

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

**Hyperkoagulační stavy u žen po in vitro
fertilizaci**

Diplomová práce

Bc. Lenka Hodinová

Školitel: MUDr. Ivan Vonke, MBA

České Budějovice 2020

Hodinová L., 2020: Hyperkoagulační stavy u žen po in vitro fertilizaci. [Hypercoagulable states in women after in vitro fertilization. Master Thesis, in Czech] – 54 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

This thesis is focused on hypercoagulable states in women after the method of assisted reproduction. Pregnancy can be defined as an acquired hypercoagulable state. There are physiological changes in blood coagulation during pregnancy, and these changes can lead to a risk of thromboembolism. The occurrence of another congenital or acquired hypercoagulable state increases this risk.

The aim of this thesis is to describe the differences between two groups of pregnant women, namely spontaneous pregnancy and pregnancy after in vitro fertilization. The first part of the thesis compares the differences in the incidence of hypercoagulable states. The second part of the thesis is focused on the influence of the method of conception and other monitored factors on the pregnancy outcome. For analysis were used data from the women patients' Clinical Hematology department and the department of Neonatology in the hospital České Budějovice, a. s.

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

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

V Českých Budějovicích, 1. 12. 2020

.....
Bc. Lenka Hodinová

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat všem, kteří mi pomáhali s vypracováním této práce. Poděkování především patří panu primáři MUDr. Ivanu Vonkemu, MBA za trpělivost, ochotu, odborné vedení a cenné rady po celou dobu psaní této diplomové práce. V neposlední řadě také děkuji celé mé rodině za trpělivost a podporu nejen při psaní této práce, ale také v průběhu celého studia.

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Proces srážení krve	2
2.1	Poškození endotelu	2
2.2	Destičková fáze	2
2.3	Koagulační faktory	3
2.3.1	Koagulační kaskáda	4
2.3.2	Regulace koagulace	5
2.4	Fibrinolýza	6
2.4.1	D-dimery	7
3	Hyperkoagulační (trombofilní) stavy.....	8
3.1	Mutace FV Leiden	9
3.2	Mutace protrombinu	10
3.3	Porucha inhibitorů koagulace	11
4	Trombofilie v graviditě	12
4.1	Příčina trombofilie v graviditě.....	12
4.2	Farmakologická profylaxe a léčba TEN v graviditě	14
5	In vitro fertilizace (IVF).....	15
5.1	Průběh IVF	16
5.2	Komplikace IVF	17
5.3	Indikace profylaxe LMWH u IVF a její účinnost	18
6	Cíle práce a hypotézy.....	19
7	Materiály a metodika.....	20
7.1	Indikace k laboratornímu vyšetření.....	20
7.2	Odběr krevního vzorku a jeho zpracování	22
7.3	Analýza krevního vzorku.....	22
7.4	Získání a úprava dat	23
7.5	Statistické zpracování dat.....	24

8	<i>Výsledky</i>	25
8.1	Základní charakteristika souboru	25
8.2	Odlišnost sledovaných faktorů u IVF a spontánní gravidity	28
8.3	Vliv způsobu početí na výsledek gravidity	30
8.4	Vliv dalších faktorů na porodní váhu plodu dle způsobu početí	33
9	<i>Diskuse</i>	38
10	<i>Závěr</i>	43
11	<i>Seznam použité literatury</i>	44
12	<i>Seznam použitých zkratk</i>	53

1 Úvod

Hyperkoagulačním stavem lze definovat skupinu vrozených či získaných faktorů zvyšujících riziko vzniku tromboembolické nemoci. Mezi významné vrozené faktory patří mutace koagulačních faktorů II a V či mutace u přirozených inhibitorů koagulace. Získanými faktory může být věk, dlouhodobá imobilita, obezita či gravidita a šestinedělí.

Tato práce je zaměřena na významný hyperkoagulační stav, kterým je právě gravidita. Během gravidity dochází k fyziologickým změnám ovlivňující koagulaci krve. Vlivem zvyšování či naopak snižování hladin koagulačních faktorů a jejich inhibitorů dochází k nadměrnému srážení krve, které může způsobit tromboembolickou nemoc zahrnující hlubokou žilní trombózu a plicní embolii. Vysoké riziko také přináší přítomnost dalšího vrozeného či získaného trombofilního faktoru, kdy se zvyšuje tendence vzniku tromboembolické nemoci. Důležitá je proto včasná diagnostika gravidní pacientky a zahájení antikoagulační profylaxe nízkomolekulárním heparinem dle potřeby.

Nejedná se však pouze o pacientky s přirozeným početím, ale také o ženy podstupující asistovanou reprodukci. Základní metodou asistované reprodukce je tzv. in vitro fertilizace. Pro tu se páry rozhodují z důvodu nemožnosti oplození vajíčka přirozenou cestou. Problém však také představuje zvyšující se reprodukční věk u žen, kdy míra plodnosti se zvyšujícím věkem klesá. Podle Národního registru asistované reprodukce (NRAR) počet zahájených cyklů meziročně narůstá. V roce 2017 to bylo 15 428 cyklů in vitro fertilizace a nejvíce jich bylo zahájeno u žen do 34. roku života (Řežábek, Pohlová, 2019).

Jelikož dochází v posledních letech k velkému vzestupu asistované reprodukce, hlavním cílem práce je popsat rozdíly spontánní gravidity a gravidity pomocí in vitro fertilizace. V první části práce jsou popsány rozdíly zahrnující vrozené a získané hyperkoagulační stavy. Druhá část práce se zabývá vlivem způsobu početí a dalších sledovaných faktorů na výsledek gravidity. Pro porovnání byl získán soubor pacientek navštěvující Ambulanci klinické hematologie Nemocnice České Budějovice, a. s., následně doplněn o záznamy výsledku gravidity na oddělení Neonatologie Nemocnice České Budějovice, a. s.

2 Proces srážení krve

Srážení krve neboli hemokoagulace označuje soubor mechanismů udržující rovnováhu mezi nadměrným a nedostatečným srážením krve. Tento fyziologický proces vede k zástavě krvácení, hemostáze. Lze ho rozdělit na tři fáze, a to na primární hemostázu, sekundární hemostázu a fibrinolýzu. Během primární hemostázy dochází k interakci poškozeného endotelu s krevními destičkami. Tím je vytvořena primární hemostatická zátka v místě poranění. V průběhu sekundární hemostázy se uplatňují koagulační faktory, které ve výsledku vytvářejí fibrinovou síť důležitou pro stabilizaci primární zátky. Tyto dva procesy probíhají současně a jsou mechanicky propojené (Reyes Gil, 2019). Konečným procesem hemostázy je fibrinolýza, kdy dochází k rozpuštění vytvořené zátky.

2.1 Poškození endotelu

První hlavní složkou hemostatického systému je cévní stěna, která má funkci mechanické bariéry. Vnitřní výstelka cévní stěny se nazývá endotel. Slouží pro udržení antikoagulačního povrchu, který je důležitý k zachování tekutého stavu krve (Gale, 2011).

Při poškození endotelu se spouštějí mechanismy důležité pro tvorbu krevní sraženiny, aby nedošlo ke ztrátě krve a cévní stěna se opět zhojila. Tvořená sraženina musí zůstat lokalizována v místě poškození z důvodu zabránění nechtěného srážení krve v přilehlých cévách.

Primární odpovědí na poškození endotelu je vazokonstrikce. Během vazokonstrikce dochází ke smrštění buněk hladké svaloviny a snížení průtoku krve. Současně jsou endotelem produkovány faktory stimulující hemostázu, například tkáňový faktor, von Willebrandův faktor (vWF), tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA) či tromboxan A₂. Z buněk endotelu se zároveň uvolňují látky působící vazodilatačně (oxid dusnatý, prostacyklin) a hemostázu tak inhibují. V této fázi musí být aktivována primární hemostáza, jinak by nedošlo k zástavě krvácení (Armstrong, Golan, 2012).

2.2 Destičková fáze

Krevní destičky (trombocyty) jsou malé fragmenty, které vznikají v kostní dřeni odštěpením z megakaryocytů. Jejich množství se pohybuje kolem 150-400 milionů na mililitr krve a cirkulují krevním řečištěm přibližně 10 dní. Za fyziologických podmínek nejsou schopny přilnout (adherovat) k cévní stěně ani se shlukovat (agregovat). Pokud však dojde k poranění cévní stěny je spuštěna tzv. destičková fáze (Gale, 2011).

Za pomoci vWF jsou trombocyty schopny se pomocí adhezivních receptorů vázat na kolagenová vlákna v subendoteliální vrstvě. Po navázání uvolňují trombocyty cytoplazmatická granula, která obsahují serotonin, faktory aktivující destičky a adenosin difosfát (ADP). Tím dochází k aktivaci destiček a jejich adhezy v místě poranění (Periayah et al., 2017).

Jakmile jsou destičky aktivovány, začínají měnit svoji konformaci a na jejich povrchu se objevují receptory umožňující vazbu mezi jednotlivými trombocyty. To způsobí agregaci krevních destiček a je umožněn vznik primární hemostatické zátky. Vytvořená zátka je schopna zastavit drobné krvácení. Trombocyty proto dále uvolňují látky, které stimulují další proces hemostázy.

2.3 Koagulační faktory

Jedná se o skupinu plazmatických glykoproteinů, které vytvářejí fibrinová vlákna a tím zesílí a stabilizují primární zátku. Správná funkce a hladina koagulačních faktorů (viz Tab. I) na povrchu poškozeného endotelu je nezbytná pro správný průběh sekundární hemostázy.

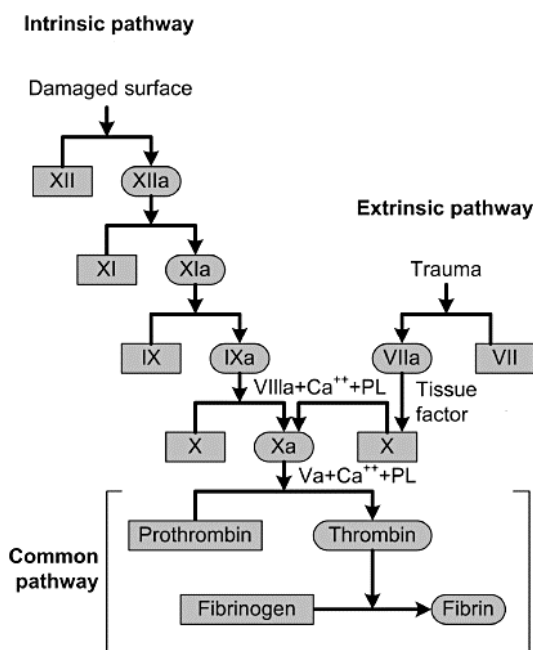
Tab. I: Přehled koagulačních faktorů (převzato z Palta et al., 2014).

Zkratka	Koagulační faktor	Funkce/Aktivuje	Plazmatický poločas (h)	Koncentrace v plazmě (mg/L)
FI	Fibrinogen	Tvorba sraženiny	90	3000
FII	Protrombin	FI, FV, FVII, FVIII, FXI FXIII	65	100
FIII	Tkáňový faktor	Kofaktor FVIIa	-	-
FIV	Kalcium	Vazba KF na fosfolipidy	-	-
FV	Proakcelerin	Kofaktor při aktivaci FII	15	10
FVII	Prokonvertin	FX, FXI	5	0,5
FVIII	Antihemofilický faktor A	Kofaktor při aktivaci FX	10	0,1
FIX	Christmasův faktor	FX	25	5
FX	Stuartův-Prowerův faktor	FII	40	10
FXI	Plazmatický předchůdce tromboplastinu	FIX	45	5
FXII	Hagemanův faktor	FXI, FVII	60	-
FXIII	Faktor stabilizující fibrin	Zesiluje fibrin	200	30
vWF	von Willebrandův faktor	Zajišťuje adhezi destiček	12	10µg/mL

Většina koagulačních faktorů je v plazmě přítomna v neaktivní formě. Při poškození endotelu dochází k jejich aktivaci během složitého sledu reakcí, tzv. koagulační kaskády. Aktivace faktoru je znázorněna písmenem „a“. Většina koagulačních faktorů je produkována v játrech, s výjimkou faktorů III, IV a VIII. Syntéza některých koagulačních faktorů (II, VII, IX, X) je závislá na přítomnosti vitamínu K (Palta et al., 2014).

2.3.1 Koagulační kaskáda

Koagulační kaskáda je popisována do tvaru písmene Y, kde se vnější a vnitřní cesta spojuje do společné při aktivaci FX. Jedná se o kaskádovitou přesně regulovanou enzymatickou reakci. Výsledkem této reakce je aktivace protrombinu na trombin, který přemění fibrinogen na stabilní fibrin a stabilizuje tím vytvořenou hemostatickou zátku (viz Obr. 1). Jelikož se jedná o velmi komplexní a dynamický proces, fibrinová vlákna jsou tvořena již při tvorbě destičkové zátky (Green, 2006).



Obr. 1: Schéma koagulační kaskády (upraveno dle Adams, Bird, 2009).

Hlavní funkcí koagulační kaskády je udržení hemostázy. Počátkem této reakce je souběžnost vnitřní a vnější cesty. Pro aktivaci **vnitřní cesty** musí dojít k poškození endotelu, kdy se aktivuje FXII. FXIIa působí jako katalyzátor k aktivaci FXI, a ten pak přeměňuje FIX na FIXa. FIXa následně za pomoci FVIIIa katalyzuje FX na FXa (Chaudhry et al., 2020).

Jakmile dojde k poškození cévy, endoteliální buňky uvolňují tkáňový faktor, který aktivuje FVII. FVIIa přemění FX na FXa a dochází zde ke spojení **vnější** a vnitřní cesty.

Počátkem **společné cesty** je tedy FXa, který je schopný přeměnit protrombin (FII) na trombin (FIIa). V tomto kroku je také důležitý FVa, který slouží jako kofaktor pro štěpení protrombinu na trombin. FIIa je důležitý pro aktivaci fibrinogenu na fibrinový monomer. FXIII, aktivovaný pomocí trombinu, následně vytvoří stabilní fibrinovou síť a dojde ke stabilizaci krevní zátky (Chaudhry et al., 2020).

2.3.2 Regulace koagulace

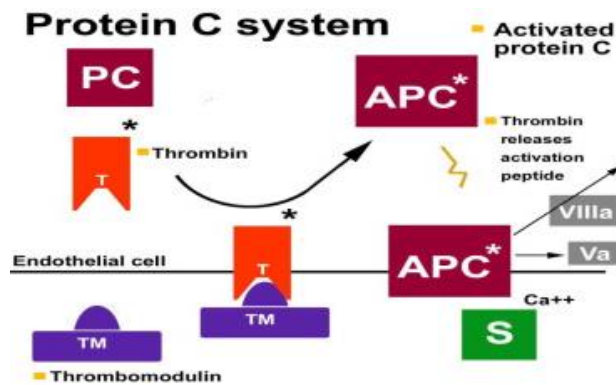
Pro správnou funkci hemostázy jsou důležité tzv. přirozené inhibitory koagulace. Mezi hlavní inhibitory se řadí antitrombin (AT), protein C (PC), protein S (PS) a inhibitor tkáňového faktoru (TFPI). Jejich hlavním úkolem je zabránění nežádoucího srážení krve a tím udržení koagulační rovnováhy.

Antitrombin (AT)

Antitrombin je nedílnou součástí regulace koagulace. Inhibuje především FIIa čili trombin, do jisté míry ovlivňuje také serinové proteázy FIXa a FXa. AT řadíme mezi tzv. serpiny a je tvořen v játrech. Jeho nedostatek má klinickou souvislost se zvýšeným rizikem vzniku trombózy (Hsu, Moosavi, 2020).

Protein C a protein S (PC a PS)

Proteiny C a S jsou na vitamínu K závislé inhibitory koagulace. PC společně s jeho kofaktorem PS a specifickým endotelovým receptorem vytvářejí aktivovaný protein C (APC). K aktivaci PC je potřeba trombomodulin (TM), který se nachází na povrchu endotelových buněk a má vysokou afinitu k trombinu. Po vytvoření vazby mezi TM a trombinem přestává trombin přeměňovat fibrinogen na fibrin a naopak aktivuje přirozený inhibitor koagulace PC (viz Obr. 2). APC je schopný inhibovat faktor Va a VIIIa a zároveň stimuluje uvolňování t-PA (Kaletová et al., 2013).



Obr. 2: Aktivace proteinu C (převzato z Jafarri et al., 2017). Vysvětlivky: **PC** – protein C; **T** – trombin; **TM** – trombomodulin; **APC** – aktivovaný protein C; **S** – protein S; **Va** – faktor Va; **VIIIa** – faktor VIIIa

Deficit PC, PS či resistance na APC je klinicky často spojován se zvýšeným výskytem tromboembolických komplikací (Gabazza et al., 2006).

