

VYSOKÁ ŠKOLA ZDRAVOTNÍCTVA A SOCIÁLNEJ PRÁCE

SV. ALŽBETY BRATISLAVA

ÚSTAV ZDRAVOTNÍCKYCH DISCIPLÍN

170192

**VPLYV MUTÁCIE FAKTORA V LEIDEN NA TEHOTENSTVO A JEHO
DIAGNOSTIKA.**

BAKALÁRSKA PRÁCA

2021

ANNA HUBČÍKOVÁ

VYSOKÁ ŠKOLA ZDRAVOTNÍCTVA A SOCIÁLNEJ PRÁCE

SV. ALŽBETY BRATISLAVA

ÚSTAV ZDRAVOTNÍCKYCH DISCIPLÍN

**VPLYV MUTÁCIE FAKTORA V LEIDEN NA TEHOTENSTVO A JEHO
DIAGNOSTIKA**

BAKALÁRSKA PRÁCA

Študijný program: Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Študijný odbor: 5616 Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Školiace pracovisko: Ústav zdravotníckych disciplín, VŠZ a SP

sv. Alžbety v Bratislave

Školiteľ: MUDr. Aurélia Fedorová

BRATISLAVA, 2021

ANNA HUBČÍKOVÁ

Vysoká škola zdravotníctva asociálnej práce sv. Alžbety Bratislava
ÚSTAV ZDRAVOTNÍCKYCH DISCIPLÍN
Študijný program Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Akademický rok: 2020/2021

Typ záverečnej práce: bakalárska

Názov záverečnej práce: Vplyv mutácie faktora V Leiden na tehotenstvo a jeho diagnostika.

Meno, priezvisko a tituly študenta: Anna Hubčíková

Študijný program: Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Študijný odbor: 5616 Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Meno, priezvisko a tituly školiteľa: MUDr. Aurélia Fedorová

Meno, priezvisko a tituly vedúceho ústavu: prof. PhDr. Róbert Babel'a, PhD., MBA.

Anotácia:

V našej práci sa chceme zamerať na trombofiliu v tehotenstve a z nej vyplývajúcu možnú hyperkoagulabilitu. Chceme porovnať homozygotnú a heterozygotnú formu mutácie faktora V Leiden. Zaoberať sa rizikom, diagnostikou, novými štúdiami možností a úspešného ukončenia tehotenstva pri mutácii faktora V Leiden.

Jazyk práce: slovenský

Vyjadrenie a podpis školiteľa záverečnej práce: súhlasím

Podpis školiteľa:



Dátum schválenia zadania:

Podpis zástupcu pre študijný program LVM v zdravotníctve:



ČESTNÉ VYHLÁSENIE

Vyhlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne, pod odborným vedením školiteľky MUDr. Aurélie Fedorovej a použila som literatúru, ktorú uvádzam v zozname.

BRATISLAVA, 2021

Hutáková

POĎAKOVANIE

Ďakujem mojej školiteľke MUDr. Aurélii Fedorovej a odbornej konzultantke Ing. Ingrid Škorňovej PhD., ktoré mi boli prínosom pri písaní mojej bakalárskej práce za ich odborné konzultácie, cenné rady a pripomienky. Poďakovanie patrí aj mojej rodine a najbližším, ktorí ma počas môjho štúdia podporovali.

ABSTRAKT

HUBČÍKOVÁ, Anna : Vplyv mutácie faktora V Leiden na tehotenstvo a jeho diagnostika. [Bakalárska práca]. Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety v Bratislave. Ústav zdravotných disciplín; Školiteľ MUDr. Aurélia Fedorová. Stupeň odbornej kvalifikácie. Bakalár laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve. Bratislava: Ústav zdravotníckych disciplín, 2021. Počet strán 67.

Trombofília získala veľkú pozornosť ako rizikový faktor pre tehotenské komplikácie. Trombofilné stavy predstavujú zvýšené riziko tromboembolizmu. V dnešnej dobe je to najčastejšia tehotenská komplikácia. Cieľom našej bakalárskej práce bolo informovať o význame a rizikách spojených s prítomnosťou vrodených trombofilií v tehotenstve. Zamerali sme sa na vrodenú mutáciu faktora V Leiden (F V Leiden G1691) homozygotnú a heterozygotnú formu, aký vplyv majú na tehotenstvo, a ako môžu tieto mutácie ovplyvniť výsledok tehotenstva. Zhodnotili sme výskyt mutácie a bližšie rozoberáme diagnostiku, pri ktorej nie je konkrétny test, ale celá škála vyšetrení, ktorá je veľmi dôležitá pre správne indikovanú liečbu nositeľiek tejto mutácie, aby sa zabránilo tehotenským stratám a rizikám. Mutácia faktora V Leiden (F V Leiden G1691) je jedna z najrozšírejších mutácií v populácii. Touto prácou sme sa snažili poukázať na celkovú problematiku mutácie faktora V Leiden, v porovnaní s inými vrodenými trombofiliami pomocou prípadových kontrolných štúdií, s cieľom zistiť, či pri včasnej diagnostike a liečbe je možné úspešné ukončenie tehotenstva u pacientky s prítomnou mutáciou FV Leiden.

Kľúčové slová: hemostáza, trombofília, tehotenstvo, faktor V Leiden, diagnostika

ABSTRACT

HUBČÍKOVÁ, Anna: The Impact of the Factor V Leiden Mutation on Pregnancy and Its Diagnosis. [Bachelor thesis]. St. Elizabeth University College of Health and Social Work Bratislava, Slovakia. Institute of Medical Disciplines; Supervisor MUDr. Aurélia Fedorová. Level of professional qualification. Bachelor of Laboratory Examination Methods. Bratislava: Institute of Medical Disciplines, 2021. 67 p.

Thrombophilia has received a lot of attention as a risk factor for pregnancy complications. Thrombophilic states represents an increased risk of thromboembolism. Nowadays, it is the most common pregnancy complication. The aim of our Bachelor thesis was to inform about the significance and risks related to the presence of congenital thrombophilia during the pregnancy. We have focused on the congenital mutation of factor V Leiden (F V Leiden G1691) homozygous and heterozygous form, how they affect pregnancy and how these mutations can affect the result of pregnancy. We evaluated the occurrence of the mutation and further discussed the diagnosis, by which is not a specific test, but a range of examinations that are very important for the correctly indicated treatment of the carriers of this mutation to avoid pregnancy losses and risks. The factor V Leiden mutation (F V Leiden G1691) is one of the most common mutation that is found in the population. In this thesis, we tried to point out the general problem of factor V Leiden mutation, compared with other congenital thrombophilia using case control studies, in order to determine whether early diagnosis and treatment enables successful termination of pregnancy in a patient with F V Leiden mutation.

Key words: hemostasis, thrombophilia, pregnancy, factor V Leiden, diagnosis

OBSAH

ÚVOD.....	13
1 KAPITOLA.....	14
1 HEMOSTÁZA POČAS GRAVIDITY A JEJ ZMENY	14
1.1 Hemostáza počas gravidity	14
1.2 Fyziologické zmeny hemostázy v tehotnosti.....	15
1.3 Hemostatický a fibrinolytický systém v gravidite	16
2 KAPITOLA.....	18
2 TROMBOFÍLIE VRODENÉ A ZÍSKANÉ V TEHOTNOSTI	18
2.1 Trombofília.....	18
2.2 Trombofília vrodená a získaná s tehotenskými komplikáciami.	19
2.3 Hyperkoagulačný stav rozvíjajúci sa počas tehotnosti.	22
3. KAPITOLA.....	23
3 GENETICKÉ PRÍČINY TROMBOFÍLIE.....	23
3.1 Faktor V (FV).....	23
3.2 Definícia Leidenskej mutácie faktoru V (FVL).....	24
3.3 Patofyziológia a výskyt FVL	25
4 KAPITOLA.....	26
4 RIZIKÁ V TEHOTENSTVE PRI MUTÁCII FV LEIDEN	26
4.1 Vplyv faktora V Leiden na tehotenstvo	26
4.2 FV Leiden a systémový lupus erythematosus (SLE).....	27
4.3 Faktor V Leiden a strata plodu	27
4.4 Faktor V Leiden a placentárne komplikácie	28
4.5 Faktor V Leiden a preeklampsia	28
4.6 Faktor V Leiden a obmedzenie rastu plodu	29
4.7 Faktor V Leiden a venózne tromboembolizmus (VTE).....	29
4.8 Faktor V Leiden a mŕtvy pôrod.....	30
5. KAPITOLA.....	33
5 DIAGNOSTIKA TROMBOFILNÝCH STAVOV	33
5.1 Testy na vyšetrenie trombofilných stavov	33
5.2 Testy a princípy diagnostiky:.....	33
5.3 Laboratórna diagnostika trombofilných stavov.	40
5.4 Klinický význam a interpretácia vyšetrenia.....	50

LIEČBA	55
DISKUSIA.....	57
ODPORÚČANIA PRE PRAX	59
ZÁVER.....	60
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	61
KAZUISTIKA.....	68

ZOZNAM ILUSTRÁCIÍ A ZOZNAM TABULIEK

ZOZNAM ILUSTRÁCIÍ

Obrázok 1 Trombogenéza	18
Obrázok 2 Kaskáda tvorby trombov.....	26
Obrázok 3 Príklady vyhodnotenia jednotlivých vzoriek	39
Obrázok 4 Klasická metóda, Modifikovaná metóda.....	42

ZOZNAM TABULIEK

Tabuľka 1 Zmeny v hemostáze počas fyziologického tehotenstva	16
Tabuľka 2 Prehľad vrodených a získaných trombofilných stavov	20
Tabuľka 3 Trombofilný stav s tehotenskými komplikáciami	21
Tabuľka 4 Rozdelenie trombofilných stavov z hľadiska vzniku trombózy	22
Tabuľka 5 Výskyt vrodenej trombofilie vo vzťahu ku komplikáciám v gravidite	22
Tabuľka 6 Riziko VTE pri vybraných trombofilných stavoch u žien starších ako 35 r...	30
Tabuľka 7 Riziko preeklampsie pri trombofilných stavoch.....	30
Tabuľka 8 Riziko včasnej straty plodu pri trombofilných stavoch	31
Tabuľka 9 Riziko opakovanej straty plodu pri trombofilných stavoch.....	31
Tabuľka 10 Riziko straty plodu v pokročilom štádiu tehotnosti	31
Tabuľka 11 Riziko abrupcie placenty pri trombofilných stavoch.....	31
Tabuľka 12 Riziko rozvoja IUGR pri trombofilných stavoch.....	31
Tabuľka 13 Reagencie – zloženie.....	37
Tabuľka 14 Indikácie vyšetrenia na prítomnosť trombofilie.....	41
Tabuľka 15 Stabilita testu po otvorení.....	44
Tabuľka 16 Pracovný postup.....	44

Tabuľka 17 Stability Proteín C aktivátor, Substrát reagent, Pufor.....	47
Tabuľka 18 Stability deficientná plazma PS, proteín Ca reagent, PS štartovací reagent ..	49
Tabuľka 19 Po rekonštrukcii LA1, LA2.....	52

ZOZNAM SKRATIEK A ZNAČIEK

APA	antifosfolipidové protilátky
APC	aktivovaný proteín C
APCR	rezistencia na aktivovaný proteín C
APS	antifosfolipidový syndróm
APTT	aktivovaný parciálny tromboplastínový čas
AT	antitrombín
DVT	hlboká žilová trombóza dolných končatín
EIA	Elektroimunoanalýza
ELISA	enzýmová imunoanalýza na pevnej fáze
EPCR	endotelový receptor proteínu C
F V Leiden	faktor V Leiden
FGR	obmedzenie rastu plodu
FI	Fibrinogén
FII	faktor II
FV	faktor V
FVa	aktivovaný faktor V
FVII	faktor VII
FVIII	faktor VIII
FVIIIa	aktivovaný faktor VIII
FX	faktor X
FXa	aktivovaný faktor X
FXII	faktor XII
Ig	imunoglobulín
IgA	imunoglobulín triedy A
IgG	imunoglobulín triedy G
IgM	imunoglobulín triedy M
IURP	intrauterinná rastová retardácia plodu
IVF	in vitrofertilitácia
KF	kalibračný faktor
LA	lupus antikoagulans
LMWH	nízkomolekulový heparín (Low Molecular Weigh Heparín)
MTHFR	metyléntetrahydrofolátreduktáza

NR	normalizovaný pomer
t-PA	tkanivový aktivátor plazminogénu
PAI-1	inhibítor aktivátora plazminogénu typ1
PAI-2	inhibítor aktivátora plazminogénu typ 2
PC	proteín C
PCAT	čas zrážania závislý od proteínu C vyšetrovanej vzorky
PCAT/0	čas zrážania závislý od proteínu C bez pridania aktivátora
PCR	polymerázová reťazová reakcia (polymerase chain reaction)
PS	proteín S
PT	protrombínový čas
PTM	protrombínová mutácia G20210A
SHP	štandardná humánna plazma
SW	index senzitivity
TFPI	inhibítor tkanivového faktora (Tissue Factor Pathway Inhibitor)
TM	trombomodulín
TP	tkanivový plazminogén
TTP	trombocytopenická purpura
UFH	nefrakcionovaný heparín
VTE	venózny tromboembolizmus
vWF	von Willebrandov faktor

ÚVOD

Trombofilia je zvýšený sklon ku vzniku trombózy a rozvoja tromboembolickej choroby ako závažnej komplikácie zdravotného stavu. Trombofilie sú vrodené a získané defekty hemostatického systému, ktoré sú charakteristické zvýšenou tendenciou ku krvným zrazeninám alebo vzniku trombov v cievnom riečisku. V gravidite prehľbuje fyziologickú hyperkoaguláciu, potencuje rozvoj gestačného tromboembolizmu a považuje sa za rizikový faktor neúspešnej reprodukcie a tehotenských komplikácií. Starostlivosť žien s vrodenou alebo získanou poruchou hemostázy si počas celého tehotenstva vyžaduje špecifické postupy s cieľom znížiť incidencia a dôsledky pôrodnického tromboembolizmu a tehotenských komplikácií.

V našej práci sa venujeme trombofilii u tehotných žien s mutáciou faktora FV Leiden, ktorá je najrozšírenejšia v populácii. Cieľom našej práce bolo zistiť, aký vplyv má na graviditu a jej riziká. Porovnali sme homozygotnú a heterozygotnú formu mutácie z prípadových kontrolných štúdií, pri vybraných trombofilných stavoch. Venovali sme sa diagnostike mutácii FV Leidenskej a celkovo aj odporúčeným súborom laboratórnych vyšetrení pri podozrení na trombofiliu. Poukázali sme na liečbu, možnosti použitia novej generácie účinných a relatívne bezpečných antitrombotík, pre úspešné ukončenie tehotenstva.

1 KAPITOLA

1 HEMOSTÁZA POČAS GRAVIDITY A JEJ ZMENY

Hemostáza predstavuje jeden z mechanizmov, ktoré udržujú integritu vnútorného prostredia, kedy za fyziologických podmienok zabezpečuje fluiditu krvi v intaktnom cievnom riečisku. V prípade poruchy kontinuity cievnej steny vedie k krvnému zrážaniu na zastavenie krvácania (Češka, R., 2020).

Na udržiavanie rovnováhy medzi sklonom ku krvácaniu a k zvýšenému zrážaniu (trombóze) je nevyhnutná regulácia kontrolných mechanizmov. Patrí tu normálna funkcia cievnej steny, ktorej výsledkom je hemostatická rovnováha, trombocyty a plazmatický koagulačný systém, fibrinolytický systém, ich aktivátory a inhibítory (Češka, R., 2020).

1.1 Hemostáza počas gravidity

Počas normálneho tehotenstva, s nárastom zrážacích faktorov a s poklesom inhibítorov koagulačnej kaskády vzniká stav fyziologickej hyperkoagulability. Aby bola zabezpečená primeraná cirkulácia v placentе a správny vývoj tehotenstva, závisí to aj od faktorov rovnováhy hemostatických mechanizmov (Wingeyjer, P., 2018). Tehotenstvo teda veľkou mierou ovplyvňuje hemostatický systém.

Úlohou hemostázy v gravidite je, aby bol zabezpečený kontinuálny extravaskulárny prietok placentou materskej krvi, a tak bola optimálne prekrvená placenta a nebola aktivovaná koagulačná kaskáda. Hemostáza, v čase pôrodu, zabezpečuje rýchle a adekvátne zrážanie s cieľom zastavenia krvácania, čo vedie k ochrane rodičky pred vykrvácaním (Hulíková, M., 2016).

Hemostáza v tehotnosti zasahuje hlavne do procesu implantácie blastocytov a placentácie. Bunky trofoblastu vytlačujú koagulačné komponenty, ktoré sa podieľajú na zrážaní krvi a na regulácii placentárnej hemostázy. Čiže majú antikoagulačné a antifibrinolytické účinky. V cievach placenty na lokálnu hemostázu dohliada kombinácia faktorov matky a plodu, ktoré kooperatívne regulujú aktivitu koagulačného systému materskej krvi a fetálneho trofoblastu na ich rozhraní (Hulíková, M., 2016).

