



**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce

**Trombofilie v těhotenství**

Vliv dlouhodobé profylaxe nízkomolekulárním  
heparinem u těhotných žen s trombofilií

**MUDr. Magda Vítková (Sudrová)**

Praha 2012

## **Doktorské studijní programy v biomedicíně**

*Univerzita Karlova v Praze  
a Akademie věd České republiky*

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: prof.MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště: Trombotické centrum a Centrální  
hematologické laboratoře, ULBLD VFN Praha

Autor: MUDr. Magda Vítková (Sudrová)

Školitel: prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.

Školitel konsultant (byl – li): .....

Oponenti:

.....  
.....  
.....

Autoreferát byl rozeslán dne: .....

Obhajoba se koná dne: ..... v ..... hod.  
kde .....

.....

S disertací je možno se seznámit na děkanátě

1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

## Obsah

Souhrn .....	1
Summary .....	2
Úvod.....	3
Cíle práce.....	5
Materiál a metodika.....	5
Výsledky.....	7
Diskuze.....	14
Závěr.....	20
Seznam zkratk .....	22
Seznam literatury.....	22
Seznam publikací .....	26



## Souhrn

Úvod: Tromboembolická nemoc je v civilizovaných zemích jednou z nejčastějších příčin nemocnosti a úmrtnosti u těhotných žen. V graviditě se často poprvé projeví vrozená, nebo získaná trombofilie. Pacientky s trombofilií mají i zvýšené riziko těhotenských komplikací. Optimální antikoagulační profylaxe pomáhá těmto komplikacím předcházet.

Metody: Práce je zaměřena na sledování koagulačních parametrů, krevního obrazu a proteinů akutní fáze u gravidních žen (N=68) s trombofilií, léčených v průběhu gravidity enoxaparinem a na kontrolu účinnosti antikoagulační léčby v těhotenství pomocí anti-FXa aktivity a dále na stanovení závislosti inhibice FXa na hmotnosti, koagulačních parametrech a proteinech akutní fáze. Profylaxe nízkomolekulárním heparinem u rizikových těhotných pacientek byla indikována na základě doporučení 7. ACCP (1). V první a druhé části studie není z etických důvodů kontrolní skupina těhotných pacientek se závažnou trombofilií, ale bez antikoagulační léčby. Ve třetí části práce jsme pomocí dotazníků zkoumali nežádoucí účinky enoxaparinu v místě vpichu injekce a krvácivé komplikace. A v závěrečné čtvrté části jsme hodnotili vliv enoxaparinu na markery kostní remodelace v porovnání s kontrolní skupinou gravidních žen bez antikoagulační léčby.

Výsledky: U pacientek docházelo k četným změnám v parametrech hemostázy, krevního obrazu i proteinů akutní fáze. Koncentrace anti FXa klesala se stoupajícím týdnem gravidity a už v 15. týdnu bylo 10,29 % pacientek pod doporučeným profylaktickým rozmezím. Byla zjištěna statisticky významná negativní korelace mezi BMI, hmotností, fibrinogenem, D-dimery a inhibicí FXa. Nežádoucí účinky v místě vpichu injekce enoxaparinu byly relativně časté. Žádná pacientka neprodělala závažné krvácení. V markerech kostní přestavby nebyl zjištěn významný rozdíl mezi skupinou těhotných pacientek s léčbou a bez léčby.

Závěr: Těhotenství je hyperkoagulační stav. Účinnost enoxaparinu hodnocená metodou inhibice FXa je v těhotenství ovlivněna mnoha faktory, proto jí doporučujeme pravidelně monitorovat.

## Summary

**Background:** Thromboembolic disease is one of the most common causes of pregnant women morbidity and mortality. The pregnancy period is often the first time, when the apparent congenital or acquired thrombophilia is identified. Patients with thrombophilia have an increased risk of pregnancy complications. The optimal anticoagulant prophylaxis helps to prevent these complications.

**Methods:** The presented work is focused on monitoring of coagulation parameters, blood counts and acute phase proteins in pregnant women (N = 68) with thrombophilia treated with enoxaparin during pregnancy and it is also concerned with evaluation of effectiveness of anticoagulant therapy during pregnancy using anti FXa activity determination based on inhibition of FXa weight, coagulation parameters and acute phase proteins. Prophylaxis with low molecular weight heparin in high-risk pregnant patients has been indicated on the 7. ACCP guidelines (1). In the first and the second part of the study, there is no control group of pregnant patients with severe thrombophilia, but no anticoagulation – this is justified by ethical reasons. In the third part, we examined by questionnaire our patients for enoxaparin adverse reactions at the injection site. Finally, the last part is focused on evaluation of enoxaparin effects on bone remodelling markers, compared with a group of pregnant women without anticoagulation.

**Results:** During the pregnancy, the patients are undergoing numerous changes in coagulation parameters, blood counts and acute phase proteins. The concentration of FXa was decreasing with the increasing weeks' gestation. As early as in the 15th week there were 10.29% of patients below the recommended prophylactic range. We found statistically significant negative correlation between BMI, weight, fibrinogen, D-dimers and inhibition of anti-FXa. Adverse reactions at the injection of enoxaparin were reported to be relatively frequent. No patient went through severe bleeding. Regarding the markers of bone remodelling, there was not found any significant difference between the groups of treated pregnant patients and the control untreated group.

Conclusion: Pregnancy is a hypercoagulable state. The efficiency of enoxaparin assessed by inhibition of FXa is influenced by many factors during pregnancy, therefore we recommend regular monitoring.

## Úvod

Před zavedením miniheparinizace v roce 1993 byla tromboembolická nemoc hlavní příčinou mateřské nemoci a úmrtnosti v České republice (2). I přesto, že již máme možnosti optimální prevence, tvoří v rozvinutých zemích tromboembolické komplikace stále 23,4 % úmrtí v těhotenství a šestinedělí (3). U těhotných žen jsou už fyziologicky přítomny dva ze tří faktorů Virchowovy triasy (hyperkoagulační stav a žilní městnání). K dalším rizikovým faktorům patří vyšší věk (> 35 let), obezita (BMI > 30), multiparita, osobní, nebo rodinná anamnéza tromboembolické nemoci, trombofilie, klid na lůžku, imobilita (> 4 dny), hyperemesis, dehydratace, interní onemocnění (např. závažná infekce, městnavé srdeční selhání, nefrotický syndrom), preklampsie, varixy a operační zákrok (sectio cesarea) (4). V graviditě se často poprvé manifestují také dědičné a získané trombofilní stavy. Přítomnost trombofilie několikanásobně zvyšuje riziko tromboembolické nemoci, ale podle mnoha studií se u žen s hyperkoagulačním stavem setkáváme ve větší míře i s časnými opakovanými potraty, odumřením plodu in utero, růstovou retardací plodu a pozdními těhotenskými komplikacemi (preklampsie, abrupce placenty). Bylo zjištěno, že riziko hluboké žilní trombózy je asi 5-krát vyšší v graviditě a 60-krát vyšší během prvních 3-měsíců po porodu ve srovnání s netěhotnými ženami. U gravidních žen, nositelek trombofilní mutace FV-Leiden bylo riziko trombózy 52-krát vyšší. U žen s trombofilní mutací F II-protrombin bylo riziko 31-krát vyšší, než u netěhotných žen bez trombofilních mutací (5).

