

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Pedagogická fakulta

Katedra antropologie a zdravotní vědy

Hana Kleprlíková

II. ročník – prezenční studium

Obor: Učitelství odborných předmětů pro zdravotnické školy

**Incidence tombofilních markerů
u klientek léčených pro neplodnost**

Diplomová práce

Vedoucí práce: RNDr. Jana Březinová, Ph.D.

Olomouc 2009

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a použila jen uvedených pramenů a literatury.

V Olomouci dne

.....

vlastnoruční podpis

Chtěla bych touto cestou poděkovat své vedoucí práce RNDr. Janě Březinové, PhD. za odbornou pomoc, věnovaný čas a cenné rady při vedení diplomové práce.

Dále děkuji RNDr. M. Krškové z CVT UP za statistické zpracování a vyhodnocení výsledků, Doc. MUDr. I. Oborné, PhD. z CAR FNOL a Doc. MUDr. M. Procházkovi, PhD. z FNOL za cenné rady a připomínky při psaní diplomové práce, a dalším nejmenovaným, jejichž pomoc přispěla k dokončení této práce.

OBSAH:

1	SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY	6
1.1	ÚVOD	6
1.2	PŘÍČINY NEPLODNOSTI.....	11
1.2.1	PŘÍČINY MUŽSKÉ NEPLODNOSTI.....	11
1.2.2	PŘÍČINY ŽENSKÉ NEPLODNOSTI.....	12
2	TROMBOFILNÍ STAVY	16
2.1	TROMBOFILIE	17
2.1.1	ZÍSKANÉ RIZIKOVÉ FAKTORY	17
2.1.2	GENETICKY PODMÍNĚNÉ PŘÍČINY TROMBÓZY	19
3	PROSTŘEDKY ANTIKOAGULAČNÍCH NEBO ANTITROMBOTICKÝCH OPATŘENÍ	26
3.1	HEPARINY.....	26
3.2	KUMARINY	27
3.3	ANTIAGREGAČNÍ LÉČBA	28
4	TĚHOTENSTVÍ A TROMBOFILIE.....	29
4.1	ZMĚNY KREVNÍCH PARAMETRŮ	29
4.2	ZMĚNY HEMOKOAGULAČNÍCH PARAMETRŮ.....	30
4.3	FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ZVÝŠENÝ VÝSKYT TROMBOEMBOLIE	32
4.3.1	FAKTORY ANATOMICKÉ A ENDOKRINNÍ	32
4.3.2	FAKTORY KOAGULAČNÍ.....	32
4.3.3	EXOGENNÍ FAKTORY	32
4.4	VÝSKYT DĚDIČNÉ TROMBOFILIE V TĚHOTENSTVÍ A ŠESTINEDĚLÍ	33
4.5	PÉČE O TROMBOFILNÍ STAVY BĚHEM TĚHOTENSTVÍ	34
4.5.1	DOPORUČENÉ SPEKTRUM VYŠETŘENÍ HEMOSTÁZY.....	34
4.5.2	PROFYLAXE	34
4.5.3	KOMPLIKACE LÉČBY	36
4.6	TROMBOFILIE A LÉČBA NEPLODNOSTI	37

4.6.1	ESTROGENY.....	37
4.6.2	OVARIÁLNÍ HYPERSTIMULAČNÍ SYNDROM.....	38
4.6.3	SYNDROM POLYCYSTICKÝCH OVARIÍ.....	38
4.6.4	IMPLANTACE EMBRYA	39
4.6.5	VÝSKYT TEN U IVF KLIENTEK.....	39
4.6.6	PROFYLAZE V CYKLECH IVF A ET	40
5	CÍLE PRÁCE	41
6	MATERIÁL A METODY	42
7	VÝSLEDKY.....	46
7.1	VÝSKYT GENETICKY PODMÍNĚNÝCH TROMBOFILNÍCH MARKERŮ	46
7.2	VÝSKYT DEFICITU PROTEINU C, PROTEINU S, PLAZMINOGENU A ANTITROMBINU III.....	48
7.3	VLIV LÉČBY (PODÁNÍ LMWH) NA VÝSLEDKY IVF A ET (RESP. KET)	50
8	DISKUZE	55
8.1	VÝSKYT TROMBOFILNÍCH MARKERŮ	55
8.2	VLIV PODÁVÁNÍ LMWH NA VÝSLEDKY LÉČBY IVF A ET	60
9	ZÁVĚR.....	64
10	SOUHRN.....	66
11	SUMARY	69
12	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	72
13	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	81
14	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	86
15	SEZNAM TABULEK	87
16	SEZNAM GRAFŮ.....	88

1 SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY

1.1 ÚVOD

Jednou ze základních lidských a biologických potřeb a zároveň funkcí rodiny je zplození a přivedení na svět zdravého dítěte. Jsou však páry, kterým se to spontánně nedaří. Problémy s plodností postihují 15 – 20 % nechtěně neplodných párů. Neplodnost je v současné době celospolečenským problémem, kterému je věnována stále větší pozornost (10).

Neplodnost je definována dle WHO jako stav, kdy dvojice (žena a muž) nedosáhla koncepce po dvou letech nechráněného pohlavního styku. American Fertility Society (AFS) uvádí v definici jeden rok, vycházející z poznatků, že 95 % párů dosáhne otěhotnění do 13 měsíců nechráněného pohlavního styku. Podle statistiků, v ekonomicky vyspělých zemích, trpí problémem sterility každý 7. - 10. pár. Neplodnost - sterilita se vždy vztahuje k celému páru a zpravidla se na ní podílejí různou měrou oba partneři. Uvádí se, že ve 40 – 50 % případů dominuje porucha na straně ženy, ve 30 – 40 % na straně muže a u 20 % se vyskytuje kombinace faktorů obou partnerů. U 5 % párů jsou příčiny neplodnosti neznámé (54).

Některým z těchto párů mohou pomoci k vytouženému potomkovi techniky Asistované Reprodukce (AR), metody, při nichž dochází k bezprostřední manipulaci s gametami (obr. č. 1 a 2) nebo embryi mimo tělo – *in vitro*. V závislosti na příčině neplodnosti mohou být prováděny méně náročné **inseminace**, při kterých je v době předpokládané ovulace zpracované semeno zavedeno do genitálního traktu ženy. Složitější a náročnější jsou metody **In Vitro Fertilizace a Embryo Transferu** (IVF a ET), při kterých dochází k oplození a časnému vývoji embryí mimo tělo ženy a tato embrya (jedno až tři) jsou po určité době kultivace přenesena do dělohy.



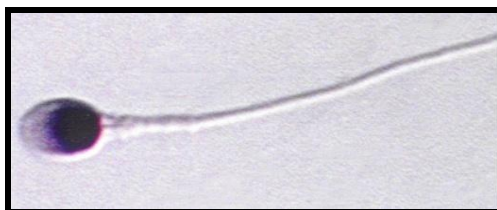
Obr. č. 1 Zralý oocyt (vajíčko) (95)

Legenda: z – obal vajíčka, zona pellucida

p – perivitelinní prostor

f – 1. pólové tělísko, které je tvořeno haploidní sadou chromozomů a malým obsahem cytoplazmy

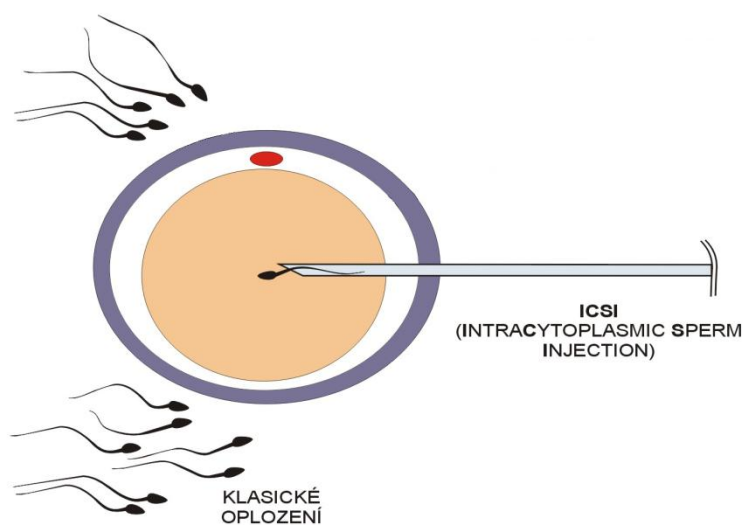
o – oolema, membrána vajíčka



Obr. č. 2 Lidská spermie (95)

V České republice je léčba metodami AR prováděna podle Zákona o Všeobecném zdravotním pojištění, který vstoupil v platnost dne 1.4.1997 a vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 493/2005 Sb. Ze zdravotního pojištění jsou hrazeny nejvýše čtyři kompletně monitorované cykly se stimulací a tři cykly s přenosem embryí ženám ve věku 22 – 39 let (39 let + 364 dnů). V případě, kdy se jedná o absolutní oboustrannou neprůchodnost

vejcovodů, lze výkony IVF provádět u žen již od 18 let. Zdravotní pojišťovny hradí v rámci stimulace analoga gonadoliberinů (v různých aplikačních formách) a urinární nebo rekombinantní gonadotropiny v maximální dávce 2 250 IU na cyklus. Dále je z veřejného zdravotního pojištění hrazeno ultrazvukové vyšetření, anestézie, v laboratoři klasické oplození a dva dny kultivace embryí. I přes tyto úhrady z veřejného zdravotního pojištění jsou další finanční náklady spojené s některými výkony, zvyšujícími úspěšnost léčby, hrazeny léčným párem. Jedná se např. o přímý vpich spermie do vajíčka (IntraCytoplasmic Sperm Injection, ICSI), o rozrušení obalu embrya (Assisted Hatching, AH), o prodlouženou kultivaci na 3 – 5 dní, o kryokonzervaci oocytů, spermií nebo embryí, o genetické vyšetření blastomer embrya ještě před jeho přenosem do dělohy (preimplantační genetickou diagnostiku, PIGD) a úkony spojené s dárcovstvím gamet (37, 96). Metody oplození in vitro jsou schématicky znázorněny na obrázku č. 3.



Obr. č. 3 Schéma způsobu in vitro oplození

Úspěšnost metod asistované reprodukce ovlivňuje celá řada faktorů:

a/ faktory působící na jednotlivé kroky procesu AR

- volba optimálního stimulačního protokolu,
- zisk kvalitních a zralých vajíček,
- výběr nejvhodnějších spermií k oplození,
- výběr životaschopných embryí k přenosu (obr. č. 4 a 5),
- kvalita děložního endometria,
- hormonální podpora vznikajícího těhotenství

b/ vlastní příčiny (diagnózy) neplodnosti.

Indikací k provádění metod AR jsou tyto příčiny (dle Mezinárodní statistické klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů) (65):

N 46 Mužská neplodnost (Azoospermie, Oligospermie)

N 97.0 Ženská neplodnost spojená s anovulací

N 97.1 Ženská neplodnost tubárního původu (spojená s vrozenou anomálií vejcovodu, trvání: blokáda, neprůchodnost, stenóza)

N 97.2 Ženská neplodnost děložního původu (spojená s vrozenou anomálií dělohy, nonimplantace vajíčka)

N 97.3 Ženská neplodnost cervikálního původu

N 97.4 Ženská neplodnost spojená s mužskými faktory

N 97.8 Ženská neplodnost jiného původu (zahrnuje imunologický faktor, endometriózu, neidentifikovanou příčinu neplodnosti)

N 97.9 Ženská neplodnost

Příčiny vedoucí k léčbě metodami IVF a ET se mohou vyskytovat jednotlivě nebo v kombinaci. Čím více příčin neplodnosti se kombinuje, tím nižší bývá obvykle úspěšnost léčby.



Obr. č. 4 Embryo po třídní kultivaci ve stádiu osmi buněk (95)



Obr. č. 5 Embryo po pětidenní kultivaci ve stádiu blastocysty (95)

1.2 PŘÍČINY NEPLODNOSTI

1.2.1 PŘÍČINY MUŽSKÉ NEPLODNOSTI

Plodností se u mužů rozumí schopnost oplodnit ženu. Mužský reprodukční systém musí být schopen produkovat a uchovávat spermie, poté je transportovat ven z těla, aby mohly dosáhnout ženského reprodukčního traktu. Na neplodnosti páru se muži podílejí ve 30 – 40 % případů, v dalších 25 % je snížená plodnost muže kombinována poruchami plodnosti u ženy. Podíl mužské neplodnosti se v průběhu let neustále zvyšuje. Vyšetření muže proto patří k základnímu vyšetření sterilního páru. Příčiny neplodnosti muže mohou být buď v oblasti sexuálního života, v patologii zárodečných buněk (podmíněných i geneticky) nebo v obstrukci vývodných semenných cest.

Erektilní dysfunkce

- příčiny erektilní dysfunkce mohou být psychogenní, hormonální, neurogenní nebo vaskulární. Jejich diagnostika a terapie patří do péče urologa a sexuologa.

Porucha tvorby spermií

- sem řadíme většinu případů mužské neplodnosti. Mužská plodnost nejvíce závisí na funkční kvalitě spermií. V důsledku nezdravých životních podmínek může u některých mužů dojít ke zhoršování parametrů spermiogramu. K základním parametrům hodnocení spermiogramu patří objem, pH, pohyblivost a morfologie spermií. U **normospermie** by měl být objem ejakulátu větší než 2ml, pH v rozmezí 7,2 – 8,0 koncentrace spermií více než 20 mil/ml, více než 50 % pohyblivých spermií a okolo 30 % spermií by mělo mít normální morfologii. Snížení počtu spermií pod 20 mil/ml označujeme jako **oligospermii**, pod 5 mil/ml **oligospermii těžkou**. Nepřítomnost spermií v ejakulátu nazýváme **azoospermie**. Rozlišujeme azoospermii obstrukční se zachovanou tvorbou spermií, retrográdní ejakulaci (ejakulace do močového měchýře), a neobstrukční azoospermii, kdy se spermie netvoří. **Astenospermie** označuje stav, kdy dochází ke snížení pohyblivosti a **teratospermie** je spojena s patologickým tvarem (morfologií) spermií. Často se tyto poruchy kombinují (oligo-

asteno-teratospermie). Zhoršené parametry spermií negativně ovlivňují jejich funkční vlastnosti, takové spermie mohou ztratit schopnost proniknout děložním hrdlem, cestovat ženským traktem, proniknout obalem vajíčka a oplodnit ho. Patologické parametry spermiogramu mohou být způsobeny také genetickými problémy, poruchami produkce hormonů, autoimunitním onemocněním (protilátky proti spermiím). Další příčinou neplodnosti mohou být stavy po zánětech, úrazech, operacích a onkologické terapii (36).

U lehce patologických parametrů spermatu se může uplatnit polyvitaminózní léčba, léčba infekce, změna životního stylu (omezení vlivu rizikových faktorů, kterými jsou např. vyšší teplota, škodliviny, kouření, stres). Z chirurgických metod je vhodná korekce varikokély, kdy podvaz spermatické žíly může přinést zlepšení spermiogramu nebo léčba obstrukční azoospermie. V závislosti na příčině azoospermie je stále s větším efektem zisku spermií využívaná mikroepididymální aspirace spermií (MESA), extrakce spermií (MESE) nebo testikulární extrakce spermií (TESE). Funkční poruchy spermií jsou stále častěji řešeny přímým vpichem spermie do cytoplazmy vajíčka (IntraCytoplasmatic Sperm Injection – ICSI). Tato metoda je používána ve většině případů, ve kterých dříve musely být k oplození vajíček využity spermie anonymního dárce.

1.2.2 PŘÍČINY ŽENSKÉ NEPLODNOSTI

Plodností se u ženy rozumí schopnost otěhotnět, donosit a porodit dítě. Plodnost ženy může být ohrožena poruchami složitého komplexu dějů zajišťujících její fertilitu. V rámci diagnostiky příčin neplodnosti je proto důležité odlišit **sterilitu**, kdy žena není schopna otěhotnět a **infertilitu**, kdy žena není schopna donosit plod (opakované těhotenské ztráty, předčasné porody, mrtvorozenost). Dále rozeznáváme sterilitu primární, kdy žena ještě nikdy nebyla těhotná a sterilitu sekundární, kdy se ženě nedaří otěhotnět, ale dříve již otěhotněla a případně i porodila.

Snížená plodnost a problémy s početím potomka jsou spojeny také se stále rostoucím věkem budoucích matek. Kolem pětaticátého roku u žen začíná plodnost klesat a po čtyřicítce je spíše výjimečné, když žena otěhotní. Odkládání mateřství souvisí např. s možnost-

mi studia, cestováním, uplatněním se v profesi, ekonomickým zajištěním, bytovými problémy. Podle nejnovějších údajů statistiků téměř polovina Češek rodí až po dovršení 30 let. V roce 2008 bylo za touto hranicí 49,2 % rodiček (104). Řada žen v pozdějším věku dosáhne těhotenství jen s pomocí metod AR a tato těhotenství jsou rizikovější jak z pohledu matky, tak novorozence (vícečetné těhotenství, zdravotní stav matky, délka gestace a s tím související zralost a hmotnost dítěte).

Mezi nejčastější příčiny ženské neplodnosti patří:

Ovariální faktor

– je porucha činnosti vaječníků, která spočívá v omezení nebo zástavě tvorby zralých oocytů. Příčinou jsou hormonální poruchy v ose hypotalamus - hypofýza - ovarium, psychické poruchy, poruchy metabolismu, výživy a extrémní zátěž. V důsledku těchto faktorů vznikají anovulační cykly, insuficience žlutého tělíska a amenorea (10). Poruchy ovulace se vyskytují u více než 25 % sterilních žen, syndrom polycystických ovarií je spojen s hirsutizmem, akné či obezitou. Terapie spočívá v indukci ovulace, nejčastěji pomocí antiestrogenů nebo gonadotropinů a pečlivém monitoringu ultrazvukovou folikulometrií a vyhodnocením hladin estradiolu. Při předčasném ovariálním selhávání, po chemo- nebo radioterapii lze dosáhnout těhotenství s použitím oocytů od anonymní dárkyně.

Tubární faktor

- jedná se o příčinu sterility způsobenou chyběním nebo uzávěrem vejcovodů v kterékoliv části jeho úseku. Může se jednat i o adhezní proces v oblasti adnex. Uzávěr vejcovodu je obvykle následkem prodělaných gynekologických zánětů, tubárního mimoděložního těhotenství, vývojových anomálií, endometriózy a iatrogenních příčin (36). Tubární faktor se podílí na sterilitě ženy ve 30 – 40 %, odstranění vejcovodů označujeme jako absolutní tubární faktor. Průchodnost vejcovodů je v poslední době ověřována hysterosalpingografií nebo diagnostickou laparoskopií. Léčba spočívá v provedení např. tubární neostomie, lýze adhezí, salpingektomií, odstranění ložisek endometriózy a přípravy ženy do programu AR.

Endometrióza

- je stále více uváděna jako samostatný faktor sterility. Je definována jako přítomnost ložisek děložní sliznice (endometrálních žláz a stromatu) mimo své obvyklé uložení v děložní dutině. Tato tkáň se tak dostává na vaječníky, vejcovody i jiné orgány pánevní dutiny, reaguje na hormonální změny a každý měsíc krvácí. Krev, která nemůže normálně odtékat, způsobuje sterilní záněty, srůsty, cysty a může i alterovat imunologické mechanismy, které negativně ovlivňují proces oplození a implantace (38, 44). K projevům endometriózy patří cyklické pánevní bolesti, dysmenorea, dyspareunie. U lehčích forem je k léčbě používána hormonální terapie 4 - 8 měsíců, větší endometriózní cysty (nad 3cm) jsou odstraňovány operativně.

