

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Přírodovědecká fakulta**

# **Bakalářská práce**

**2015**

**Zuzana Štichová**

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Přírodovědecká fakulta**

# **Hladina D-dimerů v graviditě**

Bakalářská práce

**Zuzana Štíhová**

Školitel: MUDr. Ivan Vonke, MBA

České Budějovice 2015

**Štíhová Z.**, 2015: Hladina D-dimerů v graviditě [D-dimer concentration in pregnancy. Bc. Thesis, in Czech] – p. 61, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

D-dimers belong to fibrin degradation products (FDP) which we can find in the blood when the blood clot is dissolved. This process is named fibrinolysis. The levels of D-dimer are higher in all conditions connected with increased coagulation activation like deep venous thrombosis, pulmonary embolism or disseminated intravascular coagulation. So the negative results, when the D-dimer concentration is below predetermined threshold, are one of the useful ways how to rule out thrombotic disease. The problem is that the elevated D-dimer levels are observed in other conditions like infection, trauma, acute cancer, recent surgery or pregnancy. The thesis should confirm that the concentration of D-dimer in pregnancy is elevated and the D-dimer levels were established in particular trimesters. These are compared with the D-dimer levels described in contemporary literature. The levels are determined for two different tests which were used in Hematology laboratory in České Budějovice hospital at different times. Besides the viewpoint of D-dimer and gravidity the thesis also follows up different results of the two tests and their possibility of comparison.

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

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

V Českých Budějovicích 19. 4. 2015

.....

Zuzana Štíhová

Poděkování:

Na tomto místě bych především ráda poděkovala panu primáři MUDr. Ivanu Vonkemu, MBA za cenné rady, trpělivost a ochotu, kterou projevoval po celou dobu vedení bakalářské práce. Poděkování za podporu a trpělivost samozřejmě patří i celé mé rodině.

# OBSAH

<b>1. Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Literární přehled</b> .....	<b>3</b>
2.1 Fyziologické změny v organismu ženy během těhotenství.....	3
2.2 Hemostáza .....	4
2.2.1 Primární hemostáza .....	5
2.2.2 Plazmatický koagulační systém.....	7
2.2.2.1 Koagulační faktory .....	10
2.2.3 Přirozené inhibitory koagulace .....	13
2.3 Fibrinolýza.....	14
2.4 D-dimery.....	15
2.4.1 Způsoby měření D-dimerů.....	16
<b>3. Cíle práce</b> .....	<b>18</b>
<b>4. Materiály a metodika</b> .....	<b>19</b>
4.1 Odběr krve a její zpracování.....	19
4.1.1 Příprava vzorku k vyšetření D dimerů.....	21
4.2 Stanovení hladiny D-dimerů.....	22
4.3 Zisk a zpracování dat .....	23
<b>5. Výsledky</b> .....	<b>24</b>
5.1 Porovnání výsledků dvou různých testů .....	24
5.2 Hladina D-dimerů v graviditě.....	26
5.3 Hladina D-d v souvislosti s Leidenskou mutací .....	32
<b>6. Diskuse</b> .....	<b>35</b>
<b>7. Výsledky</b> .....	<b>37</b>
<b>8. Seznam použitých zkratk</b> .....	<b>38</b>
<b>9. Seznam použité literatury</b> .....	<b>40</b>
<b>10. Přílohy</b> .....	<b>47</b>

# 1. Úvod

V současné době do ordinací praktických lékařů přichází stále více pacientů, kteří si stěžují na pocit těžkých, bolavých a oteklých nohou, či na bolest na hrudi a s ní spojené problémy s dýcháním. Všechny tyto příznaky mají často jediného původce a tím je tzv. tromboembolická nemoc (TEN). Při tomto komplexním onemocnění dochází v organismu k nadměrnému srážení krve a častému vzniku krevních sraženin – trombů. Mezi stavy s nerovnováhou v koagulačním krevním systému spadajících pod TEN řadíme především hlubokou žilní trombózu a plicní embolii, ale také velmi komplikované onemocnění jakým je diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC). Všechny tyto stavy tromboembolické nemoci mohou být způsobeny genetickými predispozicemi, ale stejně tak se mohou objevit v průběhu života například po těžkých operacích, v průběhu jiných onemocnění či při špatné životosprávě. Zejména u mladých lidí jde o souhru více faktorů.

Často mohou být stavy TEN pro pacienta smrtelné, a proto je kladen velký důraz na to, aby tato jednotlivá onemocnění byla včas rozpoznána a léčena. Jedním z poměrně rychlých a běžně dostupných způsobů jak zjistit, že v organismu nedochází k nadměrnému srážení krve, je vyšetření tzv. D-dimerů (D-d). D-dimery jsou štěpné produkty proteinu fibrinu, které vznikají při fibrinolýze, tedy v procesu kdy dochází k rozpouštění krevní sraženiny.

Při vyšetření na hlubokou žilní trombózu či plicní embolii mají D-d tzv. negativní prediktivní hodnotu (Dunn et al. 2002). Pokud je jejich naměřená hodnota nižší než zavedená hraniční (cut-off) hodnota, můžeme říci, že v organismu nedochází k nadměrnému srážení krve. V takových případech je měření D-d velmi citlivou metodou, kdy při nízkých naměřených hodnotách můžeme s vysokou (90 – 95%) pravděpodobností vyloučit jakékoli tromboembolické onemocnění. Problém se ale objevuje při pozitivním nálezu vyšších hodnot D-d, kdy je kvůli nízké specifitě tohoto testu těžké určit, co způsobilo nárůst hladiny D-d v séru pacienta. Pozitivní nález D-dimerů nalezneme nejenom u TEN, ale také po těžkých operacích, při infekcích, rakovině v aktivním stádiu či v graviditě. Je proto důležité znát stav pacienta a referenční rozmezí hladiny D-d i při stavech, které nesouvisejí s TEN.

Jedním z takových stavů je i těhotenství, kdy v organismu ženy nastávají mnohé změny, které většinou nebývají patologické, ale díky kterým bývá občas problematické v průběhu gravidity správně diagnostikovat konkrétní onemocnění. Z tohoto důvodu je tato

práce zaměřena zejména na hladinu D-d u gravidních pacientek ambulance hematologické laboratoře Nemocnice České Budějovice a.s. (dále jen laboratoř). Hlavním cílem je poukázat, že hladina D-d v graviditě u žen narůstá, ačkoliv nemusí docházet k současnému projevu TEN.

K potvrzení nárůstu koncentrace D-d v těhotenství budou v této práci zpracovávána data z dvou různých období, kdy bylo v laboratoři pokaždé používáno jiného přístroje. V souvislosti s touto skutečností je dílčím cílem práce poukázat na rozdílné výsledky měření získané z dvou různých přístrojů používaných laboratoří ke stanovení hladiny D-d, čímž bude zdůrazněno, že každá metoda a každý přístroj podává mírně odlišné výsledky. Je tedy nezbytné, aby si každá laboratoř stanovila vlastní cut-off hodnoty pro jednotlivé přístroje a aby nedocházelo ke srovnávání výsledků naměřených v rozdílných laboratořích.

## 2. Literární přehled

### 2.1 Fyziologické změny v organismu ženy během těhotenství

Těhotenství je stav, který představuje pro organismus ženy velkou zátěž. Zvyšují se metabolické nároky a dochází ke změnám v naprosté většině orgánových systémů. Organismus se tedy musí postupně všem těmto změnám přizpůsobit, aby nedošlo k jeho poškození ani k poškození plodu.

K velkým změnám dochází hlavně v reprodukčním systému. Děloha těhotné ženy je v důsledku hormonálních změn překrvena, mění svou konzistenci, barvu a s rostoucím plodovým vejcem v dutině děložní mění svůj tvar a uložení v malé pánvi a později v dutině děložní (Roztočil 2008). Největší změna je patrná u hmotnosti dělohy, která z původních 60–70 g dosahuje až na 1000 g. Samozřejmě dochází také k většímu cévnímu zásobení dělohy a průtok krve se zvětší z původních 50 ml až na 700 ml (Hájek, Čech a Maršál 2014).

Naopak ve vaječnicích nenastávají podstatné změny, neboť v těhotenství nedochází k ovulaci. Po oplození zde vznikne žluté tělísko (corpus luteum), ve kterém se tvoří pohlavní hormony estrogeny a zejména progesteron, který je nutný k udržení těhotenství do jeho 8. týdne. Poté začne přebírat funkci žlutého tělíska placenta, která je plně funkční již od 12. týdne těhotenství a zajistí veškeré potřeby rostoucího plodu (Gregora a Velemínský 2013).

Velké změny nastávají spíše v dalších orgánech těla těhotné. Vlivem růstu dělohy dochází k posunutí bránice o několik centimetrů, čímž se mění poloha srdce, které je tlačeno více laterálně. Dochází i k jeho zvětšení, které souvisí s vyššími nároky tkání na zásobení kyslíkem. Srdeční výdej se zvyšuje zhruba o 40 % a tepová frekvence stoupá o 10–15 úderů za minutu (Leifer 2004). Všechna zvětšení orgánů jsou způsobena hlavně vyšším průtokem krve skrze jednotlivé orgány. Tento zvýšený průtok krve je umožněn díky většímu objemu krevní plazmy. Během těhotenství ale nedochází ke stejnému nárůstu erytrocytární hmotnosti jako objemu plazmy. Objem erytrocytů stoupne jen o několik málo procent, a tak často můžeme v důsledku tohoto stavu v těhotenství pozorovat tzv. „fyziologickou anémii“, která vzniká naředěním krve zmnoženou plazmou. Takto naředěná krev snáze proniká placentou a její zvětšený objem dokáže pokrýt krevní ztráty během porodu a také umožňuje lépe udržet hodnoty krevního tlaku v normálním rozmezí (Bezdičková 2007). Vyšší průtok krve



se uplatňuje například i v pokožce, kde pomáhá odstranit přebytečné teplo způsobené změnou metabolismu ženy a také teplo produkované plodem samotným.

Další změny probíhají i v gastrointestinálním traktu. Zpomaluje se střevní peristaltika, což způsobuje střevní obtíže v podobě zácpy. Děje se takto díky zvýšené hladině progesteronu, který je zpočátku produkován žlutým tělískem (corpus luteum) a posléze placentou. Progesteron snižuje produkci motilinu, což je hormon tvořený endokrinními buňkami tenkého střeva a je zodpovědný za peristaltiku žaludku a střev (Christofides et al. 1982). Díky jeho snížené produkci se zpomaluje vyprazdňování žaludku a prodlužuje se doba potřebná k průchodu potravy trávicí trubici.

Pro tuto práci jsou ale nejdůležitější změny v hemokoagulačním systému, které jsou během těhotenství výrazné. Samotné těhotenství můžeme označit jako hyperkoagulační stav, tedy stav se zvýšenou srážlivostí krve, jehož cílem je zamezit nadměrným krevním ztrátám během porodu, které by mohly poškodit organismus ženy (Bezdičková 2007). V průběhu těhotenství dochází ke složitým změnám v koncentracích všech látek účastnících se hemostázy. Zvyšuje se koncentrace koagulačních faktorů V, VII, VIII, IX, X a von Willebrandova faktoru (vWF), která je doprovázena zvýšením hladiny fibrinogenu až na dvojnásobek normální hodnoty (Campello, Simioni 2013). Dochází naopak k poklesu antitrombinu, proteinu C a S a také k poklesu fibrinolytické aktivity v důsledku zvýšené tvorby inhibitoru aktivátoru plazminogenu-1 (PAI-1), který je tvořený hlavně endoteliálními buňkami a inhibitoru aktivátoru plazminogenu-2 (PAI-2), jenž se tvoří v placentě. Tyto změny ustupují zhruba do 4 – 6. týdne po porodu, ale ustálení hladiny proteinu S, či počtu krevních destiček může trvat déle (Hellgren 2003).

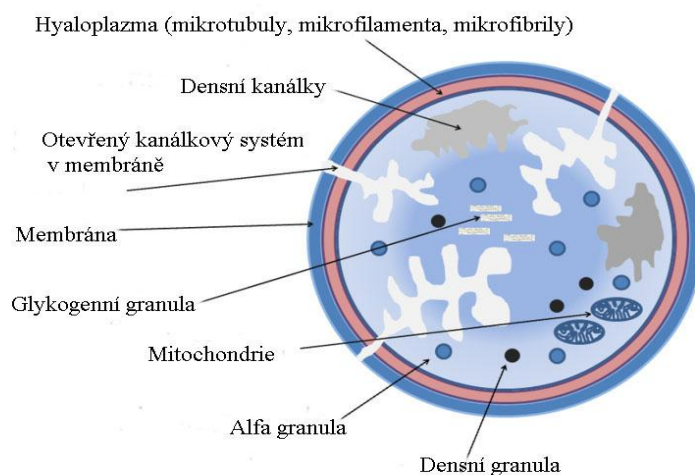
## **2.2 Hemostáza**

Proces, při kterém dochází k zástavě krvácení, nazýváme hemostázou. Jde o velmi komplikovaný a přesně regulovaný děj, který dokáže zastavit krvácení pouze v místě poranění cévy a naopak v neporušeném cévním řečišti zabraňuje srážení krve (Penka a Tesařová 2011). K hlavním složkám hemostatického systému patří cévní stěna, trombocyty a plazmatický koagulační systém společně s jednotlivými koagulačními faktory a jejich inhibitory (Munker, Paquette, Hiller 2000).

## 2.2.1 Primární hemostáza

Mezi nejdůležitější mechanismy účastnící se srážení krve patří krevní destičky a cévní stěna. Krevní destičky neboli trombocyty nejsou buňky v pravém slova smyslu, protože nemají jádro a nejsou schopny replikace. Vznikají jako odštěpky cytoplazmy megakaryocytů v kostní dřeni, či později v krevním řečišti (Kittnar 2011). Jejich hlavní funkcí je účastnit se procesu hemostázy, při kterém se uplatňují všechny části trombocytu.

Pro lepší představu funkce je možné krevní destičku rozdělit do tří až čtyř strukturálních, morfologických oblastí (Obr. 1). První je periferní oblast, která zahrnuje plazmatický obal, glykokalyx, membránové a submembránové struktury (Harris 1991). Druhou částí je oblast solubilního gelu tzv. hyaloplazma, kde nacházíme tři systémy vláken. Tento systém je vytvořen z vláken mikrotubulů, mikrofilament a mikro fibril, které společně umožňují změnu tvaru trombocytu, která se děje při přechodu z klidového do aktivního stádia. Třetí je oblast organel, kam patří mitochondrie, Golgiho aparát, lysozomy a další druhy granul, důležité zejména pro funkci trombocytů. Patří k nim zejména  $\alpha$  a  $\delta$  granula. V početnějších  $\alpha$  granulech nacházíme koagulační faktor V, vWF, fibrinogen, destičkový faktor 4, růstový faktor destiček (PDG - platelet derived growth factor) a  $\beta$ -tromboglobulin.  $\delta$  granula, někdy také označována jako denzní, obsahují ADP, ATP, serotonin a ionty vápníku. Najdeme zde ale i granula sloužící jako zásobárna energie, takové označujeme jako glykogenní. Čtvrtou částí by byla membránová oblast, která je ale často zahrnuta v periferní oblasti.



**Obr. 1:** *Ultrastruktura trombocytu*  
(Upraveno dle: [http://sestra.org/Soubor:Platelet\\_structure.png](http://sestra.org/Soubor:Platelet_structure.png)).

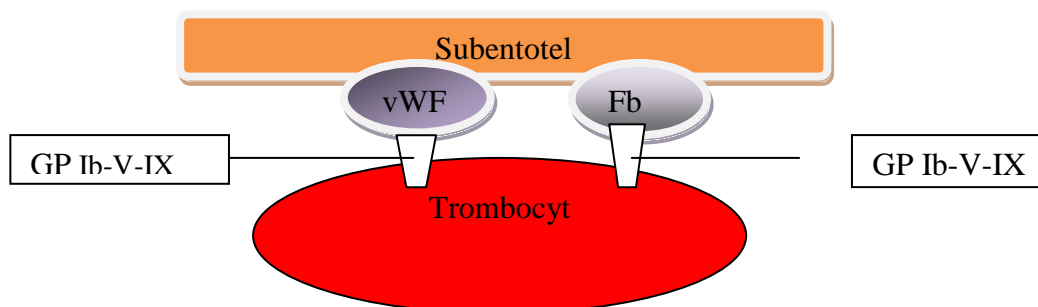
Dalším mechanismem uplatňujícím se při hemostáze je cévní stěna, která má v tomto procesu dva hlavní úkoly. Zaprvé je schopna smrštění se v místě poranění, které označujeme pojmem vazokonstrikce a zadruhé je to místo, kde je uloženo a syntetizováno mnoho látek, které se na hemostáze podílejí. Místem syntézy je nejčastěji cévní výstelka (endotel).

Endotel je tvořen vrstvou plochých buněk, které jsou uloženy na bazální membráně. Za normálních okolností vytváří negativní náboj, který zabraňuje přilnutí krevních destiček k jeho povrchu. Pokud dojde k poškození cévy, obnaží se subendotel (zbylá část cévní stěny pod endotelem), dojde ke změně náboje a trombocyty se začnou přichytávat (adherovat) na odhalená kolagenová vlákna subendotelu. K adhezi dochází díky glykoproteinovým receptorům (GPIb-V-XI), které mají trombocyty po aktivaci vystaveny na svém povrchu. GPIb-IX-V je komplex glykoproteinů z glykoproteinové rodiny velmi bohaté na leucin. Skládá se ze čtyř glykoproteinových jednotek: GPIb $\alpha$ , GPIb $\beta$ , GPIX a GPV (Yip et al. 2005). Tyto receptory se přichytí na vWF nebo fibronectin a destičky se aktivují. Nedochozí tedy k navázání trombocytů přímo na kolagenová vlákna, ale k navázání dojde přes jakési můstky (Obr. 2).

Von Willenbrandův faktor, důležitý účastník hemostázy, je glykoprotein syntetizovaný v endotelových buňkách a megakaryocytech. Vzniklé multimery (až 20MDa) jsou uloženy v endotelu,  $\alpha$ -granulích trombocytů a plazmě. Z trombocytů je vWF uvolňován až po jejich aktivaci, zatímco z endotelu je část uvolňována nepřetržitě a část je uložena v granulech, které označujeme jako Weibelova-Paladeova tělíska (Smejkal, Matýšková, Penka 2008). Tato tělíska zaujímají specifický podlouhlý tvar, díky uložení velkých multimerů vWF. Obsahují navíc také na vápníku závislý adhezín, tedy molekulu zprostředkovávající buněčné kontakty, označovanou jako P-selektin. P-selektin umožňuje při zánětlivé reakci leukocytům přilnout k endotelu (Toman 2009). Samotný vWF tedy plní v organismu dvě důležité funkce. Zaprvé se účastní již výše popsané hemostázy a zadruhé váže a stabilizuje koagulační faktor VIII, který by jinak v krevním řečišti nemohl přežít (King 2013).

Poté, co se trombocyty navázaly pomocí vWF k cévní stěně, dojde k jejich aktivaci. Takto aktivované destičky začnou uvolňovat ADP a poté přes metabolismus kyseliny arachidonové syntetizovat tromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). Obě tyto látky působí na agregaci krevních destiček, které poté změni svůj tvar a strukturu některých receptorů (Penka 2001). Dochází hlavně ke změně GP IIb/IIIa, který umožňuje spojení trombocytů pomocí fibrinogenu, vWF a fibronectinu. Fibrinogen propojuje GP IIb/IIIa na sousedících

trombocytech a spojuje je za přítomnosti vápenatých iontů (Rodak, Fritsma and Keohane 2012). Dojde k propojení jednotlivých destiček - agregaci a vzniku tzv. primární hemostatické zátky. Tento proces označuje jako primární hemostázu.