Normálna implantácia placenty v mieste vniknutia trofoblastu do špirálových artérií je sprevádzaná tvorbou malého množstva fibrínu. Je to výsledok aktivácie koagulácie v uteroplacentárnych cievach. Ak je teda ukladanie fibrínu nadmerné v špirálových artériách, poškodí uteroplacentárnu cirkuláciu. V cievach placenty je lokálna hemostáza kontrolovaná kombináciou faktorov matky a plodu, kooperatívne regulujú aktivitu koagulačného systému na rozhraní materskej krvi a fetálneho trofoblastu (Hulíková, M., 2016). Z vyššie uvedeného vyplýva, že počas gravidity prebiehajú v koagulácii a fibrinolytickom systéme zmeny.

1.2 Fyziologické zmeny hemostázy v tehotnosti

Počas tehotenstva môže dôjsť k vzniku trombózy kvôli hormonálnym zmenám. Tieto zmeny vedú k venóznnej stáze a k zmenám cievnej steny, ako sú hypotónia a poškodenie endotelu. Popísaný stav hemostázy, ktorý prebieha v tehotenstve sa považuje za fyziologický stav (Hulíková M., 2016). Zmeny nastávajú aj na úrovni koagulačných faktorov. V nasledujúcom texte ich bližšie popisujeme.

Zmeny na úrovni koagulačných faktorov sú nasledujúce:

- Vzostup koncentrácií koagulačných faktorov a to hlavne FII, FV, FVII, FVIII, FX, FXII, fibrinogénu a von Willebrandovho faktora (vWF), ktorý vedie k zvýšenej tvorbe protrombínových fragmentov a komplexov trombín-antitrombín.
- Pokles koncentrácií prirodzených antikoagulačných mechanizmov, hlavne aktivity proteínu S (PS) a rozvoj tzv. získanej rezistencie na aktivovaný proteín C (APCR).
- Zníženie fibrinolytickej kapacity, vzostup koncentrácie plazminogénu, antigénu plazminogénového aktivátora (PA) a tkanivového plazminogénového aktivátora (TP).
- Zvýšenie koncentrácie a aktivity inhibítora plazminogénového aktivátora typu 1 (PAI-1) a inhibítora placentárneho plazminogénového aktivátora typ 2 (PAI-2).
- Úmerne gestačnému obdobiu stúpa koncentrácia D-dimérov.
- Lokálna hemostáza, tvorená mikropartikulami z endotelu matky, trombocytmí a placentárnym trofoblastom, je zvýšená v dôsledku zvýšenej syntézy tkanivového faktora a zníženej tvorbe inhibítora systému tkanivového faktora (TFPI). Zmeny lokálnej hemostázy podporujú protrombotický stav (Simcox, L., 2015).

Zmeny v hemostáze počas fyziologického tehotenstva dokumentuje Tabuľka 1.

Tabuľka 1. Zmeny v hemostáze počas fyziologického tehotenstva

Hemostáza	Zvýšené	Znížené	Bez zmeny
Systémová			
Koagulačné faktory	FII,FV,FVII,FVIII,FIX,FX,FXII	FXIII,FXI	
Antikoagulačné faktory	solubilný TM	PS	PC, AT
Adhezívne proteíny	vWF		
Fibrinolytické proteíny	PAI-1, PAI-2	t-PA	TAFI
Tkanivový faktor		Monocyty TF	Solubilný TF
Mikropartikuly a APA	MP		APA
Lokálna placentárna	TF	TFPI	

Vysvetlivky: TM-trombomodulín, PS-proteín S, PC-proteín C, AT-antitrombín, vWF- von Willebrandov faktor, PAI-inhibitor aktivátora plazminogénu, TAFI-trombínom aktivovaný inhibitor fibrinolýzy, t-PA- tkanivový aktivátor plazminogénu, TF-tkanivový faktor, TFPI-inhibitor tkanivovej cesty, APA- antifosfolipidové protilátky

(Hulíková, M., 2016)

Zmeny sú zamerané hlavne na prevenciu krvácania v čase implantácie trofoblastu a pôrodu, aby bolo optimálne prekrvenie placenty a udržanie laminárneho prietoku v intervilóznom priestore. Taktiež tieto zmeny bránia úniku plodovej vody a zníženie straty krvi (Hulíková, M., 2016). Všetky tieto zmeny v hemostáze majú za úlohu udržať graviditu a zabrániť vykrvácaniu počas pôrodu.

1.3 Hemostatický a fibrinolytický systém v gravidite.

Z vyššie uvedených skutočností vieme, že funkcia hemostatického a fibrinolytického systému je v tehotenstve ovplyvňovaná viacerými faktormi. Ak sa naruší hemostatická rovnováha môže sa prejaviť dvoma stavmi:

- Krvácaním
- Trombofiliou

Krvácavý stav

Poruchy krvácania, sú chorobné stavy, pri ktorých vznikli krvácavé prejavy buď spontánne, alebo sú neúmerne podnetu. Môžu sa prejavovať proťahovaným alebo ťažko zastaviteľným krvácaním pri poranení. Pri poruche ktoréhokoľvek z hemostatických mechanizmov môže vyústiť v krvácavé stavy.

Krvácavé stavy z patofyziologického hľadiska delíme na:

- krvácavé stavy z doštičkových príčin,
- z porúch plazmatickej koagulácie- koagulopatia,
- z porúch cievnych stien - vaskulopatie,
- skupina konzumpčných koagulopatií, ktoré vznikajú následkom intravaskulárnej koagulácie (Češka, R., a kol.2020).

Z týchto poznatkov o hemostáze a jej zmenách, ktoré prebiehajú v gravidite, fyziologické tehotenstvo predstavuje hyperkoagulačný stav. Všetky jeho tri zložky Virchowovej triády sú prítomné, ako stagnácia, poranenie endotelu a hyperkoagulabilita. Stáza je v dôsledku stlačenia žilového systému gravidnou maternicou, čo prispieva k anatomickej hyperkoagulabilite. Zvýšené hladiny prokoagulantov, hladiny faktora V FV, F VII, FVIII a F X rovnako ako von Willebrandov faktor a fibrinogén, znížený proteín S, získaná rezistencia na aktivovaný proteín C, narušená fibrinolýza v dôsledku zvýšeného inhibítora aktivátora plazminogénu (prostredníctvom placenty) a získaný nedostatok antitrombínu - toto všetko vedie ku fyziologickej a biochemickej hyperkoagulácii (Marshall,A., MD, 2014).

2 KAPITOLA

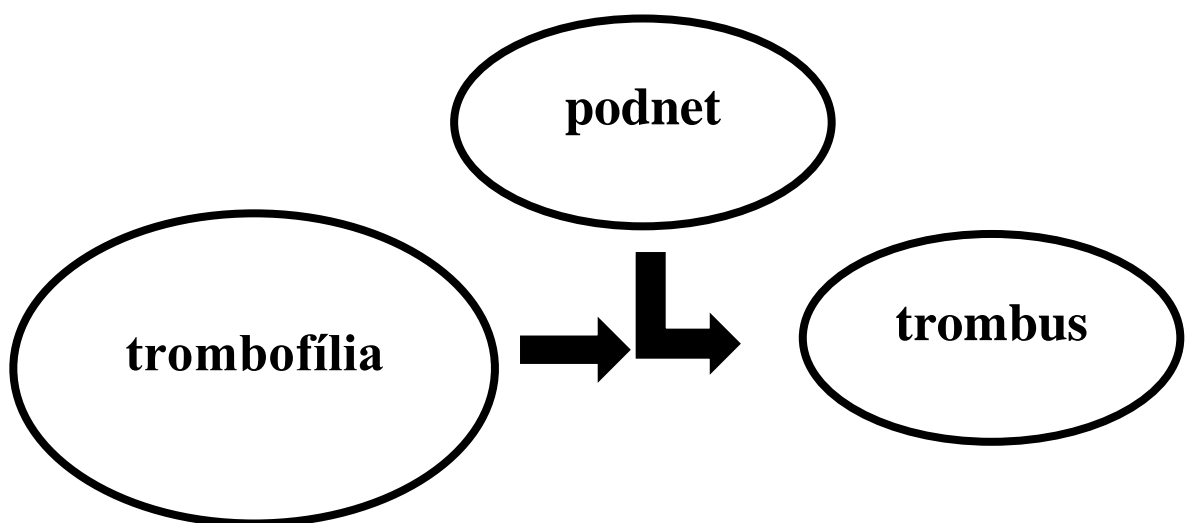
2 TROMBOFÍLIE VRODENÉ A ZÍSKANÉ V TEHOTNOSTI

Trombofília popisuje tendenciu k rozvoju trombóz z dôvodu dedičných alebo získaných porúch zrážania krvi alebo fibrinolýzy, ktoré vedú k protrombotickému stavu.

2.1 Trombofília

Trombofília znamená situáciu konštitučných vrodených alebo získaných faktorov predisponujúcich k trombóze. Dodnes platí Virchowova triáda patogenetických príčin trombózy, ktorá zahŕňa poškodenie cievnej steny, spomalenie prúdenia krvi a poruchy v zložení krvi. Trombóza je výsledkom lokalizovanej aktivácie koagulácie, ktorá môže nastať v arteriálnom aj venóznom riečisku (Sakalová, A., a kol., 2011)

V žilovom systéme je potom vlastná tvorba trombu u disponovaných jedincov vyvolaná niektorým zo spúšťačích podnetov, ktorými sú operácie, imobilita, gravidita, kombinovaná perorálna antikoncepcia, dehydratácia, nádorové bujnenia a i. U obidvoch pohlaviach sa ďalej sklon k trombóze zvyšuje s vekom (> 60 rokov). Schéma trombogenézy je uvedená na obrázku 1. Z tohto hľadiska je teda na trombózu dnes pozerané ako na ochorenie multifaktoriálne. Pokiaľ je v uvedených záťažových situáciách trombofília včas rozpoznaná, zvyšuje sa šanca, kedy je možné zabrániť vzniku trombózy vhodnou profylaxiou (Češka, R. a kol., 2020).



Obrázok 1. Trombogenéza (Češka, R., 2020)

2.2 Trombofílie vrodené a získané s tehotenskými komplikáciami.

Počas tehotnosti dochádza ku fyziologickému hyperkoagulačnému stavu v priebehu ktorého nastáva, prevaha prokoagulačných faktorov nad fibrinolytickými, táto prevaha má minimalizovať krvné straty počas gravidity a pôrodu. Tento stav významne zvyšuje riziko VTE (venózneho tromboembolizmu) v tehotnosti a ešte výraznejšie v šestonedelí. Výskyt VTE v tehotenstve je pomerne nízky (1/1000), ale predstavuje závažné ohrozenie života tehotnej ženy (Stančiaková, L., 2017a).

Prítomnosť trombofilného stavu podčiarkuje význam protrombotických zmien hemostázy počas tehotnosti. Tieto zmeny rozdeľujeme na vrodené a získané (Stančiaková, L., 2017).

Vrodená trombofília

Vrodené trombofílie sú spôsobené buď vyššou produkciou koagulačných faktorov, alebo inhibítormi fibrinolýzy. Môžu byť vyvolané aj nižšou produkciou, alebo poruchou niektorých koagulačných faktorov a nakoniec môžu byť spojené s niektorými metabolickými poruchami (Češka, 2020).

Vrodená trombofília je definovaná ako genetická predispozícia na venózny tromboembolizmus (VTE). Zvyčajne genetická delécia alebo zmena funkčného proteínu v koagulačnej kaskáde. Medzi najčastejšie dedičné trombofílie patria mutácia faktora V Leiden (FVL G1691A), mutácia génu protrombínu (protrombín G20210A), nedostatok proteínu C (PCD), nedostatok proteínu S (PSD), mutácia metylnetetrahydrofolát reduktázy (MTHFR) a nedostatok antitrombín III (AT). Každý z nich má spoločnú úlohu pri indukovaní hyperkoagulačného stavu priamym alebo nepriamym zvýšením protrombínu na trombín a jeho aktívna forma indukuje zrazeninu. Pretože hyperkoagulabilita s dedičnými trombofíliami je dobre zavedená, skrining tehotných žien s osobnou anamnézou VTE je v praxi všeobecne dobre prijatý, s cieľom poskytnúť v prípade potreby tromboembolickú profylaxiu (Kutteh, W., a kol.2014). Prevalencia jedincov s kombinovanou trombofiliou vo všeobecnej populácii presahuje 5%, títo jedinci majú ešte väčšie trombotické riziko (Aracic, N., 2015).

Získané trombofílie

Najbežnejšia získaná trombofília zahŕňa prítomnosť antifosfolipidových protilátok APL. Prítomnosť týchto protilátok bola spojená s úbytkom tehotenstva (aborty) v druhom a prvom trimestri. Preto sa odporúča skríning najbežnejších z týchto protilátok (lupusový antikoagulant, antikardiolipín a anti-beta2 glykoproteín), u žien s anamnézou viac ako dva, alebo tri strát v prvom trimestri a u žien s jednou, alebo viacerými stratami po dvadsiatich týždňoch bez alternatívneho vysvetlenia. Prehľad vrodených a získaných trombofilných stavov dokumentuje tabuľka 3. (Kutteh, W., et al., 2014).

Tabuľka 2. Prehľad vrodených a získaných trombofilných stavov.

Vrodené trombofilné stavy	Získané trombofilné stavy
mutácia faktor V Leiden (FV Leiden)	antifosfolipidový syndróm (APS)
variant protrombínu G20210A	trombotická trombocytopenická purpura (TTP)
hyperhomocysteinémia vo vzťahu k mutácii génu pre metylénetetrahydrofolátreduktázu (MTHFR)	hyperhomocysteinémia
deficit faktora XII (FXII)	
syndróm lepičných doštičiek (SPS)	
Dysfibrinogénia	
deficit antitrombínu	
deficit proteínu C (PC)	
deficit proteínu S (PS)	
deficit proteínu Z (PZ)	
zmeny vo fibrinolytických mechanizmoch	

(Stančiaková, L., 2017b)

Tehotnosť predstavuje fyziologický stav predisponujúci k vzniku trombózy. Prítomnosť trombofilného stavu je významný pri protrombotických zmenách hemostázy počas tehotnosti. Predpokladá sa, že preexistencia trombofilnej poruchy stupňuje fyziologický hyperkoagulačný stav rozvíjajúci sa počas tehotnosti (Stančiaková, L., 2017a). Tehotné ženy s vrodenou trombofiliou majú tehotenské komplikácie, príčinou je porucha uteroplacentárnej cirkulácie, tehotné ženy so získanou trombofiliou zahŕňajú tehotenské placentárne vaskulárne komplikácie (Hulíková, M., 2016).

Asociácie vrodených a získaných trombofilií s tehotenskými komplikáciami dokumentuje tabuľka 2.

Tabuľka 3. Trombofilný stav s tehotenskými komplikáciami

Trombofília	Tehotenské komplikácie
Mutácia F V Leiden	Strata plodu II, III. trimester, IURP, abrupcia placenty, preeklampsia, predčasný pôrod, VTE
Mutácia FII 20210	VTE, preeklampsia, IURP, abrupcia placenty
Deficit antitrombínu	VTE, mŕtvo narodené dieťa, potrat, preeklampsia, abrupcia placenty, IURP
Deficit proteín C, proteín S, Proteín Z	VTE, rekurentné potraty, preeklampsia, neskorá strata plodu, abrupcia placenty, IURP
Hyperhomocysteinémia	preeklampsia, abrupcia placenty, IURP, rekurentné potraty
Syndróm lepivých doštičiek	tromboembolizmus, rekurentná reprodukčná strata
Hyperfibrinogénia	Placentárna nekróza / trombóza
FXIII	neúspešná reprodukcia
Antifosfolipidový syndróm	Arteriálna/venózna trombóza, infertilita, IVF zlyhanie, skorá strata plodu, rekurentné potraty
Polymorfizmus TM, EPCR	rekurentné potraty
Polymorfizmus PAI	rekurentná neúspešná reprodukcia, preeklampsia, inhibícia invázie a diferenciácie trofoblastu

Vysvetlivky: F V Leiden-faktor V Leiden, IURP-intrauterinná rastová retardácia plodu, VTE-venózný tromboembolizmus, FII 20210-faktor II 20210, FXII-faktor FXII, TM-trombomodulín, EPCR-endotelový receptor proteínu C, PAI-inhibitor aktivátora plazminogénu, IVF- in vitrofertilizácia (Hulíková, M., 2016).

2.3 Hyperkoagulačný stav rozvíjajúci sa počas tehotnosti.

Zmeny v hemostatickom systéme pôsobia ako fyziologická „záchranná sieť“ na obdobie okolo pôrodu, ale môžu predisponovať matku a plod ku komplikáciám počas tehotenstva. Pre matku toto riziko začína od počatia až do postnatálneho obdobia. Predpokladá sa, že trombofília spolu s fyziologickými zmenami hemostázy prispieva k protrombotickému stavu počas tehotnosti a šestonedelia. Tak sa súčasne zvyšuje riziko vzniku trombotických a tehotenských komplikácií (Simcox, L., 2015a). Hemostatický systém relevantným spôsobom zasahuje do reprodukčného procesu (Wingeyer, P., 2018).

Medzi riziká pre plod počas tehotenstva patria riziká preeklampsie, abrupcia placenty, obmedzenie rastu plodu (FGR), neskorý a opakujúci sa skorý potrat, vnútromaternicová smrť. Riziká sú inherentne vyššie u žien so získanou alebo dedičnou trombofiliou (Simcox, L., 2015b).