Děložní faktor

- děložní faktor sterility je často podmíněn vývojovými děložními vadami (uterus septus, subseptus, unicornis atd.). Dalšími příčinami vzniku děložního faktoru mohou být záněty, polypy a nitroděložní adheze. Nejčastější příčinou nitroděložních adhezí (Ashermannův syndrom) jsou kýřetáže po potratech, po porodu a stavy po myomektomii. Vzniklé adheze výrazně snižují pravděpodobnost implantace embrya (10). K léčbě děložního faktoru je využívána hysteroskopie, při které lze ozřejmit a současně i upravit či odstranit některé nitroděložní abnormality, u hypoplazie lze využít hormonální léčbu.

Imunologický faktor

– pouze imunologický faktor se vyskytuje u 2 – 3 % párů. Vyšetření imunologické příčiny sterility spočívá v detekci různých druhů protilátek, které se mohou vyskytovat v krvi muže i ženy, v seminální plasmě muže či ovulačním hlenu nebo folikulární tekutině ženy. Tyto protilátky mohou bránit pohybu spermií, procesu splnutí vajíčka se spermií při fertilizaci, může být negativně ovlivněn vývoj časného embrya a může se zvyšovat i riziko potratu. K nejlépe prostudovaným patří antispermatozoidální protilátky, protilátky antiovariální, proti zona pellucida či antifosfolipidové protilátky. Při léčbě imunologického faktoru jsou podávány kortikoidy k utlumení tvorby protilátek v době stimulace a v období implantace.

Genetické poruchy

– zahrnují poruchy v chromozomální výbavě. Podle závažnosti zjištěných genetických abnormalit je možné v méně závažných případech využít preimplantační genetické vyšetření 1 nebo 2 blastomer embrya ještě před jeho přenosem do dělohy, nebo lze vlastní poškozené nebo chybějící gamety nahradit gametami zdravých anonymních dárců.

Psychogenní faktor

– hlavní úloha psychických faktorů je přisuzována psychosociálnímu stresu. Stres negativně ovlivňuje lidskou plodnost u zdravých jedinců, u sterilních párů zhoršuje výsledky léčby. Stres působí na mnoha úrovních, např. indukuje zvýšenou koncentraci prolaktinu, ovlivňuje hypotalamo - hypofyzární-ovariální osu, alteruje imunitní mechanismy, může měnit sexuální chování v páru, sociální začlenění atd. Léčba spočívá v psychoterapii, někdy již samo zahájení vyšetřování a léčby sterility může vést k těhotenství.

Idiopatický faktor

– idiopatická neplodnost u některých autorů není považována za diagnózu, ale spíše za selhání vyšetřovacích metod. Neschopnost otěhotnět je ovlivněno např. nižší plodností dvojice, do tohoto faktoru bývá zařazen věk ženy, délka trvání neplodnosti (po 3 letech klesá šance na těhotenství bez léčby o 2 % na každý měsíc), koitální frekvence, atd.

V posledním období jsou do souvislosti s opakovaným selháním léčby neplodnosti metodami IVF a ET dávány také hyperkoagulační stavy (trombofilní faktory), které se uplatňují jak během hormonální stimulace nebo substituce, tak v období implantace a vývoje těhotenství. Problematika trombofilních stavů je mnohem lépe prostudována u žen v těhotenství, šestinedělí a je známo, že se hyperkoagulační stavy vyskytují také u pacientek s opakovaným potrácením.

2 TROMBOFILNÍ STAVY

Hemostatický systém člověka zajišťuje za fyziologických podmínek tekutost krve a je schopen během několika sekund zamezit ztrátě krve vytvořením trombu v místech poškození cévní stěny. Na vzniku trombu se podílí řada systémů: cévní stěna, plazmatické koagulační faktory, plazmatické fibrinolytické faktory, formované elementy krve, reologické vlastnosti krve a podmínky toku krve. Tyto systémy jsou navzájem propojeny. Kromě výše zmíněných systémů je vznik trombu ovlivňován také např. cirkulujícími vazoaktivními faktory (NO, endotelin), endotelovými i destičkovými růstovými faktory, proteiny akutní fáze, lipidy v krvi, obsahem kyslíku atd. (21).

Trombofilie je vrozená (primární) nebo získaná (sekundární) porucha hemostatického mechanismu, která je pravděpodobnou příčinou zvýšené tendence k trombóze. Podle známé příčiny třídíme trombofilie na trombofilie způsobené např. zvýšenou koncentrací koagulačních faktorů a inhibitorů fibrinolýzy v periferní krvi, podmíněnou buď primárními (genetickými) příčinami (např. zvýšením protrombinu, faktoru VIII, faktoru IX, faktoru XI, fibrinogenu, PAI) nebo příčinami sekundárními (např. těhotenství, zánět, maligní nádorové bujení). Trombofilie mohou vznikat také při porušené regulaci hemokoagulace např. při nedostatku inhibitorů (např. deficit antitrombinu, proteinu C, proteinu S, trombomodulinu), při rezistenci koagulačních faktorů vůči účinku aktivovaného inhibitoru koagulace (APC rezistence - Leiden), při dysfunkci receptoru pro inhibitor koagulace (dysfunkce receptoru pro protein C). Dalšími příčinami trombofile může být dysfunkce nebo nedostatek některých koagulačních faktorů (dysfibrinogenemie, nedostatek faktoru XIII, faktoru XII tzv. Hagemanova faktoru), selhání aktivace fibrinolýzy, metabolické poruchy (hyperhomocysteinemie, zvýšení koncentrace lipoproteinu) nebo jsou známy autoimunitní příčiny trombofilie (antifosfolipidový syndrom) (55).

V souvislosti s hormonální stimulací nebo substitucí, používanou v léčbě neplodnosti, se uvažuje o navození protombotických podmínek v organismu ženy vlivem podávání suprafyziologických dávek gonadotropinů k dosažení hyperstimulace. V literatuře již byly popsány tepenné nebo žilní trombózy u pacientek stimulovaných k IVF a ET (25, 61, 62).

Dědičná nebo získaná trombofilie bývá také dávána do souvislosti s tromboembólií, samovolnými potraty nebo komplikacemi v těhotenství a šestinedělí.

V poslední době se uvažuje o tom, že také selhání cyklů IVF může souviset s dědičným nebo získaným trombofilním stavem ženy (3). Také některé další komplikace, např. ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS) charakterizovaný zvýšenou propustností kapilár, únikem tekutin do extravazálního prostoru, hemokoncentrací, hypovolémií, trombózami, mohou být ovlivněny hyperkoagulačním stavem (53).

2.1 TROMBOFILIE

Vznik tromboembolické nemoci (TEN) je multifaktoriálním procesem, s podílem dočasných, získaných či prostředím podmíněných rizik a vrozených determinant. K tromboembolické příhodě dochází při nerovnováze mezi prokoagulačními, protikoagulačními a fibrinolytickými procesy v organismu (77).

Za trombofilní stav považujeme zvýšenou tendenci k vzniku trombóz a jejich recidivám, může být vrozené, získané nebo kombinované etiologie.

Relativní riziko první epizody TEN se pohybuje v rozmezí 2 – 11 u jednotlivých trombofilních stavů, je vyšší u homozygotních nosičů mutací oproti heterozygotům, také klienti s kombinovanou trombofilií mají vyšší riziko. Základní riziko vzniku žilního tromboembolismu je v evropské populaci 1:1 000 obyvatel ročně (101).

2.1.1 ZÍSKANÉ RIZIKOVÉ FAKTORY

K získaným trombofilním poruchám řadíme především:

Věk

– riziko trombózy rapidně vzrůstá s věkem. Zřejmě souvisí se snížením pohybové aktivity, snížením svalové činnosti a zvýšením poškození cév.

Maligní nádory

– podílejí se na zvýšené produkci prokoagulačních faktorů. S léčbou malignit je spojena snížená mobilita klienta, snížená spotřeba vitamínů, katabolické procesy. Protrombogenně působí např. chemoterapie (sekundární efekt léčby), pacienti s malignitou tak mají 7x vyšší riziko vzniku trombózy.

Imobilizace

– na vzniku TEN se podílí dlouhodobé upoutání na lůžko, paralýza, dlouhé cestování (syndrom turistické třídy, kdy je krev dolních končetin pumpována v opačném směru).

Chirurgické výkony a traumata

– u větších chirurgických zákroků (ortopedie, gynekologie, neurologie) narůstá riziko vzniku trombózy o 30 – 60 %. Toto riziko lze snížit vhodnou profylaktickou antikoagulační léčbou, přesto TEN u chirurgických zákroků představuje 16 % všech trombotických příhod (88).

Antifosfolipidový syndrom

- je získané autoimunitní onemocnění spojené s přítomností autoprotilátky proti fosfolipidu kardiolipinu (39). Klinicky se může projevovat žilní nebo arteriální trombózou, komplikacemi v těhotenství, trombocytopenií. Jeho název vznikl podle charakteristické přítomnosti protilátek, dříve označovaných jako antifosfolipidové (APA, AntiPhospholipid Antibodies), dnes antifosfoproteinové či fosfolipid dependentní. Mechanismus, kterým se podílí na vzniku trombofilního stavu není objasněn. Změny, které v organismu při působení APA vznikají, nemusí být důsledkem mikrotrombotizace či trombózy, ale i vlivem přímého působení těchto protilátek na různé buněčné struktury. U nich mohou způsobit změnu aktivační nebo funkce. Výskyt protilátek stoupá s věkem a nalézají se asi u 8 % zdravé populace. U žen s APA v těhotenství vzniká častěji preeklampsie, je vyšší incidence HELLP syndromu (autoimunitní hemolytická anemie), růstová retardace plodu v děloze (30 %), narození nezralého plodu (40 %). Možná souvislost tohoto syndromu s infertilitou není jednoznačně dorešena (9, 33).

Hormonální orální kontraceptiva

– riziko vzniku trombózy je ovlivněno především množstvím obsažených estrogenů (100 µg a více) a na jeho typu. Hranice obsahu estrogenu, který nevede ke snižování rizika vzniku TEN je 50 µg, nejsou žádné údaje o tom, že by HAK s nejnižším obsahem (20 µg) dále snižovala riziko VTE (88, 99).

Hormonální substituční terapie

- riziko vzniku TEN je vyšší vzhledem k věku žen, které ji používají a snížené dávce estradiolu (asi 5 mg). Riziko vzniku trombózy je 2 - 4x vyšší.

Těhotenství a šestinedělí

– zvětšená děloha svou hmotností mechanicky utlačuje žilní systém. Současně se zvyšují hladiny některých koagulačních faktorů. Riziko trombózy v těhotenství je okolo 0,5 na 1000 těhotenství (13). V šestinedělí se tromboembolická nemoc manifestuje jako hluboká žilní trombóza (více postihuje levou dolní končetinu) a plicní embolie. U 16 % případů je hluboká žilní trombóza komplikována plicní embolií (35). Rizika TEN v tomto období budou později popsána podrobněji.

Hormonální stimulace a substituce

- trombotické komplikace v souvislosti s IVF jsou vzácné. Mára et al. (61) ve své studii uvádí výskyt TEN 0,11 % (tj. 3 případy na 1276 žen) a Gardone et al. (25) uvádí výskyt 0,5 % (4/747 cykly/ženy). Vždy se tyto komplikace projeví ve spojení s OHSS a těhotenstvím (61).

2.1.2 GENETICKY PODMÍNĚNÉ PŘÍČINY TROMBÓZY

Vrozená trombofilie je definována jako geneticky podmíněný sklon k trombóze. Pro vznik trombózy je důležitý vnější podnět, který poruší labilní homeostatickou rovnováhu a nastartuje tromboembolické komplikace. Pro odhalení možných rizik je důležité znát pozitivní rodinnou anamnézu.

K vrozeým geneticky podmíněným rizikovým faktorům patří deficeience antitrombinu III (objeven 1965, Egeberg), deficeience proteinu C (1981, Griffin et al.) a proteinu S (1984, Esmon et al.). V roce 1993 Dahlbeck popsál fenomén APC rezistence (rezistence na aktivovaný protein C), dalším výzkumem byl objeven protein Faktor V a v roce 1994 mutantní molekula faktoru V nazvaná F V Leiden. Stejnou Leidenskou skupinou byla zjištěna i variantní forma protrombinu (1996). Italská skupina (1994) objevila termolabilní formy tetramethylhydrofolátreduktázy (MTHFR, 88). Další známé faktory jsou např. hyperhomocysteinémie, syndrom lepivých destiček a zvýšená hladina faktoru VIII, IX a XI.

Prevalence nejvýznamnějších trombofilních poruch se liší u jednotlivých etnik. Výskyt sledovaných trombofilií v naší, kavkazské, populaci je uveden v tab. č. 1.

Nejvýznamnější klinickou manifestací trombofilie je venózní tromboembolismus (VTE). Rizikovost jednotlivých faktorů je různá a je uvedena v tab. č. 2 (88).

Trombofilie	Prevalence v kavkazské populaci (%)
Mutace faktoru V Leiden	4,8
Hyperhomocysteinémie	4,8
Mutace Protrombinu 20210A	2,7
Deficit proteinu S	0,7
Deficit proteinu C	0,3
Deficit antitrombinu	0,2

Tab. č. 1 Výskyt některých trombofilií v kavkazské populaci (76)

Rizikový faktor	Zvýšení rizika vzniku žilního tromboembolismu
mutace v proteinu C	10x
mutace v proteinu S	10x
FV Leiden heterozygot	8x
FV Leiden heterozygot + HAK	30-35x
FII Protrombin G20210A heterozygot	3x
FII Protrombin heterozygot + HAK	16x
MTHFR C677T homozygot	2-4x
MTHFR C677T homozygot + HAK	20x
MTHFR C677T homozygot + FV Leiden	20x

Tab. č. 2 Zvýšení rizika vzniku žilního tromboembolismu (101)

Legenda: HAK – hormonální antikoncepce

V části geneticky podmíněných trombofilií jsou blíže popsány faktory, které jsme zjišťovali ve skupině vyšetřovaných žen.

Deficit antitrombinu

- dědičně podmíněný deficit antitrombinu byl poprvé popsán Egebergem v roce 1965. Primární deficit antitrombinu se v populaci vyskytuje přibližně jen u 0,02 % osob, je dáván do souvislosti s vážnějším průběhem tromboembolické nemoci. Příčinou hluboké žilní trombózy je asi jen v 1 %. Přesto je významný výskyt deficitu antitrombinu u žen, které často užívají estrogeny – buď ve formě antikoncepce, stimulace nebo substituce v programu AR, nebo při hormonální substituci v klimakteriu. O estrogenech je totiž známo, že hladinu an-

titrombinu snižují samy o sobě a navíc např. ovlivňují zvýšení hladiny faktoru F VII a potencují vznik trombofilie i jiným způsobem (55).

Deficit proteinu C

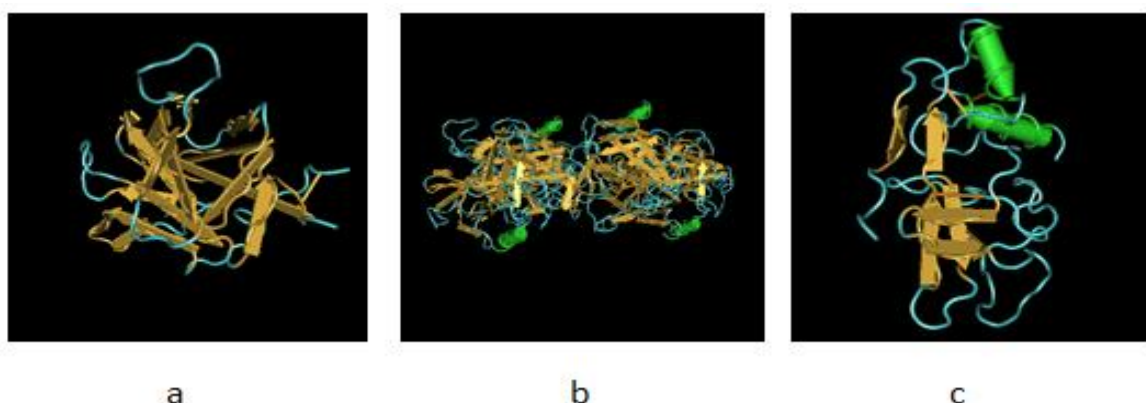
- na vzniku žilní trombofilie se může podílet také geneticky podmíněný nedostatek inhibitoru koagulace proteinu C. Deficit se projevuje snížením koncentrace proteinu C nebo jeho dysfunkcí. Kongenitální deficit proteinu C, spojený s žilním tromboembolismem byl poprvé popsán Griffinem et al. v roce 1981. K poklesu hladiny proteinu C může docházet i sekundárně, např. u septických stavů. Dysfunkce proteinu C se projevuje také při antikoagulační léčbě s antagonisty vitamínu K, protože vitamín K podporuje karboxylaci glutamových zbytků v Gla části molekuly proteinu C (55).

Deficit proteinu S

- trombofilii v žilním systému může způsobit také deficit nebo dysfunkce dalšího inhibitoru koagulace - proteinu S. Kongenitální deficit proteinu S spojený se žilním tromboembolismem byl poprvé popsán Schwarzem et al. v roce 1984. Je nalézán asi u 1 - 5 % klientů s žilní trombózou. Heterozygot s deficitem proteinu S má 5 – 10 krát vyšší tendenci k žilní trombotizaci než jedinci s jeho normální hladinou (55).

Plazminogen

- plazminogen je štěpením aktivován na fibrinolytický enzym plazmin, který je uvolňován do krevního oběhu, kde cirkuluje volný nebo částečně vázaný pomocí receptorů na buněčné povrchy. Aktivace je regulována inhibitorem plazminového aktivátoru (PAI 1). Syntéza probíhá především v játrech, ale i ledvinách nebo granulocytech ve dvou variantách – Glu-plazminogen (biologický poločas rozpadu 48 - 60 hod) a Lys-plazminogen (pouze 12 – 20 hod). Volný plazmin má biologický poločas rozpadu 0,1 sekundy. Plazminogen aktivuje některé mediátory v systému komplementu a oslabuje stěnu Graafova folikulu (ovulace), hraje úlohu při fertilizaci, embryogenezi, implantaci a migraci buněk. Deficit se projevuje při snížení pod 40 % normy (norma 200 mg/l) (12, 64).



Obr. č. 6 Prostorové zobrazení částí proteinů účastnících se koagulace a fibrinolýzy: koagulační faktor V (a), plasminogen (b), koagulační faktor II (protrombin, c)

FV Leiden

– další trombofilie, kterou lze zařadit do této skupiny je dědičná nebo získaná žilní trombofilie vyvolaná rezistencí faktoru FV vůči vlivu aktivovaného proteinu C (tzv. APC rezistence). Dědičná APC rezistence je způsobena mutací genu pro faktor V, (FV častější G1691A, záměna Guaninu za Adenin, která způsobí substituci Argininu = R za Glutamin = Q, FV R506Q). Podle místa objevu se tato mutace nazývá Leidenská. Výskyt mutace je závislý na rase a zeměpisné šířce, nejčastěji byla prokázána u kavkazské populace ve Skandinávii a severních oblastech Německa (20 %), v Evropě a Severní Americe u bílé rasy se vyskytuje okolo 3 – 15 % a u asijské a černošské populace se téměř nevyskytuje (103). Podle Kvasničky (55) je výskyt heterozygotní mutace faktoru V Leiden u nás asi u 5 % populace, homozygotní výskyt FV Leiden připadá na 1 z 5000 obyvatel (55). Riziko vzniku trombózy je u heterozygota 5 – 10x vyšší a u homozygota dokonce 50 - 100x vyšší (89, 100).

