

## Oponentský posudek na dizertační práci MUDr. Petra Štádlera s názvem „Morfologická studie čerstvých cévních alogenních štěpů pro klinické využití“

Dizertační práce je psána na celkem 110 stranách textu a doplněna velmi kvalitní grafikou a obrazovou dokumentací. Je doložena jednak citacemi publikací autora, kterých je v daném směru cévní problematiky velký počet a citacemi zahraničních autorů, kterých je celkem 214 a většina z nich není starší 5-ti let. Práce se zabývá velmi aktuální problematikou náhrady tepen pomocí čerstvých cévních alograftů, zejména v oblasti cévních infekcí, které patří k nejtěžším stránkám v oblasti cévní chirurgie. Dizertační práce si klade za cíl vytvoření optimálního protokolu pro zpracování a uchování čerstvých cévních transplantátů s ohledem na délku studené ischemie. Dalším cílem práce je ověření experimentálních výsledků v klinické praxi a především stanovení přesných indikačních kritérií pro použití těchto štěpů v cévní chirurgii. Dalším cílem práce je vyhodnocení klinických výsledků a jejich porovnání s výstupy morfologické experimentální práce a zhodnocení významu využití těchto alograftů v oblasti cévní chirurgie.

Na počátku se autor široce zabývá historií a současností cévních náhrad, kde použití cévního alograftu je metodou „starou“, která byla použita v počátcích moderní cévní chirurgie, nicméně v době, kdy nebyla jasná antigenita cévního štěpu a otázky týkající se akutní a chronické rejekce. Autor se zabývá rovněž problematikou médií pro skladování alograftů a zabývá se otázkou tkáňových bank, v jejichž péči jsou tyto cévní štěpy. Autor diskutuje obecně otázky transplantačního programu, obecné otázky imunosupresiv, HLA systému a možnosti ovlivnění akutní a chronické rejekce. Zabývá se otázkami strukturálních změn cévních alograftů jak kryoprezervovaných, tak čerstvých a obecně konfrontuje výhody a nevýhody využití především kryograftů pro oblast cévní chirurgie. Z hlediska porovnání kryoprezervovaného a čerstvého alograftu má jednoznačné výhody využití čerstvého alograftu, jeho nevýhodou je nesnadné získání tohoto štěpu pro aktuálního pacienta a rovněž častá neshoda v oblasti AB0 systému. Výhodou tohoto alograftu je jeho krátkodobá i dlouhodobá dobrá funkce a nízká antigenita.

V další části dizertační práce autor popisuje zvolené metody zpracování materiálů a metodiku experimentální a v návaznosti pak klinické fáze. V experimentální části autor odebíral ve spolupráci s KST v Praze v rámci multiorgánových odběrů jak žilní (vena safena magna), tak tepenné (arteria femoralis) vzorky, které byly uloženy v hypotermních podmínkách po dobu 1 – 30 dnů v nutričním médiu E-199 a Custodiolu suplementovaných antibiotiky. Celkem autor vyšetřil 48 vzorků lidské tepny a žíly a ve spolupráci s Anatomickým ústavem Lékařské fakulty UK v Hradci Králové byly jednotlivé štěpy histologicky vyšetřeny v přesně stanovených intervalech konzervace pohybující se od 12 hodin do 30 dní. Na základě histologického vyšetření autor uzavírá tuto experimentální část tím, že po určitém časovém intervalu dochází k morfologickým přesně definovaným změnám v cévní tkáni a dochází k postupné ztrátě endotelů a obnažování lamina elastica interna. Po 30 dnech pak je celý proces zakončen kompletní denudací endotelové vrstvy a úplným obnažením povrchu lamina elastica interna. U některých štěpů dokonce dochází i k devastaci lamina elastica interna. Autor zdůrazňuje na základě morfologického hodnocení, že nejvýhodnější využití štěpů je v době co nejkratší od jejich odběru a štěpy nejsou optimálně chráněny ani současnými konzervačními roztoky E-199 společně s Custodiolem. Autor sumarizuje, že tepny uchovávané v obou sledovaných roztocích za standardních podmínek jsou bezpečně použitelné asi do 10. dne od odběru, zatímco žíly pouze do týdne po odběru. Tím se práce rozchází s některými zahraničními autory, kteří uvádějí možnost i několikaměsíčního skladování žilních štěpů za standardních podmínek v heparinovaném roztoku s antibiotiky. Tato experimentální část je doložena dokonalými histologickými obrázky, které dokumentují změnu cévního štěpu v závislosti na době prezervace.

