

Odporúčanie pre lekársku genetiku ku indikovaníu prenatalných genetických testov na podklade výsledkov prenatalného multimarkerového skríníngu vrodených vývojových chýb (VVCH).

(v nadväznosti na OU MZSR č. 14631-3/2006-OZS zo dňa 19.10.2006, Vestník MZ SR 2006: Odborné usmernenie MZ SR o prenatalnom multimarkerovom skríníngu vrodených vývojových chýb (VVCH); pri zohľadnení pokrokov v prenatalnom skríníngu a prenatalnej diagnostike za roky 2006-2016 , a v nadväznosti na Odporúčania ku indikovaníu cytogenetických a molekulárno-cytogenetických vyšetrení na základe anamnestických údajov a klinického vyšetrenia pacienta vrátane prenatalného obdobia (upgrade 2021), v zmysle Koncepce zdravotnej starostlivosti v odbore lekárska genetika zo dňa 14.apríla 2014, čiastka 21-22, ročník 62, v zmysle štatútu hlavných a krajských odborníkov, Vestník Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo dňa 18. novembra 2011, čiastka 34-36, ročník 59.)

Úvod.

Prenatálna diagnostika je otvorený systém, vývojom sa mení a prináša nové trendy, preto indikácie genetických vyšetrení musia byť odôvodnené dokázateľným prínosom. Klinický genetik musí odpovedať na tie špecifické otázky tehotnej o zdraví plodu , ktoré sa dajú skúmať genetickými metódami. Našou povinnosťou je v rámci genetickej konzultácie vysvetliť najlepší spôsob požadovanej genetickej diagnostiky . Genetické vyšetrenie plodu indikuje lekár-klinický genetik, konzultuje predtým genetické riziko. Do praxe vstúpili nové genetické metódy a vyšetrenia . Tieto na jednej strane sa rozširujú možnosti zistenia významnej genetickej patológie, na druhej strane zvyšujú nároky na správnosť interpretácie nálezov v rámci genetickej konzultácie. Napriek tomuto modernizačnému vývoju je vyšetrenie chromozómov plodu považované za zlatý štandard v prenatalnej genetickej diagnostike. Podľa analýzy genetických rizík vyberie lekár- klinický genetik prípadné ďalšie potrebné genetické vyšetrenia. V spolupráci s lekármi odboru gynekológie-pôrodnictva sa dohodnú najvhodnejšie spôsoby odberu vzorky na vyšetrenie (CVS,AMC, kordocentéza).

Klinická genetika napĺňa v prenatalnej diagnostike dve hlavné úlohy:

- indikáciu genetických vyšetrení plodu odvedenú z prenatalných skríníngov a genetických vyšetrení v rodine, v rámci prenatalnej genetickej konzultácie,
- spoluprácu na prenatalnej diagnostike genetických a negenetických chorôb/chýb plodu so špecialistami v odbore fetomaternalnej medicíny (vývojové chyby, syndrómy, teratologické riziko, iné postihnutie plodu).

Lekárska genetika poskytuje v prenatalnej diagnostike:

1. Všeobecné genetické vyšetrenie.

Tehotnej žene, odoslanej na ambulanciu lekárskej genetiky ku genetickému vyšetreniu, pri všetkých indikáciach, sa poskytuje vyšetrenie, ktoré zahŕňa:

- a./ genealógiu, vrátane zápisu a analýzu potrebnej dokumentácie ku zisteniu genetických rizík,
- b./ osobnú anamnézu oboch partnerov (v prípade podozrenia aj somatické vyšetrenie),
- c./ anamnézu gravidity - zameranú na priebeh gravidity, výsledky prenatalných skriningových vyšetrení a sonografických hodnotení vývoja plodu,
- d./ genetickú konzultáciu o všeobecných a konkrétnych aspektoch prenatalnej genetickej diagnostiky individualizovanú na nálezy a podmienky tehotnej,
- e./ indikáciu odôvodnených genetických testov a informovaný súhlas tehotnej
- f./ písomne vypracovanú správu o genetickom vyšetrení, o zistených genetických rizikách a o navrhovaných indikáciach genetického testovania s dôrazom na opis rozhodnutia tehotnej o ďalšom postupe.

