

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

**Hyperkoagulační stavy v graviditě se  
zaměřením na problematiku umělého  
oplodnění**

Bakalářská práce

**Lenka Hodinová**

Školitel: MUDr. Ivan Vonke, MBA

České Budějovice 2018

**Hodinová L.**, 2018: Hyperkoagulační stavy v graviditě se zaměřením na problematiku umělého oplodnění. [Hypercoagulable states in pregnancy focused on the issue of in vitro fertilisation. Bc. Thesis, in Czech] – 48 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

**Annotation:**

This thesis is focused on hypercoagulable states during pregnancy, especially on pregnancy after in vitro fertilisation. Hypercoagulable states are a group of congenital or acquired states that lead to the emergence deep venous thrombosis, sometimes associated with pulmonary embolism. Pregnancy itself is indicated as hypercoagulable state, which is important for facilitating hemostasis during the childbirth to avoid bleeding. It occurs to hemostatic changes during the pregnancy when there is increased concentration of most coagulation factors.

The aim of this thesis is to compare coagulation laboratory results in women with spontaneous pregnancy and pregnancy after in vitro fertilisation. The results of patients were monitored in the ambulance of clinical hematology in hospital České Budějovice, a. s. in 2015 and 2016.

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

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

V Českých Budějovicích, 16. 4. 2018

.....  
Lenka Hodinová

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala všem, kteří mi jakkoli pomohli při vypracování této práce. Největší poděkování patří panu primáři MUDr. Ivanu Vonkemu, MBA za odborné rady, trpělivost a ochotu po celou dobu vedení mé bakalářské práce. Další poděkování samozřejmě patří celé mé rodině za trpělivost a podporu po celou dobu studia.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Fyziologie krevního srážení</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>Primární hemostáza</b> .....	<b>2</b>
<b>2.2</b>	<b>Sekundární hemostáza</b> .....	<b>3</b>
2.2.1	Koagulační faktory .....	3
2.2.2	Koagulační kaskáda.....	4
2.2.3	Systém přirozených inhibitorů koagulace .....	5
<b>2.3</b>	<b>Fibrinolýza</b> .....	<b>6</b>
2.3.1	D-dimery .....	7
<b>3</b>	<b>Hyperkoagulační stavy</b> .....	<b>8</b>
<b>4</b>	<b>Tromboembolická nemoc (TEN)</b> .....	<b>9</b>
<b>4.1</b>	<b>Hluboká žilní trombóza (HŽT)</b> .....	<b>10</b>
<b>4.2</b>	<b>Plicní embolie (PE)</b> .....	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>Gravidita a umělé oplodnění</b> .....	<b>12</b>
<b>5.1</b>	<b>Změny krevního srážení v graviditě</b> .....	<b>13</b>
<b>5.2</b>	<b>Umělé oplodnění, in vitro fertilizace (IVF)</b> .....	<b>15</b>
5.2.1	Praktický postup, četnost.....	15
5.2.2	Komplikace IVF .....	17
<b>5.3</b>	<b>Hormonální substituční terapie (HRT) a její rizika</b> .....	<b>18</b>
<b>6</b>	<b>Cíle práce</b> .....	<b>19</b>
<b>6.1</b>	<b>Podcíle</b> .....	<b>19</b>
<b>6.2</b>	<b>Hypotézy</b> .....	<b>19</b>
<b>7</b>	<b>Materiály a metodika</b> .....	<b>20</b>
<b>7.1</b>	<b>Odběr krve a zpracování vzorku</b> .....	<b>20</b>
<b>7.2</b>	<b>Stanovení hladiny D-dimerů</b> .....	<b>21</b>
<b>7.3</b>	<b>Získání a zpracování dat</b> .....	<b>22</b>

<b>8</b>	<b><i>Výsledky</i></b> .....	<b>23</b>
8.1	Porovnání dvou skupin žen .....	25
8.2	Úspěšnost IVF.....	28
8.3	Porovnání hladiny D-dimerů .....	30
<b>9</b>	<b><i>Diskuse</i></b> .....	<b>35</b>
<b>10</b>	<b><i>Závěr</i></b> .....	<b>38</b>
<b>11</b>	<b><i>Seznam použité literatury</i></b> .....	<b>39</b>
<b>12</b>	<b><i>Seznam použitých zkratek</i></b> .....	<b>47</b>

# 1 Úvod

Hemokoagulace je důležitý proces vedoucí k zástavě krvácení. Při její poruše dochází buď ke zvýšené krvácivosti, nebo ke vzniku hyperkoagulačních stavů, které způsobují onemocnění zvané tromboembolická nemoc (TEN). TEN zahrnuje hlubokou žilní trombózu, v některých případech spojenou s plicní embolií. Tato onemocnění mohou být způsobena vrozenými predispozicemi, rizikové faktory pro jejich vznik však mohou být také získány v průběhu života. K detekci TEN je důležité provést vyšetření D-dimerů, které slouží k vyloučení nadměrného srážení krve v těle. D-dimery patří mezi specifické fibrinogen degradační produkty, které vznikají během rozpouštění sraženiny v tzv. fibrinolytickém systému. D-dimery mají tzv. vysokou negativní prediktivní hodnotu, kdy negativní výsledek téměř vylučuje přítomnost TEN v těle (Klener et al., 2011).

Hyperkoagulačním stavem je také doprovázeno těhotenství. Je zde velmi důležitá funkce hemostázy, jejímž úkolem je zabránit krvácení a TEN během porodu. U gravidních žen je riziko vzniku TEN až pětinasobně vyšší (James, 2009). Důležitou příčinou TEN v průběhu těhotenství či u žen negravidních bývá nejčastěji vrozený hyperkoagulační stav zvaný Leidenská mutace. Další vrozená predispozice ke vzniku trombózy je mutace protrombinu, která je však méně častá. Mezi další hyperkoagulační stavy řadíme nedostatek antitrombinu, proteinu C a S. V průběhu těhotenství jsou přítomny vyšší D-dimery v krvi, přítomností vrozeného hyperkoagulačního stavu je hladina D-dimerů ještě zvýšena.

V současné době má spousta párů problémy s neplodností. Neplodnost může být u ženy způsobena neprůchodností vejcovodu, ale také vnějšími vlivy jako je kouření či stres. U muže má také vliv vnější prostředí, ale např. i nízký počet spermií či špatná průchodnost chámovodu. Následně je tedy nutné, aby žena podstoupila umělé oplodnění nazvané in vitro fertilizace (IVF). Jedná se o proces oplození vajíčka spermií mimo tělo ženy a následný přenos embrya do děložní sliznice. Před samotným procesem IVF je nutná stimulace vaječnicků ženy tzv. hormonální substituční terapií ke zvýšení počtu zralých vajíček, které jsou následně odebrány. Podle národního registru asistované reprodukce podstoupí ženy v ČR ročně průměrně cca 10 000 cyklů IVF (Řežábek, Jánová, 2017).

Gravidita po IVF je označována za více rizikovou než gravidita spontánní. Je zvýšena pravděpodobnost mnohočetného těhotenství z důvodu přenosu více embryí do děložní sliznice. Mnohočetné těhotenství je pro ženu velmi rizikové a vyskytuje se zhruba u 20 % oplodnění (Řežábek, 2008). U žen gravidních po procesu IVF je také vyšší riziko potratu v prvním trimestru.

## 2 Fyziologie krevního srážení

Srážení krve – hemokoagulace je soubor mechanismů, který vede k zástavě krvácení tedy hemostáze. Při poranění cévy se uplatňuje hemostatický mechanismus, který přemění tekutou krev na sraženinu, vytvoří krevní zátku a tím dojde k uzavření cévy. Jde o velmi složitý mechanismus zahrnující celou řadu pozitivních a negativních zpětných vazeb. Za konečnou fázi hemostatického systému lze považovat fibrinolýzu, která umožní rozpuštění krevní zátky (Pecka, 2004). Nejdůležitějšími mechanismy účastnící se srážení krve jsou cévy, krevní destičky a plazmatické faktory (koagulační, přirozené inhibitory a faktory fibrinolýzy) (Penka, Tesařová a kol., 2011).

### 2.1 Primární hemostáza

Primární hemostáza je proces, při kterém dochází k tvorbě primární cévní zátky, neboli agregátu krevních destiček, která uzavře místo porušení cévní stěny a tím zastaví krvácení.

Poraněním cévní stěny dochází k vazokonstrikci. Jedná se o přímou odpověď cévní stěny na poranění. Mezi látky působící vazokonstrikčně patří tromboxan  $A_2$  (derivát kyseliny arachidonové), který tvoří aktivované destičky. Pro vazokonstrikci je však nejvíce důležitá přímá myogenní reakce cév na poranění. Tímto se vytvářejí podmínky pro vznik primární hemostatické zátky, která je tvořena převážně trombocyty (Trojan a kol., 2003).

Krevní destičky neboli trombocyty jsou bezjaderná tělíska, a proto se nejsou schopny dělit. Vznikají v kostní dřeni odštěpením cytoplazmy megakaryocytů. Megakaryocyty naléhají na krevní kapiláry a přes jejich membránu se krevní destičky dostávají do krevního oběhu, kde jejich základní funkcí je tvorba primární cévní zátky (Penka, Tesařová a kol., 2011).

Poranění cévy a uvolnění kolagenu vede k uvolnění adenosin difosfátu (ADP), a to způsobí adhezi destiček k cévní stěně za pomoci von Willebrandova faktoru (vWF). Dále je vytvořen tromboxan  $A_2$  ( $TXA_2$ ) pomocí kyseliny arachidonové, která se uvolňuje z fosfolipidů membrány trombocytů. Toto je doprovázeno vazokonstrikcí a trombocytární agregací. Z endoteliálních buněk se zároveň uvolňuje prostacyklin, který agregaci brzdí a způsobuje naopak vazodilataci (Kaletová a kol., 2013). Agregace trombocytů je podporována mnoha faktory, např. ADP,  $TXA_2$  či trombinem z koagulační kaskády. Pomocí molekul fibrinogenu a vWF se destičky vzájemně propojují. Během agregace destiček dochází k tvorbě bílého (destičkového) trombu, tedy primární hemostatické zátce, a k rozpadu a splnutí destiček (Fontana, Lavříková, 2018).



## 2.2 Sekundární hemostáza

V průběhu sekundární hemostázy neboli koagulace dochází k tvorbě fibrinové sítě, která stabilizuje primární krevní zátku vytvořenou během primární hemostázy. K zesílení destičkové zátky je zapotřebí fibrin, který má schopnost se spojit a agregovat na povrchu destičkového trombu a stabilizovat jej. V krvi se vyskytuje fibrinogen, ze kterého vznikají fibrinové monomery pomocí koagulační kaskády.

### 2.2.1 Koagulační faktory

Koagulační faktory tvoří skupinu látek v krvi, jejichž přítomnost je nezbytná pro srážení krve (viz Tab. I). Patří mezi serinové proteázy s výjimkou FXIII a kofaktorů FV a FVIII (Penka, Tesařová a kol., 2011).

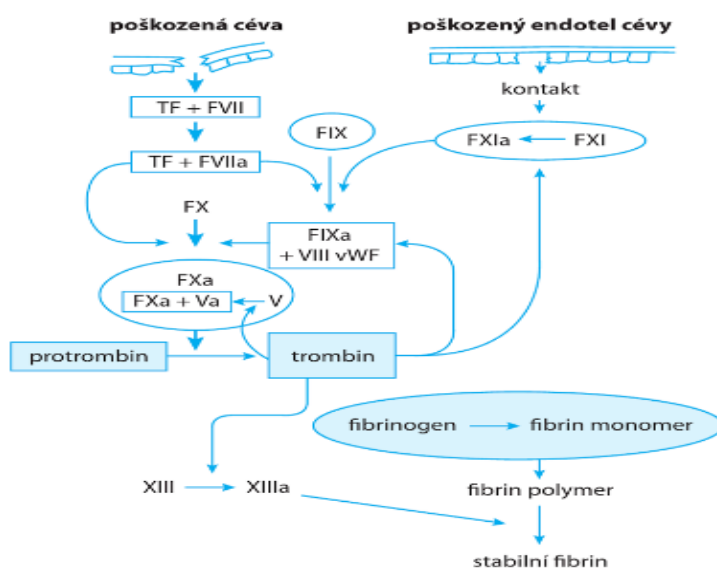
Tab. I: Přehled koagulačních faktorů (převzato z <https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/coagulation+factors>, 2013).

Faktor (F)	Koagulační faktor	Funkce v koagulační kaskádě
I	Fibrinogen	Pomáhá při tvorbě fibrinové sítě
II	Protrombin	Pomáhá FXa při tvorbě trombinu, pomáhá FVIIIa, FIXa, FXa a Va při vzniku trombinu
III	tkáňový faktor (TF)	Pomáhá FVII a Ca <sup>2+</sup> při aktivaci FIX a FX
IV	Ca <sup>2+</sup>	Aktivace více koagulačních faktorů
V	Proakcelerin	Pomáhá FVIIIa, FIXa, FXa a FII při tvorbě trombinu
VII	Prokonvertin	Pomáhá TF a Ca <sup>2+</sup> při aktivaci FIX a FX
VIII	antihemofilický faktor	Zesiluje vznik dalšího trombinu
IX	Christmasův faktor	Aktivuje FX
X	Stuartův-Prowerův faktor	Aktivuje FII
XI	plasmatický předchůdce tromboplastinu (PTA)	Podílí se na zpomalení procesu fibrinolýzy
XII	Hagemanův faktor	Kontaktní aktivátor kininového systému
XIII	faktor stabilizující fibrin (FSF)	Pomáhá při tvorbě vazeb mezi vlákny fibrinu k úplné sekundární hemostáze
vWF	von Willebrandův faktor	Pomáhá při adhezi destiček a tvorbě trombů

Většina koagulačních faktorů je produkována v játrech a některé z nich potřebují ke své funkci vitamín K. (Penka, Tesařová a kol., 2011). Vyskytují se většinou v neaktivní formě, ale při poranění cévy dojde k jejich aktivaci (značeno písmenem „a“). Spouští tvorbu krevní sraženiny a stabilizují ji po nezbytně dlouhou dobu. Jsou také známé jako prokoagulantia (Kaur, 2017).