Antikoagulační léčba v těhotenství je indikována k léčbě a prevenci venózního tromboembolismu, k prevenci a léčbě systémového tromboembolismu u pacientek s mechanickou srdeční chlopní a k prevenci opakovaných potratů, nebo těhotenských komplikací. Použití antikoagulační léčby k prevenci těhotenských

komplikací je v posledních několika letech stále častěji v praxi používáno. Použití antikoagulační léčby v těhotenství má svá specifika, vzhledem k rizikům pro plod i matku. Pravidla podávání antikoagulační léčby v těhotenství jsou upravena v doporučeních ACCP (1). Nízkomolekulární hepariny jsou základní, nejbezpečnější a nejčastěji používané antikoagulační léky v těhotenství. Mechanismus antikoagulačního účinku je dán vazbou k antitrombinu. Afinity nízkomolekulárního heparinu k antitrombinu je 4× vyšší, než je afinity nefrakcionovaného heparinu a LMWH se vyznačují vysokým poměrem anti-Xa aktivity k anti-IIa aktivitě. Laboratorní kontrola účinku nízkomolekulárních heparinů se provádí stanovením inhibice FXa chromogenním substrátem. Fyziologické těhotenské změny jako je zvýšení hmotnosti, zvýšená renální clearance a distribuční objem a zvýšená koncentrace některých heparin vázajících proteinů (faktor VIII (FVIII), fibrinogen) může snížit biologickou dostupnost LMWH v porovnání s netěhotnými. V praxi mají lékaři tendenci používat dávkování, které je indikované pro netěhotné pacienty.

Dlouhodobé podávání (> 6 měsíců) a vysoké dávky (> 15,000 IU/denně) nefrakcionovaného heparinu způsobují osteoporózu (6). Nežádoucí účinky nefrakcionovaného heparinu (UFH) i LMWH na kost byly demonstrovány v několika studiích na zvířatech, nebo in vitro na lidských osteoblastech (7,8). Ale existuje pouze velmi málo studií objasňujících vliv LMWH na remodelaci kostí při dlouhodobém podávání u těhotných žen. V těhotenství dochází ke kostní přestavbě, která může být monitorována změnou markerů kostní novotvorby (alkalická fosfatáza) a markerů kostní resorpce. RANKL/RANK/osteoprotegerin (OPG) systém je jedním z nejdůležitějších objevů v biologii kostí ze poslední desetiletí. Základním cytokinem regulujícím remodelaci kosti je ligand pro receptorový aktivátor nukleárního faktoru kappaB (RANKL). Protiregulačním faktorem je rozpustný receptor osteoprotegerin. Zatímco RANKL aktivuje osteoklastickou resorpci kosti, osteoprotegerin stimuluje její novotvorbu. Mnoho studií považuje poměr OPG/RANKL za hodnotu determinující celkovou kostní



masu (9). Nedávno bylo prokázáno, že UFH způsobuje vyplavování OPG, více než LMWH (10).

## Cíle práce

1. Sledování vybraných **koagulačních parametrů**: aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT), trombinový čas (TT), protrombinový čas (INR), koncentrace fibrinogenu (Fbg), aktivita antitrombinu (AT), koncentrace D-dimerů, koncentrace faktoru VIII (FVIII), aktivita proteinu C (PC), aktivita proteinu S (PS), **parametrů krevního obrazu a proteinů akutní fáze** při profylaxi tromboembolické nemoci s enoxaparinem v průběhu těhotenství u žen s trombofilií (mutace FV-Leiden, mutace F II protrombin, mutace MTHFR 677, antifosfolipidový syndrom).
2. Sledování účinnosti antikoagulační léčby enoxaparinem v těhotenství, monitorace pomocí anti FXa aktivity, stanovení závislosti inhibice FXa vzhledem k fyziologickým těhotenským změnám koagulačních parametrů a růstu hmotnosti.
3. Zjištění subjektivní snášenlivosti dlouhodobě podávané antikoagulační injekční terapie u těhotných žen a výskytu hemoragických komplikací při profylaxi enoxaparinem.
4. Zhodnocení vlivu enoxaparinu na markery kostní remodelace. Cílem studie bylo porovnat změny markerů kostního metabolismu u těhotných žen užívajících dlouhodobě enoxaparin se skupinou těhotných žen bez léčby nízkomolekulárními hepariny.

## Materiál a metodika

Metodou náhodného výběru bylo do studie zařazeno 68 těhotných pacientek s trombofilií (mutace FV-Leiden, mutace F II protrombin, mutace MTHFR 677, antifosfolipidový syndrom), u kterých byla indikována na základě doporučení 7. ACCP (1) aplikace profylaktické dávky nízkomolekulárního heparinu od začátku gravidity. Studie byla provedena v Trombotickém centru Všeobecné fakultní

nemocnice v Praze. Studie byla schválena etickou komisí 1. LF UK a VFN v rámci schválení projektu výzkumného záměru Ministerstva zdravotnictví MZ0VFN2005 a všichni pacienti vyjádřili se sledováním v rámci studie svůj informovaný souhlas, včetně souhlasu s aplikací nízkomolekulárního heparinu v průběhu těhotenství. Základní charakteristika souboru pacientek je uvedena v kapitole výsledků. Do studie nebyly zařazeny pacientky, u kterých by byla léčba LMWH kontraindikovaná a ani pacientky s akutní tromboembolickou příhodou, u kterých by bylo potřeba podávat terapeutické dávky. Profylaxe nízkomolekulárním heparinem byla zahájena průměrně v 7. týdnu těhotenství. Gestační týden byl stanoven podle data poslední menstruace. Enoxaparin (Clexane®, Sanofi-Aventis) byl podáván v počáteční dávce 4.000 IU, a dávka byla později upravena na základě měření plazmatické antiXa aktivity. Pokud byla hodnota inhibice faktoru Xa nižší než 0,2 IU/ml 4 hodiny po aplikaci injekce, byla dávka enoxaparinu zvýšena na 6000 IU/ml. U pacientek byly v 15., 25. a 35. gestačním týdnu sledovány parametry krevního obrazu, koagulační parametry, proteiny akutní fáze a inhibice faktoru Xa. Vzorky byly odebírány z kubitální žíly, vždy za 4-5 hodin po aplikaci subkutánní injekce enoxaparinu. V případě odběru na koagulační vyšetření (APTT, TT, INR, Fbg, AT, D-dimery, FVIII, PC, PS, inhibice FXa) byly použity zkumavky Vacutainer™ (Becton Dickinson) obsahující 0,129 M citrátu sodného. Zkumavky Vacutainer™ (Becton Dickinson) s obsahem K3EDTA byly použity na vyšetření krevního obrazu. Na vyšetření proteinů akutní fáze a ELISA testy byly použity zkumavky Vacutainer® serum separator tubes (SST® II).

Těhotných žen (N=66), u kterých bylo v rámci prevence tromboembolické nemoci nutné podávání enoxaparinů od začátku těhotenství, vyplnily dotazníky, ve kterých měly zhodnotit, zda se u nich vyskytovala tvorba modřin v místě vpichu, svědění v místě aplikace, pálení, bolest v místě aplikace, vyrážka v místě aplikace, tuhé podkožní uzlíky a jiné komplikace, nebo psychické aspekty.

Ve čtvrté části studie bylo celkem 50 těhotných pacientek s trombofilií rozděleno do dvou skupin podle rizika tromboembolické nemoci a těhotenských komplikací.

V kontrolní skupině (N = 15) bylo indikováno pouze sledování bez farmakologické profylaxe. V druhé skupině (N = 35) byla indikovaná farmakologická profylaxe nízkomolekulárním heparinem (enoxaparinem) podle doporučení 7.ACCP(1). Plazmatické hladiny celkové alkalické fosfatázy, kostní alkalické fosfatázy, osteoprotegerinu a RANKL byly měřeny v 15., 25. a 35. týdnu těhotenství. Naměřené hodnoty byly porovnány mezi skupinami.

Údaje byly zpracovány pomocí databáze Microsoft Access a Excel. K analýze dat byl použit statistický program SigmaStat© pro Windows, verze 3.5 (SysStat, Erlangen, Germany). Kategorická data jsou prezentována jako procenta. Spojitá data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka (u dat s normálním rozložením), nebo jako medián a 25. a 75. percentil (u dat s jiným než normálním rozložením). Jsou-li data prezentována mediánem a percentily, tak jsou dále zpracovávána neparametrickými testy. Údaje deskriptivní statistiky a změny měřených parametrů v čase byly analyzovány pomocí testů pro srovnání více parametrů u opakovaných měření – Friedman RM ANOVA on Ranks . Ke zjištění vztahů mezi různými proměnnými byl proveden výpočet korelačního koeficientu za použití testu lineární regrese. Hladina statistické významnosti byla pro každý test stanovena na  $p \leq 0,05$ .