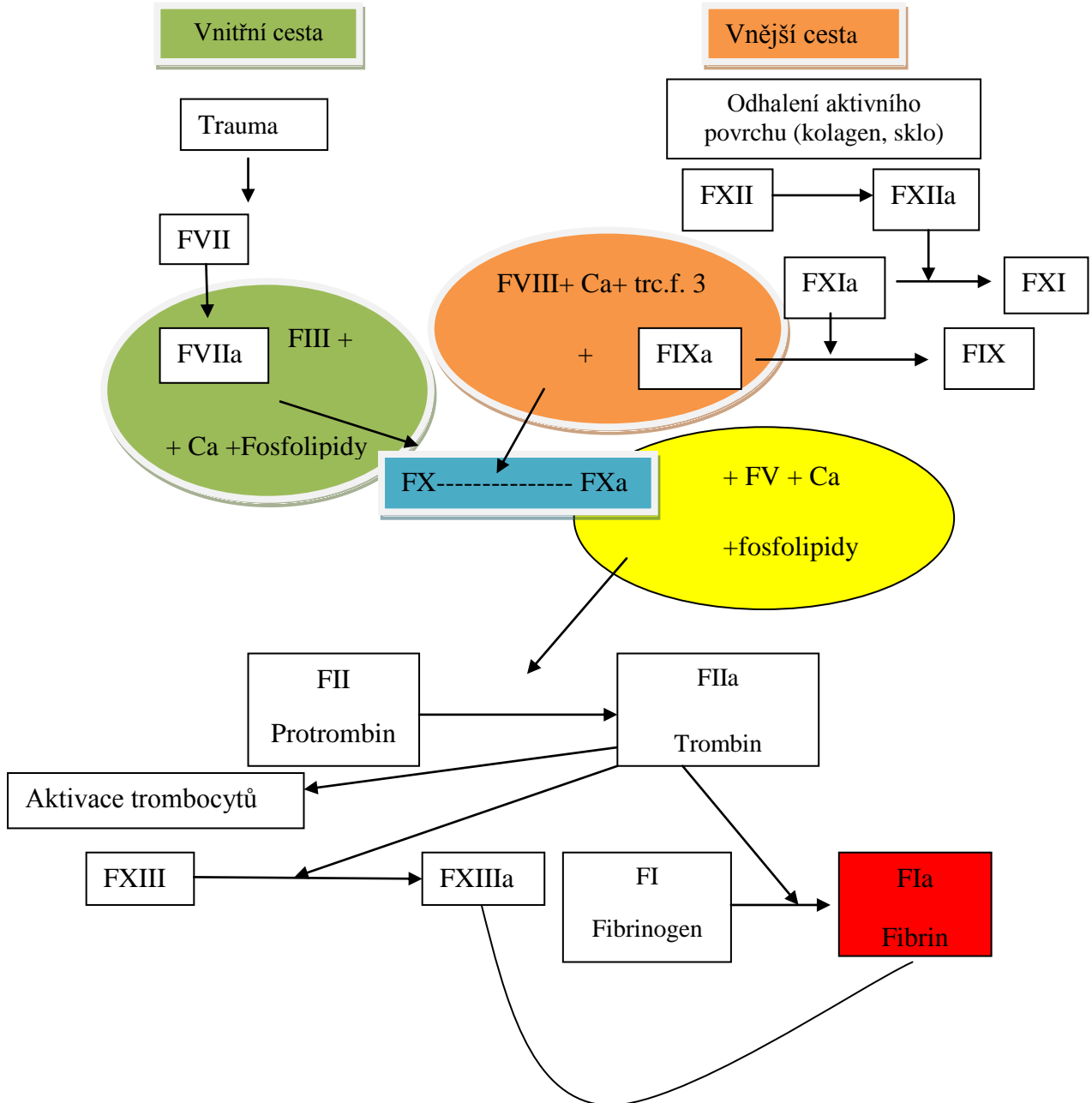
**Obr. 2:** Adheze trombocytu ke kolagenním vláknům subendotelu přes vWF a fibronectin navázaný na glykoproteinové receptory (Upraveno dle Pecka, 2004).

### 2.2.2 Plazmatický koagulační systém

Následující proces, při kterém dochází ke stabilizaci vzniklého trombu fibrinovou sítí, nazýváme sekundární hemostázou. Ta je představována hlavně plazmatickým koagulačním systémem, což je skupina dějů vedoucí ke vzniku nerozpustného fibrinu (Pecka 2004). Tento proces je uskutečňován za pomoci koagulačních faktorů. To jsou glykoproteiny, které jsou přítomny v plazmě v neaktivní formě (až na FVIIa), kterou označujeme jako zymogen. Aktivovány jsou postupně v průběhu koagulační kaskády a jejich aktivovanou formu označujeme malým písmenem *a*. Koagulační kaskáda je postupný proces, který slouží k zesílení enzymatické reakce. V každém jejím kroku se z proenzymu proteolýzou stane aktivní enzym, který aktivuje další faktor, což vede k aktivaci trombinu a vytvoření nerozpustného fibrinu (Kumar, Abbas and Aster 2013).

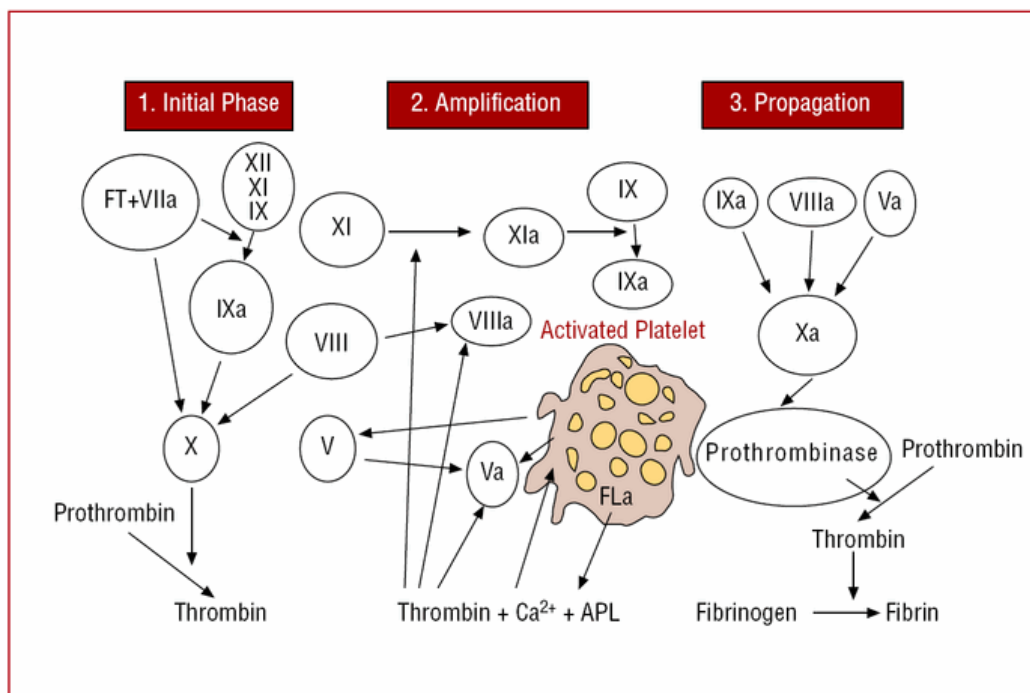
Starý model rozděluje koagulační kaskádu podle způsobu aktivace na vnitřní a vnější cestu systému (Obr. 3), který se spojuje v místě aktivace FX na Xa (Penka, Tesařová 2011). **Vnitřní cesta** je aktivována kontaktem s cizím (abnormálním) povrchem. Proto se také často setkáváme názvem kontaktem aktivovaná cesta koagulace. Prvním aktivovaným je FXII, který působí na FXI a jeho aktivovaná forma rozštěpí FIX. FIXa společně s FVIII,  $Ca^{2+}$  a destičkovým faktorem 3 tvoří tzv. *tenázový komplex*. Tenázový komplex slouží jako přímý aktivátor FX, který rozštěpí protrombin na trombin a ten zajistí

vznik fibrinu. **Vnější cesta** koagulace je aktivována při poranění cévy, kdy dojde k obnažení tkáňového faktoru (TF). Uvolněný TF váže FVII a za pomoci kininů je rozštěpen a aktivován na FVIIa, který společně s FIII, Ca<sup>2+</sup> a tkáňovými fosfolipidy vytváří tenázový komplex vnější cesty aktivace.



**Obr. 3:** Schéma vnitřní a vnější cesty aktivace koagulační kaskády (Zdroj: vlastní schéma).

Podle novějšího modelu koagulační kaskádu rozdělujeme do tří fází (Obr. 4). Fáze iniciace, amplifikace a propagace.



**Obr. 4:** Nový model koagulační kaskády: 1- iniciační fáze, 2 – fáze amplifikace, 3 - fáze propagace (zdroj: <http://www.revespcardiol.org/en/the-new-coagulation-cascade-and/articulo/13114167>).

Prvním krokem je fáze **iniciace**, kde hlavní roli hraje FIII, tedy již zmiňovaný TF. Někdy bývá také označován jako tromboplastin. TF patří do skupiny transmembránových proteinů a najdeme ho například v subendotelové tkáni, ze které je uvolněn při poranění, či zánětu. Takto uvolněný TF se okamžitě váže na FVIIa. Vzniklý komplex TF-VIIa aktivuje molekuly FVII na VIIa a také aktivuje několik molekul FIX a FX. Malé množství molekul Xa, které vznikly aktivitou komplexu TF-VIIa mohou dále aktivovat FV, jehož aktivní forma Va se spojí s Xa a vznikne protrombinázový komplex, který dokáže štípat protrombin (FII) na trombin (Smith 2009). Tato počáteční fáze může být rychle potlačena díky existenci inhibitoru tkáňového faktoru (TFPI) a antitrombinu (AT). Pokud se Xa uvolní do plazmy bez navázání Va, okamžitě je napaden těmito inhibitory a neutralizován (Vojáček 2004).

Druhou fází nového modelu koagulační kaskády je **amplifikace**. Zde má hlavní úlohu trombin vzniklý během iniciace, který aktivuje trombocyty, FV, FVIII a FXI. Po navázání trombinu na povrch trombocytů dojde k změně jejich tvaru a na povrch

se dostávají negativně nabitě fosfolipidy. Vytváří se prokoagulační membrána a uvolňuje se obsah granul trombocytů (Smith 2009). Do prokoagulačního stavu přechází i endotel, který tak již neprodukuje látky jako prostacyklin, či oxid dusný (NO), které jinak zabraňovali adhezi trombocytů. Díky aktivaci FXI pomocí trombinu také dokážeme vysvětlit, proč již není potřebný FXII (Ferreira et al. 2010). Hagemanův faktor neboli FXII byl v klasické vnitřní cestě koagulace aktivován kontaktem s poškozeným povrchem a teprve takto aktivovaný FXII mohl aktivovat FXI.

Poslední fází je **propagace**, během které se tenázový (FIXa/FVIIIa/FX) a protrombinázový (FXa/FVa/FII) komplex shromáždí na povrchu trombocytu a trombin se začne vytvářet ve velkém množství (Hoffman and Monroe 2001). Takto vzniklý trombin konečně dokáže přeměnit fibrinogen na nerozpustný fibrin a stabilizovat tak dříve vzniklou primární zátku. Dále také trombin za pomoci vápenatých iontů aktivuje FXIII (Lakiho-Lorandův faktor) a jeho aktivovaná forma stabilizuje fibrin. Proto je tento faktor také nazýván jako faktor stabilizující fibrin (FSF).

### 2.2.2.1 Koagulační faktory

Koagulační faktor I neboli **fibrinogen** je protein syntetizovaný v játrech bez účasti vitamínu K. Je to dimerická molekula stočená do dvojité  $\alpha$ -helixové spirály a každá jednotka dimeru je tvořena třemi řetězcí  $A\alpha$ ,  $B\beta$ ,  $\gamma$ . Všech těchto šest řetězců je poté spojeno 29 disulfidickými můstky do jediné molekuly o velikosti 340 kDa složené ze tří domén (Yee et al. 1997). V centrální doméně E se nachází všech šest N-terminálních řetězců fibrinogenu, které se účastní přeměny fibrinogenu na fibrin. Zbylé dvě koncové domény označujeme jako D (distální) a v nich jsou soustředěny C-terminální domény řetězců, podílející se na polymeraci fibrinu a stabilizaci FXIIIa (Kotlůn a Dyr 2008). Fibrinogen v organismu plní dvě základní funkce. Hlavní je účast na procesu srážení krve a za druhé funguje jako bílkovina akutní fáze.

Druhým koagulačním faktorem je **protrombin**, jehož neaktivní formou je trombin. Patří společně s FVII, FIX a FX k tzv. K-dependentním faktorům. Ke své funkci potřebují vitamín K, který umožňuje karboxylaci  $\gamma$ -glutamátového zbytku, bez kterého by faktor nebyl schopný navázat  $Ca^{2+}$ . Navázaný vápník umožňuje protrombinu projít do fosfolipidové vrstvy trombocytů a dostat se tak do blízkosti glykoproteinů (FVa, FXa), které ho přemění na trombin. K přeměně dochází uštípnutím lehkého řetězce, kdy zbylý těžký řetězec již představuje aktivní enzym trombin.

Koagulačním faktorem III je **TF** (tromboplastin) podrobněji popsán výše v iniciační fázi koagulační kaskády.

Koagulační faktor IV představují **vápenaté ionty** a je to tedy jediný faktor nebílkovinné povahy.

Koagulačním faktorem V je **proakcelerin**, což je jednořetězcový polypeptid o velikosti až 330 kDa (Ayombil et al. 2013). Bývá také označován jako labilní faktor díky tomu, že jeho poločas je pouhých 15 hod. V molekule má pevně navázán vápník, který je zodpovědný za jeho biologickou aktivitu. Aktivován je trombinem a uplatňuje se tedy jako kofaktor v protrombinázovém komplexu (Huang and Koerper 2008).

Faktor VI v současné době neexistuje. Dřív byl takto pouze špatně označován FVa a nazýván jako akcelerin.

Koagulační faktor VII označujeme jako **prokonvertin** a jako jediný z faktorů se v plazmě vyskytuje v aktivní formě. Patří do skupiny K-dependentních faktorů a i vlastnostmi je velmi podobný FII. K aktivaci dochází pomocí FIX, kdy vznikne FVIIa, který je složen z těžkého a lehkého řetězce propojeného disulfidickými můstky (Kisiel, Fujikawa and Dawie 1977).

Koagulační faktor VIII označujeme jako antihemolitický globulin nebo také jako známější **antihemolitický faktor A**. Tento název nese díky tomu, že pokud dojde k mutaci jeho genu vázaného na X chromozom, či ke snížení jeho aktivity, propukne onemocnění známé jako hemofilie A. V plazmě ho nalezneme nekovalentně navázaný na vWF. FVIII má vyšší afinitu k vWF, čili jejich spojení zabraňuje navázání FVIII na FIXa, kdy by ještě za účasti vápníku a tzv. destičkového faktoru 3 vznikl tenázový komplex a aktivovala by se přeměna FX na FXa. Proto je tedy FVIII navázaný na vWF a k vyvázání dojde až v okamžiku změny fosfolipidového povrchu jako odpovědi na poranění.

Koagulační faktor IX nebo také Christmasův faktor, podle jména prvního pacienta, patří mezi K-dependentní koagulační faktory. Zaujímá klíčové postavení ve vnitřní cestě koagulace a je aktivován za přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  komplexem TF/FVIIa či samotným FIXa. Ten dokáže za přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$ , trombocytů a FVIIa aktivovat FX, čímž zvyšuje produkci trombinu. Alespoň malé množství FIXa v blízkosti trombocytů je nezbytné pro zahájení koagulace (Lowe 2001). Tento faktor má také svůj gen vázaný na X chromozom a stejně jako předchozí FVIII způsobuje onemocnění označované jako Hemofilie B, které je ale



v populaci méně časté, než Hemofilia A. Proto se také setkáváme s názvem **antihemolitický faktor B**.

Koagulační faktor X známe také pod eponymem **Stuart-Prowerové faktor**. Patří také ke K-dependentním faktorům syntetizovaných v játrech. Jeho aktivace je společným uzlem zevní a vnitřní cesty aktivace koagulace. Ve vnitřní cestě je aktivován FIXa, za přítomnosti FVIIIa,  $Ca^{2+}$  a fosfolipidů naopak ve vnější se na jeho aktivaci podílí FVIIa za přítomnosti TF (Leytus et al. 1986). FXa je sám o sobě málo účinný v přeměně protrombinu v trombin, a proto se na membránovém povrchu trombocytů spojuje s FVa a  $Ca^{2+}$  v tzv. protrombinázový komplex, který dokáže štěpit mnohem větší množství protrombinu na trombin, než samotný FXa.

Koagulační faktor XI bývá někdy nazýván jako antihemolitický faktor C, či jako **PTA (plasma tromboplastin antecedent)**. Patří mezi glykoproteiny syntetizované v játrech bez přítomnosti vitamínu K a v krevní cirkulaci se objevuje jako molekula složená ze dvou identických řetězců navázaná na vysokomolekulární kininogen (HMWK). V plazmě se ve spojení s HMWK objevuje i prekalikrein (PK), který má stejnou doménovou strukturu jako FXI. FXI je aktivován trombinem, autokatalyticky či FXIIa, ale bylo zjištěno, že i při deficitu FXIIa v organismu stále dochází k aktivaci FXI (Emsley, McEwan, Gailani 2010). Sám FXI se uplatňuje v počáteční fázi vnitřní aktivace koagulace, kdy aktivuje FIX. FIXa je součástí tenázového komplexu a umožňuje aktivaci FX.

Koagulační faktor XII byl pojmenován podle prvního pacienta jako **Hagemanův faktor**. Patří ke kontaktem aktivované faktory stejně jako FXI, protože k jeho aktivaci dochází při adsorpci na kontaktní povrchy, mezi které patří hlavně negativně nabitý kolagen obnažený při zranění, ale také laboratorní sklo, či kaolin. Takto aktivovaný FXII pozitivní zpětnou vazbu aktivuje prekalikrein na kalikrein, který poté také aktivuje FXII. FXIIa dále ve vnitřní cestě koagulace společně s kininy aktivuje FXI.

Posledním koagulačním faktorem je FXIII nebo také **FSF (fibrin-stabilizující faktor)**. Objevuje se ve dvou formách a to plazmatické a buněčné. Jeho plazmatická forma patří mezi tetrametry, kdy dva řetězce A mají katalytickou aktivitu, zatímco druhé dva řetězce B se svou sacharidovou složkou slouží jako nosičová bílkovina. Zatímco buněčná forma je dimerem a vyskytuje se v cytoplazmě buněk, jako jsou například trombocyty, či monocyty. FXIII je aktivován v závěrečné fázi koagulační kaskády společným působením

trombinu a  $\text{Ca}^{2+}$  (Komáromi, Bagoły a Muszbek 2011). Takto aktivovaný faktor umožňuje vytvářet příčné můstky ve fibrinové síti a stabilizovat tak fibrinovou zátku.

### 2.2.3 Přirozené inhibitory koagulace

Proces srážení krve musí podléhat neustálé kontrole, aby nedošlo k poškození organismu. Nemůže dojít k případům, kdy by se krev nesrážela nebo se naopak srážela neustále. O to aby nedocházelo k nadměrnému srážení a vzniku trombů se starají proteiny s protisrážlivým účinkem označované jako přirozené inhibitory koagulace. Nejčastěji je rozdělujeme podle místa, kde se nacházejí na plazmatické a působící na povrchu endotelu. Mezi ty plazmatické řadíme antitrombin a protein C a S, zatímco mezi ty působící na povrchu patří TFPI (tissue factor pathway inhibitor) a trombomodulin (Marek 2010).

**Antitrombin (AT)**, dříve také označován jako antitrombin III, patří do skupiny serinů (serine protease inhibitor). Tento název je odvozen díky tomu, že AT inhibuje koagulační faktory, kdy většina z nich patří právě do skupiny serinových proteáz. AT inhibuje v první řadě trombin a FXa, ale dochází také k inaktivaci FVIIa, FIXa, FXIa a FXIIa. K zesílení účinku inhibice dochází při vazbě AT na heparin, což je glykosaminoglykan produkovaný žírnými buňkami (mastocyty). Heparin je strukturou podobný heparansulfátu, pomocí kterého se AT váže na povrchové membrány. Naváže se tedy do speciálního vazebného místa na AT, čímž dojde ke změně konformace molekuly AT a ta má poté větší afinitu k trombinu (Baker and Murray 2001). Pokud se tedy AT naváže na svůj kofaktor, kterým je heparin, je účinek inhibice silnější.

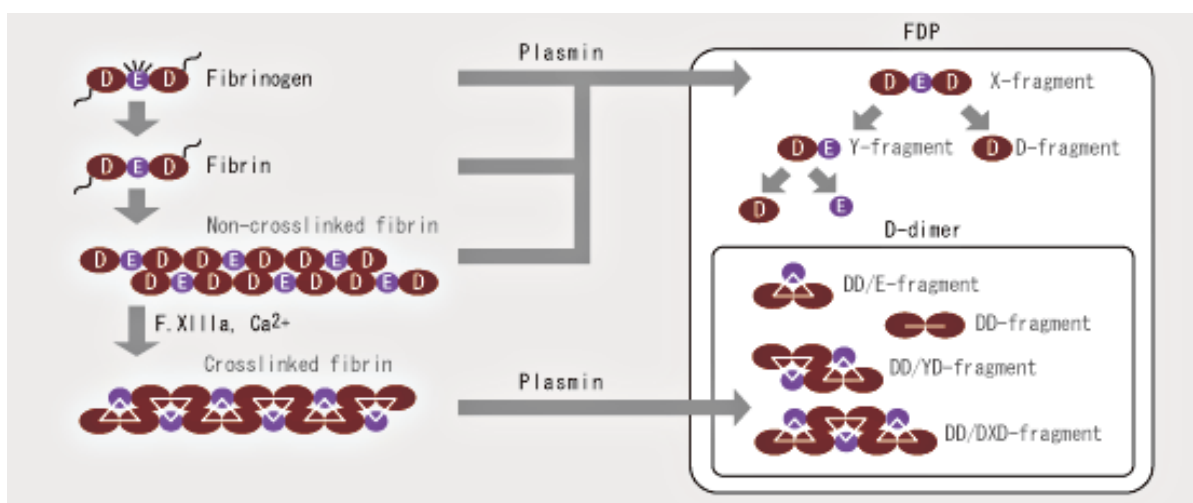
**Protein C (PC)** patří do skupiny K-dependentních plazmatických glykoproteinů, který po své aktivaci dokáže inhibovat FVa a FVIIIa (Mannucci and Vigano 1982). K aktivaci PC dochází na povrchu endotelií díky společnému působení  $\text{Ca}^{2+}$  a trombinu vázaného na trombomodulin (Penka a Tesařová 2011). Jak je zmíněno výše, samotný **trombomodulin** působí také jako inhibitor. Je to proteoglykan, který vazbou na trombin blokuje jeho účinek. Takže pokud se takto neaktivní komplex (trombin – trombomodulin) naváže na PC, dochází k jeho aktivaci, přičemž na aktivovaný PC (APC) se dále naváže protein S a vzniklý komplex inaktivuje FVa a FVIIIa.