2. V genetickom vyšetrení sa zisťuje prítomnosť niektorej indikácie na prenatalne laboratórne genetické vyšetrenie plodu:

indikácie cytogenetickej analýzy plodu z plodovej vody, choriových klkov, krvi plodu na základe indikácií z prenatalných skriningov:

- má sa vyšetrovať karyotyp plodu z každej odobratej vzorky v rámci indikácií prenatalnej genetickej diagnostiky
- indikáciu prenatalnej cytogenetickej diagnostiky a použitie konkrétnych cytogenetických metód vykoná lekár – klinický genetik, na základe podrobnej analýzy údajov a vyhodnotení genetických rizík pre plod;
- obdobie počas ktorého je možné vykonávať prenatalne genetické vyšetrenia plodu aj s rozhodovaním o UPT je limitované. Preto je dôležitá aj rýchlosť vykonania vyšetrení a získania informácií. Z tohto dôvodu, ako aj dôvodu výrazného poklesu vykonávania invazívnych genetických vyšetrení je v súčasnosti odporúčané stanovenie numerických aberácií chromozómov 13, 18, 21, X a Y, metódou FISH alebo QF-PCR, už v prvom kroku prenatalného genetického vyšetrenia.

1. úroveň – klasická cytogenetika

- vek matky nad 38 rokov v čase pôrodu (staršia dohoda s gynekologicko-pôrodnickou spoločnosťou), tzv. veková indikácia, epidemiologicky odôvodnená,
- nosičstvo balansovanej chromozómovej anomálie (CHA) u rodiča,
- výskyt CHA u potomka alebo v blízkom príbuzenstve,
- ultrasonograficky zistená vývojová chyba plodu,
- ultrasonograficky zistená „pozitívna“ 2 a viac ultrasonografických minormarkerov,
- štandardne vyhodnotený „pozitívny“ multimarkerový skrining gravidity v kontexte zvolenej stratégie prenatalného skriningu, riziko Downovho syndrómu 1:250 a viac, abnormálny biochemický skrining (prítomnosť dvoch a viac výsledkov mimo rozsah 0,5 -2,5 MoM)
- zistené vysoké riziko CHA (aneuploidia ev. iná) v skriningu cffDNA.
- neúspešný alebo neinformatívny výsledok skriningu cffDNA ak pretrváva „štandardná“ indikácia pre cytogenetické vyšetrenie plodu;
- NT (nuchálna translucencia) nad 3 mm s/bez pozitivity UZV iných minormarkerov (dĺžka nosovej kosti, prenasálne zhrubnutie, prietok v ductus venosus, trikuspidálna regurgitácia)

-riziko DS 1:250 vypočítané len na základe ultrasonografických nálezov v I. trimestri, ak nemáme aj vyšetrenie biochemických markerov; alebo riziko podľa zvolenej kontingenčnej skriningovej stratégie,

-prítomnosť 2 a viac ultrasonografických minormarkerov pre riziko Downovho syndrómu v II. trimestri (hypoplázia nosovej kosti, hyperechogénne črevo, echogénny intrakardiálny fokus, renálna pyelektázia, skrátenej femur/humerus, dvojcievny pupočník, cysty plexus chorioideus, klinodaktýlia, prietok v ductus venosus, rozšírenie NF)

-lekár –klinický genetik, indikuje podľa povahy nálezov rozšírenie vyšetrenia karyotypu na zistenie konkrétnych mikródelečných/mikroduplikačných syndrómov buď jednotlivo, alebo v určitom vyšetrovacom bloku, jemu dostupnými metódami (napríklad DiGeorge syndróm, Prader-Willi syndróm apod.)

-alebo vyšetrenia z 2. línie molekulárnej cytogenetiky.

2. línia -molekulárna cytogenetika

-chromozómová anomália u plodu, ak je potrebné upresnenie s cieľom korektnej interpretácie patologického nálezu (vyšetrenie molekulárnej cytogenetiky sa indikuje pri zistení susp. chromozómovej anomálie, ktorá sa metódami klasickej cytogenetiky nedá jednoznačne upresniť, alebo v obdobnej indikácii ako je vyšetrenie bloku mikródelečných a mikroduplikačných syndrómov)

-gravidita s abnormálnym ultrasonografickým nálezom u plodu (vývojová chyba plodu, polymalformácie, polydysmorfie)

-gravidita s plodom, kde je namerané NT nad 3mm

-gravidita v rodine so známym nosičstvom klinicky významnej CHA zistenej pre-alebo postnatálne metódou molekulárneho karyotypovania

3. Indikácie prenatalných genetických testov na základe „pozitívneho multimarkerového skriningu VVCH“.

Genetické testy, spravidla vyšetrenie chromozómových aberácií, indikujeme len na základe výpočtu „ individualizovaného genetického rizika „ pomocou hodnôt biochemických a sonografických markerov. Výpočet sa realizuje špecializovaným certifikovaným softvérom. Základné podmienky pre skrining určuje OU MZ SR o prenatalnom multimarkerovom skriningu vroděných vývojových chýb.

