

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Přírodovědecká fakulta**

# **Hyperkoagulační stavy v graviditě a jejich komplikace**

Diplomová práce

**Kristýna Kabelová**

Školitel: MUDr. Ivan Vonke, MBA.

České Budějovice 2019

Diplomová práce:

Kabelová K., 2019: Hyperkoagulační stavy v graviditě a jejich komplikace [Hypercoagulable states in pregnancy and complications. Master Thesis, in Czech.]-p. 75, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

Hypercoagulable states occur when the process of hemostasis is disturbed. It manifests as a deep vein thrombosis or a pulmonary embolism. It is also one of the most common cardiovascular diseases. There are two factors- genetic and acquired. Inherent factors involve coagulation inhibitor deficiency, prothrombin gene mutation and activated protein C resistance. Acquired factors include antiphospholipid syndrome, pregnancy, overweight etc.

The analytic part of the thesis is focused on the effect of a low molecular weight heparin. It was shown in many theses that the LMWH could have a negative impact on a parturition complications or a week of parturition, a birth weight. The results of statistical analysis show that there is a coherence between the week of parturition and the type of parturition. What is more, the anticoagulation drug therapy shows a positive effect on the week of parturition. The data used in the thesis originate in laboratory information management system of Clinical Haematology ward in the hospital Nemocnice České Budějovice a.s.

Prohlašuji, že svoji diplomovou 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 diplomové 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, 17.4. 2019

.....

Kristýna Kabelová

## **Poděkování**

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce panu primáři MUDr. Vonkemu, MBA za trpělivost, odborné rady, ochotu a skvělé vedení. Další poděkování patří doc. Mgr. Riegertovi, Ph.D. za pomoc se statistickým zpracováním souboru. Na posledním místě patří poděkování mé rodině a přátelům za jejich neustálou podporu při psaní diplomové práce, ale i po celou dobu studia.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod a cíl práce</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Hemokoagulace</b> .....	<b>2</b>
2.1	Koagulační faktory .....	2
2.2	Koagulační kaskáda .....	3
2.2.1	Vnitřní cesta.....	3
2.2.2	Vnější cesta.....	3
2.2.3	Společná cesta.....	4
2.3	Protisrážlivé mechanismy .....	4
2.3.1	Antitrombin (AT) .....	4
2.3.2	Protein C (PC) .....	4
2.3.3	Protein S (PS) .....	5
2.3.4	Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI).....	5
2.4	Fibrinolýza .....	5
2.5	D-dimer .....	6
<b>3</b>	<b>Tromboembolická nemoc (TEN)</b> .....	<b>9</b>
3.1	Hluboká žilní trombóza (HŽT) .....	9
3.2	Plicní embolie (PE).....	11
3.2.1	Akutní masivní PE.....	11
3.2.2	Akutní submasivní PE .....	11
3.2.3	Akutní malá PE.....	11
3.2.4	Subakutní masivní PE.....	12
3.2.5	Chronická tromboembolická plicní hypertenze (CTEPH) .....	12
<b>4</b>	<b>Hyperkoagulační stavy</b> .....	<b>13</b>
<b>5</b>	<b>Rizikové faktory vzniku TEN</b> .....	<b>14</b>
5.1	Vrozené rizikové faktory .....	14
5.1.1	APC rezistence/FV Leiden .....	14
5.1.2	Defekt protrombinu G20210A.....	15
5.1.3	Elevace FVIII .....	15
5.1.4	Deficit AT.....	16
5.1.5	Deficit PC .....	16
5.1.6	Deficit PS.....	16

5.2	Získané rizikové faktory .....	17
5.2.1	Získané neovlivnitelné rizikové faktory .....	18
5.2.2	Získané ovlivnitelné rizikové faktory .....	19
5.3	Vliv vnějších faktorů .....	20
<b>6</b>	<b>Hyperkoagulační stavy v graviditě .....</b>	<b>21</b>
<b>7</b>	<b>Zobracovací metody pro diagnostiku TEN.....</b>	<b>22</b>
<b>8</b>	<b>Metody tromboprofylaxe .....</b>	<b>23</b>
8.1	Mechanické metody tromboprofylaxe .....	23
8.1.1	Graduovaná komprese .....	23
8.1.2	Intermitentní pneumatická komprese (IPC) .....	23
8.2	Farmakologická léčba .....	23
8.2.1	Fondaparinux .....	24
8.2.2	Nefrakciovaný heparin (UFH).....	24
8.2.3	Nízkomolekulární heparin (LMWH).....	24
8.2.4	Warfarin.....	24
8.2.5	NOACs (Non-vitamin K Oral AntiCoagulans) .....	25
8.3	LMWH v graviditě a po porodu.....	26
<b>9</b>	<b>Cíl práce a hypotézy .....</b>	<b>28</b>
9.1	Cíl práce .....	28
9.2	Hypotézy .....	28
<b>10</b>	<b>Materiály a metodika .....</b>	<b>29</b>
10.1	Hematologická analýza .....	29
10.1.1	Odběr krevního vzorku .....	29
10.1.2	Správa odebraného vzorku .....	30
10.1.3	Analýza krevního vzorku.....	30
10.2	Genetická analýza .....	34
10.2.1	Stanovení mutace genu pro FV Leiden metodou Real-Time PCR.....	34
10.3	Metodika získání a úpravy dat .....	37
10.4	Statistické zpracování dat .....	38
<b>11</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>40</b>
11.1	Základní údaje o souboru.....	40
11.2	Vliv léčby na hladinu D-dimerů .....	42
11.3	Čestnosti typů porodu .....	44
11.4	Porodní váha dle týdne porodu .....	45
11.5	Týden porodu v závislosti na různých faktorech .....	45

11.5.1	Týden porodu vs typ porodu.....	47
11.5.2	Týden porodu vs LMWH .....	49
<b>12</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>50</b>
<b>13</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>55</b>
<b>14</b>	<b>Seznam použitých zkratk .....</b>	<b>56</b>
<b>15</b>	<b>Seznam citované literatury .....</b>	<b>58</b>

## 1 Úvod a cíl práce

Hemokoagulace je jedním ze tří kroků procesu srážení krve, tj. hemostáze. K jejímu narušení může dojít, pokud nejsou v rovnováze aktivační a inhibiční faktory. Výsledkem je tak vznik hyperkoagulačních stavů. Tyto stavy mohou mít za následek vznik tromboembolické nemoci (TEN), která zahrnuje hlubokou žilní trombózu (HŽT) a plicní embolii (PE). K narušení hemokoagulace může dojít působením dvou různých faktorů, a to vrozeného nebo získaného. Mezi vrozené faktory patří FV Leiden, mutace protrombinu G20210A a deficity řady inhibitorů hemokoagulace jako jsou protein C (PC) nebo protein S (PS). Získaná hyperkoagulace může vzniknout během gravidity, u obézních lidí či u žen užívajících hormonální antikoncepci. Tromboembolická nemoc je významnou příčinou mortality a morbidity. Gravidita a současně přítomnost vrozené mutace zvyšuje riziko vzniku TEN a je život ohrožující jak pro matku, tak pro plod, proto je důležitá antikoagulační terapie. Nejčastěji se užívá nízkomolekulární heparin (LMWH), neboť vykazuje nejmenší vedlejší účinky, a navíc neprochází placentou.

Existuje řada publikací zabývajících se možnými komplikacemi v graviditě způsobenými užíváním LMWH. Některé tento fakt vyvrací a jiné se k němu přiklání. Žádná z těchto publikací ovšem nesleduje vliv terapie LMWH na týden porodu, například zda pacientky nerodí předčasně. V této diplomové práci byl proto sledován vliv různých proměnných na týden porodu se zvláštním zřetelem na antikoagulační terapii LMWH. Byl k tomu použit soubor pacientek Ambulance klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. Vzhledem k tomu, že součástí tohoto souboru jsou také záznamy měření D-dimerů v průběhu těhotenství, zjišťoval se také vliv LMWH na jejich hladinu, neboť účinek této terapie by měl být takový, že hladinu D-dimerů snižuje. Zároveň se porovnaly hladiny D-dimerů u gravidních žen bez vrozené mutace s gravidními ženami, které vrozenou mutaci mají, a to především FV Leiden a mutaci protrombinu.



## 2 Hemokoagulace

Hemokoagulace je jedním z hlavních kroků procesu srážení krve, tj. hemostáze. Během tohoto děje dochází k tvorbě sraženiny ve stěně poškozených krevních cév tak, aby nedošlo k porušení kapalného stavu krve uvnitř cévního systému. Celý proces je závislý na rovnováze mezi koagulací a antikoagulací, které jsou zajišťovány řadou lokálních koagulačních faktorů (Tab.1). Tyto faktory jsou zapojené do koagulační kaskády, během které jsou přeměňovány neaktivní enzymy na enzymy aktivní. Výsledkem je přeměna rozpustné plazmatické bílkoviny fibrinogenu na nerozpustný fibrin (Ganong, 2005).

### 2.1 Koagulační faktory

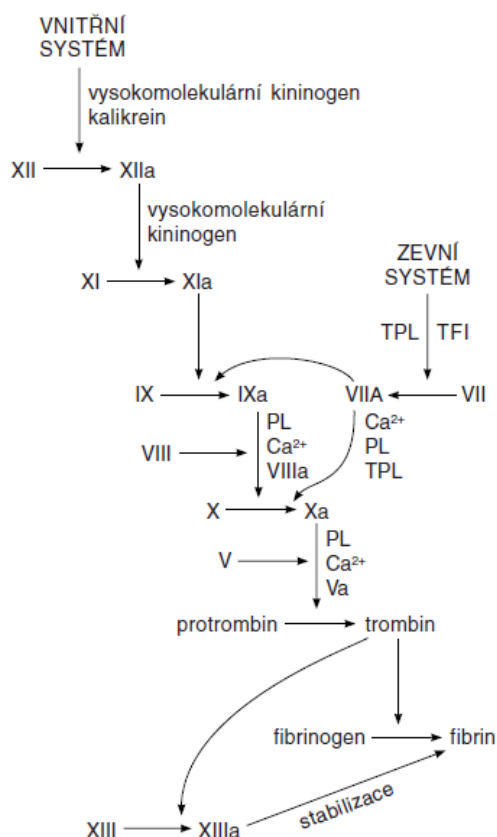
Koagulační faktory se z hlediska chemického řadí mezi plazmatické polypeptidy a glykoproteiny. Zastávají funkce jako enzymy či jako kofaktory (Kabelová, 2017). Systém koagulační kaskády prošel v historii řadou změn z hlediska nomenklatury. Současně je přijato jednotné číselné označení většiny srážlivých faktorů (Ganong, 2005).

Koagulační faktor	Zkratka	Funkce	Místo syntézy
Fibrinogen	FI	Kofaktor	Játra
Protrombin	FII	Proteáza	Játra (K)
Tkáňový faktor	FIII	Kofaktor	Tkáňové buňky
Ca <sup>2+</sup>	FIV	Kofaktor	Ion
Preakcelerin	FV	Kofaktor	Játra
Destičkový faktor 3	FVI	Kofaktor	Megakaryocyty
Destičkový faktor 4		Kofaktor	Megakaryocyty
Prokonvertin	FVII	Sérinová proteáza	Játra (K)
Antihemofilický faktor A	FVIII	Sérinová proteáza	Játra
von Willebrandův faktor	vWF	Kofaktor	Endotelové buňky Megakaryocyty
Antihemofilický faktor B	FIX	Sérinová proteáza	Játra (K)
Stuartův-Proverův faktor	FX	Sérinová proteáza	Játra (K)
Rosenhalův faktor	FXI	Sérinová proteáza	Játra
Hagemanův faktor	FXII	Sérinová proteáza	Játra
Prekalikrein		Sérinová proteáza	Játra
HMWK		Kofaktor	Játra
Faktor stabilizující fibrin	FXIII	Transglutamináza	Játra

**Tab. 1: Koagulační faktory** (převzato z Kabelová, 2017).

## 2.2 Koagulační kaskáda

Koagulační kaskáda je tvořena vnější cestou, vnitřní cestou a společnou cestou, které dohromady vytváří tvar písmene Y (Ganong, 2005). Podílí se na ní šest koagulačních faktorů (faktor II, VII, IX, X, XI a XII) s enzymovou aktivitou a tři kofaktory (faktor III, V a VIII), které nemají enzymovou aktivitu, ale aktivují ostatní koagulační faktory. Výsledkem koagulační kaskády je tvorba fibrinové zátky (Kaletová et al., 2013).



**Obr. 1: Schéma procesu hemokoagulace** (převzato z Ganong, 2005).

### 2.2.1 Vnitřní cesta

Tato cesta je z těchto tří nejdelší. Jejím počátkem je aktivace faktoru XII (FXII) po expozici endotelovému kolagenu během poškození endotelií. Důsledkem je aktivovaný faktor XII (FXIIa), který jakožto enzym aktivuje faktor XI (FXI) na XIa (FXIa). Ten následně aktivuje faktor IX (FIX) na IXa (FIXa). FIXa katalizuje přeměnu faktoru X (FX) na aktivovaný faktor X (FXa) (Chaudhry et al., 2018).

### 2.2.2 Vnější cesta

Vnější cesta je naopak tou nejkratší cestou koagulační kaskády a dá se klinicky měřit jako protrombinový čas (PT). Pokud dojde k poškození cév, endotelové buňky uvolní tkáňový faktor (FIII), který aktivuje faktor VII (FVII) na aktivovaný faktor VII (FVIIa). Tento faktor

také aktivuje FX na FXa, z čehož vyplývá, že v tomto bodě se vnější a vnitřní cesta setkávají a pokračují v jedné společné cestě. (Chaudhry et al., 2018)

### 2.2.3 Společná cesta

Tato cesta je zahájena FXa a skládá se ze sledu složitých reakcí. Je tvořena ze dvou komplexů, vnitřního a vnějšího. Vnější komplex se skládá z FVII, FIII a  $\text{Ca}^{2+}$ . Vnitřní komplex je složen z kofaktoru FVIII, FIXa, fosfolipidů a  $\text{Ca}^{2+}$ . Jakmile dojde k aktivaci FX následuje aktivace protrombinu (FII) na trombin (FIIa). Na tomto ději se zároveň podílí FV jakožto kofaktor. Následně FIIa aktivuje přeměnu rozpustného fibrinogenu na nerozpustný fibrin. Mimoto FIIa aktivuje i další faktory vnitřní cesty jako jsou FV, FVIII a FXIII. FXIII se podílí na tvorbě fibrinové sítě z fibrinových vláken, což napomáhá stabilizaci zátky. (Chaudhry et al., 2018)

Koncentrace faktorů se směrem dolů po kaskádě zvyšuje, tzn. že FIX má vyšší koncentraci než FXI. (Chaudhry et al., 2018)

## 2.3 Protisrážlivé mechanismy

Za protisrážlivé mechanismy jsou považovány antikoagulační faktory, jejichž úkolem je regulovat koagulační kaskádu. Mezi hlavní z nich patří antitrombin (AT), protein C (PC), protein S (PS) a inhibitor tkáňového faktoru (TFPI). Pokles protisrážlivých faktorů v krvi může vést ke vzniku trombózy (Kabelová, 2017).

### 2.3.1 Antitrombin (AT)

Tento plazmatický glykoprotein syntetizovaný v játrech se váže na serinové proteázy koagulačního systému, čímž brání aktivaci dalších faktorů (Ganong, 2005). V této vazbě mu napomáhá přirozená antikoagulační látka heparin, což je glykosaminoglykan (GAG) syntetizovaný v mastocytech. AT je inhibitor aktivní formy koagulačních faktorů IX, X, XI a XII (Patnaik, Moll, 2008).

### 2.3.2 Protein C (PC)

Protein C je vitamin K – dependentní glykoprotein syntetizovaný v játrech cirkulující v krvi. Jeho aktivace je katalyzována trombinem spřaženým s trombomodulinem, což je endoteliální proteoglykan (Rafiyath et al., 2019) V aktivované formě (APC) proteolyticky štěpí FVa a FVIIIa. U gravidních žen dochází k poklesu aktivity PC (Kubisz et al., 2006). APC má mimo jiné i funkci cytoprotektivní založené na stabilizaci endoteliální bariery, protizánětlivou a antiapoptickou. Dále bylo zjištěno, že se účastní regenerace založené na stimulaci neurogeneze, angiogeneze a hojení ran. V léčebných terapiích se využívají rekombinantní lidské a myší APC, u kterých byla prokázána jejich efektivita v léčbě různorodé škály akutních

nebo chronických poškození. Snižuje například poškození způsobená ischemií/reperfúzí v mozku, srdci či ledvinách, záněty v ledvinách, plicích či gastrointestinálním traktu a dále také poškození způsobená sepsí, Ebola virem či diabetem (Griffin et al., 2015).

### 2.3.3 *Protein S (PS)*

PS je vitamin K-dependentní protein syntetizovaný v játrech. Hraje důležitou roli jako kofaktor APC, ovšem i v případě absence APC vykazuje svou antikoagulační aktivitu. V řadě experimentů bylo prokázáno, že PS ovlivňuje inhibici tkáňového faktoru pomocí inhibitoru tkáňového faktoru (TFPI), z čehož vyplývá, že je také kofaktorem TFPI. Snížená aktivita PS jakožto kofaktoru TFPI může pravděpodobně přispívat ke zvýšenému riziku vzniku žilní trombózy (Rosing et al., 2008).

### 2.3.4 *Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI)*

TFPI stojí na počátku hemokoagulace a reguluje celou řadu druhů krvácení a srážení krve. Jsou známy dvě formy TFPI, a to TFPI $\alpha$  a TFPI $\beta$ , experimentálně objevené u myši a lidí. Mají různou afinitu k FV, FVa, PS a liší se také jejich exprese ve tkáni a mechanismus, jakým se spojují s povrchy buněk. Prostřednictvím inhibice aktivity TF-FVIIa nebo inhibice protrombinázové aktivity brání časně hemokoagulaci. Podle výsledků výzkumu Krevního centra ve Wisconsinu prováděného na králících TFPI přispívá k rozvoji diseminované intravaskulární koagulopatie (DIC). Zároveň také pacienti s hodnotou TFPI $\alpha$  rovnou nebo pod 10 % normální hladiny mají zvýšené riziko vzniku žilní trombózy nebo koronární srdeční choroby (Wood et al., 2014).

## 2.4 Fibrinolýza

Během fibrinolýzy dochází ke štěpení zesíťovaného fibrinu plasminem na degradační produkty. Je ovlivněna řadou faktorů jako jsou struktura sraženiny, izoformy fibrinogenu, stupeň tvorby trombinu či reaktivita krevních destiček. Její regulace závisí na různých kofaktorech, receptorech a inhibítorech. Mezitím co křehké sraženiny snadno podléhají fibrinolýze, pevné sraženiny více odolávají a jsou pravděpodobnější příčinou vzniku trombózy.

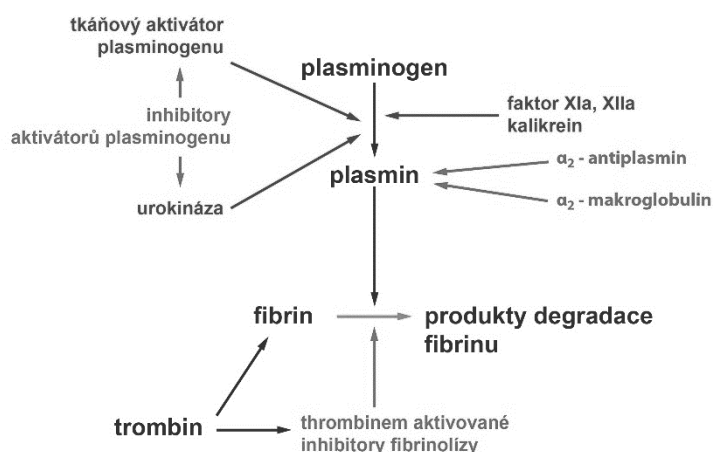
Na počátku fibrinolýzy dochází k aktivaci plasminogenu na plasmin prostřednictvím tkáňového plazminogen aktivátoru (tPA) a urokinázy (uPA). K syntéze tPA dochází v endoteliálních buňkách a uPA je produkována monocyty, makrofágy a močovým epitelem. Účinkem plazminogen aktivátor inhibitoru (PAI-1) dochází k rychlé degradaci obou těchto produktů. tPA a uPA jsou regulovány serpiny mezi které patří právě PAI-1, dále také inhibitor

tkáňového plasminogenu-2 (PAI-2) a  $\alpha_2$ -antiplasmin (A2AP). Během gravidity dochází ke zvýšení koncentrace PAI-2 a jeho nedostatek může vést k nežádoucím těhotenským účinkům. Mezi další inhibitory plasminu patří  $\alpha_2$ -makroglobulin, C1-esteráza inhibitor a několik koagulačních faktorů.