**Protein S (PS)** najdeme v plazmě ve dvou formách jedna je volná a druhá vázaná na C4bBP (C4b-binding protein) složku komplementu. Za normálních okolností je 60 - 70% PS

v plazmě vázáno na C4bBP. Tudíž koncentrace volného PS, který je schopen vázat se s PC, souvisí s vazebnou kapacitou C4Bbp pro PS (Marek 2010).

## 2.3 Fibrinolýza

Fibrinolytický systém je někdy také nazýván jako plasminogen – plasminový, díky dvou hlavním komponentám, které se účastní této enzymatické reakce. V průběhu fibrinolýzy dochází k přeměně neaktivního proenzymu plasminogenu na aktivní plasmin, který dokáže degradovat fibrin na fibrin degradační produkty (FDP), které jsou již oproti samotnému fibrinu rozpustné v krevní plazmě (Handin, Lux and Stossel 2003). Nestabilní fibrin je degradován na fragmenty X, Y, E a D, přičemž stabilní fibrin na fragmenty E a specifické štěpné produkty tzv. D-dimery (Obr. 5). FDP tlumí v organismu další produkci fibrinu a regulují tak proces srážení krve (Šeblová, Knor 2013). Díky tomuto regulačnímu mechanismu tedy dochází k rozpuštění dříve vzniklé krevní sraženiny. Pokud by nedošlo k jejímu rozpuštění (nerovnováha mezi koagulačním a fibrinolytickým systémem), mohlo by dojít k závažným komplikacím jako je vznik krevní sraženiny (trombu), kdy po jeho uvolnění může dojít až k životu ohrožující embolii.



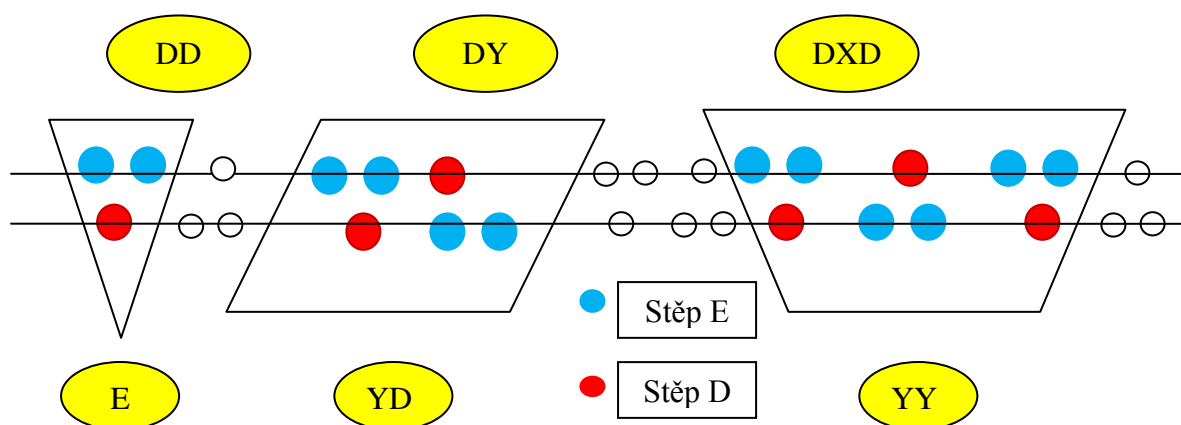
**Obr. 5:** Degradace fibrinu účinkem plasminu a vznik fibrin degradačních produktů (Zdroj: [http://www.sekisuiomedical.jp/english/business/diagnostics/blood/d\\_dimer/explanation.html](http://www.sekisuiomedical.jp/english/business/diagnostics/blood/d_dimer/explanation.html)).

K aktivaci fibrinolýzy dochází tedy díky štěpení plasminogenu, které je zahájeno působením tzv. aktivátorů plazminogenu. Mezi ně patří tkáňový aktivátor plasminogenu (tPA – tissue plasminogen activator) a urokináza (uPA – urokinase-type plasminogen activator), což je tzv. zevní cesta aktivace. Vnitřní cesta aktivace plasminogenu probíhá přes FXII, prekalikrein a vysokomolekulární kininogen (Penka, Tesařová 2011).

Samozřejmě existují i inhibitory fibrinolytického systému, mezi které patří zejména  $\alpha_2$  antiplasmin a inhibitory aktivátoru plasminogenu (PAI – plasmin activator inhibitors). Jak již z jejich názvu napovídá, PAI inhibují účinky aktivátorů plazminogenu (uPA a tPA), zatímco  $\alpha_2$  antiplasmin působí na samotný plazmin.

## 2.4 D-dimery

D-dimery jsou příčně zesíťované produkty vzniklé degradací fibrinu. Patří mezi FDP společně s ostatními štěpy E, X, Y, které vznikají při fibrinolýze (Lindovská Schachlerová 2013). D-dimer patří mezi nejmenší štěpný produkt fibrinu a jeho molekulová hmotnost je přibližně 180 kDa. Samotné D-d jsou složeny ze dvou D fragmentů, odtud tento název, a jednoho fragmentu E, které jsou vzájemně spojeny silnými nekovalentními vazbami (Davidson, Maki and Toth 2007). Molekulová hmotnost komplexu DD/ E je zhruba 228kDa. Jednotlivé D-d jsou tedy jakousi směsí různých fragmentů (Obr. 6) o různé molekulové hmotnosti (Francis, Marder and Barlow 1980).



**Obr. 6:** Schéma jednotlivých fragmentů fibrinu (Zdroj: vlastní schéma).

D-d slouží jako ukazatel nadměrného srážení krve v organismu, které se nejčastěji objevuje při hluboké žilní trombóze (DVT – deep vein thrombosis) a plicní embolii (PE), či při diseminované intravaskulární koagulaci (DIC). DVT a PE se často objevují v organismu v přímé návaznosti a bývají označovány společným názvem jako tromboembolická nemoc (TEN), či žilní tromboembolie (VTE – venous thromboembolism). Stanovení hodnoty D-d se využívá k vyloučení těchto onemocnění, tedy D-d mají tzv. negativní prediktivní hodnotu. Pokud je námi naměřená hodnota nižší (negativní výsledek), než známá prediktivní (cut-off) hodnota, můžeme s vysokou pravděpodobností říci, že v organismu nedochází

k nadměrnému krevnímu srážení a pacient tedy netrpí žádným z uvedených tromboembolických onemocnění.

Zatímco pozitivní výsledek znamená, že v organismu dohází k nadměrnému srážení krve a současnému odbourávání sraženin, ale nedokážeme určit, proč se takt děje. V průběhu měření se u některých pacientů mohou objevit tzv. falešně pozitivní hodnoty D-d. Jedná se o situaci, kdy je hladina D-d zvýšena i při stavech, kdy nedochází k vzestupu koagulace. Takto zvýšené hodnoty koncentrace D-d se objevují ve stáří, po nedávných operacích, při dlouhodobější nepohyblivosti, při rakovině v aktivním stádiu, či v těhotenství (Kabrhel, Christopher et al. 2015). Vyšetření D-d tedy je vysoce citlivým testem ale s nízkou specifitou (Fedullo, Tapson 2003).

Výsledky testu jsou v závislosti na použité reagentii udávány buď v jednotkách DDU (D-dimer unit) nebo FEU (Fibrinogen equivalent unit). Přičemž mezi nimi platí vztah, že počet jednotek FEU je přibližně dvakrát větší než DDU, tedy například 0,5 ng/ml DDU je 1 ng/ml FEU. Přibližné hraniční hodnoty jsou dodávány společně s konkrétní reagentií, ale každá laboratoř by měla provést kontrolní měření a stanovit vlastní cut-off hodnotu pro daný přístroj.

### 2.4.1 Způsoby měření D-dimerů

Samotné měření D-d je prováděno pomocí imunochemických metod. V současné době je k jejich stanovení možné použít několik různých technik, mezi které patří hlavně ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), ELFA (enzyme-linked fluorescent immunoassay) a různé obměny latex-aglutinačních testů měřené fotometricky či nefelometricky. Dostupné jsou i membránové latex-aglutinační testy, které je možné provádět přímo u lůžka pacienta, ale jejich diagnostická citlivost bývá velmi nízká (Dempfle 2005).

**ELISA** je kvantitativní metoda s vysokou sensitivitou, ale poměrně nízkou specifitou stejně jako ELFA a latex-aglutinační kvantitativní testy. Klasická ELISA prováděna na mikrotitračním panelu je velmi přesná a umožňuje měřit velmi nízké koncentrace D-d. Její nevýhodou je ale pracovní i časová náročnost přípravy vzorku, která zabere 2 – 4 hodiny. Existuje i tzv. membránová ELISA, jejíž citlivost ke stanovení DV je sice o několik procent nižší, zato ale její příprava je rychlejší a výsledek je znám do 20 min (Heim et al. 2004).

Na velmi podobném principu jako ELISA pracuje i **ELFA**, při které jsou enzymově značené protilátky navázané na D-d detekovány pomocí fluorescenčního mikroskopu. Společně jsou tyto dvě metody považovány za základní a prověřené metody měření hladiny D-d s vysokou citlivostí hlavně k diagnostice PE (Coskun et al. 2010).

Při **latex aglutinačních** metodách jsou latexové mikročástice s navázanými monoklonálními protilátkami proti D-d přidány k plazmě, a pokud jsou zde přítomny D-dimery ve vyšší koncentraci, dojde ke vzniku zákalu. Zákal byl u prvních latex aglutinačních metod pozorován pouhým okem a byl tedy kvalitativní metodou, která nedokázala určit nízké koncentrace D-d. Dnes se již setkáváme spíše s imunoturbidimetrickými testy, kde je zákal změřen na základě úbytku intenzity prošlého světla ve vzorku - turbidimetrie, či dle intenzity světla odraženého od vznikajících komplexů ve vzorku – nefelometrie (Bartůňková 2011).

### 3. Cíle práce

- Potvrdit nárůst koncentrace D-dimerů v průběhu gravidity a stanovit průměrné hodnoty D-d pro jednotlivé trimestry těhotenství.
- Prokázat, že každý test měřící hladinu D-dimerů podává odlišné výsledky a díky tomu není možné porovnávat koncentrace D-d měřené na různých přístrojích.

## 4. Materiály a metodika

### 4.1 Odběr krve a její zpracování

Při odběru biologického materiálu musí být dodržena základní pravidla, aby nedošlo k ovlivnění výsledku měření. Výsledek může být zkreslen preanalytickými vlivy mezi které patří samotný stav pacienta, stejně jako analytickými chybami při zpracování vzorku, či postanalytickými chybami, jako je například špatná interpretace výsledků.

Ke zkreslení výsledku nejčastěji dochází v preanalytické části odběru vzorku, proto je nezbytná dobrá informovanost pacientů účastnících se odběru. Doporučuje se, aby pacient přicházel na odběr v ranních hodinách a nalačno. Ne po dlouhém hladovění, či dehydrataci, což se často objevuje u pacientů, pro které je odběr krve stresující. Stejně tak se nedoporučuje konzumovat den před odběrem tučná jídla. Obsažené tuky by způsobily přítomnost chylomikér (tukových částic) v séru, či plazmě a došlo by ke zkreslení výsledku měření.

Vliv mají samozřejmě i jednotlivé úkony v průběhu odběru jako například poloha pacienta při odběru, dezinfekční prostředky, či samotný způsob odběru. Například při nasávání krve do jehly je nutné zabránit přílišnému podtlaku, který by mohl způsobit hemolýzu, tzv. mechanická hemolýza, čímž by byl výsledek měření výrazně zkreslen (Racek et al. 2006). K hemolýze vzorku může dojít i při nesprávném poměru antikoagulačního činidla, při použití příliš silné jehly, či při uchování krve při nesprávné teplotě (Kopřivová 2013). Ve většině případů ani není možné tyto špatně odebrané vzorky vyšetřovat a musí proto dojít k novému odběru.

Krev se odebírá do připravených zkumavek, které se liší barvou uzávěru, podle vyšetření, ke kterému jsou určeny. V nemocnici v Českých Budějovicích je k odběrům používán systém Becton Dickinson Vacutainer (Tab. 1). Pokud je krev odebírána do zkumavek s protisrážlivým činidlem je potřeba dodržet předepsaný poměr odebrané krve a objemem roztoku antikoagulantu. Tento poměr je například u citrátu sodného (3,8%) 9:1, tedy devět dílů krve na jeden díl citrátu. Citrát z krve vyváže vápník a ten poté není dostupný pro jednotlivé kroky v průběhu koagulace. Po odběru je potřeba několikerým (5 – 10x) otočením promíchat. Nedodržení správného poměru krve a antikoagulačního



činidla, či náběr krve do nevhodné zkumavky je poměrně častou a závažnou chybou v analytické fázi odběru vzorku, které by se zdravotní pracovník neměl dopustit.

**Tab. 1:** *Rozlišovací systém zkumavek dle jednotlivých vyšetření.*

<b>Barva uzávěru</b>	<b>Obsah</b>	<b>Použití</b>
Fialový	Nesrážlivá krev (EDTA)	Krevní obraz
Modrý	Nesrážlivá krev (citrát)	Koagulace
Zelený	Nesrážlivá krev (heparin)	Osmotická rezistence
Černý	Nesrážlivá krev (citrát)	sedimentace

Zdroj: Lindovská Schachlerová 2013

Po správně provedeném odběru je potřeba vzorek dopravit do příslušné laboratoře v co nejkratším možném termínu. Stabilita vzorků pro krevní obraz je při běžné teplotě 15 – 25°C přibližně 5 hodin, zatímco pro koagulační vyšetření jsou to pouze přibližně 2 hodiny. Transport vzorků z jednotlivých nemocničních oddělení do centrální laboratoře je zajišťován zdravotními pracovníky nemocnice v přepravních boxech. Tento transport probíhá ve velmi krátkém časovém intervalu, proto nebývají potřeba speciální opatření. Do laboratoře jsou ale dopravovány i vzorky z externích pracovišť, kdy je potřeba dodržet správnou teplotu a vzorek přepravit co nejrychleji (Lindovská Schachlerová 2013).

K tomu, aby byl vzorek do laboratoře přijat, musí společně s ním být dodána správně vyplněná žádanka a samotný vzorek musí být označen. Žádanka (Příloha 1.) musí obsahovat jméno a příjmení pacienta; rodné číslo; číslo pojišťovny; základní diagnózu; název pracoviště, kde byl vzorek získán; razítko a podpis lékaře požadujícího vyšetření; čas a datum odběru; podpis osoby provádějící odběr; režim, ve kterém má být vyšetření provedeno (STATIM – urgentní vyšetření) a samozřejmě také přehledně vyznačená vyšetření, která mají být provedena. Na správně označeném vzorku musí být štítek se jménem a příjmením pacienta a jeho rodným číslem. Tyto informace se kontrolují s daty uvedenými na žádance, a pokud vše souhlasí, žádanka i vzorek jsou označeny stejným číselným kódem, pod kterým je vzorek zadán do Laboratorního informačního systému (LIS) a v laboratoři dále zpracováván.

### 4.1.1 Příprava vzorku k vyšetření D dimerů

Pro námi zkoumané vyšetření D-d je odebírána nesrážlivá venózní krev do zkumavek s modrým uzávěrem, obsahujících citrát sodný. Jde o koagulační vyšetření, kdy je potřeba vzorek dopravit do laboratoře do dvou hodin od odběru.

Stabilita vzorku je při teplotě  $20\pm 5^{\circ}\text{C}$  zhruba 4 hodiny. Při klesající teplotě se stabilita vzorku prodlužuje, a pokud je vzorek do 4 hodin od odběru zamražen pod teplotu  $-18^{\circ}\text{C}$ , vydrží až 4 týdny. Takto zmražený vzorek poté musí být pomalu rozmrazován při teplotě  $37^{\circ}\text{C}$  po dobu 10 minut a následně centrifugován 10 min při rychlosti 15 000 g. Vzorek není možné zmrazit více jak dvakrát.

Ihned po identifikaci vzorku a jeho zadání do databáze LIS je vzorek centrifugován po dobu 15 min při 2500 g. Po dokončení centrifugace dochází k překontrolování vzorku. Vzorek se špatným poměrem citrátu a plazmy je vyřazen, stejně jako ten, který například obsahuje různé sraženiny. Ne každý vzorek ale musí být vyřazen a znovu odebírán. Často některé jeho nežádoucí vlastnosti, jakými jsou například hemolytická, či chylozní plazma, pouze zapíšeme a bereme v potaz, že výsledek vyšetření může být tímto jevem ovlivněn. Míra zkreslení výsledku je závislá na koncentraci látky způsobující tuto nedokonalost (Tab. 2). Další nedokonalosti vzorku, mezi které patří například zvýšená hladina lipidů vytvářející zákal, či přítomnost drobných částic, je možno odstranit opakovanou centrifugací po dobu 10 min při rychlosti 15 000 g. Pokud ani po opakované centrifugaci nedojde k odstranění nedokonalostí, není vzorek zpracován a je požádáno o nový odběr. Stejně tak i v případě chylózní, či hemolytické plazmy, kdy vyjdou hraniční hodnoty a nejsme schopni přesně určit míru zkreslení.

**Tab. 2:** *Koncentrace látek, při kterých dochází ke zkreslení výsledků měření D-d.*

Látky zkreslující výsledky D-d	Koncentrace, při níž dochází ke zkreslení D-d (mg/dl)
Triglyceridy	$\geq 400$
Hemoglobin	$\geq 200$
Bilirubin	$\geq 60$

Zdroj: Aplikační list Innovance D-dimer

## 4.2 Stanovení hladiny D-dimerů

Přibližně do druhé poloviny září roku 2013 bylo na oddělení klinické hematologie (OKH) nemocnice v Českých Budějovicích k měření D-d používáno přístroje **STAR** a testu **D-Di Liatest** od společnosti Diagnostica Stago. Tento test je kvantitativní, imunoturbidimetrickou metodou užívající dvě různé monoklonální protilátky proti D-d, které jsou kovalentně navázány na latexové mikročástice (Ghanima et al. 2006). Pokud jsou ve vzorku přítomny D-d, dojde k jejich navázání na latexové mikročástice s protilátkami a ve vzorku se objeví zákal, který je měřen fotometricky při 540 nm. Naměřená změna absorbance je přímo úměrná koncentraci D-dimerů v proměřovaném vzorku.

K měření jsou používány dva testy a to D-DI a D-DI MIN, lišící se rozsahem koncentrací, které jsou schopny proměřit. Pokud je koncentrace D-d zjištěná prvním testem menší než 500 ng/ml použijeme D-DI MIN. Ve všech ostatních případech užíváme první test, který je schopen měřit koncentraci D-d až do 8000 ng/ml. Referenční rozmezí tohoto testu je stanoveno na 0 – 250 ng/ml (Roučková 2007).

V průběhu září roku 2013 začala laboratoř přecházet na nový test **INNOVANCE D-Dimer** od společnosti Siemens Healthcare Diagnostics na přístroji Sysmex CA 7000. Opět se jedná o imunoturbidimetrický, kvantitativní test probíhající velmi podobným způsobem. Polystyrénové částice potažené monoklonální protilátkou (8D3) v přítomnosti D-d aglutinují, vytváří se zákal, který je měřen turbidimetricky. Intenzita prošlého světla o vlnové délce 570 nm vzorkem je přímo úměrná koncentraci D-d (Herak, Milos, Zadro 2009). Výsledné koncentrace D-d jsou udávány v mg/L FEU a referenční rozmezí je stanoveno na 0 – 0,50 mg/L FEU. Přičemž laboratoř si stanovila vlastní referenční rozmezí na 0,45 mg/L FEU.

U obou testů je důležité znát stav pacienta a jevy, při kterých může dojít k interferenci a zkreslení výsledku měření. Výsledek bude nepřesný, pokud proměříme špatně odebraný vzorek, vzorek obsahující velké množství lipidů či hemoglobinu, ale také pokud jsou v pacientově vzorku přítomny heterofylní protilátky (revmatoidní faktor či HAMA- human anti-mouse antibodie). Je tedy důležité interpretovat výsledek až na základě dalších znalostech o stavu pacienta.