Leidenská mutace bývá často spojována s hyperkoaguací, např. u žen s výskytem mutace faktoru FV existuje během těhotenství 8x vyšší riziko vzniku hluboké žilní trombózy, pravděpodobnost vzniku pre-eklampsie je okolo 26 %, placentární infarkty zasahující více než 10 % objemu jsou zjišťovány 10x častěji nebo abrupce placenty postihuje tyto ženy s pravděpodobností okolo 30 %. Také těhotenské ztráty ve 2. nebo 3. trimestru jsou

mnohem častější (okolo 31 %). V souvislosti s porodem císařským řezem (SC) mají ženy se zjištěnou Leidenskou mutací 3 – 5x vyšší riziko vzniku TEN než po vaginálním porodu a během šestinedělí vzrůstá toto riziko 2 – 3x (89). Někteří autoři dávají do souvislosti s touto mutací i růstovou retardaci plodu (89).

Protrombin G20210A

- protrombin je prekurzorem proteázy trombinu, klíčového enzymu v procesu hemostázy a trombózy, který disponuje prekoagulační, antikoagulační a antifibrinolytickou aktivitou (88). U postižených jedinců (mutace Glutaminu za Arginin v pozici 20210) dochází ke zvýšení koagulační aktivity protrombinu, jeho koncentrace v plazmě je pak o 30 % vyšší, a tím vzniká větší dispozice ke srážení krve. Výskyt mutace genu pro protrombin, spojené s vyšší hladinou protrombinu, se v české populaci pohybuje mezi 1 – 2 %. U pacientů s již vzniklou žilní trombózou je mutace protrombinu zjišťována asi v 5 – 7,3 %. U heterozygotních nositelů se riziko vzniku žilní trombózy zvyšuje asi 2 – 4x (55, 103).

Polymorfismus genu metylenetetrahydrofolátreduktázy (MTHFR)

- enzym metylenetetrahydrofolátreduktáza má zásadní význam v metabolismu homocysteinu, který je nezbytný pro metabolismus buňky. Homocystein např. podporuje protrombotické změny v cévní stěně. Změny tohoto genu mohou způsobit zvýšenou hladinu homocysteinu v krevní plazmě, tzv. hyperhomocysteinémii. Mutacemi v genu MTHFR vzniká enzym se zvýšenou termolabilitou a sníženou aktivitou. Homocystein podporuje protrombotické změny v cévní stěně. Byly popsány dva polymorfismy genu pro MTHFR – A1298C (záměna Adeninu za Cytosin) a častější C677T (záměna Cytosinu za Thymin). Výskyt heterozygotů (evropská, severoamerická a australská populace) je 31 – 39 % a homozygotů 9 – 17 % (102). Polymorfismus C677T je rizikovým faktorem pro defekty neurální trubice, u homozygotních matek je riziko vzniku defektů u plodu 2x vyšší. Mimo to může tato mutace souviset s poruchami plodnosti, těhotenskými ztrátami, předčasným porodem, atd. Vyšší hladiny homocysteinu jsou spojeny s nedostatkem kyseliny listové, vitamínu B12 a B6 (103).

PAI

- inhibitor aktivátoru plazminogenu je základním inhibitorem tkáňového plazminogenového aktivátoru (tPA) a urokinázy (uPA), aktivátorů plazminogenu a tedy fibrinolýzy. Hlavní rolí PAI-I je omezení fibrinolytické aktivity na úroveň vznikajícího trombu. PAI-I je tvořen především v endoteliích, méně v adipocytech, buňkách hladkého svalstva cév, játrech či megakaryocytech. Hlavní zásoba je uložena v inaktivní formě v trombocytech. U většiny zdravých osob bývá v plazmě převaha krevního PAI-I nad tPA. Produkce PAI-I bývá zvýšena u zánětlivých stavů, horečnatých chorob, obézních jedinců, diabetiků, dislipidemií, v graviditě a u osob s koronárními syndromy. V regulaci sekrece tPA a PAI-I existuje koordinace; v plasmě spolu tvoří inaktivní komplex. Z cirkulace jsou obě látky odstraňovány hepatocyty. Velké množství PAI-I je uvolňováno z aktivních destiček po jejich adhezi a agregaci na nestabilní aterogenní plát. Zvýšené hodnoty PAI-I se považují za marker trombogeneze. Zásadní význam má polymorfismus PAI-I. Je prokázáno, že polymorfismus 4G/5G ovlivňuje riziko vzniku trombóz. S vysokou mírou transkripce genu je spojená 4G alela, zatímco 5G alela je spojena se snížením jeho transkripce (jedinci 4G/4G genotypem, mají hladinu plasmatického PAI-I o 25 % vyšší než jedinci s 5G/5G genotypem). Jedinci s 4G alelou mají vyšší riziko vzniku koronárních syndromů, srdeční smrti, ženy pak vyšší výskyt komplikací během těhotenství a porodu. Genotyp 4G/4G a 4G/5G je také spojen s vyšším rizikem úmrtí po chirurgickém výkonu (34, 40).

3 PROSTŘEDKY ANTIKOAGULAČNÍCH NEBO ANTITROMBOTICKÝCH OPATŘENÍ

K zajištění antitrombotických opatření existuje řada možností:

1/Antikoagulační – působí proti účinku trombinu, brání přeměně fibrinogenu na fibrin. Hlavními léky v této skupině jsou nefrakcionovaný heparin (UFH) a kumariny.

2/Antitrombotická – brání vzniku nadbytku trombinu inhibicí přeměny protrombinu na trombin působením aktivovaného faktoru X (tzv. anti-Xa účinek). Léky této skupiny jsou nízkomolekulární hepariny (LMWH), heparany, pentasacharidy a další inhibitory FXa.

3/Antiagregační – účinkují proti shlukování (agregaci) krevních destiček při stavbě primární cévní zátky. K tomuto účelu je užívána kyselina acetylsalicylová (ASA), thienopyridiny, inhibitory glykoproteinu IIb/IIIa atd.

Dále je užívána léčba trombolytická, substituční nebo kombinace shora uvedených postupů (74).

3.1 HEPARINY

Látku, pocházející z jaterních buněk vedoucí k poruše krevního srážení, objevil McLean roku 1916. O něco později ji Howell označil názvem **heparin**. Je to látka ze skupiny glykozaminů, která se projevuje rozmanitostí struktury a různými účinky v celé řadě biologických systémů. Heparin je složen z uronové kyseliny a sulfátových cukerných zbytků. Na počtu oligosacharidových zbytků závisí schopnost vazby na substráty. Počet zbytků kolísá v závislosti na molekulové hmotnosti heparinu a právě nízkomolekulární hepariny mají antitrombotickou účinnost a nižší výskyt nežádoucích vedlejších účinků. V současné době jsou hepariny získávány odlišnými technologickými postupy depolymerizace a frakcionace (74).

Heparin se váže s bílkovinami krevního srážení, s receptory destičkové membrány, nukleárními i virovými proteiny, adhezivními extracelulárními proteiny, proteiny lipidového metabolismu atd. Má tedy účinek zasahující do krevního srážení, obecně protizánětlivý, antiproliferativní a antiischemický. Nízkomolekulární směsi (LMWH) mají až dvojnásobný poločas rozpadu (200 minut) a jsou eliminovány ledvinami, nefrakcionované hepariny (UFH) jsou degradovány přes játra, biologický poločas činí cca 1 - 2 hodiny. Biologická dostupnost LMWH je okolo 90 %, nefrakcionovaných heparinů jen 20 %.

Po intravenózní aplikaci působí heparin okamžitě, po subkutánní do 15 min s kulminací účinku do 4 hodin. K profylaxi je užívána dávka 100 IU/kg tělesné hmotnosti na 24 hod, a to buď v jedné nebo ve dvou denních dávkách (74).

Nízkomolekulární hepariny neprocházejí placentou, nemají teratogenní účinky a během kojení nebyly prokázány v mateřském mléce (78).

3.2 KUMARINY

Kumariny, 4-hydroxykumariny, brání karboxylaci gamaglutamátových zbytků N-terminálních konců aminokyselin faktorů protrombinového komplexu (FII, FVII, FIX, FX) a proteinů C a S. Tím zasahují do metabolismu K – vitamín dependentních působků ovlivňujících redukční pochody a negativně ovlivňují a snižují biologickou aktivitu popsanych faktorů a inhibitorů krevního srážení. Léčebný efekt kumarinů závisí na poločasu rozpadu faktorů a inhibitorů plazmatické koagulace. V současné době se dává přednost preparátům s delším poločasem, v našich podmínkách je to především Warfarin. Warfarin existuje ve dvou racemických formách – izomer R a S. Klinicky významnější je forma S (74).

3.3 ANTIAGREGAČNÍ LÉČBA

Léčba je zaměřena proti shlukování krevních destiček, v zábraně vzniku nebo progresi tepenných trombů. Nejvýznamnějším lékem této skupiny je kyselina acetylsalicylová, používaná již od starověku (výtažky kůry z vrby obsahující salicin). Základním účinkem je ireverzibilní blokáda cyklooxygenázy, která se účastní metabolismu prostaglandinů a vzniku cyklických endoperoxidů. Tyto látky ovlivňují stažlivost cév, procesy hemostázy – agregabilitu krevních destiček. Aplikace nižších dávek ASA vede ke snížení agregability, po vyšších dávkách je agregabilita ovlivněna nepatrně nebo vůbec.

Kyselina acetylsalicylová příznivě ovlivňuje mikrocirkulaci a proto je stále více využívána u těhotných z hlediska možnosti ovlivnění růstové retardace plodu, opakovaných těhotenských ztrát, preeklampsie nebo u žen s antifosfolipidovým syndromem.

Doporučená denní dávka dle WHO je 100 - 300 mg za den, značně výhodná je i ekonomická stránka léčby. U 6 % pacientů se mohou vyskytnout při podávání kyseliny acetylsalicylové gastrointestinální obtíže a u 0,2 % alergické reakce. S ohledem na to, se studuje možnost využití solubilních preparátů (74).

4 TĚHOTENSTVÍ A TROMBOFILIE

Ženy jsou během života vystaveny specifickým situacím se zvýšeným rizikem tromboembolismu (hormonální antikoncepce, substituční terapie estrogeny, léčba antiestrogeny, těhotenství a šestinedělí). Těhotenství má zvláštní klinický význam. V průběhu fyziologické gravidity dochází v cirkulující krvi těhotné k výrazným hormonálně podmíněným změnám hemostázy s velkou variační šíří. K těmto fyziologickým změnám řadíme především vzestup objemu cirkulující krve a modifikaci vzájemně mezi sebou působících faktorů hemostázy. K vyjádření hematologických poměrů v průběhu fyziologického těhotenství nelze použít kritéria užívaná u ostatní dospělé ženské populace. Některé změny v průběhu fyziologické gravidity jsou poměrně závažné a mají význam pro rozvoj nejčastějších a potenciálně nebezpečných hematologických problémů, jako jsou anémie, tromboembolismus a krvácení. Jejich znalost je podmínkou úspěšného řešení patologických stavů ohrožujících zdraví, případně i život rodičky (5).

4.1 ZMĚNY KREVNÍCH PARAMETRŮ

V průběhu gravidity narůstá objem **plazmy** postupně, nejvyšších hodnot dosahuje mezi 32. a 34. gestačním týdnem a po té se objem cirkulující plazmy do porodu prakticky nemění. Objem cirkulující plazmy je ovlivněn počtem proběhlých těhotenství, větší porodní hmotností plodu nebo četností těhotenství (5).

Méně údajů je o změnách objemu **erytrocytární masy**. Soudí se, že také narůstá např. v souvislosti s vyššími hladinami erythropoetinu, nebo s dlouhodobým užíváním preparátů železa (např. užívání Fe během 1. trimestru může zvýšit objem až o 400 ml, tj. přibližně o 30 %) (5).

Koncentrace **hemoglobinu, hematokrit a počet červených krvinek** během těhotenství klesají, protože dochází k expanzi cirkulující plazmy. Přesto je množství cirkulující-

cího hemoglobinu absolutně větší. Nejnižší fyziologická hladina koncentrace hemoglobinu u dospělé netěhotné ženy žijící v nulové nadmořské výšce je 12 g/dl, zatímco u těhotné se fyziologické minimum pohybuje mezi 11 až 12 g/dl. Minimální hodnota akceptovaná WHO je 11 g/dl (5). Celkový počet **leukocytů** vlivem těhotenství stoupá, přestože počet lymfocytů a monocytů zůstává stacionární. Zvyšuje se počet polymorfonukleárních leukocytů, zejména dochází k expanzi populace neutrofilů, která začíná již v období luteální fáze cyklu a v průběhu těhotenství neklesá. K maximálnímu vzestupu neutrofilů dochází ve 30. týdnu gravidity, druhého vrcholu dosahuje v období porodu (5).

S těhotenstvím je spojený i mírný pokles **trombocytů**, většinou neklesající pod hranici normálu. Z velké části k ní dochází v důsledku chronicky zvýšené konzumpce trombocytů, pro což svědčí i zvýšené plazmatické hladiny β_2 trombomodulinu v druhé polovině gravidity a po porodu. Aktivace a agregace trombocytů je také v průběhu těhotenství mírně zvýšená (5).

4.2 ZMĚNY HEMOKOAGULAČNÍCH PARAMETRŮ

Dle Bindera et al. (5) je pro většinu žen riziko krvácení a trombózy signifikantně vyšší během těhotenství než v kterémkoliv jiném období života. Vlivem hormonálních změn doprovázejících graviditu dochází k markantním změnám hladin koagulačních faktorů i jejich inhibitorů. Výsledkem je hyperkoagulační stav s maximálním laboratorním vyjádřením v období před porodem.

U většiny koagulačních faktorů dochází k vzestupu jejich hladin. Už od I. trimestru stoupají hladiny faktorů VII, X a fibrinogenu. Vzestup faktoru VIII a von Willebrandova faktoru probíhá během celého těhotenství s akcelerací ve III. trimestru, kdy hladiny dosahují až dvojnásobných hodnot. Změny hladin faktorů IX a XII jsou nevýrazné, jejich vzestup je minimální. Beze změn zůstává hladina faktoru V a mírně klesá faktor XI. Vzestup v první polovině gravidity a následný pokles k normálním hodnotám před porodem lze po-

zorovat u faktoru XIII. Hladiny prekalikreinu a vysokomolekulárního kininogenu jsou rovněž zvýšené.

Fibrinolytická aktivita plazmy v těhotenství je snížena o více než 50 %. Dochází k ní hlavně důsledkem vzestupu inhibitoru aktivátoru plazminogenu 1 a 2 (PAI 1 a 2). PAI 2 je ve zvýšené míře tvořen placentou.

Změny antitrombinu III (ATIII) jsou nevýrazné, i když jeho syntéza je zvýšená. Celková koncentrace ATIII se nemění, vzhledem k vzestupu objemu cirkulující plazmy. Koncentrace proteinu C je v těhotenství stabilní, jeho aktivita klesá, ale zůstává v mezích normy. Hladina antigenu proteinu S se buď nemění, nebo jenom mírně klesá, narozdíl od hladiny volného proteinu S, která v druhé polovině gravidity dosahuje jenom kolem 50 % výchozích hodnot, což vede k poklesu celkové aktivity tohoto proteinu. Současně, asi u 40 % těhotných, dochází k získané rezistenci k aktivovanému proteinu C. Změny koagulačních inhibitorů se výraznou měrou podílí na protrombotickém stavu těhotenství.

K výrazným koagulačním změnám dochází bezprostředně po porodu, kdy dramaticky klesají hladiny faktoru XII, prekalikreinu a vysokomolekulárního kininogenu a výrazně stoupají markery trombocytární koagulační aktivace. V průběhu prvních hodin po porodu dochází k normalizaci fibrinolytické aktivity, pravděpodobně v důsledku snížené produkce PAI 2 po odloučení placenty. K návratu hladin koagulačních faktorů do předtěhotenských hodnot dochází až během několika dnů (5).

V těhotenství a šestinedělí se vrozené a získané poruchy hemostázy mohou projevit buď krvácením, nebo častěji jako trombózy v arteriálním a žilním řečišti těhotné ženy či fetoplacentární jednotky. Podle statistických údajů (90) je nyní v České republice tromboembolismus druhou nejčastější příčinou smrtelných příhod v těhotenství a šestinedělí, po krvácení spojeném se syndromem diseminované intravaskulární koagulace (DIC) (55).

4.3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ZVÝŠENÝ VÝSKYT TROMBOEMBOLIE

4.3.1 FAKTORY ANATOMICKÉ A ENDOKRINNÍ

Gravidní děloha svou hmotností podmiňuje částečnou kompresi pánevních žilních pletení a oblasti v. cava inferior. V součinnosti s hormonálními vlivy zejména ve stavu, který má po celou graviditu relaxační účinek na hladké svalstvo cévní stěny, vytváří tento jev předpoklady pro vznik městnání, venektázií a varikózních pletení v distálním krevním řečišti. Venózní tlak v pánevním řečišti vykazuje 2 – 3 násobně vyšší hodnoty. U žen s konstitučně podmíněnou nedostatečností pojiva, zejména u multipar, mohou vznikat varikozity o velkém rozsahu na dolních končetinách, ale i v oblasti periproktální, vulvy, parakolpia a paravezikální (13).

4.3.2 FAKTORY KOAGULAČNÍ

V průběhu těhotenství se vyvíjí ontogeneticky podmíněný trombofilní stav, jako výraz obrany organismu proti četným porodnickým hemoragiím. Nastává kvantitativní vzestup faktorů srážlivosti. I nepatrné defekty v cévním endotelu a perivazální infekce jako je např. endomyometritida, predisponují k cévní trombóze (13).

4.3.3 EXOGENNÍ FAKTORY

Dlouhodobě podmíněný přirozený sklon k trombofilii v gestaci, se v podmínkách stále se zvyšující četností císařských řezů, stává za určitých okolností faktorem, který může vyústit v tromboembolické komplikace nebo k rozvoji DIC. Každý porodník musí vytvořit podmínky a předpoklady pro účinnou prevenci, diagnostiku a terapii těchto stavů. Smrtelné tromboembolické komplikace jsou hlavní příčinou úmrtí žen po císařských řezech (26 %) a plných 69 % všech smrtelných tromboembolických komplikací nastaly v přímé souvislosti s císařským řezem (13).

4.4 VÝSKYT DĚDIČNÉ TROMBOFILIE V TĚHOTENSTVÍ A ŠESTINEDĚLÍ

Dle Bernarda et al. (23) se u těhotných žen se žilní trombózou (ŽT) detekuje Leiden-ská mutace F V ve 43,7 % (vs. netěhotné ženy 7,7 %) s relativním rizikem trombózy 9,3. Trombofilii zde zhoršuje i druhotná získaná těhotenská „APC rezistence“. Mutace pro-trombinu G20210A je u těhotných s trombózou prokazována v 16,9 % (vs. netěhotné 1,3 %), relativní riziko vzniku je 15,2. Asi u 19,3 % případů těhotenských trombóz se vyskytu-je deficit antitrombinu. Pokud jsou hodnoceny pouze ženy, které neužívaly antikoncepci dochází ke snížení výskytu trombóz na 6,7 %. Jestliže se však žilní trombóza objevila až v šestinedělí, byla ve 30 % případů zjištěna homozygotní mutace MTHFR s genotypem 677TT (23).

