



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Děkanát, tř. Svobody 8, 771 26 Olomouc, tel./fax: 585 632 063

Zápis o konání obhajoby disertační práce v oboru Vnitřní nemoci

MUDr. Dagmar Jackuliaková, sekundární lékařka III. interní kliniky příjmu FN a LF UP v Olomouci a studenta kombinované formy doktorského studijního programu *Vnitřní nemoci* na LF UP v Olomouci

Téma práce: „**Familiární kombinace hyperlipidémie a její vztah k dalším rizikovým faktorům aterosklerózy**“

Obhajoba se konala v Olomouci dne 6. dubna 2011 ve 13:30.

Komise:

předseda: Prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc. ✓

místopředseda: Prof. MUDr. Ivo Krč, DrSc. ✓

členové: Doc. MUDr. Petr Schneiderka, CSc. ✓

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc. ✓

Prof. MUDr. Jiří Ehrmann, CSc. ✓

Prof. MUDr. Jan Lukl, CSc. ✓

Doc. MUDr. Čestmír Číhalík, CSc. ✓

Doc. MUDr. Zdeněk Fryšák, CSc. ✓

Doc. MUDr. Rudolf Chlup, CSc. ✓

Oponenti:

Prof. MUDr. Miroslav Souček, CSc. —

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc. ✓

Doc. MUDr. Petr Schneiderka, CSc. ✓

Školitel: Prof. MUDr. Helena Vavrková, CSc. ✓

Předsedající přednesl stručnou charakteristiku uchazeče, hodnocení školitele a stanovisko vedoucího školícího pracoviště k disertační práci. Poté uchazeč vyložil podstatný obsah své disertace. Oponenti přednesli své posudky. Uchazeč odpověděl na připomínky a dotazy oponentů.

Ve vědecké rozpravě vystoupili: viz příloha – zápis o diskusi.

Hlasování se účastnilo 9 členů komise. Kladně hlasovalo 9 členů, záporně 0 členů, neplatných lístků bylo odevzdáno 0

Usnesení:

Přítomní členové komise tajným hlasováním rozhodli, že **MUDr. Dagmar Jackuliaková** obhájila disertační práci a doporučili udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.
předseda komise

Zápis o průběhu diskuze k obhajobě dizertační práce na téma „Familiární kombinovaná hyperlipidémie a její vztah k dalším rizikovým faktorům aterosklerózy“

MUDr. Dagmar Jackuliaková

Po 15minutové přednášce týkající se obhajoby mé dizertační práce jsem odpovídala nadotazy oponentů. Dotazy a mé odpovědi zde předkládám:

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Na str. 57 je uvedeno, že koncentrace LDL-cholesterolu byla stanovena pro jedince s $Tg < 4,5$ mmol/l výpočtem podle Friedewalda. Jak byl stanoven LDL-cholesterol u pacientů, u kterých byly triglyceridy nad 4,5 mmol/l a kolik takových pacientů v souboru bylo? Byli tito pacienti zařazeni do celého sledovaného souboru?

Odpověď: Hodnoty pacientů s TG nad 4,5 mmol/l nebyly v bodě týkajícím se statistického zpracování hodnot LDLch do souboru zařazeny, neboť výpočet podle Friedewaldovy rovnice u nich nelze aplikovat. Přímé laboratorní stanovení LDLch nebylo použito. Jednalo se o 9 jedinců – pouze ze skupiny hyperlipidemických hypertriglyceridemických členů rodin s familiární kombinovanou hyperlipidémií.

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Jaké odběrové soupravy byly použity k odběrům krve?

Odpověď: Jednalo se o jednorázové standardní odběrové soupravy VACUETTE®. Jsou vyrobeny z plastu a mají předdefinované vakuum pro přesný objem krve. Jsou uzavřeny bezpečnostními uzávěry VACUETTE®, které jsou barevně rozlišeny. Povolené tolerance koncentrací i objemů aditiv, ale i poměr krve k aditivům splňují požadavky a doporučení mezinárodních standardů ISO/DIS 6710 (Evropská norma EN 14820) „Single – use containers for venous blood specimen collection“ a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Pro koagulační vyšetření obsahovaly odběrové zkumavky VACUETTE® pufrovaný 3,2 % roztok citrátu sodného (1:9 krev). Pro přípravu séra obsahovaly tyto zkumavky aktivátor srážení a gel.