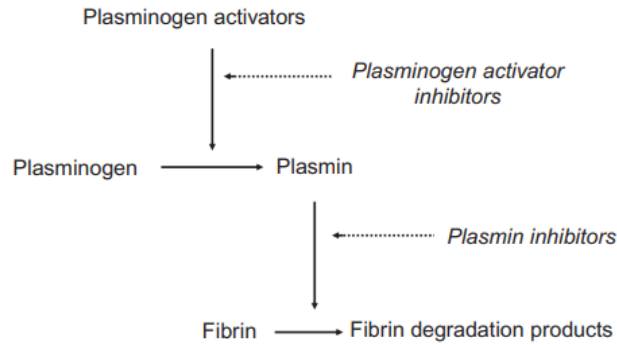
Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI)

TFPI je hlavním regulátorem vnější cesty koagulační kaskády. Tento inhibitor se váže na komplex tkáňového faktoru TF-VIIa a tím brání další aktivaci faktoru X (Walenga, 2020).

2.4 Fibrinolýza

Poslední fází hemokoagulace je tzv. fibrinolýza. Poté, co byla za pomoci endotelu, trombocytů a koagulačních faktorů vytvořena krevní sraženina v místě poranění a splnila svoji funkci, je potřeba ji rozpustit. Pokud by nedošlo k rozpuštění vytvořené fibrinové sítě, mohlo by dojít k jejímu rozšíření do okolních cév nebo ke změnám krevního toku a následným patologickým stavům.

Hlavní složkou fibrinolytického systému je plazmin, který rozštěpí fibrin na specifické zbytky lysinu a argininu, což vede k produkci tzv. fibrin degradačních produktů (viz Obr. 3). Plazmin je produkován štěpením plazminogenu pomocí tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA) uvolňovaného z endoteliálních buněk a urokinázového aktivátoru plazminogenu (u-PA). Tyto dva aktivátory jsou regulovány inhibitory aktivátoru plazminogenu (PAI). Produkce plasminu je také regulována inhibitorem α_2 antiplasmin (Adams, Bird, 2009).



Obr 3.: Schéma fibrinolytického systému (převzato z Lijnen, 2013).

2.4.1 D-dimery

D-dimery patří mezi hlavní degradační produkty fibrinolýzy. Jejich přítomnost v krvi při analýze krevního vzorku slouží jako významný laboratorní ukazatel rozpadu krevní sraženiny. D-dimery mají vysokou negativní prediktivní hodnotu a lze je použít pro detekci hyperkoagulačních stavů, jako je diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC), hluboká žilní trombóza či plicní embolie. Ačkoli D-dimery mají vysokou citlivost, ale nízkou specifitu, negativní výsledek testu vylučuje přítomnost tromboembolie v těle, pozitivní výsledek ji však nepotvrzuje. Pozitivní test může být doprovázen i jinými stavy, jako je nádorové onemocnění či infekce (Bounds, Kok, 2020).

Zvýšená hladina D-dimerů je však detekovatelná i během těhotenství, kdy dochází k jejímu fyziologickému zvyšování. Těhotenství je spojeno se zvýšeným rizikem tromboembolie, avšak užitečnost detekce tromboembolie během těhotenství je omezená. Podle nedávné studie bylo zjištěno, že hladiny D-dimerů se významně zvyšovaly ve 3. trimestru těhotenství, a to u 99 % testovaných žen. Užitečnost testu k vyloučení hluboké žilní trombózy je tedy u těhotné pacientky zejména v 1. trimestru těhotenství (Gutiérrez Garcia et al., 2018).

Pro měření hladiny D-dimerů existuje několik testů, kde je použita specifická monoklonální protilátka. První známý test je založen na aglutinaci latexových kuliček potažených monoklonální protilátkou. Kvantitativní a automatizované testy byly následně vyvinuty k vyloučení žilního tromboembolismu, DIC, detekci nadměrné fibrinolýzy a monitorování antikoagulační léčby. V laboratořích se často využívají vysoce citlivé testy jako je ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) nebo imunoturbidimetrický test. D-dimery jsou detekovatelné na hladinách nad 150ng/ml, ELISA je ještě citlivější. Jelikož se jejich hladina postupem věku zvyšuje, je potřeba upravit horní hranici normy podle věku pacienta. (Greenberg, 2017).

3 Hyperkoagulační (trombofilní) stavy

Trombofilií označujeme skupinu vrozených či získaných stavů (viz Tab. II), které mohou vést ke zvýšené tendenci vzniku tzv. tromboembolických onemocnění (TEN). TEN zahrnující hlubokou žilní trombózu (HŽT) a plicní embolii (PE) patří mezi nejčastější klinické projevy hyperkoagulačních stavů.

Tab. II: Vrozené a získané rizikové faktory trombofilie (upraveno dle Poul, 2006).

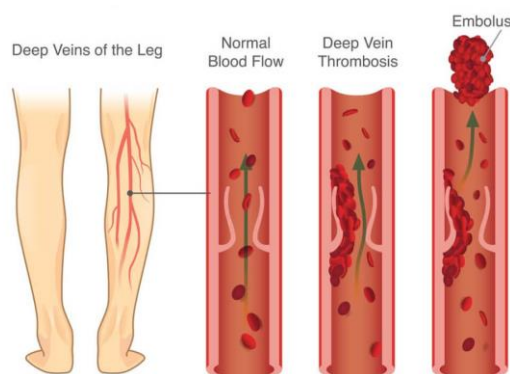
Vrozené faktory	Získané faktory
APC rezistence	Antifosfolipidový syndrom
Leidenská mutace	Myeloproliferativní onemocnění
Mutace protrombinu	Gravidita a šestinedělí
Deficit proteinu C	Stav po prodělané trombóze
Deficit proteinu S	Malignita
Deficit antitrombinu	Léčba estrogeny
Dysfibrinogemie	Dlouhodobá imobilita
Homozygotní homocystinurie	Nefrotický syndrom

U vrozených trombofilií se nejčastěji jedná o genetickou změnu u koagulačních faktorů či v jejich inhibitech. Vrozené trombofilie jsou v tabulce v pořadí dle klinické významnosti. Mezi nejvýznamnější se řadí Leidenská mutace, která způsobuje až 30 % žilního tromboembolismu (Kupferminc, 2003). APC rezistence je způsobena právě touto mutací. Dochází také k různým kombinacím vrozených trombofilií u jednoho pacienta, avšak tyto kombinace, stejně jako homozygotní formy, jsou vzácné. U získaných faktorů je zmíněno několik klinicky významných získaných trombofilií. Nicméně existují další, jako je například věk, operace, kouření, obezita či užívání hormonální antikoncepce (Poul, 2006).

Významným získaným hyperkoagulačním stavem je gravidita, kdy dochází k fyziologickým změnám v koagulaci krve. Přítomnost další získané či vrozené trombofilie zvyšuje riziko vzniku HŽT. Leidenská mutace zvyšuje riziko 5-16×, mutace protrombinu až 15× (Ibrahim et al., 2018).

Pro vznik HŽT je však potřeba tří podmínek, a to poranění cévní stěny, přítomnost hyperkoagulačního stavu a hemostáza (tzv. Virchowova triáda). HŽT znamená vytváření nadměrného počtu krevních sraženin tzv. trombů (viz Obr. 4). HŽT může následně způsobit PE. Dojde k uvolnění trombu po směru toku krve, který se dostává do pravého srdce a následně do plic. Tam způsobí obliteraci některé z větví plicní tepny. Vznik PE je závislý na počtu,

velikosti a rychlosti vzniku trombů. Mezi hlavní příznaky pak řadíme: kašel s příměsí krve, cyanózu či bolest na hrudi (Bulava, 2017).



Obr. 4: Znárodnění vzniku HŽT a uvolnění trombu (převzato z Home Health Care, 2018).

3.1 Mutace FV Leiden

Jedná se o jednobodovou mutaci v genu pro V koagulační faktor, kde je adenin nahrazen guaninem, což vede k záměně aminokyseliny arginin za glutamin. Nejčastějším vrozeným faktorem TEN je rezistence k APC, která je ve většině případů způsobena právě Leidenskou mutací. Zatímco FVa slouží jako kofaktor pro přeměnu protrombinu na trombin, APC je přírodní antikoagulant, který inaktivuje FVa. Malá změna v molekule FV způsobuje resistenci APC a tím zvýšenou tvorbu trombinu (Trani, Lawson, 2007).

Mutace FV Leiden je nejčastější genetickou příčinou dědičné trombofilie, která vede ke vzniku krevní sraženiny (viz Tab. III). Vyskytuje se zejména u bělošské populace, kde heterozygotní formu mutace nese až 7 % jedinců. Homozygotní forma této mutace je vzácná a vyskytuje se asi u 1 z 5 000 bělochů. Leidenská mutace je zjištěna u 20 % pacientů po první prodělané TEN a u 50 % pacientů při opakované TEN (Rennert, 2019).

Tab. III: Porovnání nejvýznamnější vrozených trombofilních stavů u bělošské populace a pacientů s TEN (převzato z Hirmerová et al., 2014).

Trombofilie	Prevalence u bělošské populace (%)	Prevalence u pacientů s TEN (%)	Prevalence u pacientů s rekurentní TEN (%)
Mutace FV Leiden (heterozygot)	3-7	20	50
Mutace protrombinu (heterozygot)	1-3	4	15-20
Deficit proteinu S	0,5	1,3	5,1
Deficit proteinu C	0,05	2,5	5,1
Deficit antitrombinu	0,04	1,2	2,5

3.2 Mutace protrombinu

Z předchozí tabulky (Tab. III) je zřejmé, že tato mutace je druhou nejčastější vrozenou trombofilií. Dochází k záměně nukleotidu guaninu za adenin na pozici 20210 na 3' konci genu pro protrombin (FII). Touto změnou dochází ke zvýšení hladiny srážecího faktoru II protrombinu, což zvyšuje riziko vzniku TEN (Jadaon, 2011).

Prevalence u bělochů je přibližně 3 % a u pacientů s TEN 4 %. Mutace se více vyskytuje v jihoevropských zemích než v zemích severních. Velmi vzácná je v asijských a afrických zemích (Jadaon, 2011). Vzácná je také homozygotní forma této mutace, nicméně při jejím výskytu dochází k několikanásobnému zvýšení rizika TEN. Vysoké riziko představují smíšené heterozygotní mutace FV Leiden a protrombin. Relativní riziko vzniku žilní trombózy je u heterozygotní formy Leidenské mutace 20 a u heterozygotní formy mutace protrombinu 6. Při jejich kombinaci se riziko zpravidla násobí (Kessler, 2006). V následující tabulce můžeme shrnout relativní riziko vzniku TEN u všech nejčastějších vrozených trombofilií (viz Tab. IV).

Tab. IV: Relativní riziko vzniku TEN u vrozených trombofilií (převzato z Nguyen, 2000; Kessler, 2006).

Trombofilie	Relativní riziko 1. TEN	Relativní riziko rekurentní TEN
Mutace FV Leiden (heterozygot)	20	1,4
Mutace protrombinu (heterozygot)	6	1,4
Deficit proteinu S	2	2,5
Deficit proteinu C	3	2,5
Deficit antitrombinu	1	2,5

3.3 Porucha inhibitorů koagulace

Snížené hladiny přirozených inhibitorů koagulace se řadí mezi časté příčiny vzniku krevní sraženiny. Jedná se zejména o deficit PC či jeho kofaktoru PS a deficit AT. Jejich prevalence u obecné populace však nepřesahuje 1 % a u pacientů s první prodělanou TEN to není více než 3 %. Relativní riziko vzniku TEN není vysoké, nicméně v kombinaci s další vrozenou trombofilií se riziko opět násobí.

Nízká hladina přirozených antikoagulancií může být vrozená a získaná. Vrozený nedostatek jednoho antikoagulancia se častěji vyskytuje v heterozygotní formě, kdy pacient zdědil jeden abnormální gen od otce nebo od matky. U pacientů s normální hladinou inhibitorů může dojít ke snížení vlivem dalších faktorů jako je gravidita, těžká infekce, nedostatek vitamínu K či užívání léků, např. heparinu nebo warfarinu (Lipe, Orstein, 2011).

Zajímavostí je, že homozygotní formy deficitu AT, PC či PS mohou způsobit závažná onemocnění již v dětském věku. Příkladem je novorozenecká purpura fulminans, která je způsobena dermální mikrovaskulární trombózou spojenou s DIC již v novorozeneckém věku. Projevuje se rychlým nástupem kožních purpurových lézí pár hodin po narození a bývá téměř vždy smrtelná. (Kessler, 2006; Jafarri et al., 2017).

4 Trombofilie v graviditě

Graviditu a následné šestinedělí řadíme do získaných trombofilních stavů vedoucí ke zvýšené tendenci vzniku TEN. Během normálního těhotenství dochází k fyziologickým změnám spojených s hemokoagulací (viz Tab. V). Tyto změny jsou důležité pro správné udržení hemostázy během porodu, ale naopak jsou nebezpečným trombofilním faktorem pro rodičku i plod.

Tab. V: Hemostatické změny během těhotenství (převzato z Ormsher et al., 2016).

Prokoagulancia	Antikoagulancia
FII ↑	PS ↓
FV ↑	APC ↓ ve 3. trimestru
FVII ↑	
FVIII ↑	
FIX ↑	
FX ↑	
Fibrinogen ↑	
D-dimery ↑	

U všech složek podporující hemostázu dochází během gravidity ke zvýšení jejich hladiny. Nejvyšší zvýšení hladiny lze pozorovat u FVII, kdy dochází až k 1000% nárůstu. Druhý nejvyšší nárůst je až 400 % u D-dimerů. 100% zvýšení zjistíme u faktorů VIII, IX, X a fibrinogenu. Naopak u složek působící antikoagulačně dochází ke snižování jejich hladiny (Katz, Beilin, 2015).

HŽT se vyskytuje u 1 z 1000 těhotenství a následná PE je velmi častou příčinou úmrtí. Riziko vzniku TEN v těhotenství je 6-10× vyšší. (Poul, 2006). Při vzniku TEN navíc může dojít k závažným komplikacím v graviditě. Jedná se zejména o opakované potraty, omezení růstu plodu, porod mrtvého plodu, předčasné odloučení placenty či preeklampsii (Voicu et al., 2020). Riziko vzniku TEN je však ještě zvýšeno přítomností další získané či vrozené trombofilie.

4.1 Příčina trombofilie v graviditě

Jak již bylo popsáno výše, příčinou trombofilie v graviditě jsou fyziologické změny ovlivňující především hladiny koagulačních faktorů. Zejména velmi nebezpečná je kombinace více faktorů způsobující TEN, ať už se jedná o získané nebo vrozené faktory.

U většiny žen s HŽT se vyskytují trombofilní rizikové faktory. Důležitými vrozenými trombofiliemi jsou mutace FV Leiden a mutace protrombinu. Mutace FV Leiden způsobuje 44 % případů TEN v graviditě, mutace protrombinu 17 %. U těchto dvou mutací však záleží na jejich formě. Nedávná studie potvrdila, že přítomnost vrozené trombofilie několikanásobně zvyšuje riziko rozvoje TEN během těhotenství. Nicméně pouze u homozygotní formy jde o absolutní riziko. Heterozygotní forma mutace zvyšuje riziko pouze s pozitivní osobní či rodinou anamnézou (Croles et al., 2017). Ačkoli u většiny nosičů mutace FV Leiden a mutace protrombinu se během gravidity nevyvinou klinické příznaky, u každé ženy s prokázanou TEN v rodinné či osobní anamnéze by mělo být provedeno vyšetření trombofilie na počátku těhotenství (Brenner, 2005).

Dalšími vrozenými faktory zvyšující riziko TEN v těhotenství jsou deficit AT, PC a PS. Prevalenci všech vrozených rizikových faktorů u gravidních žen s TEN, relativní riziko vzniku TEN v graviditě a pravděpodobnost TEN na 1000 gravidit shrnuje následující tabulka (viz. Tab. VI). Velké nebezpečí však představují také získané rizikové faktory, jako je například věk ženy nebo kouření, v kombinaci s vrozenou trombofilií.

Tab. VI.: Výskyt, relativní riziko vzniku a pravděpodobnost TEN u gravidních žen (převzato z Poul, 2006).

Trombofilie	Prevalence u těhotných s TEN	Relativní riziko TEN v těhotenství	Pravděpodobnost TEN na 1000 gravidit
Mutace FV Leiden (heterozygot)	20-46	5-16	2-3
Mutace FV Leiden (homozygot)	2-4	20-40	40
Mutace protrombinu	6-26	3-15	3-5
Kombinace obou mutací (FV a FII)	7-9	9-107	10-50
Deficit AT	1-19	7-64	4-333
Deficit PC	2-14	4-7	1-9
Deficit PS	1-12	2-3	1-3

Pozn.: Velké rozpětí u některých hodnot je způsobeno relativně malými soubory u některých trombofilií a různě nastavenými kritérii pro deficit.

