

Vážený pan  
Prof. MUDr., RNDr. Miroslav Červinka, CSc.  
děkan LF UK v Hradci Králové  
Šimkova 870  
500 38 Hradec Králové

Olomouc, 28. července 2011

Oponentský posudek k disertační práci MUDr. Tomáše  
Pantoflíčka na téma: " Použití hepatocytů v léčbě akutního jaterního  
selhání v experimentu-na velkém laboratorním zvířeti"

Dopisem děkana LF UK v Hradci Králové, pana prof. MUDr., RNDr. Miroslava Červinky, CSc., ze dne 15.6.2011 jsem byl požádán o oponenturu disertační práce MUDr. Tomáše Pantoflíčka, na téma : "Použití hepatocytů v léčbě akutního jaterního selhání v experimentu-na velkém laboratorním zvířeti". Oponenturu jsem přijal a vypracoval následující posudek:

Předložená práce má 89 stran textu, z čehož 12 stran zaujímá literatura se 128 citacemi. Práce je členěna do 13 kapitol, které logicky navazují na sebe. Je napsána srozumitelnou češtinou, dobře se čte a je v ní jen minimum překlepů, z nichž zmiňuji jen jediný na str. 16 uprostřed (shoda podmětu s přísudkem: experimenty se prováděli), a který je jistě pouhým přehlédnutím a snad i dokladem mého pozorného čtení.

V páté kapitole předkládá autor hlavní cíl práce, což je zhodnocení účinku biologické eliminační metody-perfuzí plazmy přes izolované živé hepatocyty- u akutního selhání jater v experimentu na praseti. Jedná se o velmi závažné téma, společensky důležité, které v dnešní době rozvoje transplantační chirurgie jater hraje zásadní roli. Přitom tato problematika není zdaleka vyřešena. V kapitole č. 6 podává autor obširný výklad základní problematiky léčby akutního selhání jater a srozumitelnou formou seznamuje čtenáře s jednotlivými způsoby léčby po technické stránce. Zabývá se podrobněji BAL systémy, kdy je perfundována plazma přes izolované živé hepatocyty, což je způsob, který umožňuje nejen detoxikaci, ale i uvolnění některých látek do oběhu léčeného organismu. Tuto problematiku probírá autor i po technické stránce a popisuje konstrukci bioreaktoru,

včetně uvedení podrobných schémat. Tato kapitola obsahuje také popis modelů akutního jaterního selhání a cestu jak jich dosáhnout. Zpracování této kapitoly je velmi přehledné a usnadňuje čtenáři rychlé proniknutí do problematiky celé práce. Předložená schémata a vyobrazení jen dokreslují pečlivost zpracování. Správně je u těchto schémat vždy uveden zdroj. V kapitole 7 "Metodika" zdůvodňuje autor své rozhodnutí pro chirurgický model akutního jaterního selhání na podkladě devaskularizace, t.j. podvazu a. hepatica propria a portokavální spojky end to side. Je zde zahrnuta i samotná izolace hepatocytů a pooperační péče a monitorace experimentálního zvířete. Také tato kapitola je bohatě obrazově vybavena. Právě proto bych zde ale očekával (a doporučoval pro případné další edice práce) také vyobrazení samotné portokavální spojky, případně fáze z její konstrukce, a ne pouze normálního (anatomického) stavu před ní (obr.12). Tato spojka je stěžejním výkonem pro celou práci, a proto si zaslouží maximální pozornost, a to nejen ohledně její konstrukce, ale domnívám se, že i včetně kontroly její funkce. Tato okolnost bude dále předmětem otázky na autora práce. V osmé kapitole "Materiál" autor popisuje podmínky, za jakých experiment probíhal. Jedná se především o skupiny zvířat, které představují modely akutního selhání jater a dále o vytvoření metodiky izolace hepatocytů. V této kapitole autor velmi stručně a také přehledně sestavuje skupiny zvířat za účelem experimentu a uvádí zde také, hned na začátku, výsledky vlastní práce (operační) se zvířaty. Z 27 miniprasat uhynulo celkem 7 zvířat. To je poměrně značné procento. Tím navazuji na připomínku z předchozí kapitoly, a sice na kontrolu portokavální spojky. Myslím, že portokavální spojka není jednoduchým výkonem (a uhynutí 26% experimentálních zvířat to dokazuje), a proto bližší údaje o stavu spojky (včetně pitvy zvířete) by zřejmě byly vhodné, i když vlastní devaskularizace jater by případnými poruchami spojky (trombóza) zřejmě nebyla dotčena. Kapitola devátá "Výsledky" je pochopitelně stěžejní kapitolou celé práce, je velmi podrobná a dobře graficky zpracovaná. Přehledné a srozumitelné jsou i statistické údaje. Konečně v 10. a 11. kapitole "Diskuse" a "Závěr" autor shrnuje své výsledky, které se celkem daly předpokládat, až na hodnoty amoniaku a ICP, což je dále předmětem otázky.

Celkový dojem z práce je velice dobrý. Připomínky uvedené výše nejsou v žádném případě výhradami. Jedná se o pouhé poznámky oponenta, které na význam a hodnotu práce nemají přímý vliv, nicméně domnívám se, že by pozitivní reakcí na ně, tato výborná disertace získala ještě více na své přesvědčivosti. Práce má obrovský společenský dosah, zejména v dnešní době rozvoje transplantací jater, kdy by úspěšný rozvoj zkoumané metody značně přispěl k bezpečnosti celého transplantačního procesu.

Na autora mám následující otázky:

1. V "Závěru" autor uvádí, že devaskularizační model akutního selhání jater použil v jiné studii testování arteficiální podpory jater a to v systému Prométheus (FPSA). Může autor na základě svých zkušeností s oběma metodami (FPSA a BAL) velmi jednoduše a krátce posoudit přednosti a nedostatky obou způsobů?
2. Autor v "Diskusi" předkládá důvody (na str. 71) proč se nepodařilo v jejich sestavě dosáhnout literárně uváděného zlepšení většiny laboratorních hodnot. U amoniaku a ICP je tato "nereakce" na BAL zvláště nápadná. Autor předpokládá, že jednou z možností jak blíže vysvětlit tento stav, je změnit ireversibilitu modelu a to na model resekcční. Zároveň uvádí, že na tomto modelu již pracuje. Má v současnosti autor již k dispozici takové výsledky, které by tento předpoklad potvrdily?

3. Autor na str. 47 uvádí, že 7 zvířat z celkového počtu 27 uhynulo při úvodu do anestezie, či v důsledku krevní ztráty (to je značné procento - 26%). Bližší údaje (pitva zvířete) uvedeny nejsou, jakož i údaje o stavu spojky během experimentu (např. doplerometrická kontrola). Asi by toto sledování nic neměnilo na experimentu, vlastní devaskularizace jater by zřejmě ani poruchami spojky nebyla v podstatě dotčena, nicméně celkový stav zvířete by asi ovlivněn byl, i když experiment trval celkem krátce. Stav zvířete byl sice po stránce hemodynamiky sledován velmi podrobně (kap. 7.4), přesto by možná stálo za to, v dalších experimentech, tuto připomínku vzít do úvahy a sledovat současně přímý stav spojky, vedle obecných hemodynamických hodnot. Souhlasí autor s tímto názorem?

Závěrečné vyjádření:

- ke zvolenému tématu: ***téma je aktuální, společensky velice významné a žádoucí, neboť vyřešení všech otázek kolem náhrady jater by výrazně zvýšilo bezpečnost transplantací jater***
- ke zvoleným metodám zpracování: ***v práci byl hodnocen účinek biologické eliminační metody-perfuzí plazmy přes izolované živé hepatocyty- u akutního selhání jater a to na zvířeti. K modelu akutního selhání jater bylo možno zvolit v zásadě dvě metody: metodu devaskularizační a resekční. Autor v této práci zvolil metodu devaskularizační. Volba byla správná a práce ukázala její opodstatněnost.***
- k výsledkům disertační práce s uvedením jaké nové poznatky přinesla: ***výsledky ukázaly schůdnost cesty v rekonstrukci BAL systémů a jejich použití při akutním jaterním selhání. Jistou neúčinnost posuzovaného systému (nebylo dosaženo některých laboratorních hodnot při detoxikaci) autor rozebírá v diskusi a navrhuje i řešení***
- zda disertační práce splnila sledovaný cíl: ***ano, práce splnila sledovaný cíl a odpověděla na otázky, které si autor položil na začátku této práce***

Výše uvedeným konstatováním dokládám, že předložená disertace splňuje podmínky stanovené v § 47 VŠ zákona 111/98 Sb. a navrhuji komisi, aby MUDr. Tomáš Pantoflíček byl připuštěn k obhajobě vědecké hodnosti Ph.D., a aby mu tato hodnost byla udělena.

Prof. MUDr. Vladimír Král, CSc.

I. chirurgická klinika LF UP a FN v Olomouci