### 2.2.2 Koagulační kaskáda

Koagulační kaskáda má tvar písmene Y a je tvořena vnější, vnitřní a společnou cestou (viz Obr. 1). Krevní srážení se tedy skládá ze tří částí: tvorba protrombinového aktivátoru, tvorba trombinu a tvorba fibrinu. Je zde důležitá účast šesti koagulačních faktorů (FXII, FXI, FIX, FVII, FX a FII) a tří kofaktorů (tkáňový faktor, FVIII a FV), které mají vazebnou a aktivační úlohu bez proteolytické funkce. Posledním produktem kaskády je fibrinogen, respektive fibrin. Důležitou katalytickou funkci má FXIII zabezpečující tvorbu nerozpustné fibrinové sítě (Kaletová a kol., 2013).



Obr. 1: Schéma koagulační kaskády (převzato z Rokyta a kol., 2015).

K aktivaci koagulace během **vnější cesty** je potřeba porušení cévní stěny a vyplavení tkáňového faktoru (TF) neboli FIII. (Kubisz a kol., 2006). FIII aktivuje FVII na FVIIa (aktivovaný faktor VII). Je vytvořen tzv. komplex vnější tenázy (komplex FVIIa, fosfolipidů a  $Ca^{2+}$ ), který aktivuje FX. FVIIa umí také aktivovat FIX a propojuje tedy vnější a vnitřní cestu (Fontana, Lavříková, 2018).

**Vnitřní cesta** aktivace přeměny protrombinu na trombin je zahájena fází kontaktu s aktivním povrchem. Dochází k aktivaci FXII, který dále aktivují FXI a FIX. Během této reakce dochází k zesílení vyvolávajícího efektu a aktivují se FV a FVIII. FIXa a FVIIIa tvoří tzv. vnitřní tenázový komplex, který aktivuje dostatečné množství FX. FXa společně s FVa tvoří komplex protrombinázy a přeměňuje protrombin na trombin (Pecka, 2004).

Jako **společnou cestu** koagulační kaskády označujeme přeměnu fibrinogenu na fibrin za pomoci vytvořeného trombinu. Fibrinové monomery polymerují a působením aktivovaného FXIII, který je aktivován trombinem, tvoří nerozpustný fibrin. Pomocí fibrinu dojde k zpevnění primární destičkové zátky, vznikne pevná krevní sraženina a proces krevního srážení je ukončen (Penka, Tesařová a kol., 2011).

### 2.2.3 Systém přirozených inhibitorů koagulace

Proces krevního srážení musí být regulován, aby nedošlo k nepotřebné aktivaci koagulační kaskády. Cílem regulace je řízení procesu krevního srážení tak, aby proběhl jen v místě poranění cévy a dál se nešířil. To probíhá pomocí přirozených inhibitorů koagulace (antikoagulancia), mezi které řadíme plazmatické proteiny antitrombin, protein C a protein S, a dále inhibitor cesty tkáňového faktoru a trombomodulin, působící na povrchu endotelu. (Kvasnička, 2014).

**Antitrombin (AT)**, patřící mezi přirozená antikoagulancia, inhibuje nejen trombin, ale také serinové proteázy jako je FXa a do menší míry i FXIa a FIXa (Teruya, 2014). Jedná se o glykoprotein tvořený v játrech. Jeho účinek je zesílen pomocí tvorby komplexu s heparinem (Fellnerová, 2013).

**Protein C (PC)** společně s jeho kofaktorem proteinem S je na vitamínu K závislý protein, který je syntetizován v játrech (Kubisz a kol., 2006). K aktivaci PC je zapotřebí vazba trombinu (FIIa) na transmembránový glykoprotein trombomodulin. Aktivovaný protein C (APC) je schopen inhibovat kofaktory FVIIIa a FVa. Účinnost PC je zesílena pomocí jeho kofaktoru – **proteinu S (PS)**. APC má nejen funkci inhibiční, ale také profibrinolytickou – podporuje uvolňování tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA) (Šlechtová, 2007).

**Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI)** se nejdříve naváže na FXa a vytváří komplex, který se váže a inhibuje komplex tkáňového faktoru TF/VIIa (Gader, 2009). Reakce je urychlována heparinem. TFPI obíhá v plazmě navázaný na lipoproteiny o nízké hmotnosti (LDL). Cca 10 % je navázáno na destičky, kterými je uvolňován po stimulaci trombinem.

Primárním zdrojem je endotel. Množství se zvyšuje po poranění. Působení TFPI patří mezi velmi důležitou negativní zpětnou vazbu v koagulačním systému, která brání nadměrné aktivaci (Penka, Tesařová a kol., 2011).

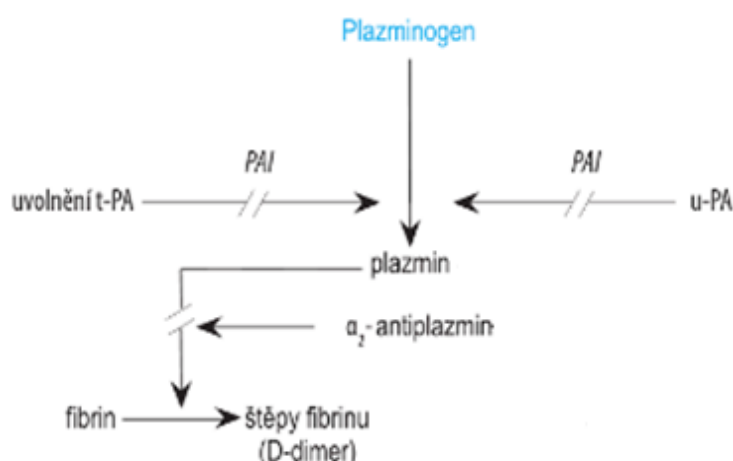
**Trombomodulin (TM)** se nachází na povrchu endotelových buněk. Je vysoce afinitní k trombinu vznikajícímu během koagulační kaskády v jeho blízkosti. Po vazbě TM k trombinu přestává trombin působit a přeměňovat fibrinogen na fibrin. Naopak je schopný aktivovat přirozený inhibitor koagulace PC (Kaletová a kol., 2013).

### 2.3 Fibrinolýza

V době, kdy krevní sraženina splnila svou hemostatickou funkci, je potřeba ji rozložit pomocí enzymatického procesu zvaného fibrinolýza (viz Obr. 2). Tento proces zabraňuje krevní sraženině zůstat na místě a růst a umožní tělu bezpečně odstranit sraženinu, aby nedošlo k rizikům jako je mrtvice nebo poškození srdce (Hodis, 2014).

Fibrinolytický systém se skládá ze čtyř složek: plazminogenu, aktivátorů plazminogenu, plazminu a inhibitorů. Plazminogen je aktivován pomocí tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA – tissue plasminogen activator) a aktivátoru izolovaného z moči (u-PA – urokinase-type plasminogen activator). Dále je plazminogen přeměněn na plazmin pomocí proteolytického štěpení (Trojan a kol., 2003).

Plazmin je schopný štěpit fibrinovou síť, ale také fibrinogen. Fibrinogen se rozpadá na tzv. fibrinogen degradační produkty (FDP). Mezi specifické FDP patří D-dimery a jejich přítomnost v plazmě značí aktivaci srážení krve a fibrinolýzy (Penka, Tesařová a kol., 2011).



Obr. 2: Schéma aktivace a inhibice fibrinolytického systému (převzato z Marek a kol., 2010).

Fibrinolýza je samozřejmě řízena řadou inhibitorů. Hlavními inhibitory t-PA a u-PA je inhibitor-1 aktivátoru plazminogenu (PAI-1 – plazminogen activator inhibitor 1) a inhibitor-2 aktivátoru plazminogenu (PAI-2 – plazminogen activator inhibitor 2). Hlavním inhibitorem plazminu je tzv.  $\alpha_2$  antiplasmin. Inhibitor fibrinolýzy aktivovaný trombinem (TAFI) odstraňuje Lys a Arg zbytky na fibrinu, tím snižuje množství vazebných míst plazminogenu a zpomaluje tvorbu plazminu (Chapin, Hajjar, 2015).

### **2.3.1 D-dimery**

D-dimery patří mezi hlavní degradační produkty fibrinolýzy. Hmotnost jednoho D-dimeru je přibližně 180 kDa. Je složen ze dvou D fragmentů a jednoho E fragmentu, které jsou vzájemně propojeny silnými vazbami. D-dimery mají vysokou negativní prediktivní hodnotu, jsou důležité pro detekci hyperkoagulačních stavů, jako je diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC), hluboká žilní trombóza a plicní embolie (Davidson, Toth, Maki, 2007). Negativní výsledek vyšetření D-dimerů v krvi prakticky vylučuje přítomnost trombózy v těle. Jejich pozitivita v krvi naopak provází v těle i řadu jiných stavů, než je pouze tromboembolická nemoc, zvyšují se i při zánětech, nádorových onemocněních a infekcích. (Klener et al., 2011).

Během těhotenství je hladina D-dimerů zvýšena, což značí zvýšenou aktivitu trombinu a procesu fibrinolýzy. Hodnota D-dimerů je také zvýšena v přítomnosti rizikového faktoru, kterým je Leidenská mutace. I přesto je testování D-dimerů v těhotenství užitečné pro diagnostiku a predikci tromboembolické nemoci nebo jiných komplikací spojených s těhotenstvím (Eichinger, 2005).

### 3 Hyperkoagulační stavy

Hyperkoagulační stavy můžeme definovat jako skupinu vrozených nebo získaných stavů vedoucí ke vzniku hluboké žilní trombózy, v některých případech spojené s plicní embolií. Žilní tromboembolická onemocnění jsou nejčastějším klinickým projevem hyperkoagulačních stavů (Deitcher, 2010). Hluboká žilní trombóza a plicní embolie patří mezi onemocnění s vysokou úmrtností (Urbánková a kol., 2002).

Hyperkoagulace může být způsobena zvýšením hladiny a aktivace koagulačních faktorů např. mutace FV Leiden (tzv. Leidenská mutace), který nereaguje na inhibici APC, nedostatkem přirozených inhibitorů koagulace např. AT či proteinů C a S, zpomalením proudu krve nebo selháním fibrinolytického systému z důvodu zvýšení PAI-1 (Marek a kol., 2010).

Více než 60 % pacientů, kteří během života neměli tromboembolickou nemoc, mají i přes to vrozenou predispozici pro hyperkoagulační abnormalitu. Prevalence<sup>1</sup> hyperkoagulačních stavů je následující: FV Leiden > mutace protrombinu G20210A > nedostatek AT ~ nedostatek PC ~ nedostatek PS. Testování hyperkoagulačních stavů by tedy mělo být prováděno dle rizika vzniku tromboembolické nemoci. Nejprve APC rezistence, dále detekce mutace protrombinu G20210A polymerázovou řetězcovou reakcí a nakonec testy aktivity pro AT, PC a PS. U pacientů, kteří mají dědičné hyperkoagulační stavy, není v současné době pozorováno snížené přežití (Deitcher, 2010).

---

<sup>1</sup> Počet onemocnění ve vybrané populaci v daný čas (Velký lékařský slovník, 2018).

## 4 Tromboembolická nemoc (TEN)

Tromboembolická nemoc zahrnuje dva vzájemně propojené stavy, hlubokou žilní trombózu a plicní embolii. Incidence TEN stoupá s věkem a v populaci se odhaduje asi na 1/1000 za rok. TEN vzniká na základě vrozených nebo získaných rizikových faktorů. (Indrák, 2014).

Mezi vrozené rizikové faktory TEN řadíme mutaci FV Leiden, mutaci protrombinu G20210A, deficit AT, PC a PS. Dále pak hyperhomocystémii<sup>2</sup>, dysfibrinogémií<sup>3</sup> či vrozený těžký deficit FVII (Indrák, 2014).

Nejsilnějšími získanými rizikovými faktory pro vznik TEN je trauma v oblasti dolní končetiny, poranění míchy a předchozí TEN. Jako další rizikové faktory můžeme jmenovat chemoterapii, in vitro fertilizaci či užívání hormonální antikoncepce. (Bulava, 2017). Většinu získaných rizikových faktorů (RF) však shrneme v tabulce (viz Tab. II).

Tab. II: Získané rizikové faktory TEN (převzato z Vavera, 2015).

<b>Silné RF</b>	<b>Středně významné RF</b>	<b>Slabé RF</b>
Fraktury dolních končetin Náhrada kolenního a kyčelního kloubu Velké chirurgické výkony Velká traumata Poranění míchy	Artroskopie kolene Malignita, chemoterapie Hormonální antikoncepce, substituce Porod a šestinedělí TEN v osobní anamnéze Trombolfilní stav Nefrotický syndrom	Imobilizace déle než 3 dny Cestování Věk Obezita Těhotenství Varixy dolních končetin Kouření

<sup>2</sup> Zvýšení hladiny neesenciální aminokyseliny homocysteinu v krvi nad referenční hodnotu (Hyánek, 2002).

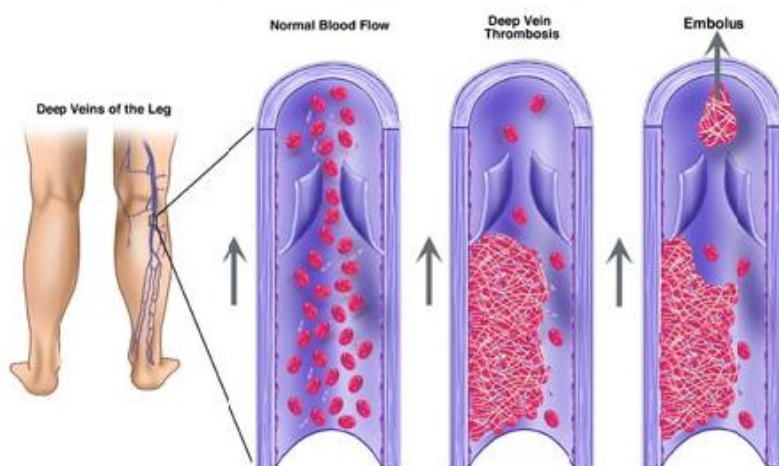
<sup>3</sup> Nedostatek fibrinogenu (Šimurda a kol., 2015).

## 4.1 Hluboká žilní trombóza (HŽT)

HŽT, také označována jako flebotrombóza, je stav, kdy krevní sraženina obliteruje<sup>4</sup> některou z žil hlubokého žilního systému. Nejčastěji jsou postiženy žíly dolních končetin. Jedná se o závažné onemocnění, které může vést až k plicní embolii (viz Obr. 3) (Vilímovský, 2017). Průměrný věk, kdy dochází k HŽT, je u mužů 66 let a u žen 72 let (Skalická, 2006).