V klinické části pak autor na svém pracovišti použil cévní aloštěp celkem ve 28 případech v období zhruba 6 let a tyto cévní štěpy byly využívány jak ve vysokoprůtokové aortoiliacké oblasti, tak nízkoprůtokové periferní oblasti, zejména v oblasti infekcí cévních protéz. Autor uvádí velmi dobré výsledky čerstvých tepenných alograftů i při nedodržení striktní ABO kompatibility, kde primární průchodnost byla v 76 %, sekundární v 64 % a dvouletá záchrana končetiny pak v 82 %. Tyto výsledky jsou podstatně lepší než při použití moderních PTF protéz. Opět autor zdůrazňuje využití čerstvých tepenných alograftů, které nejsou starší 30 dní. Autor nedoporučuje využití lyofilizované velké safény zejména proto, že tyto štěpy velmi záhy podléhají poměrně významným fibrózním změnám a těžké intimální hyperplazii a velmi záhy trombotizují, a proto lyofilizované žilní alografty nepovažuje autor za vhodnou alternativu ani pro pacienty s kritickou končetinovou ischemií. Lepší výsledky pak autor uvádí při využití denaturovaných velkých safén.

Autor se dále zabývá možností využití kryoprezervovaných žilních štěpů především v oblastech pokusů o záchranu končetiny tam, kde není jiný vhodný materiál a doporučuje zlepšit průchodnost štěpu použitím kombinace aspirinu, dipyrimadolu a warfarinu. Tak lze zlepšit dvouletou primární průchodnost, která se uvádí za těchto podmínek kolem 80 % a dvouletou záchranu končetiny, která je rovněž kolem 80 %. Autor dále popisuje využití kryoprezervovaných arteriálních alograftů, které mohou být jistou alternativou tam, kde není vhodná vlastní velká saféna, a to zvláště u pacientů, kteří mají limitovanou životní prognózu. Je to z toho důvodu, že i přes dobré časté výsledky lze očekávat podstatně horší dlouhodobou průchodnost a komplikace v rámci aneuryzmatických dilatací než je tomu u čerstvých arteriálních alograftů.

Závěry své práce pak autor formuluje v samostatné kapitole do 3 základních bodů.

1. V první fázi projektu byl vytvořen optimální protokol pro zpracování a uchování čerstvých cévních transplantátů s ohledem na délku studené ischemie.
2. Ve druhé fázi pak bylo provedeno ověření experimentálních výsledků v klinické praxi a byla stanovena indikační kritéria pro použití těchto štěpů v cévní chirurgii.
3. Ve třetí fázi pak byly zhodnoceny klinické závěry v závislosti na klinickém experimentu. Výsledky jak z hlediska krátkodobé, pak i střednědobé funkce jsou funkce alograftu velmi povzbudivé z hlediska morbidity (amputace končetin a mortality nemocných).

Práce MUDr. Petra Štádlera přinesla celou řadu zásadních poznatků o využití tepenných cévních alogenních štěpů v klinické praxi s důrazem na použití čerstvých cévních štěpů. Jednoznačně splnila vytýčené cíle.

K práci mám jen několik připomínek:

Obsah práce by měl být přehledněji formulován s uvedením především stránek jednotlivých kapitol. Kapitola Transplantace by měla být spíše pojata z hlediska tkáňových nikoli orgánových transplantací a není nutné se šířeji zabývat obecními principy transplantační medicíny, které jsou všeobecně známé. Doporučoval bych doplnit obecnou kapitolu o imunosupresiva, kde autor uvádí a popisuje využití azathioprinu, který dnes již v transplantační medicíně se nepoužívá, ale tato kapitola by měla být doplněna o některé novější nebo nová imunosupresiva, jako je mykofenolátmofetyl nebo protilátky proti receptoru interleukinu 2 a jiné. Nicméně se jedná o drobné poznámky k velmi pěkné práci a jistě neovlivňují tyto poznámky celkové hodnocení práce.

K autoru mám následující otázky:

1. Na stránce 34 je uveden čas teplé ischemie u nebijího dárce do 6 hodin. Má otázka zní: Z jakých podkladů autor použil tento čas teplé ischemie, zda platí pro tkáňové odběry či obecně pro orgánové odběry pro transplantační účely.
2. Je nějaký klinický nebo experimentální podklad pro přesné dávkování imunosupresív, - mám tím na mysli nízké dávkování cyklosporinu 2 x 25 – 50 mg často při neměřitelných sérových hladinách cyklosporinu z hlediska rejekce cévního štěpu ať již akutní nebo chronické.
3. Sleduje se v současné literatuře vliv i jiných imunosupresív než cyklosporinu A, konkrétně mykofenolátmofetylů nebo FK 506 na dlouhodobou funkci štěpu z hlediska především trombózy štěpu, která nepochybně vzniká i na podkladě chronické rejekce.
4. Autor popisuje použití dystripovaných denaturovaných velkých safén, které byly bez známek varikózního postižení použity jako náhradní materiál v oblasti cévních infekcí. Chci se zeptat, jaká byla indikace ke stripingu velkých safén, které byly bez varikózní dilatace.

**Dizertační práci MUDr. Petra Štádlera hodnotím, velmi pozitivně a doporučuji, aby po úspěšné obhajobě byla doktorandu přiznána vědecká hodnost Ph.D.**

V Plzni dne 9.7.2007

Prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.  
přednosta Chirurgické kliniky FN a LF UK v Plzni