4.2 Farmakologická profylaxe a léčba TEN v graviditě

Pokud se u gravidní ženy v osobní či rodinné anamnéze vyskytuje TEN, je pravděpodobné, že u ní bude zahájena farmakologická profylaxe. To samé platí u žen, kde byla prokázána přítomnost hyperkoagulačního stavu. Profylaxe je často zahájena ve 3. trimestru těhotenství pro ochranu vzniku TEN během porodu a šestinedělí. Záleží samozřejmě ale na mnoha dalších faktorech, jako je druh, forma či kombinace trombofilií. Pokud je žena nositelkou mutace koagulačního faktoru a zároveň má pozitivní osobní anamnézu, začíná u ní profylaxe zpravidla dříve (Skeith, 2017).

V současnosti jsou pro prevenci a léčbu TEN v graviditě nejvíce využívány tzv. nízkomolekulární hepariny (LMWH). Jedná se o lineární vysoce nabité sacharidové polymery odvozené z tzv. nefrakcionovaných heparinů (UFH). Jelikož LMWH neprochází placentou, nemá na plod teratogenní účinky a je tedy pro plod bezpečný (Tsikouras et al., 2019). Dalšími výhodami LMWH je lepší biologická dostupnost, dlouhý poločas rozpadu a málo vedlejších účinků. (Many, Koren, 2005). Významným důvodem využití během těhotenství je podávání LMWH subkutánně, aplikaci je tedy možné provést i doma.

Použití LMWH v klinické praxi pro profylaxi i léčbu má velmi pozitivní účinek a jeho použití je bezpečné. Nejčastěji používanými preparáty LMWH jsou Enoxaparin (Clexane) a Nadroparin (Fraxiparine). Dávkování je samozřejmě odlišné u prevence a léčby. Je závislé na více faktorech, a to na časovém úseku používání, míře rizika, hmotnosti pacientky či jejím klinickém stavu. Aplikace probíhá nejčastěji jedenkrát denně a množství dávky by se mělo měnit v průběhu těhotenství (Procházka et al., 2003).

Hojně využívaným antikoagulanciem pro profylaxi a léčbu TEN je Clexane. Podává se subkutánně a má okamžitý nástup účinku. Jeho část se váže na AT, část přímo ireverzibilně blokuje FXa. Nejčastější dávka je 1 mg na kilogram každých 12 hodin, nicméně záleží na laboratorním výsledku, kde se sleduje hladina anti-Xa, podle níž je upravováno množství dávky. Clexane způsobuje několik vedlejších účinků, a to krvácení a bolest v místě vpichu, nevolnost či bolest hlavy. Lék můžeme dostat na předpis po předchozí konzultaci s lékařem. Jestliže jedinec nepatří do rizikové skupiny, není potřeba provádět pravidelné laboratorní kontroly hladiny anti-Xa (Jupalli, 2019).

Druhým často využívaným léčivem je Fraxiparine. Má kratší poločas rozpadu než Clexane a působí tedy kratší dobu. Můžeme pozorovat nižší působení na anti-Xa a tím méně spolehlivý účinek (Bultas, Karetová, 2011). Nicméně nedávná studie potvrdila, že Fraxiparine je bezpečným a účinným preparátem pro prevenci a léčbu TEN. Nejsou známy ani žádné závažné vedlejší účinky. (Malý et al., 2006).

5 In vitro fertilizace (IVF)

In vitro fertilizace je hlavní metodou asistované reprodukce. Hlavním cílem je získání vajíček z vaječníků ženy a jejich následné oplodnění spermatem u párů, u kterých nedošlo k oplození přirozenou cestou. Po oplození v laboratorních podmínkách vznikne embryo, které lze přenést do dělohy ženy. Pokud dojde k oplození více vajíček, je možno embryo zmrazit a skladovat pro další cyklus.

Příčina neplodnosti může být zjištěna jak u ženy, tak u muže. Pokud po určitém časovém úseku nedojde k přirozenému oplození, je potřeba provést vyšetření u obou pohlaví. Hlavní příčinou neplodnosti u ženy je poškození či snížená funkce vaječníků, neprůchodnost vejcovodu nebo endometrióza. U mužů to bývá často nízký počet spermií nebo neprůchodnost chámovodu. Příčinou může být také neplodnost obou partnerů nebo naopak nevysvětlitelná neplodnost. Jelikož v laboratoři lze otestovat embrya na genetické abnormality, IVF může být také provedeno, pokud hrozí přenos genetické poruchy. (Kelbach, 2016). Studie z posledních let ukazují, že celosvětově je neplodnost způsobená z 25-37 % u žen, 8-22 % u mužů a 21-38 % u obou pohlaví (Egbe et al., 2016).

V současné době je velkým problémem zvyšující se reprodukční věk. Míra plodnosti prudce klesá po 36. roku života, často v důsledku poklesu normálních oocytů souvisejícím s věkem. U žen staršího věku je však stále možná IVF, nicméně může docházet k větší míře komplikací během těhotenství jako je hypertenze (16-40 %) císařský řez (40-76 %) nebo gestační diabetes (20 %) (Wang, Sauer, 2006).

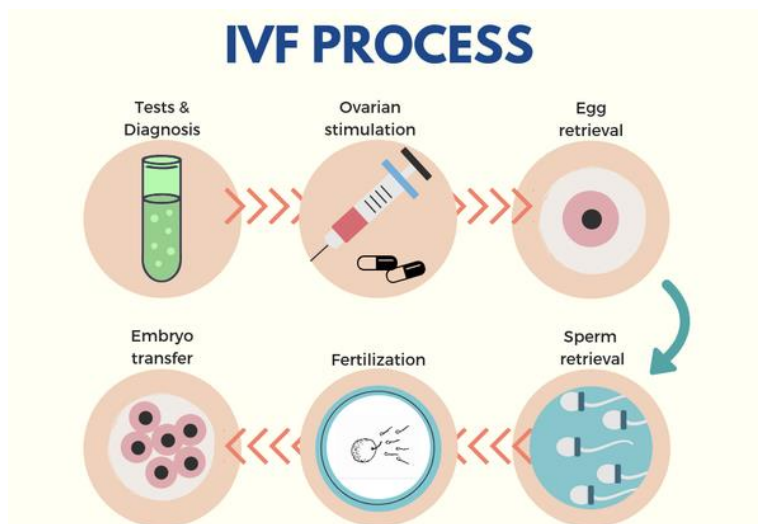
Míra úspěšnosti IVF závisí na mnoha faktorech, jako je reprodukční historie, příčina neplodnosti nebo životní styl ženy. Důležitým faktorem je věk ženy. Míra živě narozených plodů s věkem klesá (viz Tab. VII).

Tab. VII: Míra živě narozených plodů po IVF dle věku ženy (převzato z American Pregnancy Association, 2020).

Věk ženy	Míra živě narozených plodů (%)
do 35 let	41-43
35-37 let	33-36
38-40 let	23-27
nad 40 let	13-18

5.1 Průběh IVF

Proces IVF lze rozdělit na 5 fází, kdy před samotným procesem je důležité vyšetření a určení diagnózy u obou partnerů. Celý tento postup je zobrazený na následujícím obrázku (viz Obr. 5) a dále bude popsán podle jednotlivých fází.



Obr. 5: Proces IVF (převzato z News of the south, 2019).

Hormonální stimulace vaječnicků

Prvním důležitým krokem je stimulace vaječnicků podáním folikuly stimulujícího hormonu (FSH) po dobu cca 10-12 dní. Důvodem je zvýšení počtu vajíček ve vaječniku. Během podávání hormonů je pomocí krevních testů a ultrazvuku sledována produkce vajíček. Tím je vybrána vhodná doba pro jejich odběr. Pokud by tomu tak nebylo a vajíčka by byla odebrána příliš brzy nebo pozdě, mohlo by dojít ke špatnému vývoji embrya (Diaz-Garcia, 2017).

Odběr vajíček a spermií

Přibližně 36 hodin před odběrem vajíček je podána poslední hormonální injekce, aby došlo k jejich správnému dozrání. Vajíčka jsou následně odebrána pod ultrazvukovou kontrolou zavedením jehly přes pochvu, než dojde k jejich vyplavení z folikulů. Odběr trvá cca 20 minut a je prováděn pod narkózou (Řežábek, 2008). Ve stejný den odběru vajíček je také důležité darování spermií od partnera. Darovaný vzorek bude zpracován a analyzován v laboratoři.

Oplození vajíčka

Odebraná vajíčka jsou následně oplozena spermii ve zkumavce za použití speciálního kultivačního média. V současné době se velmi využívá metoda tzv. intracytoplazmatické injekce spermii (ICSI). Jedná se o velmi účinnou metodu, kdy je do každého vajíčka injikována právě jedna zdravá spermie. Tato metoda se také využívá při špatném počtu nebo pohyblivosti spermii (Nordqvist, 2018).

Vývoj embrya

Po oplození budou vajíčka kultivována a několik dní sledována. Pro přenos do dělohy jsou následně vybrána embrya, která se vyvíjí bez komplikací. Pokud získáme větší počet kvalitních embryí, je možné je zamrazit pro budoucí použití.

Embryotransfer

Několik dní po odběru vajíček jsou embrya přenesena do děložní dutiny pomocí katetru přes děložní čípek. Přenesena jsou nejčastěji 1-2 embrya, záleží však na věku ženy. U žen do 40 let se většinou přenáší jedno embryo, nad 40 let pak dvě. Pokud není kvalita embrya příliš vysoká, mohou být přenesena 2-3 embrya (Diaz-Garcia, 2017).

5.2 Komplikace IVF

IVF je spojeno s několika komplikacemi, které se u spontánní gravidity neobjevují. V první řadě je to tzv. hyperstimulační syndrom, který je způsobený nadměrnou dávkou podávaných hormonů. Dochází k nadměrnému počtu dozrávajících vajíček, což má za následek silný otok břicha a dušnost. S podáváním léků jsou spojené i další komplikace, např. nevolnost a zvracení, potíže s dýcháním, zvětšení vaječníků a bolest břicha (Nordqvist, 2018).

Další komplikace nelze vyloučit ani u spontánní gravidity, jsou však méně časté. Jedná se zejména o vícečetné těhotenství, které se u IVF objevuje až 10× častěji než u spontánní gravidity. Tento typ těhotenství je často spojen s předčasným porodem a nízkou porodní váhou každého plodu. Relativní riziko také představuje vyvolání porodu a císařský řez. Dále se zdvojnásobuje riziko hypertenze a vznik gestační diabetes u žen. U IVF jsou také častější potraty v 1. trimestru nebo mimoděložní těhotenství, kde je riziko zvýšeno až dvojnásobně (Kathpalia et al., 2016).

Studie z posledních let uvádí, že riziko vzniku TEN je u IVF vyšší během celého těhotenství, zejména ale v 1. trimestru. Významné zvýšení bylo také pozorováno u vzniku PE během 1. trimestru (Henriksson et al., 2013).

5.3 Indikace profylaxe LMWH u IVF a její účinnost

Významnou odlišností u IVF je doba zahájení farmakologické profylaxe. U spontánně gravidních žen dochází k zahájení profylaxe LMWH různě během celého těhotenství, nejčastěji pak během 3. trimestru. U žen podstupujících IVF je profylaxe zahájena ve většině případů již na počátku těhotenství. Hlavním cílem tohoto časného podání je zlepšení výsledků gravidity.

Gravidita po IVF je sama o sobě velmi riziková a vlivem dalších vrozených či získaných trombofilních faktorů se toto riziko ještě zvyšuje. Ženy jsou také vystaveny vyšší pravděpodobnosti vzniku TEN, k čemuž také přispívá podávání vysokých dávek hormonální léčby. Z tohoto důvodu je indikována profylaxe LMWH na počátku těhotenství, otázkou však stále zůstává její účinnost (Zeng, 2020).

Přítomnost trombofilie se často podílí na opakovaném neúspěchu IVF. Úspěšností indikace profylaxe na počátku gravidity se zabývalo několik studií. Studie z dřívější doby potvrzuje účinnost a bezpečnost použití LMWH pro profylaxi TEN (Qublan et al., 2008). Nicméně současné studie toto tvrzení vyvracejí. Použití LMWH se zdá být založeno pouze na biologické věrohodnosti než na jeho účinnosti. Navíc u žen po IVF bez vyskytující se trombofilie neměl LMWH žádný vliv na úspěšnost těhotenství. Ačkoliv je tedy prevence LMWH bezpečná, z hlediska některých vedlejších účinků by měla být její účinnost podání dále prozkoumána (Zeng, 2020; Yang et. al., 2018).

6 Cíle práce a hypotézy

CÍLE PRÁCE

- Vytvořit homogenní soubor dat pro statistické zpracování.
- Porovnat odlišnost sledovaných faktorů u IVF a spontánní gravidity.
- Zjistit, zda způsob početí má vliv na výsledek gravidity.
- Vyhodnotit vliv dalších sledovaných faktorů na porodní váhu plodu.

HYPOTÉZY

- IVF podstupují ženy staršího věku.
- U žen podstupujících IVF se vyskytuje vyšší frekvence komplikací.
- Novorozenci po IVF mají nižší porodní váhu.
- Přítomnost vrozené trombofilie má vliv na výsledek gravidity.

7 Materiály a metodika

Všechna laboratorní vyšetření byla provedena v Centrálních laboratořích na pracovišti hematologie Nemocnice České Budějovice, a. s.

7.1 Indikace k laboratornímu vyšetření

Indikace ke koagulačnímu vyšetření vychází z diagnostiky na Ambulanci klinické hematologie (AKH). Gravidní pacientky navštěvují AKH z důvodu prevence vzniku TEN v průběhu těhotenství, během porodu a šestinedělí. Zejména ženy, u kterých se v rodinné či osobní anamnéze vyskytuje TEN, by měly být na počátku těhotenství vyšetřeny na přítomnost trombofilie. U žen s již prokázaným trombofilním stavem bude pravděpodobně zahájena profylaxe LMWH v průběhu těhotenství.

Počátkem vyšetření je celková anamnéza pacientky. Ta zahrnuje informace o dříve prodělaných chorobách, současných onemocněních a užívání léků. Dalšími kritérii je pozitivní rodinná anamnéza, opakované potraty či jiné komplikace. Po následujícím vyšetření by měl být lékař schopen určit, jaké laboratorní testy je potřeba provést pro potvrzení či naopak vyvrácení určené diagnózy.

Lékař si musí být vědom určitých charakteristik jednotlivých laboratorních testů, jako je například specifita a senzitivita testu či detekční hodnoty u jednotlivého pohlaví a věku. Zvolí tedy nejvhodnější laboratorní testy, které budou provedeny na pracovišti hematologie (PHEM).

Pro laboratorní vyšetření je potřeba správné vyplnění žádanky, na jejímž základě bude proveden také odběr primárního materiálu. Jedná se o žádanku pro koagulační vyšetření (viz Obr. 6). Na žádance musí být vyplněny tyto požadavky:

- rodné číslo pacienta
- jméno a příjmení
- základní diagnóza
- zdravotní pojišťovna či jiný způsob platby, např. samoplátce
- razítko pracoviště, jméno a podpis lékaře
- seznam požadovaných vyšetření
- informace o pacientovi ovlivňující interpretaci výsledků, např. užívání léků
- režim vyšetření Statim/Rutina

Na odběrovém místě jsou do žádanky doplněny další údaje, tj. datum a čas odběru primárního vzorku a identifikace osoby provádějící odběr (Kašparová, Benda, 2019).

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

NCB_PHEM_F_003_E

1/1

kód pro objednávku NCB: F0244

Obr. 6: Žádanka pro koagulační vyšetření (převzato z Nemocnice České Budějovice, a. s., 2020).

7.2 Odběr krevního vzorku a jeho zpracování

Odběr krevního vzorku a jeho zpracování je důležité provést podle přesně určených pravidel, aby nedošlo ke zkreslení výsledku vlivem preanalytické fáze, analytickými chybami nebo špatnou interpretací výsledku. Pacient přichází k odběru nejlépe v ranních hodinách nalačno, tj. 4 hodiny před vyšetřením by neměl jíst a pít slazené nápoje. Den před odběrem se nedoporučuje konzumovat tučné jídlo a alkohol. Pacient by dále před odběrem neměl vykonávat fyzickou aktivitu, být v psychickém stresu, kouřit nebo užívat nepotřebné léky.

Pro odběr primárního vzorku se v Nemocnici České Budějovice, a. s. využívá odběrový systém Becton Dickinson Vacutainer. Pro koagulační vyšetření se odebírá nesrážlivá žilní krev do zkumavky se světle modrým uzávěrem, která obsahuje antikoagulační roztok – citrát sodný. Důležité je dodržet správný poměr odebírané krve a antikoagulačního činidla, tedy 9 + 1. Po odběru vzorku se zkumavka promíchá otočením.