Pro vznik trómbózy je potřeba tří podmínek (tzv. Virchova triáda): poranění cévy, hyperkoagulační stav a stáza krve. Poranění cévy chápeme jako poranění endotelu, hyperkoagulační stav způsobují rizikové faktory TEN a stáza krve je způsobena například dlouhodobou imobilizací. (Bulava, 2017).

Jako významnou příčinu zvýšené tendence ke vzniku HŽT považujeme vrozenou a získanou trombofilií (Penka a kol., 2009). Je spojena s pozitivní rodinnou anamnézou TEN v mladším věku. V populaci je nejvíce zastoupená mutace FV Leiden, kdy heterozygoti mají zvýšené riziko žilní trombózy až 5×, zatímco homozygotní forma je vzácná, ale riziko zvyšuje až 50×. Dále můžeme popsat mutaci protrombinu G20210A, která zvyšuje riziko trombózy v těhotenství, deficit AT, PC a PS. Mezi získané (sekundární) trombofilní stavy řadíme antifosfolipidový syndrom<sup>5</sup>, hyperhomocystémii a získanou formu APC rezistence (Indrák, 2014).



Obr. 3: Hluboká žilní trombóza (HŽT) (převzato ze Zimmet, 2018).

<sup>4</sup> Ucpání, ztráta průchodnosti (Institut Galenus, 2018).

<sup>5</sup> Klinický projev hyperkoagulačního stavu a přítomnosti antifosfolipidových protilátek (Bulíková, Penka, 2005).



## 4.2 Plicní embolie (PE)

PE je onemocnění, kdy dojde k obliteraci plicní tepny nebo jejích větví vmetkem, nejčastěji z důvodu žilní trombózy dolních končetin (cca 85 %). Trombus se uvolňuje po směru krevního toku a dostává se do pravého srdce a následně do plic, kde dojde k obliteraci některé z větví plicní tepny. Oběh reaguje na PE v závislosti na množství trombů, jejich velikosti a rychlosti vzniku. Důležitý je také stav kardiovaskulární soustavy (Bulava, 2017).

Hlavním klinickým příznakem PE je náhle vzniklá silná dušnost. Mezi další příznaky řadíme (Mlčoch, 2012):

- kašel, někdy s příměsí krve
- cyanózu<sup>6</sup>
- bolest na hrudi, hlavně při nádechu
- pocení
- zvětšující se bolest při dýchání
- tachykardii<sup>7</sup>
- hypotenzi<sup>8</sup>

V ČR je výskyt TEN odhadován na 12 400 případů a 6000 případů PE za rok. Data jsou jen přibližná, protože PE je onemocnění, které je často nepoznané a je zdrojem diagnostických omylů (Vavera, 2015).

---

<sup>6</sup> Promodrání (Mlčoch, 2012).

<sup>7</sup> Zrychlená srdeční frekvence (Mlčoch, 2012).

<sup>8</sup> Nízký arteriální tlak (Mlčoch, 2012).

## 5 Gravidita a umělé oplodnění

Těhotenství je stav, který začíná oplozením vajíčka spermií a končí porodem. Jeho délka je cca 280 dní. K oplození vajíčka dochází během ovulace, která bývá nejčastěji 14. den po ukončení menstruace. Hlavními příznaky těhotenství je vynechání menstruace, nevolnost a zvracení. Průběh těhotenství můžeme rozdělit na tři trimestry. Během prvního trimestru dochází ke splnutí mužské a ženské gamety, tedy spermie s vajíčkem uvolněným z vaječníku. Začíná embryonální stádium, které trvá od 3. do 8. týdne těhotenství, dochází k diferenciaci buněk a začínají se zakládat a tvořit všechny orgánové soustavy. Začátek třetího měsíce nazýváme jako fetální stádium, kdy dochází k přeměně embrya na plod a začíná období růstu. Jako druhý trimestr označujeme období od čtvrtého měsíce těhotenství, kdy pokračuje růst plodu, který se začíná pohybovat. Ve třetím trimestru poté dochází k největšímu nárůstu hmotnosti plodu. (Hájek, Čech, Maršál a kol., 2014).

Těhotenství můžeme rozdělit dle jeho průběhu a výskytu rizikových faktorů na fyziologicky probíhající, rizikové a patologické. Fyziologické těhotenství probíhá bez komplikací. Rizikových je cca 30 %, kdy je zjištěn určitý rizikový faktor, ale těhotenství jinak probíhá bez vážných komplikací. U patologického je prokázán chorobný průběh těhotenství, který může vést k ohrožení ženy i plodu. Vyskytuje se cca v 10 % (Gregora, Velemínský, 2017).

Pokud jsou přítomny rizikové faktory (viz Tab. III) v průběhu těhotenství, zvýší se pravděpodobnost jeho neúspěšného dokončení. Do 17. dne od oplození platí zákon „vše nebo nic“, tj. pokud dojde k poškození zárodku nepříznivými vlivy, nastává odumření zárodku a potrat. V pozdější fázi těhotenství je vyšší riziko pomalého růstu plodu, potratu, předčasného porodu, porodu plodu s vrozenou vývojovou vadou a v neposlední řadě i ohrožení samotné těhotné ženy (Gregora, Velemínský, 2017).

Tab. III: Nejčastější rizikové faktory v průběhu těhotenství (převzato z Gregora, Velemínský, 2017).

<b>Demografické rizikové faktory</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rodička pod 150 cm</li> <li>- Těhotenství u ženy mladší 17 let</li> <li>- Těhotenství u ženy starší 35 let</li> <li>- Žena, která porodila již čtyřikrát</li> </ul>
<b>Sociální rizikové faktory</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alkohol, drogy, kouření</li> <li>- Nechtěné těhotenství</li> </ul>
<b>Onemocnění a stavy v rodině</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Výskyt cukrovky</li> <li>- Genetické choroby či vrozené vývojové vady v rodině</li> </ul>
<b>Dříve prodělaná nebo současná onemocnění</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Zánět ledvin</li> <li>- Plicní nebo srdeční onemocnění</li> <li>- Poruchy krevní srážlivosti</li> </ul>
<b>Komplikace předchozího těhotenství</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Operace na děloze (císařský řez)</li> <li>- Léčba neplodnosti</li> <li>- Předčasný porod</li> <li>- Těhotenská cukrovka</li> <li>- Dva spontánní potraty nebo interrupce</li> </ul>
<b>Rizikové faktory v probíhajícím těhotenství</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rh negativní faktor</li> <li>- Přítomnost cukru nebo acetonu v moči</li> <li>- Přítomnost bakterií v moči</li> <li>- Vcestné lůžko</li> <li>- Vícečetné těhotenství</li> </ul>

### 5.1 Změny krevního srážení v graviditě

Normální těhotenství je spojeno s velkými změnami v koagulačních a fibrinolytických systémech. Jedná se o hyperkoagulační stav, který působí jako ochranný mechanismus pro usnadnění hemostázy při porodu (Seghatchian, Samama, Hecker, 1996). Úkolem hemostázy je udržovat optimální prokrvení placenty a zajistit během porodu rychlé a odpovídající srážení krve s cílem zastavit krvácení a při tom nezpůsobit trombózu (Hulíková, 2013). Normální těhotenství je doprovázeno zvýšenou koncentrací koagulačních faktorů s výjimkou FII a FV

a výrazným zvýšením fibrinogenu (viz Tab. IV). Dále dochází k výraznému poklesu hladiny PS, zatímco PC a AT zůstávají beze změny. PAI-1 se zvyšuje až pětinasobně (James, 2009).

Ženy mají až pětinasobné zvýšení rizika TEN během těhotenství a v období po porodu. 80 % TEN v těhotenství je žilních, s výskytem 0,49 až 1,72 na 1000 těhotenství. Mezi rizikové faktory vzniku TEN patří anamnéza trombózy, vrozená či získaná trombofilie, věk matky nad 35 let a různé komplikace během těhotenství a při porodu (James, 2009). Přibližně ¼ HŽT, které nejsou léčeny, progreduje do PE, která způsobuje 12–15 % úmrtnost. Jako hlavní příčinu vzniku TEN v těhotenství označujeme Leidenskou mutaci. V současné době je také známá protrombinová mutace, která zvyšuje riziko žilní trombózy během těhotenství, ale také riziko dalších komplikací v těhotenství např. preeklampsii<sup>9</sup>, odloučení placenty, retardaci fetálního růstu, potratu či narození mrtvého plodu. U žen, které mají TEN nebo závažné komplikace v průběhu těhotenství, je důležité, aby byly testovány na nosičství FV a na ostatní vrozené či získané trombofilní stavy (Urbánková a kol., 2002).

Tab. IV: Hemostatické změny v těhotenství (převzato z Katz, Beilin, 2015).

Hemostatický parametr	Změna v průběhu těhotenství
Faktory II a V	Beze změny
Fibrinogen	Zvýšení o více než 100%
Faktor VII	Zvýšení až o 1000%
Faktor VIII, IX, X, XII a vWF	Zvýšení o více než 100%
Faktor XI	Proměnlivý
Faktor XIII	Snížení o 50%
Protein C	Beze změny
Protein S	Snížení o 50%
D-dimer	Zvýšení o 400%
Počet krevních destiček	Snížení o 20%

<sup>9</sup> Stav v těhotenství projevující se zvýšeným krevním tlakem a přítomností bílkoviny v moči (Vitalion, 2018).

## 5.2 Umělé oplodnění, in vitro fertilizace (IVF)

In vitro fertilizace (IVF) je jedna ze základních metod umělého oplodnění, kdy dochází k oplození vajíčka spermií mimo tělo ženy (Koudelka, 2018). Po fertilizaci (oplodnění) vznikne embryo, které je následně přeneseno do endometria (děložní sliznice) (Paddock, 2016).

Hlavní příčinou neplodnosti bývá neprůchodnost vejcovodu u ženy nebo chámovodu u muže. Dále je ovlivněna např. i kouřením, stresem či špatnou životosprávou. (Mészárosová Uhrová, 2012). Pomocí IVF můžeme řešit neplodnost způsobenou (Todd, 2017):

- endometriózou<sup>10</sup>
- nízkým počtem spermií
- problémy s ovulací
- problémy s vejcovody
- problémem s protilátkami poškozující spermii či vajíčko
- neschopností spermiie proniknout nebo přežít v cervikálním<sup>11</sup> hlenu
- nevysvětlitelným problémem plodnosti

### 5.2.1 Praktický postup, četnost

Postup IVF můžeme rozdělit do několika fází (viz Obr. 4):

#### Stimulace vaječnicků hormonální terapií

Důležitá je stimulace mateřského organismu pomocí hormonů, kdy je zahájen proces ovulace, a tím dochází ke zvýšené tvorbě a zrání vajíček (Todd, 2017). Je nutné zvýšit hladinu FSH (folikulostimulační hormon) v krvi, buď injekčním podáním přímo FSH nebo podáním klomifenu, který poté zvýší tvorbu FSH v podvěsku mozkovém (Řežábek, 2008).

#### Odběr vajíček a darování spermií

Následuje odběr zralých vajíček punkcí folikulů. Odběr vajíček je prováděn pod ultrazvukovou kontrolou pomocí jehly zavedené přes pochvu (Řežábek, 2008). Probíhá v celkové anestezii, ve stejné době jsou také darovány spermiie. Důležité je načasování, vajíčka musí být odebrána těsně před vyplavením se z folikulů ve vaječniku. Pokud by byla odebrána příliš brzy, mohlo by následně dojít ke špatnému vývoji embrya (Todd, 2017).

---

<sup>10</sup> Gynekologické onemocnění, kdy částičky děložní sliznice rostou mimo dělohu, například ve vaječnicích (Paddock, 2016).

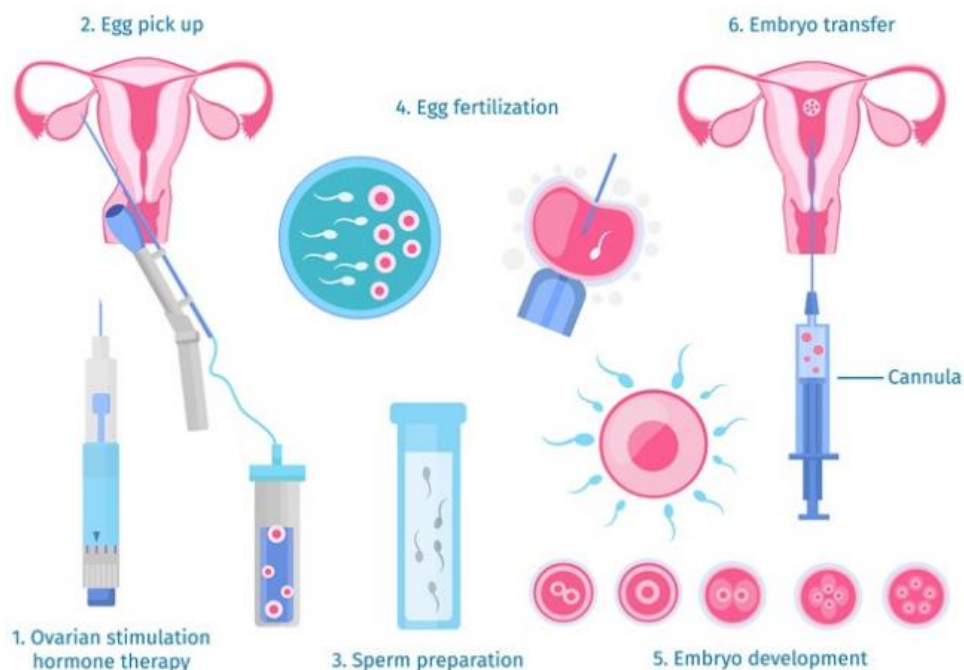
<sup>11</sup> Hlen děložního čípku (Harless, 2004).

## Oplodnění vajíčka a vývoj embrya

Odebraná vajíčka jsou oplodněna spermii ve zkumavce v laboratoři za použití speciálního kultivačního média. Pokud je nedostatek spermatu nebo mají spermie špatnou pohyblivost, použije se tzv. intracytoplazmatická injekce spermií (ICSI). Jde o proces, kdy se do vajíčka injikuje jediná spermie pod speciálním mikroskopem. Oplodněná vajíčka jsou kultivována a několik dní sledována v inkubátoru s vhodnou teplotou a vlhkostí vzduchu pro správný vývoj embrya (Punjabi, 2017).