V SR sa používajú rôzne skriningové stratégie s rôznou mierou záchytnosti a variabilnou efektivitou, preto odporúčame používať jednotný cut - off na indikáciu vyšetrenia chromozómových aberácií: 1:250. V prípade že sa lokálne používa niektorá iná presne definovaná, spravidla kontingenčná skriningová stratégia ,určuje sa indikácia genetických vyšetrení podľa dohodnutého nastavenia.

Ak je hladina AFP v sére nad 2,5 MoM, čo signalizuje možné zvýšenie rizika pre NTD/rázštep brušnej steny, tak podrobne analyzujeme prítomnosť faktorov, ktoré zvyšujú hodnotu AFP, spolupracujeme so špecialistami odboru gynekológie-pôrodnictva a odporúčame podrobné UZV vyšetrenie plodu. Pri extrémne zvýšených hodnotách AFP (nad 2.5 MoM) a ev. prítomnosti aj ďalších ultrasonografických markerov, alebo abnormálnych hodnotách aj ďalších biochemických markerov, rozhodujeme o vyšetrení na chromozómové aberácie individuálne.

S invazívnym odberom vzorky sa traduje informácia o riziku spontánneho potratu. Štúdie z ostatných rokov však dokazujú, že riziko spontánneho potratu po AMC a odbere CVS je podstatne nižšie, ako sa traduje. Vo veľkých centrách s veľkým

počtom odberov na jedného lekára, ktorý ich vykonáva pravidelne, nie je riziko významne odlišné od rizika populačného. Podľa ostatných metaanalýz má výkon CVS prídavok ku riziku spontánneho potratu 0,22 % a výkon AMC dokonca len 0,11 % (1,2,3). Podľa týchto údajov treba korigovať kalkulácie rizika tak u gynekológa ako aj u klinického genetika.

4. Dostupnosť efektívnejších verzií prenatálneho multimarkerového skríningu na Slovensku

sa podstatne zlepšila (zvyšujú záchytnosť a znižujú počet potrebných invazívnych odberov vzorky), a tak v súlade s OU MZ SR (Odborné usmernenie MZ SR o prenatálnom multimarkerovom skríningu vrodených vývojových chýb (VVCH) je žiadúce aby doubletest a triplotest skríniny v II.trimestri , ktoré sú už odborne prekonané , boli nahradené robustnejšou skrínigovou stratégiou v SR. Tehotnej žene by mal jej gynekológ-pôrodník zabezpečiť vykonanie multimarkerového skríningu niektorou z efektívnejších metód: a./kombinovaný skrínig v I. trimestri, b./integrovaný biochemický skrínig c./ integrovaný skrínig aj s meraním NT , (alebo varianty týchto skrínigov).

Zaradenie cffDNA skrínigu do algoritmu prenatálneho skrínigu aneuploidii nie je v súčasnosti na Slovensku legislatívne spracované. V klinickej praxi je cffDNA skrínig ponúkaný buď úplne voľne aj pri nerozpoznanom genetickom riziku gravidity, alebo ako sekundárny skrínig v nadväznosti na rozpoznanie genetického rizika použitím niektorej skrínigovej stratégie . Použitiu cffDNA skrínigu prostredníctvom ambulancie lekárskej genetiky musí predchádzať klasická prenatálna genetická konzultácia o možnostiach a limitoch skrínigových a genetických vyšetrení.

5. Z dlhodobých štatistík o prenatálnej genetickej diagnostike v SR vyplýva, že niektoré tradované indikácie na vyšetrenie karyotypu plodu odhaľujú aj chromozómové anomálie štatisticky len na úrovni bežného populačného výskytu.