Zkumavka je následně označena jménem pacienta, jeho rodným číslem a společně se žádankou doručena co nejrychleji na Centrální příjem laboratoře. Na příjmu materiálu primárně proběhne kontrola správnosti údajů na zkumavce a žádance. Po provedené kontrole pracovník laboratoře označí žádanku i vzorek stejným identifikačním štítkem, pod kterým je vzorek zadán do laboratorního informačního systému (LIS). Takto označený vzorek je centrifugací odstředěn při 1500 g po dobu 15 minut. Dojde k oddělení frakce krvinek od krevní plazmy, ze které se provádí analýza. Následně je vzorek doručen na PHEM, kde je provedena kontrola správnosti odebraného vzorku a jeho analýza. Pokud se jedná o vzorek s označením Statim, je potřeba vzorek zpracovat co v nejkratším čase, cca do 2 hodin od příjmu vzorku do laboratoře.

7.3 Analýza krevního vzorku

Ze správně odebraného a zpracovaného vzorku lze provést několik různých vyšetření, která jsou vyznačena na žádance. Mezi základní vyšetření patří protrombinový test (dle Quicka), aPTT, trombinový test, fibrinogen, antitrombin a vyšetření D-dimerů. Při antikoagulační léčbě LMWH se využívá vyšetření anti-Xa. Mezi speciální vyšetření se řadí vyšetření jednotlivých koagulačních faktorů, PC, PS, APC rezistence a další.

Na PHEM se využívají dva koagulometry, a to Sysmex CS-5100 a Sysmex CS-2100i. Oba tyto přístroje jsou plně automatizovány a jsou určeny k *in vitro* diagnostice. Fungují na základě koagulačních, chromogenních a imunoturbidimetrických metod. Koagulační metody se využívají pro stanovení protrombinového času, trombinového času a k vyšetření

jednotlivých koagulačních faktorů, kdy se sleduje doba srážení krve. Chromogenní metody jsou založeny na barevné změně substrátu a využívají se hlavně pro stanovení anti-Xa. Imunoturbidimetrickými metodami je stanovena hladina D-dimerů. Zde se využívá změna průchodnosti světla vzorkem, která je způsobena vznikem agregátů reakcí Ag-Ab. Hodnoty u D-dimerů jsou stanoveny v mg/L (Roučková, 2019).

Po provedené analýze jsou výsledky interpretovány laboratorním analytikem dle příslušných referenčních rozmezí. Výsledek může být ovlivněn několika faktory, například věkem pacienta, užíváním léků, graviditou a dalšími. Významným příkladem je právě gravidita, protože během gravidity dochází ke zvyšování hladin koagulačních faktorů a D-dimerů. Proto je důležité myslet na tyto faktory pro správnou interpretaci výsledků.

Poté jsou výsledky uvolněny a společně s identifikací pacienta elektronicky exportovány do Nemocničního informačního systému (NIS). Na základě laboratorních výsledků lékař určí nasazení antikoagulační léčby a následně zváží potřebné sledování pacientky v průběhu gravidity a šestinedělí.

7.4 Získání a úprava dat

Všechna data použita v této diplomové práci byla získána z NIS AKH Nemocnice České Budějovice, a. s. Z důvodu zaměření práce na gravidní ženy byla vyselektována data pacientek v reprodukčním věku (22-38 let). Jednalo se o pacientky, které v letech 2016-2018 navštívily AKH. Celkem bylo získáno 1318 záznamů od 468 žen, kdy byla ponechána jejich poslední návštěva AKH. Gravidních pacientek bylo v době vyšetření 342.

U gravidních žen bylo v NIS vyhledáno několik sledovaných faktorů – rodinná a osobní anamnéza (RA, OA), způsob početí, týden těhotenství v době vyšetření, antikoagulační profylaxe LMWH, týden počátku profylaxe a přítomnost vrozeného hyperkoagulačního stavu. Soubor obsahoval rok narození pacientky a hladinu D-dimerů laboratorně stanovenou v den vyšetření.

Následně byl v porodopisech na oddělení Neonatologie Nemocnice České Budějovice, a. s. vyhledán výsledek gravidity – týden porodu, typ porodu a porodní váha plodu udávána v gramech (g). Soubor se tímto zmenšil na 228 gravidních žen, jelikož ne všechny pacientky AKH rodily v českobudějovické nemocnici.

Všechna data byla zaznamenávána do souboru vytvořeného v programu Microsoft Excel 2016. Část vytvořeného souboru zobrazuje následující obrázek (viz Obr. 7).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
1	Týden porodu	Typ porodu	Porodní váha	Rok narození	Věk	RA Trombozy	RA potraty	OA Trombozy	OA potraty	Gravidní	Týden těhot	IVF	LMWH	Léčba od týdne	Leiden	Protrombin	Mutace	P_D-di
2	36	1	3200	1988	28	1	0	0	0	1	23	0	1	23	1	0	1	1,4
3	36	1	2590	1990	26	1	0	0	1	1	27	0	1	27	0	1	1	1,44
4	38	2	2680	1983	33	0	0	1	0	1	33	0	1	33	0	1	1	1,5
5	39	3	3180	1981	35	1	0	0	0	1	37	0	1	37	0	0	0	1,34
6	40	3	3370	1987	29	1	0	0	1	1	37	0	1	37	1	0	1	2,19
7	39	1	3920	1980	36	1	0	0	0	1	36	0	1	36	0	1	1	1,47
8	38	3	3570	1979	37	0	0	0	3	1	33	0	1	33	1	0	1	0,89
9	38	1	3330	1988	28	0	0	0	1	1	37	0	0	0	0	1	1	1,33
10	39	1	2690	1992	24	1	0	0	0	1	36	0	1	36	0	1	1	1,18
11	37	1	2640	1984	32	1	0	0	2	1	36	0	1	36	1	0	1	2,82
12	40	1	3620	1982	34	0	0	0	0	1	17	0	1	17	1	0	1	0,85
13	40	1	3950	1985	31	0	0	1	0	1	35	0	0	0	0	0	0	9,02
14	39	1	2850	1988	28	0	0	1	0	1	37	0	1	30	0	0	0	1,06
15	42	1	4080	1989	27	3	0	0	1	1	38	0	1	33	1	0	1	2,36
16	40	2	3040	1980	36	1	0	0	1	1	37	0	1	31	0	1	1	0,88
17	40	3	4000	1986	30	0	0	1	0	1	36	0	1	27	0	0	0	0,97
18	38	1	3580	1992	24	3	0	0	0	1	34	0	0	0	0	0	0	1,12
19	39	1	3020	1983	33	1	0	1	0	1	35	0	1	28	1	0	1	1
20	40	1	3250	1986	30	0	0	0	0	1	37	0	1	32	1	0	1	2,98
21	38	3	3420	1985	31	0	0	0	0	1	20	0	1	20	1	0	1	0,89
22	39	3	3370	1990	26	0	0	0	0	1	37	0	1	37	1	0	1	0,92
23	37	3	2370	1992	24	0	0	0	0	1	36	0	1	28	0	1	1	2,47
24	40	1	2900	1985	31	0	0	0	2	1	36	0	1	28	1	0	1	1,95
25	36	2	3250	1981	35	0	0	0	0	1	18	0	1	18	1	0	1	0,77
26	35	3	1910	1987	29	1	0	1	0	1	23	0	1	23	0	0	0	1,29
27	40	2	3860	1986	30	0	0	1	0	1	37	0	1	27	1	0	1	1,46
28	40	3	4080	1983	33	0	0	0	0	1	37	1	1	0	1	0	1	1,5

Obr. 7: Část vytvořeného souboru. Vysvětlivky: **RA trombozy** 0 – nikdo, 1 – rodič, sourozenec, 2 – oba rodiče, více sourozenců, 3 – kombinace, vzdálený příbuzný; **RA, OA potraty** 0, 1, 2, 3 – počet; **OA trombozy** 0 – ne, 1 – ano; **IVF** 0 – ne, 1 – ano; **LMWH** 0 – ne, 1 – ano; **Mutace** 0 – wild type, 1 – heterozygot, 2 – homozygot; **Typ porodu** 1 – spontánní, 2 – indukovaný, 3 – císařský řez

Za účelem kvality dat byly pro statistické zpracování použity údaje, které měly kompletní datové sady.

7.5 Statistické zpracování dat

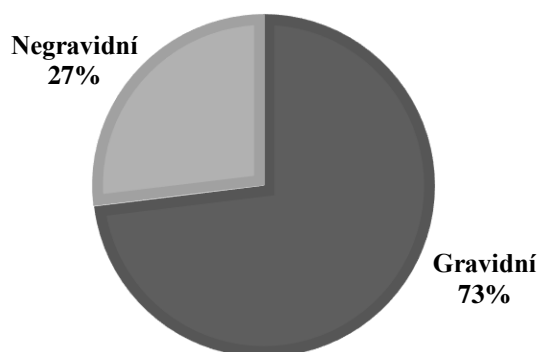
Všechna získaná data byla upravena v programu Microsoft Excel 2016. Následná statistická analýza byla provedena v programu Statistica 13.2 (Dell Inc. 2016). Před vyhodnocením jednotlivých cílů práce byla ověřena normalita dat využitím Kolmogorov-Smirnovova testu normality. Při normálním rozdělení dat u porovnání rozdílu věku a porodní váhy plodu dvou skupin žen byla statistická významnost testována pomocí dvouběžového t-testu. U porovnání více skupin byl použit parametrický test ANOVA, u statisticky významných případů doplněn post-hoc Tukeyho testem. U D-dimerů, které nepocházely z normálního rozdělení, byl využit neparametrický Mann-Whitneyho test. U vlivu dalších faktorů kategorizovaných dle způsobu početí bylo ověření statistické významnosti provedeno pomocí dvou faktorové ANOVY. Veškerá statistická průkaznost byla testována na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Souhrnné hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr \pm střední chyba průměru (SEM).

Před analýzou vlivu způsobu početí na výsledek gravidity byl zjištěn korelační vztah mezi porodní váhou plodu a týdnem porodu použitím neparametrického testu Spearmanova korelačního koeficientu. Na základě pozitivní korelace byl testován vliv způsobu početí a dalších sledovaných faktorů na porodní váhu plodu, jakožto kvalitnější ukazatel.

8 Výsledky

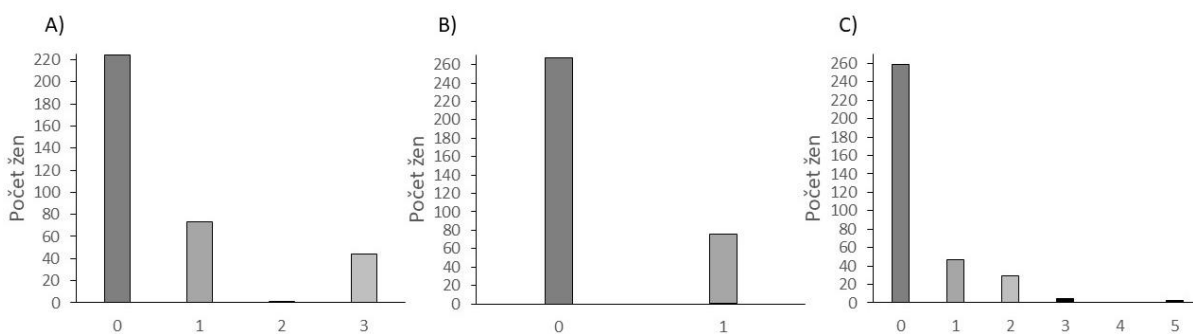
8.1 Základní charakteristika souboru

V letech 2016-2018 bylo na AKH Nemocnice České Budějovice, a. s. vyšetřeno 468 žen ve věku 22-38 let. Téměř 75 % žen bylo v době vyšetření gravidních (viz Obr. 8). Jelikož se v této práci pracovalo pouze s ženami gravidními, zbývající ženy do výsledného datového souboru zahrnuty nebyly.



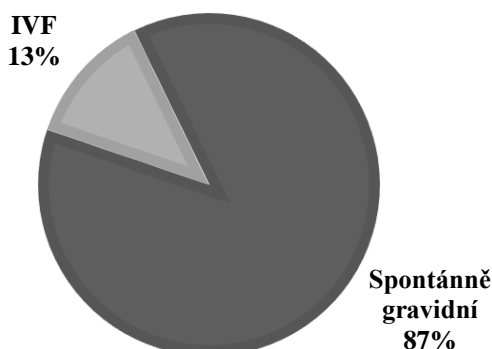
Obr. 8: Zastoupení gravidních a negravidních žen ($N_{(\text{gravidni})} = 342$, $N_{(\text{negravidni})} = 126$).

U gravidních žen byla v NIS AKH dohledána RA a OA, kdy pozitivní anamnéza bývá hlavním důvodem návštěvy AKH. Přítomnost TEN se v RA objevila u necelých 35 % žen (viz Obr. 9A), v OA u 22 % žen (viz Obr. 9B). V RA to pak bývá nejčastěji výskyt TEN u jednoho rodiče nebo sourozence do věku 50 let. Zatímco potraty se v RA téměř nevyskytovaly, v OA došlo k potratu u 24 % žen (viz Obr. 9C), nejčastěji k jednomu či dvěma potratům.



Obr. 9: **A)** Výskyt TEN v RA. **B)** Výskyt TEN v OA. **C)** Výskyt potratů v OA. Vysvětlivky: **A)** 0 – nikdo, 1 – jeden rodič, sourozenec, 2 – oba rodiče, více sourozenců, 3 – kombinace, vzdálení příbuzní; **B)** 0 – ne, 1 – ano; **C)** 0, 1, 2, 3, 4, 5 - počet.

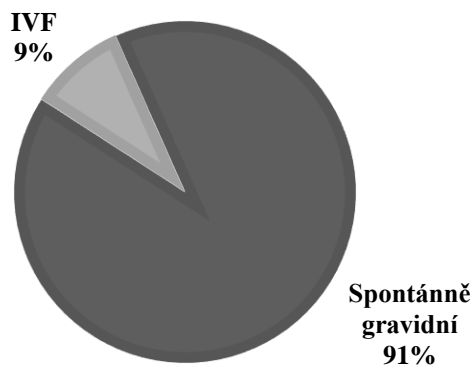
AKH nicméně nenavštěvují pouze spontánně gravidní ženy s pozitivní anamnézou, ale také ženy podstupující IVF. Z důvodu zaměření této práce právě na IVF byly pacientky rozděleny na spontánně gravidní ženy a na ženy po IVF (viz Obr. 10).



Obr. 10: Zastoupení spontánní gravidity a IVF v původním souboru ($N_{(IVF)} = 43$, $N_{(spontánně\ gravidní)} = 299$).

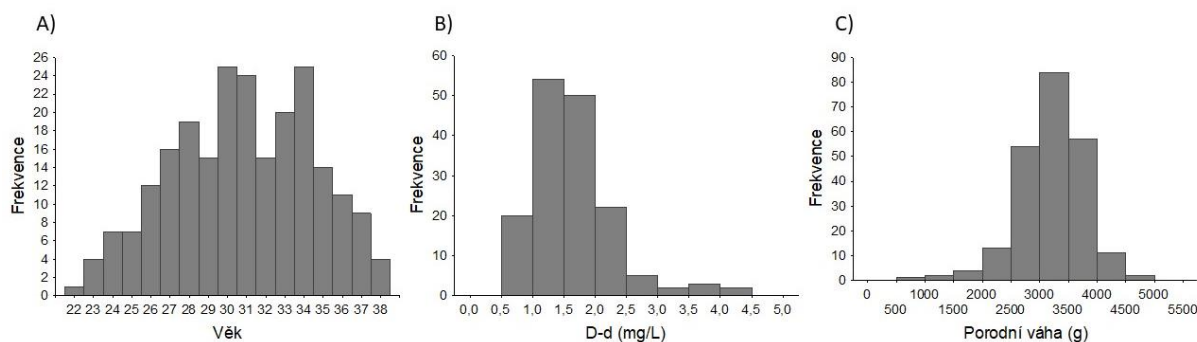
Z grafu na obrázku 10 je zřejmé, že zastoupení žen podstupujících pro graviditu IVF byla přibližně desetina z celkového počtu gravidních žen. Ostatní ženy byly gravidní spontánně.

Výsledný soubor gravidních žen se však ještě zmenšil z důvodu nemožnosti dohledat výsledek gravidity u všech patientek AKH. Nicméně zastoupení IVF zůstalo podobné (viz Obr. 11).



