

POSTERY - 2018

1. [Durdova V.](#), Bohmova J., Kratochvilova T., Vodicka R., Lubusky M.
Assesment of the fetal *KEL* and *RHCE* genotype in alloimmunized pregnant women.
(LF UP, FN Olomouc)
2. [Hostinská E.](#), Svancarová K., Pilka R., Ľubušký M.
Incidence preindukcí a indukci vaginálního porodu v Perinatologickém centru FN Olomouc v roce 2017.
(LF UP, FN Olomouc)
3. [Kratochvílová T.](#), Durdová V., Bohmová J., Holusková I., Ľubušký M.
Screening *RHD* genotypu plodu u RhD negativních žen.
(LF UP, FN Olomouc)
4. [Roubalová L.](#), Kratochvílová T., Gardlo A., Ľubušký M.
Možnost využití stanovení poměru sFlt-1/PIGF v managementu těhotenství se závažnou formou preeklampsie a HELLP syndromu.
(LF UP, FN Olomouc)
5. [Roubalova L.](#), Langova K., Kroutilova V., Durdova V., Kratochvilova T., Lubusky M.
Maternal serum levels of PIGF and sFlt-1 in predicting delivery of an SGA newborn.
(LF UP, FN Olomouc)
6. [Slunská P.](#), Hanáček J., Fanta M., Sehnal B., Gerychová R., Holá A., Zdeňková A., Neumannová H., Dziaková M., Ľubušký M.
Management umělého ukončení těhotenství Farmakologickou metodou nepřesahuje-li těhotenství 7 týdnů v České republice.
(LF UP, FN Olomouc)
7. [Slunská P.](#), Maděrková Tozzi M., Kolářová V., Langová K., Ľubušký M.
Umělé ukončení těhotenství Farmakologickou metodou (UUT-F) v I. trimestru - význam stanovení hCG a ultrazukového vyšetření při diagnostice těhotenství a hodnocení výsledku UUT-F.
(LF UP, FN Olomouc)

Assesment of the fetal *KEL* and *RHCE* genotype in alloimmunized pregnant women

Durdova V.¹, Bohmova J.², Kratochvilova T.¹, Vodicka R.², Lubusky M.¹

¹*Obstetrics and Gynecology Clinic of the Faculty of Medicine UP and the University Hospital Olomouc*

²*Institute of Medical Genetics and Fetal Medicine of the Faculty of Medicine UP and the University Hospital Olomouc*

Introduction: All pregnant women in the Czech Republic undergo the screening of irregular anti-erythrocyte antibodies in their first trimester. The result is positive in about 5 % of all cases (in the Czech Republic 5000 women annually), but only in about 1.5 % of the cases (1500 women) there is a clinically significant anti-erythrocyte alloantibody. The fetus and/or the newborn is threatened by the development of a significant form of a hemolytic disease only when the complementary antigen is present on the erythrocytes. Using the non-invasive assessment of the genotype of the fetus from the free fetal DNA circulating in the peripheral blood of pregnant women, it is possible to exclude the fetuses that should lack the antigen and thus they should not be threatened by the development of the hemolytic disease. From the clinically most significant alloantibodies, the antibody anti-E is the most frequently diagnosed antibody in the Czech Republic while the alloantibodies anti-D, c, K belong between the clinically most significant alloantibodies.

The Anti-K (Kell, KEL1) is diagnosed in about 0.1 % of the cases (in the Czech Republic annually 100 women). Assessing the *KEL* genotype of the fetus, we can exclude up to 95 % of the fetuses (95 fetuses annually), which lack the *KEL1* allele that correspond to the presence of the erythrocyte "K" antigen.

The Anti-c is diagnosed in about 0.1 % of the cases (in the Czech Republic annually 100 women). Assessing the *RHCE* genotype of the fetus, we can exclude up to 44 % of the fetuses (44 fetuses annually). These fetuses lack the variant of the *RHCE* gene that correspond to the presence of the "c" antigen.