## Výsledky

### **1. Změny koagulačních parametrů, parametrů krevního obrazu a proteinů akutní fáze u těhotných žen s trombofilií užívajících Clexane 0,4 ml s.c. 1 x denně.**

V hodnoceném souboru bylo zařazeno celkem 68 gravidních žen s trombofilií, u kterých bylo doporučeno podávání nízkomolekulárního heparinu od začátku těhotenství. Průměrný věk zařazených pacientek byl 30,3 let (min.22 – max.39 let). Pacientky vážily v 15. týdnu průměrně 68,7 kg (min. 51- max. 98 kg), ve 25. týdnu 75,2 kg (57-102 kg) a ve 35. týdnu 79 kg (60-109 kg). Průměrný váhový přírůstek byl 10,3 kg. Z hlediska výskytu tromboembolické nemoci , těhotenských komplikací a trombofilií v anamnéze jsou pacientky charakterizovány v tabulce 1.

Odběry byly prováděny v 15. (13.-17.), 25. (23.-27.) a 35. (33.-37.) týdnu těhotenství. Po celou dobu sledování neprodělala žádná z pacientek hlubokou žilní trombozou, plicní embolií, cévní mozkovou příhodu ani jiné závažné trombotické onemocnění. Žádná z pacientek neprodělala heparinem indukovanou trombocytopenii. U žádné z pacientek nebylo po dobu léčby zaznamenáno závažné krvácení. Dvě pacientky měly drobné krvácení z rodidel (mezi 15. a 25. týdnem těhotenství). Následující tabulka mapuje soubor 68 pacientek z hlediska výskytu tromboembolické nemoci v anamnéze, těhotenských komplikací v anamnéze a trombofilních stavů.

**Tabulka 1 Charakteristika souboru**

Onemocnění	Popis	Podíl
Tromboembolická nemoc	Hluboká žilní trombóza dolních končetin	25,0%
	Plicní embolie	5,9%
	Trombóza jiných cév*	14,7%
Těhotenské patologie	Opakované časné potraty (do 13 tt., min. 2x)	38,2%
	Potrat od 13 tt. do 24 tt.	7,4%
	Porod mrtvého plodu	8,8%
	UPT pro neprospívání plodu	2,9%
Trombofilie**	mutace FV-Leiden v het./hom. konstituci	36,8% / 4,4%
	mutace FII protrombinu v het./hom. konstituci	17,6% / 4,4%
	antifosfolipidový syndrom	14,7%
	mutace MTHFR 677 v het./hom. konstituci	38,2% / 16,2%

\* trombóza mozkových splavů, nebo v. jugularis, ischemická cévní mozková příhoda, nebo paradoxní embolizace, diseminovaná intravaskulární koagulace v předchozí graviditě

\*\* pokud se u jedné pacientky vyskytují 2 více trombofilii současně, je zařazena v každé skupině

Počet leukocytů v těhotenství mírně stoupal. Změny, ale nevykazovaly statistickou významnost. Počet erytrocytů a hemoglobinu se statisticky významně

snižoval s postupujícím těhotenstvím ( $P < 0,05$ ). Sledovaný počet trombocytů se snižoval po celou dobu gravidity, ovšem nebyl statisticky významný ( $P > 0,05$ ). Pouze jedna pacientka ve 35. týdnu měla počet trombocytů nižší než  $131 \cdot 10^9/l$ , což je dolní fyziologická mez pro zdravé netěhotné ženy. Pacientka dosáhla hodnoty  $111 \cdot 10^9/l$ . Distribuční křivka trombocytů statisticky významně narůstala po celou dobu sledování ( $P > 0,05$ ). Hodnota INR se po celou dobu sledování neměnila. Čas APTT se v průběhu sledování mírně zkracoval, ovšem změny nebyly statisticky významné. Hodnoty trombinového času se neměnily. Koncentrace fibrinogenu statisticky významně stoupala mezi jednotlivými týdny ( $P < 0,05$ ). Ve všech odběrech byla průměrná koncentrace vyšší než 2-4 g/l, což je fyziologické rozmezí u netěhotných žen. Koncentrace antitrombinu se neměnila. Koncentrace D-dimerů statisticky významně stoupala po celou dobu sledování ( $P < 0,05$ ). Mediánové hodnoty D-dimerů už od 15. týdne těhotenství přesahovaly fyziologické rozmezí pro zdravé netěhotné ženy ( $< 190 \mu g/l$ ). Celkem v 5 odběrech přesáhly hodnoty i  $1000 \mu g/l$  (1x už v 15. týdnu a 4x ve 35. týdnu). Maximální dosažená koncentrace D-dimerů je  $2094 \mu g/l$ . Koncentrace proteinu C se po dobu sledování neměnila. Koncentrace proteinu S statisticky významně klesala po celou dobu sledování ( $P < 0,05$ ). Mediánová hodnota v 15. týdnu byla 65 %, ve 25. týdnu 45 % a ve 35. týdnu 36 %. Ve všech třech odběrech byly hodnoty nižší, než je fyziologické rozmezí pro zdravé netěhotné ženy (65%-140%). Koncentrace faktoru VIII stoupala po celou dobu gravidity. Z mediánové hodnoty 104 % v 15. týdnu až na mediánové hodnoty 166 % ve 35. týdnu. U alfa1-antitrypsinu byl zjištěn signifikantní vzestup mezi 15. a 25; a 15. a 35. týdnem gravidity. Mediánové hodnoty ve 25. a 35. týdnu přesahovaly fyziologické rozmezí pro zdravé netěhotné pacienty (norma 0,9-2 g/l). Koncentrace transferinu po celou dobu měření signifikantně stoupala ( $P < 0,05$ ). Koncentrace prealbuminu se neměnila. Koncentrace alfa-1 glykoproteinu (orosomukoidu) statisticky významně poklesla mezi 15. a 25. týdnem a pak se již neměnila ( $P < 0,05$ ). Hladina alfa 2 makroglobulinu a CRP se významně nelišila. Všechny výsledky popsané v této kapitole jsou shrnuté v tabulce.

**Tabulka 2 Změny sledovaných parametrů v těhotenství**

Parametr	15. Týden			25. Týden			35. Týden		
	Ø*	σ**	Θ***	Ø	σ	Θ	Ø	σ	Θ
Hmotnost (kg)	68,73	10,89	66	75,22	10,22	73	79,02	11,9	77
BMI	24,13	3,65	23,35	26,37	3,53	25,69	27,71	4,01	26,4
LEU (10*9/l)	9,39	1,93	9,13	10,12	2	9,95	10,34	2,27	10
ERY (10*12/l)	4,12	0,34	4,16	3,87	0,3	3,92	3,97	0,33	4,02
HGB (g/l)	125,28	9,19	127	118,67	8,26	118,5	120,33	9,48	122
TRO (10*9/l)	271,98	55,31	267,5	264	58,59	250	250,74	59,1	248
INR	0,94	0,08	0,9	0,92	0,072	0,9	0,9	0,07	0,9
APTT (s)	34,88	5,05	34	33,6	4,92	33,15	33,87	5,93	32,45
TT (s)	14,45	1,75	14,2	14,06	1,54	13,85	14,69	1,88	14,5
FBG (g/l)	4,06	0,68	4	4,43	0,72	4,59	4,74	0,67	4,8
AT III (%)	94,97	9,89	94	95,38	9,98	94	96,05	11,8	95,5
D-Dimer (µg/l)	228,92	192,4	202	280,4	174,7	245	411,05	323	324,5
PC (%)	105,07	17,99	103	102	18,2	100,5	105,33	21,6	101
PS (%)	64,96	12,5	65	45,37	9,12	45,5	36,22	6,99	36
FVIII (%)	119,79	32,8	104,5	137,73	29,31	130	165,33	26,6	166
AlAT (g/l)	1,86	0,35	1,86	2,11	0,26	2,09	2,19	0,28	2,18
TRF(g/l)	2,67	0,45	2,62	3,45	0,5	3,46	3,8	0,56	3,92
PREA (g/l)	0,22	0,033	0,2	0,21	0,031	0,21	0,22	0,03	0,22
ORM (g/l)	0,64	0,15	0,62	0,58	0,19	0,56	0,59	0,14	0,57
CRP (g/l)	0,53	0,37	0,32	0,74	0,88	0,35	0,51	0,34	0,32
Anti FXa (IU/ml)	0,33	0,1	0,34	0,29	0,11	0,27	0,28	0,15	0,23