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Skupina HL HTG byla starší a měla vyšší BMI (a obvod pasu) než skupina kontrolní. Byly výsledky všech laboratorních analýz adjustovány na věk, pohlaví a BMI?

Odpověď: Všechny získané výsledky byly podrobeny adjustací na věk, pohlaví a BMI. Uvedená adjustace vedla ke snížení statistické signifikance zjištěných vztahů minimálně o jeden řád. V případě ALT a GGT vedla adjustace k vymizení statistické signifikance.

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Byla vyšetřována laboratoř ze séra nebo z plasmy? Pokud byly použity oba typy materiálu, pro které analýzy byla použita plasma a pro které sérum?

Odpověď: Ze séra byly stanoveny tyto parametry: CCH, TG, HDLch, apoA1, apoB, Lp(a), glykémie, inzulin, proinzulin, C-peptid, ALT, GGT, hsCRP, KM, sICAM1, sVCAM1. Z plasmy byly stanoveny: fibrinogen, vWF, trombomodulin, tPA, PAI-1.

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Má autorka i jiné doklady o vztahu KHLP k nealkoholické jaterní steatóze než měření ALT a GGT? Tyto parametry samy o sobě nejsou nijak specifické pro nealkoholickou jaterní steatózu, naopak zvýšení GGT je poměrně specifické pro alkoholické postižení jater.

Odpověď: Ne, přítomnost jaterní steatózy nebyla posouzena jinou metodou. Opírala jsem se zde o řadu publikací, které vztah mezi hladinou ALT, resp. GGT a přítomností jaterní steatózy potvrdily různými metodami – jaterní biopsií, protonovou MRI spektroskopií apod. Četné práce prokazují, že NAFLD bývá spojena zpravidla s jen mírnou elevací transamináz a GGT, nebo se alespoň jejich hodnoty blíží horní hranici normy. Podle některých prací GGT koreluje s množstvím jaterního tuku nezávisle na obezitě, ale jejich specifita i senzitivita je nižší. Pouze při hodnotách laboratorních výsledků, které vybočovaly z fyziologického rozmezí, bylo v případě mnou předkládané studie doplněno sonografické vyšetření jater a CDT. Kromě toho jedinci s jiným známým jaterním onemocněním byli ze studovaného souboru vyřazeni.

Prof. MUDr. Miroslav Souček, CSc.: HL HTG skupina dosahovala signifikantně více aterogenních hodnot lipidových a lipoproteinových parametrů než NL a KO. Avšak vykazovala signifikantně vyšší hladiny HDL-cholesterolu než jejich NL. Proč tomu, tak je?

Odpověď: HL HTG skupina dosahovala signifikantně nižší hladiny HDL-cholesterolu než NL příbuzní, ale také než jejich HL NTG příbuzní. HL HTG jedinci vykazovali signifikantně vyšší hodnoty triacylglycerolů než jejich HL NTG příbuzní. Je známo, že existuje inverzní asociace mezi hladinou triacylglycerolů a hodnotou HDL-cholesterolu, což vysvětluje popsáný jev.

Prof. MUDr. Miroslav Souček, CSc.: V HL NTG skupině nebyl metabolický syndrom nalezen. Je to dáno jen malým počtem probandů?

Odpověď: Především je to dáno nižším průměrným věkem členů HL NTG skupiny. Výskyt metabolického syndromu narůstá s věkem. Dále za to odpovídají samotná kritéria metabolického syndromu: Mezi HL NTG jedinci už kvůli definici skupiny nebyl zařazen jediný subjekt s triacylglyceroly přes 1,7 mmol/l, naopak jejich hodnoty byly nižší než 1,5 mmol/l. Průměrné hodnoty systolického ($123,5 \pm 3,6$ mmHg) i diastolického krevního tlaku ($77,3 \pm 2,2$ mmHg) v této skupině byly nízké a nesplňovaly hodnotu příslušející k metabolickému syndromu ($TK \geq 130/85$). Průměrné hodnoty obvodu pasu u HL NTG žen ($72,9 \pm 7,9$ cm) i mužů ($85,5 \pm 9,0$ cm) byly rovněž nízké. Naopak hodnoty ochranného HDL cholesterolu ($1,84 \pm 0,11$ mmol/l) byly vysoké. Koncentrace glykémie ($5,22 \pm 0,26$ mmol/l) nedosahovaly hodnoty 5,6 mmol/l, která je jedním z diagnostických kritérií metabolického syndromu.

Prof. MUDr. Miroslav Souček, CSc.: Jaký je dopad výsledků vzhledem k léčbě FKH?