The Anti-C is diagnosed in about 0.1 % of the cases (in the Czech Republic annually 100 women). Assessing the *RHCE* genotype of the fetus, we can exclude up to 56 % of the fetuses (56 fetuses annually). These fetuses lack the variant of the *RHCE* gene that correspond to the presence of the "C" antigen.

The Anti-E is diagnosed in about 0.6 % of the cases (in the Czech Republic annually 600 women). Assessing the *RHCE* genotype of the fetus, we can exclude up to 74 % of the fetuses (504 fetuses annually). These fetuses lack the variant of the *RHCE* gene that correspond to the presence of the "E" antigen.

Methods: The non-invasive assessment of the *KEL* genotype of the fetus from the free fetal DNA in the plasma of pregnant women was carried out by the minisequencing method using the capillary electrophoresis (called SNaPshot). This method is based on extending primers of different lengths by one base (fluorescently labeled dideoxynucleotides). Using the capillary electrophoresis, the length of the extended primer and the type of the fluorescent length is assessed. The method was consequently used to assess the *RHCE* genotype of the fetus.

Results: In the total of **295** pregnant women (between the 8th and the 23rd gestational week), the genotype of the fetus was assessed from the peripheral blood using the minisequencing method. Consequently, the genotype of the fetus was verified by testing the cells of the newborn from the buccal smear. The minisequencing method has proven to be reliable. The sensitivity and specificity of the method have reached 100 %.

Conclusion: The non-invasive assessment of the *RHCE* and *KEL* genotype of the fetus enables to exclude the fetuses which seem to lack the erythrocyte antigen and thus are not threatened by the development of the hemolytic disease of the fetus and the newborn. Vice versa, it determines which fetuses might have the antigen present and thus, they should be monitored in specialized centers focusing on the hemolytic disease of the fetus and the newborn.

Incidence preindukcí a indukcí vaginálního porodu v Perinatologickém centru FN Olomouc v roce 2017

Hostinská E., Svancarová K., Pilka R., Ľubušký M.

Porodnicko-gynekologická klinika LF UP a FN Olomouc

Cíl studie: Zjistit incidenci preindukcí a indukcí vaginálního porodu v Perinatologickém centru (PC) Fakultní nemocnice Olomouc (FNOL) v roce 2017.

Metodika: Retrospektivně-prospektivní kohortová studie. V roce 2017 bylo v PC FNOL celkem 2545 porodů. V lednu – červenci (n = 1479) byla analýza provedena retrospektivně a od srpna následně prospektivně (n = 1066). Pro prospektivní analýzu byl ke klinickému informačnímu systému (KIS) ve FNOL vytvořen nástavbový software, který umožňuje vedení elektronické zdravotní dokumentace ve strukturované podobě a součástí zdravotní dokumentace je u každé preindukce/indukce indikační protokol. Preindukce porodu – použití farmakologických či jiných metod za účelem přípravy děložního hrdla před indukcí porodu při nepřipraveném nálezu (cervix skóre ≤ 5). Indukce porodu – vyvolání děložních kontrakcí u těhotné ženy, u které dosud neprobíhá porod, s cílem dosáhnout vaginálního porodu (cervix skóre > 5). Při retrospektivní analýze však nebylo možné ze zdravotní dokumentace vždy spolehlivě rozlišit, zda se jednalo o preindukci nebo indukci a proto jsou ve výsledcích uvedeny společně.

Výsledky: V lednu – červenci 2017 byla incidence preindukcí/indukcí vaginálního porodu 20,0 % (295/1479). V srpnu – prosinci 2017 byla incidence preindukcí/indukcí 17,0 % (181/1066); preindukcí 7,1 % (76/1066), indukcí 9,9 % (105/1066).

Závěr: V České republice nejsou v současnosti k dispozici validní data o incidenci preindukcí/indukcí vaginálního porodu v jednotlivých zdravotnických zařízeních, protože stávající klinické informační systémy takto definované parametrické dotazy neumožňují. Je třeba vytvořit klinický informační systém, který by umožnil vedení zdravotní dokumentace v péči o těhotnou ženu, plod rodičku a novorozence v definovatelné strukturované podobě a následně podrobnou analýzu i dalších parametrů.