Ø\* - průměr; σ\*\* - směrodatná odchylka; Θ\*\*\* - medián

## 2. Sledování účinnosti antikoagulační léčby

Při měření koncentrace anti-FXa průměrné navozené inhibice aktivovaného faktoru Xa klesají od 15. týdne těhotenství až do 35. týdne i přesto, že v měření byly zahrnuty i pacientky, u kterých bylo potřeba zvýšit dávku. Rozdíl mezi 15. týdnem a 35.týdnem je statisticky významný. Dále jsem zkoumali počet poddávkových pacientek v jednotlivých trimestrech. Už v 15. týdnu (n=68) byla u 7 pacientek (10,29%) zjištěna koncentrace anti-FXa nižší než 0,2 IU/ml a dávka

se zvýšila na 6000 IU. Ve 25.týdnu (n=61) byla u 6 pacientek (9,83 %) zjištěna koncentrace anti-FXa nižší než 0,2 IU/ml a dávka se zvýšila na 6000 IU. Ve 35. týdnu (n=55) byla u 8 pacientek (14,54 %) zjištěna koncentrace anti-FXa nižší než 0,2 IU/ml a dávka se zvýšila na 6000 IU. Takže nakonec se dávka zvyšovala u celkem 21 (30,88%) pacientek z 68. V každém sledovaném týdnu těhotenství, byla většina pacientek ve správném profylaktickém rozmezí. Dále jsem zkoumali souvislost snižující se koncentrace anti-FXa s hmotností a BMI indexem pacientky a s koncentrací heparin vázajících proteinů. BMI negativně koreluje s inhibicí FXa ( $p < 0,001$ ,  $r = -0,29$ ). Podobně i tělesná hmotnost negativně koreluje s inhibicí FXa ( $p = 0,0015$ ;  $r = -0,27$ ). Některé heparin vázající proteiny jako například fibrinogen ( $p < 0,001$ ,  $r = -0,3$ ) nebo alfa1 antitrypsin ( $p = 0,023$ ,  $r = -0,15$ ) negativně korelují s inhibicí FXa. Koncentrace D-dimerů statisticky významně negativně koreluje s inhibicí FXa ( $p = 0,0095$ ,  $r = -0,2$ ).

### **3. Dotazníková studie**

Dotazník vyplnilo celkem 66 pacientek v gestačním týdnu  $34,1 \pm 3,2$ . Průměrná doba aplikace enoxaparinu byla  $4,3 \pm 1,8$  měsíců. Většina pacientek si aplikovala enoxaparin do břicha a boků (90%), pouze malá část zvolila jako alternativní místa aplikace stehna, nebo paže (10 %). Většina pacientek si aplikovala enoxaparin sama (82 %), pouze 18 % si nechalo aplikovat injekci od druhé osoby (manžela, přítele, matky). 78,8% pacientek mělo drobné modřiny v místě aplikace. Z toho 5,8% skoro vždy, 61,5% občas, 30,8% výjimečně a 1,9% skoro nikdy. Nebylo však zaznamenáno žádné závažné krvácení. Častým nepříjemným vedlejším účinkem bylo také pálení v místě aplikace (65,2 %). U 90,7% vzniklo pálení hned po vpichu a trvalo kratší dobu než 5 minut. Další lokální vedlejší účinky byly méně časté. Svědění v místě vpichu udává 15,2%, bolest v místě vpichu mělo 37,9 % pacientek a 4,5% udávalo tuhé podkožní uzlíky v místě aplikace. U žádné pacientky nebyly klinickým sledováním ani dotazníkovou studií zaznamenány žádné závažné krvácivé komplikace.

#### **4. Zhodnocení vlivu enoxaparinu na markery kostního metabolismu**

Nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi skupinami ve věku a tělesné výšce. U žen s enoxaparinem byla naměřena statisticky významně vyšší vstupní hmotnost ( $p < 0,05$ ) v 15. týdnu těhotenství, ale hmotností přírůstek v obou skupinách ve 25. a 35 týdnů těhotenství byl obdobný. Nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky při použití enoxaparinu (závažné krvácení, heparinem indukovaná trombocytopenie, osteoporotická fraktura). Výsledky popisné statistiky kostních markerů jsou uvedeny v tabulce.



**Tabulka 3 Porovnání kostních markerů u skupiny s enoxaparinem a kontrolní skupiny**

Týden těhotenství	15		25		35			
Parametr	Skupina s enoxaparinem	Kontrolní skupina	Skupina s enoxaparinem	Kontrolní skupina	Skupina s enoxaparinem	Kontrolní skupina		
	Průměr (SD)						P*	P†
Celková AF $\mu\text{kat/l}$	0.73 (0.21)	0.75 (0.21)	0.97 (0.27)	0.93 (0.24)	1.81 (0.57)	1.72 (0.46)	ns	< 0.001
Kostní AF $\mu\text{kat/l}$	0.34 (0.1)	0.4 (0.13)	0.41 (0.16)	0.43 (0.18)	0.55 (0.14)	0.59 (0.21)	ns	< 0.001
Kostní AF %	46.75 (8.54)	52.73 (9.74)	44.01 (7.84)	44.79 (12.67)	31.67 (8.23)	37.16 (10.68)	< 0.05	< 0.001
OPG pg/ml	7.12 (1.99)	6.67 (3.32)	8.52 (2.56)	8.32 (3.61)	10.68 (3.42)	10.62 (4.55)	ns	< 0.001
RANKL pg/ml	42.76 (54.54)	47.82 (59.91)	36.12 (50.14)	37.2 (50.66)	40.37 (62.95)	33.73 (37.26)	ns	ns
RANKL/OPG poměr	5.95 (7.1)	8.9 (14.27)	4.4 (6.26)	4.45 (6.26)	3.72 (5.35)	3.58 (4.22)	ns	< 0,05
* rozdíl průměrných hodnot mezi skupinou s enoxaparinem a bez enoxaparínu (P stanoveno testem ANOVA pro opakovaná měření)								
† rozdíl průměrných hodnot mezi jednotlivými gestačními týdny (P stanoveno testem ANOVA pro opakovaná měření)								
SD (směrodatná odchylka), AF (alkalická fosfatáza), OPG (osteoprotegerin), RANKL (ligand vázající se na receptor, který aktivuje nukleární faktor kapa B)								

Koncentrace celkové alkalické fosfatázy se zvyšuje se stoupajícím gestačním stářím. Statisticky významně stoupá i koncentrace kostní alkalické fosfatázy. V těchto parametrech, ale nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi ženami s enoxaparinem a bez enoxaparínu. Procentuální koncentrace kostní alkalické fosfatázy (procentuální alkalická fosfatáza (%) = sérová koncentrace kostní fosfatázy ( $\mu\text{kat/l}$ ) / koncentrace celkové alkalické fosfatázy ( $\mu\text{kat/l}$ )) byla statisticky významně nižší ve skupině s enoxaparinem ( $p < 0,05$ ), než v kontrolní skupině. Během těhotenství se koncentrace osteoprotegerinu statisticky významně zvyšovala ( $P < 0,001$ ), ale nebyl zjištěn rozdíl v koncentraci osteoprotegerinu mezi ženami s enoxaparinem a bez enoxaparínu.

Plazmatická koncentrace OPG u žen s enoxaparinem v 15. týdnu těhotenství byla  $7,12 \pm 1,99$  pg / ml a nebyla výrazně vyšší než v kontrolní skupině ( $6,67 \pm 3,32$  pg / ml,  $P > 0,05$ ).