Platí to o indikáciách : teratologickom riziku, opakovaných spontánných potratoch, gravidite po IVFET (tento fakt je zavzatý do výpočtu rizika v rámci prenatálneho skrínigu, veku otca.. Rozhodnutie o indikácii v týchto situáciách závisí na odbornom vyhodnotení genetického rizika klinickým genetikom.

6. Kontrola kvality

Ambulancia lekárskej genetiky používa pre indikácie prenatálnych laboratórnych genetických vyšetrení výsledky a výpočty rizík na základe vyhodnotení multimarkerového skrínigu špecializovaným softvérom. V prípade pochybností o kvalite a rozsahu skrínigu, ako aj v prípade hraničných či abnormálnych hodnôt markerov, je vhodné prihliadať na čo najbezpečnejšiu interpretáciu pre tehotnú , prípadne celý skrínig zopakovať, najlepšie v laboratóriu s vysokou úrovňou kontroly kvality.

7. Stanovenie numerických aberácií chromozómov 13, 18, 21, X a Y , metódou FISH alebo QF PCR .

Obdobie počas ktorého je možné vykonávať prenatalne genetické vyšetrenia plodu aj s rozhodovaním o UPT je limitované. Preto je dôležitá aj rýchlosť vykonania vyšetrení a získania informácií. Z tohto dôvodu, ako aj dôvodu výrazného poklesu vykonávania invazívnych genetických vyšetrení je v súčasnosti odporúčané stanovenie numerických aberácií chromozómov 13, 18, 21, X a Y, metódou FISH alebo QF-PCR, už v prvom kroku prenatalného genetického vyšetrenia. O prínose a samotnej indikácii vyšetrenia rýchlej diagnostiky aneuploidíí alebo iných testov pre konkrétnu tehotnú ženu rozhodne klinický genetik.

8. V súvislosti s rozvojom kvalitných ultrasonografických vyšetrení v I. a II. trimestri aj v SR odporúčame vyšetrenie kompletného karyotypu plodu z dôvodu ultrasonografického nálezu ak je:

- * ultrasonografický nález štruktúrovej anomálie plodu,
 - * NT (nuchálna translucencia) nad 3,0 mm s/bez pozitivity uzv minormarkerov (dĺžka nosovej kosti, prenasálne zhrubnutie , ductus venosus flow , trikuspidálna regurgitácia)
 - * riziko DS 1:250 vypočítané len na základe ultrasonografických nálezov v I.trimestri, ak nemáme aj vyšetrenie biochemických markerov;; alebo riziko podľa zvolenej kontingenčnej skriningovej stratégie
- * uzv nález je suspektný pre syndróm chromozómovej anomálie alebo niektorý klinicko-genetický syndróm (napr.Turner sy - koarktácia aorty, hydrops, nuchálny edém),
- * sú prítomné 2 a viac ultrasonografické „minor“ markery pre Downov syndróm v II.trimestri (hypoplázia nosovej kosti, hyperechogénne črevo, echogénny intrakardiálny fokus, renálna pyelektázia, skrátенý femur/humerus, dvojcievny pupočník, cysty plexus chorioideus, klinodaktýlia, ductus venosus, rozšírenie NF)

Počet invazívnych odberov plodovej vody v SR významne klesá z viacerých dôvodov, klesá tým však aj záchytnosť niektorých chromozómových anomálií. Zistenie genetickej chyby plodu závisí od viacerých faktorov – od kvality a typu skriningu (biochemického, ultrasonografického ,cffDNA) , od záujmu a vzdelania lekára, záujmu pacientky, od využitia skúseností špecialistov. Kvalitný II.trimestrový ultrasonografický skrining je posledným skriningovým krokom ktorý môže poukázať na vhodnosť aj konkrétneho genetického vyšetrenia plodu . Preto by mal byť dostupný každej tehotnej žene a to najmä v suspektných prípadoch.