### 4.3 Zisk a zpracování dat

Všechna analyzovaná data jsou získána z databáze LIS Hematologické ambulance nemocnice v Českých Budějovicích a zpracována programem MS Excel 2007.

Pro potvrzení dílčího cíle, že každá metoda a přístroj určený k měření D-dimerů podává odlišné výsledky, byla zvolena dvě různá období, během nichž bylo v hematologické laboratoři nemocnice k měření D-d využíváno pokaždé jiného testu, jak je uvedeno výše v kapitole Stanovení D-d. V nemocniční databázi byly dohledány hodnoty D-d všech žen do 50 let věku, u kterých byl v 1. polovině roku 2013 a 2014 provedeno laboratorní koagulační vyšetření ke stanovení hladiny D-d. Skupina žen do 50 let byla zvolena z důvodu potvrzení hlavního cíle práce, kde je ukázána spojitost hladiny D-d s graviditou. U starších žen a jedinců opačného pohlaví je výskyt gravidity velmi nepravděpodobný.

Stejná data byla využita i k potvrzení hlavního cíle práce, a to že hladina D-dimerů u těhotných žen stoupá. Ze zvolených dat byly vybrány pacientky, které se v daném období účastnily vyšetření vícekrát. Dle pana primáře MUDr. Ivana Vonkeho je pravděpodobnost gravidity u těchto žen přibližně 90%, což bylo později při zpracování dat potvrzeno. Postupně bylo u žen účastnících se opakovaného odběru v daném období dohledáno, zda byly gravidní a popřípadě v jakém týdnu těhotenství se v době odběru nacházely. U těchto žen bylo také dohledáno, zda trpí Leidenskou mutací faktoru V (LVF), čímž mělo býtí poukázáno na skutečnost, že hladina D-d v graviditě narůstá i u žen trpících hyperkoagulační poruchou.

## 5. Výsledky

### 5.1 Porovnání výsledků dvou různých testů

Prvním krokem práce bylo zjištěním průměrných hodnot D-d v daných dvou obdobích v závislosti na použitém testu dokázat, že každý test podává jiné výsledky a není tedy možné srovnávat hodnoty z různých testů, aniž bychom s nimi byli blíže seznámeni.

Pro každý test bylo zvoleno půlroční období a z něho byly vybrány ženy do 50 let, které se vyšetření účastnily. Nejprve byla zpracována data z prvního pololetí 2013, kdy byl v laboratoři používán přístroj STAR a test D-Di liatest, na kterém bylo v tomto období proměřeno 226 vzorků od 173 žen do 50 let věku. Takto získaná data ze systému LIS byly zadány do souhrnné tabulky (Příloha 2.).

Během druhého období - prvního pololetí 2014, jsem se v rámci praxe seznámila s novým přístrojem Sysmex CA 7000 a testem Innovance D-dimer od firmy Siemens, na kterém jsem v uvedeném období proměřila 338 vzorků od 208 pacientek ve věku do 50 let (Příloha 3.). Celkem tedy bylo za obě období proměřeno 564 vzorků od 381 různých pacientek ve věku do 50 let, které navštívily hematologickou ambulanci (Tab. 3).

**Tab. 3:** *Množství získaných dat určených ke zpracování.*

	Počet vzorků	Počet pacientek
D-di liatest (1. pol. 2013)	226	173
Innovance D-d (1. pol. 2014)	337	208
celkem	<b>563</b>	<b>381</b>

Zdroj: vlastní výpočty

Jak již bylo uvedeno výše, během každého uvedeného období bylo v hematologické laboratoři nemocnice v Českých Budějovicích užíváno jiného testu ke zjištění koncentrace D-d v séru pacientů. Tedy i výsledné hodnoty se v závislosti na použitém testu lišily a bez dalších znalostí a úprav hodnot není jejich porovnání možné.

Jedním z prvních problémů při snaze porovnat výsledky je, že každý test poskytuje koncentraci D-d v jiných jednotkách. Výsledky D-di liatestu jsou udávány v ng/ml FEU, zatímco Innovance D-d udává koncentrace v mg/L FEU, což odpovídá µg/ml FEU. Prvním krokem tedy bylo převést získané hodnoty na společné jednotky. V případě této práce bylo

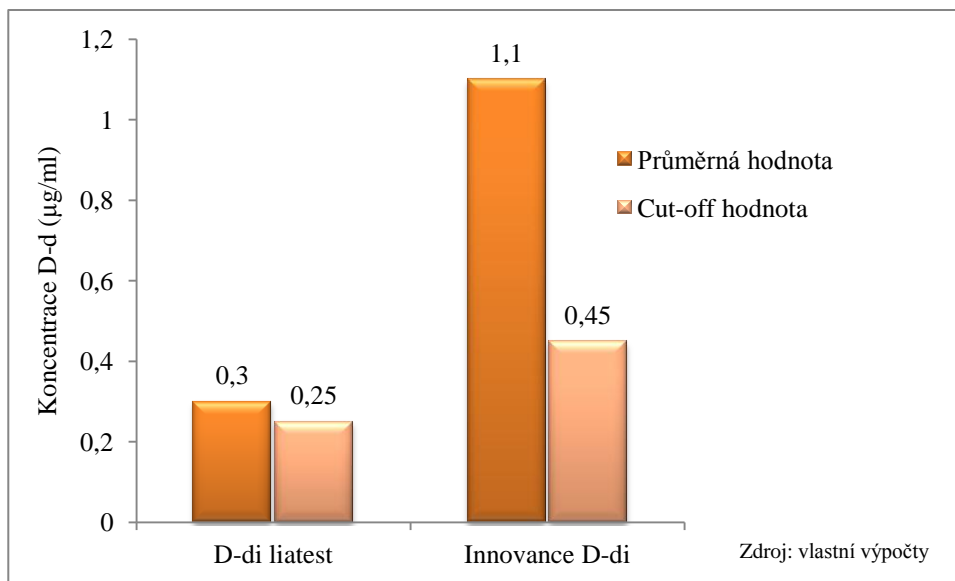
nejsnazším způsobem převést jednotky D-di liatestu (ng/ml) na  $\mu\text{g/ml}$ , ve kterých jsou udávány výsledky testu Innovance D-d. Hodnoty z prvního pololetí roku 2013 byly tedy pouze vyděleny tisícem, čímž byly získány z obou měření výsledky udané ve stejných jednotkách. Z takto upravených dat byly získány základní statistické údaje o koncentracích D-d pro každý ze zkoumaných testů (Tab. 5).

**Tab. 4:** *Základní statistická analýza vzorků dle použitého testu a jeho cut-off hodnoty.*

	Počet vzorků	Cut-off hodnota testu	Průměrná hodnota	Medián	Min	Max	Rozptyl	Směr. Odchylka
<b>D-di liatest</b>	229	0,250	0,301	0,199	0	1,511	0,0987	0,314
<b>Innovance D-d</b>	337	0,450	1,102	0,73	0,05	6,74	1,222	1,106

Zdroj: vlastní výpočty, pozn.: koncentrace D-dimerů je udávána v  $\mu\text{g/ml}$

I po převodu na stejné jednotky je u obou testů patrný rozdíl nejen v cut-off hodnotě, ale také ve všech vypočtených hodnotách (Tab. 4). Pro lepší názornost byla vybrána průměrná hodnota koncentrace D-d z obou testů a porovnána s jejich cut-off hodnotami (Obr. 7). Průměrná koncentrace D-d stanovená D-di liatestem je  $0,301 \mu\text{g/ml}$  FEU, přičemž referenční rozmezí tohoto testu je přibližně do  $0,250 \mu\text{g/ml}$ . Získaná průměrná hodnota je vyšší, než cut-off hodnota testu. Stejně tak tomu je i při zpracování dat z druhého testu Innovance D-d, kde průměrná hodnota je stanovena na  $1,102 \mu\text{g/ml}$  FEU. U tohoto testu je referenční rozmezí dodané firmou Siemens  $0,550 \mu\text{g/ml}$ , přičemž v nemocnici je jako mez brána hodnota  $0,450 \mu\text{g/ml}$ . Opět je jasně patrné překročení cut-off hodnoty.



**Obr. 7:** Porovnání získaných průměrných hodnot se známými cut-off hodnotami jednotlivých testů.

Z výsledků (Obr. 7) je zřejmé, že porovnávání koncentrací D-d ze dvou různých testů není možné ani po převodu na stejné jednotky. Průměrná koncentrace 0,3 µg/ml u D-di liatestu vypovídá o pozitivním nálezu D-d, zatímco její hodnota ve vztahu k testu Innovance D-d, by byla brána jako negativní a bylo by tak vyloučeno TEN. Takovéto porovnání by tedy vedlo ke špatné interpretaci výsledků a ke stanovení mylné diagnózy, která by mohla být až život ohrožující.

## 5.2 Hladina D-dimerů v graviditě

Hlavním cílem předkládané práce bylo potvrdit, že koncentrace D-d v průběhu gravidity narůstá, a proto je potřeba stanovit v průběhu těhotenství nové hraniční hodnoty D-d pro konkrétní používané testy.

Prvním krokem bylo zjistit, jaká část ze získaných dat patří gravidním ženám. Jak bylo již uvedeno výše, dle slov pane primáře MUDr. Ivana Vonkeho je přibližně 90 % žen účastnících se opakovaného odběru v rámci ambulance OKH gravidních. Pro zjednodušení byly tedy v systému LIS nejprve dohledány jen ženy, které v daném období vyšetření podstoupily vícekrát. U těchto pacientek bylo dále dohledáno, zda v době vyšetření byly gravidní a popřípadě v jakém týdnu těhotenství se nacházely. Po vyhodnocení výsledků bylo zjištěno, že skutečně více jak 90 % žen účastnících se opakovaného odběru je gravidních (Tab. 5).

**Tab. 5:** *Počty gravidních žen účastnicích se opakovaného měření.*

	<b>D-di liatest</b>	<b>Innovance D-d</b>
Počet žen účastnicích se opakovaného vyšetření	47	77
Počet gravidních žen účastnicích se opakovaného vyšetření	43	74
<b>Gravidní (%)</b>	<b>91,5 %</b>	<b>96 %</b>

Zdroj: vlastní výpočty

Dalším důkazem, kterým byla potvrzena více jak 90% pravděpodobnost gravidity u žen účastnicích se opakovaného vyšetření, je skutečnost vyplývající z tabulky č. 6.

**Tab. 6:** *Podíl gravidních pacientek a jejich vzorků k celkovému množství vyšetřených vzorků.*

	<b>Počet vzorků</b>	<b>Počet vzorků převyšujících cut-off hodnotu</b>	<b>Počet pacientek</b>	<b>Počet gravidních pacientek</b>	<b>Počet vzorků od gravidních pacientek</b>
<b>D-di liatest</b>	226	54 (23 %)	173	43 (25 %)	97 (42,9 %)
<b>Innovance D-d</b>	338	167 (49,4 %)	208	74 (35 %)	194 (57,2 %)
<b>celkem</b>	<b>564</b>	<b>221</b>	<b>381</b>	<b>117</b>	<b>291</b>

Zdroj: vlastní výpočty

Ze všech vyšetřovaných pacientek byla přibližně čtvrtina gravidních. V roce 2013 to bylo 25 %, zatímco v roce 2014 počet vyšetřovaných těhotných žen stoupl i s počtem vyšetřovaných vzorků na 35 %. Vzorků od gravidních žen bylo ale více jak dvakrát tolik (Tab. 6). Tento rozdíl v počtu gravidních pacientek a jejich vzorků dokládá, že těhotné ženy se vyšetření v daném období účastnily vícekrát, a to přibližně dvakrát.

Původní soubor dat byl v obou obdobích, dle výše uvedených zjištění rozdělen na gravidní a negravidní pacientky a hodnoty koncentrací D-d v obou skupinách byly analyzovány pro každý z testů (Tab. 7).

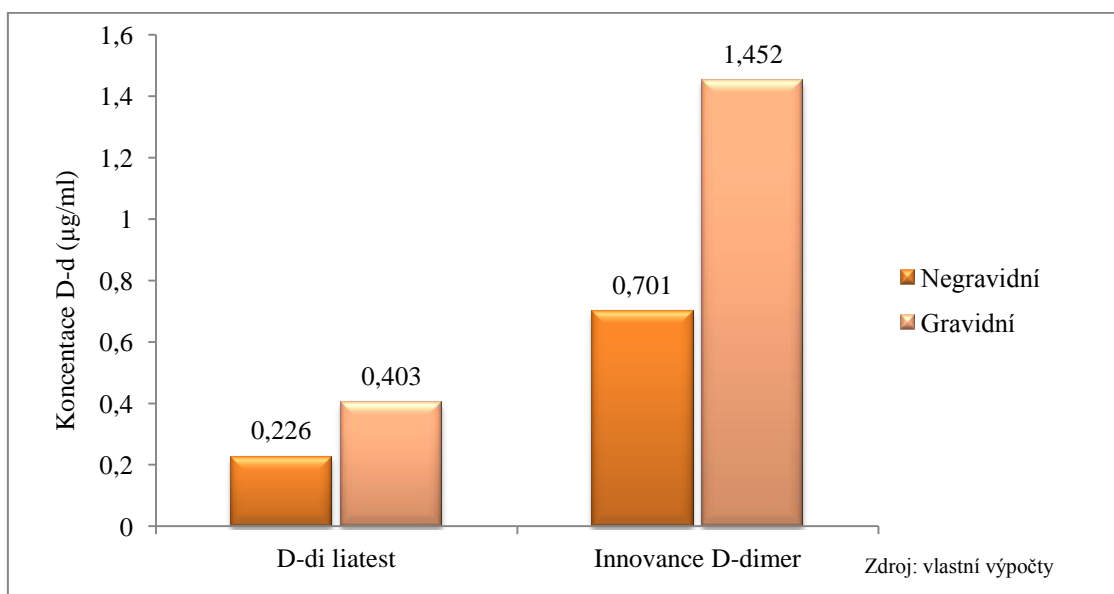


**Tab. 7:** Analýza získaných dat u gravidních a negravidních žen v závislosti na použitém testu.

		Počet vzorků	Průměr	Min	Max	SD
<b>Gravidní</b>	D-di liatest	97	0,403	0	1,511	0,341
	Innovance D-d	194	1,452	0,1	6,74	1,279
<b>Negravidní</b>	D-di liatest	127	0,226	0	1,41	0,275
	Innovance D-d	142	0,701	0,05	3,65	0,764

Zdroj: vlastní výpočty, pozn.: koncentrace D-dimerů je udávána v  $\mu\text{g/ml}$

Z výše uvedených dat (Tab. 7) byly vybrány průměrné hodnoty gravidních a negravidních žen, které byly použity k potvrzení teze, že hladina D-d u těhotných žen stoupá. Vypočtené hodnoty byly zaznamenány do grafu (Obr. 8).



**Obr. 8:** Průměrné koncentrace D-d u gravidních a negravidních žen zjištěné pomocí dvou odlišných testů.

Koncentrace D-d u gravidních žen je u obou testů vyšší než u negravidních a nabývá přibližně dvojnásobných hodnot. Stejně tak tomu je, až na malou odchylku u D-di liatestu, pokud určíme nejnižší (min) a nejvyšší (max) hodnoty koncentrace D-di (Tab. 8), které byly pomocí jednotlivých testů naměřeny. Zde jsou narozdíl od výše uvedených dat (Tab. 7) z výsledků minimálních hodnot vyloučeny koncentrace D-d rovné nule, čímž je minimum mírně posunuto.

**Tab. 8:** Porovnání maximálních a minimálních koncentrací D-d u negravidních a gravidních žen v závislosti na použitém testu.

	D-di liatest		Innovance D-dimer	
	Min	Max	Min	Max
<b>Negravidní</b>	0,009	1,415	0,05	3,65
<b>Gravidní</b>	0,006	1,511	0,1	6,64

Zdroj: vlastní výpočty, pozn.: koncentrace D-dimerů je udávána v  $\mu\text{g/ml}$

Z dat vidíme, že koncentrace D-d v graviditě opravdu narůstá. Z výsledků ale není možné určit, v jakém časovém intervalu v průběhu těhotenství k tomuto nárůstu dochází. S největší pravděpodobností půjde o pozvolný nárůst, dosahující vrcholu v posledních týdnech těhotenství.

Skutečnost, že koncentrace D-dimerů v průběhu těhotenství neroste skokově, ale postupně v průběhu gravidity mírně vzrůstá, byla potvrzena výpočty, při nichž bylo těhotenství rozděleno do třech období – trimestrů. První trimestr je počítán od oplození do 12. týdne těhotenství, druhý trimestr od 12. do 27. týdne a poslední třetí trimestr od 28. týdne do porodu (Andrésová a Slezáková 2013). V každém z trimestrů byly poté stanoveny průměrné hodnoty koncentrace D-d (Tab.9).

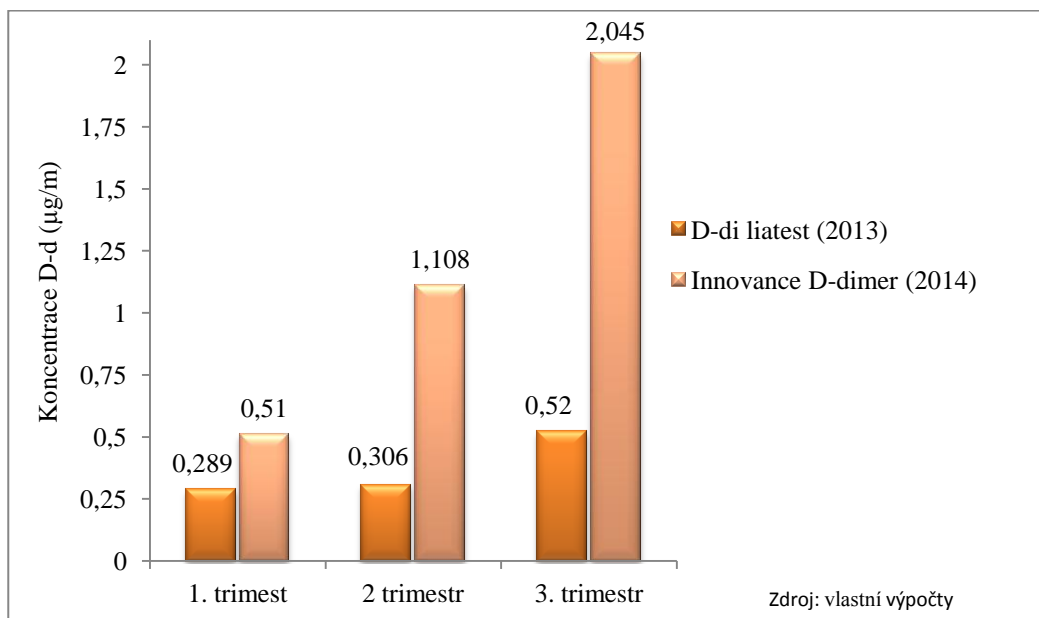
**Tab. 9:** Průměrné koncentrace D-d měřené jednotlivými testy v závislosti na trimestru těhotenství.

	D-di liatest	Innovance D-dimer
<b>1. trimestr</b>	0,289	0,510
<b>2. trimestr</b>	0,306	1,108
<b>3. trimestr</b>	0,520	2,045

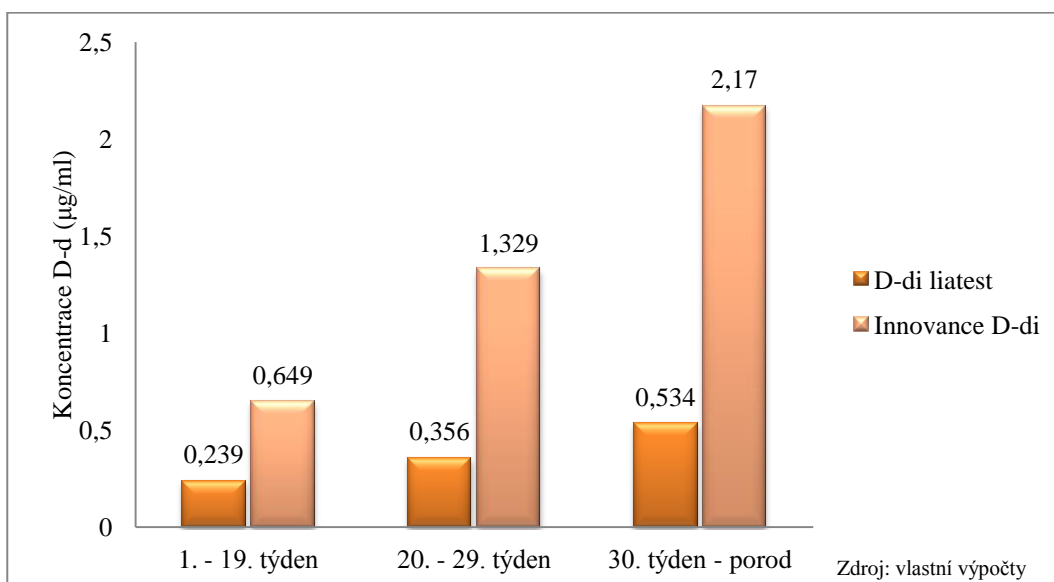
Zdroj: vlastní výpočty, pozn.: koncentrace D-dimerů je udávána v  $\mu\text{g/ml}$

Hypotéza, že nárůst koncentrace D-d se v průběhu jednotlivých trimestrů těhotenství zvyšuje, se potvrdila. Z průměrných koncentrací pro jednotlivé trimestry (Tab. 9) můžeme vyvodit, že nárůst koncentrace od prvního do druhého trimestru je u D-di liatestu necelých 6 %, zatímco ve třetím trimestru je oproti druhému nárůst o 70 %. U testu Innovance D-dimer dochází k mnohem většímu nárůstu. Ve třetím trimestru stoupla koncentrace D-d čtyřnásobně tedy o celých 300 % oproti prvnímu trimestru (Obr. 9).

