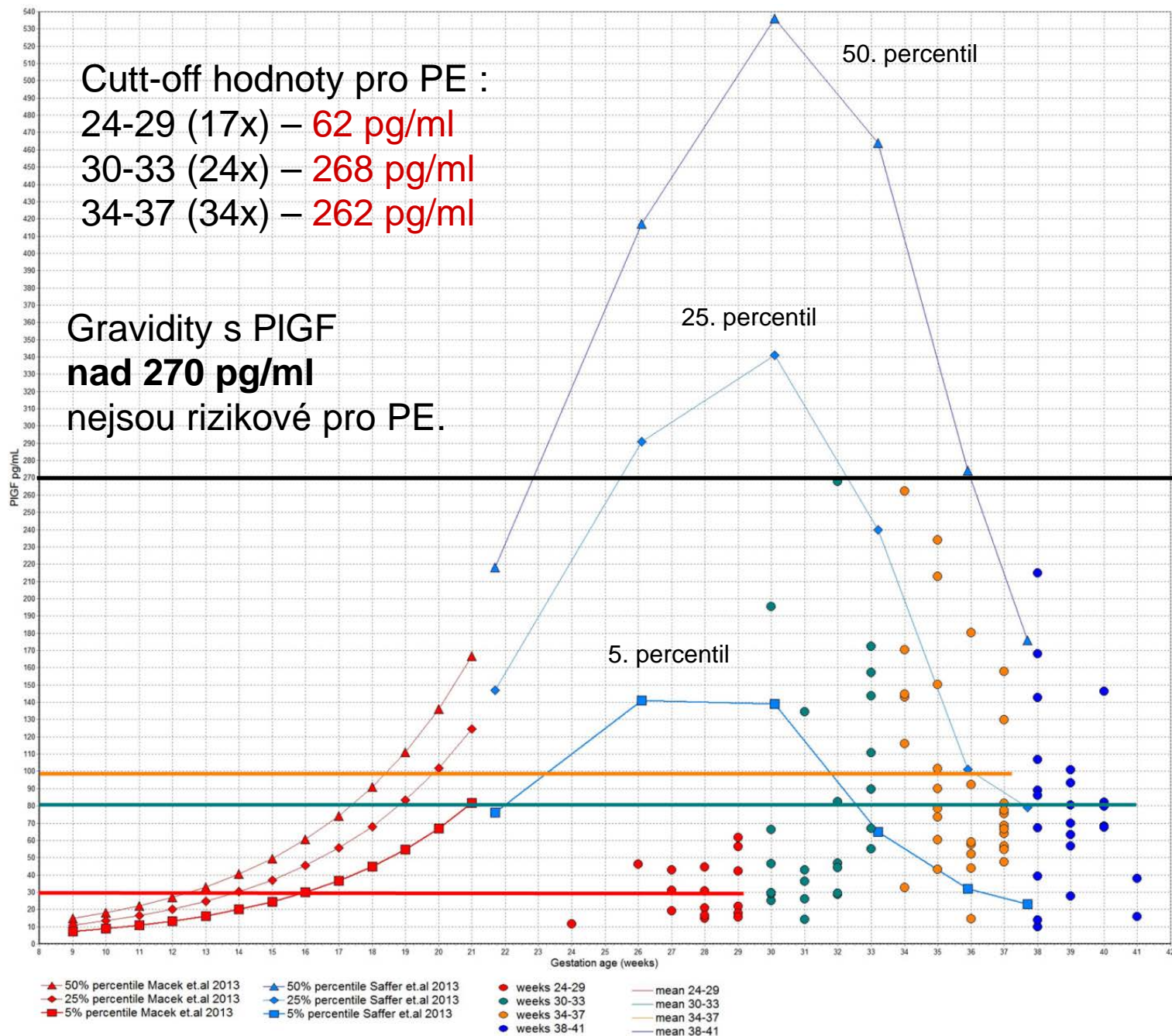
Data z retrospektivní studie ze zmražených sér (2004-2014) s prokázanou preeklampií či HELLP syndromem.

PAPP-A a PIGF rovnoměrně zastoupený při průkazu positivity.

PIGF ve druhém trimestru umožňuje v 50 % záchyt rizika preeklampsie.

Záchyt preeklampsie v rozmezí **34.-41.** týdne u 2/13 případů (**15,3 %**) při vyšetření do 20. týdne.

