

OPONENTSKÝ POSUDEK

Název práce: **Trombofilie v těhotenství**

Autor práce: **MUDr Magda Vítková-Sudrová**

Doktorské studijní programy v biomedicíně
Universita Karlova, Akademie věd České republiky

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Školitel: prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc

Předkládaná práce je pro praxi vysoce aktuální. Tromboembolická nemoc je v civilizovaných zemích jednou z nejčastějších příčin nemocnosti a úmrtnosti těhotných žen. V graviditě se často poprvé projeví vrozená, nebo získaná trombofilie. Pacientky s trombofilii mají i zvýšené riziko těhotenských komplikací. Optimální antikoagulační profylaxe pomáhá těmto komplikacím předcházet.

Přítomnost trombofilie několikanásobně zvyšuje riziko tromboembolické nemoci, ale setkáváme se i časnými opakovanými potraty, odumřením plodu in utero, růstovou retardací plodu a pozdními těhotenskými komplikacemi (preeklampsie, 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.

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. Nízkomolekulární hepariny jsou základní, nejbezpečnější a nejčastěji používané antikoagulační léky v těhotenství. Mechanismus antikoagulačního účinku je dán vazbou k antitrombinu. Afinita nízkomolekulárního heparinu k antitrombinu je 4× vyšší, než je afinita nefrakcionovaného heparinu.

Cílem práce bylo sledování vybraných **koagulačních parametrů** tj. 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).

Byla sledována účinnost antikoagulační léčby enoxaparinem v těhotenství, monitorace pomocí anti FXa aktivity, stanovení závislosti inhibice FXa vzhledem k fyziologickým těhotenským změnám koagulačních parametrů a růstu hmotnosti.

Byla zjišťována subjektivní snášenlivost dlouhodobě podávané antikoagulační injekční terapie u těhotných žen a výskytu hemoragických komplikací při profylaxi enoxaparinem.

Byl zhodnocen vliv enoxaparínu 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.

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). 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. Profylaxe nízkomolekulárním heparinem byla zahájena průměrně v 7. týdnu těhotenství. 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 enoxaparínu 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.

Těhotné ženy (N=66), u kterých bylo v rámci prevence tromboembolické nemoci nutné podávání enoxaparínů 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. **V kontrolní skupině** (N = 15) bylo indikováno pouze sledování bez farmakologické profylaxe. Plazmatické hladiny celkové alkalické fosfatázy, kostní alkalické fosfatázy, osteoprotegerínu a RANKL byly měřeny v 15., 25. a 35. týdnu těhotenství. Naměřené hodnoty byly porovnány mezi skupinami.

Výsledky : Změny koagulačních parametrů u těhotných žen. 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

Sledování účinnosti antikoagulační léčby. 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 u 21 (30,88%) pacientek z 68.

Dotazníková akce. 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. Častým nepříjemným vedlejším účinkem bylo 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.

Zhodnocení vlivu enoxaparínu na markery kostního metabolismu Nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky při použití enoxaparínu (závažné krvácení, heparinem indukovaná trombocytopenie, osteoporotická fraktura). Statisticky významně stoupá i koncentrace kostní alkalické fosfatázy. V těchto parametrech, ale nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi ženami s enoxaparínem a bez enoxaparínu.

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 – proteínu 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. Ve 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 imunitolerancí 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 enoxaparínu. 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 bylo prokázáno, 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 heparíny 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. 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.

Závěrečné hodnocení práce oponentem:

Předložená disertační práce se zabývá pro praxi vysoce aktuální tematikou. Vybraný soubor těhotných žen i sledované laboratorní parametry byly správně zvoleny a v souboru byly získány statistické významnosti.

Pro praxi pokládám dva výsledky za velmi významné.

A) I když byly pacientkám podány terapeutické dávky LWMH (enoxaparinu), měřením koncentrace anti FXa bylo zjištěno v průběhu gravidity poddávkování.

B) I při dlouhodobé aplikaci nízkomolekulárního heparinu nebyly zjištěny známky heparinem indukované osteoporózy.


Na autorku disertace mám dvě otázky:

- 1) Čím si lze vysvětlit pokles koncentrace anti FXa v průběhu léčby a poddávkování enoxaparinu se stoupajícím týdnem těhotenství ?
- 2) Může být účinnost nízkomolekulárního heparinu ovlivněna jeho molekulovou hmotností? (enoxaparin má střední molekulová hmotnost 4500 daltonů, fedelparin 6000 daltonů, parnaparin 5000 daltonů atd). Který preparát je v současnosti pro těhotné nejvíce účinný?

Práce je svědomitě vypracována, splňuje všechny náležitosti disertační práce. Autorka prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce. Doporučuji proto přijmout práci v uvedeném rozsahu a po úspěšné obhajobě před komisí 1.LFUK **udělit**

MUDr Magdě Vítkové-Sudrové titul „ Ph.D“.

V Praze, dne 24.11.2012


Prof MUDr Zdeněk Hájek, DrSc

Gynek.porodnická klinika 1.LFUK a VFN Praha