Přestože koncentrace OPG stoukala, koncentrace RANKL se neměnila ( $P > 0,05$ ). Anti-Xa aktivita (IU / ml) byla měřena 4 hodiny po aplikaci 40 mg enoxaparínu. Nebyla zjištěna korelace mezi koncentrací některého kostního markeru a anti Xa ( $P > 0,05$ ).

## Diskuze

Cílem první části naší studie bylo sledovat změny některých parametrů krevního obrazu, základních koagulačních parametrů a proteinů akutní fáze u těhotných žen léčených enoxaparinem.

Z výsledků je zřejmé, že v těhotenství dochází k významným změnám ve všech oblastech sledování. V krevním obraze je patrný mírný vzestup počtu leukocytů z průměrné hodnoty  $9,39 \pm 1,93$  ( $10^9/l$ ) v 15. týdnu těhotenství na  $10,34 \pm 1,93$  ( $10^9/l$ ) ve 35. týdnu. Koncentrace hemoglobinu poklesla o průměrně 7 g/l mezi 15. a 25. týdnem těhotenství. Je to způsobeno fyziologickým nárůstem objemu krevní plazmy. Celkový počet trombocytů mírně klesal po celou dobu gravidity. Vzestup středního objemu trombocytů nasvědčuje kompenzovanému stavu progresivní destrukce destiček. Většina výzkumníků souhlasí s faktem, že nízký

stupeň chronické intravaskulární koagulace v rámci uteroplacentární cirkulace je část fyziologické odpovědi organismu na těhotenství (11). Pravidelné sledování počtu trombocytů má v těhotenství velký význam. Trombocytopenie a nadměrná aktivace destiček v těhotenství může být i projevem závažného onemocnění (preeklampsie, HELLP syndrom a dalších, vznikajících i mimo graviditu jako idiopatická trombocytopenická purpura, trombotická trombocytopenická purpura, heparinem indukovaná trombocytopenie), které je třeba spolehlivě vyloučit, zvláště pokud je pokles prudký.

Z měřených koagulačních parametrů vyplývá, že v těhotenství dochází k významným změnám koncentrací koagulačních faktorů a inhibitorů koagulace. Těhotenský hyperkoagulační stav je v naší studii demonstrován zvyšováním koncentrace fibrinogenu a faktoru VIII a snižováním koncentrace inhibitoru koagulace proteinu S. Změny jaterní syntézy těchto faktorů jsou indukovány výraznými hormonálními změnami, které v těhotenství probíhají. A jsou fyziologickým adaptačním mechanismem v těhotenství přípravou na porod (12).

I proteiny akutní fáze vykazují změny v graviditě. V naší studii signifikantně stoupala koncentrace alfa1-antitrypsinu a transferinu a mezi 15. a 25. týdnem signifikantně poklesla koncentrace alfa1-glykoproteinu. Koncentrace prealbuminu, alfa2-makroglobulinu a CRP se neměnila. Koncentrace alfa1-antitrypsinu se zvyšuje pod vlivem estrogenů (13). Tvorba transferinu je v játrech regulovaná především plazmatickými zásobami železa, hyposiderémie je hlavním stimulačním signálem syntézy (14). Zvýšená koncentrace fibrinogenu a alfa1-antitrypsinu (indukovány IL-6) ve zdravých těhotenstvích není projevem infekčního zánětu, ale celkové fyziologické reakce organismu ženy s imunotolerancí plodu (hladinu ovlivňuje i jejich produkce v placentě). Zvýšení CRP a orosomukoidu (indukovány IL-1) např. u gestóz a těhotenských patologií souvisí s rizikem potratu (15).

Těhotenství je jedna z mála situací, při které je indikováno dlouhodobé podávání léčebných nebo profylaktických dávek nízkomolekulárního heparinu. V další části studie jsme se soustředili na měření inhibice aktivovaného faktoru Xa. Získali

jsme celkem 204 měřených hodnot od 68 pacientek, vždy v 15. , 25. a 35. týdnu těhotenství. Už v 15. týdnu (n=68) byla u 7 pacientek (10,29%) zjištěna koncentrace anti FXa nižší než 0,2 IU/ml a dávka se zvýšila na 6000 IU. Ve 25. týdnu (n=61) byla u dalších 6 pacientek (9,83 %) zjištěna koncentrace anti FXa nižší než 0,2 IU/ml a dávka se zvýšila na 6000 IU. Ve 35. týdnu (n=55) byla u dalších 8 pacientek (14,54 %) zjištěna koncentrace anti FXa nižší než 0,2 IU/ml a dávka se zvýšila na 6000 IU. Takže nakonec se dávka zvyšovala u celkem 21 (30,88%) pacientek z 68. Ani jedna pacientka neprodělala hlubokou žilní trombózu nebo plicní embolii.

Studie u netěhotných osob vykazují vyšší procento osob ve správném profylaktickém rozmezí (16). Již je známo i několik dalších studií, které potvrzují, že mnoho pacientek léčených LMWH je v graviditě poddávkováno, a to nejen ve skupině pacientek s profylaktickou dávkou, ale i ve skupině pacientek s terapeutickou dávkou (17). Což je velmi alarmující, zvláště pokud si uvědomíme, že v graviditě je vyšší riziko plicní embolie, než u netěhotných a rizikové faktory, které tromboembolickou nemoc způsobily (těhotenství, útlak žil v pánevním řečišti, varixy a další) stále přetrvávají. Ve studii (17) bylo prokázáno, že až 76,9% % pacientek s léčebnou dávkou LMWH bylo poddávkových. Faktory, které ovlivňují koncentraci anti FXa u netěhotných jsou hmotnost, snížená renální clearance a vzestup koncentrace, některých plazmatických proteinů (18).

V naší studii jsme také zkoumali souvislost snižující se koncentrace anti FXa s hmotností a BMI indexem pacientky a s koncentrací heparin vázajících proteinů. BMI negativně koreluje s inhibicí FXa ( $p < 0,001$ ,  $r = -0,29$ ). Podobně i tělesná hmotnost negativně koreluje s inhibicí FXa ( $p = 0,0015$ ;  $r = -0,27$ ). Některé heparin vázající proteiny jako například fibrinogen ( $p < 0,001$ ,  $r = -0,3$ ) nebo alfa1-antitrypsin ( $p = 0,023$ ,  $r = -0,15$ ) negativně korelují s inhibicí FXa. I když byla v těchto parametrech nalezena slabá negativní korelace s inhibicí aktivovaného faktoru Xa, domníváme se na základě některých studií, že velmi významně je koncentrace anti FXa ovlivněna především hodnotou renální clearance (18).

Aplikace subkutánních injekcí je mnoha pacientkám nepříjemná a z naší dotazníkové studie vyplývá, že mnoho pacientek má lokální vedlejší účinky v místě vpichu. Nejčastěji se vyskytují hematomy v místě vpichu a pálení v místě vpichu. Přesto při hodnocení celkového dojmu z podávání enoxaparinu v graviditě pouze 3 % odpověděly, že je aplikace nepříjemná a obtěžuje je. A žádná pacientka neměla závažné krvácení.

V rozvíjející se strategii prevence tromboembolické nemoci v těhotenství je třeba zvážit rizika užívání nízkomolekulárních heparinu oproti incidenci TEN samotné, zvláště existují-li méně nepříjemné alternativy, jako jsou kompresivní punčochy nebo elastické bandáže (19). Bohužel žádné studie nepopisují přímo vliv těchto prostředků na prevenci TEN v těhotenství, což zabraňuje vzniku definitivních doporučení. Je však nutné si uvědomit, že elastické punčochy mohou zvyšovat riziko vzniku TEN tzv. turniketovým efektem, pokud nemají správnou velikost a nejsou užívány správně (20). A kompresivní punčochy samozřejmě nezabraňují možným těhotenským komplikacím (opakované potraty, intrauterinní růstová retardace plodu, infarkty placenty, preeklampsie, abrupce placenty), které se u žen s trombofilií vyskytují častěji, než ve zdravé populaci.