Screening *RHD* genotypu plodu u RhD negativních žen

Kratochvílová T.¹, Durdová V.¹, Bohmová J.², Holusková I.³, Ľubušký M.¹

¹Porodnicko-gynekologická klinika LF UP a FN Olomouc

²Ústav lékařské genetiky FN Olomouc

³Transfúzní oddělení FN Olomouc

V rámci screeningového vyšetření v I. trimestru těhotenství by mělo být všem ženám provedeno laboratorní vyšetření z periferní krve a stanovena RhD krevní skupina. Cílem screeningu je diagnostikovat RhD negativní těhotné ženy (cca 15%, cca 15.000 těhotných žen ročně v České republice), které jsou ohroženy rozvojem RhD aloimunizace. K rozvoji RhD aloimunizace může dojít pouze v případech, že plod je RhD pozitivní. V průběhu těhotenství by RhD negativním těhotným ženám měl být v indikovaných případech preventivně podán imunoglobulin IgG anti-D v dostatečné dávce, a to v případech potenciálně senzibilizujících událostí, při kterých může dojít k průniku RhD pozitivních erytrocytů plodu do krve matky a rozvoji RhD aloimunizace, dále se provádí antepartální profylaxe ve 28. týdnu a po porodu RhD pozitivního plodu. Na začátku těhotenství je možné u RhD negativních žen stanovit RHD genotyp plodu z volné fetální DNA cirkulující v mateřské periferní krvi. Vyšetření musí být přesné, spolehlivé a dostupné, tak aby bylo využitelné v klinické praxi.

Metodika: DNA izolovaná z 1 ml plazmy periferní krve těhotné ženy byla izolována pomocí kitu QiaAmp DNA Mini Kit (Qiagen). Pro stanovení RHD genotypu plodu byly vypracovány dvě metodiky. TaqMan Real Time PCR s vnitřní kontrolou amplifikace, která je založena na detekci exonu 7 RHD genu a pro vnitřní kontrolu amplifikace byla použita sekvence β -globinu. Druhou metodikou je QF-PCR s vnitřní kontrolou amplifikace pomocí kapilární elektroforézy. Pro amplifikaci a kvantifikaci multiplexu byly použity primery z exonu 7 RHD genu a pro vnitřní kontrolu amplifikace byly použity primery pro gonozomální sekvence AMELX/Y.

Cílem je zhodnotit efektivitu zavedení neinvazivního stanovení *RHD* genotypu plodu u všech RhD negativních žen.

Z medicínského hlediska je stanovení *RHD* genotypu plodu u všech RhD negativních žen na začátku těhotenství efektivní. Umožní tak diagnostikovat cca 40 % *RHD* negativních plodů kdy ženě není třeba podat IgG anti-D. IgG anti-D by mělo být podáno pouze v indikovaných případech, protože se vyrábí z plazmy senzibilizovaných dárců, objem produkce je tudíž limitován. Dále se jedná o heterologní bílkovinu, která může vyvolat nežádoucí reakci. Rekombinantní forma IgG anti-D zatím není k dispozici.

Z ekonomického hlediska vzhledem k relativně nízké ceně IgG anti-D není v podmínkách České republiky efektivní stanovení *RHD* genotypu plodu u všech RhD negativních žen.

Možnost využití stanovení poměru sFlt-1/PlGF v managementu těhotenství se závažnou formou preeklampsie a HELLP syndromu

Roubalová L., Kratochvílová T., Gardlo A., Lúbušký M.

Porodnicko-gynekologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Těžká forma preeklampsie a HELLP syndromu patří k nejzávažnějším komplikacím těhotenství. Možnost diagnostiky je omezená a i u jednoznačně stanovené diagnózy je složité predikovat závažnost stavu pro těhotnou ženu i plod a zvolit optimální management těhotenství, případně jeho ukončení. Během posledních let se do diagnostiky a predikce stále více zapojují angiogenní biomarkery sFlt-1 a PlGF, resp. jejich vzájemný poměr. Cílem naší retrospektivní studie bylo vyhodnotit možnost využití stanovení poměru sFlt-1/PlGF v managementu těhotenství se závažnou formou preeklampsie a HELLP syndromu a stanovit statisticky významnou cut-off hodnotu poměru sFlt-1/PlGF pro porod do 48 hod od posledního odběru.

