

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**Hyperkoagulační stavy v graviditě, vliv
nízkomolekulárního heparinu**

Bakalářská práce

Kristýna Kabelová

Školitel: MUDr. Ivan Vonke, MBA.

České Budějovice 2017

Bakalářská práce:

Kabelová K., 2017: Hyperkoagulační stavy v graviditě, vliv nízkomolekulárního heparinu. [Hypercoagulable states in pregnancy, effect of low molecular weight heparin. Bc. Thesis, in Czech.]-p. 43, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

Hypercoagulable states cause thromboembolic disease which includes deep vein thrombosis and pulmonary embolism. It's one of the most common cardiovascular diseases. It occurs due to genetic and acquired factors. Congenital factors include coagulation inhibitor deficiency, prothrombin gene mutation, activated protein C resistance etc. Acquired factors include use of oral contraceptives, imobility, pregnancy etc.

The analytic part of the thesis is focused on level of D-dimer of pregnant women depending on congenital hypercoagulable states and anticoagulant therapy. These women were patient of Clinical hematology clinic in the České Budějovice hospital a.s. in 2016.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, 19.4. 2017

.....

Kristýna Kabelová

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucímu své bakalářské práce panu primáři MUDr. Vonkemu, MBA za trpělivost, odborné rady, ochotu a skvělé vedení. Další poděkování patří Mgr. Roučkové a Mgr. Scheinostovi za vstřícnost při absolvování praxe na jejich oddělení. Na posledním místě patří poděkování mé rodině a přátelům za jejich neustálou podporu při psaní bakalářské práce, ale i po celou dobu studia.

Obsah

Úvod a cíl práce.....	1
1 Hemokoagulace.....	2
1.1 Koagulační faktory.....	2
1.2 Koagulační kaskáda.....	3
1.2.1 <i>Vnější cesta.....</i>	3
1.2.2 <i>Vnitřní cesta.....</i>	3
1.2.3 <i>Společná cesta.....</i>	4
1.3 Inhibitory krevního srážení.....	4
1.3.1 <i>Antitrombin (AT).....</i>	4
1.3.2 <i>Protein C (PC).....</i>	4
1.3.3 <i>Protein S (PS).....</i>	5
1.3.4 <i>Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI).....</i>	5
1.4 D-dimer jako produkt fibrinolýzy.....	5
2 Tromboembolická nemoc (TEN).....	7
2.1 Hluboká žilní trombóza (HŽT).....	8
2.2 Plicní embolie (PE).....	8
3 Hyperkoagulační stavy.....	11
4 Rizikové faktory vzniku TEN.....	12
4.1 Vrozené rizikové faktory.....	12
4.1.1 <i>Deficit AT.....</i>	12
4.1.2 <i>Deficit PC.....</i>	12
4.1.3 <i>Deficit PS.....</i>	13
4.1.4 <i>APC rezistence.....</i>	13
4.1.5 <i>Defekt protrombinu G20210A.....</i>	13
4.1.6 <i>Hyperhomocysteinemie (HHc).....</i>	14
4.1.7 <i>Krevní skupiny systému AB0.....</i>	14
4.2 Získané rizikové faktory.....	14
4.2.1 <i>Získané neovlivnitelné rizikové faktory.....</i>	14
4.2.2 <i>Získané ovlivnitelné rizikové faktory.....</i>	15
4.3 Vliv vnějších faktorů.....	17
5 Hyperkoagulační stavy v graviditě.....	18

6	Profylaxe TEN	19
6.1	Metody tromboprofylaxe	19
6.1.1	<i>Mechanické metody</i>	19
6.1.2	<i>Farmakologická léčba</i>	20
6.2	Tromboprofylaxe v graviditě a po porodu	21
7	Cíl práce a hypotézy	22
7.1	Cíl práce	22
7.2	Hypotézy.....	22
8	Materiály a metodiky	23
8.1	Hematologická analýza.....	23
8.1.1	<i>Analýza krevního vzorku</i>	23
8.2	Genetická analýza.....	24
8.2.1	<i>Stanovení mutace genu pro FV Leiden metodou Real-Time PCR</i>	24
9	Výsledky	26
10	Diskuze	32
11	Závěr	35
12	Seznam citované literatury	36
13	Příloha	42
13.1	Seznam použitých zkratk.....	42

Úvod a cíl práce

Hemokoagulace je složitý proces řady mechanismů, zahrnujících aktivační a inhibiční faktory, které jsou vzájemně v rovnováze. Její porucha vede ke vzniku hyperkoagulačních stavů. Díky nimž je zvýšené riziko vzniku tromboembolické nemoci (TEN) zahrnující hlubokou žilní trombózu (HŽT) a plicní embolii (PE). Tyto stavy vznikají z vrozené nebo získané poruchy. Mezi vrozené patří deficit řady inhibitorů hemokoagulace, APC rezistence, mutace protrombinu G20210A atd. Mezi získané pak gravidita, užívání hormonální antikoncepce, obezita aj. TEN je velmi častou příčinou úmrtí na celém světě. Kvasnička (2010) uvádí, že přibližně 12 % z celkového počtu úmrtí zaujímá právě TEN. Jako prevence jejího vzniku se provádí tromboprolaxe a to mechanická, kdy pacient používá různé kompresní bandáže, či farmakologická nejčastěji pomocí nízkomolekulárních heparinu.

U gravidních žen je již samotná gravidita rizikový faktor vzniku TEN a ve spojení s trombofilním stavem jsou gravidní pacientky ještě ve větším riziku. Urbánková (2002) ve své publikaci uvádí, že TEN stojí na prvním místě příčin morbidity a mortality v těhotenství a v šestinedělí. Nejčastějšími vrozenými rizikovými faktory vzniku TEN jsou bodová mutace genu pro koagulační faktor V (FV) zvaná Leiden a bodová mutace genu pro protrombin G20210A.

Tato bakalářská práce se zabývá především těmito výše zmíněnými mutacemi u gravidních žen. V analytické části se sledují hladiny D-dimerů u zdravých žen a žen s heterozygotním typem těchto mutací v průběhu celého těhotenství. Homozygotní forma se v tomto souboru patientek vůbec nevyskytovala. Jedná se o gravidní pacientky Ambulance klinické hematologie v nemocnici v Českých Budějovicích a.s., u kterých byla provedena v roce 2016 laboratorní vyšetření na oddělení Hematologie a Genetiky. Díky genetické analýze možných trombofilních stavů u těchto patientek a laboratornímu sledování hladiny D-dimerů lze předejít propuknutí TEN, neboť gravidním ženám s vrozenou trombofilii nebo zvýšenou hladinou D-dimerů se předepisuje antikoagulační léčba.

Dalším sledovaným faktorem v této bakalářské práci je proto vliv nízkomolekulárního heparinu na hladinu D-dimerů.

1 Hemokoagulace

Hemokoagulace neboli srážení krve je hlavní fází celkového procesu zástavy krvácení, hemostázy, při poškozeních vznikajících v cirkulaci krve. Při hemokoagulaci se tekutá krev mění ve stabilní krevní sraženinu a vytváří sekundární zátku. Za jejím vznikem stojí koagulační kaskáda, kde jsou přeměňovány neaktivní enzymy na enzymy aktivní. Děje se tak v každém stupni kaskády. V poslední fázi dochází k přeměně fibrinogenu, rozpustné plazmatické bílkoviny, na nerozpustný fibrin, který vytváří fibrinovou síť (Fontana, Lavříková, 2017).

1.1 Koagulační faktory

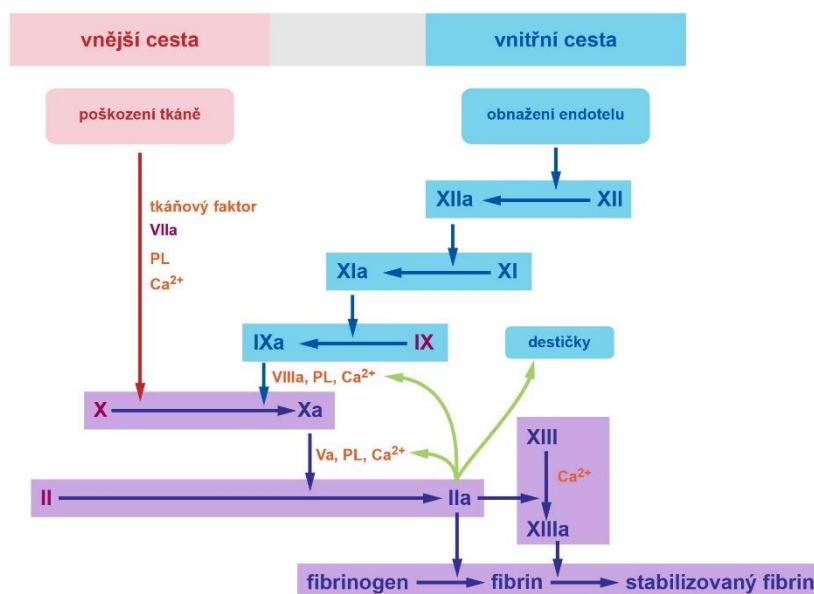
Koagulační faktory jsou základem funkce plazmatického koagulačního systému. Řadí se mezi plazmatické polypeptidy a glykoproteiny. Některé fungují jako kofaktory a některé mají enzymovou aktivitu (Kubisz et al., 2006).

Koagulační faktor	Zkratka	Funkce	Místo syntézy
Fibrinogen	FI	kofaktor	játra
Protrombin	FII	proteáza	játra (K)
tkáňový faktor	FIII	kofaktor	tkáňové buňky
Ca ²⁺	FIV	kofaktor	ion
preakcelerin	FV	kofaktor	játra
destičkový faktor 3	FVI	kofaktor	megakaryocyty
destičkový faktor 4		kofaktor	megakaryocyty
prokonvertin	FVII	séřinová proteáza	játra (K)
antihemofilický faktor A	FVIII	séřinová proteáza	játra
von Willebrandův faktor	vWF	kofaktor	endotelové buňky megakaryocyty
antihemofilický faktor B	FIX	séřinová proteáza	játra (K)
Stuartův-Proverův faktor	FX	séřinová proteáza	játra (K)
Rosenhalův faktor	FXI	séřinová proteáza	játra
Hagemanův faktor	FXII	séřinová proteáza	játra
Prekalikrein		séřinová proteáza	játra
HMWK		kofaktor	játra
faktor stabilizující fibrin	FXIII	transglutamináza	játra

Tab. 1: Koagulační faktory (převzato z Kubisz et al., 2006).

1.2 Koagulační kaskáda

Je složena do podoby písmene Y a je tvořena vnější cestou, vnitřní cestou a společnou cestou koagulace. Účastní se jí šest koagulačních faktorů (faktory XII, XI, IX, VII, X a II), které mají enzymovou aktivitu a 3 kofaktory (tkáňový faktor, faktory VIII a V), bez enzymové aktivity, mající úlohu aktivace faktorů. Společnou částí kaskády je fibrinogen→fibrin. Faktor XIII zabezpečuje tvorbu nerozpustné fibrinové sítě (Kaletová et al., 2013).



Obr. 1: Schéma procesu hemokoagulace (převzato z Fontana, Lavříková, 2017).

1.2.1 Vnější cesta

Tkáňový faktor (TF, FIII) za normálních podmínek není v kontaktu s krví, neboť se nachází v subendotelových strukturách, kde je integrálním proteinem. Při aktivaci vnější cesty dochází ke kontaktu krve s TF, který se naváže na neaktivní faktor VII (FVII), aktivuje ho na FVIIa a vytvoří s ním aktivní komplex TF-FVII, dále se aktivuje faktor IX (FIX) na FIXa, který je také součástí vnitřní cesty, a faktor X (FX) na FXa. Všechny následující děje se odehrávají na povrchu negativně nabitých fosfolipidových membrán (PL), které poskytují aktivované krevní destičky (trombocyty) (Kaletová et al., 2013).

1.2.2 Vnitřní cesta

Faktor XII (FXII) se váže na membránu PL a dochází tak k přeměně na FXIIa, ten následně aktivuje faktor XI (FXI) na FXIa, který aktivuje přeměnu FIX na FIXa. Vytváří se tak tzv. vnitřní tenázový komplex tvořený FIXa, FVIIIa. FVIII je aktivován trombinem,

fosfolipidy a vápenatými ionty (Ca^{2+}) (Fontana, Lavříková, 2017). Tento komplex pomáhá aktivnímu komplexu TF-FVII v aktivaci FX na FXa (Kaletová et al., 2013).

1.2.3 Společná cesta

Faktor V (FV), kofaktor, se váže na FXa a vytváří tak aktivní komplex FX-FV, který štěpí plazmatickou bílkovinu protrombin, faktor II (FII), na aktivní trombin (FIIa) (Kaletová et al., 2013). Napomáhá k tomu tzv. protrombinázový komplex. Trombin katalyzuje přeměnu rozpustného fibrinogenu na rozpustný fibrin, vzniká tak fibrinová síť. Tato síť však není dostatečně pevná, a proto dochází ke vzniku kovalentních můstků mezi α - a γ -řetězcem fibrinu. Tento proces je katalyzován FXIIIa (Fontana, Lavříková, 2017).

