Posudek na disertační práci

Determinace spontánních abortů- úloha genu pro APO E, význam vybraných vrozených trombofilních faktorů a funkce štítné žlázy v graviditě.

Autor MUDr. Dita Kašparová:

Mezioborová spolupráce je vždy vítaná a prospěšná, zvláště při současné výrazné specializaci lékařských oborů, vznikajících v posledních desetiletích. Přínosné je tedy téma, které si MUDr. D. Kašparová zvolila, zda vybrané, především vrozené ukazatele ovlivňují vznik spontánního potratu (SA). Podařilo se spolupracovat s kvalitními odborníky a výsledkem jsou zajímavé závěry, které jsou přínosné pro prevenci SA. Víme, že genetické faktory v této problematice zaujímají stále důležitější místo. Z řady možností zvolila tři oblasti: dvě jsou jednoznačně spojena s genetikou- trombofilní stavy a přítomnost lipoproteinu- APO E , třetí hodnotí význam asymptomatické funkční poruchy štítné žlázy a i u těchto chorob hraje genetika důležitou roli. Prospěšnost takových studií je nepochybná, vychází nejen ze zhoršující se fertility a zvyšujícího se počtu spontánních potratů , jak uvádí autorka, ale současný rozvoj diagnostických metod umožňuje získávat nové informace. Na jejich základě lze včas odhalit rizikové či asymptomatické nemocné osoby a zahájit preventivní či léčebné postupy. Přesto, že je SA projevem přirozené selekce, je nezbytné hledat možnosti prevence i okolnosti , které samy vývoj embrya negativně ovlivňují. O negativním dopadu na průběh gravidity u určitých trombofilních stavů a poruch funkce šž jsou četné studie, vztah ke spotnánním potratům je však doložen méně často a někdy s kontroversními závěry. Trombofilie se v populaci vyskytují u cca 8 %, poruchy funkce šž u žen nejméně u 4-5%, u dalších nejméně 8% eufunkčních žen probíhá více či méně vyjádřené autoimunitní postižení šž . Výskyt lipoproteinu APO E a jejich možného vztahu ke spontánnímo potratům je podle většiny studií otevřený. Na tato tři témata se autorka ve své disertační práci zaměřila.

Práce má 110 stran , obrázků 5 , tabulek 19, grafů 10 , celkem 116 citací , které zhrnují zahraniční i české autory . Text je přehledně strukturovaný . Chtěla bych vyzdvihnout velmi kvalitní přehledy v kapitolách 2.7 a 2.8, věnující se podrobně informacím o trombofilních stavech a tyreoidální funkci v graviditě. Tyto části vzhledem k mezioborovému přesahu doporučuji po drobné úpravě publikovat samostatně v časopise, zaměřeném postgraduálně.

Experimentální část je psaná jasně, přehledně, je doložena dostatečným množstvím obrazové dokumentace, kontrolní skupiny jsou dostatečně početné a svým charakterem odpovídají požadavkům na vědeckou práci. Diskuse se opírá o relevantní výsledky i odkazy na další studie, a autorka k nalezeným závěrem zaujímá přiměřeně kritické stanovisko. Obrazová příloha je informativní a velmi pěkně dokládá výsledky studií.

Termín Spontánní potrat časný a pozdní (SA) se opírá o definici: SA je porod mrtvého plodu s hmotností nižší 500 g nebo po graviditě kratší než 12. resp 22.týdnů. O embryu mluvíme do stáří 8. týdne, dále až do porodu jde již o fetus . V současné době roste, jak uvádí autorka, počet SA.V r 2003 byly SA zastoupeny 27% gravidit , v r 2009 již 36,1%,

v r 2014 dokonce 37,5% - což je vzestup 1,4krát za 11 let . Těžko si lze představit, jakou emocionální zátěží tyto ženy po SA procházejí. Jednou z příčin SA je pravděpodobně i vyšší průměrný věku žen v době těhotenství i věk žen po potratu , který se za 11 let zvýšil o 7,7%. Proto hledání příčin je logickou reakcí na uvedené skutečnosti.

K jednotlivým tématům:

*K prvému tématu: MUDr Kašparová navázala na starší studie , předkládající hypotézu o úloze genu APO E jako protektivního faktoru v průběhu ontogeneze . Výsledky starších prací byly někdy protichůdné, často se studie opíraly o menší počet vyšetřených souborů. Zhodnocením rozsáhlého počtu 410 vzorků tkáně embryí, získaných ze SA, se nepodařilo hypotézu o protektivním vlivu APO E potvrdit. Nebyl prokázán rozdíl ve výskytu vybraných genotypů žen se SA ve srovnání s kontrolní skupinou běžné populace ze souboru post-MONIKA.