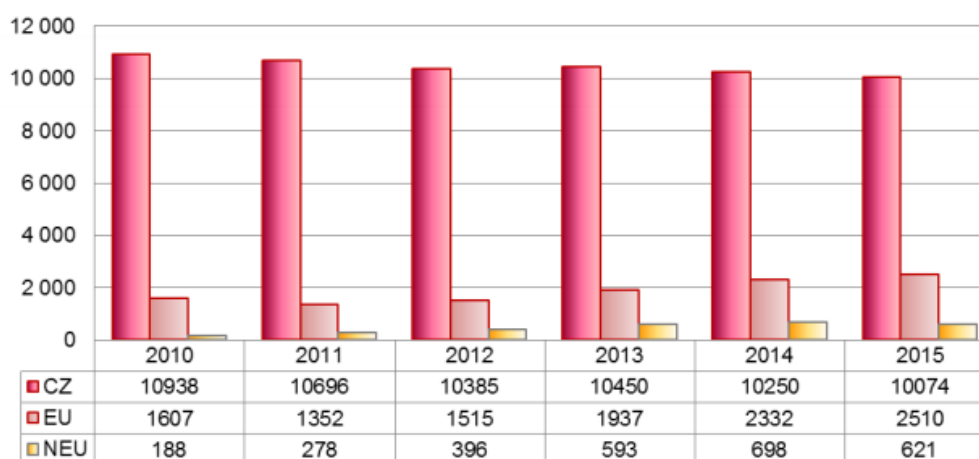
## Embryonální přenos

Pokud se embrya vyvíjí bez komplikací, nastává tzv. embryonální přenos, což je proces, kterým dochází k ukládání embrya do dutiny endometria (Punjabi, 2017). Počet přenesených embryí do endometria závisí na věku ženy. Pokud je žena starší více jak 40 let, mohou být přeneseny až tři embrya. U mladších žen se přenášejí nejčastěji dvě embrya (Thomas, 2017). Zbývající embrya mohou být zmrazena v laboratoři pro budoucí použití (Punjabi, 2017). V současné době je snaha o snížení počtu přenesených embryí z důvodu mnohočetného těhotenství, které je velmi rizikové.



Obr. 4: Postup IVF (převzato z Thomas, 2017).

Úspěšnost IVF v prvním cyklu je cca 40–50 %. Důležitým faktorem je věk ženy, kdy úspěšnost IVF u žen nad 40 let klesá (Koudelka, 2018). Z obrázku (viz Obr. 5) můžeme vidět, že počet zahájených cyklů IVF u žen s českou národností od roku 2010 klesá, s výjimkou v roce 2013, kdy nastal mírný nárůst. Naopak počet cyklů u žen z ostatních zemí EU a mimo EU, které podstoupily proces IVF v ČR, ve většině případů mírně roste. Průměrný počet cyklů IVF u žen z ČR je 10 466 během 6 let, což je přibližně 5,5× více než u žen z ostatních zemí EU.



Obr. 5: Počet zahájených cyklů IVF podle státní příslušnosti ženy (převzato z Řežábek, Jánová, 2017).

### 5.2.2 Komplikace IVF

Jako komplikaci hormonální léčby označujeme tzv. hyperstimulační syndrom, kdy je dávka hormonů pro danou ženu příliš vysoká a po stimulaci vaječníků dojde k vyššímu nárůstu folikulů, než je očekáváno. Hyperstimulace se projevuje zvětšením vaječníků, tvorbou ovariálních cyst a bolestí v podbřišku (Řežábek, 2008).

Každé těhotenství po IVF je vždy považováno za rizikové (Mészárosová Uhrová, 2012). Zvyšuje se riziko potratu v prvním trimestru těhotenství, v pozdější fázi hrozí výskyt preeklampsie a dalších komplikací. (Zeman, Doležal, 2000). Rizikem je i mimoděložní těhotenství, kdy embryo roste mimo dělohu, nejčastěji ve vejcovodu. Většina takových těhotenství samovolně zanikne. Při IVF je také zvýšena pravděpodobnost mnohočetného těhotenství, a to až ve 20 % těhotenství (Řežábek, 2008).

### 5.3 Hormonální substituční terapie (HRT) a její rizika

Jedná se o skupinu léků s pohlavními hormony, které mohou nahradit funkci vaječnicků. Jejich podání je zahájeno v případě nedostatku estrogenů. Obsahuje-li terapie pouze estrogeny, jde o estrogenní substituční terapii (ERT), která se používá u žen po hysterektomii<sup>12</sup> (Fait, 2004). Jako HRT je označována terapie, kdy estrogen doplňujeme gestagenem sekvenčně či kontinuálně, tzv. estrogen-gestagení kombinace (Agová, 2005). V poslední době se velmi rozšířila nabídka preparátů, lékových forem i jejich dávek a kombinací (Koliba, Ševčík, Hlavačka, 2002).

Estrogeny jsou nezbytnou součástí ženského organismu. Během dospívání podporují rozvoj sekundárních pohlavních znaků, v reprodukčním období jsou velmi důležité k proliferaci endometria a k uchycení zárodku. Pokud je v tomto období estrogenů nedostatek, je nutná jejich substituce. K HRT se používají většinou přirozené estrogeny (17-beta estradiol, estradiol valerát, esriol). U žen, které v anamnéze<sup>13</sup> nepodstoupily hysterektomii, je nutné podávat estrogeny v kombinaci s gestageny. (Koliba, Ševčík, Hlavačka, 2002).

HRT je také využívána ke stimulaci vaječnicků, pro zvýšení počtu zralých vajíček potřebných k IVF. K hormonální stimulaci vaječnicků se nejčastěji používají gonadotropiny, které stimulují vaječnický růst folikulů a produkci pohlavních hormonů. Množství indikovaného hormonu je ovlivněno váhou ženy, jejím věkem či předchozí reakcí na tuto stimulaci. Po stimulaci se hladina estrogenů zvýší až 16× během dvou týdnů. Ve většině případů podstoupí žena stimulaci čtyřikrát (Hulvert, 2018).

Užívání HRT může s sebou přinášet určitá rizika. Mezi časté patří mastodynie<sup>14</sup>, zadržování tekutin v těle, křeče dolních končetin, bolest hlavy u estrogenů, deprese a zvýšená chuť k jídlu u gestagenů. HRT je kontraindikována v případě neléčeného karcinomu prsu, TEN a krvácení z dělohy. Dříve byla uváděna kontraindikace HRT z důvodu ischemické choroby srdeční, diabetes mellitus<sup>15</sup> a migrény. Dnes jsou tyto důvody považovány za zastaralé. (Fait, 2004).

---

<sup>12</sup> Odebrání dělohy (Fait, 2004).

<sup>13</sup> Předchorobí (Velký lékařský slovník, 2018).

<sup>14</sup> Bolest či pocit napětí v prsou, zvýšená citlivost (Indonal, 2018).

<sup>15</sup> Chronické onemocnění projevující se poruchou metabolismu sacharidů (Lichnovský, 2017).



## 6 Cíle práce

- Porovnání koagulačních laboratorních výsledků u pacientek se spontánní graviditou a graviditou po umělém oplodnění.

### 6.1 Podcíle

- Porovnat vrozené či získané rizikové faktory u žen se spontánní graviditou a graviditou po IVF.
- Zjistit úspěšnost IVF a úspěšnost donošené gravidity po procesu IVF.
- Zhodnotit hladinu D-dimerů u spontánně gravidních žen a žen po IVF.

### 6.2 Hypotézy

- Ženy, které prodělaly proces IVF, jsou ve vyšší věkové kategorii.
- Ženy po IVF nemají více vrozených hyperkoagulačních stavů.
- Úspěšnost IVF po prvním prodělaném cyklu je okolo 40–50 %.
- Hladina D-dimerů u gravidních žen v průběhu těhotenství stoupá, vrozený hyperkoagulační stav hladinu ještě zvyšuje.

## 7 Materiály a metodika

Všechna vyšetření krve byla provedena v Laboratoři klinické hematologie Nemocnice České Budějovice, a. s.

### 7.1 Odběr krve a zpracování vzorku

Odběr biologického materiálu je potřeba provést podle základních pravidel, aby nedošlo ke zkreslení výsledku měření. Výsledek může být ovlivněn stavem pacienta v tzv. preanalytické fázi, analytickými chybami během zpracování vzorku nebo také špatnou interpretací výsledku v postanalytické fázi.

Před odběrem biologického materiálu je potřeba správná příprava pacienta, aby nedošlo již v této preanalytické fázi k ovlivnění výsledků. Je důležité, aby pacient přišel na odběr v ranních hodinách nalačno, a den před odběrem by neměl konzumovat tučné jídlo či alkohol. Nedoporučuje se ani hladovění a dehydratace. Výsledky vyšetření mohou být ovlivněny preanalytickými faktory, kdy některé z nich jsou neovlivnitelné, jiné naopak ovlivnitelné (viz Tab. V). Ke zkreslení výsledku může také dojít během odběru krve, kdy je důležitá poloha pacienta či způsob odběru.

Tab. V: Neovlivnitelné a ovlivnitelné preanalytické faktory (převzato z Kašparová, 2018).

Neovlivnitelné faktory	Ovlivnitelné faktory
Pohlaví a věk	Fyzická aktivita
Rasa	Psychický stres
Gravidita	Kouření, alkohol, léky

K odběru krve se v Nemocnici České Budějovice, a. s. využívá systém Becton Dickinson Vacutainer, kdy jsou odběry prováděny do připravených zkumavek lišících se barvou uzávěru. Pro koagulační vyšetření se používají zkumavky se světle modrým uzávěrem, kde je obsažený antikoagulační roztok. Jedná se o 3,8% citrát sodný, který váže z krve vápenaté ionty a tím zabraňuje koagulaci. Je zde důležité dodržet správný poměr krve k antikoagulačnímu činidlu, který je u citrátu sodného 9:1, tedy 9 dílů krve a 1 díl činidla. Po odběru je důležité promíchat obsah zkumavky otočením. Pokud je nesprávný poměr krve a antikoagulačního činidla či pokud je proveden odběr krve do jiné zkumavky, jde o závažnou chybu.

Po správně provedeném odběru nastává transport biologického materiálu do laboratoře, který musí být rychlý a šetrný. Krev je potřeba během transportu chránit před vnějšími vlivy a je důležité zajistit bezpečný transport. Ke každému vzorku zaslanému ke zpracování je nutné přiložit správně vyplněnou žádanku (Kašparová, 2018).

Vzorky společně se žádankami jsou pracovníky centrálních laboratoří přijímány 24 hodin denně. Pracovník provede kontrolu a označí žádanku i vzorek identifikačním štítkem se stejným kódem, pod kterým je vzorek dále zpracován a zadán do laboratorního informačního systému (LIS).

## **7.2 Stanovení hladiny D-dimerů**

Ke stanovení hladiny D-dimerů je odebírána nesrážlivá venózní krev do zkumavek se světle modrým uzávěrem, které obsahují citrát sodný. Jedná se tedy o koagulační vyšetření, kdy je nutné dopravit vzorek do laboratoře do 2 hodin od odběru.

Po kontrole a zadání vzorku do LIS je potřeba centrifugovat vzorek 15 minut při 2500 g. Poté je vzorek zkontrolován. Pokud je správný poměr citrátu a plazmy a neobjeví se žádná sraženina, je vzorek dále zpracován.

V Laboratoři klinické hematologie Nemocnice České Budějovice, a. s. je ke koagulačnímu vyšetření D-dimerů používán koagulační analyzátor Sysmex CS – 5100. Jde o imunoturbidický test Innovance D-dimer od společnosti Siemens. V laboratoři je také hematologický analyzátor CS – 2100i, který se běžně nevyužívá pro měření D-dimerů, avšak pracuje se stejnými reagensy.

Sysmex CS – 5100 a Sysmex 2100i jsou plně automatizované hemokoagulační analyzátory sloužící k in vitro diagnostice. Využívají koagulační, chromogenní a imunologické metody. Pro vyšetření D-dimerů je využívána imunologická metoda, kdy agregáty vzniklé reakcí antigen-protilátka mění průchodnost světla vzorkem. Neměří se tedy koncentrace D-dimerů, ale změna optické hustoty plazmy. Výsledná hodnota se stanovuje v mg/L FEU (Roučková, 2015).

### 7.3 Získání a zpracování dat

Všechna data pro tuto práci byla získána z databáze LIS Ambulance klinické hematologie Nemocnice České Budějovice, a. s. a zpracována pomocí programu MS Excel 2016. Pro většinu statistických výpočtů byl použit t-test při shodných, resp. neshodných rozptylech, shoda rozptylu byla ověřena f-testem. K výpočtům byl použit program MS Excel 2016. Při porovnání více skupin byla použita jednocestná ANOVA. K výpočtům byl použit server <https://www.danielsoper.com/statcalc/calculator.aspx?id=43>

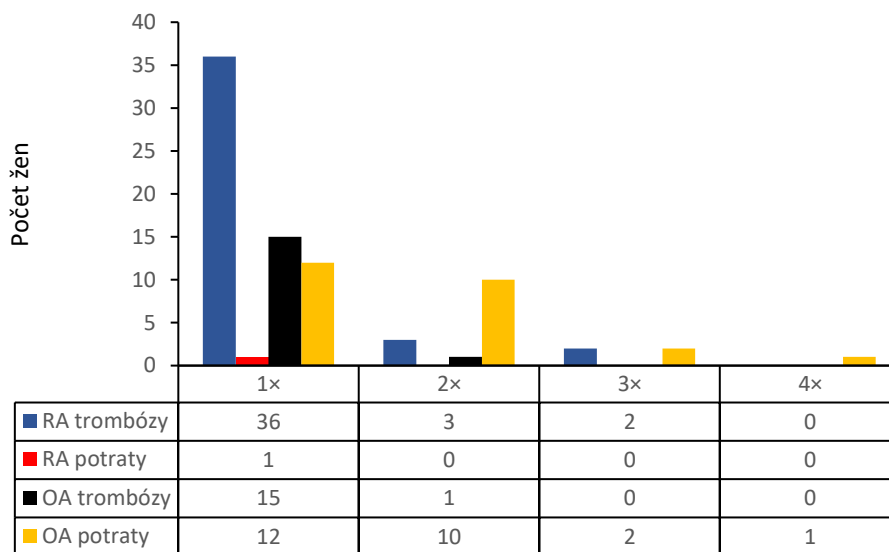
Byla použita data pacientek z roku 2015 a 2016.

