

1. lékařská fakulta UK v Praze
děkanát – oddělení vědy
(k rukám pí Kadlecové)
Kateřinská 32
121 08 P r a h a 2

Oponentský posudek na dizertační práci Mgr. Hany Skarlandtové

V souladu s Vaším požadavkem ze dne 3. 7. 2014 zasílám posudek na doktorskou dizertaci Mgr. **Hany Skarlandtové** na téma **Stresová odpověď na srdeční katetrizaci**.

Práce splňuje veškeré formální požadavky kladené na písemná díla této kategorie. Včetně kopií nejdůležitějších publikací autorky má 109 stran, zahrnuje abstrakt v české i anglické verzi, literární přehled, cíle a hypotézy, metodiku pokusů, výsledky, diskuzi, závěr, použité zkratky a seznam použité literatury, ve kterém je citováno 101 vědeckých prací. Dizertace rovněž zahrnuje hlavní impaktované i neimpaktované práce Hany Skarlandtové vztahující se přímo nebo nepřímo k řešenému tématu.

Aktuálnost řešeného tématu

Jen stěží lze zpochybnit význam studií zabývajících se výzkumem kardiovaskulárního systému a využitím méně invazivních diagnosticko-terapeutických metod v humánní medicíně. Studie na prasatech s morfologií a fyziologií podobnou člověku jsou např. při experimentech s kmenovými buňkami nezastupitelné a je proto logické, že stresová odpověď na katetrizaci srdce může přinést řadu poznatků využitelných v medicíně člověka.

Pokud nelze experiment na živém zvířeti nahradit jiným způsobem, je nezbytné se důsledně řídit platnou legislativou a bezpodmínečně dodržovat welfare zvířat zařazených do klinické studie. Minimalizace stresové zátěže se tak stává nedílnou součástí „humanizace“ veterinární medicíny, ke které se pochopitelně hlásíme a plně ji podporujeme.

Literární úvod

Literární přehled shrnuje klíčové poznatky týkající se stresu, stresové reakce, stresové osy, charakteristikou glukokortikoidů, mechanismy jejich působení, způsoby regulace, ale také vlivu ustájení, transportu, operačního výkonu a anestezie na hladinu stresových hormonů u prasat domácích. Přehled odborné literatury lze považovat za poměrně komplexní, nicméně mezi recentními odkazy chybí publikace po roce 2010.

Cíle a hypotézy

Autorka si vytkla 7 cílů, které vycházely ze současných vědeckých poznatků, potřeb vědeckého pracoviště a čtyř hypotéz.

Použité metody

Použité metody byly podřízeny cílům vědecké práce. Do experimentu bylo zařazeno 25 jedinců prasete domácího samičího pohlaví a všechny experimenty byly v souladu se zákony a platnými nařízeními v České republice a Evropské unii za předchozího souhlasu etické komise.

Ve vzorcích krve odebraných před zahájením pokusu, po intubaci a úvodu do anestezie, po stimulaci nebo ablaci převodního systému a po ukončení pokusu byly ve čtyřech různých experimentech sledovány hodnoty kortizolu, kortizonu, dehydroepiandrosteronu (DHEA) a dehydroepiandrosteronsulfátu (DHEAS).

Výsledky a diskuze

Získané výsledky byly statisticky zpracovány, vyhodnoceny a v diskusi objektivně porovnány s poznatky jiných autorů.

K jednotlivým experimentům:

1. Stanovení diurnálního rytmu

V dobře designované studii se cirkadiánní rytmus s vyšší aktivitou v ranních a dopoledních hodinách nepodařilo prokázat. Naopak, medián hodnot kortizolu a kortizonu byl v odpoledních hodinách zpravidla vyšší než u experimentů prováděných dopoledne. Vcelku lze souhlasit se závěry autorky, která absenci diurnálního rytmu vysvětluje nízkým věkem prasníček a nevyzrálostí HPA osy, resp. názorem, že diurnální, resp. cirkadiánní rytmy mohou být ovlivněny stresem. Ačkoliv první odběry krve byly provedeny ještě ve stáji chovatele prasat, patrně se nepodařilo roli stresorů (manipulace se zvířaty, sociální nestabilita, hladovění, vlastní odběr krve aj.) úplně eliminovat, takže nelze spolehlivě stanovit, zda rozhodující roli hrál věk nebo stres. Závěr autorky, že načasování zákroků není s ohledem na dosažené výsledky limitujícím faktorem, má praktický význam a lze se s ním plně ztotožnit.

Pravidelný cirkadiánní rytmus se nám nepodařilo prokázat ani u dospělých služebních psů. Hodnoty kortizolu v průběhu 24 hodin výrazně kolísaly a dominantně závisely na denní aktivitě (KOLEVSKÁ, J., BRUNCLÍK, V., SVOBODA, M. 2003: Circadian rhythm of cortisol secretion in dogs of different daily activities. *Acta Vet. Brno*, 72: 599-605).