Rozdelenie trombofilných stavov z hľadiska rizikovosti vzniku trombózy počas tehotnosti dokumentuje tabuľka 4. Výskyt vrodenej trombofilie pri komplikáciách v gravidite dokumentuje tabuľka 5.

Tabuľka 4. Rozdelenie trombofilných stavov z hľadiska vzniku trombózy

Trombofilný stav v tehotnosti	
vysoko rizikové	v tehotnosti - deficit AT, APS
	v šestonedelí – deficit AT, PC, PS, APS
menej rizikové	mutácie FV Leiden, protrombínu 20210A a MTHFR, deficit PC a PS

Tabuľka 5. Výskyt vrodenej trombofilie vo vzťahu ku komplikáciám v gravidite

Komplikácia – výskyt vrodenej trombofilie (%)	
preeklampsia – 50%	intrauterinná retardácia rastu plodu – 50%
abrupcia placenty – 60%	predčasný pôrod – 40%

(Kubisz, P., a kol. 2010)

3 KAPITOLA

3 GENETICKÉ PRÍČINY TROMBOFÍLIE

Najbežnejšie genetické príčiny trombofilie sú dve mutácie v génoch kódujúcich koagulačný faktor V (FV) a protrombín. Obe mutácie súvisia so zvýšeným množstvom trombínu a sú hlavné rizikové faktory pre VTE. (Kovac, M., a kol..2010). My sa budeme venovať mutácii FV Leiden, ako najbežnejšie sa vyskytujúcej vrodenej trombofilie.

3.1 Faktor V (FV).

Faktor zrážania krvi V (FV) hrá pri zrážaní krvi rozhodujúcu úlohu (Thalji, N., 2013).

Faktor V (FV) proakcelérin je polypeptid, ktorý je kódovaný chromozómom (1q24.2) a primárne je syntetizovaný v obličkách, môže byť produkovaný aj z megakaryocytov. Aktivovaný FV pôsobí ako kofaktor pre FXa. Taktiež je cieľovou bielkovinou pre komplex APC- PS pri inhibícii koagulačnej kaskády. Nie je enzymaticky aktívny na rozdiel od väčšiny ostatných koagulačných faktorov (Škorňová, I., a kol. 2020).

Z hľadiska patofyziológie koagulačných reakcií zohráva FV kľúčovú úlohu tak v prokoagulačnej, ako aj v antikoagulačnej kaskáde procesov. V aktivovanej forme slúži ako kofaktor FXa v protrombinázovom komplexe, ktorý takto katalyzuje premenu protrombínu na trombín. V neaktívnej forme slúži FV ako kofaktor APC v regulácii aktivity FVIIIa. Táto dvojité úloha umožňuje FV pri genetických a získaných defektoch ovplyvňovať manifestáciu týchto porúch do hemoragickej alebo trombotickej formy. Pre objasnenie tejto manifestácie je potrebné presne poznať prokoagulačnú a antikoagulačnú formu FV (Kovac, M. a kol..2010).

Neaktivovaný FV má malú prokoagulačnú aktivitu, až do doby aktivácie malým množstvom trombínu alebo FXa prostredníctvom štiepenia v miestach Arg709, Arg1018 a Arg1545. Aktiváciou vzniknutá molekula FVa je heterodimér. Na rozdiel od FV aktivovaný FVa zvyšuje FXa aktivovanou premenou protrombínu v protrombinázovom komplexe. Môžeme predpokladať, že vyštiepená alosterická B-doména alostericky inhibuje väzbu FV v aktívnom mieste FXa. Aktivácia faktoru V (FV) na FVa prebieha štiepením a uvoľnením domény B. Potom proteín už nepomáha pri aktivácii proteínu C. Proteín je rozdelený na ťažký reťazec, ktorý sa skladá z domén A1-A2 a ľahký reťazec, ktorý sa skladá z domén A3-C1-C2 (Škorňová, I., a kol. 2020).

3.2 Definícia Leidskej mutácie faktoru V (FVL)

Leidská mutácia FV je autozomálne dominantná vrodená choroba, ktorá sa prejavuje zvýšenou zrážanlivosťou krvi. Príčinou je mutácia génu pre FV, čo je bielkovina v krvi spôsobujúca jej zrážanie. Mutáciou sa FV stane rezistentným na štiepenie proteínom C, ktorý zrážanie krvi za normálnych okolností reguluje. Následkom sú trombofilné stavy spojené s tvorbou krvných zrazenín (trombus), hlavne v žilách dolných končatín. Najväčším rizikom je vznik pľúcnej embólie, ktorá môže skončiť úmrtím (Vilímovský, M., 2014). APC rezistenciu spôsobenú FV Leiden po prvýkrát hlásili v roku 1993 Dahlbäck (Van Cott, E.M., et al. 2016).

Pozadie a molekulárne základy rezistencie na FV Leiden a aktivovaného proteínu C (APC).

Aktivovaný proteín C (APC) štiepi FVa a FVIIIa na konzervované zvyšky arginínu (R), aby inhiboval koaguláciu. Vo faktore Va (FVa) sú to pozície R306, R506 aj menej dôležitá pozícia R679. Molekulárnym základom FV Leiden je mutácia v géne pre faktor V (FV) na G1691A, ktorej výsledkom je zmena R506 na glutamín (R506Q). Táto zmena spomaľuje inaktiváciu FV a APC (Van Cott, E.M., et al. 2016a).

Aktivovaný faktor V (FVa) je zrážací proteín, ktorý spolupracuje s aktivovaným faktorom X (FXa) na priamu premenu protrombínu na trombín. Špecifická mutantná forma tohto proteínu, faktor V Leiden (F5 c.1691G> A a p.Arg506Gln), je rezistentná na inaktiváciu, čo vedie k vyššiemu množstvu aktivovaného faktora V, väčšej tvorbe trombínu, teda k hyperkoagulačnému stavu (Davenport, W. B., et al. 2014).

FVL sa vyskytuje v dvoch genotypových formách. Heterozygotná forma je prítomná v oboch kópiách génu. V tejto forme sa hlavne vyskytuje u bežnej kaukazskej populácie (5%) a je menej častý, alebo veľmi zriedkavý u iných etnických skupín.

Homozygotná forma je prítomná v jednej kópii génu. Pri tejto forme mutácie pre FV Leiden jej výskyt je nižší, v populácii asi 1 z 5 000 jedincov, ale má až 80-násobne riziko venózneho trombozy (Van Cott, E.M., et al., 2016).

3.3 Patofyziológia a výskyt FVL

Nedostatočná antikoagulačná odpoveď plazmy na APC (APCR) je najčastejším rizikovým faktorom venózne trombózy. Môže sa vyskytovať v prítomnosti mutácie FV Leiden (85 – 95 %), ale aj pri jej absencii. Medzi príčiny tzv. získaného APCR fenotypu patrí užívanie hormonálnej antikoncepcie, tehotnosť, malignita a s nimi súvisiace zmeny hemostázy. Z príčin izolovane zvýšená aktivita FVIII, zvýšená hladina protrombínu pri mutácii FII G20210A, alebo z iných (Stančiaková, L. a kol., 2017b).

Pri Leidenskej mutácii môže táto choroba u niektorých viesť k veľmi ťažkým komplikáciám. U žien je tento stav vo všeobecnosti rizikovejší, pretože sú na tvorbu krvných zrazenín náchylnejšie. Najmä v tehotenstve a pri užívaní hormonálnej antikoncepcie. Priebeh tehotenstva u väčšiny žien s Leidenskou mutáciou je úplne normálny. Avšak riziko vzniku trombov je o niečo zvýšené (Vilímovský, M., 2014).

FVL sa vyskytuje v dvoch genotypových formách. Heterozygotná forma je prítomná v oboch kópiách génu. V tejto forme sa hlavne vyskytuje u bežnej kaukazskej populácie (5%) a je menej častý, alebo veľmi zriedkavý u iných etnických skupín.

Homozygotná forma je prítomná v jednej kópii génu. Pri tejto forme mutácie pre FV Leiden jeho výskyt je nižší, v populácii asi 1 z 5 000 jedincov (Van Cott, E.M., et al., 2016).

Mutácia na pozícii 506R> Q, v ťažkom reťazci faktora V (FV) (FVLeiden), je častá u bielej populácie a spája sa s 5 až 8-násobne vyšším rizikom hlbokej žilovej trombózy u heterozygotov a 50-80-násobné riziko medzi homozygotmi (Boncz, Z., 2012). Faktor V Leiden je veľmi zriedkavý v africkej a ázijskej populácii. Je slabším rizikovým faktorom trombózy. (Björk, I., 2019).

Ďalšie mutácie v géne pre FV.

Mutácia FVLiverpool (I359T) bol hlásený v rodine, v ktorej samotný FVLiverpool (I359T) nebol asymptomatický, ale FVLiverpool (I359T) s mutáciou na druhej alele FV (predčasný stop kodón) bol spájaný s nízkymi hladinami faktora V, rezistenciou na APC, a zvýšené trombotické riziko. FVCambridge (R306T) a FVHong Kong (R306G) sú zriedkavé mutácie, ktoré obidve vykazujú iba miernu rezistenciu na APC (Van Cott, E.M., et al. 2016).

4 KAPITOLA

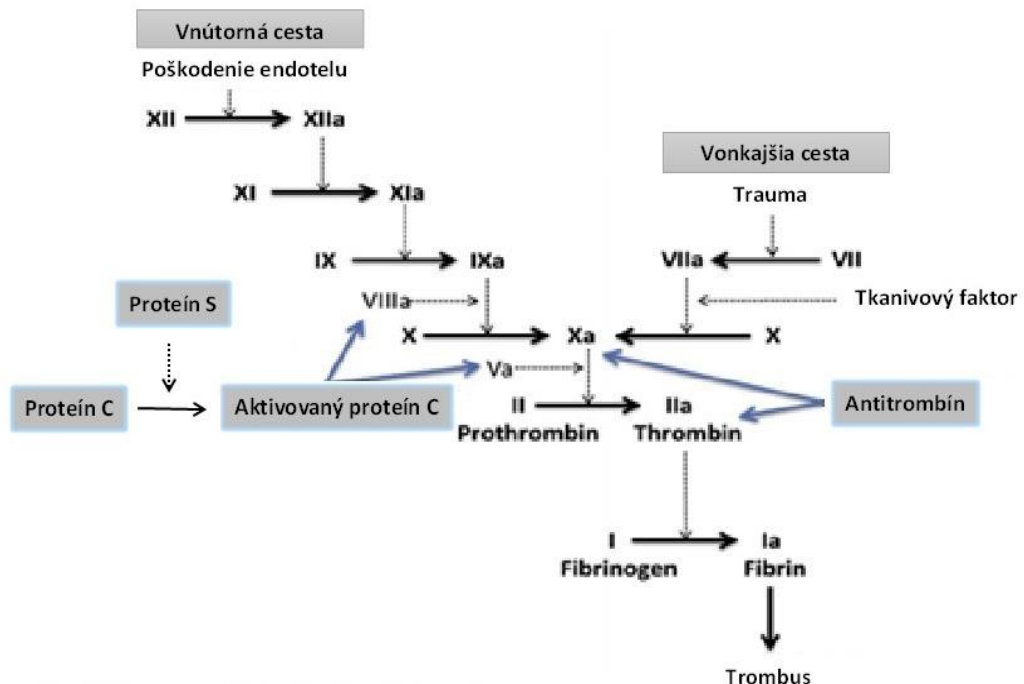
4 RIZIKÁ V TEHOTENSTVE PRI MUTÁCII FV LEIDEN

Mutácia faktora V Leiden vykazuje vysokú prevalenciu k trombóze. Priebeh tehotenstva môžu komplikovať patológie, ktoré súvisia s hemostatickými poruchami.

4.1 Vplyv faktora V Leiden na tehotenstvo

Známe je, že tehotenstvo zahŕňa dôležité zmeny v hemostatickom systéme v smere, ktorý podporuje zrážanie. Hodnoty fibrinogénu, protrombínu, faktory FV, FVII, FVIII, FIX, FX a FXII sú zvýšené, zatiaľ čo dochádza ku poklesu koncentrácie antitrombínu (Corash, 1986). Aj keď zmeny sú fyziologické, môžu predisponovať k tromboembolizmu. Tehotenstvo je potom spojené s trombofiliou a tromboembolickým rizikom, ktoré sa výrazne zvyšuje. Priebeh tehotenstva môžu tiež komplikovať patológie súvisiace s hemostatickými poruchami. Mutácia faktora V Leiden vykazuje vysokú prevalenciu k trombóze v tehotenstve, ale aj v bežnej bielej populácii (Bertina a kol., 1994; Rees a kol., 1995), čím priťahuje záujem výskumníkov o preskúmanie jeho úlohy pri komplikáciách v tehotenstve. (Marshall, A.L., 2014).

Kaskádu vnútornej a vonkajšej cesty tvorby trombov je znázornené na obrázku 2.



Obrázok 2. Kaskáda tvorby trombov (Davenport, W. B., 2014)

Trombotické komplikácie ako dôsledok trombofilného stavu v tehotnosti a šesťnedeľ pri mutácii FV Leiden sú: venóznym tromboembolizmus (VTE), opakovaná včasná a neskorá strata plodu, preeklampsia, intrauterinná rastová reštrikcia (IUGR), abrupcia placenty, mŕtvy plod (Pabinger, I., 2009). Presná etiológia týchto stavov zostáva neistá, aj keď sa berú do úvahy trombotické lézie v placentárnom obeh, ktoré môžu byť spoločnými znakmi rizík v tehotnosti (Said. J., 2012).

Na spomínané komplikácie pri mutácii FV Leiden sme uviedli vybrané štúdie, ktoré nás informovali o rizikách v tehotnosti, porovnali sme heterozygotnú formu mutácie s homozygotnou formou FV Leiden pri vybraných trombofilných stavoch. Do rizík sme zahrnuli aj systémový lupus erythematosus s vrodenými trombofiliami.

4.2 FV Leiden a systémový lupus erythematosus (SLE).

Riziká tromboembólie a opakované straty tehotenstva u pacientov s SLE neboli úplne objasnené. Genotypizácia polymorfizmov FV Leiden, FIIG20210A a MTHFRC677T sa uskutočňovala analýzou polymerázovej reťazovej reakcie a reštrikcie dĺžky fragmentu (PCR-RFLP). Neboli s ňou zistené žiadne významné rozdiely v prevalencii polymorfizmov FV Leiden, FIIG20210A a MTHFRC677T medzi pacientmi a kontrolami. Pacientky s FV Leiden mali menšiu pravdepodobnosť straty tehotenstva ($0,50 \pm 0,90$ oproti $2,20 \pm 1,60$; $p = 0,007$) ako ostatné kontrolné a neboli pozorované žiadne významné rozdiely v reprodukčnej anamnéze nosičov FIIG20210A ($p > 0,05$) (Robeva, R., 2017).

V skupine SLE malo 41,70% žien s genotypom MTHFRC677T TT najmenej jeden potrat, ale iba 14,00% v porovnaní s ostatnými pacientkami ($p = 0,030$). Keďže prevalencia skúmaných trombofilií bola u pacientov so SLE a zdravých žien podobná, odhalil sa podstatný vplyv vrodených protrombotických faktorov na reprodukčnú históriu pacientiek. Vyšetrovanie polymorfizmu FV Leiden a MTHFRC677T u pacientiek so SLE by mohlo pomôcť identifikovať ženy s najvyšším rizikom reprodukčnosti (Robeva, R., 2017).

4.3 Faktor V Leiden a strata plodu

Výsledok tehotenstva je vysoko ovplyvnený vývojom a funkciou placenty, ktorá závisí od krvného obehu matky a plodu. Trombofilná zložka pre nedostatok inhibítorov koagulácie zahŕňa tvorbu mikrotrombov v cievnom riečisku a placenty, ktorý vedie k nefunkčnosti placenty a tým ku komplikáciám tehotenstva (Fernández, A., 2019).

Trombofília môže mať za následok poškodenia cirkulácie cievneho systému matky a plodu a to infarktom maternice, ktorý je v skutočnosti charakterizovaný masívnym ukladaním fibrínu v decidua pod placentou. Táto skutočnosť bola spájaná s významnou morbiditou a mortalitou plodu (Naeye, 1985; Laurini a kol. 1994). Analýza ktorú uskutočnili (Pabinger, I., 2009), poukazuje na výsledky s včasnou opakovanou stratou plodu (OR = 2,0), neopakujúca sa strata plodu (OR = 1,7) a strata plodu po 19 týždňoch gravidity (OR = 3,0). V populácii žien, u ktorých mutácia faktora V Leiden je zriedkavá, alebo dokonca sa nevyskytuje, nebol ani jeden prípad identifikovaný ako rizikový faktor s opakujúcimi sa stratami plodu (Pabinger, I., 2009). Tieto údaje z metaanalýzy týkajúce sa straty tehotenstva a trombofílie ukazujú na zvýšený pomer šancí (OR) o približne dva alebo viac rizík pre opakovanú stratu plodu v nosičoch faktora V Leiden.