Komplex trombin-trombomodulin aktivuje další inhibitory fibrinolýzy. Úkolem trombinem aktivovaných inhibitorů fibrinolýzy (TAFI) je snížit počet vazebných míst pro plasminogen, zpomalit tvorbu plasminu a stabilizovat sraženinu.

Výsledkem fibrinolýzy je tvorba degradačních produktů fibrinu (FDPs). K té dochází již ve chvíli, kdy dojde k aktivaci plasminogenu na plasmin, který začne degradovat trombus.

(Chapin, Hajjar, 2015)



**Obr. 2: Průběh fibrinolýzy, tvorba D-dimerů** (převzato z Fontana, Lavříková, 2018).

## 2.5 D-dimer

D-dimer je degradační produkt fibrinolýzy, který se využívá jako senzitivní marker pro diagnózu tromboembolické nemoci (TEN). V případě výskytu TEN je hladina D-dimerů vysoká (Dindo et al., 2009). V počáteční fázi TEN vzrůstá hladina D-dimerů až 8násobně a následně se snižuje až na jednu čtvrtinu počáteční hodnoty během prvního až druhého týdne nemoci. Vyšší hodnoty jsou u pacientů s rozsáhlou proximální hlubokou žilní trombózou (HŽT) než u pacientů s HŽT pod úroveň kolene (Kelly, 2002). Určitá hladina je ovšem detekovatelná u každého člověka, a to díky vzniku běžných mikrotraumat v žilním systému (Fogoros, 2018). Poločas rozpadu je přibližně 8 hodin a k degradaci dochází při exkreci močí a aktivitě retikuloendoteliálního systému (Kelly et al., 2002). K jeho detekci se využívá

antigenního epitopu na FXIIIa-zesíťovaného fragmentu D-domény fibrinu, proti kterému se namíří monoklonální protilátky. Ty mají různou specifitu. Nejčastěji rozeznávají buď epitop, nebo antigenní determinantu, která je složená z polypeptidů v D-doméně (Adam et al., 2008). Hodnota D-dimerů odpovídá hodnotě aktivní tvorby krevní sraženiny v těle. Vzhledem k tomu, že existuje několik imunologických metod, které využívají různé monoklonální protilátky a udávají různé výsledky, každá laboratoř si stanovuje vlastní cut-off hodnotu (Fogoros, 2018).

Metody detekce D-dimerů prošly složitým vývojem, neboť jeho struktura není jednoduchá a jeho složení není uniformní. První použitou metodou byla latexová aglutinace využívající kapky latexu pokryté DD-3B6 protilátkou. Touto metodou bylo zjištěno, že D-doména epitopu D-dimerů prochází strukturální změnou během kovalentní ligace FXIIIa, díky čemuž může následně reagovat s monoklonální protilátkou (Adam et al., 2008).

Tuto metodu následovala automatizovaná latexová aglutinace, která využívá, že monoklonální látky reagují různě specificky s FDPs, a proto by kalibrátor měl obsahovat různé D-dimer obsahující sloučeniny fibrinu (Adam et al., 2008).

Častou metodou je také aglutinační test z plné krve. Přestože je jeho senzitivita velmi nízká, vykazuje výsledky při diagnóze TEN. Má vysokou negativní prediktivní hodnotu v populaci s nízkou prevalencí TEN (Adam et al., 2008).

Další používanou metodou se stala enzyme-linked imuno sorbent assay (ELISA). Přestože tato metoda je vysoce citlivá, potřebuje více času a pro klinické účely ji bylo těžké automatizovat. Může detekovat hladiny D-dimerů mezi 0 až 1000  $\mu\text{g/mL}$  (Adam et al., 2008).

Na Obr. 3 je k vidění souhrn všech metod používaných pro stanovení hladiny D-dimerů, včetně druhů používaných komerčních kitů, druhů vzorku, senzitivity a specifity metody atd.

Technique	Commercial kits	Sample type	Sensitivity	Specificity	Automation	Series
Microplate ELISA*	Asserachrom DDI (Stago); Enzygnost (Dade-Behring)*	Plasma	High	Low	Manual	Indik et al, <sup>109</sup> Boumameaux et al <sup>110</sup>
ELISA and fluorescence (ELFA)	Vidas DD (bioMérieux); AxSym D-dimer (Abbott); Stratus D-dimer (Dade-Behring)	Plasma	High	Low	Automated	Mountain et al, <sup>28</sup> van Belle et al <sup>60</sup>
ELISA and chemiluminescence	Immulite (Siemens); Pathfast (Mitsubishi)	Plasma	High	Low	Automated	Fukuda et al, <sup>111</sup> Dempfle et al <sup>112</sup>
Immunofiltration and sandwich-type	NycoCard (Nycomed); Cardiac D-dimer (Roche)	Plasma	High High	Low-intermediate High	Automated	Scarano et al, <sup>35</sup> Killick et al <sup>113</sup>
Semi-quantitative latex agglutination	Dimertest latex (L); Fibrinosticon (bioMérieux); DDI latex (Stago)	Plasma	Intermediate	Intermediate	Manual	Veitl et al, <sup>114</sup> Sukhu et al <sup>115</sup>
Manual whole-blood agglutination	SimpliRED (Agen); Clearview Simplify D-dimer (Agen)	Whole blood	High-intermediate	Intermediate	Manual	de Groot et al, <sup>39</sup> Toulon et al <sup>116</sup>
Second-generation latex agglutination (immunoturbidimetric)	TinaQuant (Roche); Liatest (Stago); Automated Dimertest (Agen); MDA D-dimer (bioMérieux); Turbiquant (Dade-Behring)	Plasma	High	Intermediate	Automated	Froehling et al, <sup>30</sup> Curtin et al <sup>37</sup>

**Obr. 3: Porovnání používaných metod stanovení D-dimerů (převzato z Adam et al., 2008).**

### **3 Tromboembolická nemoc (TEN)**

Tromboembolická nemoc (TEN) zahrnuje hlubokou žilní trombózu (HŽT) a plicní embolii (PE) a je významnou příčinou mortality a morbidity. Velkým přínosem v porozumění TEN byl před 150 lety německý lékař Rudolf Virchow (1821-1902) z jehož poznatků se vychází i v současnosti. Popsal ve své triádě, že TEN je spojena s hemostází, cévním poraněním a hyperkoagulací, přičemž pro vznik TEN stačí pouze jeden z těchto faktorů triády. Po poškození tkáně či cévy může dojít k narušení fibrinolýzy a to tak, že se sníží syntéza tPA a zvýší produkce PAI-1 (Siegal, Lim, 2018). Jedná se o třetí nejčastější cévní onemocnění v bělošské populaci. Nicméně za pomoci antitrombotické profylaxe, tj. mechanická a farmakologická léčba, lze značně snížit riziko vzniku komplikací a úmrtí. Pro vznik TEN je velmi zásadní dědičný faktor (Moheimani, Jackson, 2011). Za běžných podmínek je cévní stěna hladká a pokryta negativně nabitou vrstvou proteinů. Pokud dojde k jejímu poranění, stěna ztratí svůj negativní náboj, díky čemuž je nerovnoměrná a dochází k adhezi a agregaci krevních destiček a ke spuštění hemokoagulace (Rahman, Beattie, 2008).

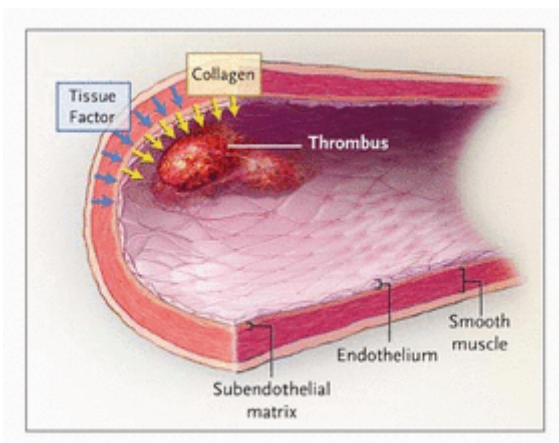
#### **3.1 Hluboká žilní trombóza (HŽT)**

HŽT patří společně s infarktem myokardu a cévní mozkovou příhodou mezi tři nejčastější kardiovaskulární postižení. K vzniku HŽT dochází v hlubokém žilním systému především dolních končetin. Jedním z hlavních faktorů vzniku HŽT je krevní stáze v žilách a následná hypoxie. U HŽT vzniklé z jasných příčin jako jsou rakovina nebo trauma, je důvodem vzniku zvýšená indukovaná hemokoagulace, způsobená zejména TF-vázajícími mikročásticemi (Budnik, Brill, 2018).

Incidence HŽT je přibližně 5 nově diagnostikovaných případů na 10 000 obyvatel ročně z čehož 2 z těchto 5 jsou idiopatické. Navíc 1-2 z 10 000 má současně s HŽT také PE. Incidence je výrazně závislá na věku a různých genetických faktorech, přičemž u mužů a žen je porovnatelná (Fowkes, Price, 2003).

Žilní trombus obsahuje bílou vnitřní část bohatou na krevní destičky také nazývanou linie Zahna, kterou obklopuje červená vnější část složená z komplexu fibrinu a extracelulární DNA společně s histony. Tento komplex je pravděpodobně důležitý pro určení citlivosti trombu na tPA a trombolýzu (Cushman, 2008).





**Obr. 4: Žilní trombus** (převzato z [www.bercak-alopesia.weebly.com](http://www.bercak-alopesia.weebly.com), 2019).

Základními projevy HŽT jsou otoky, zarudnutí až bolest. Pro určení pravděpodobnosti vzniku HŽT bylo založeno Wellsovo skórovací kritérium (viz Tab. 2) Používá se pouze jako doplňková diagnostická metoda, neboť samotná nemá velkou váhu. Mimo laboratorní diagnostické metody a Wellsovo skórovací kritérium se provádí především sonografie a méně často, především při atypické lokalizaci trombózy, se provádí kontrastní venografie, počítačová tomografie (CT) venografie a magnetická resonance (MR) venografie (Cushman, 2008).

Klinické charakteristiky	Skóre
Aktivní nádor	+1
Paréza, plegie, sádra, jiná imobilizace	+1
Lůžko na >3 dny nebo větší operace před <4 týdny	+1
Lokalizovaná bolest dolní končetiny	+1
Celkový otok dolní končetiny	+1
Otok lýtky >3 cm v porovnání s končetinou bez příznaků	+1
Tvorba dolíčků	+1
Dilatace podkožních žil (ne varixů)	+1
Předchozí prodělaná HŽT	+1
Alternativní diagnóza alespoň pravděpodobná jako u HŽT	-2

**Tab. 2: Wellsovo skórovací kritérium** (převzato z Moheimani, Jackson, 2011).

Hodnocení:

- Nepravděpodobná <2
- Pravděpodobná  $\geq 2$

(Moheimani, Jackson, 2011)

## 3.2 Plicní embolie (PE)

PE je onemocnění, ke kterému dochází, pokud se žilní trombus oddělí a embolizuje do plicní cirkulace, kde dojde k vaskulární okluzi a naruší se cirkulace a výměna plynů. Postiženy jsou především spodní laloky plic a často se objevuje také bilaterální postižení plic. Rozdíl místa zásahu je závislý na velikosti embolu. Velký embolus se dostává spíše do plicní tepny mezitímco malý embolus putuje do periferních tepen. Pokud dojde k periferní PE může to vést až k plicnímu infarktu, který se projeví intraalveolárním krvácením. Tato komplikace se objevuje u přibližně 10 % pacientů bez přítomnosti kardiopulmonálního onemocnění (Tarbox, Swaroop, 2013). Z klinického hlediska, pacienti s PE trpí zejména dušností, bolestí na hrudi, méně často kašlem a v některých případech také ztrátami vědomí (Wang et al., 2014).

Česká kardiologická společnost ve svém průvodci pro plicní embolii definovala a rozdělila PE na akutní masivní, akutní submasivní, akutní malou, subakutní masivní PE a chronickou tromboembolickou plicní hypertenzi. Přičemž podle analýzy J. Bělohávků a jeho kolegů vycházející z dat v letech 2003-2009, masivní PE postihuje 20 % pacientů, v 47 % případů se jedná o submasivní a zbývajících 33 % má malou PE (Bělohávek et al., 2013).

### 3.2.1 Akutní masivní PE

Tento typ PE zastává více než 20% příčinu mortality, a to bez ohledu na léčbu. Hlavními projevy akutní masivní PE jsou hemodynamická nestabilita, dlouhotrvající hypotenze a kardiogenní šok<sup>1</sup>. Důsledkem tohoto onemocnění je akutní cor pulmonale, tj. dilatace pravé komory a může se také objevit hepatojugulární reflux, kdy se zvyšuje náplň krčních žil (Bělohávek et al., 2013).

### 3.2.2 Akutní submasivní PE

V případě akutní submasivní PE jsou pacienti hemodynamicky stabilní, ale je u nich zásadní přítomnost tachykardie a tachypnoei. U těchto pacientů se provádí echokardiografie nebo CT angiografie a také srdeční katetrizace (Bělohávek et al., 2013).

### 3.2.3 Akutní malá PE

Akutní malá PE je poměrně málo závažná a může být v některých případech asymptomatická či doprovázená pouze tachypnoei, tachykardií a někdy také mírným zvýšením tělesné teploty (Bělohávek et al., 2013).

---

<sup>1</sup> Kardiogenní šok= jev, kdy dochází k náhlému snížení srdečního tlaku pod 90 mmHg nebo naopak zvýšení o 40 mmHg a více (Bělohávek et al., 2013)

#### 3.2.4 *Subakutní masivní PE*

Subakutní masivní PE je způsobená malými emboly v periferních tepnách a může se projevovat dušností a celkovou únavou, a proto by u pacientů s progresivní dušností trvající jeden až dva týdny měla být subakutní masivní PE brána v potaz (Bělohlávek et al., 2013).

#### 3.2.5 *Chronická tromboembolická plicní hypertenze (CTEPH)*

Jedná se o onemocnění, kdy střední tlak v plicnici je vyšší než 25 mmHg a objevuje se šest měsíců po prodělané akutní PE, kdy mohlo dojít ke zvýšení tlaku v plicnici o více než 50 mmHg. Klinicky se projevuje dušností, ztrátami vědomí a selháním pravé srdeční komory. Pro léčbu se provádí chirurgické odstranění trombu endarterektomií plicnice (Bělohlávek et al., 2013).

## 4 Hyperkoagulační stavy

Hyperkoagulační stav, také jinak označovaný trombofilie, může vznikat v důsledku genetické vrozené poruchy nebo naopak v důsledku získaného faktoru, či často kombinací obou. Hyperkoagulace je zmiňována ve třetí části Virchowovy triády, podle níž změny v hemokoagulaci jsou významným faktorem pro trombogenezi (Schafer, 2007). Mezi rizikové faktory s nejčastějším výskytem patří získaný rizikový faktor antifosfolipidový syndrom následován vrozenými rizikovými faktory mutací FV Leiden, mutací genu protrombinu G20210A, elevací FVIII a hyperhomocysteinémií. Méně často se vyskytuje také deficece antitrombinu, proteinu C a proteinu S. Ke vzniku trombózy v důsledku získaného faktoru může dojít během těhotenství, po větším zákroku či zranění, u imobilních osob, při užívání hormonální antikoncepce, u osob obézních atd. (Nakashima, Rogers, 2014). Souhrn vrozených a získaných rizikových faktorů je k vidění v Tab. 3. U osob s trombofilií je podstatně vyšší riziko vzniku TEN. Vrozená genetická mutace se může vyskytovat v heterozygotní formě, pokud je zděděna pouze od jednoho z rodičů nebo v homozygotní formě zděděná od obou rodičů mající zpravidla vyšší riziko TEN (Kabelová, 2017).

Získaný rizikový faktor	Vrozený rizikový faktor
Větší zranění/operace	APC rezistence/FV Leiden
Imobilita	Mutace genu protrombinu G20210A
Solidní/hematogenní nádor	Deficit PC
Gravidita	Deficit PS
Hormonální antikoncepce	Deficit AT
Estrogenová terapie	Hyperhomocysteinémie
Antifosfolipidový syndrom	Elevace FVIII
Heparinem indukovaná trombocytopenie	Dysfibrinonémie
Paroxysmální noční hemoglobinurie	
Obezita	
Nefrotický syndrom	
Kouření	

**Tab. 3: Souhrn rizikových faktorů vzniku trombózy (převzato z Nakashima, Rogers, 2014).**

## 5 Rizikové faktory vzniku TEN

Rizikové faktory lze rozdělit na vrozené a získané, ale patří mezi ně také vliv vnějších faktorů.

### 5.1 Vrozené rizikové faktory

Vrozené rizikové faktory se dají dále dělit na mutace se ztrátou funkce endogenního antikoagulantia, které zahrnují deficiencie AT, PC a PS a mutace se získáním funkce mezi které patří mutace FV Leiden a mutace genu protrombinu G20210A. Neřadí se mezi ně například pohlaví, výška či BMI, které také mohou mít vliv na riziko trombózy (Stevens et al., 2016). Tyto mutace se nachází až u 1/2 pacientů mladších 45 let majících TEN (Anderson, Weitz, 2011).

#### 5.1.1 APC rezistence/FV Leiden

Mutace FV Leiden vzniká substitucí aminokyseliny argininu za glutamin (Arg506Gln), díky čemuž je FV rezistentní k aktivovanému PC (APC), který je přirozeným inhibátorem koagulační kaskády, a tak nedochází k degradaci FV (Nakashima, Rogers, 2014). Mimo FV Leiden byly objeveny i další tři typy mutace FV, a to FV Hong Kong, FV Cambridge a FV Liverpool. Při mutaci FV Hong Kong dochází k substituci argininu za glycin (Arg306Gly). U mutace FV Cambridge se jedná o substituci argininu za threonin (Arg306Thr). Tyto dvě mutace byly nalezeny u 0,4 % jedinců bělošské populace, mezitímco u jiné etnické skupiny není zaznamenán žádný případ. Pacienti s FV Liverpool bývají asymptomatictí. Pouze pokud je v kombinaci s mutací na další alele FV objevuje se APC rezistence, snížení hladiny FV a riziko trombózy (Van Cott et al., 2015).

FV Leiden se vyskytuje zejména u bělošské populace, a naopak u africké, australské, jihoasijské, čínské a japonské populace, grónských Eskymáků, amerických Indiánů a australských domorodců je velmi vzácná. Tento jev mohl být způsoben tím, že v dávné minulosti někteří běloští Evropané byli nositeli této mutace a jejich potomci v současnosti žijí v Evropě a dalších státech. Později bylo toto tvrzení pozměněno studií, díky které se zjistilo, že nejdříve se haplotyp vyskytl pravděpodobně u arabské populace Východního Středomoří odkud byl zavlečen do Evropy, což by mohlo vysvětlovat vysokou prevalenci této mutace v zemích Východního Středomoří (Jadaon, 2011).

Přítomnost této mutace by měla být zvažována u pacientů s opakovanou TEN, především u žen během gravidity a také u pacientů s pozitivní rodinnou anamnézou. U homozygotů pro FV

Leiden je riziko HŽT až 80krát vyšší. V populaci se vyskytuje v 3-5 % (podle některých autorů i více) jedinců zdravé bělošské populace v heterozygotní formě a u 1 z 5000 osob se jedná o homozygota (Kujovich, 2018).