Odpověď: U tak rizikových jedinců, jaké jedinci s familiární kombinovanou hyperlipidémií představují, je už v rámci primární prevence vhodné zahájit léčbu dříve než u ostatní populace. Otázkou zůstává, zda nezpřísnit v budoucnu cílové terapeutické hodnoty lipidů a lipoproteinů pro tuto kohortu. U jedinců s intermediálním rizikem je vhodné zvážit vyšetření přídatného parametru (CRP, fibrinogen...) ke stanovení agresivity léčby.

Doc. MUDr. Petr Schneiderka, CSc.: Které výpočty, měření a vyšetření prováděla sama autorka:

Odpověď: Sama jsem prováděla následující: Odběr anamnézy, klinické vyšetření pacienta, oslovení rodinných příslušníků, kontrol a jejich fyzikální vyšetření + odběr anamnézy, měření: STK, DTK, obvod pasu, výpočty: (apoB/apoA1), nonHDLch, AIP, HOMA, QUICK, průměrný STK, DTK, BMI, sestavení rodokmenů a určení příslušnosti k rodině s FKH, zařazení subjektu do konkrétní skupiny, zhodnocení vylučovacích kritérií, stanovení výskytu metabolického syndromu a počtu dg. znaků MS, stanovení positivity hypertriglyceridemického pasu, grafy, tabulky, text...

Doc. MUDr. Petr Schneiderka, CSc.: Jmenujte spolupracující laboratorní pracoviště a spolupracovníky:

Odpověď: Oddělení klinické biochemie a imunogenetiky FNOL, Ing. Dalibor Novotný, PhD.; Hematologická (koagulační) laboratoř při HOK FNOL, Mgr. Luděk Slavík, PhD.

V další části diskuze mi byly položeny členy komise následující dotazy:

Prof. MUDr. Krč: V práci byly hodnoceny koncentrace von Willebrandova faktoru. Byla hodnocena také adhezivní schopnost trombocytů?

Odpověď: Adhezivní schopnost trombocytů v práci hodnocena nebyla. Domnívám se, že v době, kdy byla práce zahájena, nebyla tato metoda v laboratoři ještě zavedená. Nicméně je to dobrý námět pro další bádání.

Doc. Chlup: Uvedla jste, že pro jedince s triglyceridy nad 4,5 mmol/l nebyly stanoveny hodnoty LDL cholesterolu, neboť pro ně není možno použít Friedewaldovu rovnici. Hovořila jste o tom, že existují laboratorní možnosti přímého měření LDL cholesterolu, ale z vašich slov cítím skepsi. Doporučujete obecně u těchto jedinců přímé stanovení LDL cholesterolu?

Odpověď: V současné době taková metoda skutečně existuje, ale kterak jsem se informovala přímo u odborníků biochemie, ani tato metoda nemusí dát přesný výsledek. U těchto jedinců bych doporučila vypočítat nonHDL-cholesterol, který v sobě zahrnuje veškerý cholesterol nesený potenciálně aterogenními částicemi. Další možností je měření apolipoproteinu B či vypočet aterogenního indexu plazmy. Jsou to snadno dostupné ekonomicky nenáročné ukazatele kvality LDL částic.

Prof. MUDr. Jiří Ehrmann, CSc.: Jak se díváte na protektivní vliv alkoholu ve vztahu k ateroskleróze? U pacientů s alkoholickou jaterní steatózou bývají na rozdíl od FKH zvýšeny hodnoty triglyceridů i HDL cholesterolu. Má zde HDL ochranný význam? Když se alkoholik propije k HDL cholesterolu 2 mmol/l, zruší si tím negativní dopad vysokých triglyceridů?

Odpověď: Obecně se uznává postulát, že nízké dávky alkoholu jsou ateroprotektivní a vysoké dávky v tomto smyslu neúčinné. Při ohledání těla zesnulého alkoholika nicméně patologové zpravidla deklarují naprosto „čisté“ a průchodné cévy, což zpochybňuje otázku ateroprotektivní dávky alkoholu. Na druhé straně jsem před nedávnem četla, kterak recentní metaanalýzy Framinghamské studie odhalily, že po statistickém očištění potenciálních chyb statistika v rozporu s původním závěrem neprokázala signifikantní protiaterogenní potenciál alkoholu, byť užívaného jen v malých dávkách. Kromě toho si jedinec musí uvědomit, že každý člověk má jinou dávku alkoholu, která již způsobí jaterní cirhózu, což rozhodně není výhodnější onemocnění než ateroskleróza. Co se týče HDL cholesterolu, jeho zvýšení nad hodnoty 1,8 mmol/l neznamena již pro svého nositele přínos. Mění se tu pak zastoupení apolipoproteinů A1 a A2 na nevýhodnější a méně ateroprotektivnější, takže hodnota HDL cholesterolu přes 1,8 mmol/l, ať už zvýšená díky alkoholu nebo genetickou dispozicí apod., nemusí znamenat výhodu v souboji s aterosklerózou. Zvýšené hodnoty triacylglycerolů u alkoholiků přispívají spíše k rozvoji pankreatitidy než aterosklerózy.