Trombofilie	prevalence u těhotných s VTE	RR VTE v graviditě	pravděpodobnost VTE/1000 gravidit
heterozygotní f. V Leiden	20 - 46	5 - 16	2 – 3
homozygotní f. V Leiden	2 - 4	20 - 40	40
Heterozygotní Pro 20210A	6 - 26	3 - 15	3 – 5
smíšený heterozygot FV Leiden + Pro 20210A	7 - 9	9 - 107	10 – 50
Deficit antitrombinu	1 - 19	7 - 64	4 – 333
Deficit proteinu C	2 - 14	4 - 7	1 – 9
Deficit proteinu S	1 - 12	2 - 3	1 – 3
zvýšená hladiny f. VIII	18	4 - 5	2 -3

Tabulka č. 3 Riziko VTE u gravidních nosiček LPT (48, 76)

Legenda: VTE - venózní (žilní) tromboembolizmus

RR – relativní riziko

4.5 PÉČE O TROMBOFILNÍ STAVY BĚHEM TĚHOTENSTVÍ

4.5.1 DOPORUČENÉ SPEKTRUM VYŠETŘENÍ HEMOSTÁZY

Jak už bylo uvedeno, výskyt VTE je rovnoměrně rozdělen do všech tří trimestrů a je vyšší během šestinedělí. Ke zvýšenému výskytu hluboké žilní trombózy přispívá např. tlak zvětšující se dělohy, operační porody, dlouhotrvající klid na lůžku v průběhu těhotenství a šestinedělí, těžké krvácení, sepse, multiparita a pokročilý věk matky (81). Kromě žilního tromboembolizmu se trombofilní stavy v graviditě mohou manifestovat i dalšími komplikacemi, jejichž společným patogenetickým mechanismem je trombóza v placentárním řečišti. Jde o spontánní potrat, porod mrtvého plodu, retardaci intrauterinního růstu plodu, preeklampsii, HELLP syndrom a abrubci placenty (13, 46, 67, 97).

Kompletní koagulační vyšetření zaměřené na vrozené a získané trombofilní stavy u všech žen v reprodukčním věku se nyní neprovádí, protože se jeví jako neefektivní, vzhledem k ekonomické náročnosti a relativně nízké incidenci trombofilních stavů v populaci. Dostačující screeningovou metodu představuje důkladné zjištění anamnézy se zaměřením na výskyt TEN. U žen s pozitivní rodinnou anamnézou by mělo následovat podrobnější laboratorní vyšetření. Těhotné s TEN je třeba dispenzarizovat ve speciálních poradnách, důležitá je i spolupráce s internistou – hematologem.

Základní vyšetření se týká stanovení hladiny trombocytů (norma $290 \pm 150 \times 10^9$ /l), fibrinogenu (2,5 – 5g/l), aktivovaného parciálního tromboplastinového času (APTT, 28 – 40 s) a antitrombinu III (80 – 140 %). U recidivujících trombóz se dále stanoví protein C-antigen (66 – 178 %), protein S-antigen (60 – 140 %) a d-dimery (500 – 700ng/ml) (13).

4.5.2 PROFYLAXE

Existují doporučené postupy antitrombotické profylaxe a péče o trombofilní stavy v gynekologii a porodnictví, které se navzájem v detailech liší (16, 74, 75).

U žen na dlouhodobé antikoagulační terapii plánujících těhotenství je prekoncepčně nutný přechod z perorálního kumarinu (PAK) např. warfarinu na terapeutické dávky

nefrakciovaného heparinu (UFH) nebo nízkomolekulárního heparinu (LMWH). V případě neplánované koncepce je pro plod bezpečné, pokud se přejde z PAK na UFH nebo LMWH nejpozději do 6. gestačního týdne.

Při léčbě VTE během těhotenství se podávají terapeutické dávky LMWH či UFH s následným (po cca 14 dnech) přechodem na profylaktickou dávku.

U žen, které již prodělaly jednu epizodu VTE při přechodné protrombotické dispozici se provádějí laboratorní kontroly hemokoagulačních parametrů, případně dopplerovská ultrasonografie hlubokého žilního systému (CUS). Doporučuje se podávat peripartálně profylaktické dávky LMWH či UFH a po celé šestinedělí pokračovat v profylaktické dávce LMWH. Možný je i přechod na PAK.

Bylo-li příčinou vzniku VTE samotné těhotenství či orální kontracepce je doporučeno zahájit antitrombotickou profylaxi UFH nebo LMWH již v průběhu těhotenství, nejpozději od jeho druhé poloviny.

U žen s klinicky méně závažnou trombofilní mutací (heterozygotní FV či heterozygotní FII-20210A bez předchozí epizody VTE) jsou doporučeny laboratorní kontroly hemokoagulačních parametrů v průběhu těhotenství a aktivní profylaxe LMWH před předpokládaným termínem porodu (po ukončeném 38.g. t.) a pokračování v profylaxi LMWH po celou dobu šestinedělí. Přechod na poporodní aplikaci PAK je možný. V případě přítomnosti dalších tranzitorních rizik je nutné zvážit zahájení aktivní profylaxe VTE dříve v průběhu těhotenství.

U pacientek s vrozeným defektem antitrombinu III, proteinu C, proteinu S, nosičstvím trombofilní mutace v homozygotní formě nebo nosičství kombinace mutací, přítomností antifosfolipidového syndromu (APA) je doporučena aktivní profylaxe LMWH po celou dobu gravidity a po celou dobu šestinedělí. Poporodní přechod na PAK je možný.

Nosičství mutace MTHFR, pokud není spojeno s hyperhomocysteinémií, není z hemokogulačního hlediska považováno za významné. V průběhu těhotenství postačí suplementace těhotné kyselinou listovou v dávce 5mg/denně.

U žen s prokázaným nosičstvím některé z forem trombofilních mutací spojené s habituálním potrácením (více než tři) je do 6. - 8. t.g. doporučena antiagregační terapie ace-

tylsalicylovou kyselinou (anopyrin 100mg) a poté přechod na profylaktické dávky LMWH, alternativně - profylaktické dávky LMWH od prekoncepčního období.

Peripartální profylaxe TEN je dále indikována: iterativní císařský řez, větší porodní poranění měkkých tkání (komplikace císařského řezu, forcepsu, velká krevní ztráta), 4. a každý další porod, věk nad 35 let, obezita (BMI nad 29), imobilizace pacientky nad 72 hod., varixy DK, vulvy, abrupce placenty, HELLP syndrom, těžká preeklampsie, porod mrtvého plodu, mezioborové indikace (kardiální, neurologické, hematologické atd.), 3 – 5 denní aplikace profylaktické dávky LMWH či UFH po porodu – 5denní dávka je nutná při převodu na warfarin.

4.5.3 KOMPLIKACE LÉČBY

Matka

Nejzávažnější mateřskou komplikací u všech užívaných preparátů je krvácení. U warfarinu se navíc mohou objevit kožní nekrózy. Dlouhodobá léčba deriváty heparinu může způsobit osteoporózu a trombocytopenii. Nepříjemnosti působí i bolest v místě vpichů. Krvácivé projevy lze očekávat u 2 % těhotných léčených heparinem. Antikoagulační efekt terapeutických subkutánních dávek heparinu může být příčinou silného krvácení při vlastním porodu, proto je nutné v době očekávaného porodu dávku včas upravit. Nejzávažnější komplikací antikoagulační léčby je vznik heparinem indukované trombocytopenie (HIT). Dlouhodobá léčba deriváty heparinu UFH může způsobit i osteoporózu. Incidence je kolem 2 – 3 % a projevuje se frakturami žeber a infracemi obratlů. V těhotenství změněná statika páteře k těmto stavům přispívá. Sníženou kostní denzitu lze prokázat až u 30 % takto léčených pacientů. Při léčbě LMWH je riziko vzniku osteoporózy mnohem nižší (5, 52).

Plod

Při antikoagulační léčbě těhotné se jedná potenciálně o dvě možná rizika pro plod - o riziko teratogenního působení léků a krvácivé projevy plodu.

Heparin, nízkomolekulární hepariny ani danaparoid sodný neprochází placentární bariérou, a proto léčba těmito preparáty výše popsaná rizika prakticky eliminuje. Teoreticky je možné připustit krvácení v místě uteroplacentární jukce. Kumarinové deriváty naproti tomu procházejí placentární bariérou a mohou tedy působit teratogenně na plod nebo být příčinou krvácivých projevů. Do 6. týdne těhotenství, než je ustanovena placentární cirkulace, se zdá perorální léčba deriváty kumarinu bezpečná. Riziko embryopatie se manifestuje jako hypoplazie nosu a porucha vývoje kostí v oblasti epifýz. Poruchy vývoje centrálního nervového systému se mohou vyvinout při této léčbě v kterémkoliv trimestru. Plod je navíc ohrožen krvácením, zvláště během a těsně po porodu (5).

4.6 TROMBOFILIE A LÉČBA NEPLODNOSTI

Tendence ke zvýšené koagulaci a tedy i možnosti výskytu tromboembolických komplikací u klientek podstupujících léčbu metodami IVF a ET je dávana do souvislosti s používáním hormonálních preparátů – stimulačních nebo substitučních. Bylo prokázáno, že toto riziko je potencováno současnou přítomností genetických nebo získaných trombofilií. Tromboembolické komplikace u klientek center AR jsou obvykle v souvislosti se vznikem těhotenství a rozvojem některého stupně OHHS (61). V poslední době je do souvislosti s hyperkoagulačním stavem dáván také opakovaný neúspěch a selhání implantace po přenosu embryí.

4.6.1 Estrogeny

Podstatou stimulace v rámci léčby IVF a ET je řízená ovariální stimulace podáváním folikulostimulačního hormonu (FSH). Graafovy folikuly pak na vaječnících dozrávají současně ve velkém množství. Během této stimulace dochází k produkci suprafyziologických hladin estrogenů. Imunohistochemickými a funkčními testy bylo prokázáno, že cílovými orgány estrogenů jsou mimo reprodukčních orgánů i cévy, kosti, játra, mozek. Účinek estrogenu je zprostředkován dvěma typy receptorů pro estrogen – α a β . Oba uvedené receptory se liší svou skladbou, po aktivaci estrogeny nebo jinými ligandy vyvolávají

v cílové tkáni i rozdílnou odpověď. Po navázání estrogenů v kardiovaskulárním systému oba receptory spustí celou řadu obranných procesů, které mají cévu chránit před patologickými vlivy (např. stres, vysoký tlak, zánět, metabolické poruchy) (56). Estrogeny mohou snižovat hladinu LDL - cholesterolu a naopak zvyšovat koncentraci “kardio protektivního“ HDL - cholesterolu, snižují hladinu homocysteinu, hladinu insulin like growth factoru-1 (IGF-1). Příznivý vliv estrogenu na IGF-1 může být však inhibován gestageny v druhé fázi cyklu (55).

Estrogeny dále ovlivňují příznivě reologii krve, snižují viskozitu krve, hladinu fibrinogenu, F VII, F XIII a PAI-1. Naopak vedou ke snížení tvorby inhibitoru tkáňového faktoru, proteinu a antitrombinu, 17 β estradiol snižuje o 37 % agregaci destiček.

Během stimulace nebo substituce při léčbě neplodnosti jsou hladiny estradiolu suprafyziologické a proto ovlivňují ve zvýšené míře všechny výše popsané mechanismy. Je známo, že lépe jsou většinou klientek využívány perorálně než transdermálně podávané estrogeny.

4.6.2 Ovariální hyperstimulační syndrom

Některé další komplikace léčby IVF a ET vznikají v souvislosti s ovariální hyperstimulací (53) a možným rizikem vzniku tzv. **ovariálního hyperstimulačního syndromu** (OHSS). Ten je v jednotlivých fázích charakterizován zvýšenou propustností kapilár, únikem tekutin do extravazálního prostoru, hemokoncentrací, hypovolémií, trombózami, cirkulačním šokem a terminálním selháním orgánů (62). Incidence této komplikace je udávána mezi 0,5 – 11,2 % a riziko vzniku zvyšuje astenický habitus, nižší věk žen, syndrom polycystických ovarií (PCOS), typ použitého stimulačního protokolu, luteální suplementace hCG a v neposlední řadě také vzniklé těhotenství (62). U klientek s těžkým stupněm OHSS byl navíc Dulitzkym et al. (17) popsán v 85 % výskyt kombinace více než jednoho z trombofilních markerů. Mára et al. (61) doporučují u klientek s OHSS preventivní miniheparinizaci.

4.6.3 Syndrom polycystických ovarií

Dalším protromboticky působícím faktorem je syndrom polycystických ovarií (PCOS). Jedná se o heterogenní endokrinní poruchu, která se vyskytuje přibližně u 4 % žen

v plodném období (50) nebo, podle jiných autorů 5 - 10 % populace (14, 86). PCOS je kromě jiných příznaků, spojen s inzulinem způsobenou zvýšenou hladinou PAI-1 (zpomalení fibrinolýzy) a tato vysoká hladina představuje největší riziko potratu. Na vzniku PCOS se podílí interakce dědičných a environmentálních faktorů a podle některých autorů je syndrom spojen s vyšším výskytem protrombinových mutací (94).

4.6.4 Implantace embrya

Selhání implantace embrya v endometriu a placentace zůstává nadále největším problémem, pravděpodobnost vzniku těhotenství a porodu dítěte po embryotransferu je okolo 30 %. V současné době není popsán přesný mechanismus, kterým trombofilní stav může působit na selhání implantace po IVF. Předpokládá se, že invaze maternálních cév syncytiotrofoblastem může způsobovat lokální trombózy v místě implantace a vést k jejímu selhání. Protože vývoj intervilozních prostor probíhá pouze 11 - 12 týdnů gestace, mohou být tímto způsobem vysvětlovány prvotrimestrální těhotenské ztráty (3, 87). Podobně existuje hypotéza, že hyperkoagulace v místě implantace vede k neúspěšnému propojení placenty a mateřského organismu a tedy k těhotenské ztrátě (3).

Úspěšnou implantaci ovlivňuje i optimálnější průtok a. uterina, vyšší endometrium a morfologická stavba endometria. Ultrazvukem bylo ověřeno, že ženy s úspěšnou implantací měly tyto parametry odlišné od klientek se selháním implantace (87). Průtok uterinní krve, zásobení tkání a zlepšení receptivity endometria k implantaci příznivě ovlivňují nízké dávky acetylsalicylové kyseliny (ovlivnění vasokonstrikce a agregace krevních destiček) (30). Simur et al. (87) uvádí jako limitující faktor vzniku úspěšného těhotenství poškození iniciálního vaskularizačního procesu během implantace v souvislosti s vyšší prevalencí PAI 1 (4G/5G) u pacientek se selháním implantace (nesignifikantní).

4.6.5 Výskyt TEN u IVF klientek

Mára et al (61) popisuje tři případy TEN (0,11 %) u 1276 žen podstupujících 2748 cyklů IVF a ET. Ve všech případech TEN propukla v době 40 – 47 dní po ET i přesto, že v souvislosti s výskytem OHSS byl podáván LMWH. U všech klientek bylo potvrzeno těhotenství. Vždy se jednalo o hlubokou žilní trombózu v oblasti krku. U všech tří žen byl

posléze prokázán výskyt kombinace trombofilních markerů (FV Leiden, protrombin, MTHFR, deficit proteinu S, antitrombinu a antifosfolipidový syndrom).

Grandone et al. (25) uvádí 4 případy TEN u 305 klientek v 747 cyklech IVF a ET (0,5 %). Pouze u jedné pacientky byl zjištěn FV Leiden společně s deficitem proteinu C, u jedné byl potvrzen antifosfolipidový syndrom a dvě měly hyperhomocysteinémii. Azem et al. (3) a Grandone et al. (25) dávají do souvislosti s trombotickými příhodami právě věk (≥ 39 let) a hladinu homocysteinu nad 97,5 percentilem, nebo věk a deficit proteinu S.

Z ekonomického hlediska byl zamítnut plošný screening trombofilních markerů, ale bylo navrženo testování u klientek IVF s těžkým OHSS (17, 19). Arya et al. (2) naopak doporučuje vyšetření na dědičné a získané trombofilie u všech klientek před léčbou metodami AR. Jako opodstatněné se jeví prolongované podávání LMWH u klientek s projevem OHSS po celé těhotenství a šestinedělí, dávka frakcionovaných heparinů by měla přesahovat běžnou profylaktickou dávku (61, 72, 83).

4.6.6 Profylaxe v cyklech IVF a ET

Úspěšnost metod asistované reprodukce je ovlivněna řadou dílčích kroků, např. výběr optimálního stimulačního protokolu, výběr kvalitního embrya/embryí a provedení atraumatického embryotransferu, ale také nastavením mateřského organismu k implantaci, průběhu těhotenství až k porodu zdravého novorozence. V poslední době je právě diskutován vliv koagulačního stavu ženy na tyto procesy.

5 CÍLE PRÁCE

Cílem této práce bylo zjistit, zda je frekvence výskytu trombofilních markerů u klientek Centra asistované reprodukce podstupujících IVF a ET vyšší než v obecné populaci a zda má podávání nízkomolekulárního heparinu u vybraných klientek vliv na výsledky této léčby.

Dílčí cíle:

1/ Zhodnotit výskyt trombofilních markerů:

a/ přítomnost mutace genů v hetero- nebo homozygotním stavu pro FV Leiden R506Q, Protrombin G 20210A, MTHFR C677T, PAI 1G4/G5

b/ výskyt deficitu Proteinu C, Proteinu S, Plazminogenu, Antitrombinu III

v souboru klientek, které přicházejí do Centra asistované reprodukce s problémem neplodnosti a infertility a ve skupině klientek následně podstupujících IVF a ET.

2/ Vyhodnotit vliv léčby (podání LMWH) na výsledky IVF a ET (resp. KET) v porovnání se skupinou klientek bez této léčby:

a/ zisk těhotenství na započatý cyklus (PR/cyklus),

b/ zisk těhotenství na provedený embryotransfer (PR/ET)

c/ výsledek těhotenství – těhotenské ztráty (AB), porody (take home baby rate, THRB)

6 MATERIÁL A METODY

Do retrospektivní studie byly zařazeny všechny klientky Centra asistované reprodukce (soubor Z), u kterých byly vyšetřovány trombofilní markery. Indikací k vyšetřování markerů byla:

a/ pozitivní rodinná anamnéza (RA) s výskytem nádorového onemocnění, cévní mozkovou příhodou (CMP) a trombotickými stavy, onemocněním srdce a cév, onemocněním štítné žlázy (ŠŽ) a cukrovkou (diabetes mellitus, DM),

b/ pozitivní osobní anamnéza (OA) s výskytem onemocnění ŠŽ, srdce a cév, varixů, trombózy, DM, neurologického a autoimunitního onemocnění,

c/ pozitivní porodnická anamnéza (PA) v sobě zahrnovala proběhlé těhotenské ztráty (AB), předčasné odloučení placenty, porod mrtvorozeného dítěte, d/ výskyt hyperstimulačního ovariálního syndromu (OHSS) při stimulaci k IVF nebo opakované selhání IVF.

Do souboru bylo zařazeno celkem 216 žen (Z), ve věku od 23 do 46 let se vstupní diagnózou primární (n = 104) nebo sekundární neplodnost (n = 112). Po provedení dalších vyšetření byly stanoveny přesnější příčiny neplodnosti.

Zachycený výskyt mutací genů a deficienci vybraných markerů v této skupině jsme následně porovnali s výskytem těchto markerů v souboru klientek, které v rámci léčby podstupovaly IVF a ET. Výsledky cyklů IVF a ET byly dále hodnoceny ve skupině klientek s přítomností trombofilních markerů vyžadujících léčebné nebo preventivní zajištění nízkomolekulárním heparinem (LMWH) v porovnání se skupinou bez přítomnosti trombofilních mutací a nutností léčby. Indikace k vyšetření a odběry proběhly v Centru asistované reprodukce, Porodnicko – gynekologické kliniky LF UP a FN Olomouc v období 10 let (2000 – 2010). Vyšetření indikovaných trombofilních markerů probíhalo ve spolupráci s laboratoří Hematoonkologické kliniky LF UP a FNOL (soubor ZOL) nebo u některých klientek (n = 16) proběhlo v jiných zdravotnických zařízeních.