V další části studie jsme hodnotili markery kostního obratu v těhotenství a porovnávali jsme skupinu žen, které užívaly enoxaparin a kontrolní skupinu zdravých těhotných žen.

Vzhledem k tomu, že k dlouhodobému podávání nízkomolekulárních heparinů dochází v praxi téměř pouze u gravidních žen, tak naprostá většina studií na heparinem- nebo LMWH-indukovanou osteoporózu se provádí v těhotenství.

V těhotenství je obecně u všech žen vyšší riziko vzniku osteoporózy, protože rostoucí plod čerpá všechny minerály ze zdrojů matky (21). Markery kostní resorpce a formace vykazují v graviditě fyziologické změny (markery novotvorby klesají i stoupají a markery resorpce stoupají), což svědčí o velkém kostním obratu (21). V naší studii stoupala koncentrace celkové alkalické fosfatázy v každém měření během těhotenství. Nejvíce byl vzestup vyjádřen mezi 25. a 35.

týdnem těhotenství. Trojnásobný vzestup celkové alkalické fosfatázy byl způsoben vzestupem placentární a kostní alkalické fosfatázy.

Pozorovali jsme postupný nárůst kostní alkalické fosfatázy (ukat/l) až do 25. týdne v obou skupinách, ale bez statisticky významného rozdílu mezi skupinami s léčbou a bez léčby. Nicméně v procentuální koncentraci kostní alkalické fosfatázy (kostní AP % = kostní AP (ukat/l)/ celková AP (ukat/l)) byl nalezen statisticky významný rozdíl. Ve skupině s enoxaparinem byla koncentrace signifikantně nižší než v kontrolní skupině ( $P < 0,05$ ). V souladu s tímto výsledkem je i studie, ve které byl zkoumán vliv LMWH na lidské osteoblasty in vitro (7). Lidské osteoblasty byly inkubovány s dalteparinem a byl zjištěn pokles proliferace a snížení syntézy proteinů. Studie analyzovala i expresi některých genů, které charakterizují základní funkce osteoblastů. Metodou RT-PCR (polymerázová řetězová reakce v reálném čase z angl. realtime-polymerase chain reaction ) byla zjištěna snížená exprese genů pro kostní alkalickou fosfatázu (7). Jiná studie ukazuje, že enoxaparin, dalteparin a UFH snižují mitochondriální aktivitu, syntézu proteinů a obsah kolagenu typu II v lidských osteoblastech in vitro. Studie používala koncentrace heparinů, které odpovídají terapeutickým nebo vyšším než terapeutickým dávkám (22). Je známo, že nefrakcionovaný heparin snižuje novotvorbu kostí více než enoxaparin. Ve studii na myších osteoblastech in vitro došli k závěru, že novotvorba kostí je negativně ovlivněna, tím víc, čím větší je molekula heparinu (23).

Ale je také možné, že ženy s enoxaparinem mají lepší prokrvení placenty a vyšší koncentraci placentární alkalické fosfatázy a tím je relativně snížená procentuální koncentrace kostní alkalické fosfatázy u žen s enoxaparinem. Osteoprotegerin je glykoproteinový cytokin, který hraje klíčovou roli v regulaci kostních procesů. Je součástí skupiny cytokinů podobných tumor necrosis faktoru a jeho ligandem je RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor  $\chi$  B Ligand) (9). Osteoprotegerin je exprimován převážně osteoblasty, ale i jinými tkáněmi. Osteoprotegerin inhibuje osteoklastogenezi tím, že se váže na RANKL a inhibuje jeho funkci. RANKL se parakrinním efektem váže na RANK (Receptor Activator of Nuclear

Factor  $\chi$  B) na povrchu osteoklastů a tím indukuje zrání a aktivaci osteoklastů (9). Osteoprotegerin obsahuje heparin vázající doménu (24). Mnoho studií ukazuje, že poměr OPG/RANKL je důležitým prediktorem celkové kostní masy (9). Některé studie demonstrují, že glykosamonioglykany a hepariny silně interferují s vazbou OPG na RANKL a mění komplex RANK-RANKL (24). Tím zůstává na membráně velký počet aktivních molekul RANKL a dochází ke stimulaci osteoklastů. Pokud se heparin naváže na OPG, OPG nemůže inhibovat RANKL a ten zvýšeně aktivuje osteoklasty, a to by mohlo být mechanismem heparinem indukované osteoporózy (10). V naší studii významně stoupala koncentrace osteoprotegerinu v průběhu těhotenství. Ale nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi skupinou s enoxaparinem a bez enoxaparínu. Koncentrace RANKL nevykazovala statisticky významné změny mezi skupinami, ani mezi jednotlivými týdny těhotenství. Ve studii (10) byla nalezena vyšší vaskulární mobilizace OPG u UFH než LMWH, což značí, že UFH má větší afinitu k OPG. V jiné studii bylo nalezeno vyšší vylučování OPG, když byla použita vyšší dávka UFH. Protože bylo dokázáno, že 0,1 až 1 U/ml heparinu in vitro inhibuje OPG (24), vycházíme z toho, že heparin in vivo může také inhibovat OPG. Dále je v literatuře i několik studií, které hodnotí pokles kostní denzity u pacientek, které užívaly LMWH dlouhodobě v graviditě (25). Užívání LMWH vedlo k poklesu kostní denzity u pacientů s LMWH víc, než u pacientů s warfarinem (25). V jiné studii nebyl zjištěn rozdíl mezi skupinami s dalteparinem a kontrolní skupinou bez léčby LMWH. Tyto výsledky ukazují, že dalteparin nesnižuje kostní denzitu (26). V jiné studii byla incidence významné ztráty kostní denzity (> nebo = 10%) u žen užívajících dalteparin nebo UFH v obou skupinách stejná (2-2,5% pacientek) (27). Naše studie byla limitována mnoha faktory a je jistě potřeba dalších studií k vysvětlení mechanismu heparinem indukované osteoporózy a zjištění skutečné incidence LMWH-indukované osteoporózy. Limitace studie vyplývají z faktu, že těhotné ženy jsou v podstatě jediná skupina pacientů, kteří užívají LMWH, nebo heparin dlouhodobě. Z etického hlediska není možné měřit kostní denzitu. Těhotné ženy nelze vystavovat radiaci. Obtížněji se hodnotily změny

osteomarkerů vzhledem k fyziologickým změnám osteomarkerů v graviditě. Dále nebylo možné provést odběr krve a stanovení koncentrace osteomarkerů před graviditou. Z těchto důvodů je obecně velmi málo klinických studií, které se zabývají výzkumem heparinem indukované osteoporózy, jsou většinou na malém počtu pacientů a výsledky jsou často ambivalentní. Pro stanovení skutečného rizika LMWH indukované osteoporózy jsou potřeba velké klinické studie, které budou porovnávat kostní denzitu před a po léčbě a budou srovnávat různé dávky a druhy LMWH a různé pacienty, ne pouze gravidní ženy.