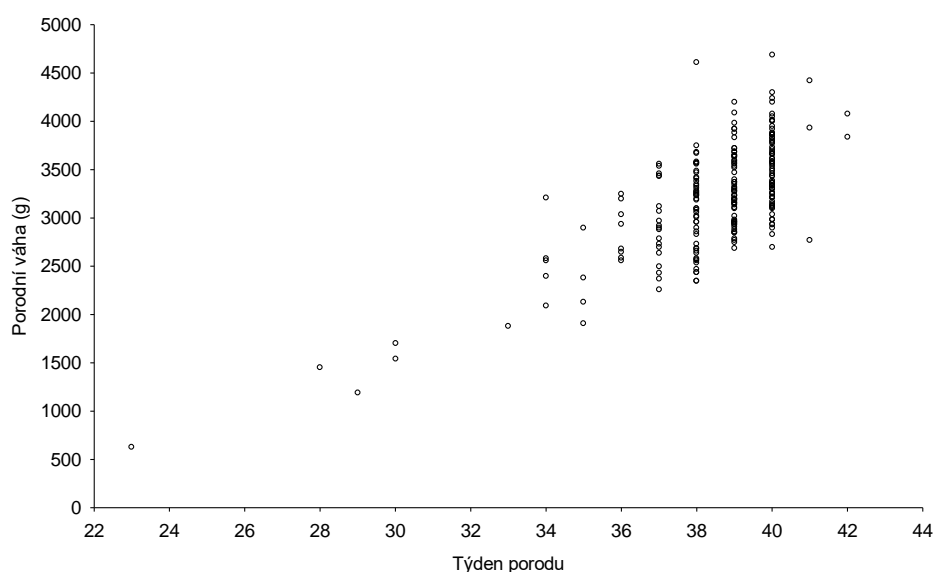
Obr. 11: Zastoupení spontánní gravidity a IVF ve výsledném souboru ($N_{(IVF)} = 21$, $N_{(spontánně\ gravidní)} = 207$).

Pro následující cíle práce bylo testováno normální rozdělení dat některých sledovaných faktorů. Jednalo se o věk žen, hladinu D-dimerů ve 3. trimestru těhotenství a porodní váhu plodu (viz Obr. 12). Věk žen a porodní váha plodu měly normální rozdělení a statistická významnost byla tedy testována využitím parametrických testů. Hladina D-dimerů nezaujímal normální rozdělení, proto byl použit neparametrický test a porovnání hladiny bylo znázorněno pomocí grafu box-plot.



Obr. 12: A) Normální rozdělení věku žen ($p = 0,136$). B) Rozdělení hladiny D-dimerů ve 3. trimestru ($p = 0,000$). C) Normální rozdělení porodní váhy plodu ($p = 0,144$).

U porodní váhy plodu byl zároveň zjištěn pozitivní korelační vztah s týdnem porodu (viz Obr. 13). V práci tedy byla využita porodní váha plodu.

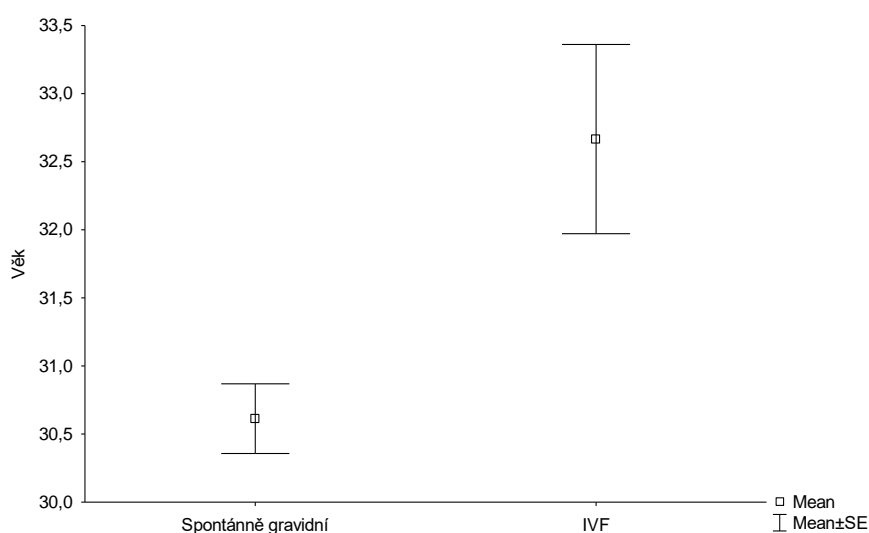


Obr. 13: Porodní váha plodu v závislosti na týdnu porodu ($r_s = 0,569$; $p < 0,05$; $N = 228$).

8.2 Odlišnost sledovaných faktorů u IVF a spontánní gravidity

V této části práce budou popsány rozdíly sledovaných faktorů u žen po IVF a spontánně gravidních žen. Mezi sledované faktory patří věk, profylaxe LMWH, přítomnost vrozeného hyperkoagulačního stavu (mutace FV Leiden a mutace protrombinu) a hladina D-dimerů ve 3. trimestru těhotenství.

Prvním sledovaným faktorem byl věk gravidních žen. Ženy podstupující IVF byly ve vyšší věkové kategorii než spontánně gravidní ženy (viz Obr. 14).



Obr. 14: Průměrný věk u sledovaných skupin gravidních žen ($N_{(\text{spontánně gravidní})} = 207$, $N_{(\text{IVF})} = 21$). Znázorněn průměrný věk \pm SEM.

Z grafu lze pozorovat, že průměrný věk spontánně gravidních žen byl $30,61 \pm 0,26$ let a žen po IVF $32,67 \pm 0,69$ let. Ženy podstupující IVF byly tedy přibližně o 2 roky starší. U věku žen byl prokázán statisticky významný rozdíl ($t = -2,463$; $p < 0,05$).

Dalším sledovaným faktorem u gravidních pacientek AKH bylo zahájení profylaxe LMWH. Profylaxe bývá u gravidních žen zahájena nejčastěji během 3. trimestru těhotenství. Nicméně u žen po IVF je profylaxe LMWH zahájena zpravidla již na počátku těhotenství z důvodu zlepšení výsledku gravidity a vysokého rizika vzniku TEN. U některých pacientek však není potřeba nasazení LMWH během celé gravidity.

V tomto datovém souboru byl u všech žen po IVF s výjimkou dvou nasazen LMWH na počátku těhotenství. U spontánně gravidních žen byla indikována profylaxe u 80 % pacientek. Doba její zahájení byla především ke konci 2. trimestru a nejčastěji během

3. trimestru těhotenství (viz Tab. VIII). Profylaxe LMWH pak většinou končí v průběhu šestinedělí.

Tab. VIII: Zastoupení gravidních žen s indikací LMWH v průběhu těhotenství.

	Spontánní gravidita		IVF	
	počet	procenta	počet	procenta
1. trimestr	26	12 %	19	91 %
2. trimestr	69	33 %	1	4,5 %
3. trimestr	72	35 %	1	4,5 %
Celkem	167	80 %	21	100 %

Pozn.: 1. trimestr: 1. – 13. týden, 2. trimestr: 14. – 27. týden, 3. trimestr: 28. – 40 týden.

Doba zahájení profylaxe však také souvisí s přítomností vrozeného hyperkoagulačního stavu. V této práci byla sledována přítomnost dvou nejčastěji se vyskytujících vrozených trombofilií, tj. Leidenské mutace a mutace protrombinu.

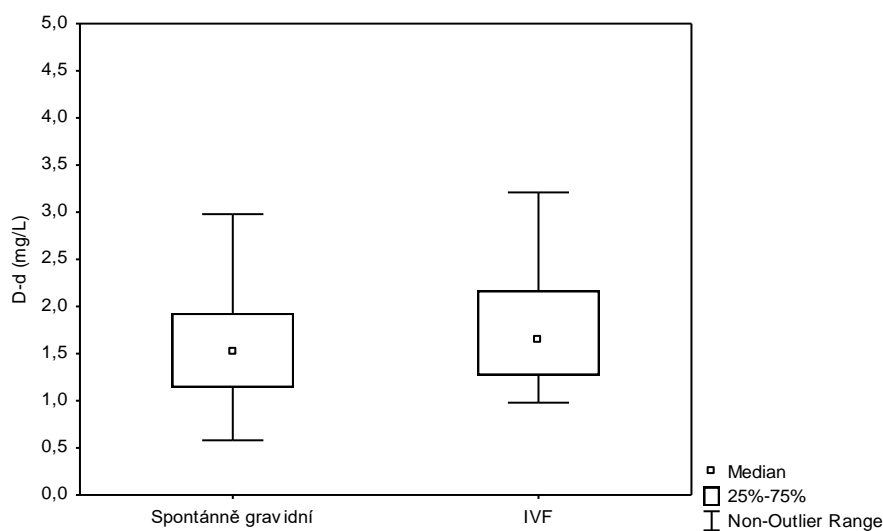
Heterozygotní forma Leidenské mutace se vyskytovala u 54 % spontánně gravidních žen a 67 % žen po IVF. Zastoupení mutace protrombinu v heterozygotní formě bylo menší, a to 15,5 % u spontánní gravidity a 28,5 % u IVF (viz Tab. IX). Přítomnost obou mutací u jedné pacientky se vyskytovala velmi vzácně a homozygotní forma mutace nebyla ve výsledném souboru přítomna.

Tab. IX: Zastoupení gravidních žen s vrozenou trombofilií.

	Spontánní gravidita		IVF	
	počet	procenta	počet	procenta
Leidenská mutace	112	54 %	14	67 %
Mutace protrombinu	32	15,5 %	6	28,5 %
Celkem	144	69,5 %	20	95,5 %

Z tabulky lze vidět, že mutace byla přítomna téměř u 70 % spontánně gravidních žen a ve většině případů u žen po IVF. Pokud je tedy u gravidní ženy prokázán vrozený trombofilní stav, bude u ní pravděpodobně zahájena profylaxe LMWH.

Posledním sledovaným faktorem pro porovnání odlišnosti dvou způsobů gravidity je hladina D-dimerů. Nejvyšší vzestup hladiny D-dimerů lze pozorovat během 3. trimestru těhotenství. Jelikož byla ve výsledném souboru ponechána poslední návštěva AKH, byla porovnána hladina D-dimerů právě ve 3. trimestru těhotenství (viz Obr. 15). Nicméně ne všechny ženy navštívily AKH ve 3. trimestru, proto zde nejsou zahrnuty všechny ženy z výsledného souboru.



Obr. 15: Porovnání hladiny D-dimerů ve 3. trimestru u sledovaných skupin gravidních žen ($N_{\text{spontánně gravidní}} = 142$, $N_{\text{IVF}} = 16$). Znárodně medián, horní a dolní kvartil a rozsah hodnot.

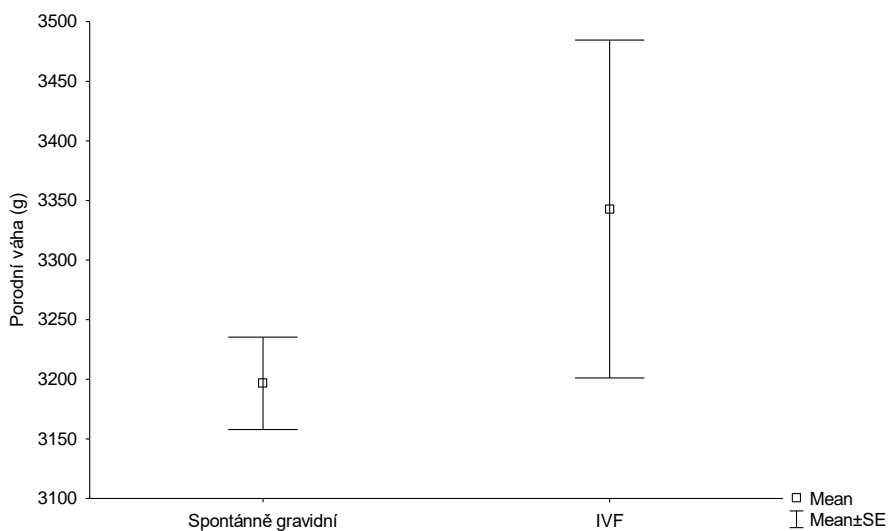
Průměrná hladina D-dimerů byla nižší u spontánní gravidity ($1,61 \pm 0,05$ mg/L) než u IVF ($1,90 \pm 0,23$ mg/L). I přesto, že je vidět patrný rozdíl v hladině D-dimerů u sledovaných skupin, nebyl tento rozdíl statisticky významný ($U = 945,5$; $p = 0,273$).

8.3 Vliv způsobu početí na výsledek gravidity

Druhá část práce je zaměřena na porovnání vlivu způsobu početí na výsledek gravidity. Jako v předchozí části zde bude porovnána skupina žen s přirozeným početím a pomocí IVF. Výsledkem gravidity je porodní váha plodu a typ porodu.

Asistovanou reprodukci vyhledává stále větší procento žen, v souboru pro tuto práci je jejich zastoupení přibližně 10 %. Gravidita po IVF je velmi riziková, ať už se jedná o vliv hormonální léčby, věku ženy či vícečetného těhotenství. U žen je často prováděn císařský řez a relativní riziko představuje také nízká porodní váha novorozence.

IVF může mít vliv právě na porodní váhu plodu z důvodu vyššího věku žen, který byl prokázán v předchozí části práce. Se zvyšujícím se věkem gravidních žen se snižuje porodní váha novorozence. Následující graf znázorňuje porovnání porodní váhy plodu u přirozeného početí a IVF (viz Obr. 16).



Obr. 16: Porovnání váhy novorozence u dvou způsobů početí ($N_{(\text{spontánně gravidní})} = 207$, $N_{(\text{IVF})} = 21$). Znáznorněna průměrná porodní váha \pm SEM.

Průměrná porodní váha u spontánní gravidity je 3196 ± 38 g a u IVF 3342 ± 141 g. Ačkoli rozdíl není statisticky významný ($t = -1,126$; $p = 0,261$) graf naznačuje trend vyšší porodní váhy u IVF. Nepotvrdila se však hypotéza nižší porodní váhy novorozence u žen po IVF.

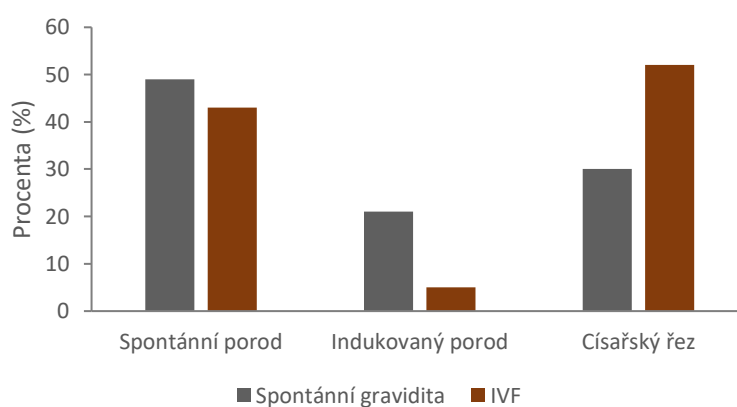
Nižší porodní váha u spontánně gravidních žen může být způsobena vysokým zastoupením porodní váhy plodu pod 2500 g. Nicméně bylo zjištěno, že porodní váha < 2500 g se vyskytovala pouze u 18 spontánně gravidních žen, tedy necelých 9 %. Zastoupení porodní váhy plodu ≥ 2500 g bylo u spontánní gravidity 91 % a u IVF 96 % a nemělo tedy vliv na nízkou porodní váhu u spontánní gravidity.

Druhým sledovaným výsledkem gravidity byl typ porodu. Byly zde porovnány tři typy porodu, a to spontánní porod, indukovaný porod a císařský řez. Počet žen dle jednotlivých typů porodů shrne následující tabulka (viz Tab. X).

Tab. X: Počet jednotlivých typů porodů u spontánní gravidity a IVF.

	Spontánní gravidita	IVF
Spontánní porod	102	9
Indukovaný porod	44	1
Císařský řez	61	11

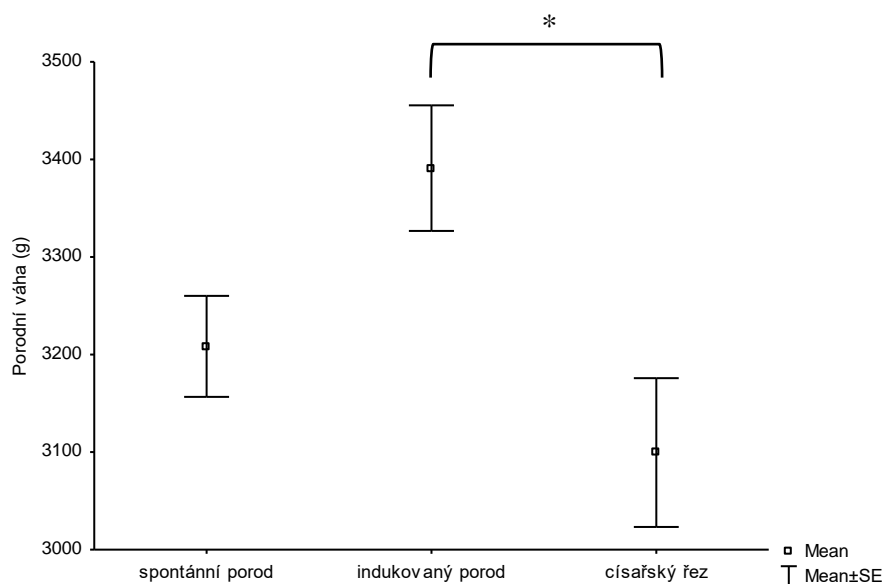
Hodnoty z Tab. X jsou vyneseny do grafu v procentuálním zastoupení (viz Obr. 17).