1.3 Inhibitory krevního srážení

Inhibitory krevního srážení, známé také jako antikoagulační faktory, jsou odpovědné za regulaci koagulační kaskády. Rozdělují se do dvou skupin na specifické a nespecifické. Specifické inhibitory cíleně potlačují jeden či několik koagulačních faktorů (Kubisz et al., 2006). Patří mezi ně antitrombin (AT), protein C (PC), protein S (PS) a inhibitor systému tkáňového faktoru (TFPI) (Bártová, 2016). Mezi nespecifické inhibitory se řadí α_2 -makroglobulin, α_1 -antitrypsin, C1-inhibitor. Ty potlačují proteolytické enzymy. Z hlediska hemostázy jsou důležitější inhibitory specifické (Kubisz et al., 2006).

1.3.1 Antitrombin (AT)

Jedná se o plazmatický glykoprotein, který je syntetizován v játrech. Kofaktorem AT je heparin, který podporuje jeho aktivitu při inhibici trombinu (FIIa). Heparin je glykozoaminoglykan (GAG) syntetizovaný v žírných buňkách (mastocytech). Kromě FIIa váže antitrombin také FIXa, FXa, FXIa a FXIIa. (Kubisz et al., 2006). Při poklesu AT v krvi může dojít ke vzniku trombózy. Největšímu riziku vzniku trombózy jsou vystaveny gravidní ženy a ženy užívající hormonální antikoncepci (OC) (Bártová, 2016). U gravidních žen dochází k vzestupu hladin většiny koagulačních faktorů (Binder et al., 2004). Přítomnost hormonů v OC snižuje hladinu AT v krvi (Bártová, 2016).

1.3.2 Protein C (PC)

Neaktivní forma PC je na vitamínu K závislá látka syntetizovaná v játrech. PC se aktivuje působením komplexu trombomodulin-trombin-protein S (PS) (Kubisz et al., 2006). Při vazbě trombomodulinu na PC se inhibiční aktivita PC zvyšuje až sto tisíckrát (Bártová, 2016). Aktivovaný protein C (APC) proteolyticky štěpí FVa a FVIIIa (Kubisz et al., 2006).

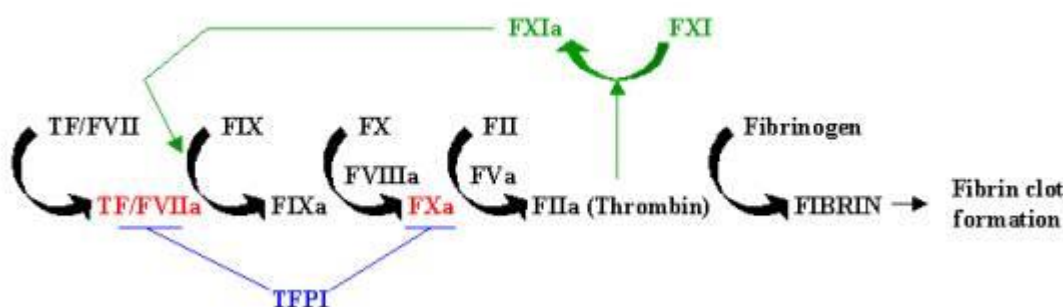
U gravidních žen je koncentrace PC stabilní, ale klesá jeho aktivita, ovšem zůstává v mezní normě. Bylo zjištěno, že přibližně 40 % gravidních žen má získanou rezistenci vůči APC.

1.3.3 Protein S (PS)

PS stejně jako PC je syntetizován v játrech a je to vitamin K-dependentní protein. Je nedílnou součástí pro funkci PC a proto, pokud je snížena syntéza PS, ovlivňuje aktivaci PC a dochází tak ke špatné regulaci inhibice koagulačního systému (Bártová, 2016). Hladina volného PS se v druhé polovině těhotenství snižuje a může dosahovat jen kolem 50 % původních hodnot (Binder et al., 2004).

1.3.4 Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI)

TFPI je syntetizován buňkami endotelu a krevními destičkami. K jeho aktivaci je potřeba vazba na komplex VIIa-FXa-TF, díky čemuž následně FXa inhibuje. Už v místě tvorby komplexu TF-FVIIa při aktivaci koagulace se TFPI snaží inhibovat koagulační kaskádu (viz Obr. 3). Bylo zjištěno, že PS je mimo jiné kofaktorem také TFPI, proto když dojde poklesu hladiny PS, sníží se tak i účinnost TFPI (Bártová, 2016).



Obr. 2: Inhibice TFP (převzato z The European Bioinformatics Institute; InterPro- Tissue Factor, 2006).

1.4 D-dimer jako produkt fibrinolýzy

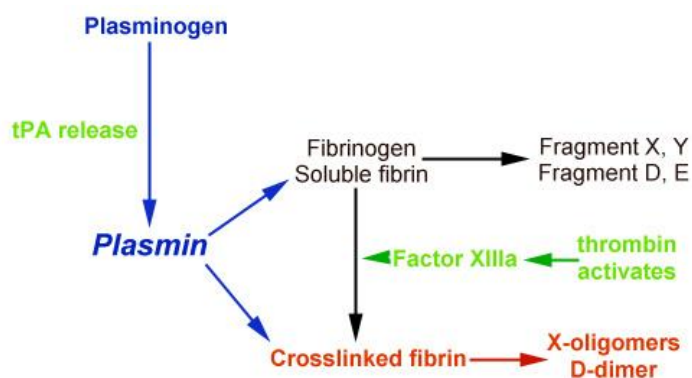
Fibrinolýza je proces enzymatického štěpení zesíťovaného fibrinu plazminem na degradační produkty, které jsou odstraněny z oběhu játry a buňkami mononukleárního fagocytárního systému. Skládá se ze složek: neaktivní plazminogen, aktivní plazmin, aktivátory plazminogenu a inhibitory. Stimul pro uvolňování aktivátorů plazminogenu dává trombin, vazopresin, adrenalin aj. (Trojan et al., 2003).

Existují dvě skupiny inhibitorů aktivátorů plazminogenu a inhibitory plazminu:

Inhibitor typu I: Chrání primární homeostatickou zátku před předčasným rozpuštěním, je složkou α - granulí destiček.

Inhibitory typu II: Inhibují plazmin, patří mezi ně primární inhibitor α_2 -antiplazmin a α_2 -mikroglobulin, oba inaktivují plazmin, který je odplavován pryč z místa aktivace. (Trojan et al., 2003)

D-dimer je degradační produkt fibrinolýzy. Jedná se o plazmatický protein složený ze dvou D-domén z fibrinových jednotek, které jsou propojeny kovalentní vazbou, díky níž je odolný vůči štěpení plazminem. Normálně je v krvi přítomno nedetekovatelné množství D-dimerů, ovšem při infekcích, trombóze, diseminované intravaskulární koagulaci (DIC), po operacích, v graviditě aj. je jeho hladina v krvi zvýšená (Hejduková et al., 2007).



Obr. 2: Průběh fibrinolýzy, tvorba D-dimeru (převzato z Eclinpath, 2013).

2 Tromboembolická nemoc (TEN)

Jako tromboembolická nemoc (TEN) je označována hluboká žilní trombóza (HŽT) a plicní embolie (PE). Jedná se o závažný zdravotní problém, který se drží na třetím místě kardiovaskulárních úmrtí a v zemích Evropské unie a v Severní Americe TEN stojí za vysokou mortalitou¹ a morbiditou². Zaujímá 12 % z celkového počtu všech úmrtí. V Evropě přibližně 500 000 osob ročně umírá na komplikace TEN (Kvasnička, 2010). Výskyt HŽT v populaci je 2krát až 4krát vyšší než výskyt PE (Bartoš, 2014). Roční incidence³ TEN je jeden až dva případy na 1000 obyvatel v bílé populaci. Riziko vzniku TEN se zvyšuje s věkem. Do 20. roku života se TEN vyskytuje vzácně, po 45. roce se incidence zvyšuje, ve věku nad 75 let TEN postihuje 1 % populace. Incidence je u Asiatů nižší než u Evropanů a Afričanů (Musil, 2009). TEN se vysoce podílí na mateřské morbiditě a mortalitě během těhotenství a v šestinedělí. U těhotných žen je riziko TEN až 6krát vyšší než u negravidních žen. Riziko se také zvyšuje u osob majících rizikové faktory vzniku. (viz Kapitola 4) U gravidních žen bývá častým projevem postižení levé dolní končetiny, u 90 % (Binder et al., 2004).

Projevy TEN (A de Palo, 2016):

- Dušnost, nejčastější symptom PE
- Pleuritická⁴ bolest na hrudi, kašel, hemoptýza⁵- PE v blízkosti pohrudnice
- Synkopa⁶ s masivní PE
- Úzkost
- Otoky dolních končetin, teplo na dotek, citlivost-spojeno s HŽT
- Tachypnea⁷- dechová frekvence >18 dechů/min
- Tachykardie
- Zdůrazněná druhá srdeční ozva
- Horečka (> 38,5 °C)
- Cyanóza⁸

¹ = Úmrtnost, udává poměr počtu zemřelých na dané onemocnění k celkovému počtu obyvatel (Bencko, 2002).

² poměr počtu nemocných k počtu obyvatel v daném správním celku (Bencko, 2002)

³ poměr nově vzniklých onemocnění (v daném časovém období) k celkovému počtu osob ve sledované populaci (Bencko, 2002)

⁴ Bolest se zvyšuje při kašli nebo nádechu (Kardioblog, 2012).

⁵ vykašlání krve z dolních cest dýchacích nebo z plic (Klener, 2006)

⁶ krátkodobá ztráta vědomí (Aktivity pro zdraví, 2013)

⁷ zrychlené dýchání (Kardioblog, 2012)

⁸ namodralé zbarvení nejčastěji prstů a rtů (Kardioblog, 2012)

2.1 Hluboká žilní trombóza (HŽT)

HŽT také jinak označována jako flebotrombóza je onemocnění hlubokého žilního systému, kdy dochází k částečnému nebo úplnému uzavření žíly trombem. Vyskytuje se u 1-2 případů na 1000 obyvatel ročně. Průměrný věk, kdy dochází ke vzniku HŽT, je u mužů nižší než u žen-muži 66 let, ženy 72 let. HŽT vzniká při kombinaci abnormalit žilní stěny, žilní stázi a změn v koagulaci. Podstatou je kombinace více rizikových faktorů. Žilní tromby jsou, na rozdíl od arteriálních trombů, tvořeny především fibrinem, erytrocyty a obsahují velmi málo trombocytů. Ve většině případů se jedná o sekundární HŽT, neboť je vyvolána rizikovým faktorem. V případě, že se nepodaří zjistit žádný rizikový faktor, jedná se o primární neboli idiopatickou HŽT (Skalická, 2006).

Základní příčiny vzniku HŽT-Virchowova triáda:

Žilní stáza

Dochází ke vzniku prvotních trombů především v oblasti kapsiček chlopní, kde je nejpomalejší tok krve. Zvyšuje se lokální koncentrace koagulačních plazmatických faktorů a leukocytů. Nejčastější příčinou je imobilita, ale také poškození chlopní předchozí trombotickou příhodou (Hájek et al., 2004).

Poškození cévní stěny

Dochází k němu při chirurgickém výkonu nebo vlivem cytokinů, které se uvolňují z poraněné tkáně nebo při zánětu. Při poškození cévní stěny se aktivuje TF a FVII a je tím zahájena koagulační kaskáda. Tato situace ovšem hraje důležitou roli spíše při arteriální tromboze (Hájek et al., 2004).

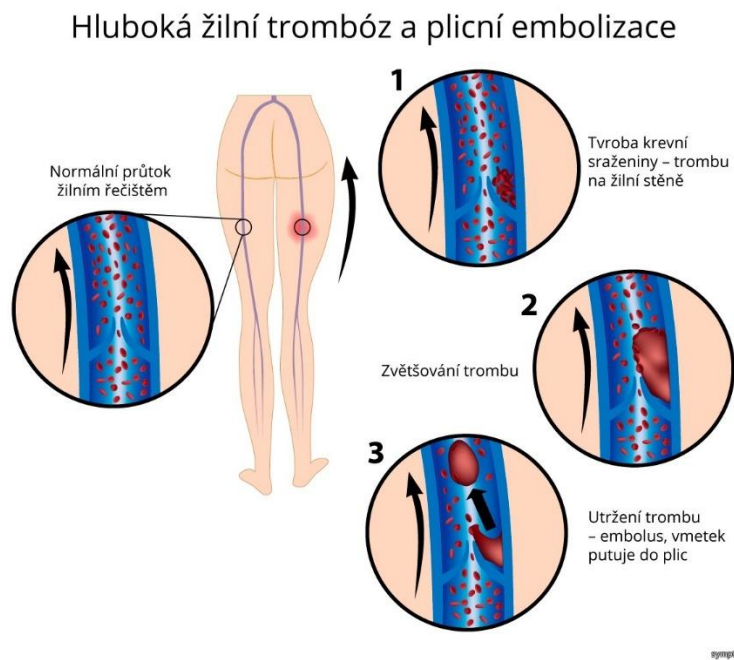
Nadměrná koagulační aktivita

Může být způsobena zvýšenou koagulační aktivitou v krvi, hyperkoagulačním stavem, selháním inhibitorů koagulace či selháním funkce fibrinolytického systému (Hájek et al., 2004).

