

POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

„Mechanismus vlivu hypoxie na fetoplacentární cévní řečiště“

Obor: Fysiologie a patofysiologie člověka

MUDr. Vít Jakoubek,
student doktorského studia, UK 2.LF Praha

Školitelské pracoviště: UK 2.LF v Praze, Ústav fyziologie

Školitel: Prof. RNDr. Václav Hampl, DrSc.

Tématické zaměření a aktuálnost řešeného tématu

Placenta jako součást tzv. „feto-placentární jednotky“ sehrává nezastupitelnou funkci výměny krevních plynů a lze tak o ní s určitou nadsázkou hovořit jako o „plicích plodu“. Nitroděložní hypoxie (akutní, chronická, resp. akutní hypoxie nasedající chronickou), způsobená poruchami fetoplacentární cirkulace, se považuje za jednu z hlavních příčin poruch vývoje plodu, promítajících se do perinatální morbidity a mortality. Navzdory tomu, že se jedná o problematiku klinicky známou, jsou dosavadní informace o mechanismech jimiž fetoplacentární cévy reagují na hypoxické inzulty nedostatečné. Proto je třeba každý nový, relevantní poznatek v této oblasti považovat za velmi cenný a to jak z pohledu badatelského, tak klinického.

Východiska, cíle a pracovní hypotézy

Práce se zabývá studiem mechanismů akutní hypoxické fetoplacentární vasokonstrikce (HFPV) a působení chronické hypoxie na fetoplacentární (FP) cévní řečiště.

Východícím předpokladem pro řešení stanovených cílů bylo, že podobně jako v plicních cévách, hypoxická inhibice K^+ kanálů (tj. depolarizace membrány cévního hladkého svalu) vede prostřednictvím napětově řízených Ca^{2+} kanálů k vasokonstrikci FP cév, resp. že chronická hypoxie ovlivňuje odpor a reaktivitu FP cévního řečiště.

Vlastním cílem práce bylo ověřit následující pracovní hypotézy:

1. zablokování Ca kanálů typu L lze zabránit HFPV v lidské placentě;
2. chronická hypoxie zvyšuje odpor a mění reaktivitu fetoplacentárního (FT) cévního řečiště laboratorního potkana.

Použité postupy a metody

a) *Vliv zablokování napětově řízených Ca kanálů na HFPV* byl studován na preparátech „dvojitě perfundovaného kotyledonu“ z placent po spontánních vaginálních porodech nebo po porodech elektivním císařským řezem donošených novorozenců. K inhibici napětových Ca^{2+} kanálů byl použit selektivní inhibitor nifedipinem ze skupiny dihydropyridinů.

Protokol pokusů odpovídal stanovenému záměru a zahrnoval hodnocení bazálního perfuzního tlaku, změn perfuzního tlaku po podání angiotensinu II (ANG II), resp. po hypoxických inzultech, hodnot pO_2 , pCO_2 a pH a změn perfuzního tlaku po podání nifedipinu nebo dimetylsulfoxidu (DMSO – kontrolní soubor).

b) *Vliv chronické hypoxie na reaktivitu fetoplacentárních cév* byl sledován na izolátech dvojitě perfundovaných placent samic laboratorních potkanů kmene Wistar a to ve dvou experimentech.

Posledních 7 dnů před porodem byly březí samice potkana umístěny v hypoxické normobarické komoře v prostředí s 10% koncentrací kyslíku. Den před porodem jim byl Thiopental v dávce 50 mg/kg i.p. K preparaci a přípravě izolátů byla použita metodika dle Štulce a spol.(1990). Kontroly strávily 7 dnů před porodem v normoxických podmínkách.

V prvním experimentu se hodnotily odporové vlastnosti placentárních cév měřením křivek závislosti průtoku na tlaku. Pro posouzení vlivu aktivní vasokonstrikce na posun křivek „průtok/tlak“ byl po prvním měření přidán do perfuzátu nitroprusid sodný.

Ve druhém experimentu se sledovala akutní vasokonstrikční aktivita vyvolaná třemi po sobě následujícími bolusy ANG II ve zvyšujících se dávkách, resp. dvěma 10 min. hypoxickými stimuly, mezi nimiž byla do perfuzátu podávána po dobu 15 min. normoxická směs plynů.

Protokoly obou dílčích experimentů odpovídaly potřebám řešení stanovených cílů.