4.4 Faktor V Leiden a placentárne komplikácie

Placentou sprostredkovaná komplikácia je častá placentárna mikrovaskulárna a makrovaskulárna trombóza, ktorá sa prekrýva s tromboembolizmom a tehotenstvom. Placentárne infarkty sú častými znakmi patológie, ktorá je možná aj v súvislosti s faktorom V Leiden. (Ormesher, L., 2017). Tehotenstvo s placentovou komplikáciou, má zvýšené riziko opakujúcich sa komplikácií sprostredkované placentou a venóznym tromboembolizmom aj počas nových tehotenstiev. (Rodger, M. A., 2014)

Hemostatický systém sa javí ako dôležitý pre placentárnu funkciu. Placentou sprostredkované tehotenské komplikácie (PMPC), ktoré zahŕňajú preeklampsiu, obmedzenie rastu plodu (FGR), opakovaný a neskorý potrat a placentové abrupcie, sú spojené s protrombotickými mechanizmami (Ormesher, L., 2017).

4.5 Faktor V Leiden a preeklampsia

Preeklampsia je komplikácia gravidity pri ktorej sú patologické zmeny v cievach, ktoré zásobujú placentu a ktoré vedú k nedostatočnému zásobovaniu plodu. Vyskytuje sa u 2-8% tehotných žien. Táto komplikácia je typická pre druhý a tretí trimester a primárne sa manifestuje hypertenziou a proteinúriou placenty (Sakalová, A., a kol., 2011).

Medzi ukazovateľmi poškodenia endotelu, zrážania krvi a fibrinolýzy, fibronektín vykazuje najvýznamnejšie zmeny vo vzťahu k preeklampsii (Philipp, C.S., 2013). V metaanalýze prípadových kontrolných štúdií od Lin a Augusta bol FV Leiden spojený s ťažkou preeklampiou (OR 2,20; 95% CI 1,30– 3,90). Veľká švédsko kohortná štúdia uviedla, že nosiči Leidenskej mutácie neboli vystavení zvýšenému riziku závažnej preeklampsie. Ďalšie systematické prieskumy a metaanalýzy perspektívnej kohortnej štúdie od Rodgera a kol. z roku 2010 ukázala významné spojenie medzi FV Leiden a PTM a nešpecifickou preeklampiou (FV Leiden OR 1,20, 95% CI 0,90– 1,70). Preskúvanie kohortných štúdií však vykonal Dudding a kol. z roku 2008, ktorý uviedol, že spojenie medzi FV Leiden a preeklampiou je významné (OR 1,50; 95% CI 1,10– 1,90) (Hushan, E.O., 2019).

4.6 Faktor V Leiden a obmedzenie rastu plodu

Obmedzenie rastu plodu, prehodnotila spoločnosť Facco et al., ktorá uskutočnila metaanalýzy, ktoré našli celkovú asociáciu medzi FV Leiden a obmedzením rastu plodu (OR 1,20, 95% CI 1,00– 1,40) v štúdiách s vyššími odhadmi. Naopak, Hiltunen a kol. v štúdiách Finish case-control zistili, že FV Leiden je spojený s predčasným pôrodom (gestačný vek [GA] 32–36 týždňov) (Lykke, J.A., 2012). Tieto štúdie nám ukazujú, že nielen v celkovej asociácii medzi FV Leiden a obmedzením rastu plodu ale aj gestačný vek v prítomnosti FV Leiden je spojený s predčasným pôrodom.

4.7 Faktor V Leiden a venózne tromboembolizmus (VTE)

Tehotenstvo je hyperkoagulačný stav, pravdepodobne určený na ochranu matky pred hemostatickými problémami pôrodu. Táto hyperkoagulabilita však zvyšuje riziko venózne tromboembólie (VTE), ktorá je hlavná príčina smrti matiek, čiže tehotenstvo je tak získaný a nezávislý rizikový faktor pre rozvoj VTE (Gerhardt, A., 2016).

Riziko pri asymptomatickej trombofílii je spojené s VTE v tehotenstve a zvyšuje sa s kombinovanými defektmi, ako medzi homozygotmi a takými defektami, ktoré sú spojené s pozitívnou rodinnou anamnézou VTE. Toto riziko sa preukázalo signifikantne relatívne vyššie u všetkých trombofílií (Ormesher, L., 2017). Najvyššie absolútne riziko VTE je pri homozygotnej forme FVL 3,0% (OR 34,40, 95% CI 9,90–210,10). Naproti tomu Gerhardt a kol. uvádzali, že toto riziko ako vysoko rizikové trombofílie, vrátane deficitu antitrombínu a zložených heterozygotov pre FVL a protrombín G20210A sú významné riziká gestačného VTE (6,0–9,0, respektíve 5,5–8,0%), ktoré sa vyskytujú nezávisle od rodinnej anamnézy (Ormesher, L. 2017).

VTE spojený s tehotenstvom, predstavuje asi 10% úmrtí matiek v rozvinutom svete (Marshall A.L., 2014). Nositelia mutácie Faktora V Leiden majú nižšiu schopnosť inaktivácie aktivovaných koagulačných faktorov V a VIII a tento stav vedie k zvýšenému celoživotnému riziku venózne trombozy (Björk, I., 2019).

4.8 Faktor V Leiden a mŕtvy pôrod

Mŕtvy pôrod je traumatizujúci pre tehotnú ženu a jej rodinu. Považuje sa za ukazovateľ kvality perinatálnej starostlivosti. Súvisiace faktory matky k zvýšenému riziku narodenia mŕtveho dieťaťa sú vysoký vek matky, fajčenie, nadváha, nízky sociálny ekonomický stav a predchádzajúci pôrod mŕtveho dieťaťa. Hlavné príčiny pre mŕtvy pôrod sú aj infekcia, komplikácie pupečníka, vrodené vývojové chyby a preeklampsia (Björk, I., 2019).

Riziko preeklampsie pri trombofilných stavoch u nosičiek homozygotnej a heterozygotnej formy mutácie poukazuje na významný štatistický rozdiel vo včasnom a neskorom rozvoji preeklampsie ($p = 0,03$). Heterozygotná forma mutácie FV Leiden je signifikantne častejšia u pacientok s HELLP syndrómom v porovnaní so zdravými ženami (Stančiaková, L., a spol. 2017a).

Porovnanie rizika heterozygotnej a homozygotnej mutácie faktora V Leiden sme uviedli pri vybraných trombofilných stavoch. Prehľad rizík pri vybraných trombofilných stavoch dokumentuje tabuľka 6, tabuľka 7, tabuľka 8, tabuľka 9, tabuľka 10, tabuľka 11, tabuľka 12.

Tabuľka 6. Riziko VTE pri vybraných trombofilných stavoch u žien starších ako 35 r.

Trombofilný stav	Riziko vzniku VTE
mutácia FV Leiden- homozygotná forma	3,0%
mutácia FV Leiden- heterozygotná forma	0,7%

Tabuľka 7. Riziko preeklampsie pri trombofilných stavoch

Trombofilný stav	Riziko vzniku preeklampsie (OR (95% CI))
mutácia FV Leiden- heterozygotná forma	2,20 (1,50-3,30)
mutácia FV Leiden- homozygotná forma	1,90 (0,40-7,90)

Tabuľka 8. Riziko včasnej straty plodu pri trombofilných stavoch

Trombofilý stav	Riziko straty plodu (OR (95%CI))
mutácia FV Leiden	1,90 (1,00-3,60)

Tabuľka 9. Riziko opakovanej straty plodu pri trombofilných stavoch v prvom trimestri tehotnosti.

Trombofilý stav	Riziko straty plodu (OR (95%CI))
mutácia FV Leiden- heterozygotná forma	1,70 (1,10-2,60)
mutácia FV Leiden- homozygotná forma	2,70 (1,30-5,60)

Tabuľka 10. Riziko straty plodu v pokročilom štádiu tehotnosti pri trombofilných stavoch.

Trombofilý stav	Riziko straty plodu v pokročilom štádiu tehotnosti (OR (95%CI))
mutácia FV Leiden- heterozygotná forma	2,10 (1,10-3,90)
mutácia FV Leiden- homozygotná forma	1,100 (0,40-9,70)

Tabuľka 11. Riziko abrupcie placenty pri trombofilných stavoch

Trombofilý stav	Riziko abrupcie placenty (OR (95%CI))
mutácia FV Leiden- heterozygotná forma	4,70 (1,10-19,60)
mutácia FV Leiden- homozygotná forma	8,40 (0,40-171,20)

Tabuľka 12. Riziko rozvoja IUGR pri trombofilných stavoch

Trombofilý stav	Riziko rozvoja IUGR (OR (95%CI))
mutácia FV Leiden- heterozygotná forma	2,70 (0,60-12,10)
mutácia FV Leiden- homozygotná forma	4,60 (0,20-115,70)

(Stančiaková, L., a spol. 2017a)

Z uvedených rizík pri trombofilných stavoch je riziko pri homozygotnej mutácii FVLeiden vyššie ako pri heterozygotnej mutácii FVLeiden, kde je toto riziko nižšie.

Zdedené trombofilie sú genetické faktory pre nepriaznivé tehotenstvo. Najväčšie riziko je prítomné u nositeľiek homozygotnej mutácie FV Leiden a FII 20210A. Riziko neskorej straty plodu je pri FV Leiden vyššie, ako riziko včasných strát. U žien s preeklampiou sa vyskytuje mutácia FV Leiden 17 % (Robeva, R., et al., 2017).

Z vyššie uvedených skutočností sme zistili že, nevysvetliteľné intrauterinné úmrtia plodu môže byť príčinou mutácia FV Leiden. Pacientky s homozygotnou formou mutácie majú zvýšené riziko ako s heterozygotným variantom, avšak celkovo je tento vzťah relatívne málo významný (Stančiaková, L., a spol. 2017a)

Predpokladá sa, že prítomnosť mutácie FV Leiden u plodu by mohol súvisieť s rozvojom závažnej preeklampsie, IUGR a abrupcie placenty. Vymenované trombofilné stavy by mohli spôsobiť skorší nástup alebo aj prispieť k neskoršiemu nástupu komplikácií s vyšším stupňom závažnosti (Stančiaková, L., a spol. 2017a).

5 KAPITOLA

5 DIAGNOSTIKA TROMBOFILNÝCH STAVOV

V praxi nie je k dispozícii jednoduchý screeningový vyhľadávací test, ktorý identifikuje prítomnosť niektorého z trombofilných stavov a umožňuje potom cielené zameranie sa na niektorý špeciálny test. Zvyčajne sa vyšetruje celý panel laboratórnych testov, veľakrát pomerne nákladných (Hirmerová, J., 2019).

5.1 Testy na vyšetrenie trombofilných stavov

Skríningové testy

- APTT, PT, ProC Global.
- Genetické vyšetrenie
- Špeciálne fotometrické, chromogénne a koagulačné metódy PC, PS, APC-R, AT III .
- Metódy na stanovenie hladiny antigénu EIA- ELISA.

Na odhalenie trombofílie vrodenej alebo získanej sme bližšie uviedli v laboratórnej diagnostike testy, ProC Global, PC, PS, LA, metódy na stanovenie hladiny antigénu EIA-ELISA bližšie nerozvádzať.

5.2 Testy a princípy diagnostiky:

APTT - Aktivovaný parciálny tromboplastínový čas, komplexný a vyhľadávací test, ktorý informuje o všetkých plazmatických faktoroch, zúčastňujúcich sa na vnútornej (intrinsic) a spoločnej (common) ceste aktivácie hemokoagulácie. Test je citlivejší na faktory vnútornej cesty (FVIII, FIX, FXI, FXII), ako na faktory spoločnej cesty aktivácie hemokoagulácie (FI, FII, FV, FX).

Princíp stanovenia: Rekalifikácia vyšetrovanej plazmy v prítomnosti parciálneho tromboplastínu, tkanivový fosfolipid ako náhrada doštičkového faktora 3, a aktivátora kontaktu (kaolín). Čas zrážania plazmy závisí od množstva plazmatických faktorov vnútornej a spoločnej cesty aktivácie hemokoagulácie (Mrišková, J., 2012).

PT - Tromboplastínový čas, je vyhľadávací a vylučovací, komplexný test, ktorý informuje o faktoroch premeny protrombínu na trombín o faktoroch protrombínového komplexu (FII, FV, FVII, FX) a fibrinogén (Sakálová, A., 2011).

Princíp stanovenia: V rovnakom pomere sa zmieša vyšetovaná plazma, tromboplastín a CaCl₂ a meria sa čas potrebný na vytvorenie prvých fibrínových vlákien (Mrišková, J., 2012).

Proteín C (PC)

Dôležitým inhibítorom koagulácie je proteín C. Je aktivovaný komplexom trombín a trombomodulín, Spolu s proteínom S inhibuje faktory VIIIa a Va tým dáva hranicu pôsobenia vnútornej tenázy a protrombinázy v koagulačnej reakcii. V homozygotnej forme deficit PC sa prejaví v novorodeneckom veku a to ťažkou fulminantnou purpurou. Riziko prvej trombózy u heterozygotov je vyššie 7-10 násobne, pred dosiahnutím stredného veku. Jedinci majú s deficitom PC súčasne aj mutáciu FV Leiden, podmieňujúcu rezistenciu na aktivovaný PC až 20%. (Sakalová, A., a kol., 2011). Hladina PC sa počas gravidity nemení, ale u žien s vrodeným deficitom PC je gravidita riziková (Stančiaková, L., 2017a).

Princíp stanovenia: Stanovenie proteínu C využíva pre aktiváciu proteínu C špecifického aktivátora, ktorým je serínová proteáza izolovaná a vyčistená z jedu hada druhu *Agkistrodon contortrix*. Rýchlo aktivuje ľudský a hovädzí proteín, pravdepodobne rovnakým mechanizmom ako trombín, bez toho aby zasahoval do iných koagulačných faktorov. Vytvorený APC môžeme merať pomocou chromogénnych substrátov alebo koagulačnými stanoveniami (Škorňová I., a kol. 2020).

Proteín S (PS)

Proteín S neenzymatický kofaktor aktivovaného PC, má aj vlastnú antikoagulačnú aktivitu, ktorá je nezávislá na PC. Dedičnosť defektu PS je podobná s deficitom PC, avšak až 40% rodín s deficitom PS má defekt kombinovaný s Leidenskou mutáciou. Riziko trombózy sa zvyšuje u heterozygotov 6 -10 krát (Sakalová, A., a kol., 2011).

Princíp stanovenia: Metódou protrombínového času (PT), kedy kofaktorová aktivita proteínu S je obmedzená na degradáciu faktora Va závisle na APC (Škorňová I., a kol. 2020).

Antitrombín III

Vyšetrenie je určené pre kvantitatívne stanovenie funkčnej aktivity antitrombínu III v plazme s využitím automatických analyzátorov na diagnostiku redukovanej syntézy alebo zvýšenej spotreby.

Princíp: Antitrombín III vo vzorke sa pomocou heparínu mení na akcieschopný inhibítor, ktorý inaktivuje prítomný trombín. Obsah zvyškového trombínu sa stanoví v kinetickom teste zmeraním zostupu absorbancie pri 405 nm (Mrišková, J., 2012).

Lupus antikoagulant (LA)

Lupus antikoagulant (LA) sú vlastne imunoglobulíny triedy IgG, IgM, IgA, autoprotilátky tvoria heterogénnu skupinu. Sú namierené proti fosfolipidovým zložkám, ktoré sú naviazané na bielkovinách protrombínového komplexu koagulačnej kaskády. Prítomnosť LA sa považuje za jednu z najčastejších príčin náhodne zisteného predĺženého APTT, hlavne tam, kde nie sú prítomné prejavy krvácania (Sakalová, A., a kol., 2011).

Princíp: Test PTT-LA je založený na meraní rekalcifikačného času plazmy v prítomnosti cefalínu a aktivátora. Prítomnosť LA v testovanej plazme predlžuje čas zrážania. Vhodnou senzibilizáciou reagentie sa dosahuje špecifické predĺženie času zrážania, úmerne obsahu LA v plazme (Mrišková, J., 2012).

ProC Global

Stanovenie antikoagulačnej kapacity v systéme PC sa používa celkový skríningový test ProC Global. Odráža funkčnosť cesty PC, ktorú bezprostredne ovplyvňuje APC rezistencia veľmi často spojená s Leidenskou mutáciou faktora V (FV Leiden). Test je založený na meraní predĺženého APTT spôsobeného aktiváciou PC vo vzorke po pridaní hadieho jedu Protac (Agkistrodon contortrix) (Sakalová, A., a kol., 2011). LA v plazme (Mrišková, J., 2012).

Stanovenie FV Leiden:

Genetické vyšetrenie

Genetickým vyšetrením testujeme DNA, ktoré zahrňuje mutáciu FVL, mutáciu protrombínu 20210A, MTHFR C 677T. Väčšina špecializovaných molekulárnych laboratórií v súčasnosti používa analýzu amplifikácie PCR, po ktorej nasleduje hybridizácia a sondy špecifické pre cieľ, čo umožňuje vysoko automatizovanú genotypizáciu v tomto mieste (Van Cott, E.M., et al. 2016).

Polymerázová reťazová reakcia PCR

Ide o biochemickú reakciu, enzymatickú amplifikáciu deoxyribonukleovej kyseliny (DNA) *in vitro*, kde dochádza k syntéze mnoho kópií vybranej sekvencie DNA v cyklickej reakcii pozostávajúcej z troch teplotných fáz:

1. denaturácia
2. hybridizácia
3. syntéza chýbajúceho komplementárneho úseku DNA

PCR začína tepelnou denaturáciou vzorku DNA na dva jednoduché reťazce pri teplote 95° C. Reakcia je založená na schopnosti dvojvláknovej DNA denaturovať pri vysokej teplote a opätovne renaturovať po jej znížení pri zachovaní pravidla komplementarity báz.

