

Přednosta: MUDr. Tomáš Vymazal, Ph.D., MHA  
Vrchní sestra: Mgr. Taťána Maňasová  
tel: 22 443 5401, 5402 fax : 22 443 5420

Děkanát LF UK v Hradci Králové  
studijní oddělení  
k rukám paní Petry Malé  
Šimkova 870  
500 03 Hradec Králové

Praha, 13. 5. 2019

Oponentský posudek dizertační práce:

**MUDr. David Astapenko: Alterace glykokalyx v kritických stavech a během velkých operačních výkonů a možnosti jeho protekce**

Byl jsem pověřen (viz příloha) vypracováním posudku dizertační práce, kterou v rámci ukončení doktorského studia v programu Chirurgie na Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Hradci Králové předložil MUDr. David Astapenko. Byl mi předložen autoreferát i práce samotná. Autoreferát i dizertační práce splňují všechny požadované formální předpoklady. Práce je řádně svázaná, obsahuje 93 stránek vlastního textu, je doplněna seznamem používaných zkratk a rozsáhlé relevantní literatury. Je psána dobrou češtinou, s minimálními překlepy. Statistické hodnocení experimentálních výsledků používá přiměřené metody a je na vysoké úrovni.

Zvolené téma je vysoce aktuální. Téma glykokalyx a její existence, složení, funkce a chování za fyziologických i patologických okolností je základního významu. Zásadním způsobem ovlivňuje náš náhled na chování mikrocirkulace i rozdělení tělesných tekutin mezi intravaskulárním a intersticiálním prostorem ve zdraví i v nemoci. V naší odborné literatuře nebylo toto téma dosud podrobněji diskutováno a proto lze práci kolegy Astapenka oprávněně považovat za přelomovou a průkopnickou.

Samotná úvodní část dizertační práce je odborně vysoce hodnotná. Přehledně je popsán glykokalyx jako subcelulární struktura specifického biochemického složení. Na úrovni současného stavu poznání jsou popsány její fyzikální vlastnosti, fyziologická funkce a souvislosti s toho vyplývající. Je uvedena role endoteliální glykokalyx v patofyziologii mikrocirkulace. Závěrem úvodní části se autor zabývá metodami vizualizace a výzkumu endoteliální glykokalyx. Je popsán vývoj metod přímého zobrazení, kriticky

zhodnocen jejich přínos a možnosti využití. Pro sledování *in vivo* jsou daleko důležitější metody nepřímého zobrazení a z nich vyplývající hodnocení stavu endoteliální glykokalyx za různých podmínek. Při vlastní originální experimentální činnosti dr. Astapenko používal ortogonálně polarizovanou spektrální mikroskopii (OPS). Současné technologie využívají náročné automatizované výpočetní algoritmy a měří tak intravitálně - nepřímo - tloušťku vrstvy endoteliální glykokalyx (PBR – *perfused boundary region*). Jinou možností je hodnocení hladin z poškozené endoteliální glykokalyx v plasmě. Poškození zvyšuje plasmatickou hladinu některých proteoglykanů. Obě metody - ortogonálně polarizovanou spektrální mikroskopii (OPS) i sledování hladiny proteoglykanů v plasmě – byly dále v experimentální a klinické části práce využívány.

Autor jasně vymezil specifické cíle své dizertace: popsat endoteliální glykokalyx v experimentálních modelech a ve vybraných klinických stavech, identifikovat možnosti ochrany glykokalyx a kriticky zhodnotit přínos samotné metody PBR. Formuloval jasné pracovní hypotézy, které měly být potvrzeny či vyvráceny. Tyto hypotézy, stejně jako metodika studií, byly založeny na jasné představě o fungování glykokalyx a měly nepochybnou biologickou racionalitu.