Obr. 17: Procentuální zastoupení typů porodů u spontánní gravidity a IVF.

Z předchozí tabulky a grafu je zřejmé, že přirozené početí končí nejčastěji spontánním porodem (49 %) zatímco u IVF je u více než 50 % proveden císařský řez. Způsob početí má tedy pravděpodobně vliv také na typ porodu.

Typ porodu může dále ovlivňovat porodní váhu novorozence. Na základě vytvořeného grafu (viz Obr. 18) a provedeného statistického testu byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi typy porodu ($F = 3,745$; $p < 0,05$). Pomocí post-hoc testu byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi indukovaným porodem a císařským řezem ($p < 0,05$).



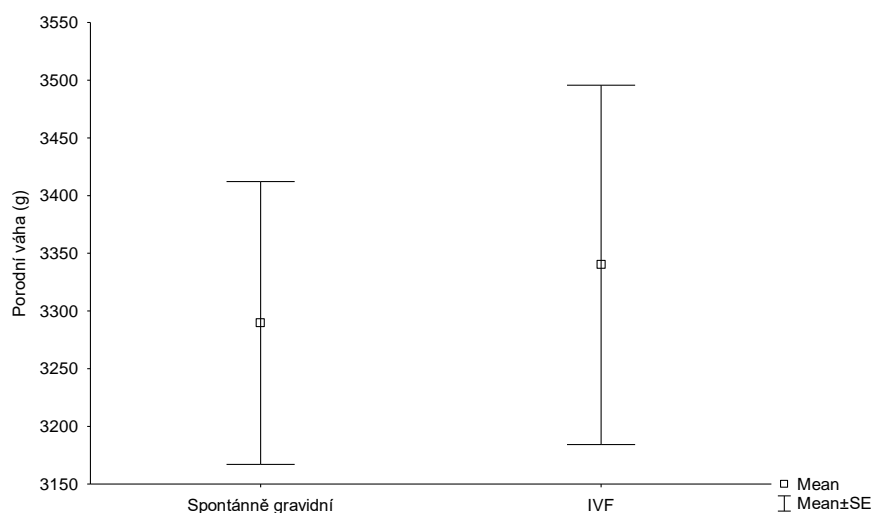
Obr. 18: Porovnání porodní váhy plodu dle typu porodu ($N_{(\text{spontánní porod})} = 111$, $N_{(\text{indukovaný porod})} = 45$, $N_{(\text{císařský řez})} = 72$); * - $p < 0,05$). Znáznorněna průměrná porodní váha \pm SEM.

Z grafu lze pozorovat nejnižší porodní váhu u císařského řezu (3099 ± 76 g) a nejvyšší pak u indukovaného porodu (3391 ± 64 g). Průměrná porodní váha u spontánního porodu je 3208 ± 51 g. Vliv typu porodu na porodní váhu plodu kategorizovaný dle způsobu početí bude shrnut v následující kapitole.

8.4 Vliv dalších faktorů na porodní váhu plodu dle způsobu početí

Poslední část práce je zaměřena na porovnání vlivu dalších sledovaných faktorů na výsledek gravidity, převážně tedy porodní váhu novorozence, rozdělených dle způsobu početí. Jedná se zejména o vliv nasazení LMWH během 1. trimestru, vliv přítomnosti vrozené trombofilie a typ porodu.

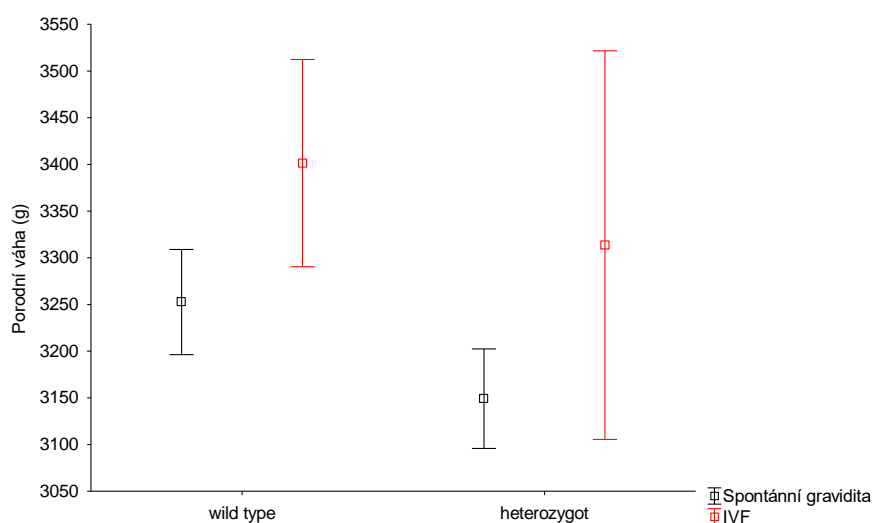
Jelikož téměř u všech žen po IVF byla zahájena profylaxe LMWH během 1. trimestru těhotenství, byl porovnán vliv této časně léčby na porodní váhu plodu u obou skupin žen (viz Obr. 19). Z výsledného souboru byly vybrány pouze ženy se zahájením užívání LMWH v průběhu 1. trimestru.



Obr. 19: Vliv užívání LMWH od 1. trimestru těhotenství u obou skupin gravidních žen ($N_{\text{spontánně gravidní}} = 26$, $N_{\text{IVF}} = 19$). Znáznorněna průměrná porodní váha \pm SEM.

Podle grafu lze usoudit, že užívání LMWH může mít vliv na porodní váhu plodu, jelikož porodní váha u spontánní gravidity (3289 ± 122 g) a IVF (3340 ± 155 g) se lišila pouze o necelých 51 g. Rozdíl tudíž nebyl statisticky významný ($t = 0,258$; $p = 0,798$).

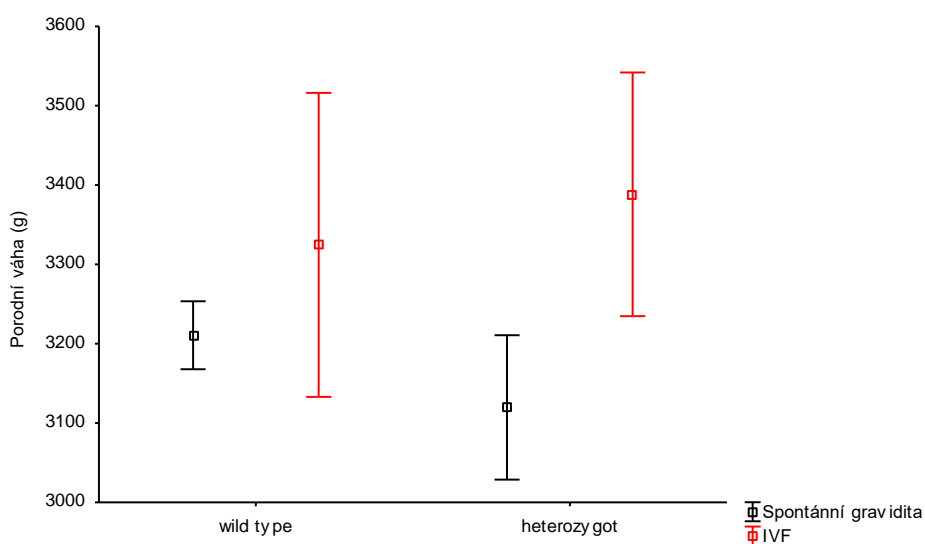
Prvním sledovaným vrozeným hyperkoagulačním stavem byla Leidenská mutace. Za použití kategorizovaného grafu byla porovnána porodní váha plodu u přítomnosti heterozygotní formy Leidenské mutace (viz Obr. 20).



Obr. 20: Vliv přítomnosti mutace FV Leiden na porodní váhu plodu kategorizovaný dle způsobu početí (**wild type:** $N_{\text{spontánní gravidita}} = 95$, $N_{\text{IVF}} = 7$; **heterozygot:** $N_{\text{spontánní gravidita}} = 112$, $N_{\text{IVF}} = 14$). Znáznorněna průměrná porodní váha \pm SEM.

Z grafu lze vidět, že porodní váha plodu je nižší u heterozygotní formy mutace, a to jak u spontánní gravidity (3149 ± 53 g), tak u IVF (3313 ± 208 g). Nicméně vliv způsobu početí ($F = 1,304$; $p = 0,255$), přítomnosti mutace ($F = 0,487$; $p = 0,486$) ani interakce obou faktorů ($F = 0,003$ $p = 0,955$) není statisticky průkazný. Rozdíl nelze považovat za statisticky významný.

Druhou sledovanou vrozenou trombofilií byla mutace protrombinu. Ta byla přítomna u 28 % žen po IVF a 15 % spontánně gravidních žen. Vliv přítomnosti mutace protrombinu na porodní váhu novorozence dle způsobu početí byl vyneseno do grafu (viz Obr. 21). Problém opět představovalo malé zastoupení žen v souboru.



Obr. 21: Vliv přítomnosti mutace protrombinu na porodní váhu plodu kategorizovaný dle způsobu početí (**wild type**: $N_{(\text{spontánní gravidita})} = 175$, $N_{(\text{IVF})} = 15$; **heterozygot**: $N_{(\text{spontánní gravidita})} = 32$, $N_{(\text{IVF})} = 6$). Znázorněna průměrná porodní váha \pm SEM.

Zatímco nejnižší porodní váha plodu se vyskytuje u spontánně gravidních žen s přítomností heterozygotní formy mutace protrombinu (3119 ± 91 g), nejvyšší porodní váhu lze pozorovat u žen po IVF s přítomností mutace (3388 ± 153 g), a to dokonce vyšší než u žen po IVF bez této mutace. Statistickým testem však nebyla potvrzena statistická významnost rozdílu. Vliv způsobu početí ($F = 1,675$; $p = 0,197$), přítomnosti mutace ($F = 0,009$; $p = 0,926$) ani interakce obou faktorů ($F = 0,274$; $p = 0,601$) není statisticky průkazný.

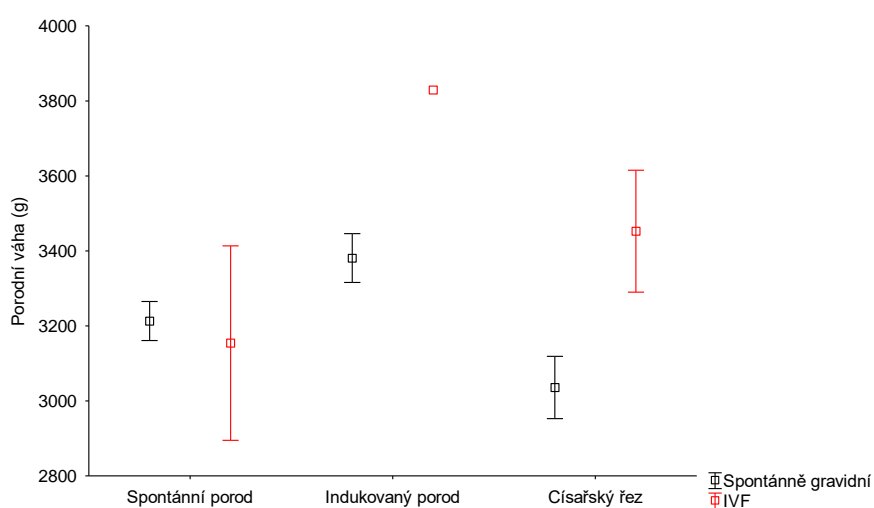
Průměrnou porodní váhu plodu u sledovaných mutací shrnuje tabulka XI (viz Tab. XI).

Tab. XI: Průměrné hodnoty porodní váhy plodu u sledovaných mutací dle způsobu početí.

		Spontánní gravidita	IVF
Leidenská mutace	Wild type	3252 ± 56 g	3401 ± 111 g
	Heterozygot	3149 ± 53 g	3313 ± 208 g
Mutace protrombinu	Wild type	3210 ± 42 g	3324 ± 191 g
	Heterozygot	3119 ± 91 g	3388 ± 153 g

Porodní váha plodu je ve všech případech vyšší u IVF než u spontánní gravidity. U IVF s přítomností Leidenské mutace je porodní váha o něco nižší než bez této mutace. Naopak u mutace protrombinu je porodní váha plodu vyšší u žen s prokázanou mutací, nicméně tento rozdíl je velmi malý. U spontánně gravidních žen pozorujeme nižší porodní váhu s přítomností mutace.

Posledním sledovaným faktorem je typ porodu u dvou sledovaných skupin žen a jeho vliv na porodní váhu novorozence (viz Obr. 22). U IVF jsme mohli pozorovat více než 50% zastoupení císařského řezu spojeného s nízkou porodní váhou plodu. Naopak u spontánní gravidity byl nejčastější spontánní porod, jehož porodní váha byla cca 3200 g.



Obr. 22: Vliv typu porodu na porodní váhu plodu kategorizovaný dle způsobu početí (**spontánní porod**: $N_{(\text{spontánní gravidita})} = 102$, $N_{(\text{IVF})} = 9$; **indukovaný porod**: $N_{(\text{spontánní gravidita})} = 44$, $N_{(\text{IVF})} = 1$; **císařský řez**: $N_{(\text{spontánní gravidita})} = 61$, $N_{(\text{IVF})} = 11$). Znázorněna průměrná porodní váha ± SEM.

Z grafu lze pozorovat, že porodní váha u spontánního porodu obou skupin žen se pohybuje okolo 3200 g. Zajímavostí je však císařský řez. U spontánní gravidity je porodní váha nízká (3035 ± 83 g) a souhlasí tedy s průměrem z předchozí kapitoly. Nicméně u IVF je to 3452 ± 162 g, což je přibližně o 350 g více než průměrná porodní váha císařského řezu. Přestože je tedy u IVF velké zastoupení císařského řezu spojeného s nízkou porodní váhou novorozence, průměrná porodní váha je u tohoto způsobu početí vyšší, ne však statisticky významná z důvodu malého zastoupení žen. Vliv způsobu početí ($F = 1,678$; $p = 0,197$), typu porodu ($F = 1,010$; $p = 0,366$) ani interakce obou faktorů ($F = 1,695$; $p = 0,186$) není statisticky průkazný.

9 Diskuse

Graviditu lze označit jako hyperkoagulační stav, kdy dochází k mnoha fyziologickým změnám. Jedny z významných změn představují změny v koagulaci krve. Z tohoto důvodu ženy často navštěvují Ambulanci klinické hematologie, nicméně velký vliv má také pozitivní rodinná či osobní anamnéza, již prokázáný vrozený trombofilní stav či obava z výskytu TEN během gravidity a šestinedělí.

Pro analýzu hyperkoagulačních stavů v graviditě byl vytvořen soubor sledovaných faktorů z NIS na AKH Nemocnice České Budějovice, a. s. u pacientek v reprodukčním věku. Soubor zahrnoval 342 gravidních žen ve věku 22-38 let, kdy téměř 35 % z nich mělo pozitivní rodinnou anamnézu TEN do 50. roku života. Pozitivní osobní anamnéza TEN se vyskytla u 22 % žen a k potratu v OA došlo u 24 % žen.

Tato diplomová práce se však zabývá porovnáním výskytu hyperkoagulačních stavů a výsledku gravidity u přirozeného početí a asistované reprodukce. Hlavní metodou asistované reprodukce je in vitro fertilizace. Jelikož gravidita po IVF může být velmi riziková, ženy podstupující tento způsob reprodukce taktéž navštěvují AKH z důvodu obav ze vzniku TEN a správného průběhu těhotenství. Soubor byl proto rozdělen na spontánně gravidní ženy a ženy po IVF. IVF podstupuje čím dál více žen, v této práci bylo jejich původní zastoupení 13 %.

Výsledný soubor pro analýzu dat se však zmenšil vyhledáváním výsledku gravidity na oddělení Neonatologie Nemocnice České Budějovice, a. s. To bylo způsobeno nemožností dohledat výsledek gravidity u všech žen, jelikož ne všechny pacientky AKH porodily na tomto oddělení. Zastoupení žen po IVF se zmenšilo na necelých 10 %. Zatímco spontánně gravidních žen bylo 207, žen po IVF pouze 21. V celé práci se tedy pracovalo s malým zastoupením žen podstupujících IVF.