Ďalšia fáza spočíva v ochladení vzorky na 30 až 65° C. Pri tejto teplote dochádza k nasadeniu primerov na komplementárne 3' konce cieľovej DNA. Primery, štartéry sú základom pre syntézu nových vlákien. Ide o synteticky pripravené jednovláknové oligonukleotidy, ktoré majú sekvenciu komplementárnu k sekvenciám na 3' konci oboch vlákien rozmnožovaného úseku.

Syntézu nových vlákien katalyzuje termostabilná DNA-polymeráza. Najčastejšie sa používa DNA-polymeráza, ktorá je izolovaná z baktérií *Thermus aquaticus* žijúcich horúcich prameňoch. Tato DNA-polymeráza je označovaná ako Taq-polymeráza a predlžuje vlákna DNA smerom od oboch primerov, v smere od 5' konce ku 3' konci pri optimálnej teplote 72° C, a ostáva aktívna i po zahriatí na 95° C, potrebných k denaturácii. Aby bol dostatok substrátu pre syntézu nových vlákien, je v PCR reakcii prítomné nadbytočné množstvo deoxynukleotidtrifosfátov. Po skončení syntézy oboch vlákien dochádza opäť k zahriatiu na 95°C, aby došlo k denaturácii novo vytvorených DNA duplexov a celý cyklus začína znovu. Reakcie sa prevádzajú v zariadení nazývanom termocykler, kde sa teplota mení automaticky v naprogramovaných časových intervaloch. Výsledok PCR reakcie sa dá detekovať elektroforézou na agarózovom alebo polyakrylamidovom géle, alebo kvantitatívnym zmeraním množstva produktu PCR napr. meranie fluorescence (Bendík, J., 2003).

Stanovenia FV Leiden na prístroji Realist DX, Rotor- Gene 6000/Q

Kit pre detekciu mutácie G1691A v géne pre faktor V pomocou kvantitatívnej PCR

Popis kitu:

Je určený na detekciu jednonukleotidovej zámény G1691A (RS6025) v géne kódujúceho faktora V (Leidenská mutácia) na prístroji Realist DX a Rotor-Gene 6000/Q. Kit obsahuje všetky potrebné reagencie pre špecifickú amplifikáciu a priamu detekciu fragmentu DNA génu pre faktor V, ktorý nesie mutovanú alebo nemutovanú alelu. Každý kit obsahuje kontrolnú heterozygotnú vzorku pre overenie priebehu PCR reakcie.

Princíp metódy:

Kit pre detekciu jednonukleotidovej zámény G1691A v géne pre faktor V je založený na kvantitatívnom PCR s využitím fluorescenčne značených sond. Detekcia prebieha v kanáloch „Green“, ktorý sníma fluorescenčnú značku FAM (nemutovaná alela) a „Yellow“, ktorý sníma značku HEX (mutovaná alela).

Tabuľka 13. Reagencie - zloženie

Reagencie	Zloženie
Master Mix	PCR-H ₂ O, pufr, dATPs, dCTPs, dGTPs, dTTPs, MgCl ₂ , špecifické primery a sondy, polymeráza
PCR-H ₂ O	Voda pre použitie v molekulárnej biológii
Kontrolná heterozygotná vzorka	DNA heterozygota pre Leidenskú mutáciu

Skladovanie a expirácia kitu: Všetky časti kitu sa skladujú pri teplote -15° C až -25° C. Chráňte pred svetlom. Stabilita je do dátumu expirácie, ktorá je vyznačená na štítku krabíčky a skúmaviek.

Prístrojové vybavenie a materiál:

Potrebný materiál a pomôcky, ktoré nie sú súčasťou kitu

- jednorazové rukavice, automatické pipety, sterilné špičky s filtrom, -číre tenkostenné PCR-skúmavky o objeme 0,1ml

Potrebné prístrojové vybavenie:

- laboratórna trepačka, atolná centrifúga, prístroj Realist DX alebo Rotor-Gene 6000/Q, chladiaci bloček na 0,1ml-skúmavky

Obecné zásady pri práci:

Pre dosiahnutie optimálnych výsledkov je nevyhnutne potrebné dodržiavať nasledujúce pravidlá:

- používanie sterilných špičiek s filtrom,
- uchovávanie a izolácia pozitívnych materiálov (kontrolné templáty, DNA) v miestnosti k tomu určené a oddelené od prípravy samotnej PCR,
- plynulá a rýchla práca, umiestnenie všetkých reagensí v stojanoch,
- po rozmrazení Master Mixu/kontrolnej heterozigodnej vzorky sa neodporúča jej opakované použitie.

Pracovný postup:

Príprava DNA

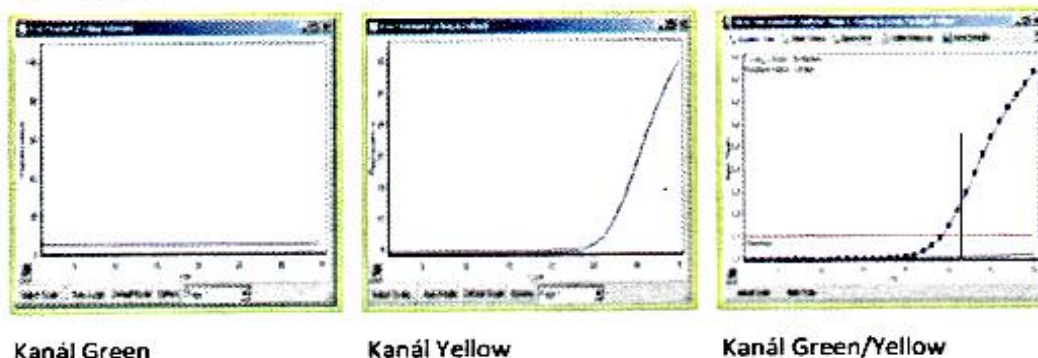
Pre analýzu odporúčame používať DNA v koncentrácii 20/30ng/mikroliter a s čistotou stanovenou spektrofotometricky pomerom A250/A280 je väčšie ako 1,6. Pre izoláciu DNA je odporúčaný izolačný kit Magic DNA Blood Kit, určený pre extrakciu DNA z periférnej krvi.

Príprava PCR:

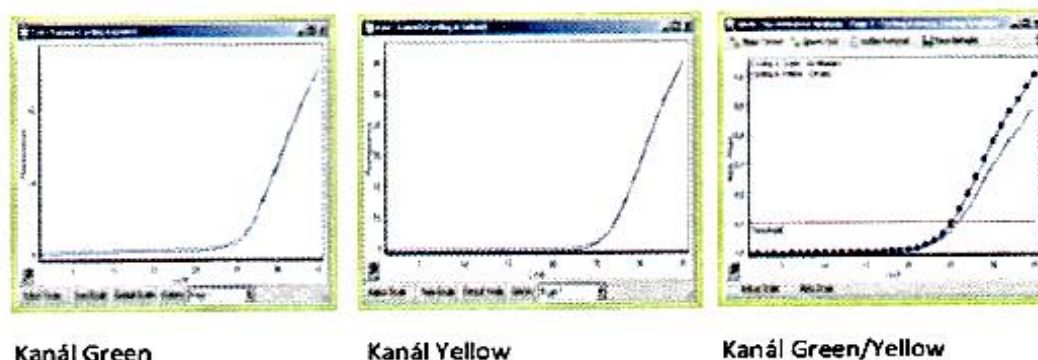
1. Presvedčíme sa, že chladiaci bloček je vychladený na teplotu +4stupne.
2. Rozmrazíme Master Mix a PCR-H₂O pri +4C krátko premiešame a centrifugujeme. Necháme rozmraziť vždy len zodpovedajúce množstvo skúmaviek.
3. Vložte určený počet PCR-skúmaviek do chladiaceho bločku.
4. Do pripravených skúmaviek pipetujeme 10 µl Master Mixu a 5 µl vzorky DNA, ku každej sade analyzovaných vzoriek zaraíme vždy negatívnu kontrolu a pozitívnu kontrolu.
5. Skúmavky sa uzatvoríme viečkom a vložíme sa do rotora prístroja. Neobsadené pozície rotora sa zaplníme prázdnyimi skúmavkami a rotor uzavrieme prstencom.

Spustí sa PCR testovanie na prístroji Realist DX, Rotor- Gene 6000/Q kde prebehne detekcia v kanáloch „Green“, ktorý sníma fluorescenčnú značku FAM (nemutovaná alela) a „Yellow“, ktorý sníma značku HEX (mutovaná alela). Na obrazovke analyzátoru vidíme vyhodnotenie vzoriek (Institute of Applied Biotechnologiens, 2019).

Homozygot se dvěma mutovanými alelami



Heterozygot s mutovanou a nemutovanou alelou



Obrázok 3. Príklady vyhodnotenia jednotlivých vzoriek (Institute of Applied Biotechnologiens, 2019).

EIA - ELISA sú systémy, ktoré pracujú v reagenčne uzavretom systéme, sú to predovšetkým stroje, ktoré pracujú nie s mikrotitračnými doštičkami, ale s jednotlivými stripmy. Výhodou metód ELISA je dostatočná citlivosť, špecifickosť a reprodukovateľnosť (Bartůňková, J., a kol., 2011).

5.3 Laboratórna diagnostika trombofilných stavov.

V laboratórnej diagnostike trombofilných stavov sme uviedli skriningové testy, z nich sme sa venovali testom APC-R, Pro C Global, test proteínu S (PS) a LA, ktoré sa vyšetrujú najčastejšie pri diagnostike vrodených a získaných porúch na odhalenie trombofilie. Väčšina používaných koagulačných testov je založená na meraní času, ktorý je potrebný k vytvoreniu fibrínového vlákna po pridaní reagensí do plazmy na testovanie.

Vyšetrenie rezistencie proteínu C (APC-R)

Základné stanovenie APC rezistencia predstavuje aktivovaný parciálny tromboplastínový test (APTT) vykonaný s a bez prídania exogénneho aktivovaného proteínu C (APC). U zdravých jedincov APC inaktivuje FVa, FVIIIa a takto predlžuje meranie APTT času. Na rozdiel od pacientov s mutáciou FV Leiden, kde nedochádza v dôsledku chýbajúceho štiepeného miesta k inaktivácii v takom rozsahu a APTT sa nepredlžuje. Výsledný pomer APTT času s a bez APC je u vyšetovaných nad 2,1 a naopak nosiči Leidenskej mutácie majú typický pomer pod 2,1, hoci môže medzi oboma súbormi existovať určitý prekryv (Škorňová, I., a kol. 2020).

Najmä je zaujímavý stav, kedy APTT pomer je pod 2,1 a nie je prítomná mutácia FV Leiden. Tento stav je popisovaný ako získaná APC rezistencia. Vzniká v dôsledku zvýšených hladín FVIII a FV, čo je typické pre tehotné ženy. Alternatívnou metódou stanovenie APC rezistencie je metóda na báze protrombínového aktivátora. Princíp metódy spočíva v inkubácii s FV aktivátorom z hadieho jedu Daboia russelli a následnej iniciácii koagulačná reakcia, s FV dependentným protrombínovým aktivátorom z hadieho jedu Notechis scutatus s a bez prítomnosti APC. Táto metóda je špecifickejšia pri jednotlivých mutačných stavoch FV Leiden (homozygot, heterozygot) a tiež u negatívnych vzoriek (Škorňová, I., a kol. 2020).

Indikácie vyšetrenia. Najčastejšie indikácie vyšetrenia u pacientov na prítomnosť trombofilie dokumentuje tabuľka 14.

Tabuľka 14. Indikácie vyšetrenia na prítomnosť trombofilie

Pacient	s prekonanou neprovokovanou alebo rekurentnou VTE,
Pacient	s prekonanou VTE v neobvyklej lokalizácii
Pacient	pozitívnou rodinnou anamnézou výskytu VTE do 45 rokov,
Pacient	s opakujúcimi sa abortami alebo tehotenskými komplikáciami,
Pacient	s anamnézou arteriálnej trombózy u mladšieho pacienta (<50 rokov),
Pacient	s anamnézou arteriálnej trombózy u pacientov bez ďalších rizikových faktorov

(Škorňová I., a kol. 2020).

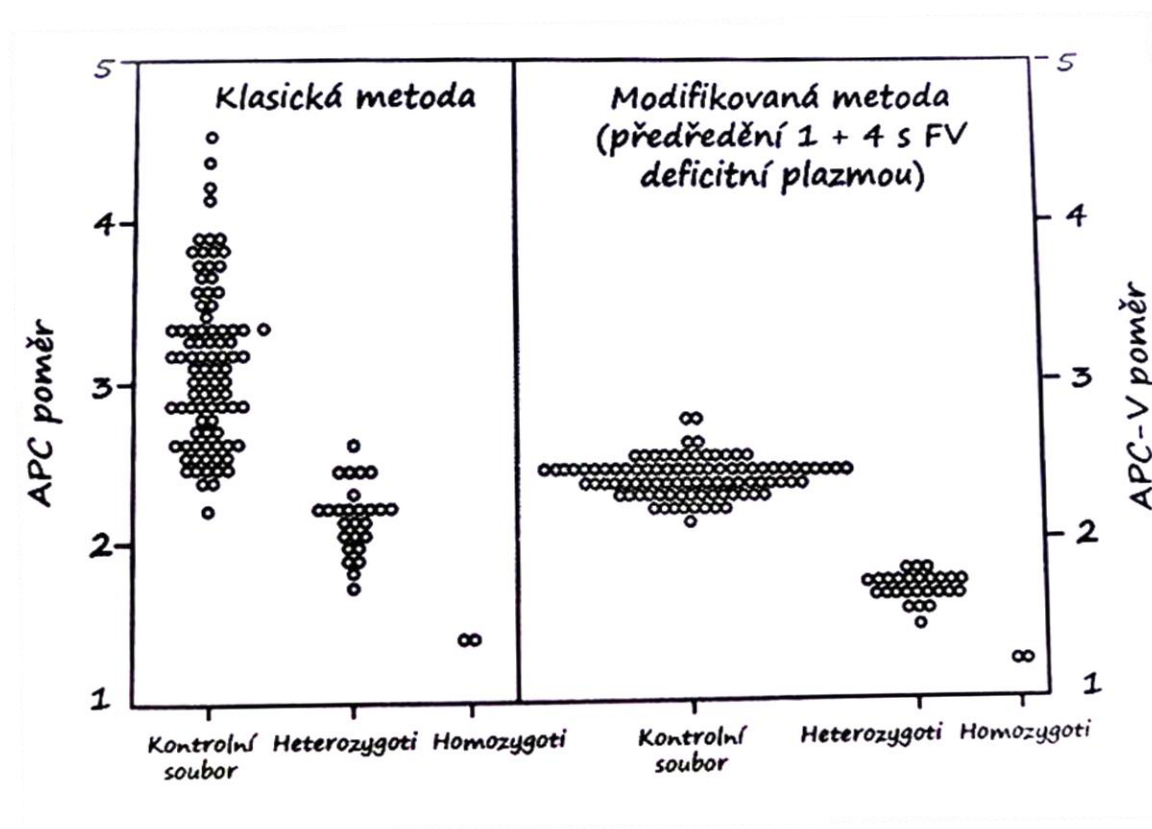
Vyššiu špecifitu pre stanovenie mutácie FV Leiden možno dosiahnuť modifikáciou metódy.

Modifikácia spočíva v predriedení vzorky pacienta s FV deficitnou plazmou v pomere 1:5. Prítomnosť FV deficitnej plazmy nám poskytuje štandardný obsah všetkých ostatných faktorov a takto minimalizuje možnosť interferencie pri meraní APTT testu vrátane vplyvu vysokej hladiny F VIII, ktorý APTT výrazne skracuje. Takto sa podarilo citlivosť a špecifickosť funkčného testu k prítomnosti Leidenskej mutácie dostať takmer až k 100%. Táto modifikácia umožňuje vykonávať stanovenie aj u pacientov liečených orálnymi antikoagulanciami (Škorňová I., a kol. 2020).

Porovnanie pomeru APC získaných z klasického testu rezistencie na APC s pomerom APC-V získanými z modifikovanej metódy.

Obe tieto metódy sa vzájomne dopĺňajú. Pôvodná metóda detekuje jedinca náchylného k trombóze s rezistenciou na APC v dôsledku mutácie FV(Q 506) neznámych mutácií alebo získaných faktorov a naznačuje závažnosť ich hyperkoagulačného stavu. Modifikovaná metóda poskytuje vysokú rozlišovaciu schopnosť pre mutáciu faktora V (Q 506) a umožňuje analýzu plazmy od pacientov pri perorálnej antikoagulačnej alebo heparínovej terapii.

Klasická metóda a modifikovaná metóda je znázornená na obrázku 3. (Škorňová I., a kol. 2020).



Obrázok 4. Klasická metóda, Modifikovaná metóda (Škorňová, I., a kol. 2020).