K největšímu vzestupu koncentrace D-d dochází tedy na konci těhotenství, což je patrné i z druhého grafu (Obr. 10), kde jsou hodnoty D-d rozděleny do skupin v závislosti na týdnu těhotenství. Týdny byly rozděleny tak, aby v každém byl přibližně stejný počet analyzovaných vzorků.



**Obr. 9:** Koncentrace D-d měřené jednotlivými testy v závislosti na trimestru těhotenství.



**Obr. 10:** Koncentrace D-d měřené jednotlivými testy v závislosti na týdnu těhotenství.

K důkazu nárůstu koncentrace D-d v posledních týdnech těhotenství je možno využít i stanovení nejnižší a nejvyšší hodnoty jednotlivých trimestrů pro každý ze zkoumaných testů (Tab. 10). Opět byly vynechány minimální hodnoty rovnající se nule. I zde je patrný

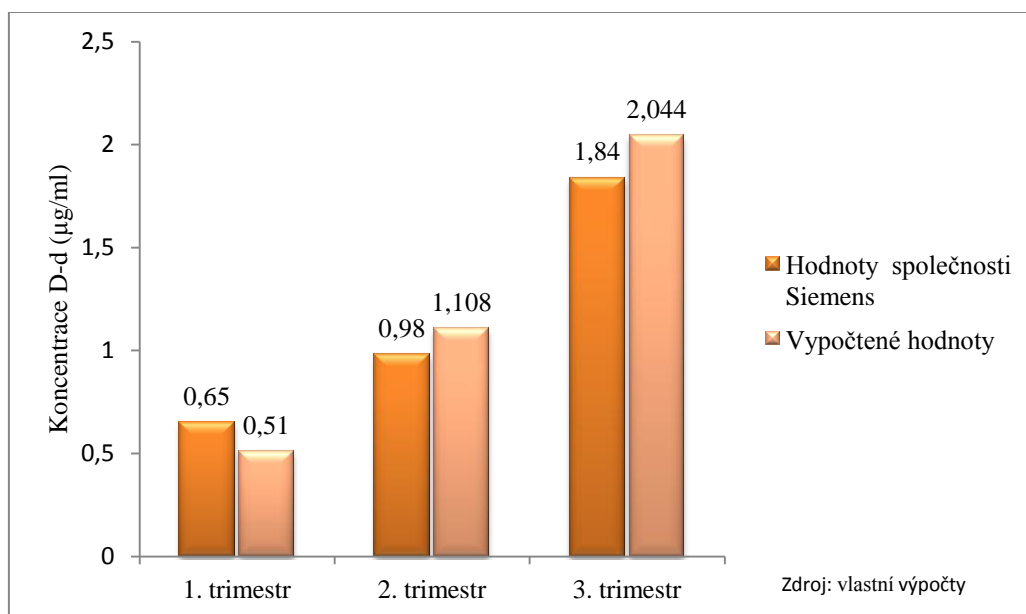
nárůst koncentrací D-d s prodlužujícím se těhotenstvím, až na malou odchylku v případě D-di liatestu, kde nejnižší hodnota D-d naměřená v prvním trimestru je vyšší, než ve druhém trimestru. Může to být způsobeno menším počtem vzorků v prvním trimestru, protože u průměrných koncentrací D-di liatestu (Tab. 9), hodnoty odpovídají.

**Tab. 10:** Nejvyšší a nejnižší stanovené hodnoty koncentrace D-d v jednotlivých trimestrech za použití dvou různých testů.

	D-di liatest		Innovance D-dimer	
	Min	Max	Min	Max
<b>1. trimestr</b>	0,077	0,622	0,1	3,06
<b>2. trimestr</b>	0,006	1,3	0,11	3,62
<b>3. trimestr</b>	0,084	1,511	0,52	6,74

Zdroj: vlastní výpočty, pozn.: koncentrace D-dimerů je udávána v µg/ml

V závěru zpracování výsledů byly zjištěné průměrné koncentrace D-d měřené testem Innovance D-d dimer v jednotlivých trimestrech porovnány s hodnotami dodanými společností Siemens Medical Solutions Diagnostics pro tento test, vypracovanými E. Kuzmannem (Obr. 11).



**Obr. 11:** Vypočtené průměrné hodnoty D-d pro jednotlivé trimestry v porovnání s hodnotami dodanými výrobcem testu.

Výsledné průměrné koncentrace D-d i další hodnoty získané v této práci se velmi málo liší od koncentrací, které byly pro tento test určeny výrobcem testu společností Siemens Medical Solutions Diagnostics (Tab. 11).

**Tab. 11:** Porovnání zjištěných výsledků testu Innovance D-d s daty dostupnými od výrobce tohoto testu.

		<b>1. trimestr</b>	<b>2. trimestr</b>	<b>3. trimestr</b>
<b>Hodnoty společnosti Siemens</b>	Průměrné hodnoty	0,65	0,98	1,84
	Směrod. odchylka (SD)	0,38	0,51	1,11
	Průměr + 2SD	1,42	1,99	4,05
<b>Vypočtené hodnoty</b>	Průměrné hodnoty	0,51	1,11	2,04
	Směrod. odchylka (SD)	0,63	0,85	1,47
	Průměr + 2SD	1,79	2,81	4,98

Zdroj: E. Kuzmann 2006, vlastní výpočty; pozn.: koncentrace D-dimerů je udávána v µg/ml

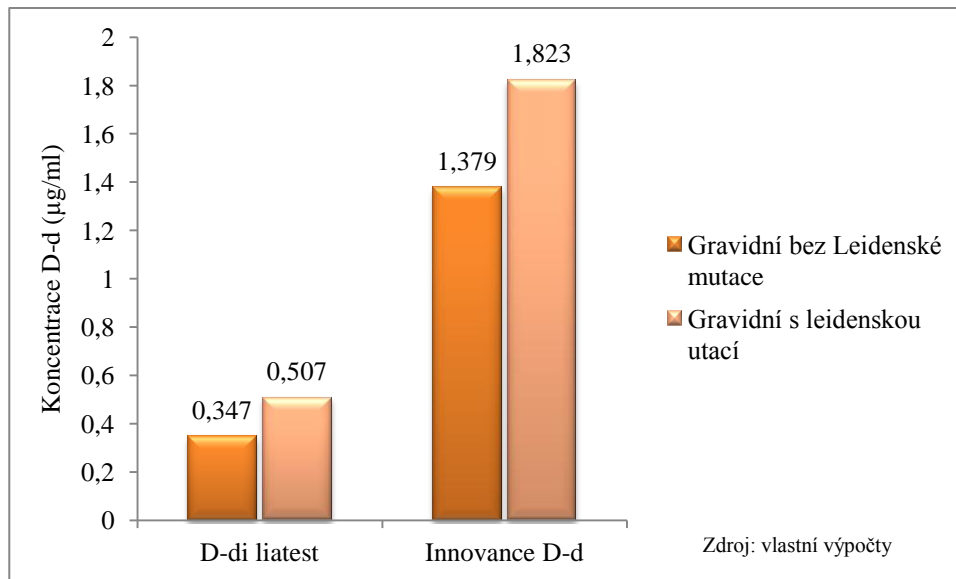
### 5.3 Hladina D-d v souvislosti s Leidenskou mutací

Při analýze dat byl zjištěn nárůst koncentrace D-d u gravidních žen s Leidenskou mutací faktoru V (FVL – factor V Leiden mutation), oproti těhotným ženám bez této mutace. LVF je jedna z nejčastějších vrozených příčin hyperkoagulačních stavů a osoby trpící touto mutací mají sedmkrát vyšší riziko vzniku hluboké žilní trombózy, než zdraví jedinci (Viklický, Janoušek, Baláž 2008). Skupina těhotných byla rozdělena na pacientky trpící Leidenskou mutací faktoru V a zdravé ženy. Ženy trpící LVF nebyly v práci rozdělovány na homozygotky a heterozygotky v této mutaci, protože hladina D-d se mezi těmito dvěma skupinami příliš neliší. Rozdíly v průměrné koncentraci D-d mezi gravidními a negravidními pacientkami s LVF (Tab. 12) byly zaznamenány do grafu (Obr. 12).

**Tab. 12:** Koncentrace D-d u gravidních žen v porovnání s gravidními trpícími LVF.

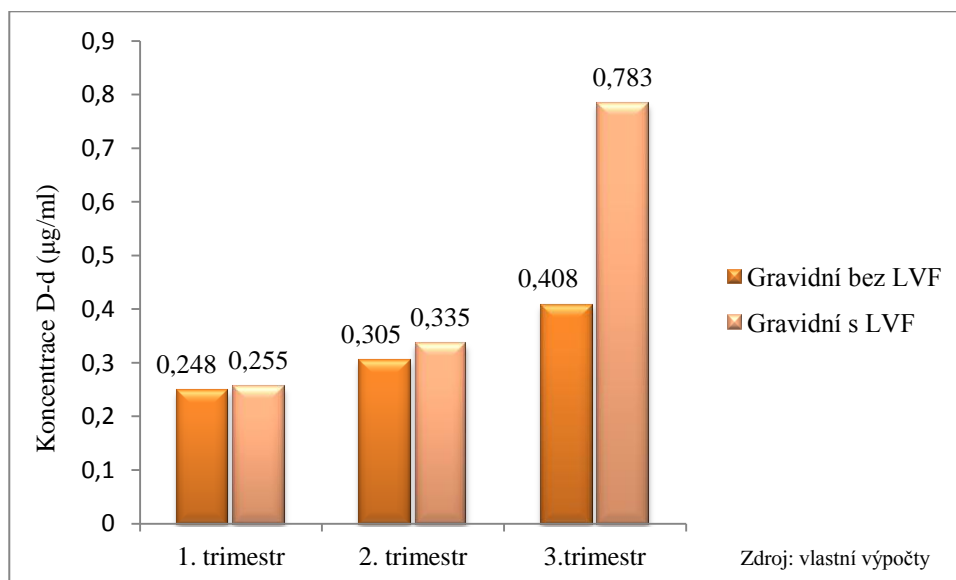
	<b>Gravidní</b>	<b>Gravidní s LVF</b>
<b>D-di liatest</b>	0,347	0,507
<b>Innovance D-d</b>	1,379	1,823

Zdroj: vlastní výpočty, pozn.: koncentrace D-dimerů je udávána v µg/ml

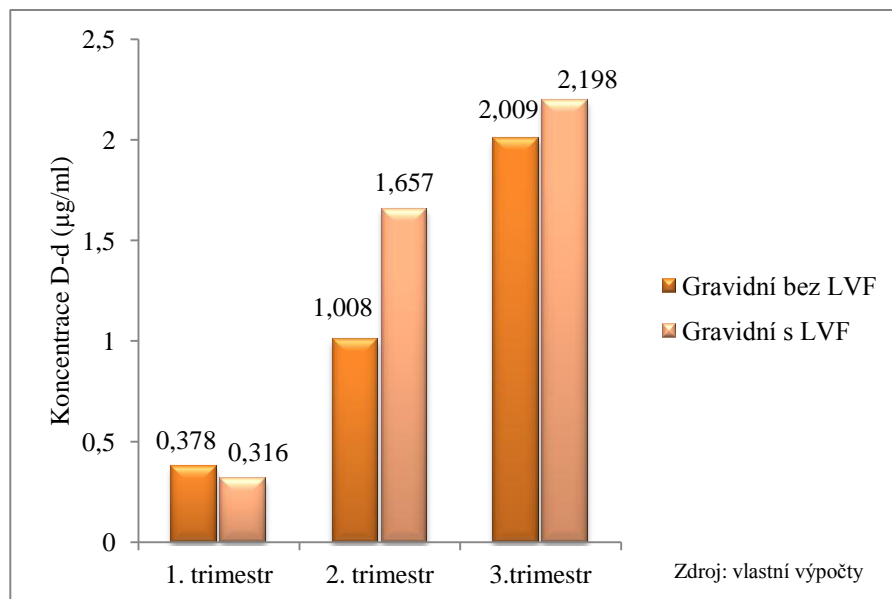


**Obr. 12:** Průměrné koncentrace D-d u gravidních žen v porovnání s gravidními ženami trpícími LVF.

Nárůst koncentrace D-d u gravidních žen, které trpí LVF, je vyšší než u těhotných bez této mutace (Obr. 12). Pro důkaz, že koncentrace D-d i u žen s LVF dosahuje nejvyšších hodnot na konci těhotenství, byly opět výsledky rozděleny do jednotlivých trimestrů těhotenství. Zobrazení bylo zvoleno pro každý používaný test zvlášť (Obr. 13 a 14).



**Obr. 13:** Průměrné koncentrace D-d měřené D-di liatestem u gravidních s LVF a gravidních žen bez této mutace.



**Obr. 14:** Průměrné koncentrace D-d měřené testem Innovance D-d u gravidních s LVF a gravidních žen bez této mutace.

Z obou výše uvedených grafů vyplývá, že koncentrace D-d u těhotných žen s LVF je vyšší a narůstá postupně v jednotlivých trimestrech stejně tak, jako u gravidních žen bez této mutace. Nejvyšší hodnoty je opět dosaženo v posledním trimestru těhotenství.

## 6. Diskuse

Vyšetření D-d je velmi dobrým ukazatelem krevní srážlivosti u zdravých osob, kde dokáže s vysokou pravděpodobností vyloučit jakékoli TEN. Problém ale nastává, pokud stanovujeme koncentraci D-d u pacientů, kteří již trpí některou TEN či u pacientů jejichž současný stav způsobuje nárůst koncentrace D-d. Mezi tyto stavy patří již zmiňovaný náročný chirurgický zákrok, trauma, rakovina a především také gravidita, která z velké části ovlivnila výsledky této práce.

Již při analýze prvních výsledků byly zjištěny průměrné hodnoty všech zpracovaných vzorků D-d nad doporučené referenční rozmezí. Vyšší průměrná hodnota je způsobena tím, že všechny zkoumané ženy jsou pacientkami hematologické ambulance a naprostá většina žen, které přicházejí do ambulance je gravidních nebo trpí nějakou TEN. Jejich koncentrace D-d je tedy zvýšena. Z celkových 226 získaných vzorků při měření D-di liatestem převyšovalo cut-off hodnotu 54 z nich a všechny patřily gravidním ženám. U testu Innovance D-d tomu bylo podobně. Z celkových 337 vzorků převyšovalo koncentraci 0,450 µg/ml 167 vzorků, z nichž pouze jediný nepatřil těhotné ženě. Vyšší průměrné hladiny koncentrací D-d jsou v této práci způsobeny hlavně výběrem studované skupiny, kdy byly vybrány ženy, u nichž se s velkou pravděpodobností předpokládá těhotenství. Jejich hodnoty D-d ve většině případů (v 55 % u D-di liatestu; v 86 % u Innovance D-d) překračují stanovenou cut-off hodnotu, a tudíž zvyšují průměrnou hodnotu měření D-d.

Vyšší průměrné hodnoty D-d jsou patrné i při porovnávání výsledků zjištěných v této práci s výsledky dostupnými od společnosti Siemens Healthcare Diagnostics. Zde je nárůst průměrných koncentrací D-d s největší pravděpodobností způsoben odlišným věkovým rozmezím u zkoumaných žen. V bakalářské práci byly zkoumány ženy do 50 let se středním věkem 32 let, zatímco ve studii prováděné výrobcem byly ženy pouze do 40 let se středním věkem 29 let (Kuzmann 2006). A jak bylo potvrzeno při jiném výzkumu pro společnost Siemens, koncentrace D-d se zvyšujícím se věkem narůstá (Heidrun 2010). Druhým důvodem nárůstu hladiny D-d u vzorků studovaných v této práci je skutečnost, že se jedná o vzorky získané na hematologické ambulanci, kam často přicházejí ženy, které trpí TEN.

I přes všechny tyto skutečnosti se koncentrace D-d vypočtené v této práci velmi blíží hodnotám D-d dostupným nejen od společnosti Siemens, ale i hodnotám udávaným v literatuře. V odborné studii zabývající se koncentrací D-d v jednotlivých fázích těhotenství



australských žen za použití dvou rozdílných imunoturbidimetrických testů jsou hodnoty D-d pro jednotlivé trimestry u testu Innovance D-d ještě bližší mnou zjištěným koncentracím, než je tomu u výsledků společnosti Siemens. Studie D-d u gravidních australských žen stanovila průměrné koncentrace D-d pro jednotlivé trimestry lišící se od výsledků této práce pouze průměrně o 0,07  $\mu\text{g/ml}$  (Khalafallah et al. 2012), zatímco průměrný rozdíl hodnot D-d této práce a studie společnosti Siemens byl 0,15  $\mu\text{g/ml}$ .

V jiné studii prováděné testem HemosIL D-dimer HS, který je založen na stejném principu jako D-di liatest od firmy Stago používaný v laboratoři v prvním období a který má také velmi podobné referenční rozmezí (HemosIL D-d 230 ng/ml x D-di liatest 250 ng/ml), byly výsledné cut-off hodnoty pro jednotlivé týdny těhotenství (8. – 12. týden; 22. – 24. týden a 32. – 34. týden) blízké koncentracím zjištěným v mé práci pro konkrétní trimestry. Pokud ale bylo rozdělení gravidních žen v této práci provedeno dle této studie na výše uvedené týdny, hodnoty se v prvních dvou obdobích lišily o více jak 60 %, zatímco v 32. – 34. týdnu byl rozdíl pouze o 3,9 % (Kovac et al. 2010).

Mnoho dalších studií se stejně jako tato práce pokouší stanovit referenční rozmezí koncentrace D-d, které by mohlo být využito v praxi a mělo vysokou specifitu jak k DVT tak k PE. Jedna z posledních studií provedená v Číně v roce 2013 testem Innovance D-d stanovila cut-off hodnoty pro první trimestr  $<0.66 \text{ mg/l}$ , pro druhý  $<2.29 \text{ mg/l}$  a pro třetí trimestr  $<3.12 \text{ mg/l}$  (Wang et al, 2013). V porovnání s výsledky průměrných koncentrací D-d v mé práci (Tab. 9) jsou to poměrně vysoké hodnoty, které by v případě výskytu TEN mohly vykazovat nízkou diagnostickou senzitivitu. Referenční rozmezí by se mělo nacházet spíše někde mezi těmito dvěma hodnotami, a pak by odpovídalo koncentracím  $< 0,56 \pm 0,07 \text{ mg/l}$  pro první trimestr, pro druhý trimestr  $<1,7 \pm 0.6 \text{ mg/l}$  a pro poslední trimestr by koncentrace D-d měla být  $< 2.58 \pm 0.54 \text{ mg/l}$  FEU.

Jako vedlejší dílčí cíl bylo v průběhu analýzy dat dokázáno, že hladina D-dimerů u gravidních žen s LVF je vyšší než u těhotných, které nemají tuto mutaci FV a také že koncentrace D-d u žen s LVF dále v graviditě narůstá stejně, jako se tomu děje u gravidních žen bez LVF. Dosud bylo známo, že u LVF koncentrace D-d mírně vzrůstá, stejně jako u dalších mutací koagulačních faktorů jako je například Protrombin 20210 mutace (Cushman 2002), ale nebylo prokázáno žádné spojení nárůstu koncentrace D-d u gravidních žen a LVF. Tento výsledek bakalářské práce může být považován za nový poznatek ve výzkumu D-dimerů.

## 7. Výsledky

- Bylo potvrzeno, že koncentrace D-d v graviditě stoupá a největšího nárůstu je dosaženo v posledním trimestru těhotenství, kdy jsou koncentrace D-d až pětinašobně vyšší než je tomu u negavidních žen.
- Při studiu dvou souborů dat z různých období, rozdělených podle používaného testu bylo dokázáno, že každý z testů sloužící k měření koncentrace D-d poskytuje odlišné výsledky, které ani po převodu na stejné jednotky není možné vzájemně porovnávat a analyzovat.
- Při podrobnějším rozboru dat bylo zjištěno, že koncentrace D-d u gravidních žen s LVF v průběhu těhotenství dále narůstá stejně, jako se tomu děje u těhotných bez této mutace. Spojení LVF a koncentrace D-d u gravidních žen nebylo dosud publikováno a je to tedy nový poznatek ve výzkumu D-dimerů.