FV Leiden je často spojován s komplikacemi během těhotenství jako jsou potrat, preeklampsie či abrupce placenty. Heterozygotní gravidní ženy mají 5krát až 8krát vyšší riziko HŽT oproti gravidním ženám bez mutace. Riziko HŽT u homozygotních gravidních žen narůstá 17násobně až 18násobně. U heterozygotních žen s kombinací mutace FV Leiden a defektu protrombinu G20210A je riziko HŽT během gravidity 8násobně až 47násobně zvýšené (Kujovich, 2018).

#### 5.1.2 Defekt protrombinu G20210A

Jedná se o druhou nejčastější vrozenou rizikovou poruchu, při které díky záměně nukleotidu G za A na pozici 20210 na 3' konci genu pro FII dochází ke zvýšení hladiny protrombinu, což má za následek zvýšené riziko vzniku HŽT. Její prevalence v evropské populaci je mezi 2 až 4 %. Celosvětově je 1-3% výskyt v běžné populaci, 5-10% výskyt u pacientů s HŽT a až 20% výskyt u osob s pozitivní rodinnou anamnézou (Nakashima, Rogers, 2014). Byl zaznamenán vyšší výskyt u jihoevropské populace v porovnání s jedinci ze Severní Evropy. Stejně jako FV Leiden i tato mutace je vzácná u asijské a africké populaci. Velmi podobně je to také s objasněním převahy defektu protrombinu u bělošské populace (Jadaon, 2011). Heterozygoti mají 3krát vyšší riziko HŽT oproti zdravým jedincům. Riziko se může zvýšit, pokud je přítomen další z rizikových získaných či vrozených faktorů. Podle některých studií defekt genu protrombinu nemá vliv na komplikace během těhotenství jako mutace FV Leiden, jiné studie toto tvrzení vylučují (Silver et al., 2010).

#### 5.1.3 Elevace FVIII

FVIII hraje důležitou roli v obou cestách koagulační kaskády a je aktivován trombinem během odpovědi na poranění. Mimo riziko vzniku TEN je také rizikovým faktorem ischemické choroby srdeční a akutní cévní mozkové příhody (Samai et al., 2016). Podle populačních studií je prevalence elevace FVIII ovlivněna etnickým původem s významně vyšším výskytem u afrických Američanů v porovnání s evropskou populací. Tento fakt je pravděpodobně spojen s vyšším výskytem krevní skupiny 0 u Evropanů (Jenkins et al., 2012). Elevace FVIII se objevuje přibližně u 11 % zdravých jedinců a je diagnostikována u 10-20 % pacientů s TEN (Herman et al., 2011).

#### 5.1.4 Deficit AT

Antitrombin patří mezi inhibitory sérinové proteázy tzv. serpiny. Jeho deficit je způsoben vznikem missense mutací, posunem čtecího rámce, nonsense mutací či inzercí/deleci, jejichž dědičnost je autosomálně dominantní. Primární funkcí AT je inaktivace různých enzymů tvořených během koagulační kaskády. Dále se také účastní inhibice aktivace PC tím, že inhibuje trombin. Vzácně má za následek vznik arteriální trombózy. Mnohem častěji je spojován s HŽT v dolních končetinách. Prevalence se různí, ale pohybuje se v rozmezí 1:500 až 1:5000. Riziko vzniku TEN se liší podle typu deficiencie AT, které se dělí na defekt v aktivním reaktivním centru a defekt na heparin vázající straně. Pokud se heparin či heparinu podobné GAG váží na heparin vázající straně, dochází ke konformačním změnám AT, a tak se zvyšuje inhibiční aktivita více než 1000krát. Podle některých studií tento typ způsobuje menší riziko vzniku TEN, ovšem jeho prevalence je díky nerozpoznání vyšší (Bauer et al., 2016) TEN se objevuje až u 31 % gravidních žen s deficitem AT bez předchozího prodělání TEN a až u 49 % těchto žen, které mají historii TEN (Patnaik et al., 2008).

#### 5.1.5 Deficit PC

Jak již bylo řečeno v předchozí části práce PC je na vitamínu K závislá sérinová proteáza syntetizovaná v játrech, jejíž deficit má autosomálně recesivní dědičnost. Tento deficit se objevuje asymptomaticky u 1 z 200 až 1 z 500 zdravých jedinců, mezitímco klinické projevy se ukazují u 1 z 20 000. Existují také dva typy příčin vzniku získaného deficitu PC, a to zvýšená potřeba PC nebo snížená syntéza. Mimo HŽT a PE je tento deficit spojován se vznikem dalších komplikací jako jsou diseminovaná intravaskulární koagulopatie (DIC) či purpura fulminans (PF). DIC a PF se objevují především u dětí s deficitem PC v homozygotní formě ihned po narození, a i přes podávání infuzí plazmy často končí smrtí. PF se projevuje červenými až purpurovými kožními lézemi na zadní části hlavy či hýždích, které se následně mění v černé velmi bolestivé strupy (Goldenberg, Manco-Johnson, 2008). Při DIC dochází k tvorbě fibrinových zátek v malých a středně velkých cévách, což vede k ischemické nekróze v různých orgánech, především v ledvinách a plicích, a končí selháním orgánů (Anaesth, 2014).

#### 5.1.6 Deficit PS

PS je důležitým kofaktorem PC a společně inhibují FV a FVIII. Navíc také inhibuje FX a aktivaci protrombinu. Mimo trombofilii je často spojován s cévní mozkovou příhodou, a to především u pacientů s nerozpoznanou TEN (Wang et al., 2015). Tento deficit může být nejen vrozený, ale také získaný díky zvýšené potřebě PS během trombózy, poranění či DIC. K získanému deficitu vede také snížená syntéza při poškození jater, deficitu vitamínu K nebo

léčbě warfarinem. Posledním typem získané deficiencie je redistribuce PS způsobená chronickým zánětem, užíváním hormonální antikoncepce či graviditou. Díky získaným deficitům PS může docházet k nerozpoznání vrozeného deficitu PS, a tak je jeho prevalence často nezjištěná. Vrozený deficit je diagnostikován u 1-13 % pacientů s TEN (Marlar, Gausman, 2011). Dědí se autosomálně dominantně a podle některých studií se vyskytuje nejčastěji u japonské a čínské populace, což ovšem může být způsobeno používáním jiných diagnostických testů pro detekci deficitu PS (Kate, Van der Meer, 2008).

## 5.2 Získané rizikové faktory

Získané rizikové faktory samy o sobě ve většině případů k trombóze nevedou, ale pokud je přítomen i vrozený faktor, tak rizikovost značně zvyšují. Základně je lze rozdělit na faktory, které lze ovlivnit a faktory, které nelze ovlivnit (viz Tab. 4) (Musil, 2009). Společně se můžou také dělit podle jejich míry rizikovosti (viz Tab. 5) (Moheimani, Jackson, 2011).

Neovlivnitelné rizikové faktory	Ovlivnitelné rizikové faktory
Věk	Obezita
Pohlaví	Varixy
Antifosfolipidový syndrom	Hormonální antikoncepce
Získaná APC rezistence	Gravidita

**Tab. 4: Příklady neovlivnitelných a ovlivnitelných rizikových faktorů** (převazato z Musil, 2009).

Vážná (OR <sup>2</sup> >10)	Mírná (OR=2-9)	Nízká (OR=2-9)
Zlomenina (nohy, kyčle)	Centrální žilní poranění	Imobilita
Náhrada kyčelního/kolenního kloubu	Hormonální léčba	Vysoký věk
Závažný chirurgický výkon	Gravidita	Obezita
Poranění míchy	Mozková mrtvice	Varixy

**Tab. 5: Příklady míry rizikovosti získaných faktorů** (převzato z Moheimani, Jackson, 2011).

<sup>2</sup> OR= odds ratio – kvantifikace pravděpodobnosti expozice případů (tzn. jev se vyskytne) a pravděpodobnost expozice kontrol (tzn. jev se nevyskytne) (Wikiskripta, 2018).



### 5.2.1 Získané neovlivnitelné rizikové faktory

**Věk** je jedním z nejčastějších rizikových faktorů, neboť se zvyšujícím se věkem riziko vzniku HŽT roste. Během života se s každou dekádou riziko zdvojnásobuje. Incidence u jedinců straších 80 let je 5-6 případů na 1000 obyvatel za rok, mezitímco u adolescentů mladších 15 let je výskyt vzácný s incidencí <5 případů na 100 000 obyvatel za rok (Kabelová, 2017).

**Antifosfolipidový syndrom (APS)** je charakterizován přítomností antifosfolipidových protilátek (aPL) jejichž cílem jsou proteiny vázající fosfolipid, konkrétně se jedná o  $\beta_2$ -glykoproteinový antigen na proteinu. Existuje několik typů aPL, nejčastěji jsou to antikardiolipinové protilátky (aCL) a dále například lupus antikoagulans (LA). Jedinci s detekovanými LA mají významně vyšší riziko trombózy oproti jedincům s aCL. Pacienti s APS mohou být postiženi arteriální, žilní nebo placentální trombózou. Placentální trombóza je považována za příčinu komplikací v graviditě jako jsou potrat plodu před 10. týdnem gravidity či úmrtí plodu po 10. týdnu, ale také preeklampsie, eklampsie a hypertrofie plodu (Anderson, 2011). Incidence APS v běžné populaci je 5 nových případů na 100 000 obyvatel ročně (Schreiber et al., 2018). U <1 % pacientů s aPL se vyskytuje katastrofický APS (CAPS) charakterizovaný trombózou postihující 3 a více orgánů během jednoho týdne. Mortalita CAPS se pohybuje v rozmezí 33 % až 50 % (Chaturvedi, McCrae, 2015).

**Získaná APC rezistence** může vzniknout při užívání hormonální antikoncepce (OC), během rakoviny, gravidity či APS.

*U žen užívajících OC* k APC rezistenci dochází důsledkem změn v hladinách několika koagulačních faktorů a inhibitorů, ale částečně také zvýšením hladin PS a TFPI. Za vznik této hyperkoagulace je pravděpodobně zodpovědný ethinylestradiol, derivát estrogenu obsažený v druhé a třetí generaci OC. Současně tyto dvě generace obsahují také progestogeny, které působí proti protrombickému efektu ethinylestradiolu.

*U pacientů s rakovinou* závisí pravděpodobně na druhu rakoviny. U solidních nádorů dochází ke zvýšení prokoagulačních faktorů a při hematologických malignitách se snižuje hladina PS.

*U několika pacientů s APS* byla prokázána získaná APC rezistence. K jejímu vzniku došlo pravděpodobně účinkem aPL proti PC, PS a FV.

(Castoldi, Rosing, 2009)

### 5.2.2 Získané ovlivnitelné rizikové faktory

Ve Spojených státech amerických (USA) je **obezita** v současné době považována za epidemickou. Podle statistické analýzy American Heart Association z roku 2010 byla prevalence obezity ( $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ ) 35 % dospělých obyvatel USA. U dětí mezi 6 až 11 lety se prevalence obezity zvýšila z méně než 5 % na více než 20 %. Vysoké BMI je považováno za hlavní rizikový faktor TEN. U obézních jedinců dochází ke změně regulace homeostázy, což má za následek insulinovou rezistenci, dyslipidémii, změny krevního tlaku, zvýšené riziko diabetu, kardiovaskulárních onemocnění apod. Za vznik trombozy při obezitě jsou zodpovědné dvě hlavní příčiny – chronický zánět a narušení fibrinolýzy (Blokhin, Lentz, 2015). Tromboprolaxe takovýchto jedinců je velmi omezená, neboť není doporučeno používat mechanickou profylaxi bez dohledu lékaře. Současným cílem zdravotních organizací je zlepšit informovanost obézních jedinců o rizicích TEN a dalších onemocnění a najít co nejvhodnější léčbu pro tyto jedince (Yang et al., 2015).

**Hormonální antikoncepce (OC)** je v současnosti velmi diskutované téma ohledně jejích nežádoucích účinků a dopadu na lidské zdraví. Přesto stále patří na první místo nejvíce používaných metod ochrany před početím (Vlijmen, 2016). Incidence TEN u žen v rozmezí věku 15-19 let užívajících COC je podle studií ročně 4,2 případů na 10 000 žen, mezitímco u žen v této věkové skupině, které nepoužívají COC je riziko TEN velmi nízké ( $< 0,05 \text{ %/rok}$ ) (Zia et al., 2015). Obecně je riziko TEN u žen užívajících COC až trojnásobně vyšší oproti ostatním ženám. Pokud je navíc přítomna vrozená trombofilie, především heterozygot FV Leiden, riziko TEN je až 35krát vyšší. Odhad rizika pro další rizikové faktory v kombinaci s užíváním OC je znázorněn v Tab. 6. Nejčastěji používaným typem OC je kombinovaná OC (COC) obsahující derivát estrogenu ethinylestradiol (EE) a progestogen a jejíž užívání je spojováno se zvýšeným rizikem TEN, neboť během užívání COC dochází ke změnám v koagulaci, antikoagulaci a fibrinolýze. Konkrétně, dochází ke zvýšení hladiny FII, FVII, FX a fibrinogenu a ke snížení hladiny AT a PS. Největší dopad je přisuzován EE, a proto chemické složení COC prošlo v posledních letech změnami, které vedly ke snížení obsahu EE. Bohužel ale po této změně nedošlo ke snížení incidence TEN (Baratloo et al., 2014). Ke změně ve složení došlo také ze strany progestogenu, kdy nejdříve přišla na trh druhá generace, obsahující levonorgestrel a následována třetí generací s gestodénem, desogestrellem a norgestimatem. Překvapující je, že užívání třetí generace COC vykazuje nejvyšší riziko TEN (Stegeman et al., 2013). Pozor by si ženy měly dávat především v prvních 12 měsících užívání, kdy je největší

možnost vzniku TEN, což je přisuzováno právě expozici novému rizikovému faktoru (Trenor et al., 2011).

Rizikový faktor	Odhad rizika	Odhad rizika v kombinaci s COC
FV Leiden heterozygot	4-8krát	28-35krát
Protrombin G20210A heterozygot	2-3krát	16krát
Cestování	2-4krát	14-20krát
Poranění/operace	2-5krát	5-12,5krát
Obezita	1,7-2,4krát	10-24krát
Kouření	1,4-3,3krát	8,8krát

**Tab. 6: Porovnání rizikovosti TEN žen ne/užívajících COC (převzato z Trenor et al., 2011).**

### 5.3 Vliv vnějších faktorů

Na riziko vzniku HŽT mají vliv také vnější faktory. Jedná se například o imobilizaci, sádrou fixaci, chirurgické a ortopedické zákroky ale také let delší než 10 h (Kabelová, 2017).

## 6 Hyperkoagulační stavy v graviditě

Gravidita se řadí mezi získané hyperkoagulace a v přítomnosti neléčené HŽT je spojována s vysokou mortalitou. Ženy jsou až 5krát více náchylné k rozvoji HŽT během těhotenství než mimo něj. Incidence TEN u gravidních žen se odhaduje na 1 až 2 případy na 1000 těhotenství ročně. Riziko TEN je během všech tří trimestrů stejné, nejvyšší je ovšem v prvních 6 týdnech po porodu. V rozvojových zemích a USA ve většině případů bývá následek úmrtí PE. Při zvažování profylaxe rozhoduje, zda je přítomna trombofilie, předchozí prodělaná trombóza, APS, onemocnění srdce či srpkovitá anémie. Důležitý je ale také věk (>35 let), obezita, imobilita nebo vícečetné těhotenství (Devis, Knuttinen, 2017) Během těhotenství dochází k řadě fyziologických změn včetně těch hemostatických (viz Tab. 7). Díky těmto změnám dochází k minimalizaci ztrát krve při porodu, ovšem podstatně zvyšují riziko vzniku TEN během gravidity a také v období šestinedělí (Kabelová et al., 2017). Placenta obsahuje vysoké hladiny tkáňového faktoru (FIII) v buňkách trofoblastu a mimoto také inhibiční mechanismy jako jsou tkáňový PC receptor, trombomodulin či TFPI (Ormesher et al., 2016). Vyšetření gravidních žen na možné komplikace je částečně limitováno, neboť některé hodnoty faktorů v krvi mohou být ovlivněny hladinou estrogenu a také při funkčních testech žádná metoda nezjistí všechny defekty (Simcox et al., 2015). Největší frekvence vrozené trombofilie u gravidních žen dosahuje FV Leiden a mutace genu protrombinu G20210A. FV Leiden je přisuzováno 44 % případů TEN vzniklých v průběhu gravidity, mezitímco 17 % je způsobeno mutací genu protrombinu. Zvýšené riziko TEN během těhotenství není podpořeno pouze přítomností vrozeného faktoru, ale také získaného APS (viz str. 16) (Batinelli et al., 2013).

Prokoagulace	Antikoagulace/fibrinolýza
Protrombin (FII) ↑	PS↓
FV ↑	APC v 3.trimestru ↓
FVII ↑	PAI-1 ↓
FVIII ↑	
FIX ↑	
FX ↑	
Fibrinogen ↑	
D-dimer ↑	
Aktivace krevních destiček ↑	

**Tab. 7: Změny hemostázy během gravidity** (převzato z Ormesher et al., 2016).

## 7 Zobracovací metody pro diagnostiku TEN

Mezi nejpřínosnější zobrazovací metody současnosti v diagnostice HŽT se řadí **Dopplerovská ultrasonografie**. Tento přístroj je využíván k měření rychlosti a toku krve. K zobrazení se využívá sonda a producenty zpětného signálu jsou červené krvinky. Jako Dopplerův jev se označují změny mezi frekvencemi vysílaných a přichozích ultrazvukových vln. Senzitivita pro proximální žíly<sup>3</sup> je 97 % ovšem pro HŽT v lýtkových žilách je jen 73 % (Oglat et al., 2018).

Další používanou metodou je **radionuklidová flebografie**, který je zlatým standardem pro vyšetření HŽT. V současné době je však nahrazována metodami s menším zásahem do hlubokého žilního systému. Další nevýhodou je také její vysoká cena a nekomfortnost vyšetření pro pacienta. Proto je nahrazována CT venografií a MR venografií. Používá se pouze v případech nejisté diagnózy a pro zobrazení dolní duté žíly a pánevních žil (Tena et al., 2012).

**CT venografie** je využívána k vyšetření periferních žil při diagnostice TEN. Senzitivita vyšetření pánevní a stehenní HŽT je 98-100 %, ale v případě pánevní HŽT může vykazovat až 50% falešnou pozitivitu.

Novější způsob vyšetření je **MR venografie**, díky které je možné přímo vizualizovat trombus. Částečně je limitována její senzitivita pro vyšetření izolovaných lýtkových HŽT, kdy se pohybuje v rozmezí 83-92 % (Tenna et al., 2012).

V případě **PE** je diagnostika také velmi důležitá, neboť nerozeznaná PE může vést ke chronické plicní hypertenzi nebo až ke smrti. EKG ani rentgen nemusí vykazovat žádné abnormality, proto se spíše využívají skórovací systémy jako je např. Wellsovo skóre. Dále se provádí také echokardiografie, ovšem s nízkou senzitivitou 60-70 %. Nejvíce využívanou metodou je **CT angiografie (CTPA)**, která ve větší míře nahradila vyšetření poměru ventilace/perfúze (V/Q). Senzitivita CTPA se pohybuje mezi 53 % až 100 % a senzitivita V/Q je v rozmezí 41 % až 100 % (Tenna et al., 2012).

---

<sup>3</sup> tj. žíly z běžné femorální žíly vedoucí kaudálně do oblasti lýtkových žil, kde se spojují s popliteální žílou)

## 8 Metody tromboprolaxe

Pro prevenci před vznikem TEN je velmi důležitá tromboprolaxe. Liší se podle stupně rizika (viz Tab. 5), ale běžně se provádí u pacientů po chirurgickém zásahu. Využívají se jak mechanické metody, tak farmaka, případně u vysoce rizikových jedinců se používá kombinace obou (Kabelová, 2017).