Použitie predriedenia s FV deficitnou plazmou silne znižuje vplyv preanalytických variácií, hoci nemožno vylúčiť, že analýza plazmy od pacientov s antifosfolipidovými protilátkami môže viesť k abnormálnemu výsledku APTT. V takýchto prípadoch môže zvýšenie koeficientu zriedenia zlepšiť výsledok stanovenia (napr. 1 + 9 alebo 1 + 19). Súčasne je potrebné vziať do úvahy, že riedenie vzorky eliminuje detekciu získanú APC rezistencie v dôsledku vysokých hladín FV a FVIII (Škorňová I., a kol. 2020).

Test na vyšetrenie Pro C Global

Princíp:

Inkubáciou plazmy s aktivátorom proteínu C (jed z *Agkistrodon contortrix*) a aktivátorom kontaktu sa prejavuje endogénny proteín C (PC) a vnútorná cesta koagulácie. Po pridaní Ca^{2+} zaznamenávame čas do vzniku fibrínového vlákna. Aktivovaný proteín C spolu so svojim kofaktorom Proteínom S (PS) inhibuje faktory Va a VIIIa.

Diagnostický význam:

Test na vyhľadávanie trombofilných stavov. Test antikoagulačnej kapacity systému Proteínu C s použitím Pro C Global slúži na identifikáciu osôb so zníženým antikoagulačným potenciálom systému proteínu C, získané a vrodené stavy deficiencie proteínu C a S, Faktor V Leiden, autoprotilátky atď. Ak vzorky testujeme za prítomnosti plazmy deficientnej na koagulačný faktor V, je možné špecificky stanoviť Faktor V Leiden (ProC Global/FV).

Reagencie:

APTT- reagens pre Pro C Global (Behringwerke) obsahuje siliciumdioxid, rastlinné fosfolipidy, natriumchlorid, HEPES, natriumazid

Aktivátor reagenz pre ProC Global (Behringwerke) obsahuje extrakt z jedu Agkistrodon contortrix, HEPEDES, neutralizátor heparínu hexadimethtrinbromid pH 7,4

Pufer pre ProC Global (Behringwerke) obsahuje HEPES, heparínneutralizátor-hexadimethribromid pH 7,4, konzervačné látky

Príprava reagencií:

Reagenciu APTT pred použitím krátko premiešame vytemperujeme na izbovú teplotu (+15 až 25°C).

Aktivátor rozpustíme v 2 ml destilovanej vody a inkubujeme cca 5 min. pri teplote +15 až 25°C za občasného premiešania.

Pufor po dosiahnutí +15 až 25°C je použiteľný ihneď.

Roztok chloridu vápenatého s koncentráciou 0,025 mol/l vytemperujeme na teplotu +37°C, pred použitím opatrne premiešame (nie je súčasťou setu).

Stabilita a stabilita testovacej súpravy:

Nepoužitý set skladujeme pri +2 až +8°C, je použiteľný do expirácie vyznačenej na štítku.

Tabuľka 15. Stabilita setu po otvorení.

Teplota	Reagent aPTT	Aktivátor	Buffer
+15 - +25°C	24 hodín	24 hodín	24 hodín
+15°C 1)	2 dni	2 dni	2 dni
+2 - +8°C 2)	2 týždne	2 týždne	2 týždne
-20 °C 2),3)	-	4 týždne	4 týždne

1) Otvorená fľaštička 2) uzavretá fľaštička 3) zmraziť len raz

Pracovné pomôcky a prístroje:

- Koagulometer XT 1500
- Centrifúga Eppendorf 5416

Vyšetrovaný materiál:

Odobratá venózna krv v citráte sodnom 0,11 mol/l v pomere 1 : 10, premiešaná bez vytvorenia peny. Centrifugácia vzorky 10 min. pri 1500G (3000ot/min).

Je potrebné zabezpečiť, aby vo vyšetrovanej vzorke nezostali trombocyty. Ak je potrebné vzorku zamraziť, tak vzorku ešte raz scentrifugujeme a rýchlo supernatant zmrazíme v plastovej uzavretej nádobke. Stabilita vzorky pri +15 až +25°C je 4 hodiny. Vzorka po rozmrazení sa musí vyšetriť do 2 hodín.

Tabuľka 16. Pracovný postup

	ProC Global		ProC Global/FV	
	PCAT	PCAT/0	PCAT	PCAT/0
vzorka	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Aktivátor reagent	50 µl	–	50 µl	–
aPTT	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Deficientná plazma FV	–	–	1+4	1+4
pufor	–	50 µl	–	50 µl
inkubácia	180 sekúnd	180 sekúnd	180 sekúnd	180 sekúnd
Calcium chlorid 0,025M	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl

Výpočet:

Výsledok udáva analyzátor v sekundách. Hodnoty dosadíme do vzorca a získame normalizovaný pomer – NR.

$$NR = \frac{\frac{PCAT \text{ vzorky}}{PCAT}}{0 \text{ vzorky}} \times KF$$

$$KF = \frac{\frac{SW}{PCAT \text{ SHP}}}{\frac{PCAT}{0 \text{ SHP}}}$$

PCAT – je čas zrážania závislý od proteínu C vyšetrovanej vzorky

PCAT/0 je čas zrážania závislý od proteínu C bez pridania aktivátora

SW – index senzitivity, udáva firma pre SHP

SHP- štandardná humánna plazma

KF- kalibračný faktor, jeho výpočet sa robí 1x mesačne, alebo pri každej zmene šarže setu.

Referenčné hodnoty:

	Pro C Global	Pro C Global/FV
PCAT	85- 200 sekúnd	128 – 173 sekúnd
PCAT/ 0	35 – 55 sekúnd	68 – 91 sekúnd
NR	0,69 – 1,56	0,86 – 1,10

Zdroje chýb:

Predčasnou aktiváciou plazmy, v dôsledku nesprávneho odberu (napr. traumatický odber), môžeme namerať falošné hodnoty PCAT/0.

Ak pri zmrazených vzorkách neboli dostatočne odstránené bunkové zložky krvi, môžeme získať falošne nízke hodnoty NR. Pri vyhodnocovaní vyšetrovaných vzoriek pomocou NR, sa môžu použiť iba vzorky, ktoré majú hodnotu PCAT/0 menej ako 60 sekúnd. Predĺžené hodnoty PCAT/0 môžu byť spôsobené LA. Test je ovplyvnený u pacientov kumarínovými preparátmi, heparínovou liečbou nad 0,8 U/ml a antifibrinolytickou liečbou. Vysoké hodnoty FV, F VIII a fibrinogénu môžu ovplyvňovať znížené hodnoty NR.

Kontrola kvality hodnôt, musí sa určiť:

Meranie Kontroll Plasma N a Pro C Kontroll Plasma (Behringwerke). Avšak v prípade, že meranie kontrolnej plazmy neleží v rozmedzí definovaných hodnôt, musí sa stanoviť nová hodnota kalibračného faktora (KF) (Siemens, Healthcare 2021).

Test na vyšetrenie proteínu C (PC)

Princíp:

Proteín C sa vo vyšetrovanom materiáli aktivuje špecifickým aktivátorom (hadí jed z *Agkistrodon contortrix*). Tento aktivovaný proteín C reaguje s chromogénnym substrátom, čoho výsledkom je farebný komplex. Intenzita farebného komplexu je priamo úmerná aktivite proteínu C pri vlnovej dĺžke 405nm.

Diagnostický význam:

Test sa používa na vrodené a získané defekty proteínu C, pri poruchách pečene, pri orálnych antikoagulanciách, orálnych kontraceptív a na diagnostiku trombofílnych stavov.

Reagencie:

Proteín C aktivátor-lyofilizát (Behringwerke) extrakt z jedu *Agkistrodon contortrix*, stabilizátory. HEPES-pufor (Behringwerke) HEPES, polyetylén glykol, césiumpchlorid, pH 8,25, konzervačná látka-natriumazid, Substrát Reagenz-lyofilizát (Behringwerke) pyro-glytamínová kyselina-prolin-arginínmethoxy-nitroanilid.

Príprava reagencií:

Proteín C aktivátor-lyofilizát rozpustíme vo 10 ml HEPES pufru a inkubácia 15 min pri 37°C. Substrát Reagenz-lyofilizát rozpustíme v 3ml destilovanej vody a inkubácia 15 min pri 37°C.

Stabilita a skladovanie:

Zatravený set sa skladuje pri +2°C až +8°C a môžeme ho použiť až do doby expirácie, ktorá je vyznačená na etikete.

Tabuľka 17. Stability Proteín C aktivátor, Substrát reagent, Pufor

Teplota	Stabilita Proteín C aktivátor	Stabilita Substrát reagent	Stabilita Pufor
+37°C	8 hodín	1 týždeň	-
+2°C až +8°C	2 týždne	6 týždňov	6 mesiacov
-20°C	4 týždne	6 mesiacov	-

Pracovné pomôcky a prístroje:

- Koagulometer BCT
- Centrifuga Eppendorf 5416

Vyšetrovaný materiál:

Venózna krv odobratá do 0,11 mol/l citrátu sódného v pomere 1:10. Premiešať bez vytvorenie peny. Vzorku centrifugujeme 10 min pri 1500G (3000 otáčok/min)

Stabilita vyšetřovaného materiálu

-20C 1 mesiac

+15C až +25C 8hod

Zmrazenú vzorku rozmrazovať 10 min pri + 37C a vyšetřit do 8 hodín.

Pracovný postup:

Vzorka 15 µl

Proteín C aktivátor 150 µl

Inkubácia 300 sec

Substrát Reagenz 30 µl

Výpočet:

Analyzátor udáva výsledok v mOD/min a v %, ktoré vypočíta z kalibračnej krivky.

Referenčné hodnoty: 70 až 140%

Zdroje chýb:

Pacienti liečení aprotinínom-môžeme získať falošné nízke hodnoty proteínu C.

Kontrola kvality:

Meranie kontrolnej plazmy Kontroll plasma N, Behringwerke, štandardnej plazmy Standard Human Plasma, Behringwerke, pre patologický rozsah kontrolu meranie s Kontrol Plasma P (Behringwerke). Kalibráciu si robí analyzátor zo štandardnej plazmy Standard Human Plasma (Behringwerke) vždy pri použití novej šarže setu, pri systematickej odchýlke hodnôt kontrolných plaziem (Siemens, Healthcare 2010a).

Test na vyšetrenie proteínu S (PS)

Princíp:

Aktivovaný proteín C (proteín Ca) proteolyticky štiepy aktívny faktor Va. Proteín S spolupôsobí ako kofaktor proteínu C a urýchlňuje reakciu. Od aktivity a koncentrácie proteínu S závisí čas do vzniku vytvorenia koagula. Deficientnou plazmou S zabezpečíme dodanie všetkých faktorov v nadbytku (fibrinogén, faktor V). Koagulácia sa zastaví na úrovni faktora Xa, ktorý zabezpečí štiepenie nadbytku faktora V na aktívny faktor Va a následne premenu protrombínu na trombín.

Diagnostický význam:

Test sa používa na vrodené a získané defekty proteínu S, pri poruchách pečene a trombofílnych stavoch.

Reagencie:

Deficientná plazma proteínu S-lyofilizát (Behringwerke) ľudská citrátová plazma s nemerateľnými hodnotami voľného aj viazaného proteínu S. Proteín Ca reagenz-lyofilizát (Behringwerke) aktivovaný ľudský proteín C s pridaním calciumchloridu a mannit konzervačné látky. Proteín S-Start reagenz-lyofilizát (Behringwerke) aktivátor z jedu Russelovej zmije (Vipera Russeli), fosfolipidy, chromogénny peptidový substrát pre trombín, natriumchlorid, HEPES, mannit a natriumazid ako konzervačné činidlo.

Príprava reagensí:

Deficientná plazma proteínu S-lyofilizát rozpustíme v 1ml destilovanej vody, inkubujeme 15 min pri +15°C až +25°C. Proteín Ca Reagenz-lyofilizát rozpustíme v 2 ml destilovanej vody, necháme inkubovať 15 min pri teplote +15°C až +25°C. Proteín S Startreagenz-lyofilizát rozpustíme v 5ml destilovanej vody, inkubujeme 1hod pri 37°C.

Stabilita a skladovanie:

Zatvorený set možno použiť do doby expirácie vyznačenej na etikete. Skladujeme pri +2°C až +8°C.

Tabuľka 18. Stability deficientná plazma PS, proteín Ca reagent, PS štartovací reagent

Teplota	Stabilita Deficientná plazma PS	Stabilita proteín Ca reagent	Stabilita PS štartovací reagent
+37°C	-	-	4 hodiny
+15°C až +25°C	8 hodín	8 hodín	8 hodín
+2°C až +8°C	-	2 dni	2 dni
-20°C	2 mesiace	2 mesiace	2 mesiace

Pracovné pomôcky a prístroje:

- Koagulometer BCT
- Centrifuga Eppendorf 5416

Vyšetrovaný materiál:

Venózna krv odobratá do citrátu sodného 0,11 mol/l v pomere 1:10, premiešame bez vytvorenia peny. Centrifugácia vzorky 15 min pri 1500G (3000 otáčok/min). Je dôležité nanapipetovať leukocyty aj trombocyty pri odpipetovávaní beztrmbocilovej plazmy. Vzorku uskladníme v uzatvorenej plastovej skúmavke. Stabilita vyšetřovaného materiálu pri +15 až 25°C je 4 hod, pri -20°C 1 mesiac. Po rozmrazení (37°C/10min) je nutné vzorku vyšetřit' do 2 hod.

Pracovný postup:

Vzorka	30 µl
Deficientná plazma PS+pufor	1+5 dielov
Proteín Ca Reagenz	50 µl
Inkubácia	15sec
Proteín S Startreagenz	125 µl

Výpočet:

Analyzátor udáva výsledok v sekundách a v percentách, ktoré vypočíta z kalibračnej krivky.

Referenčné hodnoty: 70 – 123 %

Zdroje chýb:

Precíznosť testu spočíva predovšetkým s dostatočnou centrifugáciou. Pri zmrazení vzorky je potrebné vzorku opakovane scentrifugovať, aby nedošlo k uvoľneniu leukocytov a trombocytov do plazmy, čo by viedlo k falošne zníženým hodnotám proteínu S. Aj prítomnosť mutácie faktora V môže viesť k falošne nízkym hodnotám proteínu S.

Kontrola kvality:

Meranie kontrolnej plazmy Kontroll- Plasma N, Standatr Human Plasma(Behringwerke) súčasne s vyšetrovaným materiálom, patologický rozsah kontrolujeme s Kontroll- Plasma P (Behringwerke). Analyzátor robí kalibračnú krivku zo štandardnej plazmy Standard Humanum Plasma (Behringwerke). Pri zmene šarže setu pri systematických odchýlkach hodnôt kontrolných plaziem (Siemens, Healthcare 2014b).

5.4 Klinický význam a interpretácia vyšetrenia

Klinické prejavy dedičných heterozygotných proteínových defektov zahŕňajúce antitrombín, proteín C, proteín S a faktor V (rezistencia na APC) sú dosť podobné. Mutácie ovplyvňujúce kvalitatívne alebo kvantitatívne funkcie týchto proteínov často vedú k žilovému tromboembolizmu v mladom veku (do veku 45 rokov) a nasleduje tendencia k opakujúcim sa trombotickým epizódami. Najbežnejším prejavom rezistencie na APC je hlboká žilová trombóza (DVT) dolných končatín s pľúcnou embóliou, alebo bez nej. Čo predstavuje asi 90% všetkých trombotických epizód (Škorňová, I., a kol. 2020e).

Tieto doporučené súbory laboratórných vyšetrení pri podozrení na trombofilný stav , by mali pomôcť predísť vzniku tromboembolických komplikácií u tehotných žien.

Testy na vyšetrenie LA1 a LA2

Princíp:

Hadí jed, z Vipera Russeli, v prítomnosti fosfolipidov a kalciových iónov priamo aktivuje faktor FX a FV. Týmto mechanizmom sa aktivuje spoločná cesta koagulácie. Prítomnosť lupusu antikoagulantu vo vzorke spôsobuje predĺženie času merania koagulácie v dôsledku blokácie fosfolipidov. V tomto prípade vzorku postupujeme na ďalšie vyšetrenie testom LA2, ktoré obsahuje prebytok fosfolipidov. Tento prebytok slúži k neutralizácii protilátok proti fosfolipidom prítomných vo vyšetrovanej vzorke.

Diagnostický význam:

Pri trombofilných stavoch, trombocytopéniách, opakované aborty.

Reagencie:

LA1 Reagenz-lyofilizát (Behringwerke), jed z Vipera Russelii, fosfolipidy, neutralizátor heparínu, hexadimethrinbromid, kalcium, pufer, stabilizátory, zelená farbička, natriumazid

LA2 Reagenz- lyofilizát (Behringwerke) jed z Vipera Russeli, fosfolipidy, neutralizátor heparínu, hexadimethrinbromid, kalcium, pufer, stabilizátory, zelená farbička, natriumazid

Príprava reagencií:

LA1 Reagenz rozpustíme v 2 ml destil. vody, necháme inkubovať 5 minút pri teplote +15°C

LA2 Reagenz rozpustíme v 1 ml destil. vody, necháme inkubovať 5 minút pri teplote +15°C

Stabilita a skladovanie:

Neotvorený set skladujeme pri teplote +2 až +8°C môžeme ho použiť až do doby expirácie vyznačenej na etikete setu.