## 8. Seznam použitých zkratek

APC	Aktivovaný protein C
AT	Antitrombin
C4bBP	C4b-binding protein, protein vázající C4b složku komplementu
D-d	D-dimery
DDU	D-dimer unit
DIC	Diseminovaná intravaskulární koagulace
DVT	Deep vein thrombosis, hluboká žilní trombóza
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
ELISA	Enzyme-liked immunosorbent assay
ELFA	enzyme-linked fluorescent immunoassay
FEU	Fibrinogen equivalent unit
FDP	Fibrin degradační produkty
FSF	Faktor stabilizující fibrin
GPib	Glykoproteinové receptory
HAMA	Human anti-mouse antibodie
HMWK	Vysokomolekulární kininogen
LIS	Laboratorní informační systém
LVF	Factor V Leiden station, Leidenská mutace faktoru V
OKH	Oddělení klinické hematologie
PAI	Plasmin activator inhibitors
PAI-1	Plasminogen-1
PAI-2	Plasminogen-2

PC	Protein C
PDG	Platelet derived growth factor, růstový faktor destiček
PE	Plicní embolie
PK	Prekalikrein
PS	Protein S
PTA	Plasma tromboplastin atecedent
TEN	Tromboembolická nemoc
TF	Tkáňový faktor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor, inhibitor tkáňového faktoru
tPA	Tissue plasminogen activator, tkáňový aktivátor plasminogenu
TXA <sub>2</sub>	Tromboxan A <sub>2</sub>
uPA	Urokinase-type plasminogen activator, urokináza
VTE	Venous tromboembolism, žilní tromboembolie
vWF	Von Willenbrandův faktor

## 9. Seznam použité literatury

ANDRÉSOVÁ, Martina a Lenka SLEZÁKOVÁ. *Ošetrovatelství pro střední zdravotnické školy*. 2., dopl. vyd. Praha: Grada, 2013, s. 76-80. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4341-7.

AYOMBIL, F.; ABDALLA, S.; TRACY, P. B. a BOUCHARD, B. A.. Proteolysis of plasma-derived factor V following its endocytosis by megakaryocytes forms the platelet-derived factor V/Va pool. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [online]. 2013, vol. 11, issue 8, s. 1532-1539 [cit. 2015-03-10]. DOI: 10.1111/jth.12307. Dostupné z: <<http://doi.wiley.com/10.1111/jth.12307>>.

BAKER, R. a MURRAY, Robert K. *PDQ biochemistry*. Hamilton, Ont.: BC Decker, c2001, s. 111. ISBN 1550091506.

BARTUŇKOVÁ, Jiřina a PAULÍK, Milan. *Výšetrovací metody v imunologii*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2011, s. 45-51. ISBN 9788024735337.

BEZDÍČKOVÁ, Ludmila. Fyziologické změny krevního obrazu a hemokoagulace během těhotenství: Hematologické vyšetření v těhotenství. *Moderní babictví*. 2007. Dostupné z: <<http://www.levret.cz/publikace/casopisy/mb/2007-14/?pdf=23>>.

CAMPELLO, Elena; SIMIONI, Paolo. Hemostatic changes in pregnancy. *Reviews in Health Care* [online]. 2013, vol. 4, 3S, s. 1-13 [cit. 2014-10-20]. DOI: 10.1007/978-1-4471-4411-3\_1. Dostupné z: <<http://journals.edizioniseed.it/index.php/rhc/article/view/878>>.

COSKUN, Funda; YILMAZ, Dilber; URSAVAS, Ahmet; UZASLAN, Esra a EGE, Ercument.. Relationship between disease severity and D-dimer levels measured with two different methods in pulmonary embolism patients. *Multidisciplinary Respiratory Medicine* [online]. 2010, vol. 5, issue 3, s. 168- [cit. 2015-03-10]. DOI: 10.1186/2049-6958-5-3-168. Dostupné z: <<http://www.mrmjournal.com/content/5/3/168>>.

CUSHMAN, M. Fibrin fragment D-dimer and the risk of future venous thrombosis. *Blood* [online]. 2002, vol. 101, issue 4, s. 1243-1248 [cit. 2015-03-27]. DOI: 10.1182/blood-2002-05-1416. Dostupné z: <<http://www.bloodjournal.org/content/101/4/1243?sso-checked=true>>.

DAVIDSON, Michael; MAKI, Kevin C. a TOTH; Peter P. *Therapeutic lipidology*. Totowa, N.J.: Humana, c2007, s. 83-84. ISBN 1588295516.

DEMPFLE, Carl Erik. Bestimmung des D-Dimer-Antigens in der klinischen Routine. *Aerzteblatt* [online]. roč. 2005, č. 102, s. 428-432 [cit. 2015-03-10]. Dostupné z: <<http://www.aerzteblatt.de/archiv/45505/Bestimmung-des-D-Dimer-Antigens-in-der-klinischen-Routine>>.

DUNN, Kelly L; WOLF, Jonathan P; DORFMAN, David M; FITZPATRICK, Patricia; BAKER, James L a GOLDHABER Z. Samuel . Normal d-dimer levels in emergency department patients suspected of acute pulmonary embolism. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002, vol. 40, issue 8, s. 1475-1478. DOI: 10.1016/S0735-1097(02)02172-1.

Dostupné z: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109702021721>>.

EMSLEY, J.; MCEWAN, P. A. a GAILANI, D. Structure and function of factor XI. *Blood* [online]. 2010-04-01, vol. 115, issue 13, s. 2569-2577 [cit. 2014-11-13]. DOI: 10.1182/blood-2009-09-199182.

Dostupné z: <<http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2009-09-199182>>.

FEDULLO, Peter F. a TAPSON, Victor F. The Evaluation of Suspected Pulmonary Embolism. *New England Journal of Medicine*. 2003-09-25, vol. 349, issue 13, s. 1247-1256. DOI:10.1056/NEJMcp035442.

Dostupné z: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMcp035442>>.

FERREIRA, Cláudia Natália; SOUSA, Marinez de Oliviera; DUSSE, Lucia Maria Sant'Ana a CARVALHO, Maria das Gracias Carvalho. A cell-based model of coagulation and its implications. In: *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia* [online]. São Paulo, 2010 [cit. 2014-11-06]. Dostupné z: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842010000500016&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842010000500016&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>.

FRANCIS, Charles W.; MARDER, Victor J. a BARLOW, Grant H. Plasmic Degradation of Crosslinked Fibrin. In: *Journal of Clinical Investigation* [online]. 1980-11-1, s. 1033-1043 [cit. 2015-03-01]. ISSN 0021-9738. DOI: 10.1172/JCI109931. Dostupné z: <<http://www.jci.org/articles/view/109931>>.

GHANIMA, W.; ABDELNOOR, M.; MOWINCKEL, M.-C. a SANDSET, P. M.. The performance of STA-Liatest D-dimer assay in out-patients with suspected pulmonary embolism. *British Journal of Haematology*. 2006, vol. 132, issue 2, s. 210-215. DOI:

10.1111/j.1365-2141.2005.05859.x. Dostupné z: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2141.2005.05859.x>> .

GREGORA, Martin a Miloš VELEMÍNSKÝ. *Čekáme dítětko*. 2., aktualiz. vyd. Praha: Grada, 2013, s. 35. ISBN 978-80-247-3781-2.

HÁJEK, Zdeněk, Evžen ČECH a Karel MARŠÁL. *Porodnictví*. 3., zcela přeprac. a doplň. vyd. Praha: Grada, 2014, s. 32-34. ISBN 9788024745299.

HANDIN, Robert I.; LUX, Samuel E. a STOSSEL, Thomas P. *Blood: principles and practice of hematology*. 2nd ed. Philadelphia, Pa.: Lippincott Williams, c2003, s. 967-968. ISBN 0781719933

HARRIS, James R. *Megakaryocytes, platelets, macrophages, and eosinophils*. New York: Plenum Press, c1991, s. 114. ISBN 0306435446.

HEIDRUN, Muth. Siemens Healthcare Diagnostics. Age-dependent specificity of INNOVANCE® D-Dimer for exclusion of venous thromboembolism (VTE). 2010.

HEIM, S. W. D-Dimer Testing for Deep Venous Thrombosis: A Metaanalysis. *Clinical Chemistry* [online]. 2004-04-29, vol. 50, issue 7, s. 1136-1147 [cit. 2015-03-10]. DOI: 10.1373/clinchem.2004.031765.

Dostupné z: <<http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2004.031765>>.

HELLGREN, Margareta. Hemostasis during Normal Pregnancy and Puerperium. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* [online]. 2003, vol. 29, issue 2, s. 125-130 [cit. 2014-10-20]. DOI: 10.1055/s-2003-38897. Dostupné z: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12709915>>.

HERAK, Desiree Coen; MILOS, Marija a ZADRO, Renata. Evaluation of the Innovance D-DIMER analytical performance. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [online]. 2009-01-01, vol. 47, issue 8, s. - [cit. 2015-03-11]. DOI: 10.1515/CCLM.2009.219. Dostupné z:<<http://www.degruyter.com/view/j/cclm.2009.47.issue-8/cclm.2009.219/cclm.2009.219.xml>>.

HOFFMAN, Maureane a MONROE III., Dougald M. A Cell-based Model of Hemostasis. *Journal of Trombosis and Haemostasis* [online]. 2011, č. 85, s. 958-965 [cit. 2014-11-06]. DOI:0340-6245.

Dostupné z: <<http://th.schattauer.de/en/contents/archive/issue/871/manuscript/2773.html>>.

HUANG, J. N. a KOERPER, M. A.. Factor V deficiency: a concise review. *Haemophilia* [online]. 2008, vol. 14, issue 6, s. 1164-1169 [cit. 2014-11-06]. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01785.x. Dostupné z:<<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2516.2008.01785.x>>.

CHRISTOFIDES ND; GHATEI MA; BLOOM SR; BORGER C; GILLMER MD. Decreased plasma motilin concentrations in pregnancy. *British Medical Journal (Clinical research ed)*. 1982;285(6353):1453-1454.

KABRHEL, Christopher, D.; COURTNEY, Mark; CAMARGO, Carlos A.; PLEWA, Michael C.; NORDENHOLZ, Kristen E.; MOORE, Christopher L.; RICHMAN, Peter B.; SMITHLINE, Howard A.; BEAM, Daren M. a KLINE, Jeffrey A.. Factors Associated With Positive D-dimer Results in Patients Evaluated for Pulmonary Embolism. *Academic Emergency Medicine*. 2010, vol. 17, issue 6, s. 589-597. DOI: 10.1111/j.1553-2712.2010.00765.x. Dostupné z:<<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1553-2712.2010.00765.x>>.

KHALAFALLAH, Alhossain A.; MORSE, Michael; AL-BARZAN, Abdul-Majeed; ADAMS, Murray; DENNIS, Amanda; BATES, Gerald; ROBERTSON, Iain; SEATON, David a BRAIN, Terry. D-Dimer levels at different stages of pregnancy in Australian women: A single centre study using two different immunoturbidimetric assays. *Thrombosis Research* [online]. 2012, vol. 130, issue 3, e171-e177 [cit. 2015-03-27]. DOI: 10.1016/j.thromres.2012.05.022.

KING, Michael W. *Platelet Activation and von Willebrand Factor (vWF)* [online]. 1996-2013, 13. 12. 2013 [cit. 2014-11-03]. Dostupné z: < <http://themedicalbiochemistrypage.org/blood-coagulation.php>>.

KITTNAR, Otomar. *Lékařská fyziologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011, s. 145-152. ISBN 9788024730684.

KISIEL, Walter; FUJIKAWA, Kazuo a DAVIE, Earl W.. Activation of bovine factor VII (proconvertin) by factor XIIa (activated Hageman factor). *Biochemistry* [online]. 1977, vol. 16, issue 19, s. 4189-4194 [cit. 2014-11-06]. DOI: 10.1021/bi00638a009. Dostupné z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi00638a009>>.

KOMÁROMI, I.; BAGOLY, Z. a MUSZBEK, L. Factor XIII: novel structural and functional aspects. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* [online]. 2011, vol. 9, issue 1, s. 9-20 [cit.2014-11-13]. DOI:10.1111/j.1538-7836.2010.04070.x. Dostupné z:< <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1538-7836.2010.04070.x>>.



- KOPŘIVOVÁ, Olga. *Laboratorní příručka*. Nemocnice České Budějovice, 2013.
- KOTLÝN, Roman a DYR, Jan E. Fibrinogen. In: *Chemické listy* [online]. Praha: Česká společnost chemická, 2008 [cit. 2014-11-06]. ISBN 0009-2770ISSN 0009-2770. Dostupné z: <[http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008\\_04\\_238-244.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008_04_238-244.pdf)>.
- KOVAC, Mirjana; MIKOVIC, Zeljko; RAKICEVIC, Ljiljana; SRZENTIC, Snezana; MANDIC, Vesna; DJORDJEVIC, Valentina; RADOJKOVIC, Dragica a ELEZOVIC, Ivo. The use of D-dimer with new cutoff can be useful in diagnosis of venous thromboembolism in pregnancy. *European Journal of Obstetrics*. 2010, vol. 148, issue 1, s. 27-30. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2009.09.005.
- KUMAR, Vinaz; ABBAS, Abul K a ASTER, Jon C. *Robbins basic pathology*. 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, c2013, s. 83-86. ISBN 080892432x.
- KUZMANN, E.; Siemens Healthcare Diagnostics. *Innovance® D-DIMER data from pregnant women*. 2006.
- LEIFER, Gloria. *Úvod do porodnického a pediatrického ošetřovatelství*. 1. vyd. Praha: Grada, 2004, s. 243-245. ISBN 8024706687.
- LEYTUS, Steven P.; FOSTER, Donald C.; KURACHI, Kotoku a DAVIE, Earl W. Gene for human factor X: a blood coagulation factor whose gene organization is essentially identical with that of factor IX and protein C. *Biochemistry* [online]. 1986, vol. 25, issue 18, s. 5098-5102 [cit. 2014-11-13]. DOI: 10.1021/bi00366a018. Dostupné z: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi00366a018>>.
- LINDOVSKÁ SCHACHERLOVÁ, Veronika. *Laboratorní příručka LHEM*. Nemocnice České Budějovice, 2013.
- LOWE, Gordon D. O. Factor IX and thrombosis. *British Journal of Haematology* [online]. 2001, vol. 115, issue 3, s. 507-513 [cit. 2014-11-07]. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.03186.x. Dostupné z: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2141.2001.03186.x>>.
- MAREK, Josef. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. 4., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2010, s. 265-267. ISBN 9788024726397.
- MANNUCCI, Mannuccio; VIGANO, Pier a Silvana. Deficiencies of protein C, an inhibitor of blood coagulation. *The Lancet* [online]. 1982, vol. 320, issue 8296, s. 463-467 [cit. 2014-

11-24]. DOI: 10.1016/S0140-6736(82)90494-9. Dostupné z:  
<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673682904949>>.

MUNKER, Reinhold; PAQUETTE, Ronald a HILLER, Erhard. *Modern hematology: biology and clinical management*. 2nd ed. Totowa, N.J.: Humana Press, c2006, s. 327-335. ISBN 1597451495.

PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu: fyziologie a patofyziologie hemostázy*. 1. vyd. Český Těšín: FINIDR, 2004. ISBN 80-866-8203-X.

PENKA, Miroslav. *Hematologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2001, 201 s. ISBN 80-247-0023-9.

PENKA, Miroslav a TESAŘOVÁ Eva. *Hematologie a transfuzní lékařství*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011, 421 s., 30, 8, 23 s. obr. příl. ISBN 978-802-4734-590.

RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie*. 2., přeprac. vyd. Praha: Galén, 2006, s. 23-31. ISBN 80-726-2324-9.

RODAK, Bernadette F; FRITSMA, George A a KEOHANE, Elaine M. *Hematology: clinical principles and applications*. 4th ed. St. Louis, Mo.: Elsevier Saunders, c2012, s. 629-635. ISBN 9781437706925.

ROUČKOVÁ, Naďa. *Kvantitativní automatizované stanovení hladiny D dimerů*. Nemocnice České Budějovice, 2007.

ROZTOČIL, Aleš. *Moderní porodnictví*. 1. vyd. Praha: Grada, 2008, s. 96-100. ISBN 9788024719412.

SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS. *Aplikační list Innovance D-dimer*. Marburg, 2013.

SMEJKAL, P.; MATÝŠKOVÁ M. a PENKA M. Von Willebrandova choroba. *Vnitřní lékařství*. 2008, č. 54, s. 257-264. Dostupné z:< [http://www.prolekare.cz/pdf?ida=v1\\_08\\_03\\_07.pdf](http://www.prolekare.cz/pdf?ida=v1_08_03_07.pdf)>.

SMITH, Stephanie A. The cell-based model of coagulation. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* [online]. 2009, vol. 19, issue 1, s. 3-10 [cit. 2014-11-06]. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2009.00389.x.

Dostupné z: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1476-4431.2009.00389.x/full>>.

ŠEBLOVÁ, Jana a KNOR, Jiří. *Urgentní medicína v klinické praxi lékaře*. 1. vyd. Praha: Grada, 2013, s. 65-69. ISBN 978-802-4744-346.

TOMAN, Miroslav. *Veterinární imunologie*. 2., dopl. a aktualiz. vyd. Praha: Grada, 2009, s. 67-68. ISBN 978-80-247-2464-5.

VIKLICKÝ, Ondřej; JANOUŠEK, Libor a BALÁŽ Peter. *Transplantace ledviny v klinické praxi*. 1. vyd. Praha: Grada, 2008, 380 s. ISBN 978-802-4724-553.

VOJÁČEK, Jan. *Arteriální a žilní trombóza v klinické praxi*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, c2004, s. 45-50. ISBN 802470501x.

WANG, Min; LU, Shiming; LI, Shuai a SHEN, Fengxian. Reference intervals of D-dimer during the pregnancy and puerperium period on the STA-R evolution coagulation analyzer. *Clinica Chimica Acta*. 2013, vol. 425, s. 176-180. DOI: 10.1016/j.cca.2013.08.006.

YEE, Vivien C; PRATT, Kathleen P; CÔTÉ, Hélène CF; TRONG, Isolde Le; CHUNG, Dominic W; DAVIE, Earl W; STENKAMP, Ronald E a TELLER, David C. Crystal structure of a 30 kDa C-terminal fragment from the  $\gamma$  chain of human fibrinogen. *Structure* [online]. 1997, vol. 5, issue 1, s. 125-138 [cit. 2015-03-10]. DOI: 10.1016/S0969-2126(97)00171-8. Dostupné z: <[http://www.cell.com/structure/abstract/S0969-2126\(97\)00171-8?\\_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0969212697001718%3Fshowall%3Dtrue](http://www.cell.com/structure/abstract/S0969-2126(97)00171-8?_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0969212697001718%3Fshowall%3Dtrue)>.

YIP, Jana; SHEN, Yang; BERNDT, Michael a ANDREWS, Robert. Primary Platelet Adhesion Receptors. *IUBMB Life (International Union of Biochemistry and Molecular Biology: Life)* [online]. 2005-2-1, vol. 57, issue 2, s. 103-108 [cit. 2014-10-21]. DOI: 10.1080/15216540500078962.

Dostupné z: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1080/15216540500078962/epdf>>.