### 8.1 Mechanické metody tromboprolaxe

Mechanické metody jsou využívány především u pacientů s rizikem vzniku TEN menším než 10 %, neboť nejsou tak účinné. Nejdůležitější je časná mobilizace, kterou je ovšem potřeba doplnit kompresními metodami (Kabelová, 2017).

#### 8.1.1 *Graduovaná komprese*

Mechanismus graduované komprese není zcela objasněn, ale předpokládá se, že dochází ke kompresi povrchových žil a hlubokého žilního systému, díky čemuž se zvyšuje rychlost žilního proudění. Pravděpodobně se také zvyšuje hladina TFPI v plazmě. Na trhu jsou k dispozici dva typy graduované komprese, a to punčochy podkolenní a punčochy nadkolenní. Podle studií dochází díky kompresi k 64% redukci relativního rizika (RR)<sup>4</sup> u pacientů po chirurgickém zákroku (Laryea, Champagne, 2013).

#### 8.1.2 *Intermitentní pneumatická komprese (IPC)*

Díky působení mechanických sil u tohoto typu komprese dochází ke vzniku tlaku na endoteliální buňky, což vede ke zlepšení antitrombotického, profibrinolytického a vasodilatačního efektu a také se uvolňuje tPA. Existuje několik typů komprese, např. punčochy s kompresí od distální části po proximální nebo punčochy s rovnoměrnou kompresí. Oba tyto typy mají stejnou efektivitu v redukci rizika HŽT, což je podle studií až 60 % u pacientů po chirurgickém zákroku (Laryea, Champagne, 2013).

### 8.2 Farmakologická léčba

Pro určení léčby HŽT jsou stanoveny tři základní fáze: akutní fáze, dlouhodobá fáze a prodloužená fáze. Při akutní fázi je doporučováno používat parenterální antikoagulantia např. fondaparinux. Co se týče dlouhodobé nebo prodloužené fáze je předepisován warfarin nebo LMWH. Poměrně nově se na trhu vyskytují orální antikoagulantia NOACs, která jsou v některých ohledech lepší než warfarin (Vo et al., 2015).

---

<sup>4</sup> RR= vztah mezi expozicí rizikovému faktoru a zdravotním následkem

### 8.2.1 *Fondaparinux*

Jedná se o syntetickou látku, která váže AT a inhibuje FXa. Podává se subkutánně nebo intravenózně, a tak inhibuje tvorbu a rozvoj trombu. Na rozdíl od nefrakcionovaného heparinu a LMWH se neváže na krevní destičky a neinhibuje jejich agregaci. Podle metaanalýzy N.A. Reynoldse et al. (2004) u pacientů užívajících fondaparinux po dobu 11 dnů došlo k poklesu incidence relativního rizika TEN o více než 50 % (Reynolds et al., 2014).

### 8.2.2 *Nefrakcionovaný heparin (UFH)*

Nefrakcionovaný heparin se nejčastěji získává ze sliznice prasat a skotu. Jedná se o nepřímý inhibitor trombinu prostřednictvím AT III a také inhibuje FXa. Podává se intravenózně často v kombinaci s orálním podáním warfarinu. Při užívání UFH je přibližně u 1 % pacientů riziko tvorby protilátek proti krevním destičkám, díky čemuž může dojít k rozvoji trombocytopenie, proto je během léčby důležité sledovat počet trombocytů (Lima et al., 2014).

### 8.2.3 *Nízkomolekulární heparin (LMWH)*

LMWH se může získávat frakcionací nebo dnes častěji depolymerizací UFH. Na rozdíl od UFH, který inhibuje FXa a také trombin, LMWH inhibuje koagulaci aktivací AT III, který váže a inhibuje FXa. Předepisuje se subkutánní podání pro prevenci u ortopedických pacientů a pro léčbu TEN. Na rozdíl od UFH je jeho poločas rozpadu delší, a proto je jeho dávkování nižší. S užíváním LMWH je spojováno riziko krvácení a rozvoje heparinem indukované trombocytopenie, osteoporózy či hypersenzitivity. Jejich riziko je však značně nižší v porovnání s UFH. U pooperačních pacientů užívajících LMWH se ukázalo snížení mortality TEN o 70 % (Solari, 2019). Mezi druhy LMWH patří dalteparin (Fragmin), enoxaparin (Klexane), nadroparin (Fraxiparine) a další. Na rozdíl od UFH není potřeba časté sledování počtu krevních destiček (Mani, Coren, 2005).

### 8.2.4 *Warfarin*

Jedná se o antagonistu vitamínu K, který inhibuje vitamin K epoxid reduktázu, a tak brání tvorbě aktivovaných koagulačních faktorů FII, FVII, FIX a FX závislých na vitamínu K. Je známo, že afričtí pacienti potřebují vyšší dávky warfarinu než běloští, zatímco čínští potřebují naopak méně. Patří mezi tři nejčastější léky s nežádoucími efekty, což je způsobeno individuálním denním dávkováním, které se stěží předurčuje. Některým pacientům se podává 0,5 mg/den warfarinu a jiní mohou vyžadovat i 20 mg/den. Tato variabilita je ovlivněna klinickými faktory jako jsou věk, BMI, léková interakce a přítomnost dalšího onemocnění (Pirmohamed, 2018). Podává se orálně a je doporučován nejen pacientům při prevenci či léčbě

TEN, ale také s fibrilací síní. Jeho dávkování je zcela závislé na hodnotách INR<sup>5</sup> kvůli riziku krvácení. Pokud je INR vyšší než 5 je riziko zvýšené (Harter et al., 2015).

### 8.2.5 NOACs (Non-vitamin K Oral AntiCoagulants)

Nově se na trhu vyskytují orálně podávaná antikoagulancia, která se v porovnání s vitamin K antagonisty (warfarin) podávají ve fixních dávkách vyjma funkčních onemocnění jater nebo ledvin. Na rozdíl od warfarinu přímo inaktivují trombin nebo FXa. Patří mezi ně dabigatran, rivoraxaban, apixaban a edoxaban. **Dabigatran** (Pradaxa) se na trh dostal jako první v roce 2008 a jeho cílem je přímá inhibice trombinu. Vzhledem k tomu, že není inhibován cytochromem P450 nemůže dojít k lékové interakci, zároveň vykazuje nízké riziko krvácení do CNS oproti warfarinu. **Rivaroxaban** (Xarelto) následoval dabigatran, který přímo inhibuje FXa. Je metabolizován v játrech primárně pomocí CYP3A4. **Apixaban** (Eliquis) se dostal na trh v roce 2011 a stejně jako rivaroxaban přímo inhibuje FXa. Také je metabolizován v játrech pomocí CYP3A4. **Edoxaban** (Savaysa, Lixiana) se začal používat v roce 2011 a je inhibítorem FXa a to s 10 000krát vyšší selektivitou než pro trombin. I u něj je riziko krvácení do CNS značně snižené. Co se týče dalších rizik krvácení jsou pro každý typ NOAC jiné. Všechny z těchto NOACs není potřeba rutinně monitorovat. Nejsou však předepisovaná gravidním ženám a dětem, u kterých jejich účinek ještě není řádně prostudován (Mekaj et al., 2015).

Antikoagulancia	Způsob podání	Poločas rozpadu
Fondaparinux	Subkutánně, intravenózně	17-21 h
UFH	Intravenózně, subkutánně	1,5 h
Enoxaparin (LMWH)	Subkutánně	3-4 h
Nadroparin (LMWH)	Subkutánně	3-4 h
Dalteparin (LMWH)	Subkutánně	3-4 h
Warfarin	Orálně	cca 36 h
Dabigatran (NOAC)	Orálně	14-17 h
Rivaroxaban (NOAC)	Orálně	7-11 h
Apixaban (NOAC)	Orálně	8-12 h
Edoxaban (NOAC)	Orálně	6-11 h

**Tab. 8: Souhrn antikoagulancií, jejich podávání a farmakokinetiky** (převzato z Wells et al., 2014).

<sup>5</sup> INR= mezinárodní normalizovaný poměr získaný z protrombinového času.  $INR = (PT_{\text{pacient}} / PT_{\text{kontrola}})^{ISI}$ . (Wikipedia, 2017)



### 8.3 LMWH v graviditě a po porodu

Jak již bylo řečeno, gravidita je sama o sobě hyperkoagulační stav, a proto u žen s vrozenou poruchou či jiným zvýšeným rizikem TEN je důležitá její prevence, nebo pokud již TEN probíhá, tak její léčba (Lu et al., 2017). Tato kapitola bude zaměřena pouze na profylaxi pomocí LMWH, neboť v praktické části diplomové práce pracuji jen s gravidními ženami léčenými či neléčenými LMWH.

Až 15 % těhotenství je postiženo hypotrofií plodu, potratem, preeklampsii nebo abrupcí placenty. A podle Kupfermanc et al. až 65 % takovýchto těhotenství je spojeno s trombofilií. Z tohoto důvodu se začal ve velké míře jako prevence před těmito riziky využívat LMWH (Orsmesher et al., 2016). LMWH je v tomto případě nejlepší volbou, neboť jiná antikoagulancia mohou vykazovat řadu nežádoucích účinků a komplikací během těhotenství a také prochází placentou. Farmakokinetika LMWH se během těhotenství mění z důvodu zvýšené glomerulární filtrace, která vede ke zvýšení poločasu rozpadu až o 30 %.

Není doporučován ženám bez předchozí prodělané TEN či trombofilie. Pokud se jedná o heterozygota pro trombofilií, během těhotenství se LMWH předepisuje po konzultaci s pacientkou a jejím obeznámením o rizicích. U homozygotů je profylaxe zpravidla nevyhnutelná. U žen, u nichž se objevila TEN během těhotenství se po porodu může podávat také warfarin, neboť stejně jako LMWH nemá vliv na mateřské mléko (Lu et al., 2017).

Dávkování LMWH těhotným ženám je stále diskutované téma. Současné doporučení podle ACCP<sup>6</sup> jsou nízké profylaktické dávky (např. enoxaparin 40 mg subkutánně každých 24 h) a střední terapeutické dávky (např. enoxaparin 40 mg subkutánně každých 12 h) (Lu et al., 2017).

Některé studie popisují, že při užívání LMWH během těhotenství je riziko vedlejších efektů pro matku nebo dítě nízké a některé to naopak vyvracejí. Nejčastěji se jedná o hypertenzi a intrauterinní růstovou restrikci plodu či sníženou denzitu kostního minerálu (BMD). Podle metaanalýzy Desancho et al. nedochází během těhotenství při užívání terapeutických dávek LMWH ke komplikacím u matky, ale mohou se vyskytovat u plodu. Doporučuje se společně s LMWH užívat vápník a vitamin D3 k minimalizaci vedlejších efektů, zejména BMD. Nedávné pokyny národních korporací (např. ACCP) navrhuji monitorování aktivity anti-Xa u

---

<sup>6</sup> ACCP= American College of Clinical Pharmacy

gravidních žen na terapeutických dávkách kvůli zvýšené glomerulární filtraci a eliminaci LMWH (Desancho et al., 2014).

Podle metaanalýzy Rodger et al. LMWH snižuje riziko placentou zprostředkovaných těhotenských komplikací jako jsou preeklampsie, pozdní potrat či abrupce placenty (Rodger et al., 2014).

Ke krvácení u gravidních žen užívajících LMWH podle řady studií (Kominiarek et al., Maslovitz et al., Lee et al. atd.) dochází velmi zřídka, a to pouze u 2 % těhotenství. Další komplikace jako zvýšený riziko hematomu, situs inversus<sup>7</sup>, defekt neurální trubice, edém atd. jsou vzhledem k neprostupnosti LMWH přes placentu nepravděpodobné (Deruelle, Coulon, 2007).

---

<sup>7</sup> Situs inversus= stranově obrácené umístění vnitřních orgánů

## **9 Cíl práce a hypotézy**

### **9.1 Cíl práce**

- Vytvořit homogenní soubor dat, který bude vhodný pro statistickou analýzu.
- Zmapovat komplikace a výsledky gravidity u žen s hyperkoagulací se zvláštním zřetelem na vliv LMWH.

### **9.2 Hypotézy**

- Přítomnost vrozené trombofilie zvyšuje hladinu D-dimerů u gravidních žen.
- Antikoagulační terapie LMWH snižuje hladinu D-dimerů u gravidních žen.
- Přítomnost vrozené trombofilie má vliv na týden porodu.
- Antikoagulační terapie LMWH ovlivňuje výsledky gravidity u žen, a to především týden porodu.

## 10 Materiály a metodika

Veškerá měření a poznatky použité v této práci vycházejí z diagnostických metod využívaných v Centrálních laboratořích v Nemocnici v Českých Budějovicích a.s., konkrétně v Laboratoři hematologie a Laboratoři molekulární biologie a genetiky.

### 10.1 Hematologická analýza

#### 10.1.1 Odběr krevního vzorku

Pro koagulační vyšetření je potřeba odběr plné žilní krve do zkumavky se světle modrým uzávěrem s přidavkem pufovaného citrátu sodného, který váže  $\text{Ca}^{2+}$  ionty a brání tak nechtěné koagulaci. Při odběru je nutno dodržet poměr vzorku krve a antikoagulačního činidla 9+1. Není doporučováno odebírat zkumavky pro koagulační vyšetření jako první a také jim nesmí předcházet odběr s přidavkem aktivátoru srážení (červená zkumavka). Dále se nedoporučuje odebírat krev z již zavedené kanyly či centrálního žilního katétru, neboť by mohlo dojít k ovlivnění koagulačních parametrů. Velmi důležitý je správný objem nabraené krve, pokud se liší o více než 10 % od vyznačené rysky, tak u odběrů do citrátu sodného dochází k prodloužení koagulačních časů. Po odběru se vzorek pomalu 3-4krát otočí. Důležité je s ním netřepat!



**Obr. 5: Odběrová zkumavka Vacutainer® (převzato z Medipos, 2019)**

### 10.1.2 Správa odebraného vzorku

Vzorky krve společně se žádankami přijímají pracovníci laboratoře 24 h denně. Každá zkumavka je do laboratorního systému (OpenLIMS) zaevidována pomocí čárového kódu, který je na ní při příjmu nalepen. Také se pomocí ní odlišuje, zda se jedná o vzorek určený k urgentnímu zpracování označovaný STATIM či zpracování nemusí být okamžité a pak se jedná o rutinu.

### 10.1.3 Analýza krevního vzorku

Na základě požadovaných vyšetření vyznačených v žádance (viz Obr. 6) se následně provádí analýza. Mezi rutinně prováděné vyšetření patří PT (Quick), aPTT, fibrinogen, trombinový test (TT), antitrombin, D-dimery, LMWH, UFH či fibrinolýza. Někdy jsou požadována speciální vyšetření jako jsou vyšetření PC, PS, APC rezistence, koagulačních faktorů, lupus antikoagulans atd.

Přijato: <b>NEMOCNICE ČESKÉ BUDĚJOVICE, a.s. – CENTRÁLNÍ LABORATOŘE</b> LKCHI – PRACOVNÍSTĚ HEMATOLOGIE B. Němcové 54, 370 01 České Budějovice Tel.: 38 787 3561 www.nemcb.cz	
<b>KOAGULAČNÍ VYŠETŘENÍ</b>	
Číslo pojistnice: Datum narození: Příjmení, jméno: Oddělení/kontakt: Dg:	ZP: Pohlaví: Tel: Odebrala/a:
<input type="checkbox"/> STATIM (zaškrtněte)	
<b>BIOLOGICKÝ MATERIÁL: krev</b> Odběrová zkumavka: (3)	
Datum a čas odběru: .....	
<b>Antikoagulační léčba</b> <input type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/> ANO, pokud je zaškrtnuto, doplňte název léku .....  <b>Základní koagulace</b> <input type="checkbox"/> Protrombinový test (dle Quicka) <input type="checkbox"/> aPTT <input type="checkbox"/> Trombinový test <input type="checkbox"/> Fibrinogen <input type="checkbox"/> Antitrombin  <input type="checkbox"/> D – dimery  <b>Antikoagulační léčba – spec.vyšetření</b> <input type="checkbox"/> anti Xa <input type="checkbox"/> Dabigatran *** <input type="checkbox"/> Rivaroxaban *** <input type="checkbox"/> Apixaban ***  <b>Vyš.hyperkoagulačních stavů-2 zkumavky</b> <input type="checkbox"/> Antitrombin <input type="checkbox"/> Protein C Δ <input type="checkbox"/> Protein S - volný Δ <input type="checkbox"/> APC rezistence Δ <input type="checkbox"/> Faktor VIII Δ <input type="checkbox"/> Lupus antikoagulans Δ <input type="checkbox"/> D – dimery	<b>Vyš. při prodlouženém Quick</b> <input type="checkbox"/> Faktor II Δ <input type="checkbox"/> Faktor V Δ <input type="checkbox"/> Faktor VII Δ <input type="checkbox"/> Faktor IX Δ <input type="checkbox"/> Faktor X Δ <input type="checkbox"/> Korekce protrombinového testu***  <b>Vyš. při prodlouženém aPTT</b> <input type="checkbox"/> Faktor VIII Δ <input type="checkbox"/> Faktor IX Δ <input type="checkbox"/> Faktor X Δ <input type="checkbox"/> Faktor XII Δ <input type="checkbox"/> Faktor von Willebrand Δ <input type="checkbox"/> Korekce aPTT***  <b>Speciální koagulační vyšetření</b> <input type="checkbox"/> Faktor XIII Δ <input type="checkbox"/> Inhibitor směsný test- kvantitativně *** <input type="checkbox"/> Fibrin monomery ***  <b>Vyš.trombocytárních funkcí</b> <input type="checkbox"/> Krvácivost dle Duke** <input type="checkbox"/> Faktor von Willebrand Δ <input type="checkbox"/> Retrakce koagula *** <input type="checkbox"/> Agregace trombocytů **/****  <b>Další vyšetření</b> <input type="checkbox"/> Fragilita kapilár *** <input type="checkbox"/> Euglobulinová fibrinolýza ***
<b>PODMÍNKY ODBĚRU</b> (3) modrá BD vakuíta – nesrážlivá krev (CITRÁT) ** odběr pouze v ambulanci Kliniky hematologie *** pouze po domluvě Δ bez telefonické domluvy výsledek do 14 dnů	<b>RAZÍTKO A PODPIS LÉKAŘE</b>

Obr. 6: Žádanka na koagulační vyšetření (převzato z Nemocnice České Budějovice a.s., 2019).

Každé vyšetření má svůj standardní postup. V laboratoři je pomocí centrifugace odstředivou silou oddělena frakce krvinek od krevní plazmy, na které se následně provádí analýza. Centrifugace je prováděna 15 min při 1500 g. Laborant si musí dávat pozor, aby se vzorkem po centrifugaci neprotřepal. V tom případě by musela být centrifugace provedena znovu. Úkolem laboranta je také vzorky po odstředění zkontrolovat. Pokud se zdá kvalita vzorku být nevhodná pro analýzu, je požadováno opětovné provedení odběru vzorku.

### **Sysmex CS-5100 a Sysmex CS-2100i**

V Laboratoři hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. jsou současně dostupné tyto dva koagulometry. Oba jsou plně automatizované a slouží k *in vitro* diagnostice. Před vyšetřením je nutné ke vzorku plazmy přidat reagensii a následně je tato směs vystavena světelnému paprsku a sledují ze změny procházejícího světla. Tyto analyzátory fungují na základně koagulačních, chromogenních a imunologických metod. V případě koagulačních metod se sleduje proces srážení krve, chromogenní metoda využívá barevné změny chromogenního substrátu a u imunologické metody je pozoruje latexové shlukování antigenovými protilátkami. Každá z těchto metod je určena pro jiné stanovení:

Koagulační metody	Chromogenní metody	Imunologické metody
Trombinový čas (TT)	AT	D-dimer
Protrombinový čas (PT)	Anti Xa	vWF
Deficity faktorů	PC	

**Tab. 9: Metody koagulačních analyzátorů** (převzato z Kabelová, 2017).



**Obr. 7: Koagulometr Sysmex CS-5100** (převzato ze Siemens Healthcare s.r.o., 2019).



**Obr. 8: Koagulometr Sysmex CS-2100i** (převzato ze Siemens Healthcare s.r.o., 2019).

### **Innovace D-dimer**

Měření D-dimerů je prováděno pouze na koagulometru Sysmex CS-5100 a to imunoturbidimetrickým testem Innovace D-dimer (ID-d). Jak již bylo řečeno, provádí se na základě imunologické metody. Během té dochází k tvorbě agregátu prostřednictvím reakce antigen-protilátka (Ag-Ab). Agregáty následně mění průchodnost světla vzorkem, z čehož vyplývá, že se neměří přímo koncentrace D-dimerů, ale je zaznamenávána změna optické hustoty (dOD) plazmy. Je možné měřit až 268 vzorků za hodinu. Výsledné hodnoty D-dimerů jsou vynášeny na kalibrační křivku v jednotkách mg/L FEU (Fibrinogen equivalent unit). Provádí se jak rutinní vyšetření s výsledkem do 1 dne, ale také STATIM s odezvou do 2 hodin. Pro jednotlivé trimestry těhotenství byly navrženy referenční hodnoty.

