



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

KATEDRA GINEKOLOGII, POŁOŻNICTWA I ONKOLOGII GINEKOLOGICZNEJ
KLINIKA ROZRODCZOŚCI

KIEROWNIK KLINIKI

PROF. DR HAB. MED. JANA SKRZYPCZAK

ul. Polna 33
60-535 Poznań

tel. 061 84-19-302, 339, 576
fax 061 84-19-625
e-mail: klinrozrod.gpsk.um@gmail.com

Poznań, 1.02.2016

Ocena

rozprawy doktorskiej lekarza medycyny

Agnieszki Ledniowskiej

pt: ***Analiza wybranych testów laboratoryjnych i objawów klinicznych w predykcji
niepowodzeń położniczych***

Liczne badania sugerują wpływ autoimmunogennych mechanizmów na procesy rozrodcze zarówno kobiety, jak i mężczyzny. Manifestują się głównie jako niemożność zajścia w ciążę lub utrata ciąży.

Brak objawów przy podejrzeniu autoimmunogennych mechanizmów oraz niedostateczna świadomość ginekologów są źródłem wielu kontrowersji w tym temacie. Choroby autoimmunologiczne, nie tylko zespół antyfosfolipidowy czy toczeń układowy, mogą być związane z niepłodnością i utratą ciąży przez różne przypuszczalne mechanizmy; po pierwsze przeciwciała takie jak antyfosfolipidowe, przeciwtarczycowe lub przeciwjądrowe mogą być bezpośrednio związane z niepłodnością nawet przy braku jawnych klinicznych objawów choroby autoimmunologicznej; po drugie autoimmunogenność może zaburzać proces rozrodu na każdym etapie, przez niewydolność jajników czy jąder, upośledzenie zagnieżdżenia zapłodnionej komórki jajowej do utraty ciąży włącznie; po trzecie, niepłodność może być wtórna do procesu zapalenia naczyń tak charakterystycznego dla toczenia układowego czy cukrzycy.

Dążenie lek med. Agnieszki Ledniowskiej do poszerzenia wiedzy na temat udziału immunologicznych czynników w stratach ciąż u kobiet bez objawów chorób immunologicznych (z wyjątkiem zespołu antyfosfolipidowego) zasługuje na pełną akceptację, jednocześnie budzi obawy co do możliwości realizacji założenia.

Przedstawiony mi do recenzji wydruk pracy doktorskiej obejmuje 83 strony maszynopisu i posiada klasyczny, aczkolwiek nieproporcjonalny, układ edytorski, bowiem wstęp obejmuje 23 strony, podczas gdy dyskusja zawarta jest na 8 stronach.

W pierwszej części wstępu Autorka dokładnie opisała budowę immunoglobulin, powstawanie przeciwciał oraz proces autoimmunizacji. Kolejna część wstępu dotycząca niepowodzeń położniczych w chorobach autoimmunologicznych łączy pierwszą część wstępu z trzecią, w której zawarty jest opis czterech chorób autoimmunologicznych, mianowicie zespołu antyfosfolipidowego, toczenia rumieniowatego układowego, reumatoidalnego zapalenia stawów oraz choroby Hashimoto. W moim odczuciu opis ostatnich trzech chorób jest niepotrzebny a nawet mylący, ponieważ sugeruje, że przedmiotem badań będą kobiety z objawami tych właśnie chorób autoimmunologicznych.

Na uwagę zwraca fakt, że we wstępie zostały zacytowane aż 162 pozycje literatury, przy czym 1/3 z nich jest pracami poglądowymi. Cenną jest umiejętność formowania opinii i poglądów na podstawie oryginalnych obserwacji naukowych, jak również ich krytyczna analiza, tak więc pożądane byłoby unikanie w dysertacji analiz prac poglądowych. Nie zmienia to faktu, że wszystkie odniesienia są przeprowadzone prawidłowo i oddają stan wiedzy dotyczący zagadnienia. Pozwolę sobie w tym miejscu uzupełnić informację na temat przyczyn poronień nawracających, bowiem z opublikowanej w 2012 roku pracy Sugiura – Ogasawara M. i wsp. wynika, że aberracje chromosomowe zarodków są odpowiedzialne za 41 % poronień nawracających, tym samym odsetek poronień o niewyjaśnionej etiologii zostaje zredukowany do 25.

Cele pracy są prawidłowo uzasadnione przez informacje i pytania zawarte we wstępie dysertacji. Główny cel pracy został przedstawiony w formie 4 pytań.