# 10. Přílohy

## Seznam příloh:

Příloha 1.: Žádanka na koagulační vyšetření

Příloha 2.: Analyzovaná data 1. pol. 2013 – D-di liatest

Příloha 3.: Analyzovaná data 1. pol. 2014 – Innovance D-di

### Příloha 1: Žádanka na koagulační vyšetření

Přijato:

<b>NEMOCNICE ČESKÉ BUDĚJOVICE, a.s. – CENTRÁLNÍ LABORATOŘE</b> LABORATOŘ HEMATOLOGIE B. Němcové 54, 370 01 České Budějovice Tel.: 38 787 3561, www.nemcb.cz	
<b>HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ</b>	
Číslo pojistěnce:	ZP: <input type="checkbox"/> STATIM
Příjmení, Jméno:	Pohlaví: (zaškrtněte)
Oddělení:	Tel:
Dg:	Odebrat/la:
<b>BIOLOGICKÝ MATERIÁL</b> Odběr: (3)	
Datum a čas odběru: .....	
<b>Základní koagulace</b> <input type="checkbox"/> Quick <input type="checkbox"/> aPTT <input type="checkbox"/> Trombinový čas <input type="checkbox"/> Fibrinogen <input type="checkbox"/> Antitrombin III  <input type="checkbox"/> D – dimery  <b>Antikoagulační léčba</b> <input type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/> ANO, pokud je zaškrtnuto, doplňte název léku .....  <b>Vyš. hyperkoagulačních stavů-2 zkumavky</b> <input type="checkbox"/> Antitrombin III <input type="checkbox"/> Protein C † <input type="checkbox"/> Protein S † <input type="checkbox"/> APC rezistence † <input type="checkbox"/> Faktor VIII † <input type="checkbox"/> Lupus antikoagulans † <input type="checkbox"/> D – dimery  <b>Antikoagulační léčba – spec.vyšetření</b> <input type="checkbox"/> anti Xa <input type="checkbox"/> Dabigatran *** <input type="checkbox"/> Rivaroxaban ***	<b>Vyš. při prodlouženém Quick</b> <input type="checkbox"/> Faktor VII † <input type="checkbox"/> Faktor II † <input type="checkbox"/> Faktor V † <input type="checkbox"/> Faktor IX † <input type="checkbox"/> Faktor X † <input type="checkbox"/> Inhibitor – směsný test †  <b>Vyš. při prodlouženém aPTT</b> <input type="checkbox"/> Faktor VIII † <input type="checkbox"/> Faktor IX † <input type="checkbox"/> Faktor XI † <input type="checkbox"/> Faktor XII † <input type="checkbox"/> Faktor X † <input type="checkbox"/> Faktor von Willebrand † <input type="checkbox"/> Inhibitor- směsný test †  <b>Speciální koagulační vyšetření</b> <input type="checkbox"/> Reptilázový čas *** <input type="checkbox"/> Fibrin monomery *** <input type="checkbox"/> Inhibitor f. VIII - kvantitativně *** <input type="checkbox"/> Faktor XIII ***  <b>Vyš. trombocytárních funkcí</b> <input type="checkbox"/> Krvácivost ** <input type="checkbox"/> Faktor von Willebrand †  <b>Vyšetření trombolýzy</b> <input type="checkbox"/> D – dimery <input type="checkbox"/> Euglobulinová fibrinolýza ***
<b>PODMÍNKY ODBĚRU</b>	<b>RAZÍTKO ODDĚLENÍ, JMÉNO LÉKAŘE</b>
(3) modrá vakueta – nesrážlivá krev (CITRÁT) ** odběr pouze na Ambulanci klinické hematologie *** pouze po domluvě † bez telefonické domluvy výsledek do 14 dnů	

(Zdroj: <http://www.nemcb.cz/oddeleni/laborator-hematologie>)

**Příloha 2.:** Analyzovaná data 1. pol. 2013 – D-di liatest

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-d (ng/ml)	D-di (µg/ml)
19.Kk-0392	19.02.2013	6455040406	N			148	0,148
26.Kk-0600	26.02.2013	6456242200	N			242	0,242
06.Kk-0262	06.05.2013	6552081680	N			55	0,055
21.Kk-0934	21.05.2013	6562300548	N			106	0,106
16.Kk-0067	16.04.2013	6651281715	N			348	0,348
02.Kk-0481	02.04.2013	6758111823	N			128	0,128
05.Kk-0457	05.06.2013	6759021160	N			405	0,405
15.Kk-0474	15.01.2013	6857080561	N	A		400	0,4
25.Kk-0426	25.02.2013	6959171374	N			176	0,176
22.Kk-0757	22.01.2013	7052091388	N			170	0,17
19.Kk-0196	19.03.2013	7053241878	N			18	0,018
28.Kk-0016	28.05.2013	7058232985	N			58	0,058
16.Kk-0051	16.04.2013	7059233017	N			55	0,055
28.Kk-0668	28.01.2013	7153121427	N			102	0,102
28.Kk-0027	28.05.2013	7158135579	N			0	0
26.Kk-0606	26.02.2013	7252281499	N			1184	1,184
15.Kk-0486	15.01.2013	7254121623	N			1186	1,186
08.Kk-0250	08.01.2013	7259191369	A	A	14	196	0,196
12.Kk-0955	12.03.2013	7259191369			22	203	0,203
07.Kk-0502	07.05.2013	7259191369			30	181	0,181
11.Kk-0868	11.02.2013	7260101828	N			116	0,116
16.Kk-0020	16.04.2013	7261271887	N			1401	1,401
07.Kk-0084	07.01.2013	7361251415	N			37	0,037
04.Kk-0526	04.03.2013	7361251415	N			134	0,134
07.Kk-0003	07.01.2013	7557241374	A		18	400	0,4
20.Kk-0590	20.02.2013	7557241374			24	403	0,403
16.Kk-0064	16.04.2013	7557241374			32	443	0,443
28.Kk-0044	28.05.2013	7557241374			38	342	0,342
19.Kk-0870	19.06.2013	7558011385	N			106	0,106
18.Kk-0716	18.06.2013	7651301373	A		21	594	0,594
18.Kk-0166	18.02.2013	7652231896	A	A	30	503	0,503
26.Kk-0472	26.03.2013	7652231896			36	826	0,826
29.Kk-0890	29.01.2013	7653021894	A		16	89	0,089
02.Kk-0576	02.04.2013	7653021894			25	180	0,18
04.Kk-0295	04.06.2013	7653021894			34	222	0,222
22.Kk-0036	22.04.2013	7654201765	A		14	248	0,248
28.Kk-0026	28.05.2013	7654201765			19	697	0,697
11.Kk-0535	11.06.2013	7654201765			22	1045	1,045
02.Kk-0574	02.04.2013	7657121374	N			141	0,141
04.Kk-0538	04.03.2013	7660191375	A		20	965	0,965
02.Kk-0560	02.04.2013	7660191375			24	1167	1,167

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-d (ng/ml)	D-di (µg/ml)
07.Kk-0077	07.01.2013	7660241381	N			1336	1,336
26.Kk-0456	26.03.2013	7662291396	N			74	0,074
25.Kk-0851	25.06.2013	7751141872	N			70	0,07
10.Kk-0301	10.06.2013	7752171560	N			896	0,896
24.Kk-0654	24.06.2013	7755011661	N			199	0,199
24.Kk-0615	24.06.2013	7755174274	N			0	0
03.Kk-0365	03.01.2013	7758221428	N			37	0,037
22.Kk-0051	22.04.2013	7758230580	N			126	0,126
11.Kk-0820	11.01.2013	7760041873	A		21	209	0,209
12.Kk-0363	12.04.2013	7760041873			35	564	0,564
03.Kk-0910	03.05.2013	7760041873			37	574	0,574
28.Kk-0082	28.05.2013	7851023951	N			70	0,07
04.Kk-0309	04.06.2013	7851131366	A		11	622	0,622
24.Kk-0633	24.06.2013	7851131366			14	153	0,153
12.Kk-0026	12.03.2013	7851161737	A		9	77	0,077
07.Kk-0509	07.05.2013	7851161737			17	0	0
07.Kk-0236	07.03.2013	7852131794	N			106	0,106
04.Kk-0849	04.02.2013	7853091786	N			60	0,06
25.Kk-0269	25.03.2013	7853151395	N			114	0,114
18.Kk-0711	18.06.2013	7853151395	N			199	0,199
12.Kk-0144	12.02.2013	7854101432	N	A		547	0,457
18.Kk-0021	18.03.2013	7854101432				32	0,032
11.Kk-0934	11.02.2013	7854285242	A		32	454	0,454
19.Kk-0262	19.03.2013	7854285242			37	684	0,684
14.Kk-0222	14.01.2013	7856171874	A	A	14	116	0,116
05.Kk-0816	05.03.2013	7856171874			22	1300	1,3
23.Kk-0278	23.04.2013	7856171874			30	1220	1,22
27.Kk-0844	27.05.2013	7856171874			35	1295	1,295
25.Kk-0852	25.06.2013	7856171874			38	1511	1,511
14.Kk-0630	14.05.2013	7858292069	A		13	130	0,13
11.Kk-0520	11.06.2013	7858292069			18	233	0,233
08.Kk-0235	08.01.2013	7860291396	A		21	222	0,222
05.Kk-0774	05.03.2013	7860291396			29	242	0,224
06.Kk-0263	06.05.2013	7860291396			38	261	0,261
29.Kk-0886	29.01.2013	7862031409	N			0	0
02.Kk-0247	02.01.2013	7862141398	A		11	6	0,006
13.Kk-0159	13.03.2013	7862141398			20	0	0
19.Kk-0861	19.06.2013	7862141398			35	0	0
04.Kk-0281	04.06.2013	7862281890	N			555	0,555
19.Kk-0385	19.02.2013	7951280602	N			414	0,414
29.Kk-0875	29.01.2013	7954010725	A		30	654	0,654
26.Kk-0462	26.03.2013	7954010725			37	1123	1,123
29.Kk-0889	29.01.2013	7955181389	A		36	1054	1,054

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-d (ng/ml)	D-di (µg/ml)
26.Kk-0794	26.04.2013	7955181389	N			84	0,084
14.Kk-0616	14.05.2013	7955240789	N			233	0,233
15.Kk-0464	15.01.2013	7958131787	A	A	27	0	0
05.Kk-0826	05.03.2013	7958131787			35	268	0,268
12.Kk-0004	12.03.2013	7962211654	A		21	343	0,343
28.Kk-0001	28.05.2013	7962211654			32	545	0,545
07.Kk-0496	07.05.2013	7962271373	N			181	0,181
19.Kk-0244	19.03.2013	8052191566	A	A	14	114	0,114
14.Kk-0617	14.05.2013	8052191566			21	288	0,288
18.Kk-0703	18.06.2013	8054081553	N			555	0,555
26.Kk-0564	26.02.2013	8054222683	N			106	0,106
29.Kk-0876	29.01.2013	8055191827	A		29	247	0,247
14.Kk-0375	14.03.2013	8055191827			31	489	0,489
27.Kk-0843	27.05.2013	8058141521	N			22	0,22
17.Kk-0479	17.06.2013	8059111391	N			58	0,58
21.Kk-0928	21.05.2013	8059241367	A		31	277	0,277
18.Kk-0726	18.06.2013	8059241367			35	352	0,352
21.Kk-0669	21.03.2013	8061291844	A			337	0,377
28.Kk-0056	28.05.2013	8062041505	N			83	0,083
29.Kk-0202	29.04.2013	8062171569	A		36	324	0,324
20.Kk-0712	20.05.2013	8062171569			38	277	0,277
11.Kk-0770	11.03.2013	8062248580	A		5	437	0,437
16.Kk-0029	16.04.2013	8062248580			11	140	0,14
09.Kk-0754	09.04.2013	8151311840	N			114	0,114
02.Kk-0592	02.04.2013	8152051370	N			154	0,154
24.Kk-0051	24.01.2013	8152111837	A	A	24	247	0,247
19.Kk-0252	19.03.2013	8152111837			35	765	0,765
23.Kk-0259	23.04.2013	8152121561	N			348	0,348
20.Kk-0713	20.05.2013	8158301394	N			0	0
12.Kk-0011	12.03.2013	8160081513	N			106	0,106
23.Kk-0267	23.04.2013	8161041384	N			360	0,36
30.Kk-0422	30.04.2013	8161171844	A		9	208	0,208
25.Kk-0865	25.06.2013	8161171844			17	188	0,188
25.Kk-0866	25.06.2013	8251271370	N			1415	1,415
29.Kk-0887	29.01.2013	8252281401	N			0	0
23.Kk-0251	23.04.2013	8254143987	A	A	17	181	0,181
25.Kk-0867	25.06.2013	8254143987			26	222	0,222
29.Kk-0198	29.04.2013	8254291838	N			195	0,195
02.Kk-0231	02.01.2013	8255201736	N			0	0
08.Kk-0254	08.01.2013	8256081747	N			517	0,517
08.Kk-0264	08.01.2013	8256141411	A		19	0	0
02.Kk-0593	02.04.2013	8256141411			31	0	0
06.Kk-0315	06.05.2013	8256141411			36	84	0,084

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-d (ng/ml)	D-di (µg/ml)
28.Kk-0682	28.01.2013	8256142181	N	A		209	0,209
06.Kk-0314	06.05.2013	8256142181				181	0,181
28.Kk-0043	28.05.2013	8256261399	N			860	0,86
19.Kk-0415	19.02.2013	8258071372	N			62	0,062
08.Kk-0393	08.03.2013	8259102457	N			91	0,091
15.Kk-0899	15.05.2013	8259233082	A		24	106	0,106
25.Kk-0875	25.06.2013	8259233082			30	130	0,13
26.Kk-0473	26.03.2013	8259281614	A	A	27	154	0,154
09.Kk-0822	09.05.2013	8259281614			32	288	0,288
19.Kk-0394	19.02.2013	8261252143	A	A	23	148	0,148
16.Kk-0059	16.04.2013	8261252143			31	208	0,208
10.Kk-0306	10.06.2013	8262021373	N			130	0,13
26.Kk-0424	26.03.2013	8262021384	N			74	0,074
21.Kk-0882	21.05.2013	8262031581	N			456	0,456
25.Kk-0874	25.06.2013	8354192463	N			142	0,142
21.Kk-0691	21.03.2013	8354252138	N			192	0,192
03.Kk-0083	03.06.2013	8355092725	N			34	0,034
12.Kk-0134	12.02.2013	8356091371	N			89	0,089
25.Kk-0391	25.02.2013	8356121555	A		21	134	0,134
16.Kk-0105	16.05.2013	8356121555			25	331	0,331
04.Kk-0864	04.02.2013	8356161749	N			400	0,4
29.Kk-0865	29.01.2013	8356252136	N			377	0,377
08.Kk-0274	08.01.2013	8357170218	N			319	0,319
15.Kk-0463	15.01.2013	8359091808	N			156	0,156
04.Kk-0254	04.06.2013	8362171434	N			70	0,07
28.Kk-0018	28.05.2013	8362261370	N			118	0,118
29.Kk-0203	29.04.2013	8453142193	N			273	0,273
08.Kk-0266	08.01.2013	8455161606	N			296	0,296
18.Kk-0732	18.06.2013	8462111406	N			58	0,058
18.Kk-0027	18.03.2013	8551011525	N	A		60	0,06
08.Kk-0573	08.04.2013	8551011525				0	0
30.Kk-0420	30.04.2013	8551011525				55	0,055
12.Kk-0020	12.03.2013	8554291890	N			294	0,294
12.Kk-0115	12.02.2013	8558081577	A	A	26	234	0,234
16.Kk-0043	16.04.2013	8558081577			35	360	0,36
14.Kk-0580	14.05.2013	8558131528	N			118	0,118
16.Kk-0069	16.04.2013	8559012166	N			11	0,011
12.Kk-0135	10.02.2013	8559101937	N			283	0,283
21.Kk-0883	21.05.2013	8559101937				331	0,331
28.Kk-0035	28.05.2013	8562251512	N			94	0,094
18.Kk-0162	18.02.2013	8656251528	A	A	10	255	0,255
09.Kk-0794	09.04.2013	8656251528			17	479	0,479
28.Kk-0037	28.05.2013	8656261934	N			565	0,565



Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-d (ng/ml)	D-di (µg/ml)
16.Kk-0068	16.04.2013	8656301622	A	A	18	431	0,431
11.Kk-0525	11.06.2013	8656301622			26	594	0,594
08.Kk-0236	08.01.2013	8659171511	N			32	0,032
12.Kk-0119	12.02.2013	8659241768	A	A	31	663	0,663
19.Kk-0260	19.03.2013	8659241768			36	550	0,55
05.Kk-0201	05.04.2013	8661191848	N			74	0,074
05.Kk-0238	05.04.2013	8753081910	N			314	0,314
21.Kk-0862	21.05.2013	8754081513	N			9	0,009
14.Kk-0063	14.06.2013	8756051690	N			58	0,058
29.Kk-0891	29.01.2013	8757031515	A		28	465	0,465
02.Kk-0584	02.04.2013	8757031515			38	325	0,325
19.Kk-0327	19.02.2013	8757161535	N			77	0,077
19.Kk-0416	19.02.2013	8760794340	N			343	0,347
22.Kk-0026	22.04.2013	8851252510	A	A	32	909	0,909
16.Kk-0113	16.05.2013	8851252510			35	1107	1,107
10.Kk-0283	10.06.2013	8854071678	N			255	0,255
03.Kk-0088	03.06.2013	8856014113	N			456	0,456
15.Kk-0458	15.01.2013	8856101519	A		20	0	0
26.Kk-0631	26.02.2013	8856101519			27	0	0
12.Kk-0956	12.03.2013	8953071480	N			62	0,062
30.Kk-0380	30.04.2013	8953211466	A	A	19	532	0,532
17.Kk-0250	17.05.2013	8953211466			22	584	0,584
05.Kk-0835	05.03.2013	8954101619	N			216	0,216
11.Kk-0782	11.03.2013	8962261870	N			120	0,12
16.Kk-0002	16.04.2013	9052071667	N			70	0,07
02.Kk-0493	02.04.2013	9055181818	N			114	0,114
21.Kk-0817	21.02.2013	9056051445	N			106	0,106
19.Kk-0234	19.03.2013	9056091452	N			437	0,437
14.Kk-0606	14.05.2013	9057141468	N			130	0,13
19.Kk-0243	19.03.2013	9057271499	N			18	0,018
04.Kk-0260	04.06.2013	9059081450	N			46	0,046
21.Kk-0787	21.02.2013	9059171452	N			91	0,091
12.Kk-0985	12.03.2013	9060021851	N			106	0,106
19.Kk-0404	19.02.2013	9060191493	A		19	62	0,062
16.Kk-0052	16.04.2013	9060191493			26	112	0,112
04.Kk-0310	04.06.2013	9060191493			34	210	0,21
07.Kk-0540	07.05.2013	9152051624	N			70	0,07
27.Kk-0738	27.05.2013	9152281502	N			153	0,153
11.Kk-0493	11.06.2013	9161301447	N			222	0,222
30.Kk-0352	30.04.2013	9161301458	N			70	0,07
15.Kk-0792	15.04.2013	9205131453	N			126	0,126
20.Kk-0707	20.05.2013	9205131453	N			83	0,083
29.Kk-0888	29.01.2013	9255271906	A		21	433	0,433

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-d (ng/ml)	D-di (µg/ml)
09.Kk-0773	09.04.2013	9255271906			34	765	0,765
05.Kk-0814	05.03.2013	9352185107	N			162	0,162
29.Kk-0856	29.01.2013	9359011443	N			102	0,102
25.Kk-0850	25.06.2013	9451151447	N			142	0,142
19.Kk-0273	19.03.2013	9452021932	N			192	0,192
25.Kk-0818	25.06.2013	9454221514	N			58	0,058
23.Kk-0244	23.04.2013	9458011443	N			70	0,07
25.Kk-0253	25.03.2013	9460151834	A		25	580	0,58
07.Kk-0504	07.05.2013	9460151834			34	574	0,574
07.Kk-0529	07.05.2013	9461091608	N			98	0,098
20.Kk-0558	20.02.2013	9461303094	N			229	0,229
25.Kk-0830	25.06.2013	9755241486	N			394	0,394

Příloha 3.: Analyzovaná data 1. pol. 2014 – Innovance D-di

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-di (µg/ml)
06.Kk-0803	06.05.2014	6456242200	N			0,73
16.Kk-0673	16.01.2014	6553017076	N			0,95
08.Kk-0892	08.04.2014	6662120664	N			0,4
25.Kk-0339	25.03.2014	6859071473	N			0,47
05.Kk-0559	05.05.2014	7058071373	N			0,55
18.Kk-0806	18.04.2014	7061121827	N			0,28
18.Kk-0147	18.03.2014	7151071390	N			0,12
14.Kk-0252	14.01.2014	7151121891	A		13	3,46
11.Kk-0935	11.03.2014	7151121891			21	0,89
06.Kk-0815	06.05.2014	7151121891			29	1,56
17.Kk-0114	17.06.2014	7151121891			35	3,49
01.Kk-0641	01.04.2014	7159111807	N			5,05
20.Kk-0529	20.03.2014	7254031379	N			0,27
10.Kk-0834	10.06.2014	7257212403	N			0,1
22.Kk-0284	22.04.2014	7259300104	N			0,59
06.Kk-0801	06.01.2014	7353111415	A		33	0,33
03.Kk-0701	03.02.2014	7353111415			37	0,92
01.Kk-0654	01.04.2014	7353261378	N			1,54
23.Kk-0043	23.06.2014	7356133841	N			0,13
25.Kk-0405	25.02.2014	7358031594	N			0,53
04.Kk-0919	04.02.2014	7453261872	N			0,26
07.Kk-0390	07.03.2014	7454013645	N			0,28
14.Kk-0209	14.01.2014	7454091734	N			0,53
13.Kk-0962	13.05.2014	7455076146	N			0,21
01.Kk-0633	01.04.2014	7456091402	N			0,48