Metodika: Do retrospektivní studie bylo zařazeno **61** těhotných žen, které byly hospitalizovány z důvodů závažných příznaků svědčících pro těžkou preeklampsii nebo HELLP syndrom a splňovaly výběrová kritéria pro zařazení: hodnota poměru **sFlt-1/PlGF >85** (validovaná hodnota studií PROGNOSIS pro placentární dysfunkci), **poslední odběr do týdne těhotenství 36+0**, dostupné hodnoty všech vybraných parametrů (poměr sFlt-1/PlGF, krevní tlak, proteinurie, hodnota ALT, AST, LDH a počet trombocytů) a kompletní follow up. Na základě konečné diagnózy byly těhotné rozděleny do tří skupin: HELLP syndrom (n = 9), těžká preeklampsie (n = 35) a ostatní: gestační hypertenze, těhotenská cholestáza, porod po týdnu těhotenství 37+6 (n = 17). Pro statistickou analýzu byla použita metoda hlavních komponent a Studentův t-test.

Výsledky: Metoda hlavních komponent ukázala, že jediným statisticky významným faktorem ze všech stanovených parametrů pro predikci porodu do 48 hod je hodnota poměru sFlt-1/PlGF. Byla stanovena **cut-off hodnota poměru sFlt-1/PlGF >900** pro porod do 48 hod od posledního odběru na hladině významnosti $p < 0.05$.

Závěr: Z našich výsledků vyplynulo, že stanovení poměru sFlt-1/PlGF je vhodným doplňkovým markerem pro diagnostiku těžkých forem preeklampsie a HELLP syndromu. Stanovená hodnota cut-off poměru sFlt-1/PlGF >900 **s vysokou senzitivitou predikuje porod do 48 hod od stanovení** a tím umožňuje zvolit optimální management těhotenství a vhodné načasování ukončení těhotenství.

Maternal serum levels of PIGF and sFlt-1 in predicting delivery of an SGA newborn

Roubalova L.¹, Langova K.², Kroutilova V.³, Durdova V.³, Kratochvilova T.³, Lubusky M.³

¹Department of Clinical Biochemistry, University Hospital Olomouc, Czech Republic

²Department of Medical Biophysics, Palacky University Olomouc, Faculty of Medicine and Dentistry, Czech Republic

³Department of Obstetrics and Gynecology, Palacky University Olomouc, Faculty of Medicine and Dentistry, University Hospital Olomouc, Czech Republic

Objective: Currently, there is no laboratory screening test available to identify pregnancies at risk of delivering a small for gestational age (SGA) newborn. SGA is associated with placental dysfunction. It can be supposed that there is an association between maternal serum levels of angiogenic factors (PIGF - placental growth factor, sFlt-1 - soluble fms-like tyrosine kinase 1) and SGA. The aim of the study was to assess maternal serum levels of sFlt-1, PIGF and the sFlt-1/PIGF ratio in an unselected population of pregnant women and evaluate the cut-off value in predicting delivery of an SGA newborn.

Methods: In a prospective cohort study, in a group of **406** unselected pregnant women with singleton pregnancies, maternal serum PIGF and sFlt-1 were assessed using the Thermo Fisher assays on a Kryptor Compact platform. PIGF was assessed three times (at 9–13, 30–32 and 36–37 gestational weeks) and sFlt-1 two times (at 30–33 and 36–37 weeks) and the sFlt-1/PIGF ratio was calculated. Newborn weight centiles were evaluated according to INTERGROWTH-21 standards. A receiver operating characteristic (ROC) analysis was used to determine the threshold of the levels of PIGF and sFlt-1 and sFlt-1/PIGF ratio in predicting delivery of an SGA newborn.