První část práce se zabývala odlišností sledovaných faktorů u spontánní gravidity a IVF. Prvním faktorem byl věk gravidních pacientek. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl věku mezi spontánně gravidními ženami a ženami po IVF. Průměrný věk u spontánní gravidity byl $30,61 \pm 0,26$ let, u IVF $32,67 \pm 0,69$ let, přibližně tedy o 2 roky více. Tím byla potvrzena hypotéza staršího věku žen po IVF. Rozdíl může být způsoben rozhodnutím pro IVF až po určitém časovém úseku, kdy nedošlo k přirozenému oplodnění či zvyšováním reprodukčního věku žen. Zvyšující se věk žen podstupujících IVF je potvrzen dle statistických údajů NRAR. V roce 2007 byl průměrný věk žen po IVF 33,4 let, zatímco v roce 2017 je to již 35,8 let (Řežábek, Pohlová, 2019). Výrazně vyšší průměrný věk u IVF také potvrzuje

nedávno provedená studie. Zde byl průměrný věk u spontánní gravidity 31,8 let a u IVF 34,1 let (Fan et al., 2018).

Dále bylo provedeno porovnání doby zahájení profylaxe LMWH, přestože je známo podání terapie již na počátku těhotenství u IVF z důvodu zlepšení výsledků gravidity a vysokého rizika vzniku TEN. U 19 žen po IVF byl podáván LMWH od počátku těhotenství, pouze u 2 žen byl nasazen v průběhu gravidity. U spontánní gravidity je naopak LMWH podán nejčastěji až během 3. trimestru těhotenství, v některých případech není potřeba vůbec. Celkově byl LMWH podán 167 spontánně gravidním ženám (80 %). Zatímco ve 3. trimestru zahájilo profylaxi 72 spontánně gravidních žen (35 %), v 1. trimestru to bylo pouze 26 žen (12 %). Ve 2. trimestru zahájilo profylaxi 69 spontánně gravidních žen (33 %), u většiny z nich to však bylo ke konci tohoto trimestru.

Studie poukazují na neutrální vliv časného podání LMWH na úspěšnost gravidity u IVF, avšak pouze u žen bez vrozené trombofilie (Zeng, 2020; Yang et al., 2018). Jelikož se ve většině případů u IVF vyskytovala vrozená trombofilie (95,5 %), mohla mít tato skutečnost vliv právě na podání LMWH již na počátku těhotenství u většiny sledovaných žen. Leidenská mutace se vyskytovala přibližně 3× častěji než mutace protrombinu. U spontánně gravidních žen byla Leidenská mutace prokázána u 54 % žen, mutace protrombinu u necelých 16 %. Skupina IVF zahrnovala 67 % žen s prokázanou Leidenskou mutací a téměř 29 % žen s mutací protrombinu. Přítomnost mutací je v obou skupinách velmi podobná a nelze tedy říct, že ženy podstupující IVF mají vyšší výskyt vrozeného hyperkoagulačního stavu. Tuto skutečnost také potvrzuje studie porovnávající IVF a spontánní graviditu (Ricci et al., 2011). Zároveň zastoupení těchto mutací je velmi podobné s provedenou studií, kde se mutace FV Leiden vyskytla u 72 % pacientek a mutace protrombinu u 28 % pacientek (Sahebi et al., 2012).

Posledním sledovaným faktorem byla hladina D-dimerů laboratorně stanovená ve 3. trimestru těhotenství. Do tohoto porovnání bylo zahrnuto 142 spontánně gravidních žen a 16 žen po IVF. Rozdíl v hladině D-dimerů nebyl statisticky významný, nicméně vyšší průměrná hladina byla pozorována u skupiny IVF ($1,90 \pm 0,23$ mg/L) než u spontánní gravidity ($1,61 \pm 0,05$ mg/L). Objevují se také informace, že vyšší hladina D-dimerů u IVF může být důvodem častějších potratů právě u tohoto způsobu početí. Zahájení časné profylaxe LMWH snižující hladinu D-dimerů by tudíž mohlo zvyšovat úspěšnost těhotenství (Di Nisio et al., 2014).

V následující části práce byl zjišťován vliv způsobu početí na výsledek gravidity. Primárně byla sledována porodní váha novorozence. Jelikož je dle provedených studií IVF často spojována s nízkou porodní váhou plodu (Kondapalli et al., 2013; Hayashi et al., 2012; D'Angelo et al., 2011), byla očekávána nižší průměrná váha právě u této skupiny žen. Nicméně rozdíl porodní váhy plodu naznačoval opačný trend, a to vyšší průměrnou váhu u IVF (3342 ± 141 g) než u spontánní gravidity (3196 ± 38 g). Rozdíl nebyl statisticky významný pravděpodobně z důvodu nízkého zastoupení žen po IVF. I přesto by se však nepotvrdila hypotéza nižší porodní váhy plodu narozeného pomocí IVF. Jelikož zastoupení porodní váhy plodu ≥ 2500 g bylo u obou skupin žen podobné, na nízkou porodní váhu u spontánní gravidity nemělo vliv ani vysoké zastoupení porodní váhy < 2500 g. Z hlediska vyššího věku žen po IVF, prokázaného v předchozí části práce, byla taktéž očekávána nižší porodní váha u této skupiny. Tuto skutečnost však nepotvrzují ani některé provedené studie (Kocourková et al., 2019; Molina-García et al., 2019), kde souvislost mezi vyšším věkem ženy a nízkou porodní váhou nebyla statisticky významná. Avšak studie (Kocourková et al., 2019) naznačuje nižší porodní váhu novorozenců narozených právě po IVF. Opačný výsledek v této práci může být způsoben malou skupinou žen po IVF či relativně nízkým věkovým průměrem u skupiny IVF ve srovnání s jinými studii uváděnými výše.

Druhým výsledkem gravidity byl typ porodu. Porovnání bylo provedeno u tří typů porodů (spontánní porod, indukovaný porod, císařský řez). Téměř u 50 % spontánně gravidních žen proběhl spontánní porod, zatímco u IVF byl nejčastěji proveden císařský řez (52 %). U spontánní gravidity byl u 61 žen (necelých 30 %) taktéž proveden císařský řez, spontánní porod u IVF proběhl u 9 žen (43 %). Nejnižší zastoupení u obou skupin představoval indukovaný porod. Vysoké zastoupení císařského řezu u skupiny IVF potvrzuje i literatura zabývající se komplikacemi gravidity právě po IVF (Kathalia et al., 2016; Egbe et al., 2016; Gautam, 2010).

Císařský řez je taktéž spojen s nízkou porodní váhou plodu. Provádí se nejčastěji z důvodu ohrožení plodu a snižuje tak úmrtnost novorozenců (Mari et al., 2018). Po vytvoření grafu a provedení statistického testu byl zjištěn významný statistický rozdíl v porodní váze u indukovaného porodu (3391 ± 64 g) a císařského řezu (3099 ± 76 g). Nižší porodní váhu plodů narozených císařským řezem bylo možné předpokládat. Průměrná hmotnost plodu u spontánního porodu byla 3208 ± 51 g.

V poslední kapitole byl vyhodnocen vliv dalších sledovaných faktorů na porodní váhu plodu dle způsobu početí. Prvním faktorem byl vliv nasazení LMWH během 1. trimestru těhotenství na porodní váhu novorozence. Do této analýzy byly zahrnuty pouze pacientky, u kterých začala profylaxe časně, tj. na počátku těhotenství, respektive během 1. trimestru. Spontánní gravidita zahrnovala 26 žen, IVF 19 žen. Dle vytvořeného grafu se mohlo zdát, že zahájení časně terapie může mít vliv na porodní váhu, jelikož průměrná váha se u spontánní gravidity (3289 ± 122 g) a IVF (3340 ± 155 g) lišila pouze o cca 51 g. To bylo téměř o 100 g méně než u porodní váhy plodu zahrnující všechny ženy bez ohledu na dobu zahájení užívání LMWH či bez něho (viz Kap. 8.3). Tuto skutečnost však nebylo možné porovnat s dostupnou literaturou, jelikož nebyly provedeny žádné studie, které by posuzovaly vliv LMWH přímo na porodní váhu novorozence (Lowry et al., 2019). Nicméně dle slov pana primáře Vonkeho časně podání LMWH na porodní váhu novorozence vliv nemá. LMWH je spíše využíván z důvodu prevence vzniku TEN u matky během gravidity a šestinedělí. Avšak v předchozí diplomové práci zabývající se vlivem LMWH na týden porodu bylo indikativně zjištěno, že pacientky užívající LMWH rodí o 2 týdny později, což může mít za důsledek vyšší porodní váhu (Kabelová, 2019).

Dále byl sledován vliv přítomnosti dvou nejčastěji se vyskytujících mutací koagulačních faktorů. Dle provedených studií je potvrzeno, že nositelky mutace faktoru V či II mají výrazně vyšší riziko komplikací v těhotenství zahrnující také porod plodu s nízkou porodní váhou (Nurk et al., 2006; Grandone et al., 2002). V této práci byl nejprve sledován vliv přítomnosti heterozygotní formy Leidenské mutace na porodní váhu plodu rozdělený dle způsobu početí. Po vytvoření grafu bylo zřejmé, že nižší porodní váha se u obou skupin žen vyskytuje s přítomností mutace (spontánní gravidita – 3149 ± 53 g; IVF – 3313 ± 208 g) než bez této mutace (spontánní gravidita – 3252 ± 56 g; IVF – 3401 ± 111 g). Nicméně rozdíl průměrné váhy nebyl statisticky významný ani u vlivu jednotlivých faktorů, ani u jejich interakce. Druhým sledovaným hyperkoagulačním stavem byla heterozygotní forma mutace protrombinu. Zde byl zajímavý výsledek u skupiny IVF, kde u nositelek mutace byla zaznamenána nejvyšší porodní váha plodu (3388 ± 153 g), dokonce vyšší než u této skupiny bez mutace (3324 ± 191 g). Nejnižší porodní váha pak byla u spontánně gravidních žen s mutací (3119 ± 91 g). Opět však nebyla potvrzena statistická významnost rozdílu. Pro přehlednost byla vytvořena tabulka (viz. Tab. XI), kde jsou zaznamenány průměrné porodní váhy plodu u obou skupin žen, a to jak s přítomností mutace, tak bez ní. Porodní váha byla vždy vyšší u skupiny IVF, což se dalo očekávat z hlediska vyšší průměrné porodní váhy bez ohledu na mutaci (viz Kap. 8.3).

Posledním sledovaným faktorem byl vliv typu porodu na porodní váhu plodu u obou skupin žen. U spontánního porodu byla očekávaná průměrná váha okolo 3200 g, což podle vytvořeného grafu souhlasilo u obou skupin žen (spontánní gravidita – 3213 ± 52 g; IVF – 3154 ± 259 g). Naopak u císařského řezu byla pravděpodobná nižší porodní váha, jelikož se většinou jedná o předčasné porody (Sala et al., 2018; Haque, 2008). To souhlasilo u spontánní gravidity (3035 ± 83 g), ne však u skupiny IVF. U této skupiny byla porodní váha o cca 350 g vyšší (3452 ± 162 g) než v předchozí části nerozlišující způsob početí (viz Kap. 8.3). Ačkoli je u skupiny IVF často prováděn císařský řez, v této práci nebyl spojen s nízkou porodní váhou. Rozdíly porodní váhy však nelze považovat za statisticky významné.

Závěrem lze usoudit, že mezi dvěma sledovanými skupinami žen nejsou téměř žádné významné rozdíly. Jediný významný rozdíl představuje vyšší průměrný věk u skupiny IVF, který se dal z důvodu okolností očekávat. Nicméně věkový průměr v této práci byl o něco nižší, než udávají dostupné zdroje. Dle výsledků nelze tvrdit, že u žen podstupující IVF se vykytuje vyšší frekvence komplikací. U této skupiny nebylo četnější zastoupení sledovaných vrozených trombofilií ani významně vyšší hladina D-dimerů. Za rozdíl lze považovat dobu zahájení profylaxe LMWH, nicméně u žen po IVF je zahájena profylaxe od počátku těhotenství převážně z důvodu vysokého rizika TEN vlivem hormonální léčby. Statisticky významný nebyl ani vliv způsobu početí na výsledek gravidity, tedy porodní váhu plodu. Za zmínku však stojí vyšší frekvence výskytu císařského řezu u IVF, který představuje určité komplikace gravidity. Jedná se zejména o nízkou porodní váhu plodů narozených tímto způsobem, avšak u skupiny IVF nebyla nižší průměrná váha prokázána. Dále bylo možné pozorovat nižší průměrnou porodní váhu u žen s vrozenou trombofilií (kromě mutace protrombinu u IVF), nicméně tento rozdíl se nedal prokázat. Výsledky také naznačovaly, že časné nasazení LMWH ovlivňuje porodní váhu plodu, avšak tato skutečnost se nedala porovnat s dostupnou literaturou.

10 Závěr

Na základě vytvořeného homogenního souboru dat pro statistické zpracování byly splněny tyto cíle:

- Byla porovnána odlišnost sledovaných faktorů u spontánní gravidity a IVF.
- Byl zjištěn vliv způsobu početí na výsledek gravidity.
- Byl vyhodnocen vliv dalších sledovaných faktorů na porodní váhu plodu.

Vytvořením grafů a tabulek a provedenou statistickou analýzou byly potvrzeny či vyvráceny dané hypotézy:

- Byla potvrzena hypotéza staršího věku ve skupině žen po IVF.
- Nepotvrdila se hypotéza vyšší frekvence komplikací u skupiny IVF, s výjimkou vyššího výskytu porodů císařským řezem.
- Ačkoli byla vlivem vyššího věku a vyšší četnosti císařského řezu očekávána nižší průměrná váha u IVF, nebyla potvrzena hypotéza nižší porodní váhy novorozence u této skupiny žen. Graf naznačoval spíše opačný trend, a to vyšší porodní váhu u IVF.
- Nebyl prokázán statisticky významný vliv přítomnosti vrozené trombofilie na výsledek gravidity, především na porodní váhu plodu.

11 Seznam použité literatury

ADAMS, REBECCA L C a ROBERT J BIRD, 2009. Review article: Coagulation cascade and therapeutics update: Relevance to nephrology. Part 1: Overview of coagulation, thrombophilias and history of anticoagulants. *Nephrology*. **14**(5), 462-470.

BOUNDS, Emily J. a Stephanie J. KOK, 2020. *D dimer*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. [cit. 2020-09-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431064/>

BRENNER, Benjamin, 2005. Thrombophilia in Pregnancy and its Role in Abortion. *Women's Health*. **1**(1), 35-38.

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

BULTAS, Jan a Debora KARETOVÁ, 2011. Nízkomolekulární hepariny - jejich význam v současné praxi. *Interní medicína pro praxi*. **13**(11), 440-444.

CROLES, F Nanne, Kazem NASSERINEJAD, Johannes J DUVEKOT, Marieke JHA KRUIP, Karina MEIJER a Frank WG LEEBEEK, 2017. Pregnancy, thrombophilia, and the risk of a first venous thrombosis: systematic review and bayesian meta-analysis. *BMJ*. **2017**(359), 1-12.

D'ANGELO, Denise V., Nedra WHITEHEAD, Kristen HELMS, Wanda BARFIELD a Indu B. AHLUWALIA, 2011. Birth outcomes of intended pregnancies among women who used assisted reproductive technology, ovulation stimulation, or no treatment. *Fertility and Sterility*. **96**(2), 314-320.

Deep Vein Thrombosis, 2018. In: *Home Health Care* [online]. United States [cit. 2020-09-04]. Dostupné z: <https://www.sonashomehealth.com/what-is-deep-vein-thrombosis/>

DI NISIO, Marcello, Ettore PORRECA, Valeria DI DONATO a Gian TIBONI, 2014. Plasma concentrations of D-dimer and outcome of in vitro fertilization. *Journal of Ovarian Research*. **7**(58), 1-4.

DIAZ-GARCIA, Cesar, 2017. Our IVF Process in 7 Simple Steps. *IVI* [online]. UK: IVI [cit. 2020-09-10]. Dostupné z: <https://www.ivi.uk/blog/our-ivf-process-in-7-simple-steps/>

EGBE, Thomas Obinchemti, Guy SANDJON, Clovis OURTCHINGH, André SIMO, Eugene Belley PRISO a Jean-Louis BENIFLA, 2016. In-vitro fertilization and spontaneous pregnancies: matching outcomes in Douala, Cameroon. *Fertility Research and Practice*. **2**(1), 1-8.

FAN, M. J., C. TIAN, L. CHANG, X. Y. WANG a R. LI, 2018. Analysis of clinical factors on early pregnancy loss during in vitro fertilization-embryo transfer treatment and natural pregnancy. *Chinese Medical Association*. **53**(11), 755-760.