Pro práci bylo vybráno 114 pacientek mezi 25–45 lety, u kterých byla dohledána rodinná anamnéza, osobní anamnéza, a dále byly vybrány pacientky, které někdy podstoupily proces IVF. U žen po IVF se dohledalo, kolik cyklů IVF podstoupily a zda byl pokus úspěšný či neúspěšný. U žen byly také zjišťovány hyperkoagulační stavy, kdy bylo porovnáno, jestli ženy, které podstoupily IVF, mají více rizikových faktorů než ženy spontánně gravidní.

Následně se zkoumaly hodnoty D-dimerů u žen, které byly v době vyšetření gravidní. Porovnávalo se, zda ženy po IVF mají jiné hodnoty D-dimerů než ženy se spontánní graviditou. Byl brán zřetel na to, že čím déle je žena těhotná, tím vyšší je hladina D-dimerů. U žen bylo také zjišťováno, zda mají Leidenskou mutaci, která způsobuje zvýšenou hladinu D-dimerů.

## 8 Výsledky

Pro tuto práci bylo vybráno 114 žen mezi 25–45 lety, které navštívily Ambulanci klinické hematologie Nemocnice České Budějovice, a. s. U žen bylo provedeno vyšetření na hyperkoagulační stav a také zjištěna rodinná a osobní anamnéza (RA, OA). Bylo vyhledáno, u kolika žen a kolikrát se vyskytla trombóza v RA a OA, a také u kolika žen a kolikrát nastal potrat jak v RA, tak v OA (viz Obr. 6).



Obr. 6: Počet žen, u kterých se jednou či vícekrát objevila trombóza/ potrat v RA a OA.

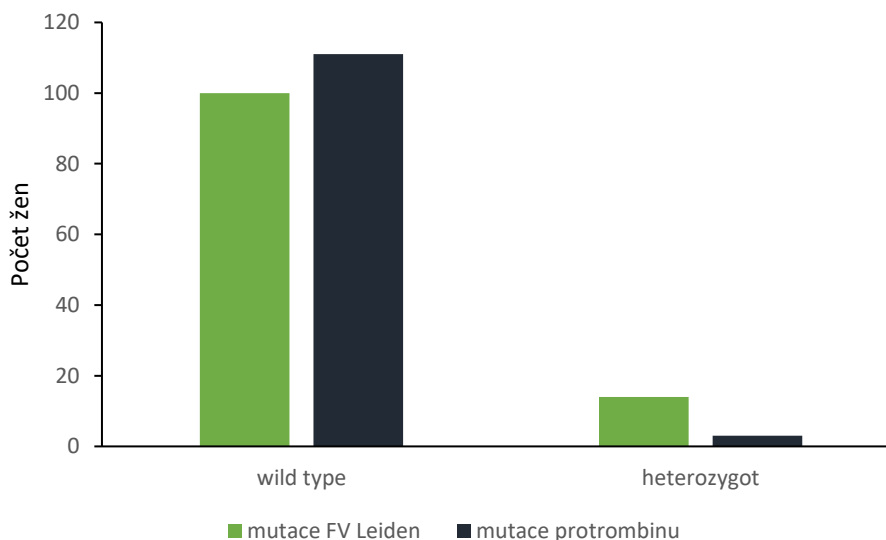
Z grafu na Obr. 6 je zřejmé, že jako nejvíce rizikový faktor se vyskytovala jedenkrát prodělaná trombóza v RA, tj. u 36 žen. Z tohoto důvodu ženy nejčastěji navštívily Ambulanci klinické hematologie. Není ale podmínkou, že ženy, u kterých se vyskytuje trombóza v RA, prodělají také trombózu. Můžeme vidět, že jednou trombózu prodělalo 15 žen, ze kterých pouze 4 ženy měly výskyt trombózy v RA. V malém množství byla také trombóza prodělána 2× či 3× v RA (u 5 žen) a 2× v OA (pouze 1 žena). Z grafu také můžeme vidět, že dochází velmi často k výskytu potratů v OA, zatímco potraty v RA jsou neobvyklé.

Dále bylo u všech 114 žen provedeno vyšetření na mutaci FV Leiden a na mutaci protrombinu. Téměř u 90 % žen se nevyskytovala mutace FV Leiden (wild type) a u cca 97 % žen byla negativní mutace protrombinu. Ostatní ženy byly pro obě mutace heterozygoty (viz Tab. VI). U obou mutací se nevyskytovala žádná homozygotní forma.

Tab. VI: Počet zdravých a hyperkoagulačních žen pro typ mutace.

	<b>mutace FV Leiden</b>	<b>mutace protrombinu</b>
<b>wild type</b>	100	111
<b>heterozygot</b>	14	3

Hodnoty z Tab. VI jsou znázorněny v grafu (viz Obr. 7).

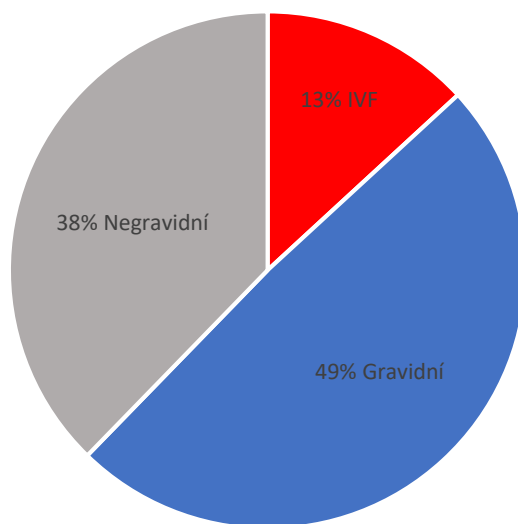


Obr. 7: Počet zdravých a heterozygotních žen podle typu mutace.

Z grafu na Obr. 7 je vidět, že mutace FV Leiden se u žen vyskytuje více než mutace protrombinu. Leidenská mutace je u 14 žen přítomna v heterozygotní formě. U mutace protrombinu jsou pouze 3 ženy heterozygoty, ostatní tuto mutaci nemají. Můžeme ještě říci, že 2 ženy, které jsou heterozygoty pro mutaci FV Leiden, jsou zároveň heterozygoty pro mutaci protrombinu.

## 8.1 Porovnání dvou skupin žen

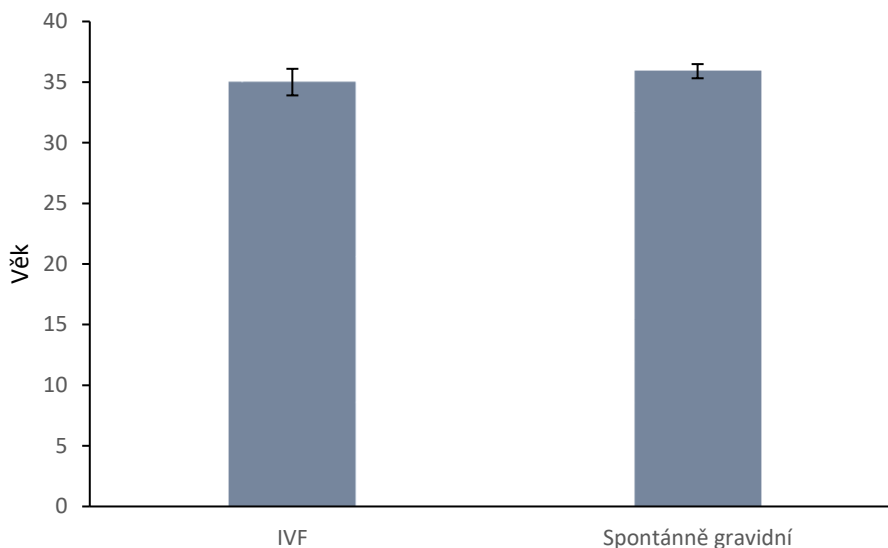
V této části práce jsou porovnány rizikové faktory žen se spontánní graviditou a žen po procesu IVF. Výpočty byly prováděny na základě aktuální, tzn. poslední gravidity. Z celkového počtu 114 žen bylo 56 žen ve věku 26–44 let, které otěhotněly spontánně. Proces IVF podstoupilo 15 žen (viz Obr. 8) ve věku 27–42 let.



Obr. 8: Podíl žen se spontánní graviditou, graviditou po IVF a žen negravidních.

Graf na Obr. 8 ukazuje, že téměř 50 % žen otěhotnělo spontánně, zatímco proces IVF podstoupilo 13 % žen. Je tedy zřejmé, že stále více žen otěhotní spontánně a pouze u několika málo žen je ke graviditě potřeba podstoupit proces IVF.

V tomto souboru byly ženy po procesu IVF v nižším věkovém rozmezí než ženy se spontánní graviditou. Věk u žen s graviditou po IVF a se spontánní graviditou se však příliš nelišil (viz Obr. 9).



Obr. 9: Průměrný věk žen se spontánní graviditou a graviditou po IVF.  $N(\text{IVF}) = 15$ ,  $N(\text{spontánně gravidní}) = 56$ . Znáznorněn průměr  $\pm$  SEM (střední chyba průměru).

Z výše uvedeného grafu (Obr. 9) je vidět, že průměrný věk žen po IVF je  $35 \pm 1,09$  let, u žen spontánně gravidních je to  $35,9 \pm 0,58$  let. Rozdíl však není statisticky průkazný.

U žen gravidních po IVF se překvapivě vyskytuje méně rizikových faktorů než u žen spontánně gravidních.

U žen, které podstoupily proces IVF, se nevyskytuje ani mutace FV Leiden, ani mutace protrombinu. Tyto ženy tedy nemají žádný vrozený hyperkoagulační stav. Trombóza v RA se vyskytuje u 5 žen, avšak v OA se žádná trombóza nevyskytla. U 2 žen z celkového počtu 15 žen došlo k potratu 2 $\times$ , u 2 žen 3 $\times$ .

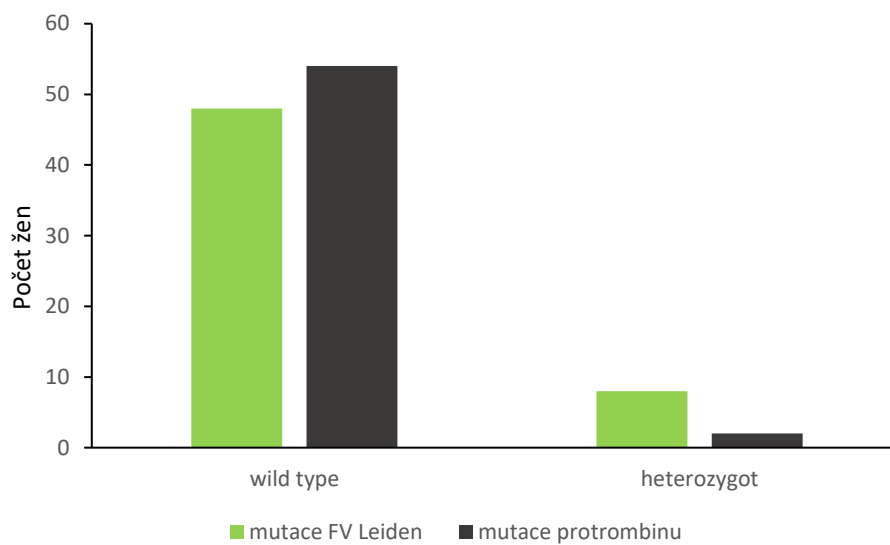
Spontánně gravidní ženy mají vyšší zastoupení trombóz v RA i v OA. Docházelo také k většímu množství potratů, avšak minimálně jednu donošenou graviditu má všech 56 žen. Vyskytují se zde také ženy s heterozygotní formou mutace FV Leiden a mutace protrombinu (viz Tab. VII).

Tab. VII: Počet zdravých či heterozygotních spontánně gravidních žen podle typu mutace.

	<b>mutace FV Leiden</b>	<b>mutace protrombinu</b>
<b>wild type</b>	48	54
<b>Heterozygot</b>	8	2

Hodnoty z Tab. VII jsou vyneseny v grafu (viz Obr. 10).





Obr. 10: Počet spontánně gravidních žen podle typu a formy mutace.

Graf (Obr. 10) nám ukazuje, že z 56 spontánně gravidních žen má Leidenskou mutaci pouze 8 žen v heterozygotní formě. Mutace protrombinu je méně častá, heterozygotní formu mají pouze 2 ženy.

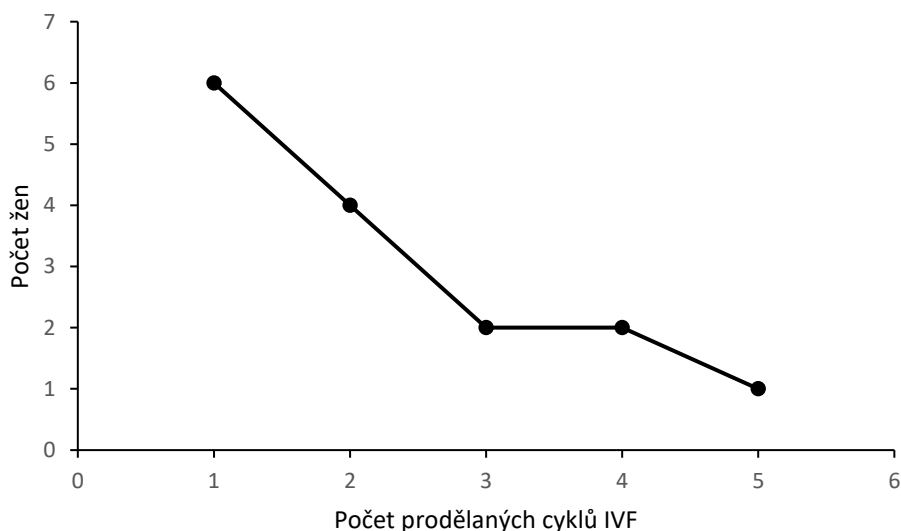
## 8.2 Úspěšnost IVF

Z celkového počtu 114 žen vybraných z databáze LIS, bylo 15 žen, které v minulosti či v současnosti podstoupily proces IVF. Některé ženy podstoupily proces IVF již po několikáté, jiné naopak poprvé. (viz Tab. VIII).

Tab. VIII: Počet zahájených cyklů IVF.

Počet zahájených cyklů	Počet žen
1	6
2	4
3	2
4	2
5	1

Hodnoty z Tab. VIII jsou znázorněny v grafu (viz Obr. 11).

