



Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Oponentský posudek

na disertační práci MUDr. Jiřího Malého

Název práce:

Vliv pozdních důsledků perinatální hypoxie a pleiotropních účinků statinů na akutní ischemicko/reperfúzní poškození myokardu

Pracoviště:

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta

Školitelé:

Prof. MUDr. Jan Pirk, DrSc. a Prof. MUDr. Bohuslav Ošťádal, DrSc.

Školitel konzultant:

Ondřej Szarszoi, Ph.D.

Aktuálnost zvoleného tématu

Tématem disertační práce vyhodnocení průběhu a následků ischemického poškození myokardu v experimentu na zvířeti s cílem odpovědět na otázky: 1. Může neonatální ischemie ovlivnit průběh resp. odolnost dospělého myokardu k akutní ischemie a 2. Je jednorázové a nebo podání statinů (léků snižujících hladinu celkového cholesterolu) schopno zvýšit odolnost myokardu na ischemické poškození.

Zvolené téma je aktuální z několika důvodů:

1. Model experimentálního navození perinatální hypoxie a následně vznik infarktu myokardu v dospělém věku (zde provedený na srdci laboratorního potkana) má svoji analogii u pacientů, kteří perinatálně trpěli hypoxií (vrozené cyanotické srdeční vady), kteří vzhledem k pokrokům v terapii těchto onemocnění se dožívají vyššího věku a jsou potenciálními pacienty s infarktem myokardu.
2. Statiny patří v terapii kardiovaskulárních onemocnění k nejčastěji používaným preparátům. Jejich základním účinkem je působení na hladinu krevních lipidů, které vedou ke stabilizaci atherosklerotických plátů. Jejich podání u akutních koronárních syndromů vede u velmi rychlé stabilizaci původně nestabilního plátu a následně ke zlepšení prognózy těchto pacientů. Podávání statinů je spojeno také s ostatními



Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

účinky, které jsou označovány jako pleiotropní, jsou pravděpodobně komplexní povahy, většina těchto efektů není uspokojivě objasněna. Některá dosavadní pozorování by mohla naznačovat, že by statiny mohly ovlivnit i průběh ischemicko-reperfúzního procesu. Zde navržený experimentální model sledování efektu akutního či chronického podání statinů na ischemicko-reperfúzní procesy by mohl přinést do této diskuze užitečná data.

Použité metody a postupy

Cíle práce byly definovány jasně a reálně (1. Ovlivní neonatální ischemie odolnost dospělého myokardu k ischemii, 2. Může akutní či chronické podávání statinů ovlivnit odolnost srdce laboratorního potkana k ischemii).

Práce byla provedena na souborech laboratorních potkanů (samci a samice laboratorního potkana kmene Wistar), zvířata byla chována za standardních laboratorních podmínek. Všechny pokusy s nimi byly schváleny etickou komisí Fyziologického ústavu AV ČR v souladu s odpovídajícími pravidly (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals).

Metody použité při řešení úkolů obou projektů byly voleny odpovědně (chronická hypoxie v hypoxické komoře). Pro studium změn nastávajících při akutním koronárním syndromu (zde navozeno ligací ramus interventricularis anterior na koronárním řečišti potkana) byly použity 2 modely: *in vivo* model anestetizovaného arteficiálně ventilovaného potkana a *in vitro* model izolovaného perfundovaného srdce podle Langendorffa).

Stanovení velikosti ischemického poškození bylo provedeno na řezech myokardu levé komory srdeční planimetricky a dále s využitím relativních stanovení (velikosti infarktu vztáženého na ohroženou oblast, dále na celou levou komoru a velikosti ohrožené oblasti na levou komoru).

Kontraktilní funkce myokardu a jejich reparace byly hodnoceny na modelu izolovaného perfundovaného srdce. Hodnocenými parametry byly hodnoty systolického a diastolického tlaku, tlaku vyvinutého levou komorou, maximální rychlostí kontrakce (dp/dt), další veličinou bylo hodnocení koronárního průtoků krve.

Ischemie myokardu byla vyvolána podvazem ramus interventricularis anterior. Elektrokardiografické záznamy byly získány z epikardiálně umístěných platinových elektrod připevněných na bázi pravé komory a na hrot srdeční.

Pro hodnocení vlivu statinů na reparaci kontraktility byl využit simvastatin. Pro hodnocení vlivu statinů na velikost infarktového ložiska byl podáván atorvastatin.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno odpovídajícími metodami.

Výsledky práce

Autor dospěl k cenným výsledkům, které obohacují znalosti o patofyziologii onemocnění a mají potenciál využití v klinické praxi.