***Druhé téma- význam vybraných trombofilních stavů**- je nadále otevřenou otázkou a tato solidní studie může k určitým nejasnostem přispět. Předpoklad, že hereditární trombofilní mutace je jedním z vinníků či příčin SA, je plauzibilní. Prosperita embrya je závislá na správném placentárním krevním zásobení, a to může být negativně ovlivněno i změnami hemokoagulace , akcentované v graviditě. Hormonální i další změny v těhotenství jsou v hemokoagulaci významným faktorem. Autorka vychází z epidemiologických studií, které uvádějí, že hereditární trombofilie se vyskytují v české populaci s minimální prevalencí 5-8%, nejčastěji se jedná o FVL u 2-5% a PT G20210A (mutace protrombinu) u 1-2 % heterozygotů. V souboru 100 žen po SA byl záchyt FVL u 12% (9/100 žen), u kontrolní skupiny (ženy po úspěšném těhotenství) u 2,6% (2/75). Mutace protrombinu byla zjištěna u 4% žen po SA, v kontrolní skupině zachycena nebyla. Přesto, že výsledky překvapivě nedosáhly statistické významnosti, je patrný trend, svědčící pro častější výskyt FVL u žen po SA. Mimo vysvětlení, které uvádí doktorandka, je možné i následující: doporučení k vyšetření hereditárních trombofilí v rámci prevence zahrnuje řadu stavů (podávání hormonů, ženy s pozitivní OA nebo RA vybraných stavů, ženy s prodělaným potratem a/nebo s habituálním potrácením a ženy s vybranými komplikacemi v graviditě). Je tedy možné, že ve studii šlo již o selektovaný soubor a ženy , indikované k preventivní léčbě, jsou již v péči trombocentra a snad i úspěšně léčeny. O tyto stavy by mohl být tedy soubor ochuzen . To je ale úděl řady souborů v zemích, využívajících preventivní doporučené programy. Závěr studie, že ženy s izolovaným SA mají 2,4x vyšší prevalenci FVL heterozygotů (12%) a 1,5x vyšší prevalenci PT G20210A- mutace protrombinu v heterzygotní formě (3%) oproti obvykle uváděným hodnotám, je důležitý. Protože trombofilní stavy jsou pouze jednou z mnoha příčin SA, současné doporučení vyšetřovat na trombofilní stavy až po třetím SA, by mohlo tyto zjištěné výsledky na početném souboru žen vzít v úvahu a výsledek studie Dr Kašparové by měl být podkladem k další diskusi či pokračování výzkumů.

Třetí téma- determinace SA- význam funkce štítné žlázy v graviditě, je nejméně 20 let předmětem diskusí mezi endokrinology, bohužel- za malého zájmu gynekologů a porodníků. Endokrinopatie jsou však častou etiologickou příčinou SA, jsou zodpovědné až za 20% spontánních potratů, nejčastějším onemocněním je porucha funkce štítné žlázy nebo syndrom polycystických ovarií. Autorka se zaměřila na rozbor laboratorních nálezů zaměřených na poruchy funkce šž u „zdravých" těhotných žen v 1. trimestru . Vyloučeny byly ženy s tyreopatiemi, s autoimunitními chorobami . Dle průběhu gravidity byla vytvořena skupina žen , které spontánně potratily (SA) a ženy, které úspěšně porodily Mimo základní