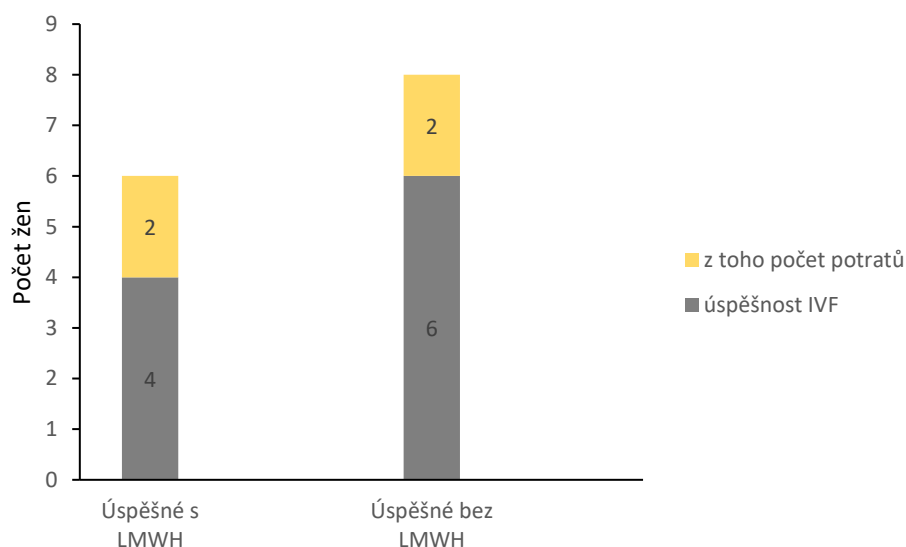


Obr. 11: Počet prodělaných cyklů IVF.

Z grafu na Obr. 11 je zřejmé, že z 15 žen po procesu IVF je 40 % žen, které podstoupily zatím pouze jeden cyklus IVF.

Úspěšnost IVF po prvním prodělaném cyklu zde byla velmi vysoká, cca 83 %, ale došlo k jednomu potratu, tzn. úspěšnost donošené gravidity je o něco nižší, tedy cca 66 %. U žen, které prodělaly již několik cyklů IVF (2 a více) je úspěšnost nižší, a tedy 55 %. Došlo zde i vyššímu množství potratů, takže úspěšnost donošené gravidity je pouze 22 %.

Některým ženám bylo nutné podávat nízkomolekulární heparin (LMWH), který je podáván jako prevence TEN a spontánního potratu (viz Obr. 12).



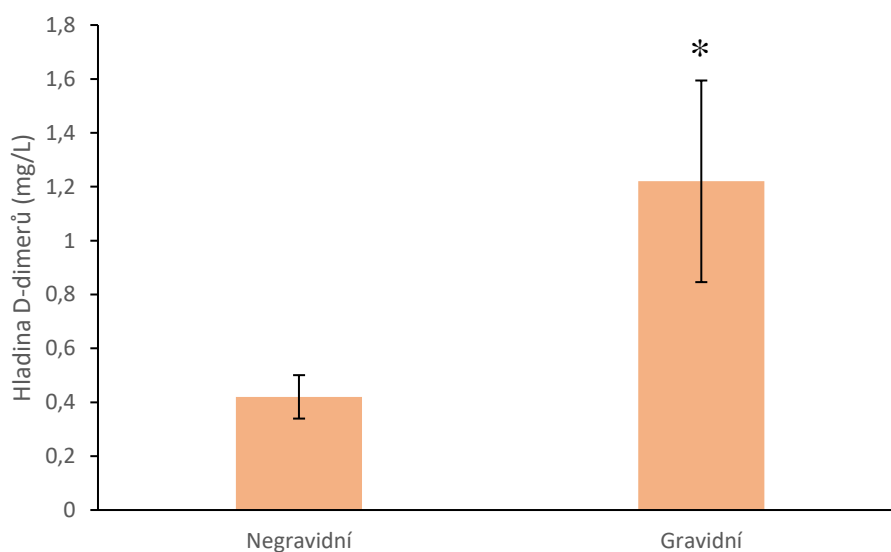
Obr. 12: Úspěšnost IVF s/bez podání LMWH a počet potratů.

Graf na Obr. 12 znázorňuje celkový počet žen po první či po několikátém cyklu IVF, u kterých byl proces IVF úspěšný. Lze vidět, že počet potratů jak s podáním, tak bez podání LMWH jsou celkem 4 potraty. Úspěšnost IVF je více než 60 %, úspěšnost donošené gravidity je tedy 40 %.

### 8.3 Porovnání hladiny D-dimerů

V této části bude porovnána hladina D-dimerů u žen, které byly v době vyšetření spontánně gravidní či gravidní po procesu IVF. Gravidních žen, u kterých byla změřena hladina D-dimerů, bylo 24. Je důležité říci, že čím déle je žena těhotná, tím vyšší by měla hladina D-dimerů být. Pokud byl u ženy zjištěn hyperkoagulační stav, je hladina D-dimerů také zvýšena.

Nejdříve ale byly porovnány průměrné hladiny D-dimerů u negravidních a gravidních žen bez ohledu na spontánní graviditu či graviditu po IVF (viz Obr. 13).

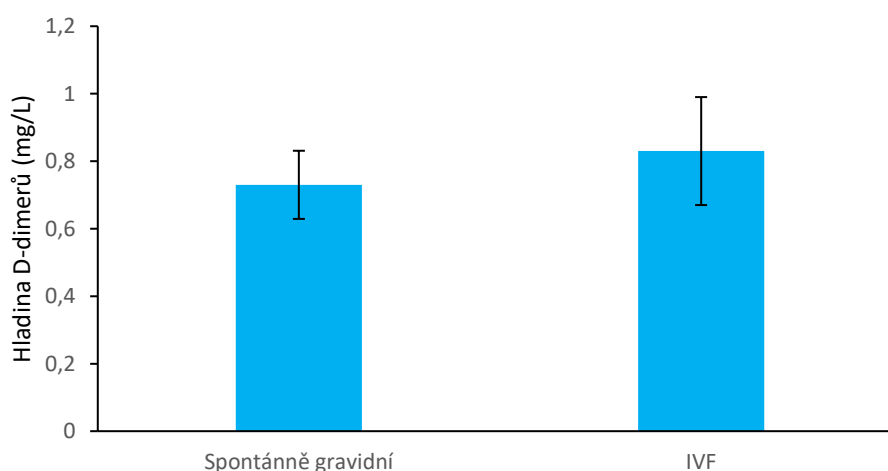


Obr. 13: Průměrná hladina D-dimerů u negravidních/gravidních žen. N(negravidní) = 90, N(gravidní) = 24. Znáznorněn průměr  $\pm$  SEM. \* –  $p < 0,05$

Graf na Obr. 13 nám říká, že negravidní ženy mají nižší průměrnou hladinu D-dimerů ( $0,42 \pm 0,08$  mg/L) než ženy gravidní ( $1,22 \pm 0,37$  mg/L). Tento rozdíl je statisticky průkazný.

Nyní se ale budeme zabývat pouze gravidními ženami a porovnáme hladinu D-dimerů u žen se spontánní graviditou a graviditou po IVF (viz Obr. 14).

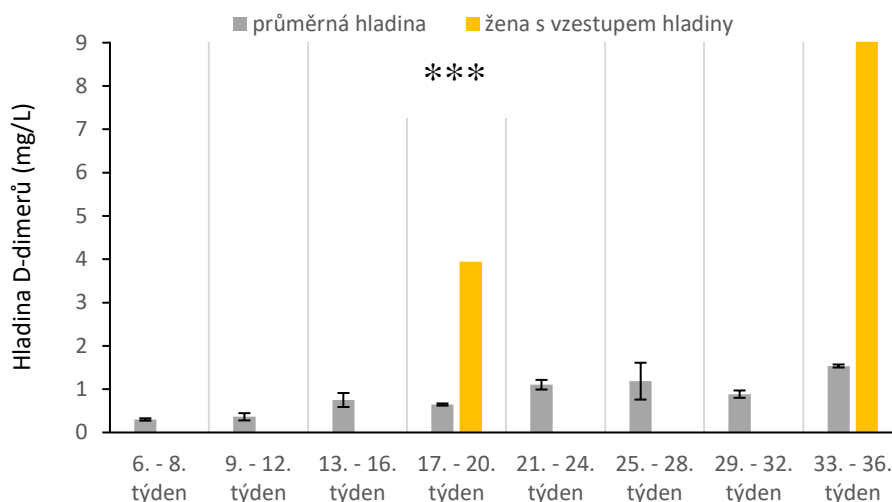
U spontánně gravidních žen byly vyřazeny 2 ženy, u kterých byl v době vyšetření zjištěn určitý problém, a byla jim tedy naměřena velmi vysoká hladina D-dimerů. Hodnoty hladin D-dimerů se v dalších případech velmi nelišily, ať už šlo o spontánní graviditu či graviditu po IVF. V tomto případě nebyl brán ohled na týden gravidity v den vyšetření.



Obr. 14: Průměrná hladina D-dimerů u žen se spontánní graviditou a graviditou po IVF. N(spontánně gravidní) = 22, N(IVF) = 2. Znáznorněn průměr ± SEM.

Z grafu na Obr. 14 můžeme vidět, že jak spontánně gravidní ženy, tak ženy po IVF mají zvýšenou hladinu D-dimerů. Ženy s graviditou po IVF mají hladinu D-dimerů  $0,83 \pm 0,16$  mg/L a ženy se spontánní graviditou  $0,73 \pm 0,1$  mg/L. Tento rozdíl není statisticky průkazný.

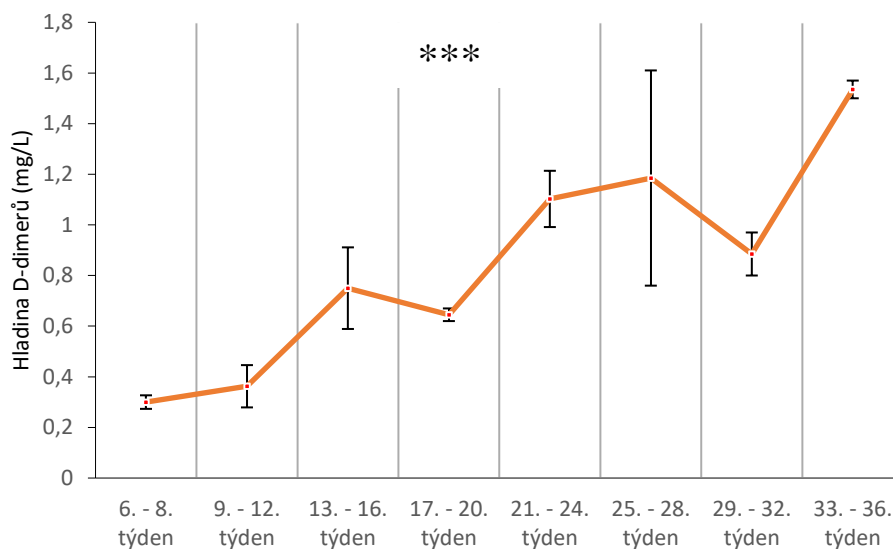
V následujícím grafu již porovnáme hladinu D-dimerů v průběhu těhotenství (viz Obr. 15). Jelikož máme málo žen, kterým byla změřena hladina D-dimerů během gravidity po IVF, nebudeme brát ohled na to, zda žena otěhotněla spontánně či po IVF. Hladina D-dimerů v průběhu gravidity u žen po IVF se v zásadě nelišila od hodnot D-dimerů u žen s graviditou spontánní.



Obr. 15: Průměrná hladina D-dimerů u gravidních žen v průběhu těhotenství. N(6.–8. týden)= 4, N(9.–12. týden) = 4, N(13.–16. týden) = 4, N(17.–20. týden) = 2, N(21.–24. týden) = 4, N(25.–28. týden) = 2, N(29.–32. týden) = 2, N(33.–36. týden) = 2. Znázorněn průměr  $\pm$  SEM, žlutě znázorněny vysoké hodnoty dvou žen vyřazených z průměru a ze statistické analýzy. \*\*\* –  $p < 0,001$  (ANOVA)

Graf na Obr. 15 ukazuje, že k nárůstu hladiny D-dimerů v graviditě dochází téměř pravidelně. K mírnému poklesu došlo v 17.–20. týdnu gravidity ( $0,65 \pm 0,025$  mg/L) a v 29.–32. týdnu gravidity ( $0,97 \pm 0,085$  mg/L). V prvních týdnech těhotenství je průměrná hladina D-dimerů  $0,3 \pm 0,027$  mg/L, v 33.–36. týdnu je to 5×více, a tedy  $1,53 \pm 0,035$  mg/L. Změna hladiny D-dimerů v průběhu gravidity je statisticky průkazná. V tomto grafu jsou žlutě znázorněny hodnoty hladin D-dimerů u 2 žen, které byly z důvodu naměření vysokých hodnot vyřazený z průměru pro lepší grafické znázornění.

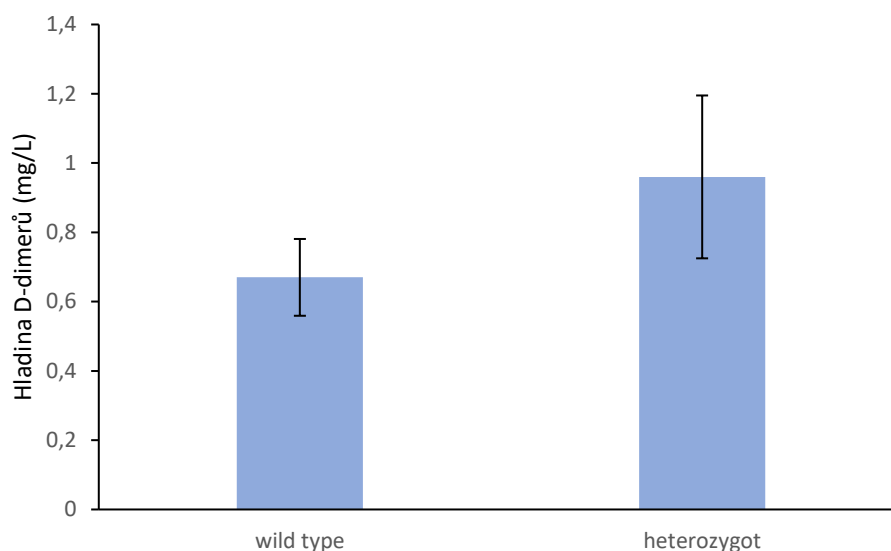
Na následujícím grafu (viz Obr. 16) budou lépe vidět změny hladiny D-dimerů v průběhu těhotenství. Je použit stejný soubor dat jako u Obr. 15. Opět byly vyřazeny 2 ženy s velmi zvýšenými hodnotami pro lepší grafické zobrazení.