Tabuľka 19. Po rekonštitúcii LA1, LA2

Teplota	LA1	LA2
+37°C	8 hodín	8 hodín
+15°C	2 dni	2 dni
+2°C až +8°C	7 dní	7 dní
-20°C	4 týždne	4 týždne

Po rekonštrukcii reagencie sa môžu len 1 krát zamraziť.

Pracovné pomôcky:

- Koagulometer BCT
- Centrifúga Eppendorf 5416

Vyšetrovaný materiál:

Odobratá venózna krv do citrátu sodného 0,11 mol/l v pomere 1:10. Premiešame bez vytvorenia peny. Centrifugácia vzorky 15 min. pri 1500G (3000 otáčok/min.). Vzorku vyšetrujeme ihneď. Trombocyty nesmú presahovať 20x10⁹/l, vzorka sa musí ešte raz scentrifugovať a prefiltrovať(platí aj pre zmrazenú vzorku).

Stabilita vyšetovaného materiálu:

-20 C	1 mesiac
+2 a +8 C	4 hodiny
+15 až +25 C	4 hodiny

Materiál ktorý bol zamrazený inkubácia 10 minút pri 37C a vyšetříme do 2 hodín po rozmrazení.

Pracovný postup:

Vzorka	100 µl
Inkubácia	60 sek.
LA1/ LA2	100 µl

Výpočet: Analyzátor udáva výsledok testu v sekundách a v Ratio.

$$\text{Ratio} = \frac{LA1}{LA2}$$

Referenčné hodnoty:

LA1	45 sekúnd
LA2	38 sekúnd
Ratio	1,3

Pre LA1 ak je čas dlhší než referenčná hodnota, pristupujeme ku konfirmačnému testu LA2.
Pre LA2 ak je čas kratší ako LA1 predpokladáme prítomné protilátky typu lupus antikoagulant.

Ratio 2	ťažký stupeň lupus antikoagulant
Ratio 1,5 - 2	stredný stupeň lupus antikoagulant
Ratio 1,5 - 1,3	ľahký stupeň lupus antikoagulant

Zdroje chýb:

Nedostatočným odstredením Tr z plazmy môžeme získať kratšie časy a antikoagulanciá (heparín, hirudin) falošne predlžujú časy, pretože bránia formácii trombínu. Sérum ikterické, lipemické, hemolytické môže ovplyvniť výsledok testu na fotooptických prístrojoch, zvoliť inú vlnovú dĺžku merania.

Ratio môže byť vyššie ako 1,3, čo môže byť ovplyvnené nedostatkom faktorov FII,FV,FX alebo liečbou orálnymi antikoagulanciami. V týchto prípadoch je potrebné urobiť zmesné testy vyšetrovanej vzorky s kontrolnou plazmou Kontroll Plasma N v pomere 1:1. Ak nastane korekcia ide o deficit z faktorov (FII,FV,FX) alebo orálnu antikoagulačnú liečbu. V prípade extrémne veľkého deficitu niektorého z faktorov sa nemusia časy úplne znormalizovať.

Kontrola kvality:

Meranie kontrolnej plazmy Kontroll Plasma N (Behringwerke) pred začiatkom merania vyšetřovaného materiálu. Meranie patologického rozsahu, zabezpečíme vzorkou od pacienta s diagnostikovaným LA (Siemens, Healthcare 2011c).

Klinický význam:

Lupus antikoagulant (LA) sú vlastne imunoglobulíny triedy IgG, IgM, IgA, autoprotílátky tvoria heterogénnu skupinu. Sú namierené proti fosfolipidovým zložkám, ktoré sú naviazané na bielkovinách protrombínového komplexu koagulačnej kaskády. Prítomnosť LA sa považuje za jednu z najčastejších príčin náhodne zisteného predĺženého APTT, hlavne tam, kde nie sú prítomné prejavy krvácania (Sakalová, A., a kol., 2011).

LIEČBA

Protrombotický stav môže viesť k poruchám utero-placentárneho obehu, ktoré majú za následok infarkt a placentárnu nedostatočnosť. Táto skutočnosť vedie k strate plodu a ďalším tehotenským komplikáciám. Tieto riziká viedli k hodnoteniu trombofílie a následnému antikoagulačnému liečeniu, aby sa zabránilo strate plodu a iným tehotenským komplikáciám (Claire, S. P., 2013).

Antikoagulanciá a aspirín sú najlepšie študovanými a najbežnejšie používanými terapeutickými prostriedkami na prevenciu tehotenských komplikácií u trombofílnych žien. Bolo preukázané, že znižujú výskyt nežiaducich pôrodných udalostí u žien s predchádzajúcimi nepriaznivými výsledkami v tehotenstve, zdedenými alebo získanými trombofiliami. Nízkomolekulárny heparín je často hlavnou liečbou žien s trombofiliou a komplikáciami tehotenstva. (Fernández Arias, 2019).

Liečba žien s VTE nízkomolekulárnymi heparínmi (LMWH) sú výhodné kvôli priaznivému profilu účinnosti a bezpečnosti. Alternatívami sú nefrakcionovaný heparín (UFH) a potenciálne fondaparinux. Warfarínu je potrebné sa vyhnúť v tehotenstve z dôvodu teratogenity. Nízkomolekulové heparíny, UFH a warfarín je prijateľný v popôrodnom období aj dojčiacim matkám. Profylaxia (všeobecne s LMWH alebo v niektorých prípadoch UFH) sa odporúča ženám s najvyšším rizikom tehotenstva VTE, pacientom s dedičnými trombofiliami a so silnou rodinnou alebo osobnou anamnézou VTE (Marshall A.L., 2014).

Rýchly rozvoj poznatkov v oblasti hemostázy nám dáva do rúk novú generáciu účinných a relatívne bezpečných antitrombotík. V súčasnosti si najväčšiu pozornosť zaslúžia preparáty fondaparinux, idraparinux, dabigatran a priame inhibítory faktora Xa (FXa), ktoré veľmi pravdepodobne v budúcnosti postupne vytlačia klasické antikoagulanciá (heparín a kumarínové deriváty) ako v prevencii, tak aj v liečbe venózných a arteriálnych hyperkoagulácií, pre ich priaznivé vlastnosti a široké terapeutické okno a bezpečnejší profil. V relatívnej blízkej budúcnosti sa určite objavia ďalšie látky zasahujúce na mnohých molekulárnych a celulárnych úrovniach hemostázy (Novotný, J., 2018).

Dôležitá úloha hemostázy, je v pochodoch imunitnej odpovedi organizmu na rôzne podnety, ako aj v oblasti rastu, progresie a metastázovaniu zhubných nádorov. Možno teda zhrnúť, že hemostáza hrá dôležitú úlohu i mimo klasickej hranice regulácie fludikoagulačnej rovnováhy a preto indikácia antitrombotickej liečby sa bude ďalej rozširovať (Novotný J., 2018).

Nadalej existuje naliehavá potreba metodických štúdií dostatočnej veľkosti vzorky na stanovenie najlepšieho spôsobu liečby, ktoré trombofilné ženy s anamnézou tehotenských komplikácií potrebujú (Bates, S. M., 2013).

DISKUSIA

Dedičné a získané trombofilie sa dajú nájsť u 49% až 65% žien s tehotenskými komplikáciami, na rozdiel od 28% až 22% žien s normálnym tehotenstvom, čo naznačuje trojnásobné až osemnásobné zvýšenie rizika trombofilie u žien s komplikáciami. Podľa toho autori odporúčajú prenatálny skrining na vrodené a získané trombofilie u žien s predchádzajúcimi nepriaznivými výsledkami v tehotenstve so zámerom ponúknuť liečbu antikoagulanciami (Fernández, A., 2019).

Vyskytla sa väčšia kontroverzia okolo užitočnosti skriningu dedičných trombofilií u žien, ktoré mali v minulosti nepriaznivý výsledok alebo stratu tehotenstva. Proti skriningu u tejto populácie existuje niekoľko pádných argumentov, možno najdôležitejší je, že medzi hyperkoagulabilitou a výsledkami tehotenstva sa našli iba slabé asociácie a nebol zistený žiadny príčinný vzťah. Viac je dedičných trombofilií v bežnej populácii a väčšina z týchto žien má normálne výsledky tehotenstva. Pravdepodobne bude významný pri absencii anamnézy tromboembolických príhod, a skrining tejto populácie je podobný skriningu bežnej populácie, ktorý sa ukázal ako neefektívny z hľadiska nákladov (Davenport W.B., et al., 2014).

Na praktickej úrovni si skrining trombofilie vyžaduje poradenstvo a starostlivú interpretáciu pozitívnych aj negatívnych výsledkov. To sa často vykonáva na začiatku tehotenstva, kde môžu byť výsledky aj zavádzajúce. Vykonáva sa u žien so zlými pôrodnickými výsledkami. Poruchy IVF a opakovaný potrat, sú emocionálne náročné v týchto situáciách. Je dôležité vziať do úvahy aj psychologický dopad, novú diagnostiku trombofilie u pacientiek začínajúcich tehotenstvo aj ich príbuzných (Ormesher, L., 2017).

Najväčšiu štúdiu vykonali Rai a kol., ktorí vyšetrovali súvislosť medzi faktorom V Leiden a rekurentnou stratou tehotenstva u viac ako 1 000 po sebe nasledujúcich Kaukazských žien. Táto štúdia nepreukázala asociáciu opakovaného potratu s faktorom V Leiden, ale zistila významne vyšší počet žien so získanou rezistenciou na APC v skupine s opakovaným potratom v porovnaní s kontrolnými ženami (Pabinger, I., 2009).

Mutácia FV Leiden je najčastejšou vrodenou koagulačnou poruchou a tiež najčastejšou príčinou venózne trombózy (20 – 60 % pacientov), tiež jedným z dôležitých rizikových faktorom potratov, najmä tých, ktoré vzniknú v druhom trimestri tehotnosti. Nedostatočná antikoagulačná odpoveď plazmy na APC (APCR) je najčastejším rizikovým faktorom venózne trombózy. Môže sa vyskytovať v prítomnosti mutácie FV Leiden (85 – 95 %), aj pri jej absencii (Stančiaková, L., 2017c).

Aktivovaný faktor V (FVa) je zrážací proteín, ktorý spolupracuje s aktivovaným faktorom X (FXa) na priamu premenu protrombínu na trombín. Špecifická mutantná forma tohto proteínu, faktor V Leiden (F5 c.1691G> A a p.Arg506Gln), je rezistentná na inaktiváciu, čo vedie k vyššiemu množstvu aktivovaného faktora V, väčšej tvorbe trombínu, a teda k hyperkoagulačnému stavu. Aj keď je jeho heterozygotná forma najčastejšou dedičnou trombofiliou, jej prevalencia je stále nízka v bežnej populácii. Menej ako 0,3% z týchto heterozygotov bude mať VTE v tehotenstve. Nepriaznivé výsledky u plodu, prehľady určili, že nositelia FVL G1691A majú zvýšené relatívne riziko pre RPL (pomer šancí [OR] 1,50, 95% interval spoľahlivosti [CI] 1,06–2,19 a OR 2,00, 95% CI 1,60–2,55). Fetálna medicína (MFM) tiež zdôraznila nízke absolútne riziko (4,0%) straty tehotenstva u žien s FVL G1691A. Medzi FVL G1691A a preeklampsiou alebo malým gestačným vekom neexistuje signifikantná súvislosť. Asociácie medzi prerušením placenty a FVL G1691A chýbajú. (Davenport, W.B., 2014)

Novšia prípadová kontrolná štúdia siete MFM, aj keď potvrdzuje nedostatok spojitosti s prerušením placenty, zistili zvýšenie faktorov indukujúcich hypoxiu plodu v placentách matiek s FV. L G1691A v porovnaní s vekovo porovnateľnými kontrolami (Davenport, W.B., 2014). Súčasný pokyny neodporúčajú skrining, pokiaľ nie je prítomná osobná alebo silná rodinná anamnéza venózneho tromboembolizmu. Viac ako 90% všeobecných pôrodníkov, gynekológov a reprodukčných endokrinológov vhodne testuje pacientky s opakovanou stratou tehotenstva na prítomnosť antikardiolipínových protilátok a antikoagulancia na lupus, pričom drvivá väčšina používa indikovanú liečbu počas tehotenstva (Davenport, W.B., 2014).

Tehotenstvo je hyperkoagulačný stav kvôli zmenám protrombotickým, anatomickým a fyziologickým, čo predstavuje rizikový faktor pre matku a vývoj tehotenstva. Lekári musia udržiavať vysoký index vedomia a pohotovo vyhodnotiť akékoľvek príznaky na podozrenie z venózneho tromboembolizmu (VTE) (Marshall A.L., 2014).

ODPORÚČANIA PRE PRAX

Po preštudovaní danej problematiky vrodených trombofilných stavov a vplyvu faktora V Leiden na tehotenstvo a uvedení poznatkov sme dospeli k nasledujúcim odporúčaniam :

- dôležité adekvátne informovanie pacientov a verejnosti
- prvotný záchyt rizikových pacientov u ošetrojúcich lekárov a ich následné vyšetrenie v špecializovanej ambulancii
- odporúča sa prenatálny skríning na vrodené a získané trombofilie u tehotných žien s predchádzajúcimi nepriaznivými výsledkami v tehotenstve
- genetické vyšetrenie
- pri vrodených trombofiliách je dôležité vylúčiť zo života ďalšie rizikové faktory trombózy, ako je obezita, užívanie hormonálnej antikoncepcie
- odporúča sa absencia od fajčenia a alkoholu, zdravý životný štýl - vyvážené a zdravé stravovanie, rodinná anamnéza, dostatok fyzickej aktivity
- kompresné pančuchy , ktoré podporujú žily pre návrat krvi do srdca
- vyhýbanie sa dlhému sedeniu a stresu
- v prípade vysokého trombofilného rizika sa odporúča antikoagulačná liečba, u tehotných pacientiek vhodná profylaktická liečba.

ZÁVER

S dedičnými trombofiliami sa stretávame už desaťročia. Nepriaznivé výsledky rizík tehotenstva, ako je preeklampsia, obmedzenie rastu plodu, predčasný pôrod, odtrhnutie placenty a mŕtvy plod, sa komplikácie v tehotenstve s trombofiliou môžu líšiť v úrovni závažnosti. Sú prípady, kedy komplikácie ohrozujú ženu a potomstvo a tiež môžu mať vplyv na zdravie v neskoršom období pre oboch (Fernández, A.,2019).

V našej práci sme zistili, že rezistencia na APC v ktorej môže byť zapojený faktor V Leiden prostredníctvom mechanizmov a interakcie s inými etiologickými faktormi je v patogenéze závažných pôrodných komplikácií ako hĺbková žilová trombóza, preeklampsia, placentárny infarkt, abrupcia placenty a opakujúca sa strata tehotenstva. Pri porovnaní homozygotnej a heterozygotnej formy faktora V Leiden sa riziká ukázali, že častejšia heterozygotná forma mala prevalenciu výskytu vyššiu, ale riziká sa pohybovali nie vyššie ako dva. Aj keď homozygotná forma má riziká vysoké, pre jej nižšiu prevalenciu sa riziká pohybovali menej ako dva. Skrining na Leidensku mutáciu ukázal, že je vhodný u žien s predchádzajúcimi tehotenskými komplikáciami. Ideálne by bolo testovanie, ktoré je vykonané medzi tehotenstvami, pretože koncentrácia a aktivita antikoagulačných proteínov počas tehotenstva sa fyziologicky mení. Liečba pomocou nízkomolekulárneho heparínu má vysoký priaznivý účinok u žien s preeklampiou, stratou tehotenstva a rezistenciou na APC. Môže tak zlepšiť výsledky v ďalších tehotenstvách. Pri starostlivom zvážení liečby, ženy na terapeutickú alebo profylaktickú antikoaguláciu, sú schopné mať úspešné tehotenstvo.

Nositelkám Leidenskej mutácie by sa malo poskytnúť poradenstvo aj ich členom rodiny pre tromboembolické riziko. Najmä ženy v reprodukčnom veku, by mali dostať správne informácie týkajúce sa rizík a komplikácií súvisiacich s tehotenstvom.

Diagnostikou trombofilných stavov a adekvátnou sekundárnou profylaxiou trombózy je možné účinne predchádzať rozvoju opísaných komplikácií. Veľkou pomocou je vedenie pacientiek s trombofiliou v Národnom registri trombofilných stavov. Vďaka evidencii je možné už od začiatku gravidity stanoviť riziko trombózy a čo najskôr odporučiť vhodné preventívne a liečebné postupy (Kubisz, P.,2010).

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

Aracic N, Roje D, Hofman I, Capkun V, Stefanovic V, (2015). Low molecular weight heparin treatment and impact of inherited thrombophilia type in pregnancies with previous adverse outcome. [online]. In: J Matern Fetal Neonatal Med, 2015.vol.28,no.3, p.306-310. [cit. 2020 -11-14]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24749801/>

Bartůňková, J., a kol., 2011. VYŠETŘOVACÍ METODY V IMUNOLOGII, PRAHA 2.,přepřpracované a doplněné vydání. GRADA Publishing 2011, str. 47-51. ISBN 978 -80 - 247 -7089 - 5 (elektronická verze ve formátu PDF).

Bates S M, (2013). Preventing thrombophilias-related complications of pregnancy. [online]. In: Exert Rev. Hematol.2013.vol.6,no.3,p.287-300. [cit. 2020-11-22]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23782083/>

Bendík, J., 2003: In:Pilařova, M., Bakalárska práca. Molekulárna diagnostika trombofilných stavov, 2010, Hradec Králové.