2.2 Plicní embolie (PE)

PE představuje závažné a časté onemocnění, jehož diagnostika je velmi obtížná vzhledem k různorodosti příznaků, a tak často zůstává nerozpoznána. Incidence není zcela známa, ale odhaduje se, že přibližně 60 osob ze 100 000 obyvatel je postiženo PE. V 90 % případů je PE způsobena hlubokou žilní trombózou dolních končetin (Indrák, 2014). Trombus se většinou nachází v oblasti kyčle a stehna nebo se může utrhnout z pánevních pletení a jako embolus

putuje do plicnice (viz Obr. 3) (Kliková, 2015). Jak bude stav PE závažný, závisí na rozsahu trombu v plicnici (Hájek et al., 2004). Příznaky vznikají zcela náhle (příznaky viz Tab. 1).



Obr. 3: Vznik trombu v žilním řečišti (převzato z Kliková, 2015).

Příznak	Prevalence
Dušnost	80 %
Bolest na hrudi- pleurální	52 %
Bolest na hrudi- substernální ⁹	12 %
Kašel	20 %
Hemoptýza	11 %
Synkopa	19 %
Tachypnoe	70 %
Tachykardie	26 %
Známky HŽT	15 %
Horečka (> 38,5 °C)	7 %
Cyanóza	11 %

Tab. 2: Prevalence symptomů a klinických známek u pacientů s prokázanou PE (převzato z Indrák, 2014).

V případě lehkých forem TEN může dojít k tomu, že se zamění s běžnými znaky doprovázející těhotenství-otoky, bolest, dušnost (Binder et al., 2004).

⁹ v oblasti pod hrudní kostí

3 Hyperkoagulační stavy

Hemokoagulace je velmi složitý proces zahrnující řadu dalších mechanismů, které jsou vzájemně v rovnováze, a pokud dojde k jejich narušení, může to vést ke vzniku hyperkoagulačního stavu (Urbánková et al., 2002). Následkem je zvýšené riziko trombózy. Tyto trombofilní stavy mohou vznikat z vrozené nebo získané poruchy (Kessler, 2006). Jsou vyvolány zvýšenou koncentrací koagulačních faktorů nebo naopak nedostatečnou produkcí či nedostatečnou aktivitou inhibitorů krevního srážení. Lidé s trombofilními stavy mají dvakrát větší riziko vzniku TEN a ženy mají navíc dvakrát větší riziko potratu plodu (Beran, 2006). U většiny vrozených poruch je prokázána konkrétní mutace, pakliže mutaci zdědí od jednoho z rodičů je heterozygot, od obou rodičů je homozygot. U homozygotů je závažnost poruchy zpravidla větší než u heterozygotů.

4 Rizikové faktory vzniku TEN

Rizikové faktory lze rozdělit do několika kategorií na vrozené, získané, které lze ovlivnit/nelze ovlivnit a vlivy vnějších faktorů.

4.1 Vrozené rizikové faktory

Trombofilní stavy mohou vznikat vrozeně-dědičně. Mezi ně patří deficit inhibitorů srážení (AT, PC, PS), APC rezistence, mutace genu protrombinu 20210A a hyperhomocysteinemie (Beran, 2006). Ale také krevní skupina AB0 je rizikovým faktorem (Matýšková, Buliková, 2015). Většina vrozených poruch nemá význam pro vznik arteriální trombózy (Beran, 2006). Rodinná anamnéza je často pozitivní (Friedmann, 1994). Výskyt prvních projevů se zvyšuje s věkem, přičemž u žen první projevy mohou vznikat v důsledku COC nebo gravidity (Karetová, 2007).

4.1.1 Deficit AT

Antitrombin je nejsilnější přirozený inhibitor koagulace. Normální hodnota AT je 100-180 mg/l (Friedmann, 1994). Vrozený deficit AT má v populaci poměrně nízkou prevalenci¹⁰ 0,2-0,5/1000 obyvatel a patří mezi autozomálně-dominantní dědičné onemocnění (Kubisz et al., 2006). Deficit AT je přibližně u poloviny nemocných s trombózou spojen s idiopatickou žilní trombózou (Urbánková et al., 2002). Byly popsány i případy vzniku arteriálních trombóz. Celkem bylo objeveno více než 120 typů mutací tohoto proteinu. Rozlišujeme typ I, neboli kvantitativní defekt, je spojen se sníženou syntézou AT a klesá i jeho celková aktivita a hodnota (Kubisz et al., 2006). Homozygotní forma typu I je neslučitelná se životem (Karetová, 2007). Typ II neboli kvalitativní defekt, vykazuje snížení aktivity AT, syntetizuje se dysfunkční AT (Kubisz et al., 2006). Riziko vzniku žilní trombózy u osob majících deficit AT je až 25krát vyšší než u zdravých osob (Beran, 2006). Kromě vrozeného existují i získané doprovázející různé závažné choroby.

4.1.2 Deficit PC

Jedná se o autozomálně-dominantní dědičné onemocnění, jehož prevalence je 1/10 000 obyvatel (Kubisz et al., 2006). Normální hodnota PC je 4-6 mg/l (Friedmann, 1994). HŽT způsobená deficitem PC se projevuje u heterozygotů, ovšem jsou známy i případy homozygotní formy této mutace, ale většinou dochází k vážné trombóze a běžně také

¹⁰ Podíl obyvatel, kteří mají nebo měli určitou nemoc, stav nebo rizikový faktor v dané lokalitě v daném časovém období (Bencko, 2002).

k purpura fulminans¹¹ těsně po narození nebo během prvního měsíce života (Urbánková et al., 2002). Je popsáno více jak 160 mutací deficitu PC.

4.1.3 Deficit PS

Tento deficit je autozomálně-dominantní dědičné onemocnění. Jeho prevalence v populaci je 0,3-1,3 % (Kubisz et al., 2006). Normální hodnota PS je asi 35 mg/l (Friedmann, 1994). U osob majících deficit PS je až 10krát vyšší pravděpodobnost vzniku HŽT ve srovnání se zdravou populací. Homozygotní forma tohoto deficitu je velmi vzácná (Urbánková et al., 2002). Je známo více jak 70 mutací deficitu PS (Kubisz et al., 2006).

4.1.4 APC rezistence

APC rezistence je odolnost koagulační kaskády na působení APC. V 95 % případů je způsobena bodovou mutací v genu pro FV. Ten je díky ní rezistentní vůči působení komplexu PC-PS (Kubisz et al., 2006). A tak jedna z alel FV je neschopná se proteolyticky štěpit a trombin se nadále syntetizuje (Bártová, 2016). Rozpad FV je až 10x pomalejší (Penka, Tesařová, 2011). Tato bodová mutace se nazývá FV Leiden podle místa svého objevu města Leiden v Nizozemsku. (Blatníková, 2014) Jde o záměnu guanosinu (G) za adenosin (A) v genu pro FV na nukleotidu 1691, což má za následek, že v štěpném místě pro protein C 506 Arg dochází k záměně aminokyselin arginin za glutamin (Penka, Tesařová, 2011). I zde se jedná o autozomálně-dominantní dědičné onemocnění srážení krve (Kubisz et al., 2006). Tento defekt se vyskytuje převážně u bělošské populace. Vysoké prevalence dosahuje Švédsko, 10-15%, naopak nízká prevalence je v Itálii a Španělsku, cca 2% (Urbánková et al., 2002). Ve zdravé populaci se Leiden vyskytuje u 3-15 % jedinců. U pacientů s trombózou a trombofilií jde v 20-60 % případů o Leidenskou mutaci. Riziko trombózy se při této poruše u heterozygotů zvyšuje 5krát až 10krát a u homozygotů 50krát až 100krát. Častěji způsobuje vznik žilní trombózy, na jejímž vzniku se ale podílí i další rizikové faktory (Kubisz et al., 2006). Současně známe ještě další dvě mutace zapříčiňující vznik APC rezistence, a to FV Cambridge a FV Hong Kong (Fialová, 2013). V 5 % případů vzniká APC rezistence z doposud neznámé příčiny.

4.1.5 Defekt protrombinu G20210A

Bodová mutace genu pro protrombin v poloze 20210, kde je guanin zaměněn za adenin (Kubisz et al., 2006). Plazmatická hladina protrombinu je zvýšená a mutace snižuje inhibici trombinu (Urbánková et al., 2002). Při defektu je nejčastěji postižen hluboký žilní systém

¹¹ Purpura fulminans je onemocnění, při kterém se do 72 hodin po narození na různých místech kůže objeví krvavé skvrny, začnou se tvořit hemoragické váčky a následně dochází k nekróze (Edlich, 2015).

dolních končetin. První příznaky se projevují v druhém desetiletí života, většinou z důvodu vzniku jiného rizikového faktoru-úraz, operace, gravidita, OC atd. Riziko vzniku žilní trombózy je 2,5krát až 3krát vyšší oproti zdravým jedincům (Kubisz et al., 2006).

4.1.6 *Hyperhomocysteinemie (HHc)*

Metabolická porucha často doprovázená vznikem žilní nebo typicky arteriální trombózy. Hhc je způsobena mutací v methyltetrahydrofolát (MTHFR), kde dochází k substituci cytosinu za thymin (Beran, 2006). Homocystein (Hc) vyvolává expresi TF a vlivem zvýšené syntézy Hc je exprese TF také zvýšená, a tak narůstá pravděpodobnost vzniku trombózy. Normální hladina Hc v plazmě je v rozmezí 5-15 $\mu\text{mol/l}$, jeho koncentrace se s věkem zvyšuje. Rozlišují se 3 formy HHc podle výšky vzestupu Hc v plazmě- lehká (15-30 $\mu\text{mol/l}$), středně těžká (30-100 $\mu\text{mol/l}$), těžká ($> 100 \mu\text{mol/l}$). HHc se vyskytuje u 5-10 % zdravých jedinců a u 11-19 % pacientů s TEN (Kubisz et al., 2006).

4.1.7 *Krevní skupiny systému ABO*

Tento vrozený rizikový faktor je často zapomínán i přesto, že je nejběžnější. Bylo zjištěno, že osoby s nenulovou krevní skupinou (A, B, AB) mají dvakrát větší riziko vzniku HŽT oproti krevní skupině 0. Příčina není zcela jasná, ale riziko je zřejmě závislé na antigenu H (fenotypicky krevní skupina 0), který na rozdíl od antigenů A a B nesnižuje schopnost von Willebrandova faktoru (vWF) vázat ADAMTS13¹² a tím nezpomaluje jeho štěpení (Matýšková, Buliková, 2015).

4.2 **Získané rizikové faktory**

Získané rizikové faktory doprovázejí vrozené rizikové faktory, samy většinou trombózu nezpůsobují. Některé rizikové faktory nelze ovlivnit- např. věk, rodinná anamnéza, získané koagulační poruchy a některé naopak lze- např. varixy, gravidita, užívání OC, obezita (Musil, 2009).

4.2.1 *Získané neovlivnitelné rizikové faktory*

Se vzrůstajícím **věkem** riziko vzniku HŽT stoupá. Je to jeden z nejčastějších rizikových faktorů. S každou dekadou života se riziko vzniku trombózy zdvojnásobuje. U 80letých je incidence asi 5-6 případů na 1000 obyvatel za rok, u mladých je výskyt vzácný- incidence je udávána

¹² Enzym, který štěpí vWF.

<5 případů na 100 000 obyvatel za rok u jedinců mladších 15 let (Matýšková, Buliková, 2015).

Antifosfolipidový syndrom (APS) se projevuje venózní nebo arteriální trombózou, opakovanými potraty nebo také trombocytopenií či přítomností antifosfolipidových protilátek (APA) v plazmě postiženého. Prevalence v populaci je cca 2-4 %. APA jsou velmi heterogenní skupinou a dělí se na:

Antikardiolipinové protilátky (ACLA): Existují dva typy ACLA. Typ A ovlivňuje koagulační testy závislé na fosfolipidech a typ B tyto testy neovlivňuje. Jejich antigenem je kardiolipin.

Lupus antikoagulans (LA): Zahrnuje řadu protilátek, které se dělí podle antigenu, s kterým reagují na: anti- β_2 -glykoprotein I protilátky (β_2 -glykoprotein I antigen), vlastní LA protilátky (antigen je protrombin). LA ovlivňují koagulační systém řadou mechanismů. (Kubisz et al., 2006)

Získaná APC rezistence se vyskytuje v graviditě, při LA, při hodnotě FVIII více než 200 %, při vysoké hodnotě fibrinogenu atd. Její projev je stejný jako u vrozené APC rezistence (Kubisz et al., 2006). Získaná APC rezistence vzniká v důsledku dysbalance mezi prokoagulačními a antikoagulačními faktory (Bártová, 2016).

Zvýšená hladina FVIII nad 150 % je rizikem pro vznik trombózy, jeho prevalence v populaci je velmi vysoká (Karetová, 2007).