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Zaujalo mě, že ve vaší práci bylo pouze 9 jedinců, kteří měli triglyceridy větší než 4,5 mmol/l. Jak si to vysvětlujete?

Odpověď: Je to dáno především vylučovacími kritérii. Jedním z nich bylo, že jedinci před odběry neužívali hypolipidemickou farmakoterapii minimálně 6 týdnů. Takovou léčbu jsme si ovšem nedovolili přerušit u pacientů s již manifestní aterosklerózou, tedy těch, kteří jsou v sekundární prevenci. Použili jsme je pouze jako probandy pro identifikaci rodiny s FKH, nicméně při nevysazené medikaci jejich výsledky statisticky zpracovány nebyly. Právě u nich lze očekávat, že by dosahovali vyšších hodnot triacylglycerolů než jejich příbuzní v primární prevenci.

Pozn. Prof. MUDr. H. Vaverkové, CSc.: Navíc pro FKH je typické, že jak cholesterol, tak i triacylglyceroly bývají zvýšeny jen mírně. Extrémních koncentrací triacylglycerolů se zde obvykle nedočkáme.

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Jaký je váš názor na měření CRP u jedinců s dyslipidemií?

Odpověď: Nemyslím si, že je třeba CRP měřit paušálně. Má smysl tam, kde váháme, jestli zvolit nižší či vyšší dávku léku, nebo zda už lék nasadit či ještě počkat. Studie prokázaly, že CRP, který odráží zánětlivou složku aterosklerózy, má smysl posuzovat v predikci kardiovaskulárního rizika pouze ve vztahu k lipidovému a lipoproteinovému spektru. Pokud bylo ve studiích CRP vyšší a lipidy nízké, hypolipidemická farmakoterapie nevedla k snížení výskytu kardiovaskulárních příhod. Měla však v tomto smyslu význam, pokud bylo zároveň zvýšené CRP i lipidy.

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Proč využívat jako pomocný ukazatel rizika právě CRP?

Odpověď: Možné je použít kterýkoliv z parametrů, jimiž jsem se ve své práci zabývala. Každý nám řekne něco trochu jiného a u některých (např. sVCAM-1 a sICAM-1) záleží na tom, pro jakou skupinu pacientů je použijeme. CRP se však stanovuje prakticky v každé biochemické laboratoři a ekonomicky je nejvýhodnější. Dnes už existují i jiné markery k posouzení zánětlivé složky aterosklerózy – např. fosfolipáza A2 asociovaná s lipoproteiny, která je vaskulárně specifická. Její stanovení je ovšem dosti drahé.

Doc. MUDr. Vladimír Soška, CSc.: Domníváte se, že by se měli upravit terapeutické cílové hodnoty lipidů a lipoproteinů pro členy rodin s FKH?

Odpověď: Na to by mohly nejlépe odpovědět budoucí mortalitní studie na rodinách s FKH. Je známo, že skórovací tabulky zde podceňují míru kardiovaskulárního rizika. Když jsou stanoveny přísnější terapeutické cílové hodnoty lipidů a lipoproteinů zvláště pro diabetiky, bylo by nasnadě zvážit zpřísnění těchto cílů i pro jedince s FKH.

Prof. MUDr. V. Ščudla, CSc.: Který výsledek předložené práce považujete za nejpřínosnější?

Odpověď: Jednoznačně vztah mezi koncentracemi triacylglycerolů a genotypem, resp. alelami pro polymorfismus apolipoproteinu A-V. Současná medicína směřuje k tomu, že diagnostika i léčba se často opírají o genetiku a průkaz uvedeného vztahu může představovat východisko pro vývoj nového terapeutického postupu.

V Olomouci, 7.4.2011

MUDr. Dagmar Jackuliaková