Značné interindividuální rozdíly také vcelku nepřekvapují. Z vlastní klinické praxe vím, jak různorodá a individuálně odlišná bývá stresová reakce u vyšetřovaných koček, které obvykle reagují výrazně i na mírné stresory.

2. a 3. Bazální hladiny stresových markerů a jejich dynamika během katetrizace

Ve srovnání s hodnotami před zákrokem došlo u všech stresových markerů k různě výraznému zvýšení, a to na různé úrovni statistické významnosti, což má svoji logiku a dalo se očekávat. Mimořádně zajímavá a prakticky využitelná je dynamika jednotlivých stresorů během katetrizace a těsně po zákroku. Výsledky naznačují, že rostoucí hodnoty kortizonu, DHEA a DHEAS ve třetím a čtvrtém odběru chrání pacienta před negativními účinky vysokých hladin kortizolu.

Nelze nesouhlasit s názorem uchazečky, ale i dalších autorů o pozitivním vlivu celkové anestezie na sekreci katecholaminů a glukokortikoidů a tím i zmírnění stresové reakce. Důležitý je pochopitelně i výběr a kombinace anestetik. V této souvislosti by mě zajímal názor autorky dizertační práce, zda a pokud ano, jak výrazně mohly být ve druhém odběru ovlivněny hladiny stresorů azaperonem (Stresnil a.u.v. inj., Janssen Pharmaceutica), který byl použit při úvodu do celkové anestezie? Jak vyplývá z názvu, za jednu z hlavních indikací výrobce uvádí „zvládnutí stresu“.

4. Poměr kortizol/kortizon

Medián poměru kortizolu ke kortizonu byl daleko nejvyšší v nestresových podmínkách a v dalších odběrech prudce klesal, což při pochopení reverzibilního vztahu mezi

„funkčním“ kortizolem a „zásobním“, resp. „pufrovacím“ kortizonem za nezbytné spoluúčasti enzymu 11 β -hydroxysteroid dehydrogenáza2 (11 β -HSD2) má své opodstatnění. Tyto údaje lze využít pro studium dynamiky, příp. stanovení stupně stresové zátěže, ke které během zákroku, byť miniinvazivního, nesporně dochází.

Formální zpracování

Práce je zpracována přehledně a prezentována pěknou češtinou. Přesto se autorka nevyhnula některým formálním nepřesnostem a překlepům, které sice nesnižují vědeckou úroveň díla, ale měly by být opraveny. Pro namátkou uvádím:

- v celém textu je třeba sjednotit přípony buď na *-ismus* nebo *-izmus*,
- s. 11 třetí odstavec *ciradiánní* x cirkadiánní,
- s. 12 poslední odstavec *ionotopní* x ionotropní,
- s. 19 a poté prakticky v celé práci používá autorka u většiny číselných údajů desetinnou tečku místo desetinné čárky, což je typický anglikanismus.

Z á v ě r

Uchazečka o vědeckou hodnost moderním způsobem chápe a definuje stres, a to včetně pozitiv, ale hlavně negativ, které z této komplexní reakce organismu vyplývají. Ve velmi dobře připravené studii provedené na reprezentativním vzorku zvířat stanovila, zpracovala a objektivně vyhodnotila roli stresorů během katetrizace srdce.


Hlavní přínos celé práce vidím v solidním zpracování dynamiky jednotlivých stresových hormonů v průběhu celého katetrizačního výkonu. Autorka v této oblasti přispěla k významnému obohacení poznatků, které jsou přímo využitelné v klinické experimentální medicíně.

V dizertační práci Mgr. Skarlandtové navíc oceňuji důraz na etické principy a důsledné dodržování welfare zvířat zařazených do experimentu. Jak totiž vyplývá z pozorování autorky i řady dalších odborníků, k výrazné stresové reakci může docházet i během miniinvazivních zákroků, takže minimalizaci bolesti a stresu musíme věnovat maximální pozornost.

Cíle práce vytčené autorkou považuji za splněné.

Dizertační práce Mgr. Hany Skarlandtové na téma Stresová odpověď na srdeční katetrizaci splňuje všechny předpoklady na publikace tohoto druhu a prokazuje předpoklady autorky k samostatně tvořivé práci a po úspěšné obhajobě k udělení titulu Ph.D.

V Brně dne 22. 8. 2014


Prof. MUDr. **Miroslav Svoboda**, CSc.
Fakulta veterinárního lékařství VFU
Palackého 1/3, 612 42 Brno 12

Příloha: - výtisk kandidátské dizertace