4.2.2 Získané ovlivnitelné rizikové faktory

Obezita způsobuje zvýšení nitrobřišního tlaku, což má za následek, že svalové pumpa díky své snížené schopnosti nemůže vrátit krev z dolních končetin směrem k srdci (B. Braun Medical, 2011).

Varixy neboli křečové žíly, jsou dnes velmi diskutované téma, co se týče jejich vlivu na vznik trombózy. Někteří je označují za nezávislý rizikový faktor vzniku HŽT a v jiných studiích toto vyvrací (Skalická, 2006).

Hormonální antikoncepce je současné době nejpoužívanější metoda ochrany před početím, ovšem díky medializaci rizik se mnoho žen snaží této formě ochrany vyhnout. OC nezávisle na dalších faktorech zvyšuje riziko vzniku TEN 3krát až 4krát. Nejčastějším užívaným typem je kombinované hormonální antikoncepce (COC). Největší riziko vzniku TEN přichází v prvním roce užívání COC (zejména v prvních šesti měsících) a následně přetrvává i po vysazení a zcela mizí po 2. menstruačním cyklu. Při nasazení COC dochází ke zvýšení aktivity

koagulačních faktorů (fibrinogenu, FII, FVII, FVIII, FX), k snížení inhibitorů hemokoagulace (zejména PS) (Dulíček, 2012).

Riziko HŽT u žen užívajících COC je závislé i na dalších faktorech.

Typ antikoncepce
Věk uživatelky
Déla užívání
Přítomnost získaného rizikového faktoru <ul style="list-style-type: none"> - Přechnodného-imobilizace dolních končetin, operace aj. - Déle trvajících
Přítomnost vrozeného trombofilního stavu (jeho typu)
Kouření >35 let pro VTE, u všech pro arteriální trombózu

Tab. 3: Faktory ovlivňující riziko TEN u ženy s COC (převzato z Dulíček, 2012).

U žen užívajících OC a majících deficit AT je riziko trombotické příhody v prvních 6 měsících po nasazení 70-80 %. Riziko vzniku TEN u žen s Leidenskou mutací je vyčísleno v Tab. 3 (Dulíček et al., 2002).

FV Leiden	OC	Riziko VTE
-	-	1
+	-	3-7x větší
-	+	2-4x větší
+	+	20-35x větší

Tab. 4: Riziko TEN u žen s mutací FV Leiden s OC (převzato z Dulíček et al., 2002).

Kombinovaná OC (COC) je v současnosti nejpoužívanější typ OC, skládá se z gestagenu a estrogenu. Hlavní složkou estrogenu je ethynilestradiol (EED). Není prokázáno, že se s nejnižším obsahem EED (20 µg) snižuje riziko vzniku TEN. Ovšem bylo zjištěno, že COC s obsahem 30 µg EED a COC s obsahem 50 µg nemají rozdílné riziko vzniku TEN. Riziko vzniku TEN není závislé jen na přítomnosti EED, ale také na přítomnosti progestinu a jeho typu. Rozdělení OC dle obsahu EED a progestinu je ukázáno v Tab. 4. COC III. generace jsou zodpovědná za 2krát větší riziko TEN než COC II. generace (Dulíček et al., 2002).

Obsah estrogeneru	Obsah progestinu
Preparáty 1. generace EED- 50-100 µg	Nortesteron, norethisteron, lynestrenol
Preparáty 2. generace EED- 30-40 µg	Levonorgestrel (LNG)
Preparáty 3. generace EED- 20-30 µg	Desogestrel, gestoden, norgestimate - metabolizován na LNG

Tab. 5: Rozdělení hormonální antikoncepce (převzato z Dulíček et al., 2002).

Gestagení hormonální antikoncepce neobsahuje estrogen a je tak doporučována ženám se zvýšením rizikem HŽT (Procházka, Procházková, 2010).

4.3 Vliv vnějších faktorů

Riziko vzniku HŽT je ovlivněno také prostředím. Patří sem například sádrová fixace, trauma, imobilizace, chirurgické a ortopedické zákroky, dlouhé lety letadlem či nezvyklá fyzická námaha (Kubisz et al., 2006).

5 Hyperkoagulační stavy v graviditě

V graviditě dochází k celé řadě fyziologických změn. Zvyšuje se roztažnost cév a snižuje se tonus. Ve III. trimestru se z těhotné dělohy stává překážka a snižuje návrat žilní krve z dolních končetin až o 50 %. Dochází ke zvýšení hladiny koagulačních faktorů, zejména vWF, FVIII a fibrinogenu. Zároveň klesá hladina PS a rozvíjí se získaná rezistence k APC (Binder et al., 2004). Tyto změny pomáhají k minimalizaci ztrát krve při porodu, ale jsou také přínosem pro zvýšené riziko vzniku TEN v průběhu těhotenství a v šestinedělí (Urbánková, 2002). Tato „fyziologická hyperkoagulace“ sama o sobě k trombotizaci nemusí vést, neboť je opatřena protektivními mechanismy jako je zvýšená aktivita přirozených inhibitorů koagulace (TFPI, α -2-makroglobulin), ale společně s dalšími rizikovými faktory zvyšuje riziko vzniku TEN (Hájek et al., 2004).

TEN se vyskytuje asi u 1 z 1500 těhotenství. Riziko TEN je u gravidních žen 6krát vyšší. Ve všech trimestrech je stejné, největší je v období po porodu (Binder et al., 2004). Stojí na prvním místě příčin morbidity a mortality v těhotenství a v šestinedělí (Urbánková, 2002). Až ve 20 % případů je HŽT způsobena Leidenskou mutací (Hájek et al., 2004). Bylo zjištěno, že Leidenská mutace může mít ale i pozitivní vliv, neboť novorozenci s touto mutací vykazují velmi nízkou incidenci intraventrikulárního krvácení do CNS (Binder et al., 2004). V současné době se také mluví o protrombinové mutaci, která kromě zvýšeného rizika HŽT může způsobit také preeklampsie¹³, předčasné odloučení placenty, retardace fetálního růstu, narození mrtvého plodu nebo potratu během těhotenství (Urbánková, 2002). Velkým rizikovým faktorem je také deficit AT, při kterém je riziko TEN v těhotenství až 29% (Binder et al., 2004). Neléčené HŽT asi v 16 % případů přechází v PE, ta je spojena s 12-15 % mortalitou (Urbánková, 2002). U 90 % gravidních žen s HŽT dochází k postižení levé dolní končetiny. V 55-75 % případů dochází ke vzniku HŽT před porodem a ke vzniku PE dochází u 2/3 žen po porodu (Binder et al., 2004).

¹³ Onemocnění projevující se zvýšeným krevním tlakem (vlivem zúžení cév), přítomností bílkoviny v moči a dochází ke špatnému vývoji placenty, a tak ke špatnému vývoji plodu (Vitalion, 2017).

6 Profylaxe TEN

Před samotným vznikem TEN a její léčbou je velmi důležitá také tromboprofylaxe jakožto primární prevence, aby ke vzniku vůbec nedocházelo. Primární prevence vzniku TEN se odvíjí od stupně rizika nemocného (viz Tab. 6) Je samozřejmostí u chirurgických pacientů, ovšem 50-70 % symptomatických TEN vzniká u nechirurgických pacientů (Karetová, 2009). Profylaxi je doporučeno provádět ve všech rizikových situacích, včetně těch méně „trombogenních“, jako je imobilizace trvající déle než 72 hodin, porod, šestinedělí apod. (Kessler, 2006). Při prodloužení profylaxe u chirurgických pacientů na jeden měsíc se redukuje riziko symptomatické HŽT o 50-70 % (Musil, 2009).

Nízké riziko	plně mobilní pacienti, malé chirurgické výkony, výkony v lokální anestezii
Střední riziko	pacienti ve věku 40-60 let bez dalších rizik, malá operace s přídatnými riziky, interní pacienti na lůžku
Vysoké riziko	operace u pacienta s mnohočetnými rizikovými faktory, totální endoprotéza kyčelního a kolenního kloubu, fraktura krčku femuru, těžké trauma, operace páteře

Tab. 6: Rizikové úrovně vzniku TEN (převzato z Musil, 2009).

6.1 Metody tromboprofylaxe

Podle stupně rizika se postupuje od mechanických metod k farmakologickým, případně u vysoce rizikových se provádí jejich kombinace.

6.1.1 Mechanické metody

Tato metoda tromboprofylaxe se aplikuje hlavně u pacientů s nízkým rizikem vzniku TEN (< 10 %), neboť její účinek není vysoký. Základem je časná mobilizace, která je velmi účinná, ale zcela nestačí. Pacient tedy kromě toho používá kompresní bandáže-punčochy, podkolenky nebo elastická obinadla (Karetová, 2009). Rozlišujeme kompresivní punčochy s nízkým tlakem (10-15 mm Hg), které redukují otoky po delším sezení nebo stání a zrychlují tok krve u ležících pacientů, pro které mají význam prevence TEN. Užívají se také u gravidních žen k zmírnění pocitu těžkých nohou. Druhým typem jsou kompresivní punčochy s vyšším tlakem (20-30 mm Hg), ty se užívají pro léčbu akutní HŽT, ale také u těhotných apod. (Herman, 2009).

6.1.2 Farmakologická léčba

Užívá se u všech jedinců s rizikem vzniku TEN bez profylaxe vyšším než 10 %. Celosvětově dochází k neustálému vývoji léčiv a snaze naleznout ideální lék. Mnoho let k prevenci sloužil nefrakcionovaný heparin (UFH), ten je dnes nahrazen nízkomolekulárním heparinem (LMWH). Na trhu existuje mnoho dalších léků k prevenci TEN (Dulíček, 2010).

Nefrakcionovaný heparin (UFH): Používá se už více než 90 let a je to lék získaný ze zvířecí tkáně (Kvasnička, 2007). V současnosti není nejvhodnějším antikoagulanciem díky svým nevýhodám (Karetová et al., 2004).

Nízkomolekulární heparin (LMWH): Vyrábí se izolací složky z UFH, která má antitrombotickou aktivitu. V tromboprophylaxi je nejpoužívanějším antikoagulačním léčivem. Je oblíbený pro svou snadnou aplikaci jednorázovou stříkačkou s přesným množstvím antitrombotika a není u něj nutná laboratorní monitorace. Pacient si ho proto může aplikovat sám po poučení lékařem. Díky svým minimálním nežádoucím reakcím je použitelný i pro těhotné ženy. Účinkuje 12-24 hodin po aplikaci. Působí jako blokátor FXa a je antitrombotický. V ČR je k dispozici několik druhů LMWH-Clexane, Fragmin, Fraxiparin, Clivarin apod. (Kvasnička, 2007). Snižuje riziko HŽT o 70 % (Gumulec, 2009).

Warfarin: V medicíně se užívá již více než 60 let. Může se použít při jakékoli antikoagulační léčbě vyjma těhotenství. Je to antagonist vitamínu K, který je důležitý pro syntézu několika koagulačních faktorů. Jeho antikoagulační účinek se objeví po 2-3 dnech, často se kombinuje s LMWH (Laňková, 2010).

NOAC (Non-vitamin Oral AntiCoagulans): Na trhu se vyskytují také nová antitrombotika, mezi které se řadí rivaroxaban, apixaban a dabigatran. Hlavní výhodou je, že není třeba laboratorně monitorovat jejich antikoagulační účinek. Rivaroxaban a apixaban jsou přímými inhibitory FXa, oba mají rychlý nástup účinku. Nejznámější xabany jsou léky Eliquis a Xarelto. Dabigatran je přímý inhibitor trombinu. Jsou s ním nejdelší klinické zkušenosti v použití v praxi ze všech NOAC. Dabigatran je aktivní forma vzniklá metabolizací „proléku“ dabigatran etexilátu. Má rychlý nástup účinku s poměrně dlouhou dobou působení. Nejznámější dabigatran je lék Pradaxa (Kvasnička, 2013).

6.2 Tromboprofylaxe v graviditě a po porodu

U zdravých těhotných s méně závažným rizikem trombózy se LMWH podávají individuálně dle dalších rizik, případně se nasazují před porodem a po porodu. Rutinně se podává u gravidních žen, které již v minulosti TEN prodělaly nebo je u nich prokázán závažný trombofilní stav (Karetová, 2009).

Incidence TEN v populaci zůstává i přes vývoj nových léčiv, terapii HŽT, zlepšená doporučení o profylaxi, stejná. Důvodem je, že se jedinci dožívají vyššího věku, díky čemuž přibývá onemocnění, imobilizace a užívání léků (Dulíček et al., 2009).

7 Cíl práce a hypotézy

7.1 Cíl práce

- Zhodnotit hladinu D-dimerů u gravidních žen v závislosti na přítomnosti hyperkoagulačního stavu a efekt antikoagulační léčby.

7.2 Hypotézy

- Gravidní ženy mají vyšší hladinu D-dimerů než ženy negravidní.
- Ženy s vrozenými hyperkoagulačními stavy mají vyšší hladinu D-dimerů oproti ženám bez vrozených hyperkoagulačních stavů.
- Antikoagulační léčba snižuje nebo alespoň omezuje nárůst hladiny D-dimerů.

8 Materiály a metodiky

V této práci byly použity poznatky získané z diagnostických metod využívaných v Laboratoři hematologie a Laboratoři genetiky Nemocnice České Budějovice a.s.

8.1 Hematologická analýza

Vzorky krve odebrané pacientům jsou společně se žádankami na určitá vyšetření přijímány pracovníky laboratoře 24 hodin denně. Na zkumavku vzorku krve se nalepí číslo s čárovým kódem sloužící k identifikaci pacienta registrovaného v laboratorním systému (OpenLIMS) a zároveň odlišuje, zda se jedná vzorek nutný k urgentnímu okamžitému zpracování a má tak přednost před ostatními vzorky tj. STATIM nebo k neurgentnímu zpracování tj. rutina. Uzávěry zkumavek jsou podle typu koagulačního testu barevně odlišeny.

8.1.1 Analýza krevního vzorku

Každý test má svůj standardní postup. Vzorky určené ke koagulačním testům se musí nejprve centrifugovat, kde díky odstředivé síle dochází k oddělení krevní plazmy a krevní elementy sedimentují u dna. Centrifugace se provádí při 1500 g po dobu 15 minut. Pracovník laboratoře si musí dát pozor, aby vzorek neprotřepal, musela by se provést znovu centrifugace.

Sysmex CS-5100 a Sysmex CS-2100i

Tyto dva koagulometry jsou současně využívány v Laboratoři hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. Jsou to plně automatizované hemokoagulační analyzátory sloužící k *in vitro* diagnostice. Přístroje využívají koagulačních, chromogenních a imunologických metod. Ke vzorku plazmy je přidána reagencie a tato směs je následně vystavena světelnému paprsku a zjišťují se změny procházejícího světla v závislosti na příslušné metodě. Pro koagulační metodu se využívá proces srážení krve, pro chromogenní metodu barevné změny chromogenního substrátu a pro imunologickou metodu latexové shlukování antigenovými protilátkami. Každá z metod se používá pro jiné stanovení.

Koagulační metody pro stanovení trombinového a protrombinového času, deficitu jednotlivých faktorů atd.

Chromogenní metody pro stanovení antitrombinu, anti Xa a proteinu C.

Imunologické metody pro stanovení D-dimerů a vWF.

Pro pacienty s hyperkoagulačními stavy jsou podstatné hodnoty získané z funkčních koagulačních testů. V této práci jsme se zabývali především principem koagulačního testu APC rezistence.

ProC® Ac R test

Plazmy by měli být až do použití zamrazeny při -70 °C. Provádí se dva testy s aktivátorem a bez aktivátoru a změřené výsledky by měly být vydávány jako poměr (Ratio). Při testu s aktivátorem se jako aktivátor využívá hadí jed z *Agkistrodon contortrix contortrix*, který se přidá k testované plazmě a směs se inkubuje po dobu 5 minut při 37°C. Současně se přidá PR3V Reagent obsahující hadí jed z *Vipera Ruselli* předinkubovaný na 37°C a spustí se měření koagulačního času-čas, za který se vytvoří viditelné fibrinové vlákno. Pro test bez aktivátoru se využívá fyziologický 0,15 M roztok natriumchloridu, který se přidá k testované plazmě a inkubuje se 5 minut při 37°C. Současně s přidáním PR3V Reagentu předinkubovaného na 37°C se začne měřit koagulační čas. U vzorku zdravého pacienta se výsledek testu s aktivátorem oproti testu bez aktivátoru prodlouží na dvoj- až trojnásobek. Výsledky poměru menší nebo rovné 1,5 ukazují na APC rezistenci.

$$\text{ProC® Ac R ratio} = \frac{\text{Koagulační čas PR3V s aktivátorem}}{\text{Koagulační čas PR3V s fyziologickým roztokem}}$$

Vzorky s pozitivním nebo hraničním výsledkem by měly být potvrzeny genetickou analýzou.

8.2 Genetická analýza

8.2.1 Stanovení mutace genu pro FV Leiden metodou Real-Time PCR

Při tomto vyšetření se detekuje bodová mutace G1691A v exonu 10 pro FV. V této laboratoři se využívá přístroj Real Time PCR-TaqMan® SNP Genotyping Assays.

Odběr a skladování vzorku

Pro vyšetření se používá vzorek periferní krve ve sterilních zkumavkách s přídavkem EDTA nebo citrátu. Materiál je pod příslušným číslem na zkumavce zapsán do databáze OpenLims a uložen v lednici. Vzorek je zpracován nejpozději do 3 dnů.

Izolace DNA

K izolaci DNA se využívá izolátor QuickGene-Mini80 a automatický izolátor MagCore®. Izolace se provádí v izolačním boxu s laminárním prouděním vzduchu.

Příprava master mixů

Master mix obsahuje směs PCR H₂O (8,75 µl), SuperHot Master Mix 2x 3.0 MgCl₂ (10,0 µl) a směs specifických primerů a sond (0,25 µl). Tato směs se plní do sterilních PCR stripů. Které se barevně označí podle typu mutace. Následně se k ní přidá 1 µl vyizolované DNA.

Amplifikace

Stripy se vloží do rotoru přístroje Light Cycler® 480 a spustí se PCR v následujícím teplotním profilu:

Teplota	Čas [s]	Počet
94°C	120	-
94°C	10	30krát
60°C	20	30krát
72°C	60	30krát

Vyhodnocení

Software Light Cycleru automaticky zjišťuje fluorescenci ampliconů mutovaného a nemutovaného genu. V kanále VIC (533-580) se odečítá fluorescence pro zdravou alelu a v kanále FAM (465-510) pro mutovanou alelu. Vyhodnocení je potom následující:

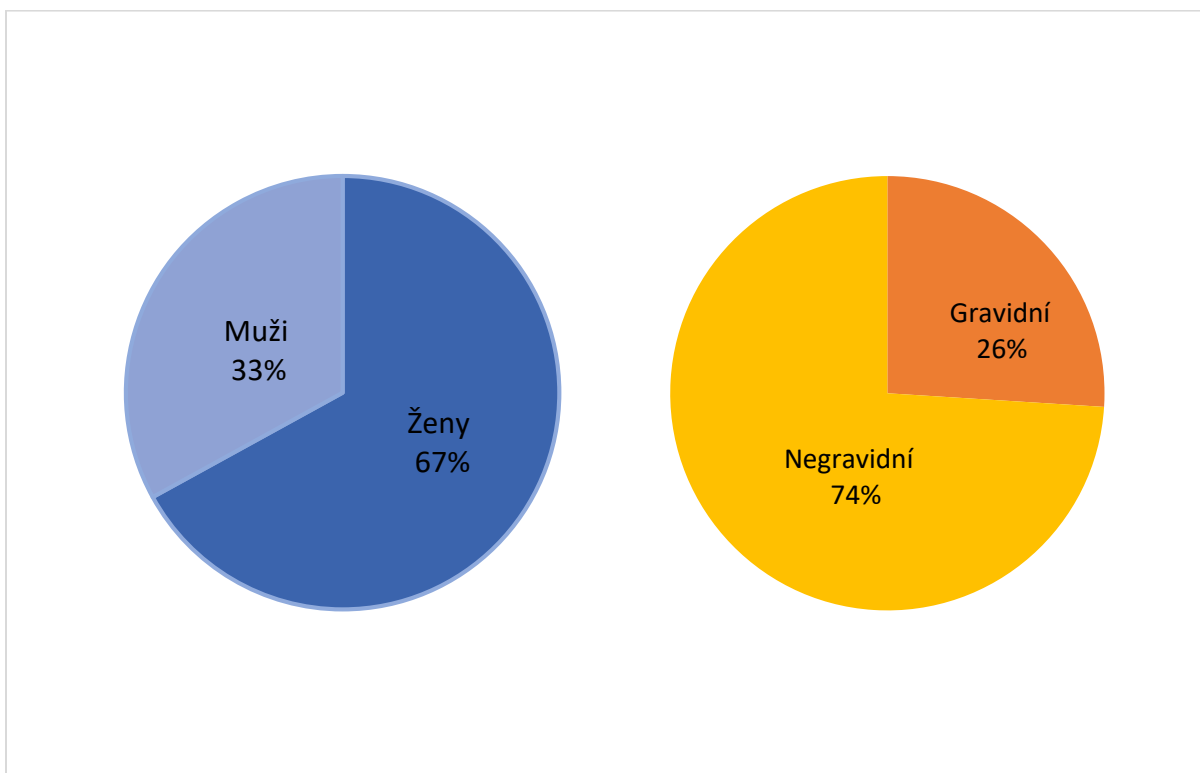
VIC	FAM	Typ	Označení
pozitivní	negativní	wild type	G/G
negativní	pozitivní	homozygot	A/A
pozitivní	pozitivní	heterozygot	G/A

Tab. 7: Vyhodnocení po detekci fluorescence ve VIC/FAM

Při každé sérii vyšetření se provádí interní kontrola, a to pozitivní a negativní. Tyto kontroly umožní kontrolovat řádný průběh amplifikační reakce. Jako pozitivní se používá DNA pacientů, heterozygotů a homozygotů, u kterých byla stanovena přítomnost bodových mutací v genu G1691A pro FV. Pozitivní kontroly se pak označují I/I pro homozygota a +/I pro heterozygota.

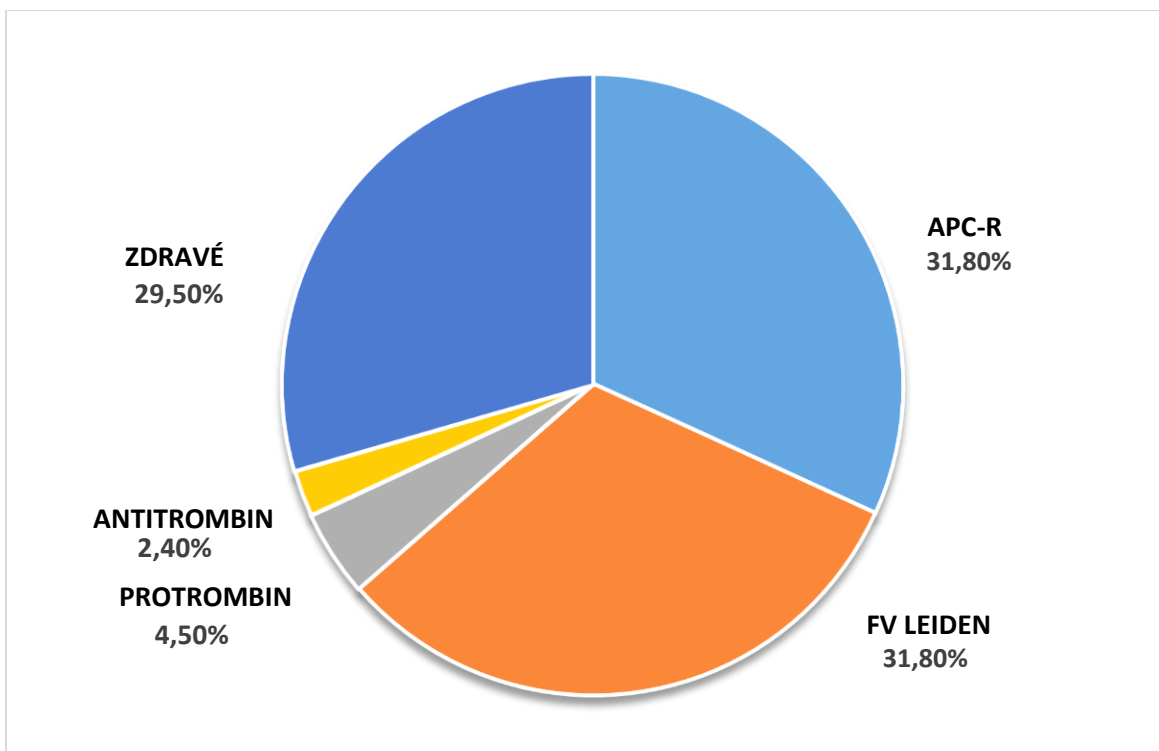
9 Výsledky

Za rok 2016 bylo v Laboratoři hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. (nemocnice) vyšetřeno 575 pacientů na hyperkoagulační stav. Z tohoto celkového počtu bylo 257 osob pacienty Ambulance klinické hematologie (ambulance) v nemocnici. Mezi 257 pacienty ambulance bylo 85 mužů a 172 žen. Ze 172 žen bylo 44 gravidních. (Obr. 4) A právě na gravidní ženy je tato práce zaměřena.



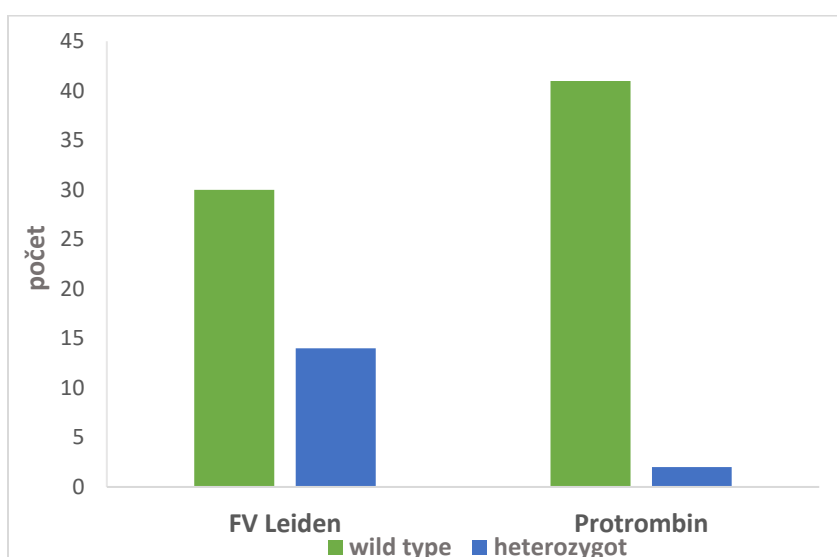
Obr. 4: Podíl mužů a žen a podíl gravidních/ negravidních žen vyšetřených v Ambulanci klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. za rok 2016.