Odpowiedzi na te pytania miała dostarczyć analiza kartotek i wyników laboratoryjnych pacjentek z niepowodzeniami położniczymi, które były diagnozowane i leczone w ośrodku akademickim oraz niepublicznym centrum medycznym. Ostatecznie analizą objęto 397 pacjentek, które miały kompletny panel badań laboratoryjnych, tzn, że każda z analizowanych pacjentek miała przeprowadzone badania w kierunku obecności

- przeciwciał antykardiolipinowych w klasie IgM, IgA, IgG
- przeciwciał przeciw B₂ glikoproteinie I w klasie IgM, IgA, IgG
- antykoagulanta toczenia
- przeciwciał antyfosfolipidowych mieszanych IgM, IgG
- czynnika reumatoidalnego
- przeciwciał przeciwjądrowych ANA

- przeciwciał przeciw pojedynczej nici DNA
- przeciwciała przeciw podwójnej nici DNA
- przeciwciał antyhistonowych
- przeciwciał przeciw peroksydazie tarczycowej

Z prostego rachunku wynika, że opracowaniu statystycznemu podlegało 5955 oznaczeń, zakładając, że oznaczenia były jednokrotne.

Doktorantka analizowała również dane kliniczne odnoszące się do liczby ciąż, poronień, porodów przedwczesnych, przebytej zakrzepicy, stosowania leków w ciąży, obecności nadciśnienia indukowanego ciążą i zahamowania wewnątrzmacicznego wzrastania płodu. W analizie ujęto też wiek pacjentki i czas oczekiwania na dziecko.

W rozdziale Materiały i metody nie znajduję określenia czasu z jakiego pochodziły analizowane kartoteki, czy był to okres 2, czy 10 letni. Poza tym czy analizowane kartoteki pochodziły od kobiet oczekujących na kolejną ciążę, czy od kobiet będących aktualnie w ciąży. Pomijam już takie dane, jak liczba kobiet które doświadczyły nawracających poronień lub innych niepowodzeń ciąży.

Ciekawi mnie również u ilu spośród 45 pacjentek z zespołem antyfosfolipidowym wystąpiła zakrzepica.

Analizowane pacjentki podzielono na dwie grupy; pacjentki z zespołem antyfosfolipidowym i pacjentki bez zespołu antyfosfolipidowego.

Zasadnicze moje pytanie dotyczy kryteriów rozpoznawania zespołu antyfosfolipidowego, które Doktorantka stosowała.

Na str. 38 znajduję zdanie: *"badania w kierunku przeciwciał antykardiolipinowych, przeciw beta-2-glikoproteinie I oraz układ krzepnięcia wykonywane były zgodnie z wytycznymi z Sydney"*

Pragnę podkreślić, że obecność przeciwciał antyfosfolipidowych nie czyni zespołu i że do rozpoznania zespołu antyfosfolipidowego potrzebne jest przynajmniej jedno kryterium kliniczne i przynajmniej jedno kryterium laboratoryjne w wartościach takich jakie Doktorantka podała w tabeli (niepełnej zresztą) we wstępie.

Dlatego myślę, że praca byłaby bardziej czytelna, gdyby materiał podzielono na dwie następujące grupy: pacjentki z przeciwciałami antyfosfolipidowymi i pacjentki bez przeciwciał antyfosfolipidowych.

Poza tym uważam, że w pracy retrospektywnej, w której głównym narzędziem są

metody statystyczne powinno się im poświęcić więcej miejsca.

Nie rozumiem np. dlaczego zastosowano test regresji logistycznej porządkowej wieloczynnikowej, skoro są tylko dwie grupy: pacjentki z zespołem antyfosfolipidowym i pacjentki bez zespołu antyfosfolipidowego.

Należałoby również podkreślić, że żadna z pacjentek nie manifestowała objawów choroby autoimmunologicznej poza zespołem antyfosfolipidowym.

W mojej opinii rozdział Materiał i Metoda został potraktowany bardzo skrótowo, żeby nie powiedzieć marginalnie. Największą jego część zajmuje tabela z rodzajami oznaczonych przeciwciał, zastosowane testy i parametry.

Opracowanie tego rozdziału budzi moje zastrzeżenia, chociaż braki w nim zawarte nie powinny wpłynąć na wyniki, które opracowano przy użyciu różnych testów statystycznych, pod warunkiem, że zostały spełnione kryteria rozpoznania zespołu antyfosfolipidowego.

Wyniki opisano na 11 stronach, przy pomocy ośmiu tabel i czterech rycin. Przedstawiono tylko istotne czynniki ryzyka, jakie znaleziono w odniesieniu do nawracających strat ciąży oraz w odniesieniu do nadciśnienia indukowanego ciążą.

U kobiet, które doświadczyły 3 i więcej poronień za istotne czynniki ryzyka poronienia do 10 tygodnia ciąży uznano obecność przeciwciał przeciwjądrowych ANA oraz czas oczekiwania na dziecko. Tę ostatnią zależność przedstawiono na rycinie 5.

Czy jednak w modelu uwzględniono wiek pacjentki? Z obserwacji klinicznych wynika, że intensywne starania o dziecko podejmują kobiety dojrzałe, najczęściej około 30 roku życia, które, po założymy, 15 latach oczekiwania na dziecko będą miały 45 lat a wiadomo, że w tym okresie życia 50 % ciąży kończy się niepowodzeniem. Z wiedzy medycznej wynika, że to wiek pacjentki ma istotne znaczenie dla rozwoju ciąży.

Zaskakujące jest również zaliczenie do czynników ryzyka strat ciąży po 10 tygodniu stosowanie heparyny (iloraz szans 5,731 v 1,243 przy obecności ANA).

Oczywiście, stosowanie heparyny w niewyjaśnionych stratach ciąży nie ma uzasadnienia, ale nie spotkałam w literaturze doniesienia o szkodliwym działaniu heparyny. W kontekście tej obserwacji ważna jest liczba kobiet, które stosowały heparynę bez określonych wskazań.

Pewną nowością jest też wynik wskazujący na to, iż urodzenie przez pacjentkę z zespołem antyfosfolipidowym dziecka z wewnątrzmacicznym zahamowaniem

wzrastania zmniejszało ryzyko poronienia, podobnie jak obecność przeciwciał antyfosfolipidowych klasy IgM. Skądinąd wiadomo, że przeciwciała antykardiolipinowe w klasie IgM mają większą wartość predykcyjną dla rozwoju ciąży niż przeciwciała antykardiolipinowe w klasie IgG, wzrost tych pierwszych w czasie ciąży >100 MPL jest złym czynnikiem rokowniczym (Nielsen i Christiansen 2005). Ponadto, obecność więcej niż jednego typu przeciwciał jest bardziej dokładną zmienną w przewidywaniu utraty ciąży niż obecność pojedynczego przeciwciała. Ruffatti i wsp. w dwóch retrospektywnych badaniach wykazała, że obecność wszystkich trzech przeciwciał antyfosfolipidowych (aCL, a β_2 -GP1, LA) silniej wiąże się z nawracającymi późnymi (>10. tyg.) utratami płodu i epizodami zakrzepicy niż obecność dwóch lub jednego przeciwciała.

Wykrycie wszystkich trzech przeciwciał pozwala na identyfikację pacjentek z wysokim ryzykiem nawrotu poronienia, nawet przy właściwym leczeniu.

W tabeli VII Doktorantka przedstawiła wartość predykcyjną wyników laboratoryjnych i objawów klinicznych dla zespołu antyfosfolipidowego; wynika z niej, że największą wartość predykcyjną ma zakrzepica.

Natomiast badane przeciwciała antyfosfolipidowe, stanowią raczej słabe klasyfikatory zespołu antyfosfolipidowego, co potwierdzają krzywe ROC.

Nie rozumiem sformułowania „*że w grupie pacjentek APS(+) w przypadku 1-2 poronień do dziesiątego tygodnia*” Na jakiej wobec tego podstawie rozpoznano zespół antyfosfolipidowy? Jednym z kryteriów klinicznych zespołu są przynajmniej 3 poronienia przed dziesiątym tygodniem ciąży.

Mam wrażenie, że dla Doktorantki obecność przeciwciał antyfosfolipidowych jest tożsama z zespołem antyfosfolipidowym.

W tabeli IX wątpliwości moje budzą procenty zamieszczone w rubryce prawdopodobieństwo. Na podstawie wiedzy medycznej przyjmuje się, że im większa liczba poronień i czynników ryzyka tym większe prawdopodobieństwo kolejnego poronienia. Tymczasem kalkulator prawdopodobieństwa poronień do 10 tygodnia ciąży tę wiedzę neguje.

Jak Doktorantka wytłumaczy wyniki wskazujące, że przeciwciała ANA, przeciw β_2 GPI i APL IgM nie wpływają na efekty technik wspomagającego rozrodu, a IUGR i nadciśnienie wpływają podczas gdy w tabeli VI wykazano, że czynnikami ryzyka nadciśnienia są IUGR, przeciwciała ANA i p-ciała przeciw β_2 GPI, czyli że wymienione przeciwciała oraz

IUGR i nadciśnienie pozostają ze sobą w ścisłej łączności?