1. Perinatální hypoxie vedla ve skupině samců k významně vyššímu výskytu arytmií všech sledovaných typů. Vliv perinatální hypobarické hypoxie nevedl k rozdílům ve velikosti infarktu myokardu.
2. Akutní podání statinu *in vivo* významně významně snížilo ve sledovaném souboru rozsah infarktového ložiska ve vztahu k velikosti levé komory srdeční (při vyjádření velikosti infarktového ložiska k ohrožené oblasti nebyl rozdíl významný). Dále akutní podání statinů *in vitro* zlepšilo kontraktilní funkci s porovnání s kontrolní skupinou.

Práce ukazuje na možné pozdní důsledky vlivu perinatální hypoxie a vlivu statinů. Z mého pohledu velmi významným výsledkem je pozorování odlišného průběhu některých jevů (výskyt arytmií, aj.) ve vztahu k pohlaví. Ve světle dalších údajů a pozorování jiných autorů se ukazuje, že se pohlavní rozdíly mohou významně promítat do patogeneze onemocnění kardiovaskulárního systému.

Experimentální část byla provedena velmi dobře a cíleně vzhledem ke vytyčeným cílům. Práce odráží vysokou kvalitu experimentálního pracoviště školitelů.

Celkově lze říci, že stanovené cíle se podařilo velmi úspěšně realizovat.

Kvalita formálního zpracování práce

Disertační práce sestává z 87 stran vlastního textu, ke kterým jsou přiloženy fotokopie 3 klíčových prací publikovaných in extenzo v časopisech s IF, kde je disertant jejich spoluautorem.

Textová část má obvyklé členění, tj. úvod, cíle a hypotézy, metodika, výsledky, diskuse, závěry, literatura. Práce je dokumentována 7 tabulkami, 9 grafy a 5 obrázky.

Po formální stránce má disertační práce veškeré náležitosti. Její členění je účelné, text je vhodně doplněn tabulkami, grafy a obrázky.

Po formální stránce mám připomínky jen drobnějšího charakteru (některé překlepy, drobnější chyba v označení záhlaví 4. a 5. sloupce tabulky číslo 7). Pro zlepšení přehlednosti by bylo vhodné sjednotit zaokrouhlování desetinných čísel v tabulkách na stejný počet míst. Dále bych doporučoval jednoznačné používání zkratk (označení LVDP vs. LVDevP) a volit odpovídající česká označení – předčasné komorové stahy – „singly“. Tyto připomínky jsou spíše formálního a drobného charakteru a nemění nic na významu práce disertanta.

Význam práce pro další rozvoj oboru fyziologie a patofyziologie člověka a možnosti aplikace výsledků do praxe

Na základě dosažených výsledků disertant a jeho skupina přinesli nové poznatky o patofyziologii ischemicko reperfučního procesu studovaného v experimentu na zvířeti ve dvou oblastech:



1. Jsou uvedeny nové poznatky o vlivu perinatální hypoxie na průběh ischemicko-reperfúzního procesu dospělého myokardu potkana. Tato experimentálně navozená situace je analogií nemocných s vrozenými cyanotickými vadami, kteří se nyní dožívají po chirurgických korekcích dospělého věku a zákonitě jsou podobně jako ostatní populace ohroženi vznikem akutních koronárních syndromů. Z tohoto pohledu jde o oblast, kde doposud nebylo provedeno dostatečné množství studií a experimentů a disertantem uvedené poznatky jsou velmi cenné pro klinickou praxi.
2. Disertant upozorňuje na odlišný průběh ischemie a reperfúze v závislosti na pohlaví vyšetřovaných jedinců. Podobně i jiní autoři ve světovém písemnictví otevírají otázku vlivu pohlaví na patogenetické děje provázející onemocnění kardiovaskulárního systému v širších souvislostech.

Otázky pro disertanta:

1. Hodnocení výsledného rozsahu infarktu myokardu bylo provedeno s využitím morfologických metod (vyšetření řezů), funkční vyšetření byla provedena s využitím výše uvedeného modelu a měřením výše uvedených veličin. Tyto metody hodnocení jsou zvoleny naprosto dobře. Jaký má autor názor na použití některých myokardiálních markerů změn struktury a funkce myokardu (troponiny, LDH, popřípadě další). Jaká vidí jejich omezení v dané studii.
2. Otázka pro všechny disertanty, jaký byl osobní podíl disertanta na realizaci takto rozsáhlého výzkumného projektu?

Závěr:

Pracovat na oponentuře disertační práce MUDr. Jiřího Malého bylo pro mne jako klinika velice zajímavé. Vysoce oceňuji provedení experimentální práce s využitím morfologických i exaktních hemodynamických metod k zodpovězení vytyčených otázek. Jde o práci, která přinesla poznatky obohacující obor a mající potenciál přenosu do klinické praxe.

Autor prokázal, že má předpoklady k samostatné vědecké praxi a proto doporučuji po úspěšné obhajobě udělení titulu Ph.D. podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Doc. MUDr. Radek Pudíl, Ph.D.

1. interní klinika

Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové

Sokolská 581

Hradec Králové

500 05