K analyzovanému vzorku se přidávají polystyrenové částice pokryté monoklonálními protilátkami (mAbs) namířenými proti epitopu D-dimerů (8D3), což vede k tvorbě imunokomplexů (ICs). Vzhledem k tomu, že zesíťená oblast D-dimerů má stereosymetrickou strukturu, epitop pro mAb se vyskytuje dvakrát, a tak pro vyvolání agregační reakce stačí jediná mAb. Vzniklé ICs zvyšují zákal ve vzorku, jehož stupeň (turbidita) je pak měřen. Analyzátor zaznamenává úbytek intenzity prošlého světla, který je vynášen jako změna absorbance za daný časový úsek na kalibrační křivku v jednotkách mg/L FEU. ID-d má rozsah měření 0,17-4,40 mg/L FEU, ale díky automatickému ředění může být až 35,2 mg/L FEU.

Innovace D-dimer obsahuje několik komponentů a reagensů (viz Tab. 10). Pracovníci laboratoře musí hlídat, aby se používala stejná kombinace šarží, jinak by mohly vznikat nesprávné výsledky.

Innovace D-dimer	Forma	Složení	Původ
REAGENT	Lyofilizovaný	Polystyrenové částice pokryté mAbs proti D-dimeru Lidský sérový albumin KL <sup>8</sup> : amfotericin B, gentamycin	Myší Lidský
BUFFER	Kapalný	Pufrovaný fyziologický roztok Dextran Imidazol KL: azid sodný	
SUPPLEMENT	Kapalný	Pufrovaný fyziologický roztok Reagent blokuující heterofilní protilátky KL: azid sodný	Myší
DILUENT	Kapalný	Pufrovaný fyziologický roztok Imidazol KL: azid sodný	
CALIBRATOR	Lyofilizovaný	Lidská plazma, preparát D-dimeru KL: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazol-3-on 2-metyl-4-isothiansol-3-isothiazol-3on Azid sodný	Lidský

**Tab. 10: Reagencie používané v testu Innovace D-dimer a jejich složení** (převzato z Návod k použití Innovace D-dimer, 2019)

Minimálně každých 8 h každý den musí být prováděny interní kontroly kvality pro každou lahvičku reagensie, čímž se zajistí správný chod a funkce systému.

<sup>8</sup> KL= konzervační látky



## 10.2 Genetická analýza

Genetická vyšetření trombofilií jsou založena na různých typech PCR. Vzhledem k tomu, že nejčastější mutací v této diplomové práci je mutace FV Leiden, bude princip analýzy popsán na ní.

### 10.2.1 Stanovení mutace genu pro FV Leiden metodou Real-Time PCR

Pomocí této analýzy je detekována bodová mutace G1691A v exonu 10 pro FV. V Laboratoři molekulární biologie a genetiky Nemocnice České Budějovice a.s. se používá systém Real Time PCR-TaqMan® SNP Genotyping Assays.

### Odběr a skladování vzorku

Pro vyšetření FV Leiden (ale i dalších trombofilií) se provádí odběr žilní krve do zkumavky s fialovým víčkem a přídavkem EDTA (viz Obr. 9). Zkumavka je společně se žádankou (viz Obr. 10) evidována do databáze Open Lims. Vzorek musí být zpracován nejpozději do 3 dnů od odběru.



**Obr. 9:** Odběrová zkumavka VACUETTE® (převzato z Dialab, 2019)

Přijato:

**NEMOCNICE ČESKÉ BUDĚJOVICE, a.s. – CENTRÁLNÍ LABORATÓŘE  
LABORATÓŘ MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE A GENETIKY**  
B, Nemcové 58554, České Budějovice 370 01  
LABORÁTOR (Po-Pá 8:30-15:00) tel.: 38 787 3011, mimo prac. dobu tel.: 38 787 3535  
PŘÍJEM MATERIÁLU: tel.: 38 787 3535  
www.nemcb.cz

**MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE A GENETIKA**

Číslo pojistěnce: Datum narození: Příjmení, jméno, kontakt: Pohlaví: Zdr. pojist'ovna: Diagnóza - kód: Diagnóza slovně:	ODDĚLENÍ (RAZÍTKO) / KONTAKT  Jméno a podpis lékaře: Datum a čas odběru: Odebral:
---	---

**HUMÁNNÍ GENOM ( tel. 3013, 3011)**

Materiál <input type="checkbox"/> STATIM	Hematologie	Cytogenetika
<input type="checkbox"/> periferní krev <input type="checkbox"/> kostní dřeň <input type="checkbox"/> plodová voda <input type="checkbox"/> kvičá ..... <input type="checkbox"/> jiný .....  <input type="checkbox"/> S pacientem je podepsán informovaný souhlas s genetickým laboratorním vyšetřením (pouze u dědičných mutací) viz zadná strana	<input type="checkbox"/> Trombofili mutace (1) <input type="checkbox"/> Faktor V <input type="checkbox"/> Leidská mutace (R506Q) <input type="checkbox"/> R2 (H12596) <input type="checkbox"/> Protrombin G20210A  Indikace – trombotická centra <input type="checkbox"/> PAI-1 (4G5G) (1) <input type="checkbox"/> MTHFR C677T (1) <input type="checkbox"/> MTHFR A1298C (1) <input type="checkbox"/> EPCR (A1, A2, A3) (1) <input type="checkbox"/> Faktor XIII (V34L) (1) <input type="checkbox"/> GPIIa (L33P) (1)	<b>KARYOTYP</b> <input type="checkbox"/> periferní krev <input type="checkbox"/> STATIM (3) <input type="checkbox"/> periferní krev - zlomy (5) <input type="checkbox"/> tkáň ..... (3) <input type="checkbox"/> kostní dřeň (4) <input type="checkbox"/> Parafinový řez <input type="checkbox"/> Zvláštní požadavek: ..... <b>FISH</b> (3) <input type="checkbox"/> Ca m.oč. měchýle - UROVYSION (7) <input type="checkbox"/> Oligodendrogliomy - panel aberací (5)  aktuální nabídka vyšetření FISH viz Laboratorní příručka LMBO (www.nemcb.cz)
<b>Geneticky podmíněná onemocnění</b> <input type="checkbox"/> Hemochromatóza (1) <input type="checkbox"/> C252Y, H63D, S65C <input type="checkbox"/> rozšířená analýza <input type="checkbox"/> Apo E (1) <input type="checkbox"/> Apo B100 (1) <input type="checkbox"/> LDL receptor (1) <input type="checkbox"/> Celiakie (1) <input type="checkbox"/> Laktózová intolerace (1) <input type="checkbox"/> Fruktózová intolerace (1) <input type="checkbox"/> HLA B-27 (Bechtěrevova ch.) (1) <input type="checkbox"/> Cystická fibróza (1) <input type="checkbox"/> Mikrodelece Y (azoospermie) (1) <input type="checkbox"/> Gilbertův syndrom (UGT1A1) (1) <input type="checkbox"/> CAH (kong. adren. hyperplázie) (1) <input type="checkbox"/> Screening subtelomer (MLPA) (1) <input type="checkbox"/> Screening m. krodědědných syndromů (MLPA) (1)	<b>Onkogenetika</b> <input type="checkbox"/> MPN (1) <input type="checkbox"/> JAK-2 V617F <input type="checkbox"/> MPL - W515L, W515K <input type="checkbox"/> CALR - exon 9 <input type="checkbox"/> CNL (6) <input type="checkbox"/> t(9;22) - borůžbi kvalitativně <input type="checkbox"/> t(9;22) - borůžbi kvantitativně <input type="checkbox"/> Klonální lymfocytů (1)(8) <input type="checkbox"/> Klonální B-lymfocytů <input type="checkbox"/> Klonální T-lymfocytů <input type="checkbox"/> Mutační status IgVH (CLL) (1)	<input type="checkbox"/> Array CGH (1) ologenomový screening Cozy Number Variation ..... <b>PODMÍNKY ODBĚRŮ, MATERIÁL:</b> (1) nesrážlivá krev EDTA - falová vakueta (2) nesrážlivá krev citrát - modrá vakueta (3) nesrážlivá krev heparin - zelená vakueta (4) kostní dřeň v PBS + heparin (5) čerstvá kvičá (6) nesrážlivá krev EDTA - ihned dopravit do laboratoře (7) Moč do zkumavky s pufrům Carbowax (8) Jiný klinický materiál - sterilní odběrová nádoba
<b>Farmakogenetika</b> (1) <input type="checkbox"/> CYP 2C19 (clopidogrel) (1) <input type="checkbox"/> CYP 2D6 (1) <input type="checkbox"/> CYP 2C9, VKORC1 (warfarin) (1) <input type="checkbox"/> TPMT (aza@optin,...) (1) <input type="checkbox"/> UGT1A1 (irinotecan) (1) <input type="checkbox"/> DPD (5-FU) (1)	<b>Jiný požadavek</b> <input type="checkbox"/> Izolace DNA (1) <input type="checkbox"/> Jiný požadavek (vypíšte)	

MOB: LMBO, F, D, H, C  
1/2  
Kód pro objednávání: NCIB: 10284

**Obr. 10: Žádanka na molekulárně genetické vyšetření (převzato z Nemocnice České Budějovice a.s., 2019).**

## Izolace DNA

K izolaci DNA slouží izolátor QuickGene-Mini80 a automatický izolátor MagCore<sup>®</sup>. Celý proces se provádí v izolačním boxu s laminárním prouděním vzduchu.

## Příprava master mixů

Master mix je složen ze směsi PCR H<sub>2</sub>O (8,75 µl), SuperHot Master Mix 2x 3.0 MgCl<sub>2</sub> (10,0 µl) a směs specifických primerů a sond (0,25 µl). Následně se s ní plní sterilní PCR stripy barevně označené podle typu mutace. DO PCR stripu se přidá 1 µl vyzolované DNA.

## Amplifikace

Amplifikace se provádí na přístroji Light Cycler® 480 (viz Obr. 11) a to v následujícím teplotním profilu:

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

**Tab. 11: Teplotní profil PCR** (převzato z Kabelová, 2017).



**Obr. 11: Light Cycler® 480 firmy Roche** (převzato z Roche Lifescience, 2019).

## Vyhodnocení

Light Cycler obsahuje dva kanály. V kanále VIC (533-580) dochází k odečtu fluorescence pro zdravou alelu, mezitímco v kanále FAM (465-510). Výsledek se zaznamenává následovně:

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

**Tab. 12: Vyhodnocení detekce fluorescence ve VIC/FAM** (převzato z Kabelová, 2017).

Během každé série vyšetření je důležité provést také interní pozitivní a negativní kontrolu. Díky nim je možné kontrolovat, zda amplifikační reakce probíhá řádně. Pro pozitivní kontrolu se využívá DNA heterozygotů a homozygotů s identifikovanou přítomností bodové mutace v genu G1691A pro FV. Ty se označují I/I pro homozygota a +/I pro heterozygota.

### 10.3 Metodika získání a úpravy dat

Veškerá data od roku 2014 do roku 2016 byla získána a zpracována z informačního laboratorního systému (LIS) Ambulance klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. Mgr. Štíchovou. Původně se jednalo o soubor 2573 záznamů vyšetření. Z tohoto souboru se následně vybraly pouze gravidní ženy, což čítalo 1343 záznamů. U každé pacientky bylo dohledáno několik proměnných jako jsou hyperkoagulace, léčba, rodinná anamnéza, gynekologická anamnéza, týden porodu, porodní váha, způsob porodu, pohlaví, D-dimer atd. Již v několika pracích (Štíchová 2017, Kabelová 2017, Felixová 2017) se jako vedlejší výsledek ukázalo, že by léčba LMWH mohla mít naopak negativní vliv na porodní váhu, týden porodu či mohla způsobovat porodní komplikace. Jednalo se ovšem o malé soubory dat se statisticky nejistou průkazností nebo v případě Bc. Štíchové o sice velký, ale velmi heterogenní soubor. Cílem této diplomové práce proto bylo použít tento soubor a sjednotit data v něm. Vznikl tak soubor označený například následovně:

#### Hyperkoagulace

Není= 0

Heterozygot= 1

Homozygot= 2

#### Typ porodu

SC= císařský řez

P=potrat

SP= spontánní porod

PI= indukovaný porod

PP= předčasný porod

#### Rod., gyn. anamnéza, trombóza, léčba, komplikace porodu...

Ne/negativní= 0

Ano/pozitivní= 1

#### Pohlaví

Chlapec= 0

Dívka= 1

U řady pacientek bohužel chyběly velmi podstatné údaje jako jsou týden porodu, typ porodu či váha novorozence, proto musely být tyto pacientky zcela vyloučeny z analýzy, neboť se jednalo o ženy, které nerodily v Nemocnici v Českých Budějovicích a údaje tak nebyly dohledatelné. Také se vyloučila kategorie léčba vzhledem k tomu, že pouze dvě z léčených pacientek nebyly léčeny LMWH. Zároveň se u zbylých pacientek použil vždy jejich poslední záznam návštěvy, díky čemuž se soubor zredukoval na 223 gravidních žen ve věku 23-49 let, kdy průměrný věk pacientek byl 35 let. Ve výsledku se tak soubor podstatně zmenšil, stále byl ovšem velmi vhodný pro získání smysluplných a statisticky průkazných dat.

#### 10.4 Statistické zpracování dat

Pro statistickou analýzu bylo stanoveno, které z kategorií jsou považovány za příčinu a které jsou jejich důsledkem (viz Tab. 13). Veškeré tabulky a grafy byly zpracovány v programu Microsoft® Excel® pro Office 365.

Příčina	Důsledek
Hyperkoagulace	Porod týden
FV Leiden	Porod typ
Protrombin	Porodní váha
Elevace FVIII	
Ostatní mutace	
Rod. anamnéza	
Trombóza	
LMWH	

**Tab. 13: Rozdělení kategorií na příčiny a jejich důsledek.**

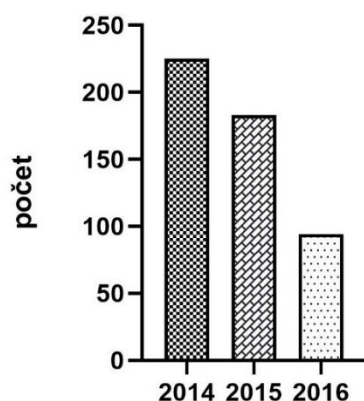
Před hlavní analýzou byl zjištěn korelační vztah mezi hmotností plodu a týdnem porodu pomocí Spearmanova korelačního koeficientu v programu Statistika 13.2 (Dell Inc. 2016). Na základě pozitivní korelace ( $r_s=0,27$ ,  $p<0,05$ ) byl testován pouze vliv proměnných na týden porodu. Vliv proměnných na týden porodu byl dále testován v programu R 3.5.1 (R Development Core Team 2011) pomocí zobecněných lineárních modelů (GLM) s quasi distribucí vysvětlované proměnné (identity link funkce, funkce glm). Byl vytvořen nulový model (týden porodu  $\sim + 1$ ) a 30 alternativních modelů s různou kombinací vysvětlujících

proměnných. Následně byly modely porovnány metodou Multimodel inference (funkce model.avg, package MuMIn) a byl zjištěn vliv jednotlivých faktorů pomocí full model averaging (Anderson & Burnham 2002, Whittingham et al. 2006, Burnham et al. 2011). Do analýzy vstupovaly následující faktory: hyperkoagulace, FV Leiden, Protrombin, Elevace VIII, ostatní mutace, rodinná anamnéza, trombóza, LMWH, týden porodu, typ porodu. Dále byl pro statistické vyhodnocení rozdílů mezi kontrolními a zkoumanými skupinami a pro grafické zpracování použit Studentův t-testu v programu GraphPad Prism 8. Hvězdičkami jsou označeny statisticky významné rozdíly (\* $p < 0,1$ ; \*\* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ )

## 11 Výsledky

### 11.1 Základní údaje o souboru

V letech 2014-2016 navštívilo Ambulanci klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. (AKH) 1004 pacientek. Častý důvodem k vyšetření bývá gravidita a s ní spojená rizika TEN. Gravidní ženy zaujímaly 499 (49,7 %) z celkového počtu pacientek. Konkrétně to bylo v roce 2014 225 gravidních pacientek, v dalším roce 183 gravidních pacientek a v roce 2016 94 vyšetřených gravidních žen (Obr. 12). Z důvodu nemožnosti dohledat některá data u těchto pacientek se v této práci se pracovalo s 223 gravidními ženami ve věku 23-49 let, kdy průměrný věk pacientek dosahoval 35 let.



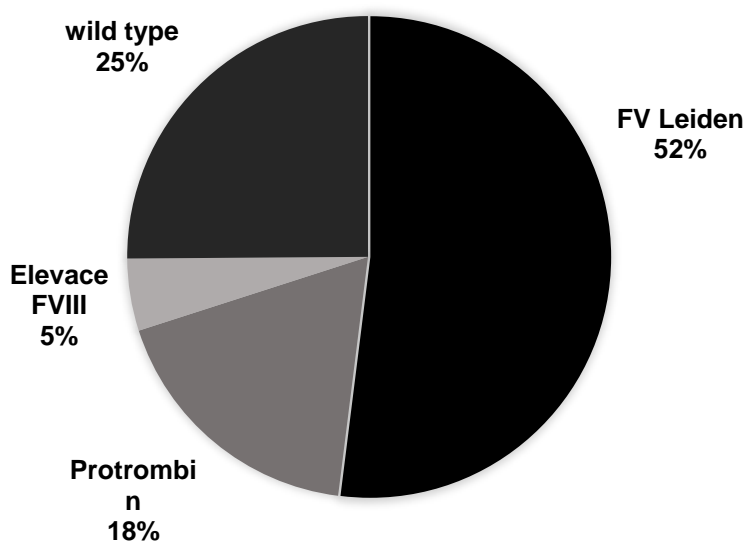
**Obr. 12: Počet gravidních pacientek vyšetřených na AKH v letech 2014-2016.**

Z těchto 223 gravidních pacientek vyšetřených od roku 2014 do roku 2016 na AKH mělo 166 (74 %) vrozenou mutaci. To je způsobeno především tím, že sledování a profylaxe rizika vzniku TEN je důležitá hlavně u gravidních žen s vrozenou poruchou. Jednalo se buďto o FV Leiden, mutaci protrombinu či elevaci FVIII (Obr. 13). Přičemž pouze u FV Leiden se vyskytovaly 4 pacientky s formou homozygot, ostatní mutace byly pouze heterozygotní a některé pacientky měly také jejich různé kombinace (Tab. 14).