Dyskusja obejmuje 8 stron maszynopisu i napisana jest w sposób logiczny i konsekwentny. Ten podrozdział zawiera wiele własnych przemyśleń. Autorka nie tylko przytacza zaistniałe fakty, ale również odpowiednio je interpretuje, wykazując przy tym dobrą znajomość przedmiotu.

Dużo uwagi w dyskusji poświęca przeciwciałom przeciwwądrowym ANA oraz ich mianom, którego we własnych badaniach nie określa.

Kolejno Doktorantka dyskutuje niekorzystny wpływ heparyny na ciążę, co wynika z własnych danych. Pragnę podkreślić, że piśmiennictwo, na które Autorka się powołuje dotyczy braku korzystnego działania heparyny u pacjentek z poronieniami nawracającymi bez zespołu antyfosfolipidowego. Dlatego też dalej trudno zrozumieć, dlaczego stosowanie heparyny u kobiet bez rozpoznanego zespołu antyfosfolipidowego nasilało ryzyko utraty ciąży po 10 tygodniu.

Bardzo cenna jest część dyskusji dotycząca przeciwciał związanych z zespołem antyfosfolipidowym. Dotąd uważano, że niski poziom przeciwciał antyfosfolipidowych wykryty u kobiet z powtarzającymi się poronieniami nie może być rozważany jako przyczyna poronienia i że przeciwciała antyfosfolipidowe w niskich mianach nie mają znaczenia klinicznego. Tymczasem z badań Doktorantki wynika, że przeciwciała antyfosfolipidowe w niskich mianach były istotnym czynnikiem prognostycznym zespołu antyfosfolipidowego.

Z ostatnich publikacji wynika, że okazjonalnie występujące aPL wykryto u 6% kobiet z nawracającymi poronieniami, podczas gdy zespół antyfosfolipidowy rozpoznano tylko u 3% pacjentek z nawracającymi poronieniami.

Doktorantka słusznie podkreśla wpływ niedocenianych dotychczas przeciwciał przeciw β_2 glikoproteinieI w klasie IgA oraz przeciwciał antyhistonowych na przebieg ciąży. Badania przez Nią przeprowadzone dowodzą, że przeciwciała przeciw β_2 glikoproteinieI w klasie IgA zwiększają ryzyko poronień po 10 tygodniu ciąży.

Doktorantka dobrze orientuje się we współczesnych tendencjach badawczych. W sposób adekwatny odnosi się do uzyskanych przez siebie wyników i potrafi logicznie przeanalizować je w odniesieniu do wyników innych badaczy.

Wnioski z uzyskanych wyników przedstawione są w 4 punktach i stanowią odpowiedź na zawarte w celu pytania.

Sformułowanie we wniosku 3, że ryzyko wystąpienia APS i poronień *może* być duże jest

mało precyzyjne.

Doktorantka ustrzegła się istotnych błędów redakcyjnych, poza jednym, mianowicie określeniem poronienia nawykowe. Nie ma takiego terminu w obowiązującym nazewnictwie. Właściwym i stosowanym w literaturze określeniem jest poronienia nawracające, zamiennie z nawracającymi utratami ciąży.

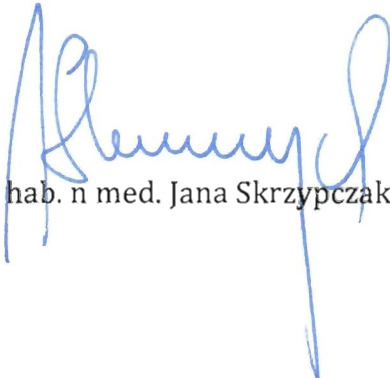
Przytoczona w dysertacji literatura obejmuje 202 pozycje, w zdecydowanej większości opublikowane po 2000 roku. Nie zawsze jednak cytowana pozycja w tekście pracy jest zgodna ze spisem piśmiennictwa (np. nr 175).

W podsumowaniu: większość wymienionych przeze mnie uwag należy traktować raczej jako głos w dyskusji, a nie jako krytykę ocenianej dysertacji.

Zastrzeżenia moje budzą jedynie kryteria rozpoznawania zespołu antyfosfolipidowego i konstrukcja pracy. Nie mogę jednak odmówić pracy pewnych nowych wartości, przede wszystkim wykazanie roli przeciwciał przeciwjądrowych ANA oraz wartości rokowniczych przeciwciał przeciwkardiolipinowych i przeciw β_2 glikoproteinie I w klasie IgA. Dlatego ogólna ocena pracy jest pozytywna.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.)

Zwracam się więc do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o dopuszczenie lek. med. Agnieszki Ledniowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. n med. Jana Skrzypczak