laboratorní vyšetření (TSH,TPOab, FT4) byl u žen po SA doplněn ultrazvuk štítné žlázy. Normy laboratorních testů jsou vzhledem k vlivu hCG i dalších okolností v jednotlivých trimestrech odlišné od běžné populace, o přesných hranicích norem zvláště u TSH se vedou diskuse, je známá i závislost na laboratorní metodice. Pro TSH použila doktorandka normu pro 1. trimestr do 2,5mIU/l/l, pro FT4 11,5-18,1pmol/l, odpovídající Doporučení ČES ČLS JEP. Norma s ohledem na specifičnost protilátek proti TPO je za pozitivní považován až dvojnásobek horní hranice normy. Zatímco TSH bylo u kontrol v 90% v normálním pásmu (mírná elevace u 8% a mírná suprese u 2%), v souboru žen po SA byla mírná elevace TSH u 17-24% . Hodnoty FT4 byly v normálním rozmezí u všech vyšetřovaných, což odpovídá našim zkušenostem i názoru, že vyšetřování FT4 v graviditě má pro screening menší význam než vyšetření TSH či protilátky. Průkaz protilátek TPOab označí ženy s autoimunitním procesem ve šž a možnými častějšími komplikacemi v graviditě. Velmi zajímavé jsou výsledky z vyšetřžení UZ u žen po SA : pozitivní nález UZ byl u žen po SA u 21%-28%, a byla prokázána korelace s protilátkami. Autorka zastává názor, že univerzální screening je zřejmě nejefektivnějším strategií k záchytu klinicky významných tyreopatiím v graviditě, a tento názor je zcela v souhlase s názory ČES ČLS JEP: Na str 18 cituje Cedazo-Minguez 2007, který je opatrnější a uvádí, že vyšetření laboratorních tyreoidálních parametrů je doporučeno již při první těhotenské ztrátě . Čeští autoři ve vyšetřujícím algoritmu jako indikaci k laboratornímu vyšetření uvádějí endokrinopatie obecně (Roztočil, 2007) (Binder, 2002), ale důležité je , jak zdůrazňuje Dr Kašparová, zahrnout do laboratorních testů i protilátky TPOab. Interpretaci a podrobnému rozboru laboratorních výsledků se autorka obšírně věnuje , což považuji za velmi důležité i přínosné, protože jak pro screening poruchy funkce v graviditě, tak pro zahájení léčby je správné hodnocení laboratorního výsledku podstatné. Výsledky studie by měla přednést i publikovat na odborném foru pro gynekology. Prokázala schopnost moderního pohledu gynekologa na vztah šž a gravidity.

1. Závěr, že „ APO E polymorfismus nelze označit jako determinující faktor v roli časného SA je sice negativním závěrem, vyšetření tak rozsáhlého souboru je jistě dostatečně průkazné pro toto tvrzení.

2.Přesto, že kandidátka nenalezla jednoznačný vztah mezi výskytem vybraných ukazatelů trombofilnch stavů a SA, studie je výrazným přínosem pro orientaci v problematice koagulopatií v graviditě. Statistické zpracování neprokázalo vyšší prevalenci i žen se SA, . Celé a obsáhlé problematice se velmi pěkně autorka věnuje . Cenná jsou upozornění, že některé výsledky laboratorních vyšetření jsou ovlivněny současnou medikací nebo zdravotním stavem těhotné ženy. Autorka správně zdůrazňuje, že se zvyšují jak počty těhotných nejen s trombofilními stavy, žen se systémovými chorobami , léčbou kortikoidy nebo imunoglobuliny, tak se zvyšuje věk těhotných, a proto je nezbytné o této problematice více informovat. Složité a někdy i kontroverzní téma tromboprofylaxe včetně podávání kumarinů v časné graviditě je velmi pěkně zpracované , věnuje se i profylaktickým opatřením v perikoncepčních a postkoncepčních situacích. Tato část by si zasloužila samostatnou publikaci v interním postgraduálním časopise .

3. O screeningu tyreopati v graviditě se diskutuje nejméně 20 let- stále jde podle některých o kontroversní téma. Argumentem odpůrců je, chybí kontrolní souboru žen s hypotyreózou , které nejsou léčeny. Takový soubor nelze z etického důvodu vytvořit. Jsou sice využívány retrospektivní a observační studie, ty však mívají různé nedostatky . Do

popředí zájmu se dostává otázka přítomnosti protilátek, která vyčlení ženy s autoimunitním procesem ve štítné žlázy, a u některých i s odlišnou imunologickou výbavou. Tyto ženy jsou indikované ke zvýšené péči gynekologa, případně endokrinologa. Autorka prokázala častější výskyt mírné elevace TSH u žen po SA oproti kontrolám. Vzhledem k tomu, že nejméně 10 let je vyšetření laboratorních tyreoidálních parametrů doporučeno již při první těhotenské ztrátě (Cedazo-Minguez, 2007, další guidelines), je možné, že i soubor byl částečně selektovaný a ochuzený o ženy, které již byly zachyceny v rámci prevence a jsou již léčeny. To ovšem nesnižuje význam studie a mohlo by to svědčit o respektování screeningu některými gynekology a následné včasné léčby u těhotných žen, jak je doporučený vyšetřovací algoritmus. Výrazným přínosem je nález jednoznačné korelace nálezu UZ šž a průkazu pozitivity titru TPOab u žen po SA , absolutní výše titru je méně důležitá než sama pozitivita. Závěr, že pravděpodobnost patologického nálezu na UZ šž u žen s přítomností TPOab je 116x vyšší, je velice zajímavý a dokazuje, že přítomnost TPOab odráží již probíhající autoimunitní změny ve šž

