

Oponentský posudek disertační práce

Autor:

MUDr. Jan Hrubý

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Název práce:

Vliv nového kryokonzervačního protokolu na imunogenicitu a rejekci tepenných aloštěpů u potkanů

Formální stránka:

Disertační práce se zamýšlí nad problematikou rejekce u aloštěpů břišní aorty potkanů, které byly zpracovány v souladu s novým kryokonzervačním protokolem s pomalým rozmrazováním. V detailním zhodnocení pak konkrétně stavem rejekce těchto aloštěpů 30 dní po jejich transplantaci ve srovnání s aloštěpy zpracovanými podle protokolu konzervace chladem.

V konečné podobě má práce 117 stran textu rozděleného do 9 kapitol. Jedná se o úvod, cíle dizertační práce, materiál a metodika, výsledky, diskuse a závěr. Součástí dizertační práce je i seznam zkratk, tabulky, obrázky, vlastní publikační aktivita a přílohy. Nechybí ani shrnutí v anglickém jazyce, použitá literatura a poděkování spolupracovníkům.

Obsahová část:

Téma disertační práce je velice zajímavé a záslužné, protože léčba infekcí cévních protéz patří obvykle k velmi složitým postupům a zákrokům v cévní chirurgii a některé mohou být z tohoto důvodu prováděny pouze ve specializovaných centrech.

V úvodu se autor zabývá problematikou infekčních komplikací protetických náhrad břišní aorty u otevřených i endovaskulárních typů zákroků. Zdůrazňuje vysokou morbiditu i mortalitu pacientů, kteří jsou léčeni pro tuto komplikaci a zmiňuje i způsoby, strategii a techniku této léčby. Úvodem zdůrazňuje i zásadní problém při použití kryokonzervovaných tepenných aloštěpů, což je stupeň poškození stěny aloštěpu v důsledku kryokonzervace a vliv rejekce, které mají zásadní vliv na fungování transplantované cévy a mohou se negativně projevit jednak její trombózou nebo i fatálním krvácením v důsledku ruptury aloštěpu. V této úvodní části se dále autor zabývá experimentálními kryokonzervačními protokoly ve světě i

současným stavem použití tepenných štěpů v České republice a zmiňuje nový konzervační protokol v ČR.

Ve druhé kapitole autor stanovuje cíle dizertační práce a vyslovuje svoji hypotézu o nižších známkách rejekce v programu transplantace cévní štěpů s pomalým rozmrazováním ve srovnání s rejekcí štěpů konzervovaných pouze chladem. Nejobsáhlejší třetí kapitola představuje vlastní experimentální část, kde MUDr. Hrubý detailně popisuje vlastní experiment, včetně chirurgické techniky odběru štěpů břišní aorty, protokol kryokonzervace, uskladnění štěpů, protokol pomalého rozmrazování těchto vaskulárních kryoštěpů a samozřejmě i chirurgickou techniku vlastní transplantace štěpů břišní aorty. Nedílnou součástí práce je i pooperační péče příjemcovských zvířat, odběry krevních vzorků za účelem stanovení specifických protilátek u příjemců aloštěpů břišní aorty, vlastní chirurgická explantace těchto štěpů 30. den po transplantaci a histologické a imunohistochemické vyšetření explantovaných štěpů břišní aorty. Z krevních vzorků laboratorních zvířat v obou skupinách byly vyšetřovány donor specifické anti-MHC protilátky I. a II. třídy. Získaná data z experimentu byla statisticky zpracována ve spolupráci s Akademií věd ČR.

Z výsledků vyplývá, že kryokonzervované aloštěpy vykazovaly 30. den po transplantaci normální morfologii aortální stěny. Tunica intima nevykazovala na rozdíl od chladem konzervovaných aloštěpů žádné nebo minimální známky intimální hyperplázie a povrch byl kryt endotelem. Tunica media kryokonzervovaných aloštěpů pak nevykazovala na rozdíl od chladem konzervovaných známky nekróz s ukládáním imunoglobulinů G. Infiltrace adventicie u kryokonzervovaných aloštěpů buňkami CD4+, CD8+ byla 10x nižší ve srovnání s chladem konzervovanými aloštěpy. U kryokonzervovaných aloštěpů pak byly statisticky vyšší koncentrace jen u protilátek proti MHC antigenům I. třídy. U druhé skupiny pak byly zaznamenány statisticky vyšší koncentrace u obou tříd anti MHC protilátek.

MUDr. Hrubý ve své experimentální práci prokázal, že aloštěpy břišní aorty potkanů zpracované v režimu pomalého rozmrazování vykazovaly v průběhu prvního měsíce po transplantaci jen minimální známky akutní rejekce ve srovnání s kontrolní skupinou chladem konzervovaných aloštěpů. Dále tyto kryokonzervované aloštěpy vykazovaly výrazně nižší imunogenicitu ve srovnání se stejnou kontrolní skupinou.

Závěrečné hodnocení:

V disertační práci se podařilo autorovi potvrdit svoji hypotézu ohledně nižší rejekce u nového klinického kryokonzervačního protokolu s pomalým rozmrazováním, který je používán při transplantaci cévních štěpů v ČR ve srovnání s protokolem konzervace chladem. Jednoznačně lze tedy říci, že vlastní práce splnila sledovaný cíl a odpověděla na položené otázky. Tato práce přináší řadu nových poznatků, které bude možné použít v dalších výzkumných projektech v této specifické oblasti. MUDr. Hrubý ve své práci nejen prokázal znalost uvedené problematiky, ale i dostatečně prokázal schopnost zpracovat získaná data ve vědecké práci a není námitek ani ke zvoleným metodám zpracování. Student prokázal tvůrčí

schopnosti a práce splňuje požadavky na disertaci v daném oboru. Podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb. jednoznačně

doporučuji práci přijmout v předložené formě a na jejím základě udělit

MUDr. Janu Hrubému

titul Ph.D.

Připomínky k práci:

- Po formální stránce nepůsobí dobře chyba v nadpisu u autoreferátu (...prokol/protokol...)

Dotazy na autora:

- Jak se autor dívá na problematiku imunosuprese ve srovnání experiment a klinická praxe u cévních alograftů?
- Byla nějaká pooperační mortalita u laboratorních zvířat?

Prof. MUDr. Petr Štádler, Ph.D.
Primář Oddělení cévní chirurgie
Nemocnice Na Homolce
Roentgenova 2
15030 Praha 5

05	Nemocnice Na Homolce	ODBOŘENOST SF4
004	Cévní chirurgie - lůžková část	
560	prim. prof. MUDr. P. Štádler, Ph.D. Tel.: 257 272 542 150 30 Praha 5 - Roentgenova 2	

V Praze, 31.5. 2021