

IČO: 652 697 05, DIČ: CZ65269705, Bankovní spojení: 71234621/0100  
Nositel certifikátu ISO 9001:2000  
www.fnbrno.cz

Oponentský posudek na habilitační práci  
**MUDr. Juraje Sokola, PhD.,**  
odborného asistenta Kliniky hematologie a transfuziologie  
Jesséniovy lékařské fakulty UK a UNM v Martině  
ve studijním oboru vnitřní nemoci

s názvem:

**„Etiopatogéneza syndrómu lepivých doštiček u pacientok so stratou  
plodu“**

Habilitace MUDr. Juraje Sokola, PhD. se soustřeďuje na zajímavý medicínský problém, a sice problematiku syndromu lepivých destiček („sticky platelet syndrome“ – SPS), který je studován ve světové literatuře vybranými pracovišti, mezi něž pracoviště autora, a to dokonce v tomto směru mezi přední pracoviště, patří. Jedná se o problematiku, která přitahuje pozornost jak laboratorních, tak i klinických pracovníků.

Předložená práce je klasicky rozčleněna a vlastní text zaujímá 123 stran. Úvodní kapitoly včetně obsahu díla, seznamu zkratk a seznamu příloh čítá 88 stran. Přílohy zahrnují 37 tabulek a 14 obrázků. Seznam literatury dokládá včetně webových odkazů přes 300 citací, včetně domácích i vlastních prací autora, kde je prvním autorem u 8 z nich a jež jsou i samostatnou přílohou habilitačního spisu.

Úvodní část rozebírá velmi zasvěceně základní aspekty současného stavu poznání z hlediska zaměření studie. Je zpracována velmi pečlivě se zjevnou znalostí detailů problematiky a s hloubkou pronikající do specifické problematiky všech aspektů.

Cílem práce byla komplexní analýza vybraných jednonukleotidových polymorfismů (SNPs) genů proteinů lokalizovaných:

v trombocytech, a to na jejich povrchu – **GP6** (gen pro glykoprotein VI), **PEAR1** (gen pro „*platelet endothelial aggregation receptor-1*“) a **ADRA2A** (gen pro adrenergní  $\alpha$ 2A receptor), dále intracelulárně lokalizovaných na organelách – **MRVI1** (gen pro „*murine retrovirus integration site 1 homolog*“) v endoplazmatickém retikulu, a konečně i v cytoplazmě – **FCER1G** (gen pro „Fc fragment receptor pro imunoglobulin E“) a **JAK2** (gen pro Janus kinázu 2) a dále i extracelulárně, kdy slouží jako ligandy pro destičkové receptory – **GAS6** (gen pro ligand „growth arrest-specific-6“), **PPBP** (gen pro ligand „pro-platelet basic protein“).

Vlastní analýza byla zacílena na:

1. zhodnocení frekvence vybraných alel v populaci pacientek s diagnózou SPS a anamnézou spontánního abortu proti kontrolní skupině zdravých žen,
2. určení rizika ztráty plodu pro jednotlivé studované alely v populaci pacientek se SPS,
3. provedení genotypové a haplotypové analýzy ve studovaných populacích (u SPS pacientek s anamnézou spontánního abortu ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých žen) a
4. posouzení možných etiopatogenetických vlivů studovaných polymorfismů na riziko rozvoje SPS u žen s anamnézou abortu.

Ve studii, která probíhala od března 2005 do září 2018, se jednalo o „case-control study“ a samotná realizace probíhala na třech pracovištích JLF UK – na Klinice hematologie a transfuziologie (Národní centrum hemostázy a trombózy), na Gynekologicko –porodnické klinice a Ústavu klinické biochemie. Do první skupiny pacientek s potvrzenou diagnózou SPS, a anamnézou jednoho (17,2 %) nebo více potratů (dva potraty 62,5 % a tři potraty 18,8 %) bylo zařazeno 64 žen s průměrným věkem 35 let, do druhé, kterou tvořily zdravé ženy ve fertlním věku po aspoň jednom nekomplikovaném porodu, bylo zavzato 54 žen (průměrný věk 43 let). Vyloučeny byly ženy s anatomickými abnormalitami genitálního traktu, pozitivní anamnézou žilní nebo tepenné trombózy, infekčním či jiným onemocněním vedoucím k potratu a osobní nebo rodinnou anamnézou chromozomálních abnormalit.

Laboratorní diagnostika stanovení SPS spočívala po, za přísných kautel provedeném odběru vzorku krve a jeho centrifugaci 200 g po 10 minut, čímž byla získána PRP, v agregometrickém vyšetření za použití vždy tří koncentrací ADP a epinefrinu. V případě abnormálního výsledku bylo vyšetření s odstupem 4-5 týdnů opakováno. Výsledky byly hodnoceny dle škály pravděpodobnosti diagnózy SPS. Genetické vyšetření bylo prováděno pomocí PCR a HMR analýzy pomocí designovaných primerů. Statistická analýza byla provedena standardními metodami.

