

Oponentský posudek na doktorskou práci :

**Autoimunitní poškození ovária u dospívajících dívek,
Vliv antiovariálních protilátek na poruchy menstruačního cyklu a fertilitu**

MUDr. Hana Kosová

Doktorská práce MUDr. Kosové je předložena ve vázané formě, v rozsahu 92 stran, text je doplněn 19 ti přehlednými barevnými grafy, 7 mi tabulkami a mimořádně zdařilou přílohou barevných 28 obrázků s morfologickou charakteristikou v této práci zkoumaných a diskutovaných ovariálních postižení .

Studium bylo zaměřeno na sledování a významu přítomnosti antiovariálních protilátek s několika cíli : zjistit prevalenci těchto protilátek na vybraném souboru žen zdravých, u dívek s poruchami menstruačního cyklu, u žen s poruchami fertility, vymezit vztah těchto autoprotilátek k případným poruchám ovariálních funkcí se zaměřením na postižení folikulárního aparátu a jiných struktur ovarií. Snahou doktorské práce bylo se vyjádřit, zda přítomnost ovariálních autoprotilátek je patogeneticky výkonná nebo jsou jenom následkem ovariálního poškození. Tento nemalý cíl byl ještě překročen úsilím vytyčit možnosti včasné a správné diagnózy možných ovariálních dysfunkcí a nastínit možné terapeutické postupy.

O aktuálnosti těchto cílů je netřeba diskutovat zejména v současné době, kdy v popředí společnosti je co nejvyšší snaha o umožnění těhotenství poměrně velké skupině žen s infertilitou. Pokud by přítomnost antiovariálních protilátek (metodami dostupnými ve všech krajských a větších okresních laboratořích vybavených fluorescenčním mikroskopem), prokazatelně usnadnila diferenciální diagnostiku infertilních stavů, navíc s možnostmi léčebných zásahů odlišných od dosud používaných (např. prednison), byla by doktorská práce více než záslužná.

Systematičnost při vyšetřovacích postupech MUDr. Kosové, precizní výběr jednotlivých souborů pacientek, správný výběr laboratorních metod, statistické zpracování a experimentální práce při studiu morfologie ovarií pomocí fluorescenčního značení, monoklonálních protilátek a elektronmikroskopických studií dovedla doktorskou práci k pozoruhodným a prioritním výsledkům. Zejména cenné jsou výsledky studia lokalizace gonadotropních, estrogenových a progesteronových receptorů. Prioritní je zjištění, že u skupiny dívek trpících primární amenreou převládala proti povrchové zejména intraooplazmová lokalizace FSH receptorů, zatímco u oligo/sekundární byl tento nález vzácnější. Receptorový deficit by pak mohl být vysvětlením pro nedostatečnou odpověď ovária na signál FSH. Tím by bylo možné vysvětlit i často pozorovanou rezistenci na vysoké hladiny tohoto centrálního hormonu. Pozoruhodné je i hodnocení přítomnosti estrogenových receptorů, které se nacházejí především ve frakci cytosolové a nukleární. V práci je zvažována hypotéza, že jsou to především steroidní receptory, které se mohou uplatnit ve stimulaci proteosyntetické aktivity buněk a jež jsou proto cílem autoprotilátek, a proto se nachází u sledovaných pacientek převaha protilátek proti rostoucímu folikulu. Tato hypotéza by mohla vést až k představě možného patogenetického působení autoprotilátek, která neodpovídá obecné představě, spíše je produkce protilátek opět následkem nefyziologických procesů v průběhu proteosyntézy nebo strukturám rostoucího folikulu.

Podobně jako u nemocných inzulin dependentním diabetes mellitus, kde řadu let nebyl možný jednoznačný průkaz vyvíjejícího se autoimunitního procesu přímou biopsií, je i v případě úvahy o autoimunitním postižení ovarií obtížné zachytit vývoj nebo začátek autoimunity přímými histologickými metodami bioptickými. Přesto nejsou zatím žádné pochybnosti o

autoimunitním postižení ovarií, i když je s podivem, že v morfologii převládají nebo jsou jednoznačně prokazatelné výlučně apoptotické procesy, a to i dokazované v předložené studii. Nasvědčovalo by to rychlému přechodu zánětu s převahou buněčnou, tedy IV. typu poškození autoimunitním procesem, kdy průkaz autoprotilátek je pro kliniku jediným vedlejším autoimunitním znakem. I v tomto průběhu ovariálního poškození je zřejmá podobnost s orgánovými autoimunitami typu tyreoiditidy a především diabetes mellitus.