Gravidita je sama o sobě hyperkoagulační stav, ovšem v kombinaci s vrozenou poruchou může být velmi riziková. Proto byla některým gravidním ženám provedena hemokoagulační a genetická vyšetření na APC rezistenci, mutaci FV Leiden, mutaci protrombinu a deficit antitrombinu. Ze 44 gravidních žen mělo 31 žen diagnostikovaný vrozený rizikový faktor a 13 bylo zdravých. U 14 žen se jednalo o mutaci FV Leiden a s ní související APC rezistenci, u 2 žen byla zjištěna mutace protrombinu a u 1 ženy deficit antitrombinu. (Obr. 5)



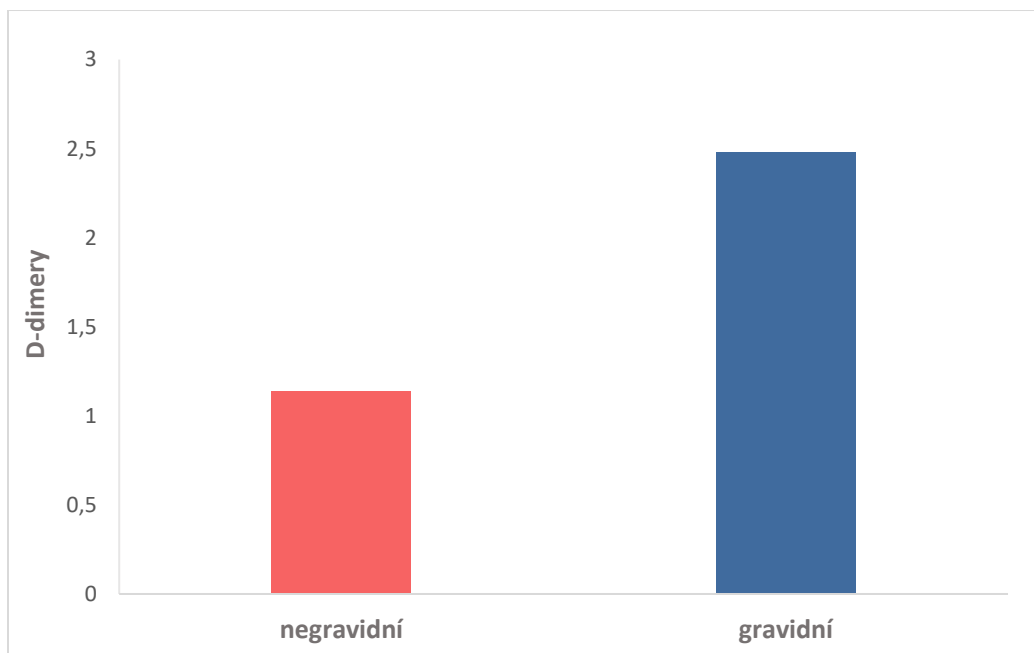
Obr. 5: Frekvence vrozených rizikových faktorů u gravidních žen vyšetřených v Ambulanci klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. za rok 2016.

Tato práce je zaměřena na gravidní ženy s mutací FV Leiden a mutací protrombinu, neboť se jedná o nejvýznamnější trombofilní mutace. Z celkového počtu 44 gravidních žen bylo 14 heterozygotních pro mutaci FV Leiden a 30 negativních pro tuto mutaci. Pro mutaci protrombinu byly 2 ženy heterozygoti a 41 žen zdravých (wild type). (Obr. 6) U obou mutací nebyla žádná homozygotní forma.



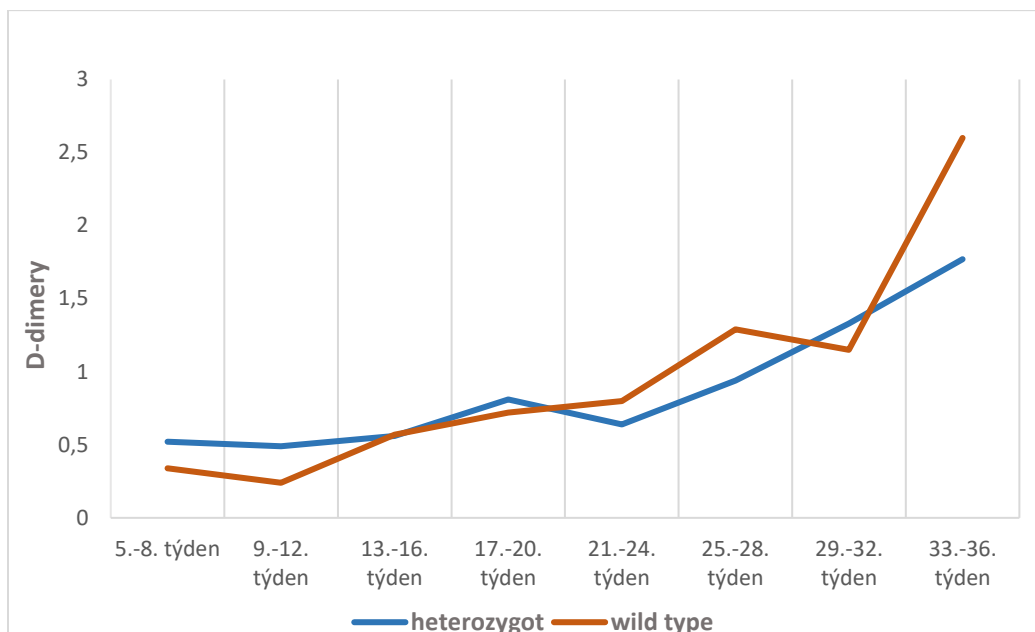
Obr. 6: Počet zdravých a hyperkoagulačních gravidních žen podle typu mutace.

U osob s hyperkoagulačním stavem je dobré sledovat hladinu D-dimerů v krvi k vyloučení přítomnosti krevní sraženiny. Za rok 2016 bylo na hladinu D-dimerů v Laboratoři hematologie v nemocnici vyšetřeno 575 pacientů. Průměrná hladina D-dimerů u nich činila 1,120. Z toho u gravidních žen, které navštěvují ambulanci v nemocnici, byla průměrná hladina 2,480. Negravidní ženy vyšetřené v ambulanci měly průměrnou hladinu D-dimerů 1,135. (Obr. 7) Je obecně známo, že D-dimery se v graviditě zvyšují, proto je zde průměrná hladina vyšší než u negravidních žen.



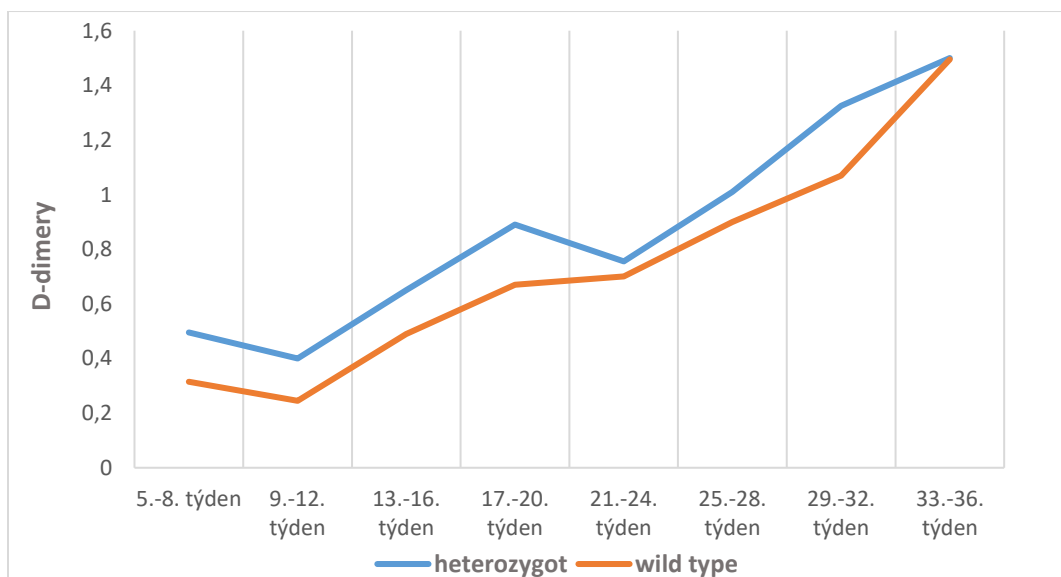
Obr. 7: Průměrná hladina D-dimerů u gravidních/negravidních žen vyšetřených v Ambulanci klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. za rok 2016.

Hladina D-dimerů během těhotenství roste, u žen s vrozeným hyperkoagulačním stavem se předpokládá vyšší hladina. U zdravých žen vzrostla hladina D-dimerů v 33.-36. týdnu gravidity o více než 7násobek od výsledků v 5.-8. týdnu. U heterozygotních forem vzrostly v 33.-36. týdnu o více než 3násobek. (Obr. 8)



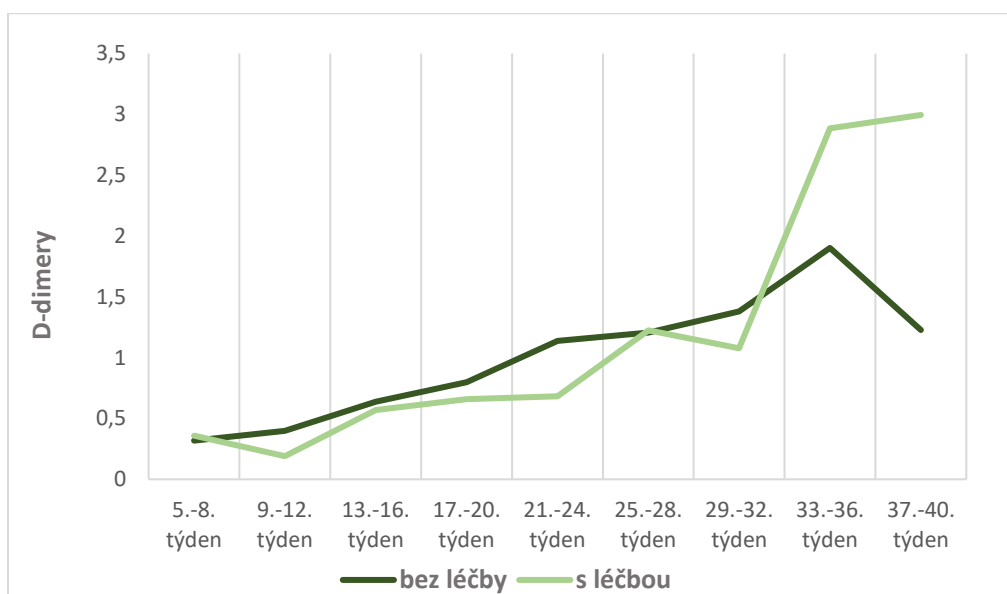
Obr. 8: Změny hladiny D-dimerů během těhotenství u zdravých a hyperkoagulačních žen.

Z Obr. 8 není zřejmé, že by hladina D-dimerů u hyperkoagulačních žen byla vyšší. Proto se provedla další analýza, kde se místo aritmetického průměru z jednotlivých měsíců gravidity použil medián, který by měl omezit vliv extrémních hodnot a díky které je na Obr. 9 jasně vidět vyšší hladina D-dimerů právě u hyperkoagulačních žen.

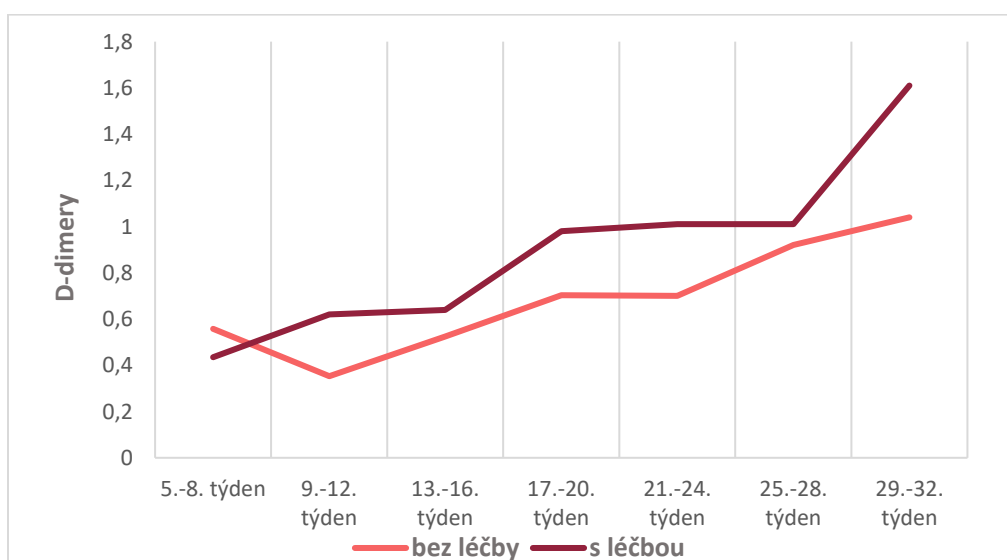


Obr. 9: Změny hladiny D-dimerů během těhotenství u zdravých a hyperkoagulačních žen.

Podstatným faktorem, který ovlivňuje hladinu D-dimerů, je léčba. U léčených pacientek se předpokládá, že by měla omezit rychlost narůstání D-dimerů. Ve sledované skupině gravidních žen ambulance u 18 pacientek léčba nebyla nutná, jednalo se jak o pacientky s vrozenou mutací, tak o zdravé pacientky. Ovšem většina pacientek s mutací měla léčbu předepsanou. K léčbě se v této skupině žen užíval nízkomolekulární heparin. Většina léčených žen začala lék užívat během 2. trimestru. Jak se měnila hladina D-dimerů během měsíců gravidity u zdravých a hyperkoagulačních žen v závislosti na léčbě/ neléčbě je znázorněno na Obr. 10 a Obr. 11.



Obr. 10: Změna hladiny D-dimerů u zdravých léčených/ neléčených žen v průběhu gravidity.



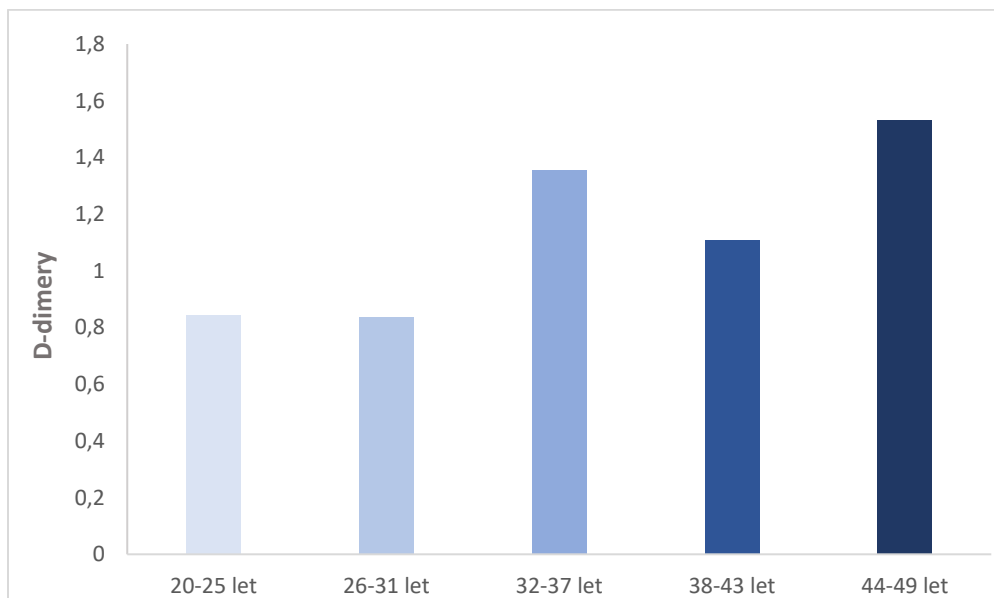
Obr. 11: Změna hladiny D-dimerů u hyperkoagulačních léčených/ neléčených žen v průběhu gravidity.

Z nasbíraných dat byly vybrány pacientky, u kterých byla známa hladina D-dimerů před léčbou a během léčby. U léčených pacientek se předpokládá pokles nebo zpomalení nárůstu hladiny D-dimerů. V Tab. 7 jsou zaznamenány hodnoty D-dimerů 4 pacientek před léčbou a následně po 1. a 2. měsíci léčby a procentuální vyčíslení změn po těchto měsících. Jednalo se buď o snížení hladiny D-dimerů-pacientky 1. a 2., nebo o zvýšení hladiny D-dimerů-pacientky 3. a 4.

Pacientka	Před léčbou	1.měsíc léčby	2.měsíc léčby	Změny po 1. měsíci (%)	Změny po 2. měsíci (%)
1.	0,71	0,53	0,61	-18%	-10%
2.	3,15	2,1	1,22	-105%	-193%
3.	0,9	1,02	1,28	+12%	+38%
4.	0,64	1,07	1,01	+43%	+37%

Tab. 8: Vliv léčby na hladinu D-dimerů po 1. a 2. měsíci léčby u gravidních žen.

S věkem by se měla hladina D-dimerů zvyšovat. Na Obr. 12 je znatelný rozdíl hladiny D-dimerů u věkových kategorií 20-25 let a 44-49 let. Došlo zde k 69% nárůstu průměrné hladiny D-dimerů. Nejvíce se však D-dimery zvyšují až ve věku 50 let a výše (ústní sdělení Vonke, 2017).



Obr. 12: Průměrná hladina D-dimerů u gravidních žen v různých věkových kategoriích.

10 Diskuze

Tato práce se zabývala hyperkoagulačními stavy u gravidních žen a jak tyto stavy ovlivňuje nízkomolekulární heparin. Všechna nasbíraná data a poznatky byly získány z Laboratoře hematologie a Laboratoře genetiky Nemocnice České Budějovice a.s. Z celkového počtu 575 pacientů vyšetřených na hyperkoagulační stavy ženy zaujímaly 67 % tedy více než muži, a to právě z důvodu, že se jednalo ze 74 % o gravidní ženy. Binder (2004) ve své odborné literatuře uvádí, že riziko vzniku TEN je u gravidních žen až 6krát vyšší.

Dále se sledovala frekvence výskytu APC-R, FV Leiden, mutace G20210A pro protrombin a deficit antitrombinu u gravidních žen. Z hematologických laboratorních vyšetření se u 31,80 % gravidních žen vyskytl APC poměr $<1,5$, což znamenalo pozitivní APC rezistenci. Bylo zjištěno, že všechny gravidní pacientky s APC rezistencí mají mutaci FV Leiden. Kubisz et. al. (2006) ve své publikaci uvádí, že 95 % případů je APC rezistence způsobena mutací FV Leiden. FV Leiden je autozomálně dominantní dědičné onemocnění. Její prevalence v populaci se v publikacích uvádí různě. Urbánková (2002) uvedla, že prevalence ve zdravé populaci je 3-15 %, vysoké prevalence dosahuje Švédsko- 10-15 % a naopak nízký výskyt této mutace je v Itálii a Španělsku-cca 2 %. Kubisz (2006) píše, že FV Leiden se ve zdravé populaci vyskytuje u 3-5 % jedinců. Další sledovanou mutací byla bodová mutace genu pro protrombin v poloze 20210A. Její frekvence zjištěná v této práci byla 4,5 % ve sledované skupině gravidních žen. Podle publikací Kubisze (2006) je její prevalence u zdravých lidí 3%. Karetová (2007) ve svém odborném článku píše o 2% prevalenci v populaci. Z grafu na Obr. 5 vyplývá, že frekvence výskytu FV Leiden je oproti mutaci protrombinu 7násobně vyšší. Z předešlých informací je zřejmé, že výskyt těchto mutací v populaci je méně rozdílný, než udává tento graf. S největší pravděpodobností je to způsobeno nízkým počtem gravidních pacientek v tomto souboru.

Tato práce byla zaměřená zejména na mutaci FV Leiden a protrombinu. Nevyskytovala se zde žádná pacientka s homozygotní formou jedné z těchto mutací. Většina gravidních žen byla zdravých. Z celkového počtu 44 gravidních žen mělo 14 žen heterozygotní formu mutace FV Leiden a pouze 2 ženy byly heterozygoti pro mutaci protrombinu. Kvasnička (2012) ve svém článku uvádí více jak 12násobně vyšší frekvenci výskytu heterozygotů oproti homozygotům mutace FV Leiden.

Velmi dobrým ukazatelem při vyloučení TEN je hladina D-dimerů v krvi. Jejich hodnoty ovšem velmi ovlivňuje právě gravidita a trombofilní stav. U gravidních žen hladina D-dimerů

fyziologicky roste a je tak vyšší než u žen negravidních. Tato hypotéza byla v práci potvrzena, jak je viditelné na Obr. 7. Průměrná hladina D-dimerů u gravidních byla 2násobně vyšší oproti negravidním ženám. Bc. Zuzana Štíchová (2015) ve své práci uvádí průměrnou hladinu D-dimerů u negravidních žen 0,701 a u gravidních žen 1,452. Na rozdíl od výsledků v této práci jsou výsledky Bc. Zuzany Štíchové (2015) výrazně nižší. Důvod není jasný. Výsledky mohou být ovlivněny rozdílným zastoupením žen s hyperkoagulačními stavy a vyšším zastoupením žen gravidních po umělém oplodnění (ústní sdělení Vonke, 2017). V obou pracích byla ale potvrzena hypotéza vyšší hladiny D-dimerů u gravidních žen.

Dalším zájmem bylo sledování hladiny D-dimerů u zdravých a hyperkoagulačních gravidních žen v závislosti na stupni těhotenství. Tato hladina by v průběhu těhotenství měla vzrůstat a ve 3. trimestru dosahovat nejvyšších hodnot. Z první analýzy na Obr. 8 je vidno, že jak u žen zdravých, tak s mutací, hladina D-dimerů stoupá a na konci těhotenství je nejvyšší. Nejedná se však o lineární vzrůst, ale křivka kolísá. Průměrná hladina D-dimerů v jednotlivých měsících u zdravých pacientek a pacientek s mutací z první analýzy neukazovala, že by hladina u heterozygotů měla být vyšší. Jak kolísavost, tak vyšší hladina D-dimerů spíše u zdravých žen je opět způsobena malým počtem hodnot k jednotlivým měsícům gravidity a přítomností pacientky s extrémními hodnotami. Proto se provedla druhá analýza (Obr. 9) za použití mediánu místo aritmetického průměru. A v tomto grafu už je zcela viditelná vyšší hladina D-dimerů u heterozygotních forem. Průměrná hladina D-dimeru v druhé analýze u zdravých žen činila 0,736 a u heterozygotů 0,878. V porovnání s výsledky Bc. Zuzany Štíchové (2015), která zjistila průměrnou hladinu D-dimerů u zdravých žen 1,379 a u žen s mutací 1,823. Průměry jsou opět v obou pracích rozdílné z důvodů již zmíněných. U obou se však potvrdila vyšší průměrná hladina D-dimerů u mutantních žen.

U gravidních žen se v případě vyšších hladin D-dimerů nebo při vrozené trombofilii často předepisuje injekční léčba nízkomolekulárním heparinem, který se podává subkutánně. Pacientkám v této práci byl předepisován lék Clexane. V této práci se provedly dvě analýzy Ženy zdravé s léčbou/bez léčby a ženy s mutací s léčbou/bez léčby. U zdravých léčených pacientek byla průměrná hladina D-dimerů v jednotlivých měsících nižší než u zdravých neléčených. V posledních dvou měsících však došlo k výraznému vzestupu průměrné hladiny u léčených pacientek a převýšily tak i průměrnou hladinu neléčených pacientek. Při podrobnějším pohledu na soubor jsou průměrné výsledky výrazně ovlivněny jednou pacientkou s extrémními hodnotami. U takto malého souboru pacientek jako je tento tomu nelze zabránit.

Podobně dopadly výsledky i v měření průměrné hladiny D-dimerů v jednotlivých měsících u heterozygotních pacientek s léčbou a bez léčby. Ovšem v tomto případě byla průměrná hladina D-dimerů u léčených pacientek po celou dobu gravidity vyšší než u neléčených. Tento výsledek může být ovlivněn tím, že hladina D-dimerů je jedním z kritérií, podle kterého se lékař rozhoduje o nasazení nízkomolekulárního heparinu, proto není výběr do těchto dvou skupin náhodný.

V další části práce se zjišťovalo, o kolik procent se změnila hladina D-dimerů po 1. a 2. měsíci léčby v porovnání s D-dimery před léčbou. Byly vybrány 4 pacientky, u kterých byly tyto potřebné hodnoty zaznamenány. U dvou z těchto pacientek došlo k poklesu D-dimerů, jak zněla hypotéza. U dvou pacientek došlo naopak k nárůstu po 1. i 2. měsíci. Nejednalo se, však o rapidní nárůst-držel se pod 50 %. Zajímavým pozorováním je fakt, že z těchto čtyř pacientek jedna měla hladinu D-dimeru vyšší, než by odpovídalo stupni těhotenství a u této pacientky byl zaznamenán výrazný pokles. Je tudíž možné, že k poklesu D-dimerů po nasazení nízkomolekulárního heparinu dochází pouze u těch pacientek, kde počáteční hodnota D-dimerů je zvýšena. Pro ověření této hypotézy není v tomto souboru dostatek dat.