Kombinace	L+E	L+P	L+E+P
počet	3	8	1

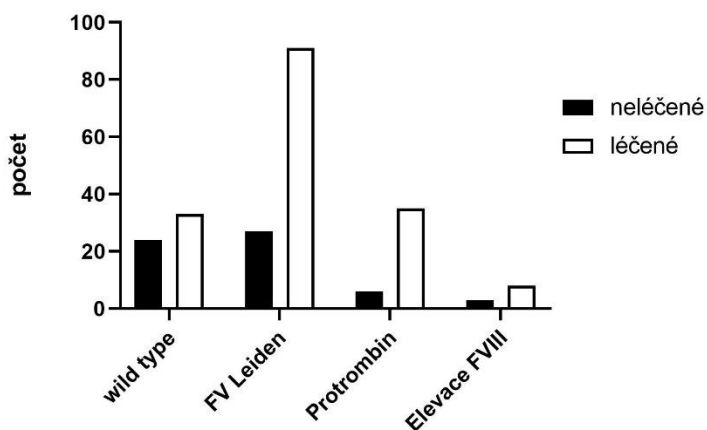
**Tab. 14: Počet pacientek s různou kombinací vrozených faktorů.**

Vysvětlivky: L-FV Leiden E- Elevace FVIII P- mutace protrombinu



**Obr. 13: Zastoupení jednotlivých mutací u gravidních žen s vrozeným faktorem.**

Základem pro prevenci rizika vzniku HŽT je profylaxe a pokud k ní již došlo, tak její léčba. V tomto souboru se vyskytují gravidní pacientky, které užívaly pouze LMWH. Což je dáno jeho méně častými nežádoucími účinky a komplikacemi během těhotenství a také neprochází placentou. U gravidních žen bez mutace (n=57) se vyskytovalo 33 případů s LMWH a z gravidních žen s vrozenou hyperkoagulací (n=166) LMWH užívalo 134 pacientek (Obr. 14).



**Obr. 14: Porovnání počtu léčených a neléčených gravidních žen podle typu mutace.**



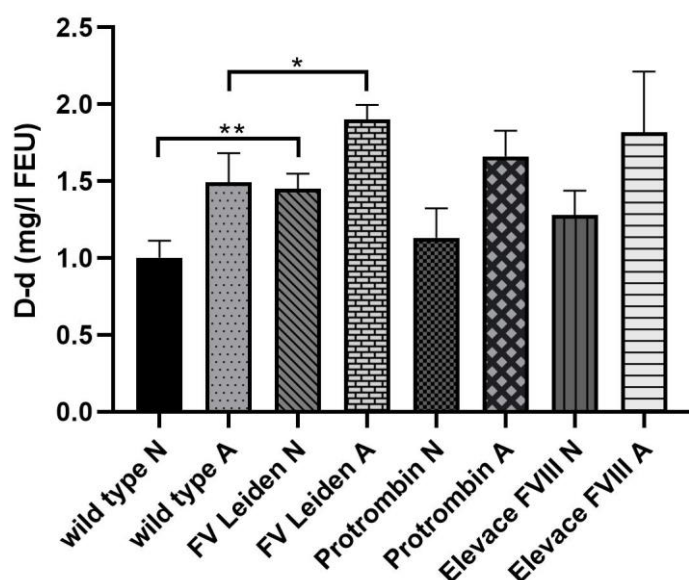
## 11.2 Vliv léčby na hladinu D-dimerů

Stanovení D-dimerů patří mezi základní diagnostické znaky hyperkoagulace. Každá z pacientek v tomto souboru byla v průběhu těhotenství minimálně jednou vyšetřena na hladinu D-dimerů. V průměru každá vyšetření absolvovala 4krát. Laboratoře si určují své parametrické hodnoty pro jeho stanovení samy. Hladina D-dimerů se liší při porovnání závislosti na jejich vrozené trombofilii (Obr. 15). Průměrná hladina zdravých neléčených pacientek (wild type N) je 1,0025 mg/l mezitímco u neléčených žen s mutací FV Leiden je to 1,45 mg/l. U léčených gravidních žen bez vrozené trombofilie je průměrná hladina D-dimerů 1,49 mg/l a u léčených trombofilních žen je to 1,9 mg/l. Pro ostatní proměnné nebyly zjištěny žádné prokazatelně významné statistické rozdíly ( $p < 0,5$ ). Pro statistické zhodnocení těchto výsledků byl použit Studentův t-test a jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr  $\pm$  střední chyba průměru (mean  $\pm$  SEM;  $n = \text{Tab. 15}$ ). Do analýzy byly zahrnuty následující proměnné: ID pacientky, rodinná anamnéza nebo trombóza.

Léčba	wild type	FV Leiden	Protrombin	Elevace FVIII
N	40	56	15	6
A	44	74	35	10

**Tab. 15:** Četnosti jednotlivých proměnných použité ve Studentově t-testu.

Vysvětlivky: N-neléčené A-léčené

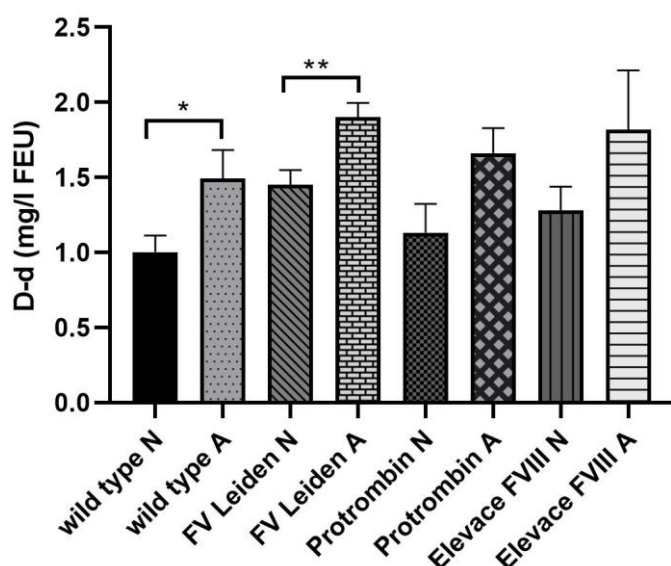


**Obr. 15:** Průměrná hladina D-dimerů u ne/léčených pacientek v závislosti na jejich vrozené mutaci a jejich porovnání s pacientkami bez mutace. Hvězdičkami jsou označeny

prokazatelně významné statistické (\* $p < 0,1$ ; \*\* $p < 0,05$ ) rozdíly mezi FV Leiden N a kontrolou (wild type N), a také mezi FV Leiden A a kontrolou (wild type A).

Vysvětlivky: N-neléčené A-léčené

Na základě výsledků předchozí analýzy se také provedlo porovnání hladiny D-dimerů u léčených a neléčených gravidních žen v rámci jednotlivých skupin (např. wild type N vs wild type A, Obr. 16) Při porovnání zdravých neléčených (wild type N) a zdravých léčených (wild type A) se ukázaly statisticky významné rozdíly v průměrné hladině D-dimerů, a to 1,0025 mg/l (wild type N) a 1,4900 mg/l (wild type A). Stejně tak u léčených a neléčených gravidních žen s mutací FV Leiden- 1,45 mg/l (FV Leiden N) a 1,90 mg/l (FV Leiden A).



**Obr. 16: Průměrná hladina D-dimerů u ne/léčených pacientek v rámci jednotlivých skupin.** Hvězdičkami jsou označeny prokazatelně významné statistické (\* $p < 0,1$ ; \*\* $p < 0,05$ ). Pro ostatní proměnné nebyly zjištěny žádné prokazatelně významné statistické rozdíly ( $p < 0,06$ ). Pro statistické zhodnocení těchto výsledků byl použit Studentův t-test a výsledky jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr  $\pm$  střední chyba průměru (mean  $\pm$  SEM;  $n = \text{Tab. 15}$ ).

Výsledkem obou analýz je tedy, že hladina D-dimerů je signifikantně vyšší jak u gravidních žen s hyperkoagulací oproti gravidním ženám bez mutace, tak také u léčených gravidních žen v porovnání s neléčenými.

### 11.3 Čestnosti typů porodu

V datovém souboru se vyskytuje celkem 10 typů porodů. Vzhledem k tomu, že některé pacientky sice dochází na vyšetření do AKH, ale nejsou rodičkami v Nemocnici České Budějovice a.s., není u nich možné dohledat záznam jak o typu porodu a porodních komplikacích tak o pohlaví a porodní váze novorozence (Tab. 16.) V souboru se vyskytuje jeden potrat, a to u pacientky s heterozygotním typem mutace FV Leiden. Převážná většina pacientek rodila císařským řezem (n=103), vyskytuje se zde také několik pacientek, u kterých bylo nutné porod indukovat (n=46).

proměnná	P	PI	PM	PO	PP	SC	SP	UTP
wild type	0	10	3	1	0	28	15	0
FV Leiden	1	28	5	4	2	46	31	1
Protrombin	0	5	1	0	2	27	10	0
Elevace FVIII	0	3	0	0	0	2	5	0
<b>Celkem</b>	<b>0,43 %</b>	<b>19,91 %</b>	<b>3,89 %</b>	<b>2,16 %</b>	<b>1,73 %</b>	<b>45,02 %</b>	<b>26,41 %</b>	<b>0,43 %</b>

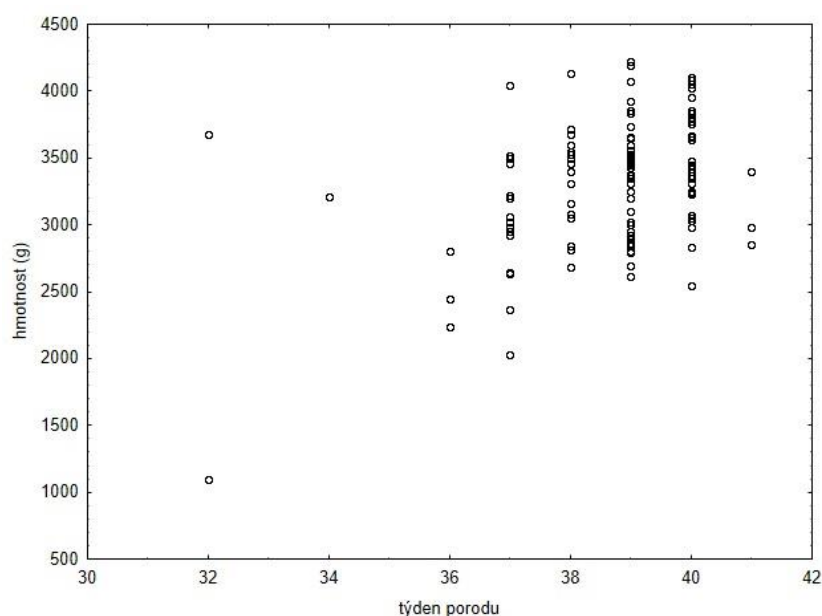
**Tab. 16: Počty pacientek podle typu porodu v závislosti na typu hyperkoagulace.**

Vysvětlivky: P-potrat PI-indukovaný porod PM-včasný porod PO-operační porod PP-předčasný porod

SC-císařský řez SP-spontánní porod UTP-umělé přerušení těhotenství

## 11.4 Porodní váha dle týdne porodu

V této analýze se sledovala hmotnost novorozenců podle týdne jejich narození. V grafu na Obr. 17 jsou viditelné dva velké rozdíly v 32. týdnu. Jedná se o pacientky, u kterých hmotnost jejich potomků byla 1099 g a 3680 g. V prvním případě se jedná o předčasný porod pacientky s mutací protrombinu. V druhém případě se jedná o pacientku také s mutací protrombinu, která rodila spontánně. Průměrná váha u ostatních novorozenců narozených v rozmezí 36. až 41. týdne byla 3300 g. Pomocí Spearmanova korelačního koeficientu byl zjištěn pozitivní korelační vztah mezi týdnem porodu a hmotností ( $r_s=0,27$ ,  $p<0,05$ ).



Obr. 17: Porodní váha novorozence v závislosti na týdnu porodu.

## 11.5 Týden porodu v závislosti na různých faktorech

Hlavním cílem diplomové práce byla statistická analýza vlivu různých faktorů na týden porodu. Především se jednalo o vliv léčby LMWH, u které byla stanovena hypotéza, že tento typ léčby ovlivňuje týden porodu nebo porodní váhu dítěte. Poté co byl zjištěn korelační koeficient mezi porodní váhou a týdnem porodu (viz kap. 11.4) se dále pracovalo pouze s týdnem porodu. Pomocí funkce full model averaging byl zjištěn vliv různých proměnných na týden porodu, a to především vyloučení/potvrzení hypotézy, že pacientky užívající LMWH rodí dříve (Tab.18).

Model	df	AICc	$\Delta$ AIC	Weight
46	12	937,33	0,00	0,51
469	13	939,54	2,21	0,17
45678	15	941,33	4,00	0,07
4689	14	941,65	4,32	0,06
1468	14	941,66	4,33	0,06
14568	15	942,32	5,00	0,04
45689	15	942,37	5,04	0,04
345678	16	943,22	5,89	0,03
145689	16	944,64	7,31	0,01
1456789	17	945,92	8,59	0,01
13456789	18	947,89	10,56	0,00
123456789	19	948,20	10,87	0,00
4	3	1110,50	173,17	0,00
234	5	1110,99	173,66	0,00
(Null)	2	1111,10	173,77	0,00
9	3	1111,62	174,29	0,00
7	3	1111,91	174,58	0,00
1234	6	1112,00	174,67	0,00
2	3	1112,09	174,76	0,00
23	4	1112,42	175,09	0,00
8	3	1112,53	175,20	0,00
1	3	1112,93	175,60	0,00
5	3	1112,96	175,63	0,00
3	3	1112,99	175,66	0,00
237	5	1114,51	177,18	0,00
1237	6	1115,41	178,08	0,00
1348	6	1116,10	178,77	0,00
12357	7	1117,32	179,99	0,00
123578	8	1119,06	181,73	0,00
12345789	10	1119,95	182,62	0,00
1235789	9	1120,51	183,18	0,00

**Tab. 17: Porovnání modelů s různými kombinacemi proměnných a nulovým modelem na reakci pomocí AIC kritéria.** Multimodel inference (n=9). Hvězdičkami jsou označeny prokazatelně významné statistické rozdíly ( $\cdot p < 0,1$ ;  $* p < 0,05$ ;  $** p < 0,01$ ;  $*** p < 0,001$ ).

Vysvětlivky: 1-elevace FVIII 2-hyperkoagulace 3-FV Leiden 4-LMWH 5-ostatní mutace 6-porod typ 7-protrombin 8-rodinná anamnéza 9-trombóza

Proměnná	Estimate	S.E.	RVI	Z	p
(Intercept)	38,465	0,981		38,948	<0,001 ***
Porody typ	-21,049	2,173	1,00	9,629	<0,001 ***
LMWH	0,578	0,303	1,00	1,895	0,058 .
Trombóza	0,015	0,173	0,29	0,089	0,928
Ostatní mutace	-0,191	0,511	0,20	0,373	0,709
Rod. anamnéza	-0,039	0,170	0,32	0,231	0,817
Protrombin	-0,032	0,157	0,11	0,209	0,834
Elevace FVIII	-0,013	0,221	0,13	0,061	0,951
FV Leiden	0,007	0,079	0,03	0,095	0,924
Hyperkoagulace	-0,002	0,056	<0,01	0,038	0,969

**Tab. 18: Porovnání vlivu různých faktorů na týden porodu.** RVI- relative variable importance.

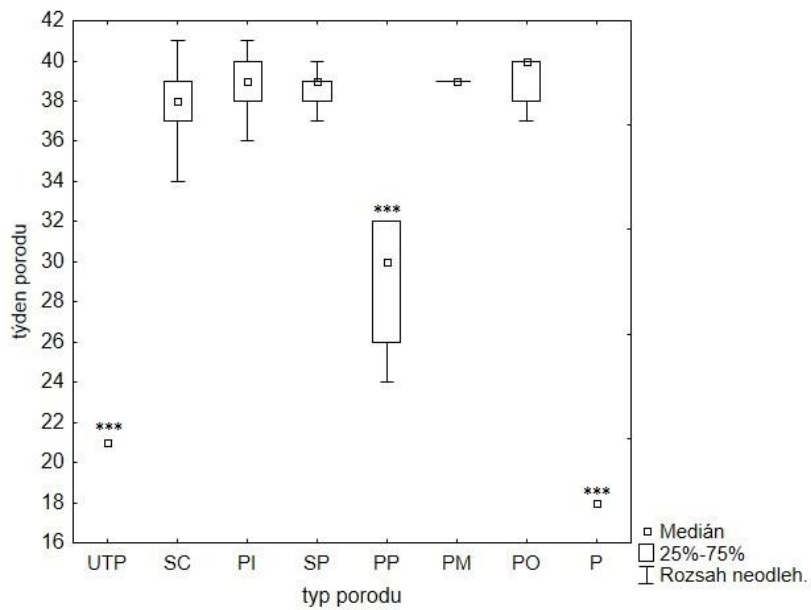
#### 11.5.1 Týden porodu vs typ porodu

Pomocí model averaging byl zjištěn vliv typu porodu na týden porodu. Následně bylo provedeno mnohonásobného porovnání pomocí Tukeyho testu. Výsledky v grafu na Obr. 18 jsou vyjádřeny funkcí medián. Z výsledků je patrné, že k potratu (P) došlo u jedné pacientky a to v 18. týdnu těhotenství (Obr. 18). Nachází se zde také jedna pacientka, u které bylo nutné v 21. týdnu uměle přerušit těhotenství (UTP). Čtyři pacientky rodily předčasně, a to v rozsahu od 24. do 32. týdne. Ostatní pacientky rodily minimálně v 34. týdnu, medián je 39. týden porodu a nejpozdější termín porodu byl 41. týden.

	P	PI	PM	PO	PP	SC	SP	UTP
P		10,788	10,244	9,907	5,148	10,276	10,682	1,299
PI	<0,010***		-0,291	-0,122	-9,869	-3,156	-0,543	-8,888
PM	<0,010***	1,000		0,087	-8,394	-1,336	-0,012	-8,440
PO	<0,010***	1,000	1,000		-7,580	-1,118	-0,113	-8,138
PP	<0,010***	<0,010***	<0,010***	<0,010***		8,972	9,727	-3,479
SC	<0,010***	0,037	0,922	0,974	<0,010***		2,719	-8,391
SP	<0,01***	0,999	1,000	1,000	<0,010***	0,125		-8,836
UTP	<0,01***	<0,010***	<0,010***	<0,010***	0,013	<0,010***	<0,010***	

**Tab. 19: Rozdíly v latenci mezi typy porodu.** Nad diagonálou jsou uvedené z hodnoty, pod diagonálou jsou uvedené p hodnoty (Tukey test, porovnání GLM modelu). Hvězdičkami jsou označeny prokazatelně významné statistické rozdíly (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

Vysvětlivky: P-potrat PI-indukovaný porod PM-včasný porod PO-operační porod PP-předčasný porod  
SC-císařský řez SP-spontánní porod UTP-umělé přerušování těhotenství



**Obr. 18: Týden porodu v závislosti na typu porodu (GLM,  $p < 0,001$ ).**

Vysvětlivky: P-potrat PI-indukovaný porod PM-včasný porod PO-operační porod PP-předčasný porod  
SC-císařský řez SP-spontánní porod UTP-umělé přerušení těhotenství

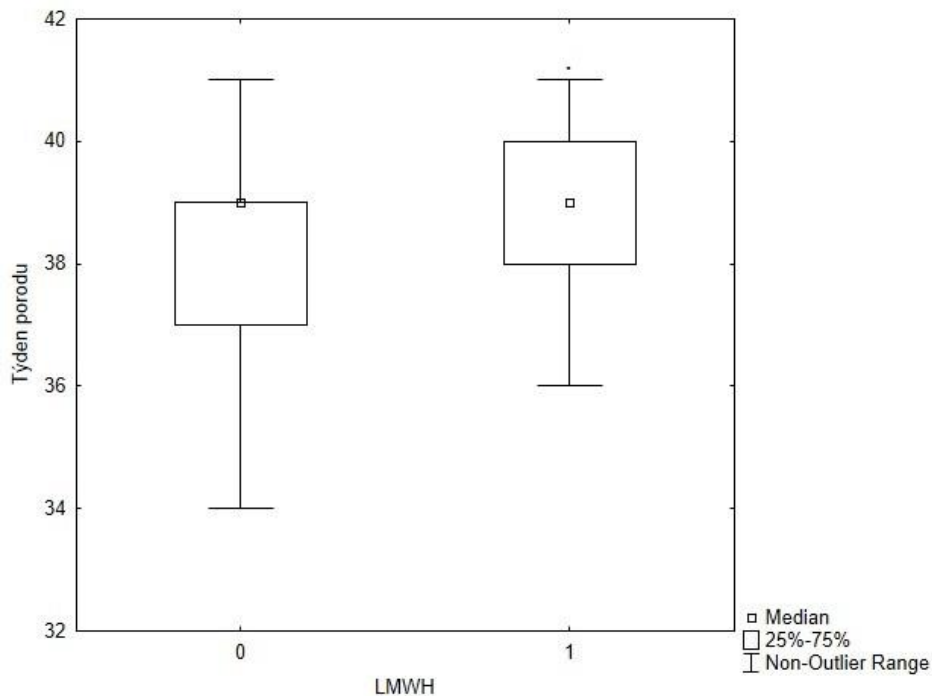
Podle analýzy nemá přítomnost vrozené trombofilie na týden porodu statisticky významný vliv (Tab. 18). Průměrný týden porodu ( $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ) a medián byl ve všech sledovaných skupinách stejný (Tab. 20).