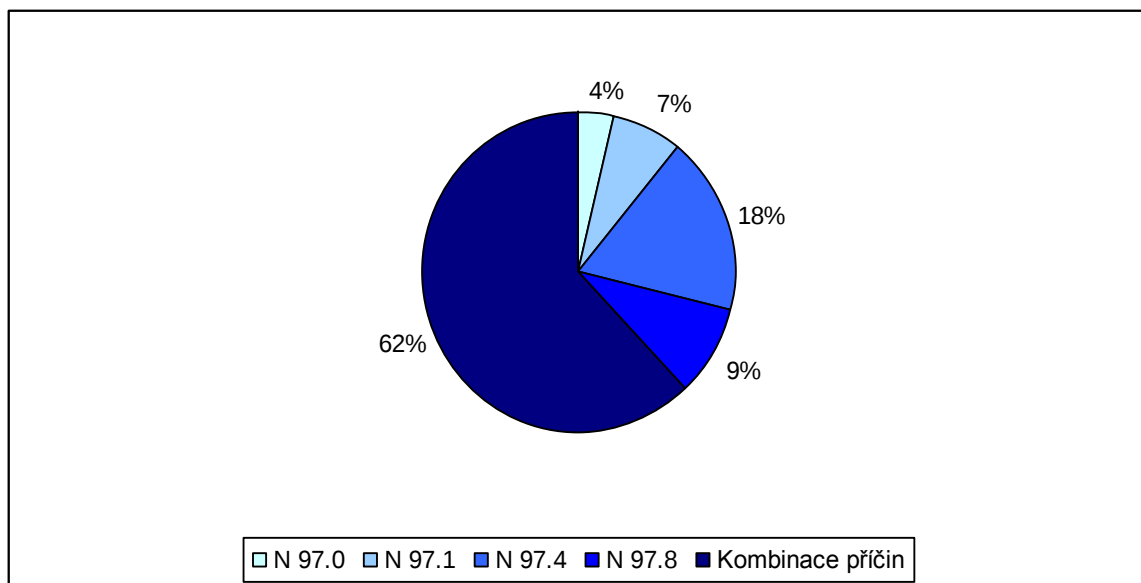
V celém vyšetřovaném souboru (n = 216) jsme vyhodnotili výskyt přítomnosti mutace genů v hetero- nebo homozygotním stavu pro FV Leiden R506Q, Protrombin G

20210, MTHFR C677T, PAI 1G4/G5 a výskyt deficitu Proteinu C, Proteinu S, Plasminogenu, Antitrombinu III, v porovnání se souborem klientek (n = 105) podstupujících léčbu IVF a ET (IVF).

Stimulace nebo substituce klientek probíhala standardně podle stimulačních a substitučních schémat zavedených na pracovišti Centra asistované reprodukce FNOL. Oplození bylo prováděno klasickou metodou nebo přímým vpichem spermie do oocyty. Embryo transfer byl prováděn po 3 nebo 5denní kultivaci, přenášeno bylo 1 až 3 embrya. Těhotenství bylo určeno na základě pozitivního testu hCG 12 – 14 dní po přenosu (≥ 10 IU/l) a na základě ultrazvukového určení počtu gestačních váčků s přítomnou akcí srdeční (pregnancy rate, PR). Jako těhotenské ztráty (AB) byly hodnoceny ztráty až po potvrzení klinické gravidity.

Zastoupení jednotlivých indikací k mimotělnímu oplození je znázorněno v grafu č. 1. Nejčastější indikací k IVF a ET byla kombinace více příčin sterility, dále příčina na straně muže (N 97.4), tubární faktor (N 97.1) a ovariální faktor (N 97.0). Diagnóza ženské neplodnosti jiné (N 97.8), kam je zahrnuta mimojiné i trombofilní příčina neplodnosti, se vyskytovala samostatně pouze v 9 % případů.

Soubor klientek podstupujících IVF a ET byl rozdělen do dvou skupin. Některé klientky podstoupily léčebný cyklus IVF a ET opakovaně. Do skupiny IVF A (n = 64) byly zařazeny cykly klientek se zjištěnou mutací závažných trombofilních markerů (FV Leiden, Protrombin), s výskytem opakovaných těhotenských ztrát nebo opakovaných selhání cyklů IVF a ET. Klientkám v této skupině byl v rámci stimulace před IVF a ET podáván LMWH. Nízkomolekulární heparin (Fraxiparine 0,3 ml/ 24 hod.) byl aplikován podle závažnosti nálezu buď od 4. – 5. dne stimulace (n = 50), od ET (n = 3) nebo od potvrzení pozitivní hladiny těhotenského hormonu (hCG, n = 5).



Graf č. 1 Indikace k provedení cyklu IVF a ET

Legenda: N 97.0 Ženská neplodnost spojená s anovulací

N 97.1 Ženská neplodnost tubárního původu

N 97.4 Ženská neplodnost spojená s mužským faktorem

N 97.8 Ženská neplodnost jiného původu (trombofilie, imunologie, endometrióza, děložní faktor)

Skupinu IVF B (n = 69 cyklů) tvořily cykly klientek, které podstoupily IVF bez zjištěných závažných trombofilních stavů a tedy bez zabezpečení LMWH.

Skupinu KET A (n = 7) a KET B (n = 3) tvořily klientky se substitucí před přenosem zamražených a následně rozmražených embryí (kryoembryotransferem, KET). Klientky skupiny KET A začaly s aplikací LMWH od začátku podávání gestagenů, skupina KET B byla bez zabezpečení.

V souborech IVF A, B jsme hodnotili a provnávali vstupní a výstupní parametry. Do **vstupních** parametrů jsme zařadili průměrný věk, počet oplozených oocytů (Fertility rate, FR v %), počet dále se vyvíjejících embryí, počet zrušených cyklů (před odběrem oocytů nebo před přenosem embryí), počet provedených embryotransferů a průměrný počet přenášených embryí. Jako **výstupní** parametry jsme hodnotili: počet získaných těhotenství, počet těhotenství vztažených na cyklus (PR/cyklus) nebo přenos embryí (PR/ET), počet tě-

hotenských ztrát (AB), počet probíhajících těhotenství nebo těhotenství ukončených porodem.

Vzhledem k velikosti souborů KET A, B jsme statistické hodnocení neprováděli.

Statistické zpracování bylo provedeno v Centru výpočetní techniky UP pomocí programů STATISTICA (StatSoft CR s r. o. (2007), STATISTICA Cz [Softwarový systém na analýzu dat], verze 8.0. www.statsoft.cz) a SPSS v. 8. Vzhledem k typu dat byl použit dvouvýběrový a jednovýběrový t-test, Mann-Whitneyův U-test a test pro porovnání dvou poměrů. Při všech výpočtech byla uvažovaná pětiprocentní hladina významnosti.

7 VÝSLEDKY

7.1 VÝSKYT GENETICKY PODMÍNĚNÝCH TROMBOFILNÍCH MARKERŮ

U většiny klientek vyšetření trombofilních geneticky podmíněných markerů pro FV Leiden R506Q, Protrombin G 20210, MTHFR C677T, PAI 1G4/G5 probíhalo v laboratoři Hemato onkologické kliniky FNOL. Pokud vyšetření proběhlo v jiných zdravotnických zařízeních, nebyl vyšetřen faktor PAI 1G4/G5. Proto v tabulce č. 4 uvádíme přesný počet nám známých provedených vyšetření v absolutních číslech a zjištěných mutací v hetero- nebo homozygotním stavu. Graficky je vyjádřen výskyt mutací v % (graf. č. 2).

Srážecí faktory	Z	IVF	statistická významnost
FV Leiden R506Q	n = 154	n = 92	
Heterozygot	15	6	NS
Homozygot	1	1	NS
Protrombin G 20210	n = 150	n = 90	
Heterozygot	7	5	NS
Homozygot	0	0	
MTHFR C677T	n = 169	n = 96	
Heterozygot	91	42	NS
Homozygot	7	6	NS
PAI 1G4/G5	n = 140	n = 81	
Heterozygot	72	42	NS
Homozygot	36	20	NS
Kombinace více faktorů	61	28	

Tab. č. 4 Výskyt mutace genů trombofilních markerů

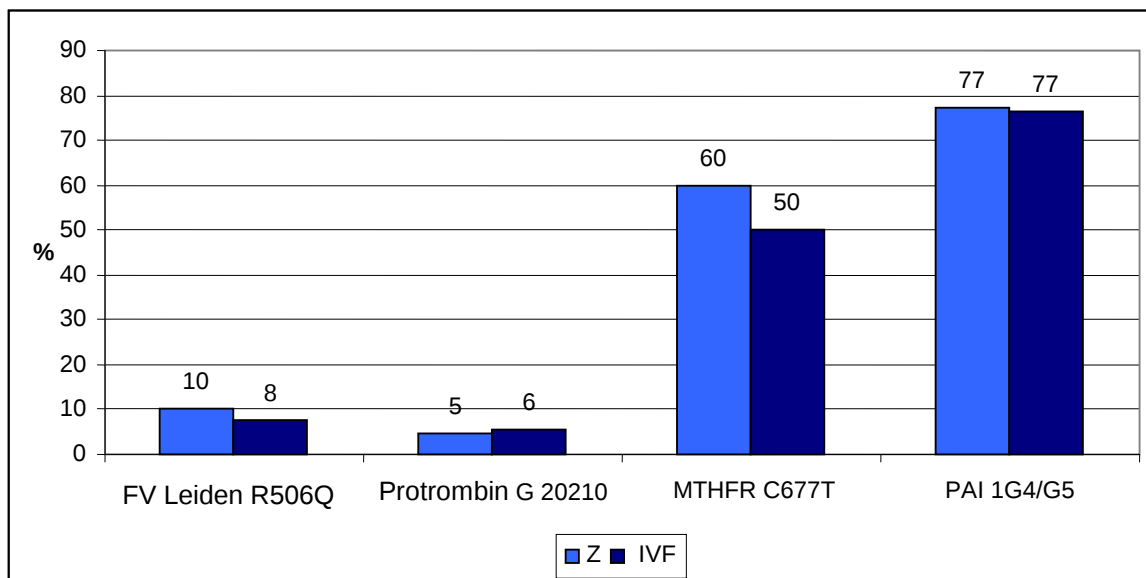
Legenda: Hodnoty byly porovnávány jednovýběrovým t-testem

Uvažovaná hladina významnosti $p < 0,05$

NS – statisticky neprůkazné

Z – všechny vyšetřované klientky z Centra asistované reprodukce

IVF – soubor žen, které podstoupily léčbu IVF



Graf č. 2 Výskyt mutace geneticky podmíněných markerů vyjádřený v %

Legenda: Z – všechny vyšetřované klientky z Centra asistované reprodukce

IVF – soubor žen, které podstoupily léčbu IVF

7.2 VÝSKYT DEFICITU PROTEINU C, PROTEINU S, PLAZMINOGENU A ANTITROMBINU III

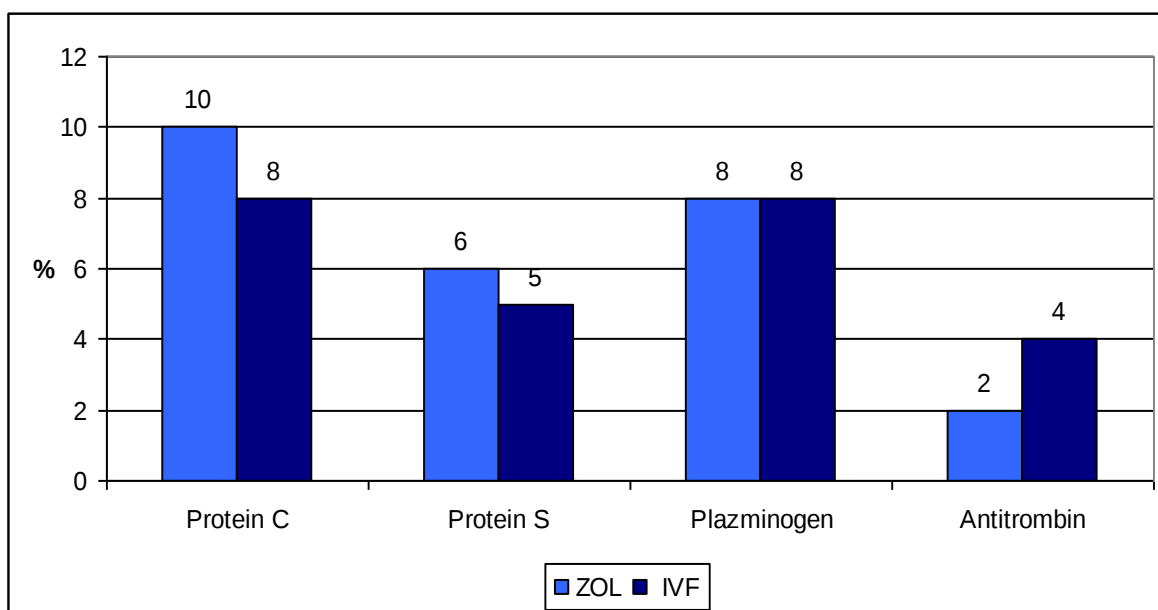
Vyšetření deficitu uvedených parametrů proběhlo pouze u klientek, které byly vyšetřeny v laboratoři Hemato-onkologické kliniky FNOL (soubor ZOL). Tabulka č. 5 uvádí výskyt deficitu těchto sledovaných parametrů v absolutních číslech. Graficky je znázorněno zastoupení deficitu jednotlivých parametrů ve sledovaných skupinách v %.

	ZOL	IVF
	n = 185	n = 87
Protein C	18	7
	n = 186	n = 89
Protein S	11	4
	n = 183	n = 87
Plazminogen	14	7
	n = 180	n = 86
Antitrombin	3	3
Kombinace více faktorů	13	6

Tab. č. 5 Zastoupení deficitu trombofilních markerů

Legenda: ZOL – soubor klientek vyšetřených ve FNOL

IVF - soubor žen, které podstoupily léčbu IVF



Graf č. 3 Výskyt snížených hodnot u všech žen a u žen s IVF

Legenda: ZOL – soubor klientek vyšetřených ve FNOL

IVF – soubor žen, které podstoupily léčbu IVF

7.3 VLIV LÉČBY (PODÁNÍ LMWH) NA VÝSLEDKY IVF A ET (RESP. KET)

Celkem 105 klientek podstoupilo 133 léčebných cyklů IVF a ET a 10 cyklů s přenosem zamražených a rozmražených embryí (KET).

Do skupiny IVF A (n = 64 cyklů) byly zařazeny cykly klientek se zjištěnou mutací závažných trombofilních markerů (FV Leiden R506Q, Protrombin G 20210), s výskytem opakovaných těhotenských ztrát nebo opakovaných selhání cyklů IVF a ET (viz tab.č. 6). Klientkám v této skupině aplikován nízkomolekulární heparin (Fraxiparine 0,3 ml/ 24 hod.) podle závažnosti nálezu buď od 4. – 5. dne stimulace (n = 50), od ET (n = 3) nebo od potvrzení pozitivní hladiny těhotenského hormonu (hCG, n = 5).

Skupinu IVF B (n = 69 cyklů) tvořily cykly klientek, které podstoupily IVF bez zjištěných závažných trombofilních markerů (tab. č. 6) a tedy bez zabezpečení LMWH.

Obě skupiny se tedy lišily výskytem mutací FII a FV, nelišily se průkazně v počtu zjištěných hetero nebo homo mutací MTHFR ($p < 0,05$). Zjistili jsme však statisticky průkazný rozdíl v počtu zjištěných mutací PAI v heterozygotním ($p = 0,027$) a homozygotním stavu ($p = 0,042$).

Srážecí faktory	IVF A (n = 64)	IVF B (n = 69)
FV Leiden		
Heterozygot	6	0
Homozygot	1	0
Protrombin G 20210		
Heterozygot	5	0
Homozygot	0	0
MTHFR C677T		
Heterozygot	25	17
Homozygot	3	3
PAI 1G4/G5		
Heterozygot	20	22
Homozygot	15	5
Kombinace více faktorů	19	9

Tab. č. 6 Výskyt geneticky podmíněných trombfilních markerů u klientek podstupujících IVF

Legenda: IVF A – soubor klientek s terapií LMWH

IVF B – soubor klientek bez terapie

Oba soubory se od sebe nelišily hodnotami vstupních parametrů (tab. č. 7).

	IVF A	IVF B	statistická významnost
Počet cyklů	64	69	
Věk	34,8 ± 3,2	34,8 ± 4,0	NS
FR	82% ± 25%	81% ± 21%	
Průměrný počet získaných embryí	7,3 ± 4,3	6,4 ± 4,3	NS
Počet zrušených cyklů	11	21	
ET	53	48	NS
E/ET	1,6 ± 0,9	1,3 ± 1,1	

Tab. č. 7 Vstupní parametry

Legenda: Hodnoty byly porovnávány Mann-Whitneyovým U-testem

Uvažovaná hladina významnosti $p < 0,05$

NS – statisticky neprůkazné

IVF A – soubor klientek s terapií LMWH

IVF B – soubor klientek bez terapie

FR – fertility rate, počet oplozených vajíček vyjádřený v %

ET – přenos embrya do dělohy

E/ET – počet embryí na embryotransfer

Prokázali jsme vyšší úspěšnost cyklů u pacientek, kterým byl podáván LMWH. Počet získaných těhotenství jak na cyklus, tak na embryo transfer byl statisticky významně vyšší. Neproukázali jsme však rozdíl v počtu těhotenských ztrát (tab. č. 8)

	IVF A	IVF B	Statistická významnost
Počet cyklů	64	69	
Počet ET	53	48	
Počet otěhotnění po ET	29	13*	
PR/cyklus	45% (29/64)	19% (13/69)	0,0016
PR/ET	55%(29/53)	27% (13/48)	0,0053
AB	17% (5/29)	15 % (2/13)	NS
Probíhajících G	10	1	
Počet P	14**	9***	

Tab. č. 8 Výstupní parametry

Legenda: Hodnoty byly porovnávány dvouvýběrovým t-testem a testem pro porovnání dvou poměrů

Uvažovaná hladina významnosti $p < 0,01$

NS – statistická neprůkaznost

IVF A – soubor klientek s terapií LMWH

IVF B – soubor klientek bez terapie

* jedno těhotenství bylo mimoděložní

** jedno z dvojčat zemřelo pro VVV

*** jedno dítě mrtvorozené

ET – přenos embrya do dělohy

PR/cyklus – zisk těhotenství na cyklus v %

PR/ET – zisk těhotenství na provedený embryotransfer v %

AB – potrat

Probíhajících G – probíhající těhotenství

Počet P – počet porodů

Klientky ($n = 10$), které neotěhotněly po přenosu čerstvých embryí a následně podstupovaly přenos zamražených a rozmražených embryí (KET) začaly s aplikací LMWH od začátku podávání gestagenů. Vzhledem k velikosti souboru nebylo statistické hodnocení provedeno.

	KET A	KET B
Počet KET	7	3
Věk	34,7 ± 4	36 ± 3,5
Počet transferů po KET	5	1
E/KET	2 ± 0,0	2 ± 0,0
Počet otěhotnění po ET	4	0
PR/cyklus	57% (4/7)	0
PR/ET	80% (4/5)	0
Počet P	4*	0

Tab. č. 9 Přehled IVF cyklů u žen s terapií LMWH a bez terapie po KET

Legenda: * jedno dítě zemřelo po porodu na sepsi

KET – přenos zamraženého embrya do dělohy

E/KET - průměrný počet transferovaných embryí

ET – přenos embrya do dělohy

PR/cyklus – zisk těhotenství na cyklus v %

PR/ET – zisk těhotenství na provedený embryotransfer v %

Počet P – počet porodů

KET A - soubor klientek s přenosem zamraženého embrya do dělohy s terapií LMWH

KET B – soubor klientek s přenosem zamraženého embrya do dělohy bez terapie

8 DISKUZE

8.1 VÝSKYT TROMBOFILNÍCH MARKERŮ

Je známo, že existuje vztah mezi dědičnou trombofilií a opakovanými těhotenskými ztrátami v různém stádiu těhotenství, ale není prokázáno, který typ trombofilie je hlavní příčinou nebo přesně jakým mechanismem tyto ztráty vznikají (3, 82). Mechanismus působení je vysvětlován hypotézami o tom, že narušená iniciální vaskularizace, která je charakterizována abnormální invazí maternálních cév syncytiotrofoblastem, může být ovlivňována lokálními mikrotrombózami na straně implantace. Další studie ukázaly, že trombofilie může ovlivňovat různé funkce trofoblastu – např. invazi, diferenciaci, proliferaci a hormonální funkci, proces decidualizace s postupným neúspěchem implantace (3, 83, 84). Těmito mechanismy může být vysvětlován také opakovaný neúspěch metod asistované reprodukce (3). V 90. letech byly publikovány práce zabývající se dopady trombofilií na opakované těhotenské ztráty. Ve většině těchto studií byly sledovány mutace Leiden, protrombin a MTHFR (3, 18, 25, 26, 45, 63, 94), další ukazují na vliv deficitu např. antitrombinu III, proteinu C nebo proteinu S (3, 25, 26, 72).

V tabulce č. 10 uvádíme záchyt trombofilních markerů ve sledovaných souborech a v tabulce č. 11 výskyt jednotlivých geneticky podmíněných trombofilních markerů u klientek přicházejících s problémy neplodnosti do CAR FNOL v porovnání s údaji v publikacích (3, 11, 18, 25, 26, 45, 63, 87, 93, 94). Pro porovnávání těchto souborů je velmi důležité, jak byla studie postavena a jaká vstupní kritéria pro zařazení byla použita. Určitý vliv na výsledky, zvláště získaných trombofilních markerů, může mít i čas, ve kterém byla vyšetření provedena, např. Grandone et al. (25) vyšetřoval více jak 2 měsíce po cyklu IVF. Na našem pracovišti byly trombofilní markery v celém souboru vyšetřovány ihned po vstupním pohovoru na základě pozitivní rodinné nebo porodnické anamnézy. U klientek s negativní anamnézou, po neúspěšném cyklu IVF a ET nebo s těhotenskou ztrátou po

spontánní koncepci či po léčbě metodami AR, vyšetření neprobíhalo v přesně definovaném odstupu od léčebného cyklu.

Podobně jako v našem sledovaném souboru ani Martinelli et al. 2003 (63) nenalezli průkazný rozdíl ve výskytu mutací FV, FII a MTHFR v souboru žen podstupujících léčbu IVF a kontrolní skupinou (n = 234) s porovnatelným výskytem předchozích těhotenských ztrát. V našem souboru jsme v porovnání s těmito autory zaznamenali 3x vyšší výskyt mutace MTHFR (60 %) a 2x častěji mutaci FV (10 %), podobně jako Hajšmanová et al. (31). Autoři v souboru 51 žen s předchozími opakovanými těhotenskými ztrátami zaznamenali výskyt polymorfizmu MTHFR v 53 % a mutace FV ve 14 %, navíc 35 % žen mělo kombinaci více trombofilních markerů (viz tab. 11). V našem souboru byl zaznamenán výskyt kombinací trombofilních markerů ve 28 % vyšetřovaných žen.

Další autoři např. Azem et al. (3) uváděli průkazně vyšší výskyt geneticky podmíněných markerů (44 %) u skupiny klientek s více opakovanými selháními IVF cyklů ve srovnání s kontrolní skupinou žen se spontánní koncepcí (18 %). Qublan et al. (82) zjistil vyšší přítomnost nejméně jednoho vrozeného nebo získaného trombofilního defektu u žen se třemi nebo více IVF neúspěchy.

	Výskyt trombofilních markerů (%)
Naše výsledky – soubor Z	90
Azem et al. 2004	44
Hellgren et al. 1995	60
Qublan et al. 2006	69
Coulam et al. 2006	74
Simur et al. 2009	63
Dzhandzhgava et al. 2005	90
Grandone et al. 1999	60
Tan JY 2002	50

Tab. č. 10 Celkový výskyt geneticky podmíněných trombofilních markerů v souboru center AR

Trombofilie	NV	AZ	GR	GRA	MA	HA
F V Leiden	10	7	24	4	5	14
F II	5	9	31	6	3	4
MTHFR	60	18	29	18	19	53

Tab. č. 11 Procentuální výskyt jednotlivých geneticky podmíněných trombofilních markerů v souboru center AR

Legenda: NV – naše výsledky – soubor Z (všechny klientky z centra AR)

AZ - Azem et al. (3)

GR - Grandone et al. (25)

GRA - Grandone et al. (26)

MA - Martinelli et al. (63)

HA – Hajšmanová et al. (31)

Podobné výsledky popsali i Hellgren et al. (32), Simur et al. (87) nebo Grandone et al. (26). V našem souboru byl zaznamenán dvojnásobný výskyt trombofilních markerů než uvádí Azem et al. (3). Srovnatelné výsledky s naší studií popisuje Dzhandzhgava et al. (18), kteří zjistili průkazně vyšší výskyt trombofilii v souboru žen s nevysvětlitelnou příčinou neplodnosti (90 % pozitivních na trombofilie), se skupinou se selháním léčby (30 %) a kontrolní skupinou těhotných žen (26 %). O něco nižší výskyt zaznamenali Coulam et al. (11) u žen s opakovaným implantačním selháním (74 %) ve srovnání s 20 % u kontrol.

Qublan et al. (82) prokázali průkazně vyšší výskyt trombofilních markerů ve skupině žen se 3 a více IVF selháními (69 %) v porovnání se skupinou pacientek těhotných po prvním cyklu IVF (26 %) a skupinou žen se spontánním otěhotněním (25 %). Podobně i při hodnocení výskytu kombinace dvou a více trombofilních faktorů byly zaznamenány signifikantně vyšší hodnoty v souboru klientek se selháním léčby metodou IVF (36 % vs. 4 % vs. 3 %).

Grandone et al. (25) vyšetřovali u klientek, více jak 2 měsíce po IVF cyklu, deficit antitrombinu, proteinu C a S, antifosfolipidové a antikardiolipinové protilátky, FV, FII, MTHFR a hladinu homocysteinu. Pouze u jedné ženy byl zjištěn FV Leiden společně s deficitem proteinu C, u jedné byl potvrzen antifosfolipidový syndrom a dvě měly hyperhomocysteinémií. Autoři dokumentovali celkem čtyři případy TEN u 305 klientek v 747 cyklech IVF a ET (0,5%).

Některé publikace souhlasí se závěry Grandona et al. (27), kteří dávali do souvislosti selhání IVF s vrozeným výskytem mutace FV Leiden a protrombinových genů. Baré et al. (4) popsali 1,5krát vyšší riziko u žen se dvěma a více potraty nebo problémy s plodností a 2,5krát vyšší riziko pro nosiče Leidenské mutace než pro kontrolní skupinu.

Naopak Simur et al. (87) neprokázali žádnou spojitost mezi opakovaným IVF selháním a trombofilními faktory (FV Leiden, protrombin a mutace MTHFR). V naší studii bylo 10 % žen s Leidenskou mutací. Téměř 2,5krát vyšší výskyt FV popisuje Grandone et al. (28), Bokareva et al. (6) zjistili ve 46 % APC rezistenci a Leidenskou mutaci u pacientek s trombózou během gravidity. Hellgren et al. (32) popsali mutace FV dokonce až v 60 %. Naopak Lindqvist et al. (57) prováděli vyšetření 2480 těhotných žen ve Švédsku. V tomto souboru nenašli výskyt FV mutace a APC rezistence, ale zaznamenali 8x vyšší výskyt těchto mutací u žen s perinatálním úmrtím.

V našem souboru jsme zjistili mutaci FII v 5 %, podobně jako Ivanov et al. (45). Autoři porovnávali výskyt mutace FII v souboru žen se selháním implantace a žen bez porodních komplikací. Zjistili neprůkazně vyšší výskyt této mutace ve zkoumaném souboru (6 % vs. 3 %).

Stále je diskutován vliv polymorfismu MTHFR na opakované těhotenské ztráty. Uvádí se, že zvýšená hladina homocysteinu představuje rizikový faktor ztráty v časném stádiu těhotenství, podobně jako homozygotní mutace pro MTHFR (3). Grandone et al. (25) dávali do souvislosti s možnými trombotickými příhodami při stimulaci právě věk (≥ 39 let) a hladinu homocysteinu, která byla u těchto pacientek nad 97,5 percentilem. Riziko trombofilie během IVF je pro tyto ženy průkazně vyšší (25). V další práci Grandone et al. (28) prokázali u 29 % žen homozygotní polymorfismus MTHFR oproti 16 % u kontrol.

V naší studii se polymorfismus MTHFR (homo i heterozygotní) vyskytovala u 60 % žen podobně jako v práci Tsanadis et al. (94) nebo Hajšmanová et al. (31). Autoři sledo-

vali mutaci MTHFR u pacientek s výskytem PCOS, neprokázali však žádnou spojitost (60 % vs. 56 % u kontrolní skupiny). Srovnatelný výskyt MTHFR byl popsán i Ivanovem et al. (45) při hodnocení žen se selháním implantace a zdravých těhotných.

PAI-1 je velmi účinný při zpomalování fibrinolýzy a jeho vysoká hladina představuje největší riziko potratu. Kromě hypofibrinolýzy ovlivňuje PAI-1 i protrombotický efekt trombofilie (94). Tsanadis et al. (94) dávali do souvislosti inzulinem způsobenou zvýšenou hladinu PAI-1 u žen s PCOS. Tyto ženy, které byly alespoň jednou těhotné, mají daleko větší predispozici k dědičné hypofibrinolýze spojené s výskytem hetero nebo homozygotního PAI 1.

Coulam et al. (11) popsali průkazně vyšší výskyt mutací PAI u žen se selháním implantace po IVF a ET oproti výskytu v kontrolní skupině ($p = 0,007$). V našem souboru byla mutace PAI zjištěna u 77 % klientek. Nezaznamenali jsme průkazný rozdíl v souboru klientek z Centra asistované reprodukce s problémem neplodnosti a infertility ve srovnání se skupinou klientek následně podstupujících IVF a ET. Zjistili jsme však statisticky průkazný rozdíl v počtu zjištěných mutací PAI v heterozygotním ($p = 0,027$) a homozygotním stavu ($p = 0,042$) u žen, které podstoupily IVF s podporou LMWH oproti ženám bez zajištění.

Podobné výsledky uvádí také např. Dzhandzhgava et al. (18). Mutace PAI-1 byla popsána u 69 % žen se selháním IVF, ve 35 % se vyskytovala u klientek těhotných po IVF, zatím co v kontrolních souborech byl výskyt 8 - 10 %. U pacientek podstupujících IVF byla aplikována antibiotická profylaxe, která snižuje nejen potratovost, ale také riziko rozvoje růstové retardace, předčasného porodu a preeklampsie. V této skupině žen bylo dosaženo 36 % těhotenství (20 žen z 55).

Výskytem dalších trombofilních markerů se zabývalo méně autorů. např. Grandone et al. (26) zaznamenali výskyt deficitu proteinu C u 0,3 % sledovaných žen. V naší studii jsme zaznamenali dokonce 10% výskyt deficitu proteinu C. Spina et al. (89) publikovali výsledky evropské multicentrické studie EPCOT, která prokázala signifikantní vzestup rizika ztráty plodu, zejména mrtvorozenosti, v korelaci s vrozenými deficity antitrombinu, proteinem C a S. Zvýšené riziko ztráty plodu v souvislosti s těmito defekty může vycházet z uteroplacetrární nedostatečnosti. Azem et al. (3) zaznamenali v souboru klientek, u kte-

rých došlo k selhání IVF nejméně čtyřikrát, deficit proteinu C v 9 %, v kontrolní skupině se s tímto deficitem nevyskytovala žádná žena. Ti samí autoři (3) dávali také do souvislosti deficit proteinu S a věk, kdy hladina proteinu S vzrůstá společně s věkem. V našem souboru jsme zaznamenali vyšší výskyt deficitu proteinu S (6 %) v porovnání s Grandonem et al. (26), kteří uvádí deficit u 2,3 % žen.

Deficit antitrombinu zaznamenali Grandone et al. (26) u 2,3 % zkoumaných žen, podobně jako my (2 %). Hajšmanová et al. (31) ve své práci popsali těhotenskou ztrátu ve 21. týdnu u klientky po IVF s deficitem antitrombinu 40 %.

Deficit plazminogenu byl vyhodnocen pouze v naší studii a byl zaznamenán pouze u 8 % vyšetřovaných žen. V žádné z uvedených publikací nebyl význam deficitu plazminogenu diskutován.

8.2 Vliv podávání LMWH na výsledky léčby IVF a ET

Poruchy koagulace (trombofilie) jsou častou příčinou opakovaných potratů a pravděpodobně i opakovaných implantačních selhání. Také samo těhotenství indukuje fyziologicky hyperkoagulační stav, který může být podpořen vrozenou nebo získanou trombofilií. V těchto souvislostech je z gynekologie a porodnictví znám prospěch antikoagulační léčby v době těhotenství a šestinedělí. Těhotným, s různými stupni rizika, je podávána profylaktická dávka aspirinu nebo heparinu. Profylaktické dávky heparinu nemají vliv pouze antikoagulační, ale podílí se i na adhezi blastocysty do endometriálního epitelu a následně na invazi. Závěry konference American College of Chest Physicians o přínosnosti antitrombotické léčby u žen s opakovanými těhotenskými ztrátami jsou kontroverzní (31). Feedler et al. (22) prokázali, že prodloužená léčba heparinem (alespoň 14 dní) zvyšuje úspěšnost otěhotnění, zatímco kratší heparinové protokoly nejsou efektivní.

Podobně jako v našem souboru, také Hajšmanová et al. (31) ve své práci potvrdili přínos podávání LMWH. V souboru 51 žen s opakovanými těhotenskými ztrátami (AB 7. –

12. týden, IUGR, GEU atd.), kterým byl podáván LMWH v průměru 36 týdnů, popsali pouze 4 těhotenské ztráty. V jednom případě (21.t.) se jednalo o klientku s těžkým vrozeným deficitem antitrombinu (aktivita 40 %), u které podávání LMWH neúčinkuje. Další ztráty byly např. v souvislosti s rozvojem těžkého OHSS (9.t.), nálezem chromozomální aberace (21.t.) a IUGR (31.t. s následným úmrtím plodu). Zbylé pacientky porodily bez závažných komplikací během těhotenství nebo šestinedělí. LMWH byl ženám podstupující léčbu metodami AR podáván od inseminace nebo embryotransferu až do porodu a 10 dnů po porodu, pokud prodělaly TEN nebo měly vrozenou trombofilní dispozici až do konce šestinedělí. U žen s antifosfolipidovým syndromem byl navíc podáván Prednison a kyselina acetylsalicylová.

Také v našem sledovaném souboru byla zahájena profylaxe (Fraxiparine 0,3 ml/den) v závislosti na výsledcích trombofilních vyšetření, již během stimulace, kdy suprafyziologicky stoupají hladiny estrogenů, nebo od podávání gestagenů v substituci. U klientek s negativním nálezem trombofilií a těhotenskými ztrátami, byla profylaxe zahájena po pozitivním těhotenském testu. Tan et al. (93) prokázali prospěšný vliv LMWH na průběh těhotenství s prokázanou APC rezistencí. Úspěšnost pracoviště CAR FNOL se pohybuje okolo 30 % na cyklus a okolo 40 % na embryotransfer. Z tohoto pohledu dosažené výsledky v souboru s profylaktickým podáváním LMWH (41 % na cyklus vs. 55 % na embryotransfer) se jeví jako velmi dobré, zvláště když si uvědomíme, že tyto klientky mají za sebou opakované neúspěchy IVF nebo těhotenské ztráty. Prvotrimestrální ztráty byly v obou skupinách srovnatelné (17% a 15 %). Z dosažených 29 těhotenství v souboru s podáváním LMWH skončily 4 gravidity spontánním potratem do 12. týdne a jedna v 16. týdnu v souvislosti s OHSS. V souboru bez terapie bylo dosaženo 13 těhotenství, jedno těhotenství bylo mimoděložní a dvě skončila těhotenskou ztrátou do 12. týdne.

V souboru s profylaxí LMWH již 14 těhotenství skončilo porodem, dalších 10 stále probíhá. V tomto souboru zemřelo po porodu jedno dvojče pro vrozenou vývojovou vadu dýchacích cest. Ve skupině bez terapie 9 těhotenství skončilo porodem, jedno těhotenství skončilo porodem mrtvého novorozence ve 31. týdnu bez známek vrozené vývojové vady, jedno stále probíhá.

Soubor KET je velmi malý a proto je jeho hodnocení zatíženo velkou chybou. Přesto je zajímavé, že v souboru bez profylaxe nebylo dosaženo žádného těhotenství. Všechna čtyři dosažená těhotenství skončila porodem, bohužel i v této skupině jedno dítě zemřelo na sepsi po předčasném porodu ve 31. týdnu pro IUGR.

Brenner et al. (8) hodnotili účinnost a bezpečnost aplikace LMWH (enoxaparin) u 50 žen s těhotenskými ztrátami a zjištěnou trombózi (alespoň jeden marker nebo kombinace více markerů). LMWH byl aplikován v průběhu těhotenství a 4 týdny po porodu, ženám s antifosfolipidovým syndromem byl navíc podáván aspirin. Porodem živého plodu skončilo průkazně více těhotenství v souboru s profylaxí (75 % vs. 20 %). Během léčby LMWH byla zaznamenána pouze jedna trombóza a jedno krvácení. Podobně i Pabinger (72) popsal průkazně více úspěšně dokončených těhotenství v souboru žen léčených heparinem (86 % vs. 29 % kontrol).

Většina autorů ale připouští, že by měly být provedeny další velké kontrolované randomizované studie, které by prokázaly pozitivní efekt heparinu na výsledek těhotenství u žen s předchozími ztrátami těhotenství s a bez známé trombofilie (např. Tan, Pabinger). Dlouhodobé podávání nízkomolekulárního heparinu umožňuje úspěšné dokončení těhotenství, ale nese s sebou riziko možných nežádoucích účinků pro plod i matku. A to i přesto, že neprochází placentární bariérou ani se nevylučuje do mateřského mléka (31).

Qublan et al. (83) prokázali průkazně vyšší implantaci v souboru s profylaktickým podáváním LMWH (21 %) v porovnání se skupinou, které podávali placebo (6 %). Byl zaznamenán i průkazně vyšší počet živě narozených dětí (24 % vs. 2 %). Těhotenské ztráty byly průkazně vyšší u skupiny léčené placebem.

Hajšmanová et al. (31) při hodnocení dlouhodobého podávání LMWH neprokázali negativní vliv na novorozence. Hmotnost novorozenců se významně nelišila od novorozenců matek, které LMWH nedostávaly. Nezaznamenali ani žádné kožní či slizniční krvácivé projevy, ani HIT. Při vyšetření kostní denzity v souboru žen s podáváním LMWH (provedeného za 6 – 24 týdnů po porodu, k vyšetření se dostavilo pouze 17 žen) u 11 zjistili kostní denzitu ve fyziologickém pásmu, u 5 žen byla zjištěna osteopenie a pouze u jedné ženy byla zjištěna osteoporóza.

Také Qublan et al. (83) prokázali, že oba sledované soubory (s a bez podávání LMWH) se průkazně nelišily ve frekvenci těhotenských a porodnických komplikací, nebyl prokázán průkazný rozdíl v počtu předčasných porodů nebo výskytu IUGR. Přesto bylo v souboru s LMWH profylaxí popsáno krvácení, trombocytopenie, alergická reakce, abrupce placenty, v souboru s placebem se naopak vyskytly případy preeklampsie.

Přes popsané možné problémy a komplikace většina prací ukazuje, že LMWH je bezpečný a efektivní v trombotrofylaxi pro léčbu žen s trombofiliemi a opakovanými neúspěchy IVF a ET. Počet těhotenství, implantace a počet živě narozených dětí se při této léčbě signifikantně zvýšil (63, 84).

Vyšetřování trombofilních markerů je tedy vhodné u žen s opakovanými těhotenskými ztrátami, pozitivní rodinnou nebo porodnickou anamnézou. Z pohledu léčby metodami AR by měly být do anamnézy zavzaty i výskyt PCOS nebo OHSS. Při pozitivním nálezu sledovaných kritérií by měla být zvažována vhodná antitrombotická léčba (3, 31, 61). Arya et al. (2) a Qublan et al. (82) doporučují vyšetření na dědičné a získané trombofilie před léčbou metodou IVF.

S ohledem na dosažené výsledky v cyklech bez podpory LMWH se v budoucnu budeme zaměřovat hlavně na vliv PAI (v homo i hetero zygotním stavu) a možnosti snížení negativního vlivu na zisk a výsledek těhotenství po IVF a ET.

9 ZÁVĚR

1. Výsledky naší studie odhalily vysokou prevalenci geneticky podmíněných trombofilních markerů u žen, vyšetřovaných v centru asistované reprodukce v porovnání s běžným výskytem v populaci.

a) Přítomnost mutace genů v hetero- nebo homozygotním stavu u všech vyšetřovaných klientek byla FV Leiden R506Q (10%), Protrombin G 20210 (5%), MTHFR C677T (60%), PAI 1G4/G5 (77%).

Nebyl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl mezi souborem žen, které podstoupily vyšetření v centru AR a souborem žen, které podstoupily IVF.

b) Zaznamenali jsme výskyt deficitu Proteinu C (10%), Proteinu S (6%), Plazminogenu (8%) a Antitrombinu III (2%). Pro malou velikost souboru se zde statistické hodnocení neprovádělo.

2. Prokázali jsme, že preventivní podání nízkomolekulárního heparinu má pozitivní efekt na úspěšnost léčby metodami IVF a ET, ve srovnání se skupinou klientek bez profylaxe.

a) Počet získaných těhotenství (PR/cyklus) byl průkazně vyšší u skupiny s terapií LMWH ($p = 0,0016$), ve srovnání se skupinou bez terapie.

b) Zisk těhotenství na provedený embryotransfer (PR/ET) byl ve skupině s profylaxí opět průkazně vyšší ($p = 0,0053$), než tomu bylo u skupiny bez profylaxe.

c) Neprokázali jsme průkazný rozdíl v počtu těhotenských ztrát.

Výsledek těhotenství z hlediska:

- těhotenské ztráty (AB) byl v porovnávaných skupinách srovnatelný.
- počtu probíhajících těhotenství byl ve skupině s podporou LMWH 10krát vyšší.
- počtu porodů u klientek s terapií dosahoval 1,6krát vyšších hodnot ve srovnání s kontrolní skupinou.

U klientek, které podstupovaly přenos zamražených a rozmražených embryí (KET) bylo doženo těhotenství a porodu pouze ve skupině s podporou LMWH. Vzhledem k velikosti souboru jsme statistické hodnocení neprováděli.

10 SOUHRN

V posledních letech se stále častěji dává do souvislosti výskyt dědičně podmíněných trombofilií a jejich možný vliv na opakovaný neúspěch léčby neplodnosti metodami IVF a ET. Přesný mechanismus působení trombofilních faktorů na selhání implantace nebo časnou ztrátu těhotenství je stále nejasný. Ukazuje se však, že podávání nízkomolekulárního heparinu, u klientek se zjištěnými pozitivními trombofilními markery, může ovlivnit výsledek léčby.

Cíle práce:

Cílem této práce bylo zjistit frekvenci výskytu trombofilních markerů u klientek Centra asistované reprodukce podstupujících léčbu metodou IVF a ET. U klientek s opakovaným selháním cyklů IVF a ET nebo se zjištěnými geneticky podmíněnými trombofilními markery a opakovanými těhotenskými ztrátami posoudit vliv podávání nízkomolekulárního heparinu na výsledky další léčby.

Materiál a metodika:

Do sledovaného souboru bylo zařazeno 216 žen, u kterých jsme vyhodnotili výskyt přítomnosti mutace genů v hetero- nebo homozygotním stavu pro FV Leiden R506Q, Protrombin G 20210, MTHFR C677T, PAI 1G4/G5 a výskyt deficitu Proteinu C, Proteinu S, Plazminogenu a Antitrombinu III.

Soubor klientek podstupujících IVF a ET byl rozdělen do dvou skupin. Některé klientky podstoupily léčebný cyklus IVF a ET resp. KET opakovaně. Do skupiny A (n = 64 cyklů) byly zařazeny cykly klientek se zjištěnou mutací závažných trombofilních markerů (FV Leiden, Protrombin G 20210), s výskytem opakovaných těhotenských ztrát nebo opakovaných selhání cyklů IVF a ET. Těmto klientkám byl v rámci stimulace před IVF a ET nebo substituce před přenosem rozmražených embryí (KET) podáván nízkomolekulární heparin (LMWH, Fraxiparine 0,3 ml/ 24 hod.).

Skupinu B (n = 69 cyklů) tvořily cykly klientek, které podstoupily IVF bez zjištěných závažných trombofilních stavů a tedy bez zabezpečení LMWH.

Přenos zamražených a rozmražených embryí (KET) podstoupilo 10 klientek, u 7 z nich byl podáván LMWH a 3 ženy byly bez této terapie.

V obou souborech jsme hodnotili a porovnávali vstupní a výstupní parametry. Do **vstupních** parametrů jsme zařadili průměrný věk, počet oplozených oocytů (Fertility rate, FR v %), počet dále se vyvíjejících embryí, počet zrušených cyklů, počet provedených embryotransferů a průměrný počet přenášených embryí. Jako **výstupní** parametry jsme hodnotili: počet získaných těhotenství vztažených na cyklus (PR/cyklus) nebo přenos embryí, počet těhotenských ztrát (AB), počet probíhajících těhotenství a těhotenství ukončených porodem.

Výsledky:

Výskyt trombofilních markerů:

V celém sledovaném souboru byla nejčastěji nalezena mutace PAI u 77 % klientek (51 % v hetero- a 26 % v homozygotním stavu) a mutace pro gen MTHFR u 58 % klientek (54 % v hetero- a 4 % v homozygotním stavu). Mutace pro FV Leiden byla zjištěna u 10 % klientek (9 % hetero-a 1 % homozygotní mutace) a mutace genu pro Protrombin byla prokázána pouze v heterozygotním stavu u 5 % vyšetřovaných klientek. V porovnávaných souborech nebyl nalezen průkazný rozdíl.

Deficity proteinů byly také v obou sledovaných souborech obdobné. Deficit proteinu C byl prokázán u 10 % (vs. soubor IVF 8 %), proteinu S u 6 % (vs. 5 %), a antitrombinu u 2 % (vs. 4 %). Deficit plazminogenu byl v obou souborech u 8 % klientek. Pro malou velikost souboru se zde statistické hodnocení neprovádělo.

Vliv podávání LMWH na výsledky léčby IVF a ET:

V obou souborech jsme hodnotili vstupní a výstupní parametry.

Vstupní parametry se v porovnávaných souborech ničím nelišily

V souboru klientek, kterým jsme podávali LMWH, bylo dosaženo více klinických těhotenství (29 vs. 13), a proto i průkazně vyšší PR/cyklus ($p = 0,0016$) nebo PR/ET ($p = 0,0053$). Počet těhotenských ztrát byl srovnatelný v obou souborech. Dosud bylo porodem ukončeno 14 těhotenství v souboru s léčbou LMWH a 9 těhotenství v souboru bez léčby.

Žádná klientka neotěhotněla ve skupině bez zajištění LMWH, zatím co ve druhé skupině byla potvrzena 4 klinická těhotenství, která byla ukončena porodem. Pro malou velikost souboru se zde statistické hodnocení neprovádělo.

Závěr:

Ve sledovaném souboru jsme zjistili vyšší výskyt sledovaných geneticky podmíněných trombofilních markerů než je udáváno v obecné populaci. Dále jsme v souboru klientek léčených metodami IVF a ET, s opakovaným selháním léčby, s opakovanými těhotenskými ztrátami a zjištěnými geneticky podmíněnými trombofilními markery, zaznamenali příznivý vliv podávání nízkomolekulárního heparinu na zisk a výsledek těhotenství.

Domníváme se, že screening na vybrané trombofilní markery a podávání LMWH při pozitivitě vybraných markerů je u těchto klientek žádoucí. Pro větší efekt by bylo vhodné uvažovat o spolupráci s hematology a vytvoření guidlinů.

11 SUMMARY

In recent years increasingly links the incidence of hereditary thrombophilias and their possible effects on repeated failure of IVF fertility treatment methods and ET. The exact mechanism of action of thrombophilic factors in the failure of implantation or early pregnancy loss is still unclear. However, it appears that administration of low molecular weight heparin in clients with identified positive thrombophilic markers may influence the outcome of treatment.

Objectives of the work:

The aim of this study was to determine the frequency of thrombophilic markers in clients of The Center of the Assisted Reproduction, who underwent the treatment using the method of IVF and ET, and to criticize the effect of administration of low molecular weight heparin to the results of further treatment in clients with repeated failure of IVF and ET cycles or detected genetically-conditioned thrombophilic markers and repeated pregnancy loss.

Materials and methods:

The examined group included 216 women, in which we evaluated the incidence of mutations of genes in the presence of hetero-or homozygous state for FV Leiden, prothrombin G 20210, MTHFR C677T, PAI 1G4/G5 and the incidence of deficiency of protein C, protein S, and plasminogen and antithrombin III.

The set of clients undergoing IVF and ET was divided into two groups. Some clients underwent the treatment cycle by IVF and ET, respectively KET, repeatedly. In group A (n = 64 cycles) were included cycles of clients with identified severe mutations of thrombophilic markers (FV Leiden, prothrombin G 20210), with an incidence of recurrent pregnancy loss or repeated failure of cycles of IVF and ET. These clients received low molecular weight heparin (LMWH, Fraxiparine 0.3 ml / 24 hr) within the stimulation before the IVF and ET, or within the substitution before the transfer of thawed embryos (KET).

Group B (n = 69 cycles) consisted of clients who have undergone IVF without positive serious thrombophilic states, and therefore with no security of LMWH.

Transmission of frozen and thawed embryos (KET) underwent 10 clients, 7 of them used LMWH, 3 women were without the therapy.

In both groups there were evaluated and compared the input and output parameters. The input parameters included the average age, the number of fertilized oocytes (Fertility rate, FR in%), the number of further expanding embryos, the number of canceled cycles, the number of embryotransfers performed and the average number of embryos transferred. As output parameters, we verified: the relative number of pregnancies obtained per cycle (PR per cycle) or embryo transfer, the number of pregnancy loss (AB), the number of ongoing pregnancies and pregnancies terminated after-versa.

Results:

The incidence of thrombophilia markers:

In the set of samples the most frequently found mutation is the mutation of PAI in 77% of clients (51% in hetero-and 26% in the homozygous state), and mutation of MTHFR gene in 58% of clients (54% in hetero-and 4% in the homozygous state). Mutation of FV Leiden was found in 10% of clients (9% of hetero-and homozygous mutation of 1%) and prothrombin gene mutation has only been demonstrated in the heterozygous state in 5% of clients tested. In the both groups of the patients was not found a significant difference.

The deficiencies of proteins in the both observed sets were also similar. The deficiency of protein C was demonstrated in 10% (vs. file IVF 8%), the deficiency of protein S in 6% (vs. 5%), and the deficiency of antithrombin in 2% (vs. 4%). Plasminogen deficiency in both groups was found in 8% of clients. For a small size of the examined file the statistical analysis was not performed.

The effect of administration of LMWH at therapeutic results of IVF and ET:

In both groups we evaluated the input and output parameters.

Input parameters in the compared sets did not differ. In the set of clients to whom we gave LMWH has been made more clinical pregnancies (29 vs. 13), and therefore a higher PR per cycle ($p = 0,0016$) or PR / ET ($p = 0.0053$). The number of fetal loss was comparable in both groups. Till this time there were 14 pregnancies completed by the childbirth in the group with LMWH therapy, and 9 pregnancies in the population with no treatment.

No client become pregnant in the group without collateral LMWH, while in the second group there were four clinical pregnancies confirmed and finished by the childbirth. For a small size of the examined file the statistical analysis was not performed.

Conclusion

:

In the examined file we found a higher incidence of monitored hereditary-conditioned thrombophilic markers than is expressed in the general population. Furthermore, in the group of clients treated by methods of IVF and embryo transfer, with repeated failure of treatment, repeated pregnancy loss, and found genetically conditioned thrombophilic markers, we recorded a positive impact on the administration of low molecular weight heparin gain at outcome and the reset of pregnancy.

We believe that screening of selected thrombophilic markers and administration of LMWH in the positivity of specific markers for these clients is desirable. For greater the effect it would be suitable to think over the cooperation with the hematologists and to create a guideline.

12 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ALFIREVIC Z. et al. *How strong ist the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcame? A systematic review.* Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2002, 10, s. 6 - 14.
2. ARYA R. et al. *Internal jugular vein thrombosis after assisted conception therapy.* Haematologica, 2001, 115, s. 153 – 155.
3. AZEM F. et al. *Increased rates of trombophilia in women with repeated IVF failures.* Human Reproduction, 2004, 19, s. 368 – 370.
4. BARÉ SN. et al. *Factor V Leiden as a risk factor for miscarriage and reduced fertility.* Obstetrics & Gynekology, 2000, 40, s. 186 – 190.
5. BINDER T. et al. *Hematologické nemoci a poruchy v porodnictví a gynekologii.* Praha: TRITON s.r.o., 2004, ISBN 80-7254-540.
6. BOKAREWA M. I. et al. *Arg 506-Gln mutation in factor V and risk of thrombosis during pregnancy.* Haematologica, 1996, 92, s. 473 – 476.
7. BRENNER B. et al. *Gestational outcome in thrombophilic women with recurrent pregnancy loss treated be enoxaparin.* Thrombosis Haemostasis, 2000, 83, s. 693 - 7.
8. BRENNER B. et al. *Inherited thrombophilia and pregnancy loss.* Thrombosis Haemostasis, 1999, 82, s. 634 – 640.
9. BULÍKOVÁ A. et al. *Antifosfolipidový syndrom.* Interní medicína pro praxi, 2006, 5, s. 240 -243.
10. CITTERBART K. *Gynekologie.* Praha: Galén, 2001, s. 243, ISBN 80-7262-094-0.
11. COULAM CB. et al. *Multiple thrombophilic gene mutations are risk factors for implantát on failure.* Reproductive biomedicine online, 2006, 12, s. 322 - 7.
12. cs.wikipedia.org
13. ČECH E. et al. *Porodnictví.* Praha: Grada Publisching s.r.o., 1999, s. 241 - 248, ISBN 80-7169-355-3

14. DIAMANTI – KANDARAKIS E. et al. *Therapeutic effects of metformin in insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome*. 1998, European Journal of Endocrinology, 138, s. 269 – 274.
15. DIRCKX K. et al. *Does low- dose aspirin improve pregnancy rate in IVF/ICSI? A randomized double – blind placebo controlled trial*. Human Reproduction, 2009, 24, s. 856 – 860.
16. DULÍČEK P. et al. *Návrh antitrombotické profylaxe a péče o trombofilní stavy v gynekologii a porodnictví*. Vnitřní Lékařství, 2006, 52, s. 58 – 62.
17. DULITZKY M. et al. *Increased prevalence of thrombophilia among women with severe ovarian hyperstimulation syndrome*. Fertility and Sterility, 2002, 77, s. 463 - 467.
18. DZHANDZHGAVA ZHG. et al. *IVF failures: maternal thrombophilia as a possible cause*. Georgian Medical News, 2005, 124 - 125, s. 23 - 6.
19. El HADDAD et al 2003 *Trombóza vnitřní jugulární žíly u pacientky s ovariálním hyperstimulačním syndromem*. Česká Gynekologie, 2003, 68, s. 114 – 117.
20. FÁBREGUES F. et al. *Prevalence of thrombophilia in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome and cost-effectiveness of screening*. Fertility and Sterility, 2004, 81, s. 989 - 95.
21. FEJFAR Z. et al. *Klinická fyziologie krevního oběhu - třetí přepracované a rozšířené vydání*. Praha: Galén, 2002, ISBN 80-7262-130-0.
22. FIEDLER K. et al. *Effectivity of heparin in assisted reproduction*. European Journal of Medical Research, 2004, 30, s. 207 - 14.
23. GERHARDT A. et al. *Prothrombin and factor V mutation in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium*. The New England Journal of Medicine, 2000, 342, s. 374 – 380.
24. GÖPEL W. ET AL. *Selection pressure for the factor-V-Leiden mutation and embryo implantation*. Lancet 2001, 13; 358 (9289), s. 1238 - 9.
25. GRANDONE E. et al. *Age and homocysteine plasma levels are risk factors for thrombotic complications after ovaria stimulation*. Human Reproduction, 2004, 19, s. 1796 – 1799.

26. GRANDONE E. et al. *Genetic susceptibility to pregnancy-related venous thromboembolism: roles of factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations*. *Obstetrics & Gynecology*, 1999, 181, s. 1040 - 1.
27. GRANDONE E. et al. *Inherited thrombophilia and in vitro fertilization implantation failure*. *Fertility and Sterility*, 2001, 76, s. 201 - 202.
28. GRANDONE E. et al. *Prothrombotic genetic risk factors and the occurrence of gestational hypertension with or without proteinuria*. *Thrombosis Haemostasis*, 1999, 81, s. 349 - 52.
29. GRIS J. CH. *Thrombophilia and pregnancy loss: cause or association*. *Thrombosis Research*, 2009, 2, s. 105 - 110.
30. HAAPSAMO M. et al. *Low-dose aspirin and uterine haemodynamics on the day of embryo transfer in women undergoing IVF/ICSI: a randomized, placebo-controlled, double – blind study*. *Human Reproduction*, 2009, 24, s. 861 – 866.
31. HAJŠMANOVÁ Z. et al. *Průběh těhotenství při dlouhodobém podávání nízkomolekulárního heparinu pro opakované těhotenské ztráty*. *Česká Gynekologie*, 2008, 73, 5, s. 278 – 283.
32. HELLGREN et al. *Resistance to activated protein C as a basis for venous thromboembolism associated with pregnancy and oral contraceptives*. *Obstetrics & Gynecology*, 1995, 173, s. 210 - 213.
33. HLUŠÍ A. et al. *Antifosfolipidový syndrom*. *Interní medicína pro praxi*, 2003, 9, s. 434 - 436.
34. <http://194.213.51.6/olm/soubsys/paipol.pdf>
35. http://www.address.cz/data/www.sanquis.cz/articles/files/72_komplikace-v-sestinedeli.pdf
36. <http://www.crmzlin.cz/page/1781.co-je-neplodnost-a-jeji-priciny/>
37. <http://www.crmzlin.cz/page/1892.ceniky-asistovane-reprodukce/>
38. <http://www.fertilizace.cz/lecba-neplodnosti.html>
39. <http://www.galenus.cz/antifosfolipidovy-syndrom.php>

40. <http://www.lfg-brno.cz/trombofilie-roz%C5%A1%C3%AD%C5%99en%C3%AD1.htm>
41. http://www.porodnici.cz/dokumenty/sos_trombofilie_a_tehotenstvi.ppt
42. <http://www.sanatoriumhelios.cz/index.php?lang=cs&menu=12&page=12366>
43. <http://www.stefajir.cz/?q=warfarin>
44. <http://www.zenska-neplodnost.cz/endometrioza>
45. IVANOV P. et al. *Risk of thrombophilia in carriers of thrombophilic genetic factors in unsuccessful assisted reproduction*. Akush Ginekol (Sofia), 2007, 46, s. 3 - 8.
46. JARVENPAA J. et al. *Evaluation of Factor V Leiden, Prothrombin and Methylene-tetrahydrofolate Reduktase Gene Mutation in Patients with severe Pregnancy Complications in Northern Finland*. Gynecologic and Obstetric Investigation, 2006, 1, 62, s. 28 – 32.
47. KESSLER P. *Antikoagulační léčba v těhotenství*. odd. hematologie a transfuziologie Nemocnice Pelhřimov, p.o.
48. KESSLER P. *Trombofilní stavy*. Interní medicína pro praxi 2006, 9, s. 374 – 379.
49. KLEPRLÍKOVÁ H. *Prognóza výsledku těhotenství z hladiny hCG u klientek po IVF a ET*. Bakalářská práce, Olomouc 2006.
50. KNOCHENHAUER E. S. et al. *Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study*. 1998, Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 83, s. 3078 – 3082.
51. KORYNTOVÁ D. *Sterilita pro porodní asistentky*. Moderní Babičství I., 2003, s. 6 – 13.
52. KRČOVÁ V. et al. *Komplikace dlouhodobé léčby heparinem v těhotenství*. Interní medicína pro praxi, 2003, 4, s. 199 – 201.
53. KRČOVÁ V. et al. *Výskyt trombofilních markerů u žen podstupujících léčbu neplodnosti metodou IVF a ET*. Sborník abstrakt 2. národní kongres ČSTH ČLS JEP 2008, s. 21 – 22, ISBN 978-80-254-3214-3.
54. KUDELA M. et al. *Základy gynekologie a porodnictví*. Olomouc: UP LF 2004, s. 265, ISBN 80-244-0837-6.