## Závěr

K cílům disertace byla postupně získána data, jejichž charakteristiky jsou popsány v kapitole výsledky. Podrobnou analýzou sebraných dat se podařilo získat odpovědi na vytyčené cíle disertační práce. Z první části vyplývá, že těhotenství je hyperkoagulační stav. Dochází k postupné elevaci koagulačních faktorů (fibrinogen, FVIII), ke snížení koncentrace inhibitoru koagulace – proteinu S. Postupně se také zvyšuje koncentrace D-dimerů, což svědčí o aktivaci koagulačních mechanismů a zvýšené fibrinolýze. I proteiny akutní fáze vykazují změny v graviditě. V naší studii signifikantně stoupala koncentrace alfa1 antitrypsinu a transferinu a mezi 15. a 25.týdnem signifikantně poklesla koncentrace alfa1 glykoproteinu. Vzestup koncentrace těchto proteinů akutní fáze není projevem zánětu, ale fyziologické reakce organismu na těhotenství s imunotolerancí plodu. V druhé části studie se prokázalo, že monitorování inhibice FXa u gravidních žen s nízkomolekulárním heparinem, by mělo být standardním postupem. A na základě zjištěných hodnot, by se měla dávka LMWH dále upravovat. Prokázali jsme, že průměrná koncentrace inhibice FXa se stoupajícím týdnem těhotenství klesá. Už v 15. týdnu (N=68) byla u 10,29 % zjištěna koncentrace anti-FXa nižší než 0,2 IU/ml. Pacientky byly poddávkovány, i když užívaly doporučenou dávku enoxaparinu. U těchto pacientek se dávka zvyšovala. Ve 25. týdnu (N=61) byla u 9,83 % a ve 35. týdnu (N=55) byla u 14,54 % zjištěna koncentrace anti-FXa nižší než 0,2 IU/ml. Takže nakonec se dávka zvyšovala u



celkem 21 (30,88%) pacientek z 68. Dále jsem prokázali, že BMI, hmotnost i koncentrace některých heparin vázajících proteinů (fibrinogen, alfa-1 antitrypsin) negativně korelují s inhibicí FXa. Významnost změn těchto faktorů v těhotenství jenom podporuje vhodnost pravidelné monitorace účinnosti antikoagulační léčby nízkomolekulárními hepariny v těhotenství. Třetím cílem bylo zhodnotit vedlejší účinky enoxaparinu v místě vpichu subkutánní injekce pomocí dotazníků. 78,8% pacientek mělo drobné hematomy v místě aplikace. Častým nepříjemným vedlejším účinkem bylo také pálení v místě aplikace 65,2 %. Další lokální vedlejší účinky (svědění, bolest, tuhé podkožní uzlíky) byly méně časté. Žádná z pacientek neměla závažné krvácení po dobu léčby enoxaparinem. Cílem čtvrté části disertační práce bylo porovnání vlivu enoxaparinu na markery kostního metabolismu. V naší studii statisticky významně stoupala koncentrace osteoprotegerinu v průběhu těhotenství, ale nebyl zjištěn rozdíl mezi skupinami s léčbou nízkomolekulárním heparinem a bez léčby. Studie ukázala pokles procentuální kostní alkalické fosfatázy, jako hypoteticky možnou příčinu heparinem indukované osteoporózy. Jsou ovšem nutné další studie ke zjištění patofyziologického mechanismu heparinem indukované osteoporózy.

## Seznam zkratek

A1AT – Alfa1-antitrypsin  
ACCP doporučení-doporučení komory amerických hrudních lékařů, z angl.  
American College of Chest Physicans – Evidence Based Guidelines  
APC-aktivovaný protein C  
APPT-aktivovaný parciální tromboplastinový čas  
ATIII- antitrombin  
BMD-kostní denzita, z angl. bone mass density  
BMI-body mass index  
CRP- C-reaktivní protein  
FBG-fibrinogen  
FII, FV, FVIII, FXa- faktor II, V, VIII, aktivovaný faktor X  
HELLP-pozdní gestóza, z angl. hemolysis, liver enzymes, low platelet count  
HET/HOM – Heterozygotní / Homozygotní  
HŽT-hluboká žilní trombóza  
INR- mezinárodní normalizovaný poměr protrombinového času, z angl.  
international normalised ratio  
IUGR-intrauteriní růstová retardace plodu, z angl. intrauterine growth  
retardation  
LMWH-nízkomolekulární heparin, z angl. low molecular weight heparin  
MTHFR-metylentetrahydrofolatreduktáza  
OPG-osteoprotegerin  
ORM-orosomukoid  
PC-protein C  
PE-plicní embolie  
PREA-prealbumin  
PS-protein S  
RANK, RANKL-receptor aktivátor nukleárního faktoru kappa B-ligand  
RT-PCR – polymerázová řetězová reakce v reálném čase, z angl. real-time  
polymerase chain reaction  
TEN-tromboembolická nemoc  
TRF-transferin  
TT-trombinový čas  
UFH-nefrakcionovaný heparin  
UPT-umělé přerušení těhotenství

## Seznam literatury

1. BATES, S.M., et al. Venous Thromboembolism, Thrombophilia, Antithrombotic Therapy, and Pregnancy: American College of Chest

- Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest. 2008, vol. 133, no. 6 Suppl., s. 844S-886S. ISSN 0012-3692.
2. SRP, B. and VELEBIL, P. Proportion of Caesarean Sections and Main Causes of Maternal Mortality during 1978-1997 in the Czech Republic. Ceska Gynekologie. 1999, vol. 64, no. 4, s. 219-223. ISSN 1210-7832.
  3. KOONIN, L.M., et al. Pregnancy-Related Mortality Surveillance--United States, 1987-1990. MMWR.CDC Surveillance Summaries : Morbidity and Mortality Report.CDC Surveillance Summaries / Centers for Disease Control. 1997, vol. 46, no. 4, s. 17-36. ISSN 0892-3787.
  4. BATES, S.M., GREER, I.A., HIRSH, J. and GINSBERG, J.S. Use of Antithrombotic Agents during Pregnancy: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest. 2004, vol. 126, no. 3 Suppl, s. 627S-644S. ISSN 0012-3692.
  5. POMP, E.R., LENSELINK, A.M., ROSENDAAL, F.R. and DOGGEN, C.J. Pregnancy, the Postpartum Period and Prothrombotic Defects: Risk of Venous Thrombosis in the MEGA Study. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2008, vol. 6, no. 4, s. 632-637. ISSN 1538-7836.
  6. GRIFFITH, G.C., G., N., Jr, ASHER, J.D. and FLANAGAN, B. Heparin Osteoporosis. Jama. 1965, vol. 193, s. 91-4. ISSN 0098-7484
  7. HANDSCHIN, A.E., et al. Effect of Low Molecular Weight Heparin (Dalteparin) and Fondaparinux (Arixtra) on Human Osteoblasts in Vitro. British Journal of Surgery. 2005, vol. 92, no. 2, s. 177-83. ISSN 0007-1323.
  8. MONREAL, M., et al. Heparin-Related Osteoporosis in Rats. A Comparative Study between Unfractionated Heparin and a Low-Molecular-Weight Heparin. Haemostasis. 1990, vol. 20, no. 4, s. 204-207. ISSN 0301-0147.
  9. ROGERS, A. and EASTELL, R. Circulating Osteoprotegerin and Receptor Activator for Nuclear Factor kappaB Ligand: Clinical Utility in

Metabolic Bone Disease Assessment. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2005, vol. 90, no. 11, s. 6323-31. ISSN 0021-972X.

10. VIK, A., BRODIN, E., SVEINBJORNSSON, B. and HANSEN, J.B. Heparin Induces Mobilization of Osteoprotegerin into the Circulation. *Thrombosis and Haemostasis*. 2007, vol. 98, no. 1, s. 148-54. ISSN 0340-6245.

11. BREMME, K., et al. Enhanced Thrombin Generation and Fibrinolytic Activity in Normal Pregnancy and the Puerperium. *Obstetrics and Gynecology*. 1992, vol. 80, no. 1, s. 132-137. ISSN 0029-7844.

12. FRANCHINI, M. Haemostasis and Pregnancy. *Thrombosis and Haemostasis*. 2006, vol. 95, no. 3, s. 401-413. ISSN 0340-6245.

13. ESPANA, F., et al. Complexes of Activated Protein C with Alpha 1-Antitrypsin in Normal Pregnancy and in Severe Preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1991, vol. 164, no. 5, s. 1310-1316. ISSN 0002-9378.

14. SOUBASI, V., et al. Association of Increased Maternal Ferritin Levels with Gestational Diabetes and Intra-Uterine Growth Retardation. *Diabetes & Metabolism*. 2010, vol. 36, no. 1, s. 58-63. ISSN 1878-1780.

15. POPOWSKI, T., et al. Prediction of Maternofetal Infection in Preterm Premature Rupture of Membranes: Serum Maternal Markers. *Gynecologie, Obstetrique & Fertilite*. 2011, vol. 39, no. 5, s. 302-308. ISSN 1769-6682.