	Minimum	Median	Maximum	Průměr
wild type	30	39	41	38
FV Leiden	18	39	41	38
Protrombin	26	39	40	38
Elevace FVIII	35	39	40	38

**Tab. 20: Týden porodu v závislosti na přítomnosti vrozené trombofilie.**

### 11.5.2 Týden porodu vs LMWH

Pomocí funkce full model averaging byl zjištěn indikativní vliv LMWH na týden porodu. Léčené gravidní ženy rodí indikativně později než neléčené ženy ( $p < 0,1$ ). Rozdíl je v řádu jednoho týdne (Obr. 19). Byla tak vyloučena hypotéza, že pacientky léčené LMWH rodí dříve.



**Obr. 19:** porovnání týdne porodu u léčených a neléčených gravidních žen (GLM,  $p=0,058$ ).



## 12 Diskuze

Tato diplomová práce se zabývá gravidními ženami, které v letech 2014 až 2016 byly pacientkami Ambulance klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. (AKH) Soubor, se kterým se pracovalo byl vytvořen Mgr. Štíchovou z dat získaných v nemocničním informativním laboratorním systému LIS, která jej použila pro svou diplomovou práci. Sama gravidita je hyperkoagulační stav, a tak je důvodem k návštěvě této ambulance. Proto téměř polovina z pacientek byla gravidních. Ženy jsou až 5krát více náchylné k rozvoji HŽT během těhotenství než mimo něj. TEN u gravidních žen může být život ohrožující onemocnění, pokud není včas diagnostikována a léčená. Incidence TEN u gravidních žen se odhaduje na 1 až 2 případy na 1000 těhotenství ročně. Riziko TEN je během všech tří trimestrů stejné, nejvyšší je ovšem v prvních 6 týdnech po porodu (Devis, Knuttinen, 2017).

Vzhledem k tomu, že některé z těchto žen nerodily na Gynekologicko-porodnickém oddělení Nemocnice České Budějovice a.s., nebylo možné u nich dohledat informace týkající se týdne a typu porodu či porodní váhy dítěte. Použitý soubor se tak výrazně zmenšil. Byl však stále dostatečně velký pro provedení statistické analýzy.

Ze zbylých 223 gravidních pacientek ve věku 23-49 let mělo 74 % vrozenou trombofilií. Ta je dalším předpokladem pro návštěvu této ambulance. Nejčastějším typem mutace byla FV Leiden. Podle Batinelli et al. největší frekvence vrozené trombofilie u gravidních žen dosahuje FV Leiden a mutace genu protrombinu G20210A. Pacientky s touto trombofilií tvořily více než 50 % ze zmíněných 223 gravidních žen. Homozygotní forma FV Leiden byla diagnostikována u 4 pacientek. Riziko HŽT u homozygotních gravidních žen narůstá 17násobně až 18násobně (Kujovich, 2018). U ostatních žen se jednalo o mutace ve formě heterozygotní. Vyskytovalo se zde také několik pacientek s kombinacemi dvou, ale i více mutací. Například kombinace FV Leiden-Protrombin, FV Leiden-Elevace FVIII, FV Leiden-Protrombin-Elevace FVIII. U heterozygotních žen s kombinací mutace FV Leiden a defektu protrombinu G20210A je riziko HŽT během gravidity 8násobně až 47násobně zvýšené (Kujovich, 2018).

Mgr. Štíchová ve své diplomové práci zmiňuje, že podstatným problémem byla kontrolní skupina zdravých gravidních žen. Pacientky nejsou pro vyšetření na AKH vybírány náhodně. Vždy mají určité předpoklady pro vyšetření jako jsou pozitivní rodinná či osobní anamnéza

tromboembolické příhody nebo také opakovaně nepříznivá gynekologická anamnéza. Proto většina z těchto pacientek se nedá přímo označit za zdravé, ale bylo použito označení wild type, což znamená, že pacientky v kontrolní skupině nemají vrozenou trombofilii.

U některých gravidních žen je velmi důležitá farmakologická profylaxe TEN a u pacientek, u kterých došlo k HŽT její léčba. Při zvažování profylaxe rozhoduje, zda je přítomna trombofilie, předchozí prodělaná trombóza, APS, onemocnění srdce či srpkovitá anémie. Důležitý je ale také věk (>35 let), obezita, imobilita nebo vícečetné těhotenství (Devis, Knuttinen, 2017). V tomto datovém souboru se nachází pouze jeden typ farmakologické profylaxe a léčby, a to LMWH. Antikoagulancium LMWH je v tomto případě nejlepší volbou, neboť jiná antikoagulancia mohou vykazovat řadu nežádoucích účinků a komplikací během těhotenství a také prochází placentou. Dávkování LMWH těhotným ženám je stále diskutované téma. Současné doporučení podle ACCP<sup>9</sup> jsou nízké profylaktické dávky (např. enoxaparin 40 mg subkutánně každých 24 h) a střední terapeutické dávky (např. enoxaparin 40 mg subkutánně každých 12 h) (Lu et al., 2017). Podle získaných výsledků z tohoto datového souboru 75 % gravidních žen užívalo LMWH. Co se týče skupiny gravidních žen bez vrozené hyperkoagulace léčba byla předepsána téměř 60 % z nich. U gravidních žen s mutací FV Leiden tvořilo skupinu léčených téměř 80 %. V případě pacientek s mutací protrombinu LMWH užívalo 85 % z nich. Poslední sledovaná skupina tvořená gravidními ženami s elevací FVIII užívala léčbu ve více než 70 % případů. Některé studie popisují, že při užívání LMWH během těhotenství je riziko vedlejších efektů pro matku nebo dítě nízké a některé to naopak vyvracejí. Podle metaanalýzy Desancho et al. nedochází během těhotenství při užívání terapeutických dávek LMWH ke komplikacím u matky, ale mohou se vyskytovat u plodu. Doporučuje se společně s LMWH užívat vápník a vitamin D3 k minimalizaci vedlejších efektů. Ke krvácení u gravidních žen užívajících LMWH podle řady studií (Kominiarek et al., Maslovitz et al., Lee et al. atd.) dochází velmi zřídka, a to pouze u 2 % těhotenství.

V diagnostice TEN a pro monitorování léčby nejen u gravidních žen je velmi dobrým ukazatelem hladina D-dimerů v krvi. V případě gravidních žen je ovšem hladina D-dimerů fyziologicky vyšší, a proto referenční hodnoty pro stanovení D-dimerů by tento fakt měly zahrnovat. Pokud je těhotenství bez komplikací, hladina D-dimerů se v průběhu těhotenství postupně zvyšuje a nejvyšší je v počátku šestinedělí (Gutiérrez et al., 2018). V tomto datovém

---

<sup>9</sup> ACCP= American College of Clinical Pharmacy

souboru byla každé z pacientek vyšetřena na hladinu D-dimerů minimálně jednou. Při porovnání této hodnoty u gravidních žen bez vrozené trombofilie s těmi, které některou z mutací mají se ukázala signifikantně vyšší hladina D-dimerů u gravidních žen s mutací FV Leiden. Průměrná hladina D-dimerů u gravidních žen bez mutace byla 1,246 mg/l a u žen s vrozenou hyperkoagulací 1,675 mg/l. Bc. Kabelová ve své bakalářské práci uvádí průměrné hladiny 0,736 mg/l a 0,878 mg/l. V bakalářské práci Mgr. Štíchové je to 1,379 mg/l a 1,823 mg/l. Výsledky jsou různé, což může být ovlivněno rozdílným zastoupením gravidních žen v jednotlivých skupinách. Dále se také statisticky zhodnotila hladina D-dimerů u léčených a neléčených gravidních žen. Ukázalo se, že u zdravých neléčených gravidních žen je průměrná hladina D-dimerů 1,0025 mg/l, mezitímco u zdravých léčených gravidních žen je vyšší a to 1,49 mg/l. Stejně tak tomu je i u gravidních žen s mutací FV Leiden, kde pacientky bez léčby dosahovaly průměrné hladiny D-dimerů 1,45 mg/l a u léčených pacientek to bylo 1,9 mg/l. Podobný výsledek se ukázal také v práci Bc. Kabelové a Mgr. Štíchové. V případě analýzy Bc. Kabelové byla hladina D-dimerů u neléčených pacientek bez mutace i s mutací po celou dobu těhotenství vyšší. Mgr. Štíchová ve své diplomové práci zaznamenala průměrnou hladinu D-dimerů u neléčených pacientek bez mutace 1,92 mg/l, mezitímco u léčených to bylo 1,03 mg/l. Důvodem v obou pracích je, že v těchto analýzách jsou zahrnuty i další náhodné proměnné jako je například přítomnost trombózy. Dalším důvodem může být, že léčba je předepisována právě na základě vyšší hladiny D-dimerů, a tak je u léčených pacientek vyšší.

V tomto datovém souboru bylo zaznamenáno celkem 10 způsobů jakým gravidní pacientky AKH rodily. Jednalo se o indukovaný porod, včasný porod, operační porod, předčasný porod, císařský řez, spontánní porod, umělé přerušování těhotenství a poslední typ nelze přímo označit za typ porodu, neboť se jedná o potrat. Vyskytovala se zde pouze jedna pacientka, která potratila, a to v 18. týdnu těhotenství. Ve více než 25 % případech se jednalo o přirozený spontánní porod. Nejčastější byl císařský řez, kterým rodilo více než 45 % pacientek a v téměř 20 % případů byl porod indukovaný. Císařský řez má největší zastoupení z důvodu, že k vyšetření na AKH jsou často doporučeny starší ženy, u kterých se také častěji objevují komplikace během porodu (písemné sdělení Vonke, 2019). Průměrný věk pacientek v datovém souboru byl 35 let a důvodem k císařskému řezu byly nejčastěji rigidní porodní cesty nebo hypoxie plodu. Více než 70 % žen, u kterých byl nutný císařský řez mělo vrozenou hyperkoagulaci. Ve více než 60 % případech se jednalo o mutaci FV Leiden. Mgr. Štíchová ve své diplomové práci uvádí, že hladina D-dimerů ovlivněna terapií LMWH nebo přítomností

FV Leiden nemá na způsob porodu vliv. Vzhledem k nedostatku dat v kategorii porodních komplikací nebylo možné zjistit, proč u některých pacientek bylo nutné porod indukovat.

V další části diplomové práce se sledovala závislost týdne porodu na hmotnosti novorozence. Tento krok byl důležitý pro stanovení analýzy hlavního cíle této práce. Ukázalo se, že týden porodu odpovídá váze novorozence. V 32. týdnu porodu se ukázaly dva velmi rozdílné extrémy, a to jeden novorozenec s váhou 1099 g a druhý novorozenec vážící 3680 g. V těchto případech vzbuzuje správné určení týdne pochybnosti (písemné sdělení Vonke, 2019). Podle České neonatologické společnosti se jako novorozenec s nízkou porodní váhou označuje novorozenec s porodní hmotností při narození menší než 2500 g. Podle definice WHO je nedonošený novorozenec ten, který se narodil před 37. dokončeným týdnem gravidity. Poslední kategorií je velmi nedonošený novorozenec, což jsou podle WHO novorozenci narození před 32. dokončených týdnem gravidity. V tomto souboru se vyskytovalo několik nedonošených novorozenců s průměrnou hmotností 3300 g. Průměrná hmotnost u ostatních novorozenců byla také 3300 g. Podle Českého statistického úřadu je průměrná hmotnost narozeného dítěte 3283 g. Vyplývá to z detailních údajů zpracovaných za rok 2017.

Vzhledem k tomu, že byl zjištěn pozitivní korelační koeficient ( $r_s=0,27$ ,  $p<0,05$ ) mezi týdnem porodu a porodní váhou, hlavní analýza byla prováděna v závislosti různých proměnných na týdnem porodu. Cílem bylo zjistit, zda antikoagulační terapie LMWH má vliv na týden porodu a pacientky s terapií LMWH rodí dříve. Provedla se tak multifaktoriální analýza, která zahrnovala proměnné jako jsou typ porodu, přítomnost hyperkoagulace jako takové, přítomnost FV Leiden, mutace protrombinu nebo elevace FVIII, přítomnost jiné mutace, antikoagulační terapie LMWH, typ porodu, pozitivní/negativní rodinná anamnéza, přítomnost trombózy. Bylo vytvořeno celkem 30 modelů s různými kombinacemi proměnných.

Prvním pozitivním výsledkem byly prokazatelně statisticky významné rozdíly mezi týdnem porodu a typem porodu. Tento výsledek by se dal označit za prostý fakt, neboť je logické, že pokud je porod označený jako předčasný, musela takováto pacientka родit dříve. K potratu plodu většinou dochází během prvního trimestru těhotenství. Jak již bylo řečeno jedna pacientka potratila v 18. týdnu těhotenství. Jednalo se u 37letou ženu s heterozygotní mutací FV Leiden léčenou LMWH. Podle Kupferminc et al a Jamal et al je FV Leiden nejčastějším typem mutace u matek nedonošených dětí. Mahjoub et al. ve své analýze ve sledované skupině žen, které potratily zjistily vysokou prevalenci FV Leiden u těchto žen. Mierla et al. ve své

studii uvádí, že trombofilie je po chromozomálních abnormalitách nejčastější příčinou opakovaného potratu. Co se předčasného porodu týče v souboru se vyskytovaly čtyři pacientky, které předčasně rodily a všechny měly vrozenou mutaci. Ve dvou případech se jednalo o FV Leiden, v jednom o mutaci protrombinu a v posledním o elevaci FVIII. Podle provedené analýzy ale nemají vrozené trombofilie vliv na týden porodu. Navíc po spočítání průměrného týdne porodu se ukázal výsledek 38. týden porodu u všech pacientek bez ohledu na vrozenou hyperkoagulaci a stejně tak v případě mediánu, kdy byl výsledek 39. týden také u všech pacientek včetně těch bez mutace.

Většina studií je zaměřená na vliv antikoagulační terapie LMWH na komplikace během gravidity a při porodu (Desancho et al., Roger et al., Springel atd.). Bezpečnost LMWH pro matku i dítě již byla řadou studií potvrzena. Ke krvácení u gravidních žen užívajících LMWH podle řady studií (Kominiarek et al., Maslovitz et al., Lee et al. atd.) dochází velmi zřídka, a to pouze u 2 % těhotenství. Další komplikace jako zvýšený riziko hematomu, situs inversus<sup>10</sup>, defekt neurální trubice, edém atd. jsou vzhledem k neprostupnosti LMWH přes placentu nepravděpodobné (Deruelle, Coulon, 2007). Nasazení LMWH bývá také častým důvodem, pokud dojde v předešlém těhotenství k preeklampsii, intrauterinní růstové restrikci či abrupci placenty spojenými s přítomností vrozené trombofilie (Maslovitz et al., 2005). Žádná studie ale neměla za cíl sledovat vliv LMWH na týden porodu. Stanovila se proto hypotéza, že pacientky s terapií LMWH rodí předčasně nebo dříve. Výsledky provedené analýzy ukázaly indikativní výsledek ( $p=0,058$ ), že tomu je naopak a gravidní pacientky užívající LMWH prospívají a rodí o 2 týdny později oproti neléčeným pacientkám. Gravidní ženy bez terapie LMWH rodí nejméně v 34. týdnu mezitímco léčené pacientky rodí nejméně v 36.týdnu. Lze tak tedy říci, že LMWH je vhodně stanovená léčba pro gravidní ženy.

---

<sup>10</sup> Situs inversus= stranově obrácené umístění vnitřních orgánů

## 13 Závěr

- Podařilo se vytvořit homogenní soubor dat, který bude vhodný pro statistickou analýzu.
- Podařilo zmapovat komplikace a výsledky gravidity u žen s hyperkoagulací se zvláštním zřetelem na vliv LMWH.
- Byla potvrzena hypotéza, že vrozená hyperkoagulace zvyšuje hladinu D-dimeru. Tyto výsledky byly porovnány s bakalářskými pracemi Bc. Kabelové a Mgr. Štíchové., v kterých byl výsledek obdobný.
- Nebyla potvrzena hypotéza, že léčba LMWH snižuje hladinu D-dimeru. Tyto výsledky byly porovnány s diplomovou prací Mgr. Štíchové, v kterých byl výsledek obdobný.
- Ukázal se statisticky významný výsledek při sledování závislosti týdne porodu na typu porodu.
- Nebyla potvrzena hypotéza, že přítomnost vrozené trombofilie má vliv na týden porodu.
- Nebyla potvrzena hypotéza, že léčba LMWH ovlivňuje výsledky gravidity u žen, především týden porodu.

## 14 Seznam použitých zkratek

aCL – antikardiolipinové protilátky

aPL – antifosfolipidové protilátky

APC – aktivovaný protein C

APS – antifosfolipidový syndrom

AT – antitrombin

A2AP –  $\alpha$ 2-antiplasmin

BMD – denzita kostního minerálu

CAPS – katastrofický APS

COC – kombinovaná orální kontracepce

CT – počítačová tomografie

CTEPH – chronická tromboembolická plicní hypertenze

CTPA – CT angiografie

DIC – diseminovaná intravaskulární koagulopatie

EE – ethinylestradiol

EKG – elektrokardiografie

ELISA – enzyme linked immuno sorbent essay

FDPs – degradační produkty fibrinolýzy

GAG – glykosamynoglykan

HŽT – hluboká žilní trombóza

LA – lupus antikoagulans

LMWH – nízkomolekulární heparin

MR – magnetická resonance

NOACs – non-vitamin K oral anticoagulans

OC – orální kontracepce

PAI-1 - inhibitor tkáňového plasminogenu-1

PAI-2 - inhibitor tkáňového plasminogenu-1

PC – protein C

PE – plicní embolie

PF – purpura fulminans

PS – protein S

PT – protrombin

RR – relativní riziko

TAFI – trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy

TEN – tromboembolická nemoc

TF – tkáňový faktor

TFPI – inhibitor tkáňového faktoru

UFH – nefrakcionovaný heparin

tPA – tkáňový aktivátor plasminogenu

uPA – tkáňový aktivátor urokinázy

V/Q – poměr ventilace/perfúze



## 15 Seznam citované literatury

ADAM, Soheir S., Nigel S. KEY a Charles S. GREENBERG, 2009. *D-dimer antigen: current concepts and future prospects*. Blood [online]. B.m.: American Society of Hematology, 113(13), 2878–87 [vid. 2017-10-04]. ISSN 1528-0020. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2008-06-165845

ANDERSON, D.R. & BURNHAM, K.P. 2002: *Avoiding pitfalls when using information-theoretic methods*. Journal Of Wildlife Management 66: 912-918.