Fyziologicky by se hladina D-dimerů měla také zvyšovat s věkem. Podle provedené statistiky, kdy se gravidní ženy ve věku 23-45 let rozdělili do věkových kategorií po 5 letech, byla tato hypotéza částečně nepotvrzena. Průměrná hladina D-dimerů byla sice ve věkové kategorii 44-49 let téměř 2násobně vyšší oproti průměrné hladině D-dimerů ve věkové kategorii 20-25 let. K lineárnímu růstu však nedošlo. K nárůstu totiž nejvíce dochází až ve věku 50 let a výše. Zde byly výsledky navíc ovlivněny léčbou a trombofilními stavy.

11 Závěr

- Cílem této práce bylo zhodnotit hladiny D-dimerů u gravidních žen v závislosti na přítomnosti hyperkoagulačního stavu a efekt antikoagulační léčby. Tento cíl byl zcela splněn.
- Byla potvrzena hypotéza, že gravidní ženy mají vyšší hladinu D-dimerů v porovnání s ženami negravidními. V této práci více jak 2násobně. Analyzované výsledky byly porovnány s výsledky Bc. Zuzany Štíkové (2015).
- Hypotéza, že ženy s vrozenými hyperkoagulačními stavy mají vyšší hladinu D-dimerů oproti ženám bez vrozených hyperkoagulačních stavů, byla potvrzena až při druhé analýze, kdy místo aritmetického průměru byl použit medián.
- Nebyla potvrzena hypotéza, že antikoagulační léčba snižuje nebo alespoň omezuje nárůst hladiny D-dimerů, a to i přesto, že byly pacientky rozděleny do dvou skupin, bez mutace a s mutací.

12 Seznam citované literatury

A DE PALO, Vera. Thromboembolism. In: *Medscape* [online]. New York: Medscape, 2016 [cit. 2017-03-01]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/1267714-overview>

BARTOŠ, Petr. Tromboembolická nemoc a nová antikoagulancia. *Lékařské listy* [online]. 2014, **2014**(1), 1 [cit. 2017-03-01]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/tromboembolicka-nemoc-a-nova-antikoagulancia-473858>

BÁRTOVÁ, Marie. *Rizika tromboembolického onemocnění u žen*. České Budějovice, 2016. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce MUDr. Ivan Vonke, MBA.

BENCKO, Vladimír et al. *Epidemiologie, výukové texty pro studenty 1. LFUK*. 2. Praha: Karolinum, 2002. ISBN 80-246-0383-7.

BERAN, Stanislav. Hyperkoagulační stavy. *Postgraduální medicína* [online]. 2006, **2006**(4), 1 [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/hyperkoagulacni-stavy-264356>

BINDER, Tomáš, Peter SALAJ a Blanka VAVŘINKOVÁ. *Hematologické nemoci a poruchy v porodnictví a gynekologii*. Praha: TRITON, 2004. ISBN 80-7254-540-X.

BLATNÍKOVÁ, Kateřina. *Rezistence na aktivovaný protein C*. České Budějovice, 2014. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce MUDr. Eva Fenclová.

Být vysoký a obézní může výrazně zvýšit riziko vzniku trombózy. In: *Zelené hvězda* [online]. Praha: B. Braun Medical, 2011 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://www.zelenahvezda.cz/pacientska-sekce/p-cevni-problemy/byt-vysoky-a-obezni-muze-vyrazne-zvysit-riziko-vzniku-trombozy>

DULÍČEK, Petr. Možnosti antikoncepce u pacientek s trombofilií. *Practicus* [online]. 2012, **2012**(1), 1-4 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://web.practicus.eu/sites/cz/Documents/Practicus-2012-01/31-Moznosti-antikoncepce-u-pacientek-s-trombofilii.pdf>

DULÍČEK, Petr. Nová antitrombotika a možnost jejich uplatnění. *Interní Medicína* [online]. 2010, **2010**(9), 1 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2010/09/08.pdf>

DULÍČEK, Petr, Ivo KALOUSEK a Jaroslav MALÝ. Hormonální antikoncepce a tromboembolická nemoc- Jak je to ve skutečnosti. *Interní medicína* [online]. 2002, **2002**(8), 1-4 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2002/08/13.pdf>

DULÍČEK, Petr, Jaroslav MALÝ a Radovan MALÝ. Možnosti profylaxe venózního tromboembolizmu. *Practicus* [online]. 2009, **2009**(2), 1-3 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://web.practicus.eu/sites/cz/Documents/Practicus-2009-02/20-moznosti-profylaxe.pdf>

F EDLICH, Richard. Purpura Fulminans. In: *MedScape* [online]. New York: MedScape, 2015 [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/2202749-overview>

FIALOVÁ, Kateřina. *Leidenova mutace- význam a způsob vyšetření*. České Budějovice, 2013. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce MUDr. Karel Čutka.

Fibrinolysis. In: *EClinpath* [online]. New York: eClinpath, 2013 [cit. 2017-03-17]. Dostupné z: <http://www.eclinpath.com/hemostasis/tests/fibrinolysis/>

FONTANA, Josef a Petra LAVŘÍKOVÁ. Hemostáza. *Funkce buněk a lidského těla* [online]. 3. LF UK, Praha: 2014 [cit. 2017-02-01]. Dostupné z: <http://fblt.cz/skripta/v-krev-a-organy-imunitního-systemu/4-hemostaza/>

FRIEDMAN, Bedřich. *Hematologie v praxi*. Praha: Galén, 1994. ISBN 80-85824-05-1.

GUMULEC, Jaromír. Prevence žilního tromboembolizmu. *Interní Medicína* [online]. 2009, **2009**(10), 1-4 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2009/10/06.pdf>

HÁJEK, Zdeněk et al. *Rizikové a patologické těhotenství*. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0418-8.

HEJDUKOVÁ, M. et al. Kvantitativní stanovení D-dimeru. In: *Slovenský hematologický portál* [online]. Plzeň: Maxiweb, 2007 [cit. 2017-03-17]. Dostupné z: <http://www.hematology.sk/modules.php?name=News&file=print&sid=106>

HERMAN, Jiří. Kompresivní terapie v prevenci a léčbě žilních onemocnění dolních končetin. *Interní Medicína* [online]. 2009, **2009**(3), 1-3 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2009/03/07.pdf>

Hormonální antikoncepce. In: *Trombofilik* [online]. místo vydání nevedeno: Trombofilik, 2016 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <https://trombofilik.cz/hormonalni-antikoncepce/>

INDRA, Tomáš. Plicní embolie – stále podceňovaná diagnóza v ambulantní praxi. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2014, **2014**(5), 1-4 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2014/05/03.pdf>

KALETOVÁ, Markéta, Dalibor MUSIL, Ivo KRČ, Lucie LUKEŠOVÁ, Roman HÁJEK a Jaroslav VESELÝ. *Patofyziologie a klinická fyziologie endotelu a hemostázy* [online]. 1. Univerzita Palackého, Olomouc: 2013 [cit. 2017-02-01]. ISBN 978-80-244-3765-1. Dostupné z: <http://pfyziolffup.upol.cz/castwiki2/ebooks/01/flipviewerxpress.html>

KARETOVÁ, Debora. Trombofilní stavy- indikace vyšetření interpretace výsledků, dopady na preventivně-léčebné postupy. *Postgraduální medicína* [online]. 2007, **2007**(4), 1 [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/trombofilni-stavy-indikace-vysetreni-interpretace-vysledku-dopad-301527>

KARETOVÁ, Debora. Prevence tromboembolické nemoci dle posledních doporučení. *Medicína po promoci* [online]. 2009, **2009**(5), 1 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/15649>

KARETOVÁ, D., M. CHOCHOLA, P. VAŘEJKA a M. ASCHERMANN. Antikoagulační léčba. *Kardiologická revue* [online]. 2002, **2002**(4), 1-6 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/pdf?ida=kr_02_04_04s.pdf

KESSLER, Petr. Trombofilní stavy. *Interní medicína pro praxi*. 2006, **2006**(9), 4.

KLENER, Pavel et al. *Vnitřní lékařství*. 3. Praha: Galén, 2006. ISBN 80-7262-430-X.

KLIKOVÁ, Lucie. Plicní embolie. In: *Symptomy* [online]. Brno: symptomy.cz, 2015 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://www.symptomy.cz/nemoc/plicni-embolie>

KUBISZ, Peter et al. *Hematológia a transfuziológia: učebnica*. Bratislava: Grada, 2006. ISBN 80-247-1779-4. , 80-8090-000-0.

KVASNIČKA, Jan. Trombofilní stavy v porodnictví. *Postgraduální medicína* [online]. 2012, **2012**(3), 1 [cit. 2017-04-12]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/trombofilni-stavy-v-porodnictvi-463807>

KVASNIČKA, Jan. Dědičné trombofilie – doporučení k provádění genetických testů v klinické praxi. *Časopis Lékařů českých* [online]. 2010, **2010**(10), 1-2 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/klinika-files/Doporuceni_CHS_CLS_JEP-Dedicne_trombofilite-geneticke_testy.pdf

KVASNIČKA, Jan. Nízkomolekulární hepariny při profylaxi a léčbě tromboembolické nemoci. *Lékařské listy* [online]. 2007, **2007**(7), 1 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/nizkomolekularni-hepariny-pri-profylaxi-a-lecbe-tromboembolicke--300858>

KVASNIČKA, Jan et al. Antikoagulační léčba novými antitrombotiky – doporučení pro každodenní praxi. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2013, **2013**(11), 1-2 [cit. 2017-03-17]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2013/11/02.pdf>

LAŇKOVÁ, Jaroslava. Antikoagulační léčba v primární péči. *Postgraduální medicína* [online]. 2010, **2010**(4), 1 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha/antikoagulacni-lecba-v-primarni-peci-454866>

MATÝŠKOVÁ, Miloslava a Alena BULIKOVÁ. Rizikové faktory, žilní trombozy, trombofilie. *Postgraduální medicína* [online]. 2015, **2015**(6), 1 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/rizikove-faktory-zilni-trombozy-trombofilie-480298>

MUSIL, Dalibor. Hluboká žilní tromboza-minimum pro praktické lékaře. *Medicína pro praxi* [online]. 2009, **2009**(5), 1-4 [cit. 2017-03-01]. Dostupné z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2009/05/02.pdf>

MUSIL, Dalibor. Rizika a prevence tromboembolické choroby. *Medicína pro praxi* [online]. 2009, **2009**(2), 1-4 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2009/02/02.pdf>

PENKA, Miroslav a Eva TESAŘOVÁ. *Hematologie a transfúzní lékařství I*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3459-0.

Preeklampsie. In: *Vitalion* [online]. Praha: MAFRA, 2017 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z: <http://nemoci.vitalion.cz/preeklampsie/>

PROCHÁZKA, Martin a Jana PROCHÁZKOVÁ. Hormonální antikoncepce a trombofilní stavy. *Interní medicína* [online]. 2010, **2010**(7), 1-3 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2010/07/07.pdf>

SKALICKÁ, Lenka. Hluboká žilní trombóza: Klinická manifestace a diagnostika. *Postgraduální medicína* [online]. 2006, **2006**(4), 1 [cit. 2017-03-01]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/hluboka-zilni-tromboza-klinicka-manifestace-a-diagnostika-264354>

ŠTÍCHOVÁ, Zuzana. *Hladina D-dimerů v graviditě*. České Budějovice, 2015. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce MUDr. Ivan Vonke, MBA.

URBÁNKOVÁ, Jana et al. Hyperkoagulační stav a hluboká žilní trombóza. *Kardiologická revue*. 2002, **2002**(4), 3.

TROJAN, Stanislav et al. *Lékařská fyziologie*. 4. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0512-5.

(ZAČÁTEČNÍCI) Plicní embolie. *Kardioblog* [online]. místo vydání neuvedeno: Kardioblog, 2012 [cit.2017-03-01]. Dostupné z: <http://kardioblogie.blogspot.cz/2012/09/zacatecnici-plicni-embolie.html>

Zdravotní problémy: Bezvědomí, mdloby a synkopa (kardiopulmonální resuscitace). *Aktivity pro zdraví* [online]. Praha: Aktivity pro zdraví, 2013 [cit. 2017-03-01]. Dostupné z: <http://www.aktivitiprozdravi.cz/zdravotni-problemy/bezvedomi-synkopa>

13 Příloha

13.1 Seznam použitých zkratek

ACLA-antikardiolipinové protilátky

APA-antifosfolipidové protilátky

APC-aktivovaný protein C

APS-antifosfolipidový syndrom

AT-antitrombin

COC-kombinovaná hormonální antikoncepce

EED-ethynilestradiol

GAG-glykosaminoglykan

Hc-homocystein

HHc-hyperhomocysteinemie

HŽT-hluboká žilní trombóza

LA-lupus antikoagulans

LMWH-nízkomolekulární heparin

MTHFR-methyltetrahydrofolát

OC-hormonální antikoncepce

PC-protein C

PE-plicní embolie

PL-fosfolipidová membrána

PS-protein S

TEN-tromboembolická nemoc

TF-tkáňový faktor

TFPI-inhibitor systému tkáňového faktoru

UFH-nefrakcionovaný heparin

vWF-von Willebrandův faktor