Björk, I., Pettersson, K., Lindqvist, P.G., (2019). Stillbirth and factor V Leiden - A regional based prospective evaluation. [online]. In: Thrombosis Research, 2019. vol.176, p.120-124. [cit. 2020-10-30]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30825693/>

Boncz Z, Bagoly Z, Haramura G, Mezei Z A, Muszbek L, (2012). Thrombomodulin-dependent effect of factor V Leiden mutation on the cross-linking of α 2-plasmin inhibitor to fibrin and its consequences on fibrinolysis. Thrombosis Research, [online]. In: Thrombosis Research, 2012. vol.130, no.3, p.528–534. [cit. 2020-11-30]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22704462/>.

Davenport W B, Kuttah W H, (2014). Inherited Thrombophilias and Adverse Pregnancy Outcomes. [online]. In: Obstetrics and Gynecology Clinics of North America,2014. vol.41,no.1,p.133-144. [cit. 2020-11-09]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24491988/>.

Davenport, W. B., Kutteh, W. H., (2014). Inherited Thrombophilias and Adverse Pregnancy Outcomes. [online]. In: Obstetrics and Gynecology Clinics of North America, 2014. vol. 41, no. 1, p. 133-144. [cit. 2020-11-09]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24491988/>.

Fernández, A.M., et al. (2019). Genetic risk assessment of thrombophilia in patients with adverse obstetric outcomes. [online]. In: PLOS ONE. 2019. vol. 14, no. 2, p.0211114. [cit. 2020-11-26]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30811416/>

Gerhardt A, Scharf RE, Greer IA, Zotz RB, (2016). Hereditary risk factors of thrombophilia and probability of venous thromboembolism during pregnancy and the puerperium. [online]. In: Blood, 2016 vol.128, no. 2343–2349. [cit. 2020-10-04]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27613196/>.

Gumus, E.,(2018). Comparison of two groups for the apolipoprotein E polymorphisms by using next generation sequencing: The first group with three consecutive abortions and the second group with at most one abortion in three consecutive pregnancies, 2018. [online]. In: Gene, vol.668, p.8-11. [cit. 2020-11-29]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29778421/>.

Hirmerová J. (2019). Trombofilní stavy – testovat či netestovat? [online]. In: Plzeň: Interní Medicina. 2019. čís. 21, roč. 3, s. 187–191. [cit. 2020-09-29]. Dostupné na internete: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2019/03/13.pdf>

Hulíková M, 2016. Hemostáza a tehotenské komplikácie. [online]. In: Vaskulárna Medicina. Košice: HEMO MEDIKA, Centrum hemostázy a trombózy. 2016, roč.2, č. 8, s.52–55. [cit. 2020-10-10]. Dostupné na internete: <https://www.solen.sk/storage/file/article/d80967c411f86bc5458529034866f488.pdf>

Hushan, E.O, Saad AA, Yousif AA, Elamin E, Abdalhabib EK, Elzaki SG, (2019). Evaluation of Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in Sudanese women with severe preeclampsia. [online]. In: Current Research in Translational Medicine 2019. p. 2452- 3186(19)30031-5. [cit. 2020-10-30]. Dostupné na internete: https://www.researchgate.net/publication/335671519_Evaluation_of_Factor_V_Leiden_and_prothrombin_G20210A_mutations_in_Sudanese_women_with_severe_preeclampsia

Institute of Applied Biotechnologies, 2019. Kit detekcie mutace G1691A v genu pro faktor V pomocí kvantitativní PCR. Uživatelská příručka, 2019 str.1-19.

Kovac M, et al. (2010). Type and location of venous thromboembolism in carriers of Factor V Leiden or prothrombin G20210A mutation versus patients with no mutation. [online]. In: Clin Appl Thromb Hemost. 2010, vol.16 no. 66-70. [cit. 2020-10-04]. Dostupné na internetu: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18796457/>

Kubisz P, Bartošová L, Dobrotová M, Staško J, (2010). Trombofilné stavy a gravidita. [online]. In: Vaskulárna medicína. Martin, 2010, roč. 2, číslo 2,s.21-23.[cit. 2020-10-15]. Dostupné na internetu: <https://www.solen.sk/storage/file/article/e03d174390c4235a3e695c7fb14e0dcb.pdf>

Lussana F, Coppens M, Cattaneo M, (2012). Pregnancy-related venous thromboembolism: Risk and the effect of thromboprophylaxis. [online]. In: Thrombosis Research,2012.vol.129, no.6,p. 673-680. [cit. 2020-09-25]. Dostupné na internetu: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22365492/>.

Lykke, J.A., Bare, L.A., Olsen, J., (2012). Thrombophilias and adverse pregnancy outcomes. . [online]. In: results from the Danish National Birth Cohort. J Thromb Haemost. 2012.vol.10,no.7,p.1320-1325. [cit. 2020-11-04]. Dostupné na internetu: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22578003/>

Marshall, A.L., (2014). Diagnosis, Treatment, and Prevention of Venous Thromboembolism in Pregnancy. [online]. In: Department of Hematology and Medical Oncology, Boston, Issue 7, 2014. vol.126, , ISSN – 0032-5481, e-ISSN – 1941-9260 25

Maryam Al-E-Rasul Dehkordi , Akbar Soleimani , Ali Haji-Gholami , Abdolrahim Kazemi Vardanjani.(2014). Association of Deficiency of Coagulation Factors (Prs, Prc, ATIII) and FVL Positivity with Preeclampsia and/or Eclampsia in Pregnant Women. [online]. In: International Journal of Hematology – Oncology and Stem Cell Research, 2014. vol.8, no.4, p.5-11.[cit. 2020-09-04]. Dostupné na internetu: https://pdfs.semanticscholar.org/a3ed/0a0372430000b5e078155781b516836c6061.pdf?_ga=2.35742624.1249203760.1613158376-88531091.1612370735

Mrišková,J., 2012: Vyšetrenie tromboplastínového času /PT/, DIAGON,2012, str,1-2.

Mrišková,J., 2012:Vyšetrenie aktivovaného parciálneho tromboplastínového času /APTT/, DIAGON,2012 str 1-2.

Mrišková,J., 2012:Vyšetrenie Antitrombínu III, DIAGON, 2012 str.1-2.

Mrišková, J., 2012: Vyšetrenie PTT-LA, SIEMENS, 2012 str.1-2.

Novotný, J., Michalcová, J., Penka, M., (2018). Antikoagulační léčba ? [online]. In: Brno. Interv Akut Kardiol 2018. roč.17, čís. 2, s.113-122. [cit. 2020-10 -29]. Dostupné na internete: <https://www.solen.cz/pdfs/kar/2018/02/13.pdf>.

Ormesher, L., Simcox, L. E., Tower, C., (2017). “To test or not to test”, the arguments for and against thrombophilia testing in obstetrics. [online]. In: Obstetric Medicine, 2017. vol. 10, no. 2, p. 61–66. [cit. 2020-09-08]. Dostupné na internete:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28680464/>.

Pabinger, I., (2009). Thrombophilia and its impact on pregnancy. [online]. In: Thrombosis Research, 2009.vol.123,no.3,p.16-21. [cit. 2020-09-04]. Dostupné na internete: [https://www.thrombosisresearch.com/article/S0049-3848\(09\)70128-8/pdf](https://www.thrombosisresearch.com/article/S0049-3848(09)70128-8/pdf).

Pabinger. I.,(2009). Thrombophilia and its impact on pregnancy. [online]. In: Thrombosis Research, 2009 vol.123, no. 16-21. [cit. 2020-10-20]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19203641/>

Perés Wingeyer S, et al. (2018) . Inherited thrombophilia and pregnancy loss. Study of an Argentinian cohort. [online]. In: Estudio de una cohorte de Argentina. Medicina Clínica, 2018. vol.152, no.7, p.249-254. [cit. 2020-10-27]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29523337/>

Peyvandi, F.,et al.(2012). Project on Consensus Definitions in Rare Bleeding Disorders of the Factor VIII/Factor IX Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Classification of rare bleeding disorders (RBDs) based on the association between coagulant factor activity and clinical bleeding severity. [online]. In: Thromb Haemost. 2012,vol.10, no.9, p.1938-43. [cit. 2020-10 -30]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22943259/>

Philipp, C. S., et al. (2014). Differences in Thrombotic Risk Factors in Black and White Women with Adverse Pregnancy Outcome. [online]. In: Thrombosis Research, vol.133, no.1, p. 108-111. [cit. 2020-09-20]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24246297/>.

Robeva, R., et al. (2017). Inherited Thrombophilias Could Influence the Reproductive Outcome in Women with Systemic Lupus Erythematosus. [online]. In: Balkan Journal of Medical Genetics vol.20, no.1, p.21-26. . [cit. 2020-10-09]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28924537/>.

Rodger M.A., et al. (2014). Antepartum dalteparin versus no antepartum dalteparin for the prevention of pregnancy complications in pregnant women with thrombophilia (TIPPS): a multinational open-label randomised trial. [online]. In: Randomized Controlled Trial Lancet 2014. vol.384, no.9955, p.1673–1683. [cit. 2020-09-15]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25066248/>

Said J, Higgins J, Moses E, Walker S, Monagle P, Brennecke S, (2012). Inherited thrombophilias and adverse pregnancy outcomes. [online]. In: Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica, 2012. vol.91, no.2, p.250-255. [cit. 2020-11-18]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21985600/>

Sakalová A. Bátorová A. Mistrík M. Hrubíško M. 2011. KLINICKÁ HEMATOLÓGIA, KD OSVETA, 2011. s. 200-233. ISBN 978-80-8063-324-0.

SIEMENS, Healthcare, 2011. Lupus antikoagulant LA. Příbalový leták. Siemens Healthcare, Diagnostics Products GmbH Emil-von-Behring Str 76.

SIEMENS, Healthcare, 2010a. Protein C. Příbalový leták. . Siemens Healthcare, Diagnostics Products GmbH Emil-von-Behring Str 76.

SIEMENS, Healthcare, 2021. ProC Global. Příbalový leták. Siemens Healthcare, Diagnostics Products GmbH Emil-von-Behring Str 76.

SIEMENS, Healthcare, 2014b. Protein S. Příbalový leták. Siemens Healthcare, Diagnostics Products GmbH Emil-von-Behring Str 76.

Simcox, L., Ormesher, L., Tower, C., Greer, I.: (2015). Thrombophilia and Pregnancy Complications. . [online]. In: International Journal of Molecular Sciences, 2015, vol. 16, no. 12, p.28418-28428. [cit. 2020-10-04].Dostupné na internete: <https://www.mdpi.com/1422-0067/16/12/26104>

Stančiaková L, Dobrotová M, Hollý P, Ivanková J, Danko J, a kol. 2017a. Trombofilné stavy vo vzťahu ku gravidite. [online].In: Vaskulárna Medicína. Martin: 2017. roč. 2, č. 9. s. 59–65 [cit. 2020-10-15]. Dostupné na internete: <https://www.solen.sk/storage/file/article/4ce3afcbbf2098933c2c9fd1d7679345.pdf>

Stančiaková L, Dobrotová M, Hollý P, Ivanková J, Plameňová I, a kol. 2017b. Trombofilné stavy. [online]. In: Vaskulárna Medicína. Martin: Národné centrum hemostázy a trombózy. 2017, roč.2, č.9 s. 54–58 [cit.2020-10-12]. Dostupné na internete: <https://www.solen.sk/storage/file/article/a37e4fe9c79108d40883da73f825d714.pdf>

Stančiaková, L., a kol. (2017c). Prierezové údaje Národného registra trombofilných stavov Slovenskej republiky. [online]. In: Vaskulárna medicína Martin, roč. 9, 2017 s.22-27. [cit. 2020-10-17].Dostupné na internete: <https://www.solen.sk/storage/file/article/abcb52d454df0c65511368311ae42847.pdf>

Škorňová I, Slavík L, a kol. 2020. HEMOSTÁZA, laboratorní metody, jejich využití a interpretace ve vybraných klinických situáciích. P+M s.r.o., Turany, 2020. s.101-141, ISBN 978-80-89694-78-5.

Thalji N, Camire RM,(2013). Parahemophilia: new insights into factor v deficiency. Semin. [online]. In: Semin Thromb Hemost. 2013, vol. 39, no.6, p. 607-12. . [cit. 2020-10 -29]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23893775/>.

Van Cott, Elizabeth M, Khor, B., Zehnder J L, (2016). Factor V Leiden. [online]. In: American Journal of Hematology, 2016. vol.91 no.1, p.46–49. [cit. 2020-10-07].Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26492443/>.

Wingejyer P, et al. (2018). Trombofilia hereditaria y pérdidas de de embarazo. [online]. In: Estudio de una cohorte de Argentina. 2019. vol.152,no.7,p.249-254. [cit. 2020-10-24]. Dostupné na internete:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002577531830071X>

Zheng C, Zhang B,(2013). Combined deficiency of coagulation factors V and VIII: an update. [online]. In: Semin Thromb Hemost. 2013,vol. 39, no6, p. 613-20. [cit. 2020-10-29]. Dostupné na internete:

[https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/23852824/Combined deficiency of coagulation factors V and VIII: an update.](https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/23852824/Combined_deficiency_of_coagulation_factors_V_and_VIII:_an_update.)

KAZUISTIKA

Pacientka 26 ročná, slovenskej národnosti. Bola odoslaná z gynekologickej ambulancie na hematologickú ambulanciu pre jeden spontánny abort, ktorý bol v roku 2016 júny v prvom trimestri gravidity.

Doporučené vyšetrenie KO, homocysteín, APTT,PT, TT, FI, genetické vyšetrenie na trombofilné mutácie, testy na odhalenie trombofilie.

Základný súbor vyšetrení		Testy na odhalenie trombofilie
Le... 13,9.10 ⁹ /l	PT...107% (NH 80- 120 %)	ProCGlobal test...0,61 (NH0,69- 1,56)
Hb...131 g/l	INR...0,95 (HN 0,80- 1,20)	ProCGlobal test pl. def. FV...0,62 (NH0,86- 1,10)
Ery...3,81.10 ⁹ /l	APTT...0,79“ (NH 24“-36“)	PTT-LA...40“ (NH 31,1“- 46,7“)
HKT...0,38	Kontr...28“ (NH 24“-36“)	PTT-LA/K...43“ (NH 31,1“- 46,7“)
SOEry ...100,5 fl	Racio...0,04 (NH 0,90-1,20)	AT III ...108,6 % (NH 80 - 130%)
Tr...282.10 ⁹ /l	TT...18“ (NH 11“- 24“)	FVIII...1,27 (NH 0,80 – 1,50 IU/ml)
	Kontr...(NH 14“-24“) FBG...2,62g/l	Homocysteín...12,1 μmol/l (NH 3,7- 13,0 μmol/l) DD... 7,00

Laboratórna diagnostika bola vyšetrovaná na oddelení hematológie a transfuziológie. Rutinné a skriningové hemokoagulačné vyšetrenia boli spracované v našom hematologickom laboratóriu, na poloautomatickom koagulometri SYSMEX CA 1500, s použitím diagnostických setov (Dade BOEHRING). Špeciálne vyšetrenia na genetické mutácie sa odoslali na analýzu do Laboratória lekárskej genetiky Banská Bystrica.

Základný skrining trombofilných testov je v medziach normy okrem ProC Global test a ProC Global test pl. def. FV . DNA analýza markerov potvrdila vrodenú trombofiliu Faktor V Leiden 1691GA heterozygot s anamnézou spontánneho včasného abortu.

Diagnóza:

Mutácia Faktora V Leiden (1691GA) -heterozygot. Kontrola na hematologickej ambulancii o mesiac.

8.6.2017

Pacientka kontrolovaná na hematologickej ambulancii. Bola v 11. týždni druhej gravidity. V krvnom obraze neutrofilia, zvýšená aktivita v vnútornom systéme krvného zrážania, s výrazným vzostupom hladiny D dimérov. Vzhľadom k laboratórnym nálezom a gynekologickej anamnéze doporučené dávky LMWH, Fraxiparín 0,3ml, Ascorutin .

16.6.2017

Pacientka bola toho času 16. týždeň gravidity, stále pretrvávala neutrofilia a zvýšená aktivita vo vnútornom systéme krvného zrážania, doporučená i naďalej liečba LMWH, Fraxiparín 0,3ml, Ascorutin .

Pacientka bola naďalej kontrolovaná hematológom každé dva týždne, v III. trimestri každý mesiac, pre monitorovanie zvýšenej aktivácie vo vnútornom systéme krvného zrážania (testy KO, skrining trombofilných testov). V 36. týždni tehotenstva hematologické nálezy stabilizované, hemoglobín upravený. Pri nástupe pôrodnej činnosti bolo doporučené Fraxiparine nepichať, po pôrode po stabilizácii pokračovať Fraxiparine 0,6 ml, do hematologickej kontroly.

Záver:

Pacientka mala jeden abort (2016), po genetickom vyšetrení dokázaná mutácia Faktor V Leiden heterozygot, s anamnézou spontánneho včasného abortu. Vďaka liečbe donosila a porodila prvé zdravé dieťa, chlapčeka. Pri ďalšej gravidite musí byť kontrolovaná hematológom, aby tehotenstvo bolo bez komplikácií.