Results: SGA (birth weight <10th centile) was diagnosed in **7%** of the newborns (29/406) and **1%** (4/406) had a birth weight <3rd centile. ROC analysis showed that none of the parameters were able to predict delivery of **SGA <10th** centile, the area under the curve (AUC) was poor for all parameters regardless of gestational age and did not exceed a level of 0.75. In the group **SGA <3rd** centile, ROC analysis showed an excellent accuracy for **PIGF in the 3rd trimester**, at 30–33 weeks (AUC = 0.89), and particularly at 36–37 weeks (AUC = 0.91). The optimal PIGF cut-off at **30–33 weeks** was **182** with sensitivity 87% and specificity 75% and at **36–37 weeks** cut-off **76** with sensitivity 86% and specificity 100%, respectively.

Conclusions: Maternal serum PIGF in the 3rd trimester, particularly at 36–37 weeks, can predict the delivery of an SGA <3rd centile at term, but not <10th centile, and neither sFlt-1 nor sFlt-1/PIGF ratio improve prediction.

Management umělého ukončení těhotenství Farmakologickou metodou nepřesahuje-li těhotenství 7 týdnů v České republice

Slunská P.¹, Hanáček J.², Fanta M.³, Sehnal B.⁴, Gerychová R.⁵, Holá A.², Zdeňková A.³,
Neumannová H.⁴, Dziaková M.⁵, Ľubušký M.¹

¹ Porodnicko-gynekologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Ústav pro péči o matku a dítě, 3. LF UK, Praha

³ Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

⁴ Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

⁵ Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno

Cíl studie: V České republice (ČR) lze ženě uměle ukončit těhotenství v I. trimestru farmakologickou metodou od června roku 2014, pokud o to písemně požádá a je-li při ultrazvukovém vyšetření prokázáno nitroděložní jednočetné prosperující těhotenství od 42. do 49. dne sekundární amenorey, temeno-kostrční délka (crown-rump length, CRL) zárodku 2-9 mm. Cílem práce je analýza managementu umělého ukončení těhotenství Farmakologickou metodou (UUT-F), nepřesahuje-li těhotenství 7 týdnů v pěti centrech v ČR.

Metodika: Multicentrická kohortová (prospektivní) studie. V letech 2014-2016 přišlo požádat o UUT-F celkem **1820** těhotných žen, diagnóza nitroděložního jednočetného prosperujícího těhotenství byla stanovena při ultrazvukovém vyšetření transvaginální sondou, CRL 2-9 mm. UUT-F bylo provedeno kombinací podání mifepristonu (600 mcg perorálně) a misoprostolu (400 mcg perorálně) s odstupem 48 hodin. Kontrolní ultrazvukové vyšetření k vyloučení pokračování těhotenství bylo provedeno za 2-3 týdny.

Výsledky: Celkem u **11,0 %** žen (201/1820) bylo diagnostikováno CRL >9 mm, neprosperující, vícečetné nebo ektopické těhotenství. U **1619** žen bylo diagnostikováno těhotenství nitroděložní jednočetné prosperující CRL 2-9 mm a výkon byl proveden, ale v 221 případech (13,7 %) byla nutná alespoň jedna klinická návštěva navíc než bylo možné stanovit diagnózu, v 19 případech dvě návštěvy (1,2 %) a v 5 případech dokonce 3 (0,3 %). Délka sekundární amenorey v den zahájení výkonu byla 42-49 dní (průměr - 47,1; medián - 47), věk žen byl 14-47 let (průměr - 30,7; medián - 30). Celkem **20,8 %** žen (336/1619) se nedostavilo na kontrolní ultrazvukové vyšetření k vyloučení pokračování těhotenství a hodnocení výsledku tudíž mohlo být provedeno pouze u **1283** žen. Selhání metody „Pokračující těhotenství“ bylo diagnostikováno u **1,6 %** žen (21/1283), „Neúplný potrat“ u 6,5 % žen (83/1283) a „Kompletní potrat“ u 91,9 % (1179/1283). Následná chirurgická intervence byla provedena celkem u **7,4 %** žen (95/1283)

Závěr: Zdravotnické zařízení provádějící farmakologické ukončení těhotenství v I. trimestru by si mělo vypracovat vlastní metodický postup v souladu s platnou legislativou, souhrnem údajů o přípravcích a doporučením odborné společnosti. Součástí metodického postupu by měl být rovněž způsob hodnocení výsledku a management. Následná chirurgická intervence by měla být provedena pouze v indikovaných případech. Hlavním cílem kontrolního vyšetření je vyloučení selhání metody „Pokračování těhotenství“ a pacientka by měla být podrobně informována o rizicích a možnostech řešení, nutný je informovaný souhlas.