9. Podrobné ultrazvukové vyšetrenie plodu v období okolo 20. týždňa gravidity významne prispieva ku „bezpečnosti „ záchytu patológie plodu a ku indikovaníu genetických testov. Spomedzi častejšie riešených situácií sa odporúča napríklad vtedy:

- ak má tehotná žena prenatalny skrining pozitívny pre vyššie riziko rásštetu nervovej trubice (NTD), teda pri hodnotách alfa-1-fetoproteínu (AFP) nad 2,5 MoM, (multiples of median),
- ak tehotná s pozitívnym skriningom pre riziko DS (Downov syndróm) neakceptuje po genetickej konzultácii cytogenetické vyšetrenie plodu, ale

žiada podrobné ultrazvukové vyšetrenie, podľa výsledku ktorého sa chce v ďalšom rozhodovať,

- ak je vypočítané riziko pre DS hraničné (1:260 – 1:350), alebo hodnoty biochemických markerov sú abnormálne,
- ak je NT (nuchálna translucencia) nad 3 mm,
- ak tehotná nemala vykonaný skríning,
- ak je podozrenie na teratologické riziko, ak sú v anamnéze opakované spontánne potraty, ak gravidita vznikla za použitia metódy IVFET (in vitro fertilizácia a embryonálny transfer),
- Ak boli zistené nepriame ultrasonografické znaky pre vch plodu (oligohydramnion, polyhydramnion),

10. Molekulárno-genetické vyšetrenia a molekulárno-cytogetické vyšetrenia

a./ indikuje klinický genetik z dôvodu - známeho štandardného genetického rizika konkrétnej monogénovej choroby, alebo vypočítaného skríningom (SLO syndróm), často však na základe ultrasonografie plodu (achondroplázia/hypochondroplázia, thanatoforný nanizmus, spinálna muskulárna neuropatia I, kranioostenózy...)

b ./ klinický genetik (vid' aj bod 7 Odporúčania) na základe rozboru pozitívnych nálezov (štruktúrová anomália, polymalformačný syndróm ,vysoké NT, pozitívne minormarkery, pozitívny skríning, abnormálny skríning, neobvyklé nálezy na sonomorfológii plodu, IUGR, a pod.) prioritne indikuje vyšetrenie karyotypu plodu a rozhoduje aj o prínose rýchlej orientácie na prítomnosť aneuploidií metódou vyšetrenia aneuteštu ,

11. Nadštandardné výkony

Všetky požiadavky na laboratórne prenatálne genetické vyšetrenia, ktoré nespĺňajú indikačné kritéria zo zvýšeného genetického rizika, alebo nálezu na plode, sa môžu sa vykonávať ako nadštandardná platená služba. Vyšetrenia sa však aj v takýchto prípadoch vykonajú po genetickej konzultácii, poučení a informovanom súhlase na vlastnú žiadosť. Súčasťou správy o genetickom vyšetrení pri požiadavke na nadštandardný výkon je informovaný súhlas tehotnej. Platby za tieto výkony sú určené všeobecnými kalkuláciami a predpismi.

12. Záver

Ak sa zistí patológia plodu a vykoná UPT, odporúčame podľa úvahy klinického genetika zabezpečiť čo najpodrobnejšiu dokumentáciu plodu (fotodokumentáciu, sekčnú dokumentáciu, RTG, odber materiálu na ďalšie genetické vyšetrenia a pod), pre prípadnú pokračujúcu genetickú konzultáciu.

MUDr. František Cisárik, CSc, hlavný odborník MZ SR pre lekársku genetiku

upgrade máj 2021, schválené výborom SSLG.

Literatúra

1. Wulff CB, Gerds TA, Rode L, et al. Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147 987 singleton pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 38-44.

2. Akolekar RR. Referee commentaries. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 14-16

3. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, et al. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 16-26.
4. Šantavý J, Stejskal D, Loucký J, Šubrt I, Všetická J, Gregor V, Macek M jr. Provádění všeobecného prenatalního screeningu vrozených vývojových vad. *Actual Gyn.* 2014;6:19-22
5. G.McGillivray, J.A.Rosenfeld, R.J.McKinlay, Gardner and L.H.Gillam. Genetic counselling and ethical issues with chromosome microarray analysis in prenatal testing. *Prenatal Diagnosis* 2012, 32, 389–395, DOI: 10.1002/pd.
6. Update on Procedure-Related Risks for Prenatal Diagnosis Techniques. *Fetal Diagn Ther* 2010;27:1–7, DOI: 10.1159/000271995
7. A. Tabor*, C. H. F. Vestergaard† and Ø. Lidegaard: Fetal loss rate after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34: 19–24, Published online 5 June 2009 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/uog.6377
8. Ann Tabor a Zarko Alfirevic: Update on Procedure-Related Risks for Prenatal Diagnosis Techniques, *Fetal Diagn Ther* 2010;27:1–7. DOI: 10.1159/000271995