GABAZZA, E. C., O. TAGUCHI a K. SUZUKI, 2006. COAGULATION CASCADE | Protein C and Protein S. *Encyclopedia of Respiratory Medicine*. Cambridge: Academic Press, s. 519-525. ISBN 978-0-12-370879-3.

GALE, Andrew J., 2011. Current Understanding of Hemostasis. *Toxicologic Pathology*. **39**(1), 273-280.

GAUTAM, Allahbadia, 2010. Complications of IVF. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. **60**(4), 297-298.

GRANDONE, Elvira a Marizio MARGAGLIONE, et al., 2002. Lower birth-weight in neonates of mothers carrying factor V G1691A and factor II A(20210) mutations. *Haematologica*. **87**(2), 177-181.

GREEN, David, 2006. Coagulation cascade. *Hemodialysis International*. **10**(S2), S2-S4.

GREENBERG, Charles S., 2017. The Role of D-dimer Testing in Clinical Hematology and Oncology. *Clinical Advances in Hematology & Oncology*. **15**(8), 580-583.

GUTIÉRREZ GARCÍA, Irene, Pablo PÉREZ CAÑADAS, Juan MARTÍNEZ URIARTE, Olivia GARCÍA IZQUIERDO, María ANGELES JÓDAR PÉREZ a Luis GARCÍA DE GUADIANA ROMUALDO, 2018. D-dimer during pregnancy: establishing trimester-specific reference intervals. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. **78**(6), 439-442.

HAQUE, Khalid N., Anne-Maria HAYES, Zeeshan AHMED, Rachel WILDE a Choong YI FONG, 2008. Caesarean or vaginal delivery for preterm very-low-birth weight ($\leq 1,250$ g) infant: experience from a district general hospital in UK. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. **277**(3), 207-212.

HAYASHI, Masako, Akihito NAKAI, Shoji SATOH a Yoshio MATSUDA, 2012. Adverse obstetric and perinatal outcomes of singleton pregnancies may be related to maternal factors associated with infertility rather than the type of assisted reproductive technology procedure used. *Fertility and Sterility*. **98**(4), 922-928.

HENRIKSSON, P., E. WESTERLUND, H. WALLEN, L. BRANDT, O. HOVATTA a A. EKBOM, 2013. Incidence of pulmonary and venous thromboembolism in pregnancies after in vitro fertilisation: cross sectional study. *BMJ*. **2013**(346), 1-11.

HIRMEROVÁ, J., et al., 2014. *Akutní žilní trombóza 2014: současný stav prevence, diagnostiky a léčby* [online]. ČR [cit. 2020-09-04]. Dostupné z: https://csth.cz/soubory/Zilni_tromboza_doporuceni.pdf. Doporučený postup české angiologické společnosti ČLS JEP. Česká angiologická společnost.

HSU, Erik a Leila MOOSAVI, 2020. *Biochemistry, Antithrombin III*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. [cit. 2020-09-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545295/>

CHAUDHRY, Raheel, Syed Muhammad USAMA a Hani M. BABIKER, 2020. *Physiology, Coagulation Pathways*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. [cit. 2020-09-03]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482253/>

IBRAHIM, Nadir Ahmed et. al, 2018. Risk factors for deep vein thrombosis of lower extremities in Sudanese women. *Dovepress*. **2018**(14), 157-164.

IVF – In Vitro Fertilization [online], 2020. United States: American Pregnancy Association [cit. 2020-09-10]. Dostupné z: <https://americanpregnancy.org/infertility/in-vitro-fertilization-70966>

JADAON, Mehrez M., 2011. Epidemiology of prothrombin g20210a mutation in the mediterranean region. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. **3**(1).

JAFARRI, Sultan A., Khalid M. ALATTAS, Sultan M. BAJAWI, Mohammad K. AHSAN, Ali M. AL-SHEIKH, Mohammed A. BURAIK, Amr Mohammed GAMAL a Nadia S. MUSTAFA, 2017. *Neonatal purpura fulminans in newborn with severe congenital protein C deficiency: Case report*. **21**(2), 104-106.

JUPALLI, Aamani, 2020. *Enoxaparin*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. [cit. 2020-09-08]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539865/#_article-21136_s2_

KABELOVÁ, Kristýna, 2019. *Hyperkoagulační stavy v graviditě a jejich komplikace*. České Budějovice. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce MUDr. Ivan Vonke, MBA.

KALETOVÁ, Markéta, Dalibor MUSIL, Ivo KRČ, Lucie LUKEŠOVÁ, Roman HÁJEK a Jaroslav VESELÝ, 2013. *Patofyziologie a klinická fyziologie endotelu a hemostázy* [online]. Univerzita Palackého Olomouc: 1. a 2. interní klinika LF UP a FN v Olomouci [cit. 2020-09-03]. ISBN 978-80-244-3765-1. Dostupné z: <http://pfyziolklin.upol.cz/ebooks/01/flipviewerxpress.html>

KAŠPAROVÁ, Marie a Vít BENDA, 2019. *Laboratorní příručka LKCHI*. České Budějovice. ŘÍZENÁ DOKUMENTACE Směrnice. Nemocnice České Budějovice, a. s.

KATHPALIA, S.K., Krishan KAPOOR a Atul SHARMA, 2016. Complications in pregnancies after in vitro fertilization and embryo transfer. *Medical Journal Armed Forces India*. **72**(3), 211-214.

KATZ, D. a Y. BEILIN, 2015. Disorders of coagulation in pregnancy. *British Journal of Anaesthesia*. **115**(S2), ii75-ii88.

KELBACH, Janine, 2016. In Vitro Fertilization (IVF). *Healthline* [online]. Kalifornie: healthline media [cit. 2020-09-10]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/health/in-vitro-fertilization-ivf>

KESSLER, Petr, 2006. Trombofilní stavy. *Interní medicína pro praxi*. Pelhřimov, **2006**(9), 374-379.

KOCOURKOVÁ, Jiřina, Luděk ŠÍDLO, Anna ŠŤASTNÁ a Tomáš FAIT, 2019. Vliv věku matky na porodní hmotnost novorozenců. *Časopis Lékařů českých*. **2019**(3-4), 118-125.

KONDAPALLI, Laxmi A. a Alfredo PERALES-PUCHALT, 2013. Low birth weight: is it related to assisted reproductive technology or underlying infertility? *Fertility and Sterility*. **99**(2), 303-310.

KUPFERMINC, Michael J., 2003. Thrombophilia and pregnancy. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. **1**(111), 1-22 [cit. 2020-09-04]. Dostupné z: <https://rbej.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1477-7827-1-111>

LIJNEN, H. R., 2013. T-Plasminogen Activator. *Handbook of Proteolytic Enzymes*. 3rd Edition. United States: Academic Press, s. 2946-2952. ISBN 978-0-12-382219-2.

LIPE, Brea a Deborah L. ORNSTEIN, 2011. Deficiencies of Natural Anticoagulants, Protein C, Protein S, and Antithrombin. *Circulation*. **124**(14), 365-368.

LOWRY, D. E., D. J. CORSI, R. R. WHITE, et al., 2019. Association between prophylactic low-molecular-weight heparin use in pregnancy and macrosomia: analysis of the Ottawa and Kingston birth cohort. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. **17**(2), 345-349.

MALÝ, Jaroslav, Petr DULÍČEK, Miroslav PECKA, Radovan MALÝ a Libuše VODIČKOVÁ, 2006. Účinnost a bezpečnost ambulantní léčby hluboké žilní trombózy nadroparinem. *Interní medicína pro praxi*. **8**(3), 142-147.

MANY, A., a KOREN, G., 2005. Low-molecular-weight heparins during pregnancy. *Canadian family physician Medecin de famille canadien*, **51**(2), 199–201.

MARI, Giancarlo, Zoran BURSAC, Patricia Jean GOEDECKE, Michael AZIZ, Mauro H. SCHENONE a Ramasubbareddy DHANIREDDY, 2018. Cesarean section reduces the odds of morbidity and mortality among very low birthweight infants. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. **218**(1), 335 (594).

MOLINA-GARCÍA, Leticia, Manuel HIDALGO-RUIZ, Ana María CÁMARA-JURADO, Maria Jose FERNÁNDEZ-VALERO, Miguel DELGADO-RODRÍGUEZ a Juan Miguel MARTÍNEZ-GALIANO, 2019. Newborn Health Indicators Associated with Maternal Age during First Pregnancy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **16**(18), 3448.

Nemocnice České Budějovice, a. s. [online], 2020. České Budějovice [cit. 2020-09-16]. Dostupné z: <http://www.nemcb.cz/oddeleni/centralni-laboratore/laborator-klinicke-chemie-hematologie-a-imunologie/pracoviste-hematologie/>

News of the south [online], 2019. UK: International News Slider [cit. 2020-09-10]. Dostupné z: <http://newsofthesouth.com/uk-lesbian-couple-welcome-worlds-first-two-womb-baby-in-major-breakthrough/>

NGUYEN, Adrian, 2000. Prothrombin G20210A Polymorphism and Thrombophilia. *Mayo Clinic Proceedings*. **75**(6), 595-604.

NORDQVIST, Joseph, 2018. IVF: What does it involve? *MedicalNewsToday* [online]. UK: healthline media [cit. 2020-09-10]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/262798#risks>

NURK, E., G. S. TELL, H. REFSUM, P. M. UELAND a S. E. VOLLSET, 2006. Factor V Leiden, pregnancy complications and adverse outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *QJM*. **99**(5), 289-298.

ORMESHER, Laura, Louise SIMCOX, Clare TOWER a Ian A GREER, 2016. Management of inherited thrombophilia in pregnancy. *Women's Health*. **12**(4), 433-441.

PALTA, Sanjeev, Richa SAROA a Anshu PALTA, 2014. Overview of the coagulation system. *Indian Journal of Anaesthesia*. **58**(5), 515-523.

PERIAYAH, Mercy Halleluyah, Ahmad Sukari HALIM a Arman Zaharil Mat SAAD, 2017. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research*. **11**(4), 319-327.

POUL, H., 2006. *Trombofilní stavy významné v patogenezi žilní tromboembolické nemoci: Doporučení pro klinickou praxi* [online]. Pelhřimov [cit. 2020-09-04]. Dostupné z: <http://usti.nempk.cz/sites/default/files/orlickoustecka-nemocnice/obsah/stranky/ambulance-pro-trombozu-hemostazu/soubory/guidelines-trombofiliesthiii062.pdf>. Přehledná příručka. Oddělení hematologie a transfuziologie Nemocnice Pelhřimov.

PROCHÁZKA, M., V. KRČOVÁ, J. PROCHÁZKOVÁ a M. LUBUŠKÝ, 2003. Tromboembolická nemoc v porodnictví. *Praktická gynekologie*. **2003**(6), 9-13.

QUBLAN, H., Z. AMARIN, M. DABBAS, et al., 2008. Low-molecular-weight heparin in the treatment of recurrent IVF–ET failure and thrombophilia: A prospective randomized placebo-controlled trial. *Human Fertility*. **11**(4), 246-253.

RENNERT, Hanna a Robert A. DESIMONE, 2019. Molecular Testing for Factor V Leiden and Prothrombin Gene Mutations in Inherited Thrombophilia. *Transfusion Medicine and Hemostasis*. Elsevier, 2019, 903-906.

REYES GIL, Morayma, ed., 2019. Overview of the Coagulation System. *Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects*. 3rd Edition. NY, United States: Elsevier Science, s. 559-564. ISBN 978-0-12-813726-0.

RICCI, G., P. BOGATTI, L. FISCHER-TAMARO, E. GIOLO, S. LUPPI, M. MONTICO, L. RONFANI a M. MORGUTTI, 2011. Factor V Leiden and prothrombin gene G20210A mutation and in vitro fertilization: prospective cohort study. *Human Reproduction*. **26**(11), 3068-3077.

ROUČKOVÁ, Nad'a, 2019. *SEZNAM LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ PHEM: Centrální laboratoře, LKCHI – Pracoviště hematologie*. České Budějovice. Příloha č. 2 Laboratorní příručky LKCHI. Nemocnice České Budějovice, a. s.

ŘEŽÁBEK, Karel a Radka POHLOVÁ, 2019. *Asistovaná reprodukce v ČR 2017*. Praha 2. Zdravotnická statistika. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR.

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

SAHEBI, Camila, Alice J. COHEN a Mirza Hamza Parvez MUGHAL, 2012. Factor V leiden and Prothrombin Gene Mutations: Differences by Gender. *Blood*. **120**(21), 5135.

SALA, L. Albuquerque, U. Gazi LIPPI a E. Ferrari FRANCIULLI, 2018. Cesarean Delivery of Low-Birth Weight Infants and its Association with Maternal Variables. *Journal of Family Medicine Forecast*. **1**(1), 1-5.

SKEITH, Leslie, 2017. Preventing venous thromboembolism during pregnancy and postpartum: crossing the threshold. *Hematology*. **2017**(1), 160-167.

TRANI, JOSE L. a JEFFREY H. LAWSON, 2007. Hypercoagulable states associated with chronic venous insufficiency. *Venous Ulcers*. Elsevier, 2007, 55-65.

TSIKOURAS, Panagiotis, Theodora DEFTEREOU, Xanthoula ANTHOULAKI, et al., 2019. Thrombophilia and Pregnancy: Diagnosis and Management. *Embolic Diseases - Evolving Diagnostic and Management Approaches* [online]. IntechOpen [cit. 2020-09-08]. ISBN 978-1-78923-859-4. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.85005

VOICU, Diana, Octavian MUNTEANU, Florentina GHERGHICEANU, Luciana ARSENE, Roxana BOHILTEA, Delia GRADINARU a Monica CIRSTOIU, 2020. Maternal inherited thrombophilia and pregnancy outcomes. *Experimental and Therapeutic Medicine*. **20**(3), 2411-2414.

W. ARMSTRONG, April a David E. GOLAN, 2012. Pharmacology of hemostasis and thrombosis. *Principles of pharmacology: The pathophysiologic basis of drug therapy*. Third Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, s. 372-400. ISBN 978-1-60831-270-2.

WALENGA, Jeanine M., 2020. Normal hemostasis. *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications*. 6th Edition. United States: Elsevier, s. 626-649. ISBN 978-0-323-53045-3.

WANG, Jeff a Mark V SAUER, 2006. In vitro fertilization (IVF): a review of 3 decades of clinical innovation and technological advancement. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. **2**(4), 355-364.

YANG, Xiu-Li, Fei CHEN, Xiu-Ying YANG, Guan-Hua DU a Yang XU, 2018. Efficacy of low-molecular-weight heparin on the outcomes of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection pregnancy in non-thrombophilic women: a meta-analysis. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. **97**(9), 1061-1072.

ZENG, Yong, 2020. Effect of LMWH on Pregnancy Outcome in Women With Multiple Failures of IVF-ET. *ClinicalTrials* [online]. United States: U. S. National Library of Medicine [cit. 2020-09-10]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03701750>

12 Seznam použitých zkratek

ADP – adenosin difosfát

AKH – Ambulance klinické hematologie

APC – aktivovaný protein C

AT – antitrombin

DIC – diseminovaná intravaskulární koagulace

FI – faktor I, fibrinogen

FII – faktor II, protrombin

FIII – faktor III, tkáňový faktor

FIV – faktor IV, vápenaté ionty

FIX – faktor IX, Christmasův faktor

FSH – folikuly stimulující hormon

FV – faktor V, proakcelerin

FV Leiden – mutace faktoru V, Leidenská mutace

FVII – faktor VII, prokonvertin

FVIII – faktor VIII, antihemofilický faktor

FX – faktor X, Stuartův-Prowerův faktor

FXI – faktor XI, plasmatický předchůdce tromboplastinu

FXII – faktor XII, Hagemanův faktor

FXIII – faktor XIII, faktor stabilizující fibrin

HŽT – hluboká žilní trombóza

ICSI – intracytoplazmatická injekce spermií (*intracytoplasmic sperm injection*)

IVF – in vitro fertilizace

KF – koagulační faktor

LIS – laboratorní informační systém

LMWH – nízkomolekulární heparin (*low molecular weight heparin*)

$N_{(x)}$ - počet

NIS – nemocniční informační systém

NRAR – Národní registr asistované reprodukce

OA – osobní anamnéza

PAI – inhibitor aktivátoru plasminogenu (*plasminogen activator inhibitor*)

PC – protein C

PE – plicní embolie

PHEM – pracoviště hematologie

PS – protein S

RA – rodinná anamnéza

SEM – střední chyba průměru

TEN – tromboembolická nemoc

TFPI – inhibitor tkáňového faktoru (*tissue factor pathway inhibitor*)

TM – trombomodulin

t-PA – tkáňový aktivátor plazminogenu (*tissue plasminogen activator*)

UFH – nefrakcionovaný heparin (*unfractionated heparin*)

u-PA – urokinázový aktivátor plazminogenu (*urokinase-type plasminogen activator*)

vWF – von Willebrandův faktor