Pečlivé třídění souboru pacientek vedlo MUDr. Kosovou i k odhalení chromozonální aberace prezentující se ovariální dysfunkcí. I když pro malý počet postižených žen (celkem 5) nelze jednoznačně hodnotit, je zřejmé, že u nich je výskyt antiovariálních protilátek nápadně vysoký. Významný statisticky dokázaný byl rozdíl v přítomnosti antiovariálních protilátek proti steroidy produkujícím buňkám u žen s oligo nebo sekundární amenoreou ve srovnání s ženami trpícími amenoreou primární. Srovnání prevalence antiovariálních protilátek proti jednotlivým strukturám oocyty u pacientek s primární amenoreou, sekundární amenoreou, chromozonálními aberacemi a dívkami s IDDM inzulin závislými jednoznačně potvrdila nejvyšší výskyt antiovariálních protilátek u nemocných chromozonální aberací, pak s primární amenoreou, zatímco prevalence protilátek u nemocných oligo/sekundární amenoreou a diabetes mellitus je srovnatelná. Z těchto dat vyvozuje Dr. Kosová, že přítomnost antiovariálních protilátek je spíše následkem, než příčinou poškození ovariálních struktur.

Experimentální a výzkumná část doktorské práce je nezpochybnitelná, ale nejvíce oceňuji praktický dopad této studie. Dá se konstatovat, že průkaz antiovariálních protilátek má významně prediktivní charakter, což výrazně zlepšuje diagnostiku poruch menstruačního cyklu a upřesní důvod poruchy fertility v jednotlivých případech. Využití by nebylo bez možnosti přístupu k terapeutickému postupu. I v tomto ohledu Dr. Kosová zúročila svoji studii pozorováním, že podávání estrogenových a progesteronových preparátů individuálním dávkováním, za sledování hormonálních hladin a přítomnosti antiovariálních protilátek významně změnil patologický ovariální cyklus do fyziologického a zlepšil i možnost úspěšné fertilizace.

V práci jsem nenašla žádné podstatné nedostatky, ojedinělé překlepy nenarušily souvislost textu.

Z připomínek jen nevýznamnou – nebyly hodnoceny hladiny, ale procento výskytu, kvantitativní stanovení bylo jen orientační, ředění sera bylo 1:1. Pro většinu imunofluorescenčních technik používáme k průkazu vyšší ředění (1:10), abychom se vyhnuli záchytu přirozených autoprotilátek. Z tohoto aspektu by mne zajímalo, zda nebyly určeny izotypy IgM alespoň u protilátek proti luteiním buňkám, u kterých procento výskytu bylo ve všech skupinách poměrně vyšší. Mohlo by se jednat o přirozené autoprotilátky, v tomto případě dokonce protektivní?

Přehled problematiky v úvodu práce je stručný a přitom výstižný. Překvapuje mne poměrně starší údaje týkající se autoimunitní oophoritidy (Sedmak, D.D., et al, 1987), na obranu disertantky musím dodat, že v monografii věnované výčtu a klinickému významu všech autoprotilátek (J.B. Peter, Y. Shoenfeld 1996) jsem našla stejnou citaci věnující se buněčnému infiltrátu v „autoimunitním“ ovariu – převaha T CD4 a T CD8 pozitivních lymfocytů, B lymfocyty, NK buňky aj. Nejsou v literatuře další nebo podrobnější zdroje, které by dokumentovaly proces autoimunitního poškození lidských ovarií? Nebo je to dosud stejný problém jako u diabetes mellitus v prvopočátcích?

Autorka uvedla celkem 121 citací využitých ve studii, má 2 publikace v impaktovaných časopisech, z toho je prvním autorem 1 x. V zahraničí přednesla a publikovala ve sbornících 6 abstrakt, na českých kongresích 3, na zahraničních kongresech 8 posterů, na českých 7.

Doktorskou práci Dr Kosové hodnotím jako mimořádně kvalitní, promyšlenou, s prioritními výsledky, užitečnou i v klinice a inspirující v oblasti experimentální chirurgie se zaměřením na problematiku ovariálních patologie.

V Praze dne 3.5.2006

prof. MUDr. Terezie Fučíková, DrSc