16. GARON, J.E. Monitoring Low Molecular Weight Heparins. *Clinical Leadership & Management Review*. 2003, vol. 17, no. 1, s. 47-50. ISSN 1527-3954.

17. FOX, N.S., et al. Anti-Factor Xa Plasma Levels in Pregnant Women Receiving Low Molecular Weight Heparin Thromboprophylaxis. *Obstetrics and Gynecology*. 2008, vol. 112, no. 4, s. 884-889. ISSN 0029-7844.

18. MICHOTA, F. and MERLI, G. Anticoagulation in Special Patient Populations: Are Special Dosing Considerations Required?. *Cleveland*

Clinic Journal of Medicine. 2005, vol. 72 Suppl 1, s. S37-42. ISSN 0891-1150.

19. THALER, E., HUCH, R., HUCH, A. and ZIMMERMANN, R. Compression Stockings Prophylaxis of Emergent Varicose Veins in Pregnancy: A Prospective Randomised Controlled Study. Swiss Medical Weekly. 2001, vol. 131, no. 45-46, s. 659-662. ISSN 1424-7860.

20. BAMIGBOYE, A.A. and SMYTH, R. Interventions for Varicose Veins and Leg Oedema in Pregnancy. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2007, vol. 1, no. 1, s. CD001066. ISSN 1361-6137.

21. SEIBEL, M.J. Clinical Application of Biochemical Markers of Bone Turnover. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabologia. 2006, vol. 50, no. 4, s. 603-20. ISSN 0004-2730.

22. MATZIOLIS, G., PERKA, C., DISCH, A. and ZIPPEL, H. Effects of Fondaparinux Compared with Dalteparin, Enoxaparin and Unfractionated Heparin on Human Osteoblasts. Calcified Tissue International. 2003, vol. 73, no. 4, s. 370-9. ISSN 0171-967X.

23. BHANDARI, M., et al. The Effects of Standard and Low Molecular Weight Heparin on Bone Nodule Formation in Vitro. Thrombosis and Haemostasis. 1998, vol. 80, no. 3, s. 413-7. ISSN 0340-6245.

24. IRIE, A., et al. Heparin Enhances Osteoclastic Bone Resorption by Inhibiting Osteoprotegerin Activity. Bone. 2007, vol. 41, no. 2, s. 165-74. ISSN 8756-3282.

25. WAWRZYNSKA, L., et al. Changes in Bone Density during Long-Term Administration of Low-Molecular-Weight Heparins Or Acenocoumarol for Secondary Prophylaxis of Venous Thromboembolism. Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis. 2003, vol. 33, no. 2, s. 64-7. ISSN 1424-8832.

26. RODGER, M.A., et al. Long-Term Dalteparin in Pregnancy Not Associated with a Decrease in Bone Mineral Density: Substudy of a

Randomized Controlled Trial. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2007, vol. 5, no. 8, s. 1600-6. ISSN 1538-7933.

27. CASELE, H., et al. Bone Density Changes in Women Who Receive Thromboprophylaxis in Pregnancy. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2006, vol. 195, no. 4, s. 1109-13. ISSN 1097-6868.

## **Seznam publikací**

### **Publikace, které jsou podkladem disertace**

#### a) Publikace s IF

SUDROVÁ, M., KVASNIČKA, J., KUDRNOVÁ, Z., ZENÁHLÍKOVÁ, Z., MAZOCH, J., BRZEŽKOVÁ, R. Influence of Long-Term Thromboprophylaxis With Low-Molecular-Weight Heparin (Enoxaparin) on Changes of Bone Metabolism Markers in Pregnant Women. Clinical and Applied Thrombosis-Hemostasis. 2011, vol. 17, no. 5, s. 508-13. ISSN 1076-0296. IF : 1.476

VÍTKOVÁ, M., KUDRNOVÁ, Z., VRBOVÁ, M., KVASNIČKA, J., KVASNIČKA, T. Local Application-Site Side Effects Accompanying the Use of Low-Molecular Weight Heparin in Pregnancy. Journal of Obstetrics, Gynecologic, and Neonatal Nursing. 2012, odesláno k tisku. ISSN 1552-6909. IF: 1.035

#### b) Publikace bez IF

SUDROVÁ, M., KVASNIČKA, J., LINHARTOVÁ, P., MAZOCH, J. Trombofilie v těhotenství - fyziologie a patofyziologie hemokoagulačních změn v normální graviditě a při některých patologických těhotenských stavech. Časopis lékařů českých. 2007, vol. 146, no. 11, s. 853-57, ISSN 0008-7335.

SUDROVÁ, M., LINHARTOVÁ, P., MAZOCH, J., KVASNIČKA, J. Long-term enoxaparin administration in pregnancy and its impact on bone

resorption markers. Central European Vascular Journal. 2008, vol. 7, no. 1, s. 41-42. ISSN 1214-3901

VRBOVÁ, M., HANZLOVÁ, M., SUDROVÁ, M., LINHARTOVÁ, P. LMWH administration from patients point of view. Central European Vasculat Journal. 2008, vol. 7, no. 1, s. 34-35. ISSN 1214-3901.

SUDROVÁ, M., LINHARTOVÁ, P., MAZOCH, J., KVASNIČKA, J. Dlouhodobé podávání enoxaparínu v těhotenství a jeho vliv na markery kostní remodelace. Abstrakty (XV. Slovensko-česká conference o hemostáze a trombóze s mezinárodní účastí). 2009, vol. 1, s. 50-51. ISBN 978-80-223-2478-6.

#### **Publikace bez vztahu k tématu disertace**

##### a) Publikace s IF

KUDRNOVÁ, Z., KVASNIČKA, J., KUDRNA, K., MAZOCH, J., MALÍKOVÁ, I., ZENÁHLÍKOVÁ, Z., SUDROVÁ, M., BRZEŽKOVÁ, R. Favorable Coagulation Profile with Fondaparinux after Hip Surgery in Elderly Patients. International Journal of Hematology. 2009, vol. 90, no. 4, s. 476-82. ISSN 0925-5710. IF: 1,168

ZENÁHLÍKOVÁ, Z., KVASNIČKA, J., KUDRNOVÁ, Z., SUDROVÁ, M., BRZEŽKOVÁ, R., MAZOCH, J., MALÍKOVÁ, I., VÝBORNÝ, J., ERHART, D., PECEN, L. FXa Inhibition and Coagulation Changes During DVT Prophylaxis by Enoxaparin Over the Course of a 15-Day Follow-Up in Septic Patients. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. 2010, vol. 16, no. 5, s. 584 -90. ISSN 1076-0296. IF: 1,476

##### b) Publikace bez IF

SUDROVÁ, M., DRÁBKOVÁ, D. Kombinovaná hereditární trombofilie (dysfunkce antitrombinu a mutace FV-Leiden)-kazuistika. Florence. 2009, vol. 60, s. 14-15. ISSN 1801-464X.

SUDROVÁ, M., ŠVORCOVÁ, V., KVASNIČKA, J. Acquired factor VIII inhibitor in a patient with antiphospholipid syndrome and hereditary thrombophilia. *Central European Vascular Journal*. 2007, vol. 6, no. 1, s. 41-42. ISSN 1214-3901.

MICHENKOVÁ, R., KUDRNOVÁ, Z., SUDROVÁ, M., ZENAHLÍKOVÁ, Z., LINHARTOVÁ, P., BUŠÍKOVÁ, L. Pharmacological prophylaxis of venous thromboembolism at general teaching hospital in Prague. *Central European Vascular Journal*. 2008, vol. 7, no. 1, s.42. ISSN 1214-3901.

DRÁBKOVÁ, D., KRUŽÍKOVÁ, J., HOMOLKOVÁ, H., SUDROVÁ, M., KVASNIČKA, J. Kombinovaná hereditární trombofilie (dysfunkce antitrombinu a mutace FV-Leiden). *Transfúze a hematologie dnes*. 2009, vol. 14, no. 2, s. 12. ISSN 1213-5763.