



UNIVERZITA KARLOVA, 1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

1. INTERNÍ KLINIKA – KLINIKA HEMATOLOGIE

Přednosta: Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

128 08 PRAHA 2, U NEMOCNICE 2, TEL. 224 96 2527, FAX 224 96 3556

Titl.

Jeseniova lékařská fakulta

University Komenského v Bratislavě,

k rukám prof. MUDr. Andrei Čalkovské, DrSc.,

děkanky

Referát pre vedecko – výskumnú činnosť

Malá Hora 10701/ 4A, Martin,

Slovenská republika

V Praze, dne 20.8.2019

*Oponentský posudek k habilitační práci MUDr. Juraja Sokola, PhD., odborného asistenta z Kliniky hematológie a transfuziológie JLF UK a UNM v Martine.*

Na základě svého jmenování ze dne 24. 6. 2019 oponentem odborného materiálu ve smyslu Vyhlášky MŠ SR č. 6/2005 Z.z. pro získání titulu docent podávám tento posudek k habilitační práci „Etiopatogenéza syndrómu lepidých doštičiek u pacientok so stratou plodu“, studijní obor vnitřní lékařství.

Habilitační práce je uceleným přehledem výsledků studia autora habilitační práce u pacientek se ztrátou plodu, u kterých byl diagnostikován syndrom lepidých destiček (SPS). SPS je zde charakterizovaný in vitro zvýšenou agregací destiček po přidání destičkových agonistů adenzindifosfátu (ADP) a adrenalinu (EPI) a to i při nižších koncentracích, než je u provedení testů vyšetření agregace destiček obvyklé. SPS je mezi odbornou lékařskou

veřejností zatím méně známý, proto je předkládaná práce se svými výsledky velmi cenná a některé dřívější poznatky autora habilitační práce již byly citovány a inspirovaly i další výzkum v zahraničí (Siddesh A. et al.: Platelet-specific collagen receptor glycoprotein VI gene variants affect recurrent pregnancy loss. *Fertility and Sterility* 2014;102:1078-1084).

Cílem habilitační práce pak bylo vyšetření vybraných polymorfismů genů *GP6*, *PEAR1*, *ADRA2A*, *MRVII*, *FCER1G*, *JAK2*, *GAS6* a *PPBP* u pacientek se SPS a anamnézou spontánního abortu v porovnání se zdravými ženskými kontrolami. Diagnostika SPS byla provedena agregačními testy v plasmě bohaté na destičky s přístrojem PACKS-4 (výrobce Helena Laboratories, USA) za použití destičkových agonistů adrenalinu a ADP. Pro molekulárně genetické testy byla použita vysokorozlišovací analýza křivek tání (*HRM*), kterou lze využít k záchytu jedno- i vícenukleotidových záměn a indelů v DNA. K provedení HRM byl použit přístroj LightCycler 480 II (výrobce Roche Diagnostics, SRN).

Celkově bylo v překládané studii vyšetřeno 64 pacientek po spontánním potratu, u kterých byl zjištěn SPS a 54 zdravých žen kontrolního souboru. V rámci genotypové analýzy pak byla nalezena vyšší frekvence výskytu 5 jednonukleotidových polymorfizmů (SNPs) genu *GP6* u vyšetřených pacientek se SPS vs. kontroly (rs1671152, 4,4 x častěji; rs1654433, rs1613662, 2,8x častěji a rs1654416 a rs2304167, obě 4,1x častěji) proti kontrole. V haplotypové analýze pak autor habilitační práce nachází opět u žen se SPS a potraty v anamnéze vyšší výskyt haplotypu genu *GP6* (PEAN) v porovnání s výskytem u kontrolního souboru zdravých žen. Ostatní sledované polymorfismy genů *PEAR1*, *ADRA2A*, *MRVI1*, *FCER1G*, *JAK2*, *GAS6* a *PPBP* sice statisticky signifikantní rozdíly mezi testovanými ženami s potratem a SPC proti zdravé kontrole nevykazovaly, ale přesto je zde náznak, že se genetická variabilita genů *PEAR1*, *GAS6* a *ADRA2A*, která je vedle variability *GP6* asociovaná s destičkovou hyperagregabilitou (SPS), mohla manifestovat ve formě spontánního abortu a je to pravděpodobně i náznakem polygenního typu dědičnosti SPS.