Obr. 16: Změny hladiny D-dimerů u gravidních žen v průběhu těhotenství. N(6.–8. týden) = 4, N(9.–12. týden) = 4, N(13.–16. týden) = 4, N(17.–20. týden) = 2, N(21.–24. týden) = 4, N(25.–28. týden) = 2, N(29.–32. týden) = 2, N(33.–36. týden) = 2. Znáznorněn průměr ± SEM. \*\*\* –  $p < 0,001$  (ANOVA)

Graf (Obr. 16) nám ukazuje změny hladiny D-dimerů u gravidních žen během těhotenství. Můžeme vidět, že hladina ve většině případů roste.

Hladina D-dimerů se tedy zvyšuje v průběhu gravidity, přítomností vrozeného hyperkoagulačního stavu se očekává hodnota ještě vyšší. Byly porovnány průměrné hodnoty zdravých gravidních žen a gravidních žen s heterozygotní formou mutace FV Leiden (viz Obr. 17). Zde byly znovu vyřazeny 2 ženy s vysokou hladinou D-dimerů.



Obr. 17: Průměrná hladina D-dimerů u zdravých či hyperkoagulačních gravidních žen. N(wild type) = 16, N(heterozygot) = 4. Znáznorněn průměr  $\pm$  SEM.

Z grafu na Obr. 17 je vidět, že gravidní ženy, které mají vrozený hyperkoagulační stav, mají hladinu D-dimerů  $0,96 \pm 0,23$  mg/L, ženy zdravé  $0,67 \pm 0,11$  mg/L. Rozdíl není statisticky průkazný.



## 9 Diskuse

Důvodem, proč ženy navštěvují Ambulanci klinické hematologie, je v mnoha případech obava z výskytu trombózy. Ze 114 sledovaných žen mělo téměř 40 % z nich výskyt trombózy v rodinné anamnéze, avšak v osobní anamnéze prodělalo trombózu pouze 14 % žen. Hluboká žilní trombóza je nejčastějším klinickým projevem vrozených hyperkoagulačních stavů. Velmi častým diagnostikovaným hyperkoagulačním stavem je mutace FV Leiden, ve většině případů v heterozygotní formě. Zatímco heterozygotní forma zvyšuje riziko TEN až 5×, homozygotní forma se vyskytuje velmi vzácně, avšak zvyšuje riziko TEN až 50× (Indrák, 2014). Homozygotní forma mutace FV Leiden se v této práci nevyskytovala u žádné z žen. Heterozygoty pro tuto mutaci bylo pouze 12 % žen, tzn., že ostatní ženy tuto mutaci nemají. Dále byla sledována mutace protrombinu, která se vyskytovala také pouze v heterozygotní formě u necelých 3 % žen, většina žen byla tedy pro tuto mutaci negativní. Graf na Obr. 7 nám říká, že mutace FV Leiden se vyskytuje téměř 5× více než mutace protrombinu, což není velmi odlišné od výskytu v populaci. V populaci je prevalence Leidenské mutace cca 3–7 %, ale např. v Itálii či ve Španělsku jsou to pouze 2 %, naopak ve Švédsku je prevalence velmi vysoká, až cca 15 % (Urbánková a kol., 2002). Mutace protrombinu se řadí mezi druhou nejčastější predispozici ke vzniku TEN. Její prevalence v populaci je 1–3 %. U pacientů, kteří jedenkrát prodělali trombózu, je možné Leidenskou mutaci prokázat u 20 % pacientů, mutaci protrombinu u 6 %. (Deitcher, 2010).

V této práci bylo ale spíše důležité porovnat rizikové faktory u dvou skupin žen, a to u žen spontánně gravidních a gravidních po IVF. Žen gravidních po IVF v této práci bylo 13 %, v populaci je však toto procento nižší. Žen spontánně gravidních bylo o poznání více, a to téměř 50 %. Spontánně gravidní ženy byly ve vyšším věkovém rozmezí než ženy, které podstoupily IVF. Rozdíl průměrného věku nebyl statisticky průkazný, což mohlo být způsobeno nízkým počtem gravidních žen po IVF. Průměrný věk žen po IVF byl 35 let, což odpovídá věku uváděnému v populaci, kdy tento věk je průměrně 34,2 let (Řežábek, Jánová, 2017). Zajímavé je, že u žen po IVF se vyskytovalo méně rizikových faktorů než u žen spontánně gravidních. Zatímco u žen se spontánní graviditou byla v několika případech přítomna heterozygotní forma mutace FV Leiden a mutace protrombinu, u žen po IVF se nevyskytovala ani jedna sledovaná mutace.

V roce 2015 podstoupily ženy české národnosti celkem 10 074 cyklů IVF (Řežábek, Jánová, 2017). Pro tuto práci bylo k dispozici pouze 15 žen, které celkově prodělaly 33 cyklů, kdy 6 žen bylo po prvním cyklu IVF. Některým ženám stačí k úspěšnému IVF podstoupit

pouze jeden cyklus, u některých se však cykly musí několikrát opakovat, a někdy bohužel ani po opakovaných pokusech nedojde k úspěšnému oplodnění. U sledovaných žen byla úspěšnost po prvním cyklu IVF velmi vysoká, a to 83 %. Tento výsledek je velmi ovlivněn nízkým počtem žen po prvním cyklu IVF a nesouhlasí tedy s udávanou úspěšností. Úspěšnost gravidity po prvním prodělaném cyklu IVF se udává cca na 40–50 %, avšak záleží na mnoha faktorech, a to například na věku ženy (Koudelka, 2018). Úspěšnost IVF po několika prodělaných cyklech (2 a více) zde byla 55 %. Gravidita po IVF je více riziková než gravidita spontánní. Ať už se jedná o ženy po prvním úspěšném cyklu IVF nebo po několikátém opakovaném cyklu, vždy dojde k určitému množství potratů, v tomto souboru až ve 26 % případů. Ženám je v některých případech nutné podávat nízkomolekulární heparin, avšak úspěšnost IVF je s jeho podáním nižší než bez podání tohoto léku. Celková úspěšnost donošené gravidity po IVF je zde 40 %. To je o poznání méně, než například uvádí centrum asistované reprodukce ISCARE I. V. F. a. s., kde úspěšnost dosahuje až 63 %.

V práci byla také porovnána hladina D-dimerů u negravidních, spontánně gravidních žen a žen gravidních po IVF. Průměrná hladina D-dimerů v této práci u negravidních žen byla 0,42 mg/L a u žen gravidních, bez ohledu na spontánní graviditu či graviditu po IVF, 1,22 mg/L. Tyto výsledky byly velmi podobné jako v nedávné diplomové práci, kde negravidní ženy měly průměrnou hladinu D-dimerů 0,5 mg/L a ženy gravidní 1,3 mg/L (Štíchová, 2017). Důležitější však bylo porovnání hladiny D-dimerů u žen se spontánní graviditou a graviditou po IVF. Z grafu, který je zobrazen na Obr. 14, lze vidět vyšší hladinu D-dimerů u žen po IVF, avšak rozdíl není statisticky průkazný. Je také nutno říci, že u spontánně gravidních žen byly vyřazeny 2 ženy z důvodu vysoké hladiny D-dimerů, které velmi ovlivňovaly výsledky.

Dále se práce zabývala změnou hladiny D-dimerů v průběhu gravidity. V této části již nebyly odlišeny ženy spontánně gravidní a ženy gravidní po IVF. Hladina D-dimerů v průběhu gravidity téměř pravidelně rostla, bylo však opět nutné z průměrných hodnot vyřadit 2 ženy s velmi vysokými hladinami D-dimerů. Hodnoty těchto žen jsou žlutě znázorněny na Obr. 15 a lze vidět, že jejich hodnoty se opravdu velmi liší od průměru. Zvyšování hladiny D-dimerů v průběhu těhotenství bylo prokázáno již v předchozích pracích prováděných na stejném pracovišti. V těchto pracích byl také brán ohled na hyperkoagulační stavy a byla prokázána ještě vyšší hladina D-dimerů v průběhu těhotenství u žen s mutací FV Leiden (Felixová, 2017, Kabelová, 2017). V této práci byla také porovnána hladina D-dimerů u zdravých a hyperkoagulačních žen, ale zvýšená hladina D-dimerů u hyperkoagulačních žen nebyla v tomto souboru statisticky průkazná.

Pro tuto práci byl vybrán nízký počet žen, které podstoupily proces IVF. Pro lepší výsledky by bylo určitě do budoucna dobré získat pro výzkum více žen, které podstoupily proces IVF, a zabývat se podrobněji diagnostikou, jak jejich vrozených hyperkoagulačních stavů, tak získaných rizikových faktorů, čímž je např. výše zmíněný věk. Pro odlišení spontánně gravidních žen a žen po IVF v souvislosti se změnou hladiny D-dimerů v průběhu gravidity by bylo potřeba získat více hodnot hladin D-dimerů u žen po IVF v průběhu těhotenství.

## 10 Závěr

- Cílem práce bylo porovnat koagulační laboratorní výsledky u pacientek se spontánní graviditou a graviditou po umělém oplodnění. Tento cíl byl zcela splněn. Dále byly dány jednotlivé podcíle práce:
  - Prvním podcílem bylo porovnat vrozené či získané rizikové faktory u těchto dvou skupin žen, kdy byl podcíl splněn.
  - Dále byl splněn podcíl pro zjištění úspěšnosti IVF, především tedy úspěšnosti donošené gravidity po procesu IVF.
  - Posledním podcílem bylo zhodnotit hladinu D-dimerů u spontánně gravidních žen a žen po IVF, což bylo také splněno.
  
- U získaných rizikových faktorů jako je věk, nebyla potvrzena hypotéza, že ženy, které podstoupí proces IVF, jsou ve vyšší věkové kategorii. Věkový rozdíl nebyl statisticky průkazný.
- Následně byla potvrzena hypotéza, že ženy po IVF nemají více vrozených hyperkoagulačních stavů. V této práci se dokonce u žádné z žen, která podstoupila IVF, nevyskytovala ani jedna ze sledovaných mutací.
- Hypotéza, že úspěšnost IVF po prvním prodělaném cyklu se pohybuje okolo 40-50 %, zde nebyla potvrzena. Úspěšnost IVF po prvním prodělaném cyklu zde byla vyšší, avšak celková úspěšnost donošené gravidity po IVF byla 40 %.
- Nakonec byla potvrzena hypotéza, že hladina D-dimerů v průběhu těhotenství stoupá, avšak zvýšení hladiny přítomností hyperkoagulačního stavu nebylo v této práci statisticky průkazné.

## 11 Seznam použité literatury

AGOVÁ, Viktória. Hormonální substituční terapie – riziko, nebo výhoda?. *Postgraduální medicína* [online]. 2005, **2005**(5), 1 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/hormonalni-substitucni-terapie-riziko-nebo-vyhoda-168663>

Anamnéza. *Velký lékařský slovník* [online]. Praha: Maxdorf, 2018 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/anamneza>

BULAVA, Alan. *Kardiologie pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha: Grada, 2017. ISBN 978-80-271-0468-0.

BULIKOVÁ, Alena a Miroslav PENKA. Antifosfolipidový syndrom – diagnostika a léčba. *Vnitřní lékařství* [online]. 2005, **51**(7), 809 [cit. 2018-02-23]. Dostupné z: [http://www.prolekare.cz/pdf?ida=v1\\_05\\_08\\_07.pdf](http://www.prolekare.cz/pdf?ida=v1_05_08_07.pdf)

Coagulation factors. *The Free Dictionary* [online]. Pensylvánie (USA): Farlex, 2013 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: <https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/coagulation+factors>

DAVIDSON, Michael, Kevin C. MAKI a Peter P. TOTH. *Therapeutic lipidology*. Totowa, N.J.: Humana, 2007. ISBN 15-882-9551-6.

DEITCHER, Steven. Hypercoagulable States. *Cleveland Clinic* [online]. Lyndhurst (New Jersey): The Cleveland Clinic Foundation, 2010 [cit. 2018-02-10]. Dostupné z: <http://www.clevelandclinicmeded.com/medicalpubs/diseasemanagement/hematology-oncology/hypercoagulable-states/>

EICHINGER, Sabine. D-Dimer Testing in Pregnancy. *Seminars in Vascular Medicine* [online]. 2005, **5**(4), 375-378 [cit. 2018-03-01]. DOI: 10.1055/s-2005-922483. Dostupné z: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2005-922483>

FAIT, Tomáš. Klimakterium a hormonální substituční terapie. *Moderní babičství* [online]. 2004, **2004**(3), 1-4 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <https://www.levret.cz/publikace/casopisy/mb/2004-3/?pdf=140>

FELIXOVÁ, Veronika, 2017. *D-dimery v graviditě. Vliv Leidenské mutace a antikoagulační léčby*. České Budějovice. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta. Vedoucí práce MUDr. Ivan Vonke, MBA.

FELLNEROVÁ, Ivana. Hemostáza. *Hemostáza a její poruchy* [online]. PřF UPOL, 2013 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: [http://www.zoologie.upol.cz/osoby/fellnerova/patofyziologie\\_pdf/2\\_Hemostaza\\_a\\_PoruchyIF\\_2014\\_03\\_17.pdf](http://www.zoologie.upol.cz/osoby/fellnerova/patofyziologie_pdf/2_Hemostaza_a_PoruchyIF_2014_03_17.pdf)

FONTANA, Josef a Petra LAVRÍKOVÁ. Hemostáza. *Funkce buněk a lidského těla* [online]. 3. LF UK Praha, 2015 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: <http://fblt.cz/skripta/v-krev-a-organy-imunitniho-systemu/4-hemostaza/>

GADER, Abdel. Tissue Factor Pathway Inhibitor. *Journal of Taibah University Medical Sciences* [online]. 2009, **4**(1), 1-15 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658361209700769>

GREGORA, Martin a Miloš VELEMÍNSKÝ. *Těhotenství a mateřství*. 2., aktualiz. vyd. Praha: Grada, 2017. ISBN 978-80-247-5579-3.

