

Oponentský posudek kandidátské disertační práce

MUDr. Jan BURKERT

školitel: MUDr. Jaroslav ŠPATENKA, CSc., přednosta Transplantačního centra
Fakultní nemocnice v Motole, Praha 5

"Změna kvality povrchu alogenního chlopenního štěpu během zpracování – morfologické změny sledované skenovacím mikroskopem"

Práce se zabývá tématem, které je v kardiochirurgii diskutováno půl století. Velmi jsem proto oponenturu přivítal, i z toho důvodu, že jsem měl možnost se s použitím chlopenních alotransplantátů osobně seznámit během své práce v zahraničí (Velká Británie, Kanada). Práce je pro mne atraktivní především proto, že jsme jedním z pracovišť, které alotransplantáty využívá v rutinní klinické praxi u poměrně velkého počtu pacientů. Každá informace o kvalitě chlopenních štěpů, je důležitá pro klinické rozhodování, kdy a u kterého pacienta alograft použít. Pro mne osobně jsou závěry práce velkým přínosem, jelikož hodnotí chlopenní alografty zpracované podle protokolu Banky kardiovaskulární tkáně FN Motol Praha, které používáme na našem pracovišti (motolská banka je jediným dodavatelem tohoto materiálu v ČR).

Z pohledu chirurga vypadá tkáň těchto kryoprezervovaných štěpů po rozmražení velmi dobře zachovalá a i autorem prezentované střednědobé a dlouhodobé výsledky (nediskutované v této práci) odpovídají světovému standardu v této oblasti. To jsou zřejmě důvody, proč jsou tyto štěpy oblíbené i na řadě zahraničních pracovišť.

Práce mně především vyvedla z omylu v tom smyslu, že pro naše pracoviště nejsou relevantní dostupná zahraniční publikovaná sdělení o kvalitě tkáně chlopenních štěpů. Práce vysvětluje, že tyto údaje platí vždy právě jen pro konkrétní štěpy, pocházející z konkrétní banky, zpracované podle specifického protokolu konkrétního pracoviště. Proto mne mrzí, že se autor nemohl zabývat dalšími vlastnostmi – především viabilitou, morfologií i kvalitou pojiva a mechanickými vlastnostmi štěpů. Chápu ale, že takový projekt bez finančního zajištění grantem není možný.

Autor se školitelem si stanovili **jasné cíle:**

- Zjistit, jak se mění povrch chlopenních štěpů během získávání, zpracování a dlouhodobého uskladnění
- Navrhnout event. opatření, která by poškození povrchu zmírnila

Disertace je vytištěna na 92 stranách, text je jednoznačně formulován, dobrou češtinou. Je dokumentována kvalitními původními fotografiemi elektronmikroskopických a histologických preparátů, vlastními grafy i tabulkami. Pro hodnocení stupně poškození povrchu cípů semilunárních chlopní byl vypracován vlastní skórovací systém.

Komentář a připomínky:

Úvod, historický přehled a současná situace jsou výstižně shrnuty. Autor je v problematice kardiochirurgie s použitím homograftů plně orientován.

Soubor vyšetřovaných vzorků tkáně štěpů je dostatečně velký, jak v kontrolní skupině, tak ve skupině sledování změn během zpracování. Je třeba si uvědomit, že byly sice zpracovány lidské tkáně, které samy o sobě ze zákona komerční hodnotu nemají, ale mohly být zpracovány na 20 štěpů, které ale již podstatnou komerční hodnotu mají (cca 1 milion Kč).

Design studie je jasně popsán.

Morfologické metody (elektronová mikroskopie) jsou popsány přesně, vzhledem k tomu, že vlastní modifikace byla publikovaná v renomovaném časopise, nemám důvod pochybovat o správnosti volby, zejména když je použita metoda jednodušší a ekonomicky výhodná.

Výsledky jsou zpracovány a jasně prezentovány přehlednou formou (krásnými barevnými fotografiemi, tabulkami a grafy), byly standardně statisticky zpracovány.

Diskuze se zabývá všemi důležitými aspekty práce – od morfologických metod znázornění povrchu, přes problematiku nomenklatury, odběru a zpracování tkáně, problematiku viability homograftů, důležitosti zachování štěpů až po limitace studie, které si autor plně uvědomuje.

Závěry jsou formulovány stručně a jasně. Čeští kardiochirurgové nyní vědí, že implantují chlopní alografty bez endotelu a se známkami poškození i hlubších struktur, je narušena i struktura extracelulární matrix.

Lze předpokládat, že u nás není důležité při výběru dvojice dárce/příjemce respektovat krevní skupiny ABO systému, či dokonce HLA typizaci (která je u dárců uvedena v průvodce štěpu).

Jsou navržena další, konkrétní opatření, která by bezesporu vedla ke zvýšení kvality štěpů.

Jako představitel jednoho ze 3 českých pracovišť, která nabízejí dospělým a adolescentům Rossovu operaci mne zaujala další teoretická výhoda tohoto výkonu. Dr. Burkert v disertaci prokazuje, že pulmonální autograft má na rozdíl od alograftu zachován neporušený, nebo jen minimálně poškozený endotel. Je zdůrazněna důležitost uchování do implantace v chladné autologní krvi.

Literatura práce diskutuje 174 citací literatury, podle mého názoru byla vybrána většina zásadnějších prací, které databáze obsahují.

Doporučení: Doporučuji pokračovat dále ve výzkumu kvality tkáně homograftů. Je samozřejmé, že je to velmi obtížné bez adekvátního finančního krytí.

Dotazy:

- 1) Zajímala by mne vlastní zkušenost autora s homografty v klinice
- 2) Dále by mne zajímal názor autora na to, zda předpokládá, tkáňové inženýrství bude aplikovatelné na tkáně homograftů a nebo spíše věří ve vyvinutí nové generace štěpů osídlením umělého skafoldu?
- 3) Jaký je jeho vlastní názor na indikaci Rossovy operace

Závěr:

Předložená kandidátská disertační práce MUDr. Jana Burkerta se zabývá aktuální a prakticky významnou problematikou současné kardiochirurgie. Design experimentu byl dobře připraven, malá čísla nedovolila statistické zpracování, ale vzhledem k jednoznačným nálezům a tomu, že byl zkoumán lidský materiál, použitelný po

standardním zpracování v klinice, nepokládal bych ani větší sestavu za eticky oprávněnou.

Práce je přehledně zpracována a dostatečně dokumentována. Uvádí a dostatečně diskutuje všechny významné literární údaje, týkající se vlastního tématu práce.

Autor ukázal, že si umí vytknout aktuální cíl, zpracovat jej vědecky podloženými metodami a konfrontovat s literárními poznatky a názory. Vyhodnocení dospělo k překvapivým poznatkům s jasným praktickým klinickým dopadem.

Lze konstatovat, že kolega **předloženou dizertační prací jednoznačně prokázal předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a proto mu doporučuji udělit titul Ph.D.**

Praha 3. září 2009

MUDr. Štěpán ČERNÝ, CSc.
primář Kardiochirurgického oddělení
Nemocnice Na Homolce