V závěru habilitační práce tedy MUDr. Juraj Sokol, PhD. konstatuje, že u žen se SPS a spontánním potratem v anamnéze zjistil statisticky signifikantní vyšší výskyt 4 nesynonymních variant v kódující oblasti genu *GP6*. Z toho usuzuje, že tyto polymorfizmy *GP6* mohou být spojené i s vyšší hyperagregabilitou destiček, která se pak manifestovala spontánním potratem. Připojuje však i možné limitace interpretace dosažených výsledků, což je hlavně omezený počet pacientek se SPS a anamnézou spontánního abortu a proto možný selekční bias a také možná preanalytická a interlaboratorní variabilita provedeného

měření destičkové agregace. Doplnuje proto, že výsledky této studie by měly být potvrzeny ještě dalším výzkumem.

Samotná habilitační práce MUDr. Juraje Sokola, PhD. je velmi obširná, celkem 123 stran textu. Je přehledně členěna na abstrakt, úvod a diskusi a dalších 9 částí: přehled vybraných trombofilních stavů, vyšetření přítomnosti trombofilního stavu, těhotenství a hemostáza, syndrom lepivých destiček, destičkové agregace a dále vědecké cíle habilitační práce a metodika, včetně stanovení diagnózy syndromu lepivých destiček, genetických vyšetření a statistického vyhodnocení. V poslední části jsou pak přehledně uvedeny charakteristika populace a výsledky genové a haplotypové analýzy vybraných genů, jejichž produkty jsou v trombocytech lokalizované v endoplasmatickém retikulu, cytoplasmě a také extracelulárně. Nakonec je zde dosaženým výsledkům věnována i rozsáhlá diskuse a shrnutí v závěru. To pak ještě doplňuje přehled nejnovější literatury na dalších 35 stranách textu a dále 8 příložených, již publikovaných prací autora a jeho spolupracovníků k tématu *in extenso*. Všechny byly publikovány v recenzovaných vědeckých časopisech s IF. Habilitační práci ještě doplňuje 37 tabulek a 14 názorných obrázků a seznam použitých zkratk a symbolů. To pak zvyšuje i didaktickou úroveň předkládané habilitační práce.

Na závěr mám tyto 2 otázky k autorovi habilitační práce:

1. V kterém období gravidity došlo u sledovaných žen ke spontánnímu potratu?
2. Destičkový receptor GPVI je receptorem krevních destiček pro kolagen. Zda u zkoumaného souboru žen s aborty a SPS neprovedl i test agregace destiček po přidání kolagenu a jaké byly výsledky?

Závěr posudku:

Předložená habilitační práce je věnována aktuální problematice – možné detekci genetických příčin spontánních abortů. Autor zde uvádí prioritní poznatky získané na základě mnohaletého studia, vycházející z prací mezinárodně uznávané Kubiszovy skupiny vytvořené v KHaT JLF UK v Martine. Většina výsledků byla již také autorem habilitační práce a jeho spolupracovníky publikována v 8 vědeckých časopisech s IF, které tvoří její přílohu. V 6 případech zde MUDr. Juraj Sokol, PhD. figuruje jako první autor.

Na hodnocené habilitační práci MUDr. Juraje Sokola, PhD. si pak zejména vážím rozsáhlé studie věnované náročné genetické analýze polymorfismů, včetně určení

haplotypů, které jsou spojovány s úlohou krevních destiček a jejich reaktivitou, zde u žen se syndromem lepivých destiček a abortu v anamnéze.

MUDr. Juraj Sokol, PhD. však ve své habilitační práci dokazuje, že je nejen vyzrálou vědeckou osobností, ale také, že má pedagogický talent přiblížit a vysvětlit získané vědecké poznatky ve vztahu k etiopatogenezi sledované patologického stavu.

Doporučuji proto, aby byl MUDr. Juraj Sokol, PhD. navržen k dalšímu habilitačnímu řízení.

V Praze, dne 26.8.2019

Prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.

1. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK v Praze