HÁJEK, Zdeněk, Evžen ČECH, Karel MARŠÁL a kolektiv. *Porodnictví*. 3., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4529-9.

HARLESS, Alena. Životodárný hlen aneb Symptotermální metoda I. *Rodina* [online]. Praha: Rodina Online, 2004 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <http://www.rodina.cz/clanek3633.htm>

HODIS. What is fibrinolysis?. *Atherosclerosis Research Unit* [online]. USC Los Angeles: ARU, 2014 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: <http://aru.usc.edu/what-is/what-is-fibrinolysis/>

HULÍKOVÁ, Mária. Gravidita a hemostáza. *Actual Gyn* [online]. 2013, **2013**(5), 65-72 [cit. 2018-02-22]. Dostupné z: [http://www.actualgyn.com/pdf/en\\_2013\\_106.pdf](http://www.actualgyn.com/pdf/en_2013_106.pdf)

HULVERT, Jaroslav. IVF – in vitro fertilizace. *ISCARE* [online]. Praha: ISCARE I.V.F., 2018 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <http://www.iscare.cz/ivf/informace-o-vykonech/ivf-in-vitro-fertilizace>

HYÁNEK, Josef. Diagnostický a terapeutický význam mírné hyperhomocysteinémie. *Postgraduální medicína* [online]. 2002, **2002**(6), 1 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/diagnosticky-a-terapeuticky-vyznam-mirne-hyperhomocysteinemie-148180>

CHAPIN, John C. a Katherine A. HAJJAR. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Reviews*[online]. 2015, **29**(1), 17-24 [cit. 2018-01-25]. DOI: 10.1016/j.blre.2014.09.003. ISSN 0268960x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268960X14000721>

INDRÁK, Karel, ed. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: TRITON, 2014. Lékařské repertorium. ISBN 978-80-7387-722-4.

JAMES, Andra H. Pregnancy-associated thrombosis. *American Society of Hematology* [online]. 2009, **2009**(1), 277-285 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <http://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2009/1/277.full.pdf+html>

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

KALETOVÁ, Markéta, Dalibor MUSIL, Ivo KRČ, Lucie LUKEŠOVÁ, Roman HÁJEK a Jaroslav VESELÝ. *Patofyziologie a klinická fyziologie endotelu a hemostázy* [online]. Univerzita Palackého Olomouc: 1. a 2. interní klinika LF UP a FN v Olomouci, 2013 [cit. 2018-01-25]. ISBN 978-80-244-3765-1. Dostupné z: <http://pfyziolklin.upol.cz/ebooks/01/flipviewerxpress.html>

KAŠPAROVÁ, M., 2018. Laboratorní příručka LKCHI. Směrnice Nemocnice České Budějovice, a. s.

KATZ, D. a Y. BEILIN. Disorders of coagulation in pregnancy. *British Journal of Anaesthesia* [online]. 2015, **115**(2), 75-88 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/bja/aev374>

KAUR, Ramneet. Clotting factors. *Medium* [online]. San Francisco: A Medium Corporation, 2017 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: <https://medium.com/@enulucky/clotting-factors-mnemonic-ef7e68b8c6ba>

KLENER, Pavel et al. *Vnitřní lékařství*. 4., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2011. ISBN 978-80-7262-705-9.

KOLIBA, P., L. ŠEVŠÍK a J. HLAVAČKA. Přehled hormonální substituční terapie. *Praktická gynekologie* [online]. 2002, **2002**(3), 27-28 [cit. 2018-02-23]. Dostupné z: [http://www.prolekare.cz/pdf?ida=pg\\_02\\_03\\_06.pdf](http://www.prolekare.cz/pdf?ida=pg_02_03_06.pdf)

KOUDELKA, Marek. IVF. *Reprofit* [online]. Brno: Reprofit International, 2018 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <https://www.reprofit.cz/lecba-ivf/popis-lecby-vlastnimi-vajicky-ivf/>

KUBISZ, Peter a kolektiv. *Hematológia a transfuziológia: učebnica*. Bratislava: Grada, 2006. ISBN 80-8090-000-0.

KVASNIČKA, Jan. Možnosti diagnostiky a léčby poruch srážlivosti krve. *Medicína pro praxi* [online]. 2014, **11**(2), 58-61 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2014/02/02.pdf>

LICHNOVSKÝ, Jan. Diabetes mellitus – cukrovka. *Civilizační choroby* [online]. Ostrava, 2017 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <http://www.lich.cz/diabetes-mellitus/>

MAREK, Josef a kolektiv. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. 4., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-2639-7.

Mastodynie. *Indonal* [online]. Praha: Synergia Pharmaceuticals, 2018 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <http://www.indonal.eu/onemocneni/mastodynie/>



MÉSZÁROSOVÁ UHROVÁ, Anna. Umělé oplodnění: zázrak ze zkumavky. *Femina* [online]. Praha: VIASO, 2012 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <https://www.femina.cz/umele-oplodneni-zazrak-ze-zkumavky/>

MLČOCH, Zbyněk. Embolizace plic, plicní embolie – příznaky, projevy, symptomy. *Příznaky projevy* [online]. Olomouc: Eva Mlčochová, 2012 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <http://www.priznaky-projevy.cz/interna/kardiologie-srdce-cevy/embolizace-plic-plicni-embolie-priznaky-projevy-symptomy>

*Obliterace* [online]. Institut Galenus, 2018 [cit. 2018-02-23]. Dostupné z: <http://www.galenus.cz/clanky/rejstrik/obliterace>

PADDOCK, Mike. What Is Artificial Insemination?. *Medical News Today* [online]. Washington: MNT, 2016 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/217986.php>

PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu: fyziologie a patofyziologie hemostázy*. Český Těšín: FINIDR, 2004. ISBN 80-86682-03-X.

PENKA, Miroslav, Alena BULIKOVÁ a kolektiv. *Neonkologická hematologie*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2299-3.

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

Preeklampsie. *Vitalion* [online]. Praha: MAFRA, 2018 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <https://nemoci.vitalion.cz/preeklampsie/>

Prevalence. *Velký lékařský slovník* [online]. Praha: Maxdorf, 2018 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/prevalence>

PUNJABI, Shital. In Vitro Fertilization (IVF). *Dr. Shital Punjabi* [online]. USA: Punjabi, 2017 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <http://www.drshitalpunjabi.com/ivf.php>

ROKYTA, Richard a kolektiv. *Fyziologie a patologická fyziologie: pro klinickou praxi*. Praha: Grada, 2015. ISBN 978-80-247-4867-2.

ROUČKOVÁ, N., 2015. Kvantitativní stanovení hladiny D-dimerů imunoturbidimetrickým testem koagulačním analyzátozem Sysmex CS-5100 a CS-2100i. Standartní operační postup Nemocnice České Budějovice, a. s.

ŘEŽÁBEK, Karel a Zuzana JÁNOVÁ. *Asistovaná reprodukce v ČR 2015* [online]. ÚZIS ČR Praha: NRAR, 2017 [cit. 2018-02-23]. ISBN 978-80-7472-165-6. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/system/files/asistreprodukce2015.pdf>

ŘEŽÁBEK, Karel. *Léčba neplodnosti*. 4., aktualiz. vyd. Praha: Grada, 2008. Pro rodiče. ISBN 978-80-247-2103-3.

SEGHATCHIAN, SAMAMA a Sydney HECKER. *Hypercoagulable States: Fundamental Aspects, Acquired Disorders, and Congenital Thrombophilia*. USA: CRC Press, 1996. ISBN 0-8493-5804-3.

Sekundární hemostáza. *Khanova škola* [online]. Praha: Khan Academy, 2018 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: <https://khanovaskola.cz/video/16/128/2314-sekundarni-hemostaza>

SKALICKÁ, Lenka. Hluboká žilní trombóza – klinická manifestace a diagnostika. *Postgraduální medicína* [online]. 2006, **2006**(4), 1 [cit. 2018-02-10]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/hluboka-zilni-tromboza-klinicka-manifestace-a-diagnostika-264354>

ŠIMURDA, Tomáš, Miroslava DOBROTOVÁ, Ján STAŠKO a Peter KUBISZ. Afibrinogénia a dysfibrinogénie. *Vaskulárna medicína* [online]. 2015, **7**(2), 78-80 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: [http://www.vaskularnamedicina.sk/index.php?page=pdf\\_view&pdf\\_id=7799&magazine\\_id=16](http://www.vaskularnamedicina.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=7799&magazine_id=16)

ŠLECHTOVÁ, Jitka. Hemostáza – jak ji možná neznáme. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2007, **15**(36), 97-101 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: [http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2007/2-07/KBM0702\\_Slechtova\\_97.pdf](http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2007/2-07/KBM0702_Slechtova_97.pdf)

ŠTÍCHOVÁ, Zuzana, 2017. *Vliv vrozených hyperkoagulačních stavů na hladinu D-dimerů se zaměřením na gravidní ženy*. České Budějovice. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce MUDr. Ivan Vonke, MBA.

TERUYA, Jun. Antithrombin III. *Medscape* [online]. New York: Medscape, 2014 [cit. 2018-01-25]. Dostupné z: <https://emedicine.medscape.com/article/2084978-overview>

THOMAS, Liji. Stages of IVF. *News Medical Life Sciences* [online]. USA: AZoNetwork, 2017 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <https://www.news-medical.net/health/Stages-of-IVF.aspx>

TODD, Nivin. Infertility and Artificial Insemination. *WebMD* [online]. USA: WebMD, 2017 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <https://www.webmd.com/infertility-and-reproduction/guide/artificial-insemination#2>

TODD, Nivin. Infertility and In Vitro Fertilization. *WebMD* [online]. USA: WebMD, 2017 [cit. 2018-02-26]. Dostupné z: <https://www.webmd.com/infertility-and-reproduction/guide/in-vitro-fertilization#2>

TROJAN, Stanislav a kolektiv. *Lékařská fyziologie*. 4., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0512-5.

URBÁNKOVÁ, Jana a kolektiv. Hyperkoagulační stav a hluboká žilní trombóza. *Kardiologická revue* [online]. 2002, **2002**(4), 282-284 [cit. 2018-02-10]. Dostupné z: [https://prevedig.cz/pict/fotogalerie/Odborne\\_texty/APC%20rezistence%20-%20odborn%C3%BD%20C4%8D1%C3%A1nek.pdf](https://prevedig.cz/pict/fotogalerie/Odborne_texty/APC%20rezistence%20-%20odborn%C3%BD%20C4%8D1%C3%A1nek.pdf)

Úspěšnost umělého oplodnění. *ISCARE* [online]. Praha: ISCARE I. V. F., 2018 [cit. 2018-03-19]. Dostupné z: <http://www.iscare.cz/ivf/informace-o-vykonech/uspesnost-umeleho-oplozeni>

VAVERA, Zdeněk. Plicní embolie ve světe nových doporučení. *Intervenční a akutní kardiologie* [online]. 2015, **14**(2), 77-83 [cit. 2018-02-10]. Dostupné z: <https://www.iakardiologie.cz/pdfs/kar/2015/02/06.pdf>

VILÍMOVSKÝ, Michal. Hluboká žilní trombóza. *Medlicker* [online]. 3. LF UK Praha: Medlicker, 2017 [cit. 2018-02-10]. Dostupné z: <https://cs.medlicker.com/943-hluboka-zilni-tromboza#priciny-vzniku-hluboke-zilni-trombozy>

ZEMAN, Zdeněk a Antonín DOLEŽAL. *Právní odpovědnost a právní vztahy v porodnictví*. Praha: Galén, 2000. ISBN 80-726-2024-X.

ZIMMET, Steven. Tip of the Week: Prevent Deep Vein Thrombosis (DVT). *Zimmet Vein & Dermatology* [online]. Austin (Texas): Austin Cosmetic Dermatology, 2018 [cit. 2018-02-10]. Dostupné z: <http://www.skin-vein.com/tip-week-prevent-deep-vein-thrombosis-dvt/>

## 12 Seznam použitých zkratk

- ADP – adenosin difosfát  
APC – aktivovaný protein C  
Arg – arginin  
AT – antitrombin  
DIC – diseminovaná intravaskulární koagulace  
ERT – estrogenní substituční terapie  
EU – Evropská unie  
FDP – fibrinogen degradační produkty  
FEU – fibrinogen equivalent unit  
FI – faktor I, fibrinogen  
FII – faktor II, protrombin  
FIII – faktor III, tkáňový faktor  
FIV – faktor IV, vápenaté ionty  
FIX – faktor IX, Christmasův faktor  
FSH – folikulostimulační hormon  
FV – faktor V, proakcelerin  
FV Leiden – mutace faktoru V, Leidenská mutace  
FVII – faktor VII, prokonvertin  
FVIII – faktor VIII, antihemofilický faktor  
FX – faktor X, Stuartův-Prowerův faktor  
FXI – faktor XI, plasmatický předchůdce tromboplastinu  
FXII – faktor XII, Hagemanův faktor  
FXIII – faktor XIII, faktor stabilizující fibrin  
HRT – hormonální substituční terapie  
HŽT – hluboká žilní trombóza  
ICSI – intracytoplazmatická injekce spermií do vajíčka  
IVF – in vitro fertilizace  
LDL – lipoproteiny o nízké hmotnosti  
LIS – laboratorní informační systém  
LMWH – nízkomolekulární heparin  
Lys – lysin  
OA – osobní anamnéza

PAI-1 – inhibitor aktivátoru plasminogenu-1 (plasminogen activator inhibitor-1)  
PAI-2 – inhibitor aktivátoru plasminogenu-2 (plasminogen activator inhibitor-2)  
PC – protein C  
PE – plicní embolie  
PS – protein S  
RA – rodinná anamnéza  
RF – rizikové faktory  
SEM – střední chyba průměru (standardní chyba průměru, standard error of the mean)  
TAFI – inhibitor fibrinolýzy aktivovaný trombinem  
TEN – tromboembolitická nemoc  
TF – tkáňový faktor  
TFPI – inhibitor cesty tkáňového faktoru (tissue factor pathway inhibitor)  
TM – trombomodulin  
t-PA – tkáňový aktivátor plazminogenu (tissue plasminogen activator)  
TXA<sub>2</sub> – tromboxan A<sub>2</sub>  
u-PA – urokinázový aktivátor plazminogenu (urokinase-type plasminogen activator)  
vWF – von Willebrandův faktor