Umělé ukončení těhotenství Farmakologickou metodou (UUT-F) v I. trimestru – význam stanovení hCG a ultrazukového vyšetření při diagnostice těhotenství a hodnocení výsledku UUT-F

Slunská P.¹, Maděrková Tozzi M.¹, Kolářová V.¹, Langová K.², Ľubušký M.¹

¹ Porodnicko-gynekologická klinika, Univerzita Palackého Olomouc, Lékařská fakulta, Fakultní nemocnice Olomouc, Česká republika

² Ústav lékařské biofyziky, Univerzita Palackého Olomouc, Lékařská fakulta, Česká republika

Cíl studie: V České republice (ČR) lze ženě **uměle ukončit těhotenství farmakologickou metodou (UUT-F) v I. trimestru** je-li při ultrazukovém vyšetření prokázáno **nitroděložní jednočetné prosperující těhotenství od 42. do 49. dne sekundární amenorey**, temeno-kostrční délka (crown-rump length, **CRL**) zárodku **2-9 mm**. Cílem studie je analýza významu stanovení lidského choriového gonadotropinu (hCG) v séru/moči a ultrazukového (UZ) vyšetření při diagnostice těhotenství a hodnocení výsledku UUT-F.

Metodika: Kohortová (prospektivní) studie. V letech 2016-2017 bylo provedeno UUT-F celkem u **109** žen, diagnóza nitroděložního jednočetného prosperujícího těhotenství byla stanovena při ultrazukovém vyšetření transvaginální sondou, CRL 2-9 mm. UUT-F bylo provedeno kombinací podání mifepristonu (600 mcg perorálně) a misoprostolu (400 mcg perorálně) s odstupem 48 hodin. Stanovení hCG v séru/moči (low sensitivity urine pregnancy test, LSUP test) a UZ vyšetření byly provedeny při diagnostice těhotenství i hodnocení výsledku UUT-F za 2-5 týdnů.

Výsledky: Při diagnostice těhotenství byla pozitivní a středně silná korelace mezi hCG v séru a průměrem gestačního věku ($r = 0,711$; $p < 0,0001$) i CRL ($r = 0,605$; $p < 0,0001$). Délka sekundární amenorey v den zahájení výkonu byla 42-49 dní (průměr – 45,6; medián - 45), věk žen byl 16-44 let (průměr – 29,4; medián – 29). Při kontrolním vyšetření po UUT-F byla u **13,8 %** žen (15/109) hodnota hCG v séru > 1000 IU/l a u **17,4 %** (20/109) byl pozitivní LSUP test. UZ vyšetření diagnostikovalo „Pokračující těhotenství“ u pěti žen a zamlklé těhotenství u jedné ženy (hCG v séru bylo vždy > 1000 IU/l a LSUP test byl vždy pozitivní). Celkem u **5,5 %** žen (6/109) byla provedena následná chirurgická intervence včetně „Pokračujícího těhotenství“ (n = 5); u zamlklého těhotenství (n = 1) byl podán další misoprostol a chirurgickou intervencí nebylo nutné provést.

Závěr: Při diagnostice těhotenství je pozitivní a středně silná korelace mezi hCG v séru a CRL. Při kontrolním vyšetření po UUT-F umožní **negativní LSUP** test spolehlivě vyloučit pokračující i zamlklé těhotenství, je-li **LSUP test pozitivní**, mělo by být provedeno **ultrazukové vyšetření**, ale **chirurgická intervence** by neměla být indikována pouze na základě rozšířené dutiny děložní.