Hladiny PIGF u gravidit ukončených v 24.-41. týdnu z důvodu preeklampsie



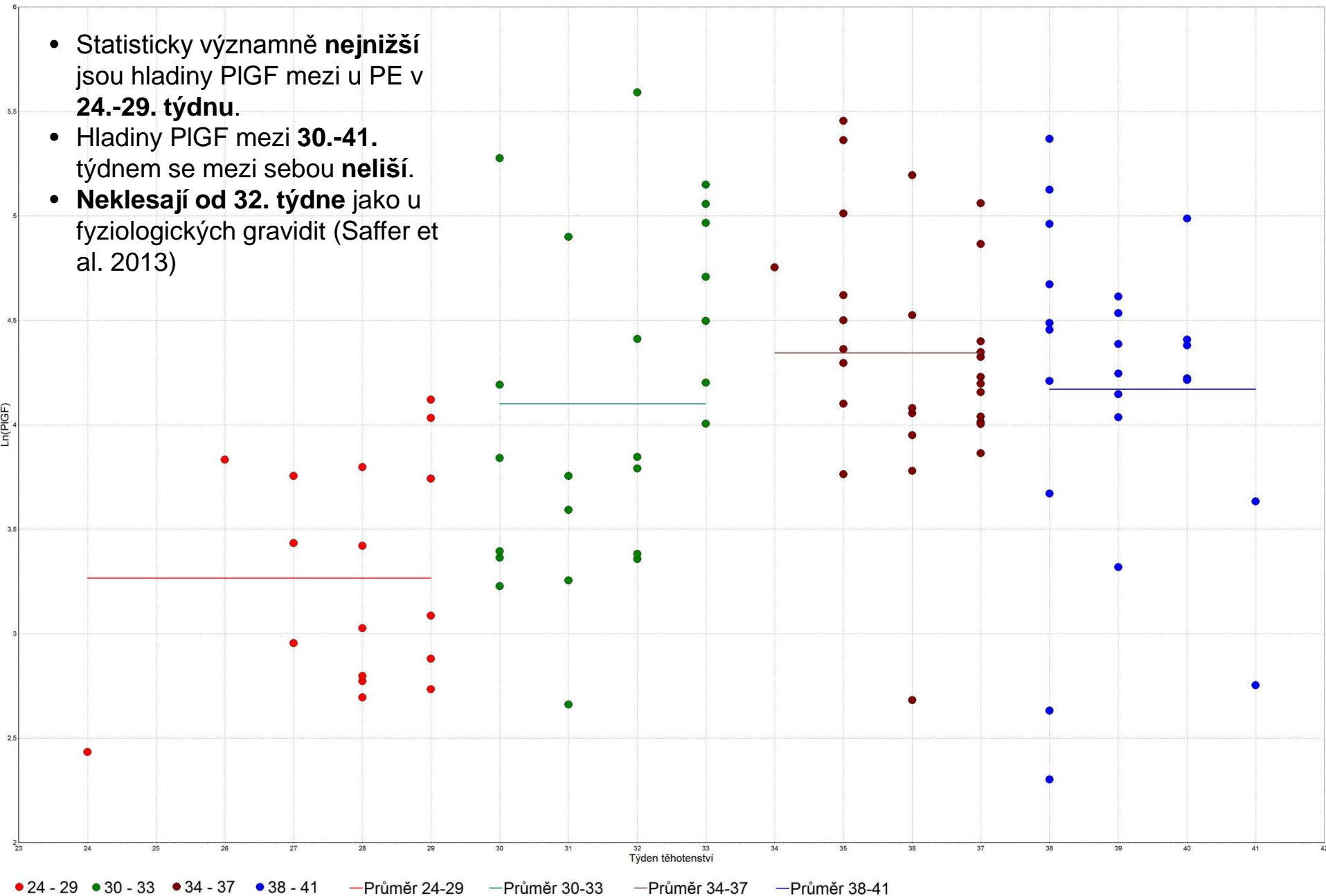
Percentilové zastoupení PIGF u preeklamsií mezi 24.-41. týdnem

PE (týdny)	N	Percentily PIGF							
		<5		<25		<50		>50	
		n	%	n	%	n	%	n	%
24-29	17	17	100,0	-	-	-	-	-	-
30-33	24	16	66,7	8	33,7	-	-	-	-
34-37	34	3	8,8	22	64,7	6	17,6	-	-
38	10	2	20,0	2	20,0	5	50,0	1	10

- PE v 24.-37. týdnu – vždy pod hladinu 25. percentilu
- PE ve 34. týdnu – v 18 % pod hladinu 50. percentilu
- PE v 38.-41. týdnu pouze v 10 % vyšší než 50. percentil

PIGF u PE v 24.-41. týdnu gravidity po logaritmické transformaci

- Statisticky významně **nejnižší** jsou hladiny PIGF mezi u PE v **24.-29. týdnu**.
- Hladiny PIGF mezi **30.-41.** týdnem se mezi sebou **neliší**.
- **Neklesají od 32. týdne** jako u fyziologických gravidit (Saffer et al. 2013)



Závěry

- Metoda 1TM QUAD zajišťuje:
 - **Nejvyšší efektivitu** v kombinaci s UZ vyšetřením (NT, NB a DVI) při screeningu chromozomálně podmíněných VVV a poruch prenatálního vývoje.
 - **Optimální výběr** gravidit pro **NIPT**.
 - **Časný screening** preeklampsie a její **prevenci** v **I. trimestru**.
- Byla prokázána možnost **screeningu** preeklampsie ve **II. trimestru** (od 15. do 19. týdne).
- Určení hladin **PIGF po 20. týdnu** gravidity **zpřesňuje spolehlivost** nálezu z **I. trimestru**. Umožňuje zdokonalený záchyt rizikových gravidit se všemi typy PE i ve **II. trimestru** a **III. trimestru** hodnocením percentilové křivky hladin **PIGF od 22. do 38. týdne**.
- Hladiny **PIGF vyšší než 270 pg/ml** nebyly nalezeny u **žádné ze 100 PE** v 24.-41. týdnu.

Poděkování

Za spolupráci děkujeme těmto kolegům a kolegyním:

- Alexandra Štambergová z Ústavu biologie a lékařské genetik 2. LF UK a FNM
- V. Novotná, Jaroslav Feyereisel z Ústavu pro péči o matku a dítě (Praha-Podolí)

Kontakt

Doc. MUDr. Milan Macek sr., CSc.
milan.macek.sr@lfmotol.cuni.cz