. Diagnostika a léčba gravidních žen je delikátní záležitostí. Ženy zachycené s odchylným laboratorním nálezem, odpovídajícím tyreopatii, a to zvláště ženy po SA, patří do specializované péče endokrinologa obdobně jako ženy s prokázanou trombofilí a úzká spolupráce poučených gynekologů je nezbytná. Přehled problematiky jak trombofilních stavů, tak tyreopatií je velmi kvalitně zpracován a je vhodný pro samostatnou publikaci . MUDr D. Kašparová prokázala rozsáhlé vědomosti z oblastí, které byly předmětem jejího studia. Velmi kvalitně zpracovala kapitoly týkající se problematiky, sběru dat. Výstupy studií a hodnocení jsou na velmi dobré úrovni. Pokud by se jí podařilo závěry publikovat v tisku, zaujmout střední zdravotní personál- především gynekologické sestry, byl by to velký přínos. Vzhledem k tomu, že je patrný velký prostor pro zlepšení osvěty v problematice onemocnění šž a gravidity a uplatnění gynekologických sester, lze doufat, že informace . získané z doktorandské práce, bude dále rozšiřovat.

MUDr D.Kašparová má předpoklady pro samostatnou tvořivou vědeckou práci a předložená studie je podkladem pro udělení titulu Ph.D.

-

Doc MUDr Zdeňka Límanová, C Sc

III. intzerní klinika a 1.LF UK, Praha

Dotazy:

*Autorka se na str.15 ve vztahu k vyšetření ovariální rezervy zmiňuje o **AMH**-má s vyšetřením vlastní zkušenosti? Pokud vím, VZP toto vyšetření nehradí – jaký je její názor na přínos této metodiky při vyšetřování infertilních a sterilních žen , případně žen po SA?

*str -15- zmínka o **UZ plodu**. Lze vyšetřením UZ plodu a případně od kterého týdne je možné přispět zvláště při neprospívání plodu k diagnoze hypotyreózy plodu či matky ??

*Na str 21- je doporučena substituce kyselinou listovou a tokoferolem, chybí zmínka o jodu. Je informace o příjmu **jodu** součástí pohovoru gynekologa (jeho asistentky) při registraci gravidní ženy?

*Dr Kašparová uvádí, že průměrný **věk ženy při SA** vzrostl z 29,7 let v r 2003 na 32let v r 2014. Jsou zahrnuta i čísla žen IVF? Vzhledem k doporučení všeobecně vyšetřovat ženy na tyreoidální choroby od 30 let dle doporučení ATA 2016 považuje to doktorandka za přijatelné pro gynekology v ČR?

*K přípravě souborů: je možné odhadnout, jak časté byly tyreopatie nebo DM v anamnéze osobní nebo rodinná ? a tyto ženy musily být ze souboru vyřazeny?

*Vyšetření trombofilních stavů bez jasné indikace není hrazeno pojišťovnami. Prosím o názor, zda by se mělo vyšetření nabídnout dívkám či ženám s negativní anamnézou, zahajující podávání hormonální antikoncepce, případně hormonální léčby, za úhradu ?

*FVL mutace hetero – prevalence 12% u žen po SA a u kontrolní skup 2,6%, statisticky není průkazné?

*str 24: Autorka uvádí prevalenci tyreopatií v graviditě, odvolává se na Cedazo-Minguez, 2007 a vyslovuje svůj názor, že v **5.- 6. gestačním týdnu by se ideálně měla rutinně laboratorně vyšetřovat funkce tyroidey u všech těhotných (fT4, TSH, a-TPO). - jak lze tento názor prosazovat? Realizuje se někde?**

*Spojení **problematiky hemokoagulace a hladiny FT4** řeší práce autorů , která by měla lékaře varovat i před nadměrnou či nekontrolovanou substitucí. Má autorka k této práci nějaký komentář (1)?

1. Debeij J, Van Zaane B., Dekkers OM et al: High levels of procoagulant factors mediate the association between free thyroxine and the risk of venous thrombosis: J Thromb Haemost 2014; 12: 839