Experimentální studie byly provedeny na prasatech a králících. Všechna pravidla příslušná pro experiment na zvířeti byla důsledně respektována. V pokusu na praseti nebyla potvrzena hypotéza, že náhlá zástava oběhu vyvolaná navozenou komorovou fibrilací vede k poškození glykokalyx. Hypotéza, že akutně vzniklá hypernatrémie u králíka vyvolaná podáním hypertonického roztoku NaCl poškozuje glykokalyx nebyla zcela potvrzena. Při sledování mikrocirkulace metodou OPS a měření PBR sublinguálně bylo sice zaznamenáno hraniční ztenčení glykokalyx, na obnažené pia mater to však pozorováno nebylo. Hladiny syndekanu v plasmě ovlivněny nebyly.

Klinické studie byly zaměřeny na chování glykokalyx v celé řadě situací, s nimiž se v praxi běžně setkáváme. I zde byla dodržena všechna příslušná regulatorní omezení a pravidla. U dobrovolníků se nepodařilo jasně prokázat, že nadměrně rychlá tekutinová resuscitace vede k poškození endoteliální glykokalyx. Jak sám badatel uvádí, důvod může být i v metodologii studie a hodnocení výsledků. Bylo potvrzeno, že endoteliální glykokalyx je méně narušena, pokud je při operativních náhradách velkých kloubů použita neuroaxiální blokáda. Parametr PBR byl vyšší při užití celkové anestézie. Hodnoty téhož parametru se u pacientů v intenzivní péči ukázaly vysoce variabilní. S ohledem na velikost a pestrost souboru nemocných i na použité léčebné intervence nelze činit zásadní závěry. Pozorování jsou však nepochybně cenná. Obdobně, nebylo prokázáno, že by v rámci nitrožilní výživy podaná tuková emulze poškozovala endoteliální glykokalyx. I zde tak zřejmě hrála roli velikost souboru nemocných a jejich pestré složení. Naopak bylo prokázáno, že porucha metabolismu lipidů koreluje s mírou poškození endoteliální glykokalyx a nabízí se i možnost potvrzení ochranného vlivu statinů u dyslipidémických pacientů. Observační studie u zdravých mladých dobrovolníků přinesla dosud nedostupná či neúplná data, použitelná v budoucích srovnávacích studiích.

Výsledky práce jasně naznačují, že každou terapeutickou intervenci je nutno hodnotit z pohledu jejího dopadu na mikrocirkulaci. Toto hodnocení nemůže být nikdy úplné, nezhodíme-li důsledky stonání i léčby na glykokalyx. V tom nepochybně spočívá přelomový a průkopnický význam předkládané dizertace.

Dle oponenta práce MUDr. Davida Astapenka **splňuje veškeré požadavky na dizertační práci** a je vhodná k obhajobě. Práce jednoznačně prokazuje předpoklady autora k samostatné vědecké práci a doporučuji udělení titulu Ph.D.

Oponent má jednu výhradu a jeden dotaz.

Není pravdou, že pravidla Evropské resuscitační rady doporučují u intubovaných sekvenci 30 kompresí hrudníku následovanou 2 vdechy (s. 39 dizertace). Při zajištění dýchacích cest tracheální rourkou se postupuje asynchronně a nepřerušovaně: cca 100-120 kompresí a 10 dechů za minutu nezávisle na kompresích (viz cit. 107, dále viz s. 20; Truhlář, A. (edit.): Doporučené postupy pro resuscitace ERC 2015: souhrn doporučení. Urgentní medicína 20, roč. 18, mimoř. vydání).

Opravňuje zjištění klinické studie u pacientů operovaných pro náhradu kyčelního nebo kolenního kloubu k formulaci závěru, že neuroaxiální anestézie poškozuje endoteliální glykokalyx méně než anestézie celková? Všichni pacienti prodělali velmi robustní operační výkon spojený s krevní ztrátou. Nebyla by přesnější formulace, že neuroaxiální blokáda tak představuje větší ochranu pacienta před stresem s výkonem souvisejícím než anestézie celková?

Prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA  
Em. přednosta KARIM 2. LF UK a FN Motol  
Přednosta Katedry KAIM IPVZ Praha

příloha