55. KVASNIČKA J. *Trombofilie a trombotické stavy v klinické praxi*. Praha: Grada Publisching a.s., 2003, ISBN 80-7169-993-4.
56. KVASNIČKA J. *Mechanismus účinku estrogenů v kardiovaskulárním systému*. Gynekolog, www.gyne.cz
57. LINDQVIST P. G. et al. *Factor V Q506 mutation (activated protein C resistance) associated with reduced intrapartum blood loss – a possible evolutionary selection mechanism*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 1998, 79, s. 69 – 73.
58. MACKŮ F. *Gynekologie*. Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2000, s. 272, ISBN 80–7184-294-X.
59. MADAR J. et al. *Asistovaná reprodukce v léčbě imunologicky podmíněných neplodností*. Česká Gynekologie 1999, 64, 4, s. 337 – 342.
60. MALÝ J. et al. *Trombóza a hemostáza*. Hradec Králové: HK CREDIT spol. s.r.o., 2005, ISBN 80-86780-20-1.
61. MÁRA M. et al. *Tromboembolické komplikace u pacientek z programu IVF – ET: Retrospektivní klinická studie*. Česká Gynekologie 2004, 69, 4, s. 312 – 316.
62. MAREK D. et al. *Ovariální hyperstimulační syndrom – soubor interních komplikací u gynekologických pacientek podstupujících in vitro fertilizaci*. Interní medicína pro praxi, 2003, 8, s. 389 – 392.
63. MARTINELLI I. et al. *Embryo implantation after assisted reproductive procedures and maternal thrombophilia*. Haematologica journal of hematology, 2003, 88, 7.
64. MATÝŠKOVÁ M. et al. *Hematologie pro zdravotní laboranty*. ID VZP Brno, 1999.
65. Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů (MKN-10)
66. NELSON S. M. *Prophylaxis of VTE in women – during assisted reproductive techniques*. Thrombosis Research, 2009, 3, s. 8 - 15.
67. NURK E. et al. *Factor V Leden, pregnancy complications and adverse outcomes: the Hordaland Homocysteine Study*. Oxford Journals Medicine, 2006, 99, s. 289 – 298.

68. OBORNÁ I. et al. *Improved pregnancy rate in IVF patients treated with prophylactic low molecular weight heparin (LMWH)*. Journal of Reproductive Immunology, 2009, 81, s. 171.
69. OBORNÁ I. et al. *Incidence of thrombophilic markers in women undergoing assisted reproduction (AR) treatment*. Human reproduction, 2009, 24, s. 181.
70. OBORNÁ I. et al. *Infertility treatment and thrombophilic markers*. Human Reproduction, 2009, 24, s. 147 - 148.
71. OŠŤÁDAL B. et al. *Patologická fyziologie srdce a cév*. Praha: UK v Praze Karolinum, 2003, ISBN 80-246-0597-x.
72. PABINGER I. *Thrombophilia and its impact on pregnancy*. Thrombosis Research, 2009, 3, s. 16 - 21.
73. PECKA M. *Laboratorní hematologie v přehledu - Fyziologie a patologie hemostázy*. Český Těšín: FINIDR s.r.o., 2004, ISBN 80-86682-03-x.
74. PENKA *Principy antitrombotické léčby*. Kardiologická revue, 2004, 4, s. 3-10.
75. PENKA M. et al. *Doporučené postupy antitrombotického zajištění těhotných podle rizika tromboembolické nemoci*, www.perinatologie.cz
76. POUL H. *Trombofilní stavy významné v patogenezi žilní tromboembolické nemoci*. Vnitřní Lékařství, 2006, 52, s. 17 – 25.
77. POUL H. *Trombofilní stavy významné v patogenezi žilní tromboembolické nemoci*. Vydáno u příležitosti XII. Pařížkových dní, 2006, s. 2 - 12.
78. PROCHÁZKA M. et al. *Tromboembolická nemoc v porodnictví*. Praktická gynekologie 2003, 6, s. 9 – 13.
79. PROCHÁZKA M. et al. *Trombofilní stavy v porodnictví – I. část*. Praktická gynekologie 2004, 4, s. 12 – 15.
80. PROCHÁZKA M. et al. *Trombofilní stavy v porodnictví – II. část*. Praktická gynekologie 2004, 6, s. 18 – 23.
81. PROCHÁZKA M. et al. *Trombotická nemoc a těhotenství*. Gynekolog, 1999, 2.
82. QUBLAN H. et al. *Acquired and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure*. Human Reproduction, 2006, 21, s. 2694 – 2698.

83. QUBLAN H. et al. *Low-molecular-weight heparin in the treatment of recurrent IVF-ET failure and thrombophilia: a prospective randomized placebo-controlled trial*. Human Fertility, 2008, 11, s. 246 – 253.
84. RODGER M. A. *Thrombophilia and placenta – mediated pregnancy complications: from the bench to bedside to policy*. Thrombosis Research, 2009, 2, s. 100 - 104.
85. ŘEŘÁBEK K. *Léčba neplodnosti: příčiny neplodnosti, metoda léčby, mimotělní oplodnění, zákony*. Praha: Grada, 2004, ISBN 80-247-1010-2.
86. SATTAR N. et al. Insulin-sensitizing agents in polycystic ovary syndrome. 1998, Lancet, 351, s. 305 – 307.
87. SIMUR A. et al. *Repeated in vitro Fertilization Failure and Its Relation with Trombophilia*. Gynecologic and Obstetetric Investigation, 2009, 67, s. 109 – 112.
88. SLAVÍK L. *Diagnostika trombofilních stavů*, Olomouc 2002.
89. SPINA V. et al. *The impact of the Factor V Leden mutation on pregnancy*. Human Reproduction, 2000, 6, s. 301 – 306.
90. SRP B. et al. *Koagulopatie – hlavní příčina mateřské úmrtnosti*. Česká Gynekologie, 66, 2001, s. 104 – 112.
91. STERN C. et al. *Antiphospholipid antibodies and coagulation defects in women with implantation failure after IVF and recurrent miscarriage*. Reproductive biomedicine online, 2006, 13, s. 29 - 37.
92. STUKKO P. et al. *Patients understanding of genetic susceptibility to thrombophilia in mainstream medicine: qualitative study on thrombophilia*. BMC Health Services Research, 2007, 12.
93. TAN JY. *Trombophilia in pregnancy*. Annals of the Academy of medicine Singapore, 2002, 31(3), s. 328 – 34.
94. TSANADIS G. et al. *Polycystic ovaria syndrome and thrombophilia*. Human Reproduction 2002, 17, s. 314 – 319.
95. VEECK L. et al. *An Atlas of Human Gametes and Conceptuses*. Parthenon Publishing Group, 1999, s. 215.
96. Věstník Ministerstva zdravotnictví, č. 1, leden 2002.

97. WEINTRAUB AY. et al. *Pregnancy complications in women with inherited thrombophilia*. *Obstetrics & Gynecology*, 2006, 7, s. 1 – 5.
98. WU O. et al. *Screening for thrombophilia in high – risk situation: systematic review and cost – effectiveness analysis. The trombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) study*. *Health Technology Assessment*, 2006, 10.
99. www.fnhk.cz
100. www.ifcor.cz/info.php
101. www.internimedicina
102. www.lfg.brno.cz/trombofilie.doc
103. www.trombofilie.estranky.cz
104. www.uzis.cz
105. ZOLLER B. et al. *Trombophilia as a multigenic disease*. *Haematologica*, 1999, 84, s. 59 – 70

V průběhu zpracovávání dat byly již průběžné výsledky naší práce publikovány nebo přednášeny:

Přednášky:

OBORNÁ I. et al. *Incidence of thrombophilic markers in women undergoing assisted reproduction treatment*. 3rd International Symposium on Women's Health Issues in Trombosis and Haemostasis, 2009, Prague, February 6-8, poster.

OBORNÁ I. et al. *In vitro fertilization treatment and trombophilia*. XV. Symposium českých reprodukčních imunologů s mezinárodní účastí, Ždár nad Sázavou 29.5. - 31.5.2009

OBORNÁ I. et al. *Infertility treatment and thrombophilic markers*. 25th ESHRE Annual Meeting, 28.6.- 1.7. 2009, Amsterdam, Holandsko, poster.

OBORNÁ I. et al. *Improved pregnancy rate in IVF patients treated with prophylactic low molecular weight heparin (LMWH)*. 7th ESRI, 16-21.9.2009, Marathon, Greece, poster.

Abstrakta:

OBORNÁ I. et al. *Improved pregnancy rate in IVF patients treated with prophylactic low molecular weight heparin (LMWH)*. Journal of Reproductive Immunology, 2009, 81, p. 171.

OBORNÁ I. et al. *Infertility treatment and thrombophilic markers*. Hum Reprod. 2009, Abstract book, Vol 24, p. 147-148.

13 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AB	AB ortions, rané těhotenské ztráty
AFS	A merican F ertility S ociety
AH	A ssisted H atching
APA	A nti P hospolipid A ntibodies (Antifosfolipidový syndrom)
APC	aktivovaný protein C (a ktivatied p rotein C)
APTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas (a ktivatied p rtial t romboplastin t ime)
AR	A sistovaná R eprodukce
ASA	kyselina acetylosalicylová
AT III	antitrombin III
cm	c entimetr
CUS	dopplerovská ultrasonografie hlubokého žilního systému
CMP	cévní m ozková p říhoda
dl	d ecilitr
DIC	syndrom d iseminované i ntravaskulární k oagulace (synonymum: trombohemoragický syndrom, spotřební koagulopatie, defibrinační syndrom)
DK	d olní k ončetiny
DM	d iabetes m ellitus
DVT	hluboká žilní trombóza (d eep v enous t hrombosis)
EPCR	dysfunkce receptoru pro protein C
f	1. pólóvé tělísko, které je tvořeno haploidní sadou chromozomů a malým

	obsahem cytoplasmy
F VIII	von Willebrandův faktor (vWF)
F XII	Hagemanův faktor
FBG	fibrinogen
FDP	štěpné produkty fibrinu (fibrin degradation produkt)
Fe	Feronat - železo
FNOL	Fakultní Nemocnice Olomouc
FR	Fertility Rate , poměr počtu oplozených oocytů a počtu získaných oocytů v %
FSH	folikulostimulační hormon
g	gram
G	Gravidita
GEU	Gravidita ExtraUterina , mimoděložní těhotenství
HAK	hormonální antikoncepce
hCG	human Chorionic Gonadotrophin , lidský těhotenský hormon
HDL	high density lipoprotein - lipoprotein o vysoké hustotě
HELLP syndrom	hemolysis-elevated liver enzymes-low platelet-syndrome
HIT	heparinem indukovaná trombocytopenie
hod.	hodina
ICSI	IntraCytoplasmic Sperm Injection
IGF-1	insulin like growth factor 1
INR	international normalized ratio
IU	International Unit , mezinárodní jednotka
IVF	soubor žen, které podstoupily léčbu IVF
IVF A	soubor klientek s terapií LMWH

IVF B	soubor klientek bez terapie
IVF a ET	In Vitro Fertilization and Embryo Transfer , oplození vyjádka mimo tělo ženy a přenos vzniklého embrya zpět do dělohy
j	jednotka
KET	KryoEmbryoTransfer , přenos zamraženého embrya do dělohy
KET A	soubor klientek s přenosem zamraženého embrya do dělohy s terapií LMWH
KET B	soubor klientek s přenosem zamraženého embrya do dělohy bez terapie
kg	kilogram
l	litr
LDL	Low density lipoproteid – lipoproteid o nízké hustotě
LFUP	Lékařská fakulta univerzita Palackého
LMWH	nízkomolekulární heparin (low molecular weight heparin)
LPT	Laboratorně Prokázané Trombofilie
MESA	Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration , metoda chirurgické aspirace spermií z nadvarlete
MESE	Microsurgical Epididymal Sperm Extraction , bioptická metoda k získání spermií z nadvarlete
μg	mikrogram
mg	miligram
ml	mililitr
mm	milimetr
MTHFR	metylentetrahydrofolátová reductáza
N 46	Mužská neplodnost (Azoospermie, Oligospermie)
N 97.0	Ženská neplodnost spojená s anovulací
N 97.1	Ženská neplodnost tubárního původu

N 97.2	Ženská neplodnost děložního původu
N 97.3	Ženská neplodnost cervikálního původu
N 97.4	Ženská neplodnost spojená s mužským faktorem
N 97.8	Ženská neplodnost jiného původu, která v sobě zahrnuje imunologický faktor, endometriózu, neidentifikovanou příčinu neplodnosti.
N 97.9	Ženská neplodnost
NO	oxid dusnatý
NS	statistická neprůkaznost
OHSS	ovariální hyperstimulační syndrom
o	oocyty, membrána vajíčka
OA	osobní anamnéza
p	perivitelliní prostor
PA	porodnická anamnéza
PAI 1	inhibitor aktivátoru plazminogenu1 (p lazminogen a ctivator i nhibitor 1)
PAI 2	inhibitor aktivátoru plazminogenu (p lazminogen a ctivator i nhibitor 2)
PAK	perorální kumarin (warfarin)
PC	protein C
PCOS	syndrom polycystických ovaríí
PIGD	P re I mplantation G enetic D iagnosis, genetické vyšetření blastomery embrya ještě před přenosem
PR/cyklus	P regnancy R ate na cyklus – zisk těhotenství na cyklus v %
PR/ET	P regnancy R ate na embryo transfer – zisk těhotenství na embryotransfer v %
PS	p rotein S
PT	Quickův test

RA	r odinná a namnéza
s.c.	sub k utánní
SC	S ectio C aesarea – císařský řez
ŠŽ	štítná žláza
t. g.	týden gestace
t PA	t káňový p lazminogenový a ktivátor
TEN	t romboembolická n emoc
TESE	T esticular S perm E xtraction, biopsie varlete k získání spermií
THRB	T ake H ome B aby R ate
UFH	standardní nefrakciovaný heparin
uPA	urokináza - aktivátor plazminogenu
UZ	U ltra Z vukové vyšetření
VTE	venózní t romboembolizmus
VVV	vrozená vývojová vada
WHO	W orld H ealth O rganization, Světová zdravotnická organizace
z	Z ona P ellucida, glykoproteinový obal vajíčka
Z	všechny vyšetřované klientky z Centra asistované reprodukce
ZOL	soubor klientek vyšetřených ve FNOL
ŽT	žilní t rombóza

14 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1 Zralý oocyt (vajíčko)

Obr. č. 2 Lidská spermie

Obr. č. 3 Schéma způsobu in vitro oplození

Obr. č. 4 Embryo po tří denní kultivaci ve stádiu osmi buněk

Obr. č. 5 Embryo po pěti denní kultivace stádiu blastocytu

Obr. č. 6 Prostorové zobrazení částí proteinů účastnících se koagulace a fibrinolýzy

15 SEZNAM TABULEK

Tab. č. 1 Výskyt některých trombofilií v kavkazské populaci

Tab. č. 2 Zvýšení rizika vzniku žilního tromboembolismu

Tab. č. 3 Riziko VTE u gravidních nosiček LPT

Tab. č. 4 Výskyt mutace genů trombofilních markerů

Tab. č. 5 Zastoupení deficitu trombofilních markerů

Tab. č. 6 Výskyt geneticky podmíněných trombofilních markerů u klientek podstupujících IVF

Tab. č. 7 Vstupní parametry

Tab. č. 8 Výstupní parametry

Tab. č. 9 Přehled IVF cyklů u žen s terapií LMWH a bez terapie po KET

Tab. č. 10 Celkový výskyt geneticky podmíněných trombofilních markerů v souboru center AR

Tab. č. 11 Procentuální výskyt jednotlivých geneticky podmíněných trombofilních markerů v souboru center AR

16 SEZNAM GRAFŮ

Graf č. 1 Indikace k provedení cyklu IVF a ET

Graf č. 2 Výskyt mutace geneticky podmíněných markerů vyjádřený v %

Graf č. 3 Výskyt snížených hodnot u všech žen a u žen s IVF

ANOTACE

Jméno a příjmení:	Hana Kleprlíková
Katedra:	Katedra antropologie a zdravotní vědy
Vedoucí práce:	RNDr. Jana Březinová, Ph.D.
Rok obhajoby:	2010

Název práce:	Incidence trombofilních markerů u klientek léčených pro neplodnost
Název v angličtině:	Incidence of thrombophilic markers in women undergoing assisted reproduction treatment
Anotace práce:	Práce je zaměřena na výskyt trombofilních markerů u klientek podstupujících léčbu metodami AR v Centru asistované reprodukce FNOL. Predispozice k trombofilnímu stavu může ovlivňovat úspěšnost léčby, implantaci nebo může vést až ke ztrátě plodu a k potratu..V souboru bylo vyšetřeno a hodnoceno: FV Leiden, Prothrombin, MTHFR, PAI, deficit Proteinu C, Proteinu S, Plazminogenu a Antitrombinu III. U klientek s pozitivním nálezem trombofilních markerů, opakovanými selháními IVF a ET nebo prvotrimestrálními ztrátami byl v léčebném cyklu podán nízkomolekulární heparin (LMWH). Následně byly prováděny výsledky (PR/cyklus, PR/ET, výsledek těhotenství) IVF a ET u klientek s nebo bez této léčby.

Klíčová slova:	IVFand ET, Trombofilie, FV Leiden, Prothrombin MTHFR, PAI, Protein C, Protein S, Plazminogen, Antitrombin III, LMWH
Anotace v angličtině:	Work is focused on the incidence of thrombophilia markers in clients receiving treatment, by methods of AR in The Center of Assisted Reproduction FNOL. The predisposition to trombofilic state can influence the success of therapy, implantation, or may lead to the loss of the fetus and abort. In the set there were examined and evaluated: FV Leiden, prothrombin, MTHFR, PAI, deficiency of protein C and protein S, deficiency of plasminogen and antithrombin III. In clients with positive finding of thrombophilic markers, repeated failure of IVF and ET, or losses during the first trimester, was given low molecular weight heparin (LMWH) in the treatment cycle. Subsequently the results of IVF and ET for clients with or without treatment were compared (PR / cycle, PR / ET, pregnancy outcome).
Klíčová slova v angličtině:	IVFand ET, Trombofilie, FV Leiden, Prothrombin, MTHFR, PAI, Protein C, Protein S, Plazminogen, Antitrombin III, LMWH

Přílohy vázané v práci:	
Rozsah práce:	88 stran
Jazyk práce:	Český jazyk