ANDERSON, J. A. M., & WEITZ, J. I. (2011). *Hypercoagulable States*. Critical Care Clinics, 27(4), 933–952. doi:10.1016/j.ccc.2011.09.007

BARATLOO, A., SAFARI, S., ROUHIPOUR, A., HASHEMI, B., RAHMATI, F., MOTAMEDI, M., FOROUZANFAR, M., ... HAROUTUNIA, P. (2014). *The Risk of Venous Thromboembolism with Different Generation of Oral Contraceptives; a Systematic Review and Meta-Analysis*. Emergency (Tehran, Iran), 2(1), 1-11. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4614624/>

BAUER, K. A., NGUYEN-CAO, T. M., & SPEARS, J. B. (2016). *Issues in the Diagnosis and Management of Hereditary Antithrombin Deficiency*. Annals of Pharmacotherapy, 50(9), 758–767. doi:10.1177/1060028016651276. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27281301>

BATTINELLI, E. M., MARSHALL, A., & CONNORS, J. M. (2013). *The Role of Thrombophilia in Pregnancy*. Thrombosis, 2013, 1–9. doi:10.1155/2013/516420. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3880751/>

BĚLOHLÁVEK, J., DYTRYCH, V., & LINHART, A. (2013). *Pulmonary embolism, part I: Epidemiology, risk factors and risk stratification, pathophysiology, clinical presentation, diagnosis and nonthrombotic pulmonary embolism*. Experimental and clinical cardiology, 18(2), 129-38. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3718593/>

BLOKHIN, I. O., & LENTZ, S. R. (2013). *Mechanisms of thrombosis in obesity*. *Current Opinion in Hematology*, 20(5), 437–444. doi:10.1097/moh.0b013e3283634443. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4445633/>

BUDNIK, I., & BRILL, A. (2018). *Immune Factors in Deep Vein Thrombosis Initiation*. *Trends in immunology*, 39(8), 610-623. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6065414/>

BURNHAM, K.P., ANDERSON, D.R. & HUYVAERT, K.P. 2011: *AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons*. *Behavioral Ecology And Sociobiology* 65: 23-35.

CASTOLDI, E., & ROSING, J. (2009). *APC resistance: biological basis and acquired influences*. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 8(3), 445–453. doi:10.1111/j.1538-7836.2009.03711.x. Dostupné z: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20002539](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20002539)

CROWTHER, MA a JG KELTON. Congenital thrombophilic states associated with venous thrombosis: a qualitative overview and proposed classification system. *Ann Intern Med* [online]. 2003, 138(2), 128-134 [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12529095/>

CUSHMAN M. (2007). *Epidemiology and risk factors for venous thrombosis*. *Seminars in hematology*, 44(2),62-9. Dostupné z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2020806/>

Dell Inc. (2016). Dell Statistica (data analysis software system), version 13. [software.dell.com](http://software.dell.com).

DE SANCHO, M. T., KHALID, S., & CHRISTOS, P. J. (2012). *Outcomes in women receiving low-molecular-weight heparin during pregnancy*. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 23(8), 751–755. doi:10.1097/mbc.0b013e328358e92c. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4004025/>

DEVIS, P., & KNUTTINEN, M. G. (2017). *Deep venous thrombosis in pregnancy: incidence, pathogenesis and endovascular management*. *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*, 7(S3), S309–S319. doi:10.21037/cdt.2017.10.08.

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5778511/>

DINDO, D., BREITENSTEIN, S., HANSOLER, D., SEIFERT, B., YAKARISIK, S., ASMIS, L. M., ... CLAVIEN, P.-A. (2009). *Kinetics of D-dimer after general surgery*. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 20(5), 347352. doi:10.1097/mbc.0b013e32832a5fe6

FOGOROS, Richard N. What is the D-dimer test?. In: *Verywellhealth* [online]. .: Dotdash, 2018 [cit. 2019-03-23]. Dostupné z: <https://www.verywellhealth.com/d-dimer-test-4173338>

FONTANA, Josef a Petra LAVRÍKOVÁ. Hemostáza. *Funkce buněk a lidského těla* [online]. 3. LF UK, Praha: 2014 [cit. 2019-03-23]. Dostupné z: <http://fblt.cz/skripta/v-krev-a-organy-imunitniho-systemu/4-hemostaza/>

FOWKES, F. J. I., PRICE, J. F., & FOWKES, F. G. R. (2003). *Incidence of diagnosed deep vein thrombosis in the general population: Systematic review*. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 25(1), 1–5. doi:10.1053/ejvs.2002.1778 Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1078588402917788>

GANONG, William F. *Přehled lékařské fyziologie*. Přeložil Tomáš BLAŽEK. Jinočany: H&H, 1995. ISBN 80-85787-36-9.

GOLDENBERG, N. A., & MANCO-JOHNSON, M. J. (2008). *Protein C deficiency*. *Haemophilia*, 14(6), 1214–1221. doi:10.1111/j.1365-2516.2008.01838.x Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19141162>

GRIFFIN, J.H., ZLOKOVIC, B., V., & MONSIEUR, L.O. (2015) *Activated protein C*: *Blood*, 125 (19), 2898-2907. Accessed March 22, 2019 <https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-355974>

GUTIÉRREZ GARCÍA, I., PÉREZ CAÑADAS, P., MARTÍNEZ URIARTE, J., GARCÍA IZQUIERDO, O., ANGELES JÓDAR PÉREZ, M., & GARCÍA DE GUADIANA

ROMUALDO, L. (2018). *D-dimer during pregnancy: establishing trimester-specific reference intervals*. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 1–4. doi:10.1080/00365513.2018.1488177

HARTER, K., LEVINE, M., & HENDERSON, S. (2015). *Anticoagulation Drug Therapy: A Review*. Western Journal of Emergency Medicine, 16(1), 11–17. doi:10.5811/westjem.2014.12.22933.

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4307693/>

HERMAN, Jiří a Dalibor MUSIL. *Žilní onemocnění v klinické praxi*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3335-7.

CHAMPAGNE, B., & LARYEA, J. (2013). *Venous Thromboembolism Prophylaxis*. Clinics in Colon and Rectal Surgery, 26(03), 153–159. doi:10.1055/s-0033-1351130. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3747284/>

CHAPIN, J. C., & HAJJAR, K. A. (2014). *Fibrinolysis and the control of blood coagulation*. Blood reviews, 29(1), 17-24. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4314363/>

CHAUDRY, Babiker HM. *Physiology, Coagulation Pathways*. [Updated 2018 Oct 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482253/>

CHATURVEDI, S., & MCCRAE, K. R. (2015). *The antiphospholipid syndrome: still an enigma*. Hematology, 2015(1), 53–60. doi:10.1182/asheducation-2015.1.53. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4877624/>

JADAON, M. M. M. (2011). *Epidemiology of activated protein c resistance and factor v leiden mutation in the mediterranean region*. Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases, 3(1), e2011037. doi:10.4084/mjh.2011.037 Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3251907/>

JENKINS, P. V., RAWLEY, O., SMITH, O. P., & O'DONNELL, J. S. (2012). *Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis*. British Journal of Haematology, 157(6), 653–

663.doi:10.1111/j.1365-2141.2012.09134.x.

Dostupné

z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22530883>

KABELOVÁ, Kristýna. *Hyperkoagulační stavy v graviditě, vliv nízkomolekulárního heparinu*. České Budějovice, 2017. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce MUDr. Ivan Vonke, MBA.

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>

KELLY J, RUDD A, LEWIS RR, HUNT BJ. *Plasma D-Dimers in the Diagnosis of Venous Thromboembolism*. *Arch Intern Med* 2002;162(7):747–756doi:10.1001/archinte.162.7.747

KUJOVICH JL. *Factor V Leiden Thrombophilia*. 1999 May 14 [Updated 2018 Jan 4]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1368/>

LightCycler® 480 Instrument II. In: *Roche* [online]. .: ., 2019 [cit. 2019-03-25]. Dostupné z: [https://lifescience.roche.com/en\\_cz/products/lightcycler14301-480-instrument-ii.html](https://lifescience.roche.com/en_cz/products/lightcycler14301-480-instrument-ii.html)

LIMA, M., & NADER, H. (2014). *Unfractionated and low molecular weight heparin*. *BMC Proceedings*, 8(Suppl 4), O10. doi:10.1186/1753-6561-8-s4-o10. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4204200/>

LU, E., SHATZEL, J. J., SALATI, J., & DELOUGHERY, T. G. (2017). *The Safety of Low-Molecular-Weight Heparin During and After Pregnancy*. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 72(12), 721–729.doi:10.1097/ogx.0000000000000505. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29280473>

MAHJOUR, T., MTIRAOU, N., TAMIM, H., HIZEM, S., FINAN, R. R., NSIRI, B., & ALMAWI, W. Y. (2005). *Association between adverse pregnancy outcomes and maternal factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A genotypes in women with a history of*

*recurrent idiopathic miscarriages*. American Journal of Hematology, 80(1), 12–19. doi:10.1002/ajh.20419

MANY, A., & KOREN, G. (2005). *Low-molecular-weight heparins during pregnancy*. Canadian family physician Medecin de famille canadien, 51(2), 199-201. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1472984/>

MASLOVITZ, S., MANY, A., LANDSBERG, J. A., VARON, D., LESSING, J. B., & KUPFERMINC, M. J. (2005). *The safety of low molecular weight heparin therapy during labor*. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 17(1), 39–43. doi:10.1080/14767050400028626

MEKAJ, A., MEKAJ, Y., DUCI, S., & MIFTARI, E. (2015). *New oral anticoagulants: their advantages and disadvantages compared with vitamin K antagonists in the prevention and treatment of patients with thromboembolic events*. Therapeutics and Clinical Risk Management, 967. doi:10.2147/tcrm.s84210.

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4485791/>

MIERLA, D., SZMAL, C., NEAGOS, D., CRETU, R., STOIAN, V., & JARDAN, D. (2012). Association of Prothrombin (A20210G) and Factor V Leiden (A506G) with Recurrent Pregnancy Loss. *Maedica*, 7(3), 222–226. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3566885/>

MOHEIMANI, F., & JACKSON, D. E. (2011). *Venous thromboembolism: classification, risk factors, diagnosis, and management*. ISRN hematology, 2011, 124610. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3196154/>

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

NAKASHIMA, M. O., & ROGERS, H. J. (2014). *Hypercoagulable states: an algorithmic approach to laboratory testing and update on monitoring of direct oral anticoagulants*. Blood

Research, 49(2), 85.doi:10.5045/br.2014.49.2.85. Dostupné z:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4090343/>

Odds ratio. In: *WikiSripta* [online]. .: MediaWiki, 2018 [cit. 2019-03-24]. Dostupné z:  
[https://www.wikiskripta.eu/w/Odds\\_ratio](https://www.wikiskripta.eu/w/Odds_ratio)

OGLAT, A., MATJAFRI, M., SUARDI, N., OQLAT, M., ABDELRAHMAN, M., & OQLAT, A. (2018). *A review of medical doppler ultrasonography of blood flow in general and especially in common carotid artery*. JOURNAL OF MEDICAL ULTRASOUND, 26(1), 3.doi:10.4103/jmu.jmu\_11\_17. Dostupné z:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6029191/>

ORMESHER, L., SIMCOX, L., TOWER, C., & GREER, I. A. (2016). *Management of inherited thrombophilia in pregnancy*. Women's Health, 12(4), 433–441.doi:10.1177/1745505716653702. Dostupné z:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5373275/>

PATNAIK, M. M., & MOLL, S. (2008). *Inherited antithrombin deficiency: a review*. Haemophilia, 14(6), 1229–1239. doi:10.1111/j.1365-2516.2008.01830.x Dostupné z:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19141163>

Penting dicatat bahwa trombus ini dapat ditunjukkan dalam contoh biopsi kulit. In: *Bercak-alopesia.weebly.com* [online]. Indonesie: weebly, 2015 [cit. 2019-03-24]. Dostupné z:  
<https://bercak-alopesia.weebly.com/blog/penting-dicatat-bahwa-trombus-ini-dapat-ditunjukkan-dalam-contoh-biopsi-kulit>

PIRMOHAMED, M. (2018). *Warfarin: The End or the End of One Size Fits All Therapy?* Journal of Personalized Medicine, 8(3), 22.doi:10.3390/jpm8030022. Dostupné z:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29958440>

RAFIYATH, Shamudheen. *Protein C Deficiency*. In: *Medscape* [online]. Arizona: Medscape, 2019 [cit. 2017-03-01]. Dostupné z: A DE PALO, Vera. Thromboembolism.

In: *Medscape* [online]. New York: Medscape, 2016 [cit. 2017-03-01]. Dostupné z: <https://emedicine.medscape.com/article/205470-overview>

RAHMAN, Mohamed H. a Jane BEATTIE. Surgery and venous thromboembolism. *The Pharmaceutical Journal* [online]. 2004, **2004**(273), 687-689 [cit. 2019-03-24]. Dostupné z: <https://www.pharmaceutical-journal.com/download?ac=1064505>

R Development Core Team. 2011: R: A language and environment for statistical computing. — R Found Stat Comp, Vienna, Austria.

RODGER, M. A., LANGLOIS, N. J., de VRIES, J. I., REY, É., GRIS, J.-C., MARTINELLI, I., ... KAAJA, R. (2014). *Low-molecular-weight heparin for prevention of placenta-mediated pregnancy complications: protocol for a systematic review and individual patient data meta-analysis (AFFIRM)*. *Systematic Reviews*, 3(1). doi:10.1186/2046-4053-3-69. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4094595/>

ROSING, J. , MAURISSEN, L. F. A. , TCHAIKOVSKI S. N., TANS, G. , HACKEG, T. M. *Protein S is a cofactor for tissue factor pathway inhibitor*. *Thromb Res*. 2008; 122 (Suppl 1): S60–S63. doi: 10.1016/S0049-3848(08)70021-5

SAMAI, A. A., BOEHME, A. K., SHABAN, A., GEORGE, A. J., DOWELL, L., MONLEZUN, D. J., ... MARTIN-SCHILD, S. (2016). *A Model for Predicting Persistent Elevation of Factor VIII among Patients with Acute Ischemic Stroke*. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 25(2), 428–435. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26777556>

SCHAFFER A.I. (2007) *Hypercoagulable State*, In: Willerson J.T., Wellens H.J.J., Cohna J.N., Holmes D.R.(eds) *Cardiovascular Medicine*. Springer, London. ISBN: 978-1-84628-715-2

SCHREIBER, K., SCIASCIA, S., DE GROOT, P. G., DEVREESE, K., JACOBSEN, S., RUIZ-IRASTROZA, G., ... HUNT, B. J. (2018). *Antiphospholipid syndrome*. *Nature Reviews Disease Primers*, 4, 17103. doi:10.1038/nrdp.2017.103. Dostupné z: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29321641](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29321641)



SIMCOX, L., ORMESHER, L., TOWER, C., & GREER, I. (2015). *Thrombophilia and Pregnancy Complications*. International Journal of Molecular Sciences, 16(12), 28418–28428. doi:10.3390/ijms161226104. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4691051/>

Situs inversus. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2019-03-24]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Situs\\_inversus](https://en.wikipedia.org/wiki/Situs_inversus)

SIEGAL, Deborah a Wendy LIM. *Venous Thromboembolism*. Hematology. 7th ed. .: Elsevier, 2018, s. 2102-2112. ISBN 9780323357623. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323357623001426>

SOLARI F, VARACALLO M. *Low Molecular Weight Heparin (LMWH)* [Updated 2019 Feb 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525957/>

STEVENS, S. M., WOLLER, S. C., BAUER, K. A., KASTHURI, R., CUSHMAN, M., STREIFF, M., ... DOUKETIS, J. D. (2016). *Guidance for the evaluation and treatment of hereditary and acquired thrombophilia*. Journal of Thrombosis and Thrombolysis, 41(1), 154–164. doi:10.1007/s11239-015-1316-1. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4090343/>

Sysmex CS-2000i/CS-2100i Systems. In: *Siemens Healthineers* [online]: 2019 [cit. 2019-03-25]. Dostupné z: <https://www.healthcare.siemens.cz/hemostasis/systems/sysmex-cs-5100-system>

Sysmex CS-5100 System. In: *Siemens Healthineers* [online]: 2019 [cit. 2019-03-25]. Dostupné z: <https://www.healthcare.siemens.cz/hemostasis/systems/sysmex-cs-5100-system>

TENNA, A. M. S., KAPPADATH, S., & STANSBY, G. (2012). *Diagnostic tests and strategies in venous thromboembolism*. *Phlebology: The Journal of Venous Disease*, 27(2\_suppl), 43–52. doi:10.1258/phleb.2012.012s35. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22457304>

TEN KATE, M. K., & VAN DER MEER, J. (2008). *Protein S deficiency: a clinical perspective*. Haemophilia, 0(0), 080512004759292-??? doi:10.1111/j.1365-2516.2008.01775.x Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18479427>

TRENOR, C. C., CHUNG, R. J., MICHELSON, A. D., NEUFELD, E. J., GORDON, C. M., LAUFER, M. R., & EMANS, S. J. (2011). *Hormonal Contraception and Thrombotic Risk: A Multidisciplinary Approach*. Pediatrics, 127(2), 347–357. doi:10.1542/peds.2010-2221. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3025417/>

VACUETTE® 2 ml K2 EDTA. In: *Dialab* [online]. .: ., 2019 [cit. 2019-03-25]. Dostupné z: <https://www.dialab.cz/z1406-vacurette-2-ml-k2-edta>

Vacutainer 4,5ml sráž. In: *Medipos* [online], 2019 [cit. 2019-03-25]. Dostupné z: <http://www.medipos.cz/1/Vacutainer-4-5ml-sraz.html>

VAN COTT, E. M., KHOR, B., & ZEHNDER, J. L. (2015). *Factor VLeiden*. American Journal of Hematology, 91(1), 46–49. doi:10.1002/ajh.24222. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26492443>

VAN VLIJMEN, E. F. W., WIEWEL-VERSCHUEREN, S., MONSTER, T. B. M., & MEIJER, K. (2016). *Combined oral contraceptives, thrombophilia and the risk of venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 14(7), 1393–1403. doi:10.1111/jth.13349. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27121914>

VENUGOPAL, A. (2014). *Disseminated intravascular coagulation*. Indian Journal of Anaesthesia, 58(5), 603. doi:10.4103/0019-5049.144666. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4260307/>

VO, T., VAZQUEZ, S., & RONDINA, M. T. (2014). *Current State of Anticoagulants to Treat Deep Venous Thrombosis*. Current Cardiology Reports, 16(3). doi:10.1007/s11886-013-0463-2. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3954648/>

WANG, S. Y., CHEN, H., & DI, L. G. (2014). *Caution for acute submassive pulmonary embolism with syncope as initial symptom: a case report*. Journal of thoracic disease, 6(10), E212-6. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4215133/>

WANG, Z.-H., ZHAO, Z.-J., XU, K., SUN, G.-B., SONG, L., YIN, H.-X., & CHEN, X.-Q. (2015). *Hereditary protein S deficiency leads to ischemic stroke*. Molecular Medicine Reports, 12(3), 3279–3284. doi:10.3892/mmr.2015.3793. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4526054/>

WELLS, P. S., FORGIE, M. A., & RODGER, M. A. (2014). *Treatment of Venous Thromboembolism*. JAMA, 311(7), 717. doi:10.1001/jama.2014.65. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24549552>

WHITTINGHAM, M.J., STEPHENS, P.A., BRADBURY, R.B. & FRECKLETON, R.P. 2006: *Why do we still use stepwise modelling in ecology and behaviour?* Journal Of Animal Ecology 75: 1182-1189.

WOOD, J.P., ELLERY, P.E., MARONEY, S.A., & MAST, A.E. (2014). *Biology of tissue factor pathway inhibitor*. Blood, 123 (19), 2934-2943. Accessed March 22, 2019. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-512764>

YANG, G., STAERCKE, C. D., & HOOPER, W. C. (2012). *The effects of obesity on venous thromboembolism: A review*. Open Journal of Preventive Medicine, 02(04), 499–509. doi:10.4236/ojpm.2012.24069. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4520798/>

ZIA, A., CALLAGHAN, M. U., CALLAGHAN, J. H., SAWNI, A., BARTLETT, H., BACKOS, A., ... RAJPURKAR, M. (2015). *Hypercoagulability in adolescent girls on oral contraceptives-global coagulation profile and estrogen receptor polymorphisms*. American Journal of Hematology, 90(8), 725–731. doi:10.1002/ajh.24064. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26014094>