Výsledky, které lze považovat za nové vědecké poznatky

Provedené experimenty přinesly následující, vesměs nové poznatky:

- a) *Hypoxická fetoplacentární vasokonstrikce v lidské placentě významně závisí na napěťově řízených Ca^{2+} kanálech typu L, které tak představují zásadní součást mechanismu jejího vzniku.*
 - Stěžejním průkazem byla selektivní inhibice těchto kanálů nifedipinem, kompletně blokující hypoxickou vasokonstrikci. Zjištění tak nesvědčí o významné úloze TRP kanálů (transient receptor potential) a kapacitního influxu kalcia při HFPV.
- b) *Chronická hypoxie zvyšuje odpor a reaktivitu zralých fetoplacentárních cév izolátů placent samic potkanů (jedná se o prioritní poznatek).*
 - Autor prokázal, že chronická hypoxie vede ke zvýšení fetoplacentární cévní rezistence, která odolává reoxygenaci a během normoxické perfuze nereaguje na vasodilatační účinek nitroprusidu sodného.
 - Novým poznatkem rovněž je, že chronická hypoxie zvyšuje vasokonstrikční reaktivitu fetoplacentárních cév potkana na angiotensin II, zejména pak na akutně nasedající hypoxii.

Kvalita formálního zpracování

Disertační práce má 43 stran, vč. seznamu 2 vlastních prací v časopisech s IF 3,23 a 3,97 a 2 abstrakt prezentujících získané výsledky a seznamu citované literatury (80 citací). Publikovaná sdělení jsou uvedena in extenso ve dvou závěrečných přílohách.

Úvod a literární přehled poskytují potřebné informace o problematice, kterou se práce zabývá. Ta má rozsah 19 stran, je členěna obvyklým způsobem, jasně formuluje vytčené cíle a pracovní hypotézy, metodiku a způsob hodnocení výsledků. Získané poznatky jsou komentovány věcně a jsou doloženy 3 obrázky (grafy) a 2 tabulkami, přibližujícími popisované výsledky.

Diskuse je vedena racionálně, autor přiměřenou formou porovnává vlastní výsledky s literárními poznatky a dokládá tak, že je schopen vést odbornou polemiku na patřičné úrovni.

Kvalita formálního zpracování splňuje požadavky kladené na disertační práci. Práce je uspořádána přehledně, orientace v textu snadná, obrazová a tabelární dokumentace názorná a rozsah citované literatury je dostatečný.

Přednosti a nedostatky

K přednostem práce bezesporu patří již samotné zvolení tématu disertace, jasná formulace východisek pro řešení stanovených cílů a přesné stanovení pracovních hypotéz, výstižný popis metodik přípravy preparátů z lidských placent a izolátů placent laboratorního potkana i předvedená diskuse k získaným výsledkům.

Závažně nedostatky práce nemá. Pokud bych měl vůbec mít nějaké připomínky, pak pouze několik málo jako např.:

- V textu jsme nenalezli informaci na kolika preparátech/izolátech byly experimenty provedeny;
- Pro úplnost si zasloužilo vysvětlit proč, kromě hypoxických stimulů, byl použit též angiotensin II;
- Na str.18, 3. řádek zdola - z uvedené věty není zcela jasné, co znamená „původní směs“;

- V protokolech se uvádí, že byly odebírány vzorky ke stanovování pO_2 , pCO_2 a pH, ale výsledky pCO_2 nejsou nikde komentovány. Asi nehrály důležitou roli, přesto by si to zasloužilo komentář alespoň jednou větou.
- Nenalezl jsem hodnotu pO_2 , definující dosažení hypoxického podnětu. Jen na závěr diskuse je zmínka, že hypoxický podnět představoval snížení pO_2 o 30%.

Dotazy

- 1) Mohou se i jiné typy K^+ kanálů podílet na ovlivňování reaktivity fetoplacentárních cév, resp. modifikovat jejich odpověď na vazokonstriktory nebo dilatátory?
- 2) Může se na změnách membránového potenciálu fetoplacentárních cév podílet také mechanický inzult (vysoký perfuzní tlak)?
- 3) Proč jsou odpovědi na akutní hypoxický stimulus u fetoplacentárních cév vystavených chronické hypoxii výrazně vyšší? Je to vždy jen pro hyperplázii (hypertrofie) muscularis fetoplacentárních cév?

Závěrečné zhodnocení

Autor disertační práce prokázal předpoklady pro samostatnou tvůrčí vědeckou práci. Získané poznatky jsou vesměs nové, rozšiřující poznání jak o mechanismech vzniku hypoxické fetoplacentární vazokonstrikce, tak o vlivu chronické hypoxie na reaktivitu fetoplacentárních cév. Nečetné, drobné a spíše formulační nedostatky nijak nesnižují vysokou kvalitu předložené disertační práce.

Na základě uvedených skutečností plně doporučuji, aby MUDr. Vít Jakoubek obhajoval předloženou disertační práci před odbornou komisí a získal tak titul Ph.D.

Doc. MUDr. Petr Zøban, CSc.

V Praze 28.7.2009