<b>Ident.</b>	<b>Datum odb.</b>	<b>Rod. Číslo</b>	<b>Gravidita</b>	<b>LVF</b>	<b>Týden gravidity</b>	<b>D-di (µg/ml)</b>
27.Kk-0437	27.05.2014	7456262474	N			0,14
22.Kk-0363	22.04.2014	7457171569	N			0,64
14.Kk-0194	14.01.2014	7457271504	A		13	0,59
18.Kk-0167	18.02.2014	7457271504			18	0,55
25.Kk-0335	25.03.2014	7457271504			22	0,66
17.Kk-0044	17.06.2014	7457271504			35	1
28.Kk-0769	28.01.2014	7461160840	N			1,66
08.Kk-0891	08.04.2014	7553021389	N			0,79
29.Kk-0661	29.04.2014	7554291757	N			0,51
15.Kk-0484	15.01.2014	7556271570	A		5	0,19
14.Kk-0444	14.03.2014	7556271570			14	0,33
11.Kk-0034	11.06.2014	7556271570			26	0,35
25.Kk-0412	25.02.2014	7557087077	A		26	1,12
24.Kk-0111	24.03.2014	7557087077			30	3,51
28.Kk-0383	28.04.2014	7557087077			35	3,85
18.Kk-0213	18.02.2014	7558295999	A		25	4,4
01.Kk-0655	01.04.2014	7558295999			30	3,51
13.Kk-0003	13.05.2014	7558295999			36	5,8
23.Kk-0146	23.06.2014	7562161366	N			6,74
29.Kk-0578	29.04.2014	7610534394	N			1,04
02.Kk-0390	02.06.2014	7651022215	N			0,24
06.Kk-0758	06.01.2014	7651091845	N			0,34
08.Kk-0910	08.04.2014	7653012126	N			0,37
03.Kk-0595	03.06.2014	7655181381	N			0,48
10.Kk-0672	10.01.2014	7657051832	N			0,09
25.Kk-0277	25.03.2014	7657171435	N			1,66
31.Kk-0462	31.03.2014	7659111582	A		9	0,53
06.Kk-0813	06.05.2014	7659111582			14	0,1
29.Kk-0610	29.04.2014	7661021380	N			0,11
21.Kk-0543	21.01.2014	7751021400	A		17	0,27
13.Kk-0005	13.05.2014	7751021400			33	0,37
16.Kk-0877	16.06.2014	7751021400			38	0,57
16.Kk-0870	16.06.2014	7751021554	N			0,96
13.Kk-0030	13.01.2014	7751221391	A		22	1,53
25.Kk-0369	25.03.2014	7751221391			32	0,92
28.Kk-0766	28.01.2014	7754181370	N			1,63
14.Kk-0247	14.01.2014	7755161426	N			0,23
11.Kk-0929	11.03.2014	7755251824	N			1,07
03.Kk-0586	03.06.2014	7755251824	A		11	0,18
18.Kk-0024	18.03.2014	7756161370	N			0,39
27.Kk-0440	27.05.2014	7758230580	N			0,8
04.Kk-0910	04.02.2014	7760091373	A		17	0,54
29.Kk-0639	29.04.2014	7760091373			29	0,91

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-di (µg/ml)
17.Kk-0112	17.06.2014	7760091373			37	1,24
03.Kk-0707	03.02.2014	7760211504	N			1,98
18.Kk-0083	18.03.2014	7851031376	N			1,74
07.Kk-0006	07.01.2014	7852111389	N			2,06
21.Kk-0542	21.01.2014	7852142607	A		34	2,09
17.Kk-0950	17.02.2014	7852142607			39	2,08
10.Kk-0900	10.06.2014	7853021408	N			2,82
11.Kk-0574	11.04.2014	7854221640	N			1,81
14.Kk-0262	14.01.2014	7855081400	A		15	1,77
18.Kk-0118	18.03.2014	7855081400			24	1,23
22.Kk-0329	22.04.2014	7855081400			29	2,65
02.Kk-0446	02.06.2014	7855081400			36	2,89
03.Kk-0708	03.02.2014	7856011538	A		17	3,55
18.Kk-0096	18.03.2014	7856011538			23	0,72
13.Kk-0979	13.05.2014	7856011538			32	0,73
09.Kk-0654	09.06.2014	7856011538			36	1,06
13.Kk-0029	13.01.2014	7856032075	A		29	1,64
11.Kk-0926	11.03.2014	7856032075			37	0,76
04.Kk-0911	04.02.2014	7857081365	A		26	1,04
08.Kk-0907	08.04.2014	7857081365			35	1,71
30.Kk-0370	30.06.2014	7858091616	N			1,68
24.Kk-0131	24.02.2014	7860311570	N			0,67
17.Kk-0552	17.04.2014	7951301392	N			0,14
14.Kk-0256	14.01.2014	7952231552	N			0,44
15.Kk-0154	15.04.2014	7955035232	A		27	1,76
26.Kk-0160	26.05.2014	7955035232			33	2,35
23.Kk-0134	23.06.2014	7955035232			37	2,62
17.Kk-0079	17.06.2014	7955071422	N			2,91
25.Kk-0414	25.03.2014	7955261381	N			0,54
18.Kk-0216	18.02.2014	7957231404	N			0,21
04.Kk-0908	04.02.2014	7958121425	N			0,98
18.Kk-0098	18.03.2014	7959041366	N			2,34
11.Kk-0939	11.03.2014	7960131389	N			0,12
18.Kk-0218	18.02.2014	7961201392	A		32	0,82
17.Kk-0886	17.03.2014	7961201392			36	1,38
23.Kk-0125	23.06.2014	7961214691	N			2,67
03.Kk-0622	03.06.2014	8008151801	N			0,36
07.Kk-0965	07.01.2014	8052011386	N			0,64
11.Kk-0875	11.03.2014	8052163483	A		20	1,1
27.Kk-0329	27.05.2014	8052163483			30	0,46
28.Kk-0411	28.04.2014	8053221738	N			0,52
30.Kk-0355	30.06.2014	8053221738				0,05
20.Kk-0334	20.01.2014	8055061367	A		23	0,07

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-di (µg/ml)
04.Kk-0594	04.03.2014	8055061367			29	0,5
31.Kk-0429	31.03.2014	8055061367			33	0,54
05.Kk-0583	05.05.2014	8055061367			36	0,63
14.Kk-0942	14.04.2014	8055071201	N			0,55
28.Kk-0756	28.01.2014	8055091397	A		33	0,3
03.Kk-0339	03.03.2014	8055091397			38	1,2
19.Kk-0902	19.05.2014	8055121834	N			1,78
12.Kk-0716	12.05.2014	8055181366	N			0,28
05.Kk-0560	05.05.2014	8057031379	N			0,17
18.Kk-0214	18.02.2014	8060071405	A		28	0,2
08.Kk-0901	08.04.2014	8060071405			35	0,62
07.Kk-0005	07.01.2014	8060141376	A		25	1,03
25.Kk-0384	25.03.2014	8060141376			36	0,46
25.Kk-0410	25.02.2014	8060231785	A		13	0,9
29.Kk-0640	29.04.2014	8060231785			23	0,44
17.Kk-0127	17.06.2014	8060231785			30	0,58
13.Kk-0945	13.05.2014	8061041374	N			1,27
06.Kk-0800	06.01.2014	8061131838	N			0,28
13.Kk-0045	13.05.2014	8062291381	N			1,14
09.Kk-0638	09.06.2014	8152101838	N			0,21
12.Kk-0706	12.05.2014	8153124508	N			0,33
29.Kk-0646	29.04.2014	8153151381	N			0,21
07.Kk-0993	07.01.2014	8154131734	A	A	27	0,59
04.Kk-0580	04.03.2014	8154131734			35	2,34
24.Kk-0113	24.03.2014	8154131734			35	4,02
26.Kk-0163	26.05.2014	8155182993	N			5,34
07.Kk-0616	07.04.2014	8156041400	A		17	0,61
06.Kk-0810	06.05.2014	8156041400			21	0,95
10.Kk-0842	10.06.2014	8156041400			24	1,12
08.Kk-0908	08.04.2014	8156052125	N			0,98
29.Kk-0611	29.04.2014	8156151884	N			0,42
20.Kk-0345	20.01.2014	8157131533	A		21	0,28
01.Kk-0632	01.04.2014	8157131533			22	0,25
27.Kk-0427	27.05.2014	8157131533			30	0,96
27.Kk-0538	27.01.2014	8157211371	A		8	1,6
24.Kk-0202	24.02.2014	8157211371			13	0,26
14.Kk-0936	14.04.2014	8157211371			20	0,23
12.Kk-0744	12.05.2014	8157211371			24	0,54
17.Kk-0145	17.06.2014	8158281385	N			0,57
28.Kk-0774	28.01.2014	8158301394	A		21	0,48
01.Kk-0656	01.04.2014	8158301394			31	0,85
13.Kk-0987	13.05.2014	8158301394			37	1,3
27.Kk-0009	27.06.2014	8160011828	N			2,9

<b>Ident.</b>	<b>Datum odb.</b>	<b>Rod. Číslo</b>	<b>Gravidita</b>	<b>LVF</b>	<b>Týden gravidity</b>	<b>D-di (µg/ml)</b>
07.Kk-0656	07.04.2014	8161202039	A		16	0,78
12.Kk-0780	12.05.2014	8161202039			20	2,78
09.Kk-0647	09.06.2014	8161202039			24	3,3
03.Kk-0410	03.03.2014	8254031842	N			3,28
07.Kk-0989	07.01.2014	8254291838	A		18	0,17
24.Kk-0201	24.02.2014	8254291838			25	0,38
15.Kk-0153	15.04.2014	8254291838			32	0,48
12.Kk-0779	12.05.2014	8254291838			36	0,66
21.Kk-0528	21.01.2014	8255081374	A	A	27	0,66
25.Kk-0382	25.03.2014	8255081374			36	2,72
29.Kk-0625	29.04.2014	8255101438	A		16	4,71
24.Kk-0338	24.06.2014	8255101438			24	0,28
13.Kk-0974	13.05.2014	8255181397	N			0,46
22.Kk-0739	22.01.2014	8255201736	N			0,2
13.Kk-0004	13.05.2014	8255261499	N			0,3
20.Kk-0599	20.02.2014	8256241412	N			0,41
07.Kk-0981	07.01.2014	8258071372	A		28	1,82
25.Kk-0426	25.02.2014	8258071372			36	1,66
17.Kk-0826	17.01.2014	8258111390	A		15	2,94
14.Kk-0551	14.02.2014	8258111390			19	0,47
07.Kk-0363	07.03.2014	8258111390				0,6
18.Kk-0768	18.04.2014	8258111390			28	0,9
23.Kk-0749	23.05.2014	8258111390			33	0,92
14.Kk-0445	14.03.2014	8259102457	A		32	1,25
18.Kk-0731	18.04.2014	8259102457			36	1,34
21.Kk-0535	21.01.2014	8259211786	N			1,4
16.Kk-0829	16.06.2014	8260211873	N			1,48
04.Kk-0918	04.02.2014	8261041383	A		36	0,93
24.Kk-0211	24.02.2014	8261041383	A		38	4,52
04.Kk-0582	04.03.2014	8356221380	N			4,96
23.Kk-0051	23.06.2014	8359013917	N			3,39
20.Kk-0321	20.01.2014	8359031891	A		11	0,28
04.Kk-0568	04.03.2014	8359031891			20	0,42
06.Kk-0809	06.05.2014	8359031891			27	0,67
17.Kk-0113	17.06.2014	8359031891			33	0,8
08.Kk-0926	08.04.2014	8362301883	N			0,84
20.Kk-0343	20.01.2014	8451784177	A		12	0,31
18.Kk-0101	18.03.2014	8451784177			21	0,29
13.Kk-0991	13.05.2014	8451784177			28	0,53
24.Kk-0344	24.06.2014	8451784177			34	0,63
10.Kk-0882	10.06.2014	8452181519	N			0,57
24.Kk-0092	24.03.2014	8453061497	A	A	26	0,66
28.Kk-0325	28.04.2014	8453061497			31	1,62

<b>Ident.</b>	<b>Datum odb.</b>	<b>Rod. Číslo</b>	<b>Gravidita</b>	<b>LVF</b>	<b>Týden gravidity</b>	<b>D-di (µg/ml)</b>
02.Kk-0438	02.06.2014	8453061497			37	1,55
15.Kk-0150	15.04.2014	8456091392	A		12	1,94
26.Kk-0162	26.05.2014	8456091392			19	0,7
08.Kk-0958	08.04.2014	8456111423	A		14	1,07
05.Kk-0564	05.05.2014	8456111423			17	0,35
30.Kk-0408	30.06.2014	8456111423			29	0,45
24.Kk-0217	24.02.2014	8457071789	N			1
28.Kk-0785	28.01.2014	8462151369	N			0,11
20.Kk-0333	20.01.2014	8551151687	A	A	6	2,48
24.Kk-0135	24.02.2014	8551151687			11	0,21
31.Kk-0388	31.03.2014	8551151687			16	0,16
27.Kk-0345	27.05.2014	8551151687			24	0,67
18.Kk-0090	18.03.2014	8551161884	A		16	1,37
20.Kk-0145	20.05.2014	8551161884			25	0,78
16.Kk-0857	16.06.2014	8552011931	N			1,01
10.Kk-0732	10.03.2014	8553025163	A		7	0,27
07.Kk-0599	07.04.2014	8553025163			12	0,6
27.Kk-0426	27.05.2014	8553025163			18	0,57
25.Kk-0409	25.02.2014	8554269637	A	A	23	0,91
31.Kk-0428	31.03.2014	8554269637			28	1,9
13.Kk-0995	13.05.2014	8554269637			34	2,59
20.Kk-0335	20.01.2014	8556031628	A		7	1,56
18.Kk-0110	18.03.2014	8556031628			15	0,43
13.Kk-0976	13.05.2014	8556031628			24	0,92
05.Kk-0611	05.05.2014	8557221542	A		7	1,24
16.Kk-0858	16.06.2014	8557221542			13	0,74
03.Kk-0662	03.02.2014	8559012166	A		29	0,53
17.Kk-0878	17.03.2014	8559012166			35	1,07
13.Kk-0058	13.01.2014	8562251512	N			0,98
20.Kk-0344	20.01.2014	8562251512	A		36	3,98
06.Kk-0358	06.02.2014	8562251512			38	3,47
13.Kk-0001	13.05.2014	8651221635	N			5,2
27.Kk-0498	27.01.2014	8652176457	A		13	0,17
01.Kk-0640	01.04.2014	8652176457			22	0,25
10.Kk-0843	10.06.2014	8652176457			33	0,72
20.Kk-0116	20.05.2014	8653071989	N			1,08
04.Kk-0909	04.02.2014	8653121522	A		21	0,49
03.Kk-0364	03.03.2014	8653121522			21	1,21
22.Kk-0346	22.04.2014	8653121522			33	1,46
19.Kk-0945	19.05.2014	8653121522			36	1,51
11.Kk-0079	11.02.2014	8654171538	N			1,67
17.Kk-0957	17.02.2014	8655071536	N			1,76
11.Kk-0934	11.03.2014	8656031902	A		36	0,26

Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-di (µg/ml)
26.Kk-0165	04.02.2014	8656031902			33	1,48
24.Kk-0082	24.03.2014	8656121552	N			1,44
15.Kk-0148	15.04.2014	8656191512	A		22	0,35
12.Kk-0760	12.05.2014	8656191512			26	1,35
25.Kk-0406	25.02.2014	8657011628	A		27	1,02
29.Kk-0614	29.04.2014	8657011628			36	1,35
15.Kk-0146	15.04.2014	8658151932	A		18	2,91
19.Kk-0923	19.05.2014	8658151932			23	0,86
13.Kk-0018	13.01.2014	8660300353	A	A	23	0,96
17.Kk-0867	17.03.2014	8660300353			32	0,83
14.Kk-0933	14.04.2014	8660300353			37	1,23
04.Kk-0925	04.02.2014	8661101835	N			1,85
11.Kk-0938	11.03.2014	8661101835	A		1. den po embryotransferu	0,12
24.Kk-0119	24.03.2014	8661101835			5	4,58
28.Kk-0413	28.04.2014	8661101835			10	3,06
19.Kk-0893	19.05.2014	8661101835			13	0,59
30.Kk-0417	30.06.2014	8661101835			18	0,44
24.Kk-0105	24.03.2014	8661141754	A	A	36	2,55
07.Kk-0641	07.04.2014	8661141754			38	1,29
21.Kk-0498	21.01.2014	8661141930	N	A		1,3
07.Kk-0624	07.04.2014	8661141930				0,57
05.Kk-0576	05.05.2014	8661141930	A		10	0,41
24.Kk-0345	24.06.2014	8661281531				0,85
11.Kk-0928	11.03.2014	8753101512	A	A	20	0,68
20.Kk-0137	20.05.2014	8753101512			30	0,64
17.Kk-0116	17.06.2014	8753101512			36	1,15
06.Kk-0872	06.05.2014	8754111697	A		9	1,65
03.Kk-0594	03.06.2014	8754111697			13	0,16
13.Kk-0990	13.05.2014	8754201534	N			0,19
06.Kk-0708	06.01.2014	8755060348	N			0,18
22.Kk-0348	22.04.2014	8756081621	N			0,25
18.Kk-0210	18.02.2014	8757161535	N			0,26
25.Kk-0404	25.02.2014	8757301620	N			1,84
26.Kk-0169	26.05.2014	8758091838	N			0,9
24.Kk-0308	24.06.2014	8761271883	N			0,47
21.Kk-0523	21.01.2014	8762251972	N			0,08
15.Kk-0147	15.04.2014	8851198214	A		16	0,58
28.Kk-0412	28.04.2014	8851198214			18	0,72
02.Kk-0427	02.06.2014	8851198214			21	1,05
04.Kk-0901	04.02.2014	8852201634	A		33	0,89
10.Kk-0740	10.03.2014	8852201634			37	1,5
12.Kk-0743	12.05.2014	8852201634			šestinedělí	2,65



Ident.	Datum odb.	Rod. Číslo	Gravidita	LVF	Týden gravidity	D-di (µg/ml)
08.Kk-0857	08.04.2014	8853091512	N			0,16
28.Kk-0722	28.01.2014	8861192165	N			0,41
26.Kk-0158	26.05.2014	8951041496	N			0,18
02.Kk-0412	02.06.2014	8952081557	N			0,61
03.Kk-0716	03.02.2014	8952151462	N			0,21
31.Kk-0349	31.01.2014	8957051445	A		35	2,11
21.Kk-0779	21.02.2014	8957051445			38	0,95
16.Kk-0881	16.06.2014	8958180650	N			0,94
24.Kk-0118	24.03.2014	8961111468	A		7	0,12
14.Kk-0966	14.04.2014	8961111468			10	0,6
20.Kk-0149	20.05.2014	8961111468			16	0,44
16.Kk-0871	16.06.2014	8961131840	N			0,53
21.Kk-0524	21.01.2014	8962261870	N			1,19
25.Kk-0385	25.02.2014	8962301613	N			0,67
27.Kk-0569	27.01.2014	9054131615	A	A	21	0,06
18.Kk-0111	18.03.2014	9054131615			28	1,72
06.Kk-0816	06.05.2014	9054131615			35	1,57
28.Kk-0401	28.04.2014	9056088977	A	A	16	1,22
10.Kk-0857	10.06.2014	9056088977			22	1,36
21.Kk-0546	21.01.2014	9057271488	N			2,85
25.Kk-0381	25.03.2014	9059131467	A		7	2,41
06.Kk-0825	06.05.2014	9059131467			11	0,27
10.Kk-0715	10.03.2014	9059131489	N			0,18
29.Kk-0624	29.04.2014	9059151454	A	A	23	1,32
17.Kk-0095	17.06.2014	9059151454			31	1,36
22.Kk-0302	22.04.2014	9059151553	N			1,8
25.Kk-0439	25.02.2014	9060171671	N			0,17
20.Kk-0152	20.05.2014	9158031444				0,45
22.Kk-0319	22.04.2014	9158111469	A	A	17	0,31
24.Kk-0332	24.06.2014	9158111469			26	0,69
07.Kk-0671	07.04.2014	9160171461	A		24	1,13
23.Kk-0122	23.06.2014	9160171461			30	0,81
24.Kk-0374	24.06.2014	9254181443	N			1,11
22.Kk-0303	22.04.2014	9255021337	N			0,2
08.Kk-0934	08.04.2014	9255031930	N			0,2
04.Kk-0557	04.03.2014	9257311559	N			0,19
17.Kk-0094	17.06.2014	9351121495	N			0,28
24.Kk-0241	24.02.2014	9352151634	A		6	0,82
24.Kk-0116	24.03.2014	9352151634			10	0,1
20.Kk-0153	20.05.2014	9352151634			18	0,24
30.Kk-0416	30.06.2014	9352151634			24	0,98
20.Kk-0090	20.05.2014	9352161468	N			1,42
24.Kk-0346	24.06.2014	9354260752	N			1,64

<b>Ident.</b>	<b>Datum odb.</b>	<b>Rod. Číslo</b>	<b>Gravidita</b>	<b>LVF</b>	<b>Týden gravidity</b>	<b>D-di (µg/ml)</b>
20.Kk-0178	20.05.2014	9355261444	N			0,12
23.Kk-0063	23.06.2014	9357211458	N			0,17
27.Kk-0466	27.05.2014	9358201557	N			0,12
14.Kk-0191	14.01.2014	9358301866	N			0,05
25.Kk-0368	25.03.2014	9359211566	N			0,11
14.Kk-0263	14.01.2014	9360141462	N			0,77
28.Kk-0792	28.01.2014	9551051445	N			0,08
04.Kk-0605	04.03.2014	9551201452	N			0,16
20.Kk-0184	20.05.2014	9555271452	N			0,35
21.Kk-0561	21.01.2014	9555301834	N			0,35
25.Kk-0394	25.03.2014	9562271555	N			0,21