V rámci vyšetřovaných polymorfismů GP6 genu se podařilo identifikovat čtyři nesynonymové varianty v kódující oblasti, které byly signifikantně asociovány s SPS se spontánními potraty (rs1671152 – 4,4 krát častěji, rs1613662 2,8 krát častěji rs1654416 a rs2304167 4,1 krát častěji) při srovnání se zdravou kontrolou. Zmíněné čtyři varianty vytvářejí v kódující oblasti menší haplotyp PEAN.

Z vyhodnocení genotypové a haplotypové analýzy vybraných genů na povrchu trombocytů vyplývá signifikantně vyšší výskyt haplotypu **PEAN** (OR 4,467, CI 1,635 při GP6\_PEAN haplotypu) a haplotypu **ta** (OR 23,439 CI 3,085 u CP6\_REG haplotypu) u pacientek s SPS a anamnézou spontánního potratu, přičemž haplotyp **PEAN** signifikantně zvyšuje riziko spontánního abortu až 4,5 násobně a haplotyp **ta** dokonce až 23,4 násobně. Z analýzy intronové a regulační části vyplynul signifikantně vyšší výskyt dvou haplotypů (acgg OR 4,262, CI: 1,379 a aagg) u pacientek proti zdravé kontrole. Další vyšetření nepřinesla signifikantní rozdíly ve vyšetřovaných parametrech.

Hlavním zjištěním vyplývajícím z výsledků předložené práce je, že variabilita genů GP6, PEAR1, GAS6 a ADRA2A je spojena s vystupňovanou destičkovou agregabilitou a s možnou manifestací v podobě spontánních abortů. Lze konstatovat, že SPS je spojen s polygenní dědičností a vyžaduje dalšího studia. Největší naděje pro objasnění etiologie hyperagregace trombocytů u SPS v souvislosti s genetickou dispozicí skýtá zejména další studium genu GP6.

#### Shrnutí:

Habilitační práce MUDr. Juraje Sokola, PhD. se zaměřuje na problém s průkopnickým klinickým a vědecko-výzkumným tématem syndromu lepivých destiček, kde práce autora a především jeho učitelů prof. Kubisze a prof. Staška patří ke stěžejním dílům v daném směru i z hlediska světového písemnictví.

V úvodu prokazuje habilitant dokonalou znalost studovaného předmětu. Použité metody jsou na vysoké úrovni. Cíle jsou přehledně formulovány a autor je, jak dokumentuje ve

výsledkové části a diskusi, při zpracování studie na dostatečně početném souboru nemocných splnil.

Po stránce formální je studie velmi pečlivě zpracována s klasicky strukturovaným uspořádáním díla. Po stránce obsahové se jedná o práci svým rozsahem a pojetím přínosnou, s originálními výstupy.

K práci mám následující dotazy a připomínky:

1. GPVI je receptorem pro kolagen a jeho stimulace vede k aktivaci GPIIb/IIIa a má vliv na ovlivnění aktivity primární hemostázy. Lze využít genetických abnormalit týkajících se tohoto receptoru jako markerů pro stratifikaci léčby, či prevence trombotických nebo těhotenských komplikací u jejich nosičů?
2. Krevní destičky u pacientů s diagnózou SPS jsou aktivovány i v době mimo trombotické události a těhotenské komplikace a je výhodné pacienty zajišťovat protideštičkovou medikací. Provádí pracoviště autora toto zajištění, a čím se řídí v rámci stratifikace této péče?
3. Oceňuji pečlivost, s jakou je dílo sestaveno, i dosavadní výzkumnou činnost uchazeče.
4. Co je dalším cílem uchazeče v daném směru výzkumu?

### **Závěr:**

Předložená habilitace svědčí o autorově erudici ve studované problematice. Přínos samotné práce spočívá především v originálních zjištěních se zaměřením především na využití preventivních opatření. Publikace je jistě námětem pro další výzkumnou práci.

Současná vědecko-výzkumná činnost i vlastní habilitační práce MUDr. Juraje Sokola, PhD. splňují formální a věcné nároky kladené dle § 1 odst. 8 Vyhlášky MŠ SR č. 6/2005 Z. z. na habilitační práce a doporučuji tedy Vědecké radě Jesseniovy lékařské fakulty v Martině Univerzity Komenského v Bratislavě, aby práci přijala k obhajobě za účelem získání titulu

**docent vnitřního lékařství**

V Brně dne 23. 8. 2019

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.  
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity