

Oponentský posudek na dizertační práci MUDr. Tomáše Pantoflíčka s názvem „Použití hepatocytů v léčbě akutního jaterního selhání v experimentu – na velkém laboratorním zvířeti“

Předkládaná dizertační práce je psána spisovnou přehlednou češtinou na 89 stranách textu a je doplněna precizně vytvořenými tabulkami a grafy. V úvodu práce jsou uvedeny veškeré zkratky, které používá autor v práci a na konci práce je citováno celkem 128 citací, z nichž většina jsou citace, které nejsou více jak 5 let staré.

Práce je smysluplně členěna, kdy v úvodu autor seznamuje čtenáře s teoretickými podklady, které ho vedly k sepsání této velmi zajímavé experimentální práce. Autor se zabýval možností řešení akutního selhání jater především pomocí tzv. překlenovací (bridging) metody z chirurgického hlediska před tzv. urgentní transplantací jater v době, kdy není dostupný jaterní štěp. Akutním jaterním selháním se zabývala a zabývá celá řada jiných autorů a využívají k tomu různé modely počínaje již známými eliminačními metodami, tzv. nebiologickými metodami, kde je v současné době dominuje především přístroj Prometheus. Druhou oblastí jsou tzv. bioeliminační metody léčby jaterního selhání, které využívají hepatocytů ve speciálních kapslích, které jsou promývány plazmou tzv. BAL systémy (Bioartificial Liver Device). Autor si vybral ve své experimentální práci právě tento BAL systém k využití prasečích hepatocytů.

Metodická část dizertační práce je dobře popsána a autoři popisují metodu akutního selhání jater, které bylo vytvořené modelově na malém praseti pomocí chirurgických metod. Pro vlastní použití hepatocytů využili autologní hepatocyty zvířete, kdy pomocí speciálních postupů izolovali jaterní buňky, jejichž viabilitu hodnotili mikroskopicky po obarvení tripanovou modří a suspenzi hepatocytů naplnili kapsli bioreaktorů, která byla posléze využita k léčbě experimentálně vyvolaného akutního selhání jater. Autoři poté sledovali celou řadu experimentálních a laboratorních faktorů k ozřejmění účinnosti funkce této bioreaktivní kapsle. Zvířata byla rozdělena celkem do třech skupin. První skupina o počtu 10 miniprasat byla skupinou s arteficiálním vytvořením akutního selhání jater, druhá skupina pak obsahovala celkem 5 miniprasat, které sloužili k monitoraci intrakraniálního tlaku při akutním selhání jater a třetí skupina byla skupinou kontrolní bez vyvolání akutního jaterního selhání.

Na základě proběhlého experimentu se autoru podařilo vytvořit funkční plně reprodukovatelný a klinicky relevantní model akutního jaterního selhání na minipraseti s tím, že tento model je možné použít pro studii testování arteficiální podpory jater při jakémkoliv jaterním selhání. Autoři vytvořili a ověřili si zároveň celý postup od získání hepatocytů po plnění bioreaktivní kapsle až po její využití v experimentální praxi. Získané výsledky z hlediska účinku biologické eliminační metody neprokázaly signifikantní změny hodnot laboratorních ukazatelů akutního selhání jater s výjimkou sérových hodnot bilirubinu. Naměřené hodnoty nitrolebního tlaku se statisticky významně nelišily ve skupině s léčbou akutního selhání jater pomocí BAL a ve skupině s akutním selháním jater bez napojení na BAL. V závěru autoři uvádějí, že vzhledem k těmto výsledkům je nutné pokračovat dále v experimentální práci především se zaměřením na technické detaily a na možnost rozšíření kapacity bioreaktoru pro aplikaci prasečích hepatocytů.

Předkládaná práce je nepochybně velmi zajímavou prací a pro člověka, který se zabývá experimentálním výzkumem při běžné klinické práci je prací, která nepochybně znamenala velkou časovou náročnost pro autora a spolupracující kolektiv, což je nutné velmi významně ocenit. Svou strukturou je práce velmi zajímavá

a doplňuje současné poznatky o léčbě akutního jaterního selhání překlenovací metodou. I když práce nepřinesla do jisté míry očekávané výsledky především z hlediska ovlivnění řady laboratorních parametrů ukazující na efektivitu léčby akutního selhání jater, je nepochybným přínosem pro další klinickoexperimentální studie, zejména při vytvoření modelu akutního jaterního selhání a i jisté nové techniky získávání hepatocytů pro bioreaktivní kapsle. Domnívám se v souhlasu s autory, že v této práci, pokud chceme získat validní výsledky, je nadále třeba pokračovat a vhodnou měrou upravovat metodiku experimentální práce s cílem získání lepších výsledků pro eventuelní využití v klinické praxi.

Jednoznačně se domnívám, že práce splnila podmínky dizertační práce a navrhuji, aby po úspěšné obhajobě byl MUDr. Tomáši Pantoflíčkovi udělen titul Ph.D.

K autorovi mám následující dotazy:

1. V práci jsem nenašel schválení Etické komise pro práci se zvířaty, domnívám se, že nepochybně toto povolení bylo získáno a práce byla Etickou komisí povolena.
2. Jaký autor vidí přínos bioreaktivních kapslí v porovnání s klasickými arteficiálními systémy tytu Prometheus?
3. Hodnotil autor stav využitých hepatocytů v bioreaktivní kapsli po proběhlé eliminační metodě? Domnívám se, že lze hodnotit pouze morfologický nikoliv funkční stav hepatocytů, což by bylo samozřejmě velmi zajímavé a přínosné pro další pokračování v experimentální práci.
4. Do jaké míry lze takto získané poznatky přenést do klinické praxe akutního selhání jater?

V Plzni dne 13.7.2011

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