



UNIVERZITA KARLOVA, 1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA  
VŠEOBECNÁ FAKULTNÍ NEMOCNICE

1. INTERNÍ KLINIKA – KLINIKA HEMATOLOGIE

Přednosta: Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

128 08 PRAHA 2, U NEMOCNICE 2, TEL. 224 96 2527, FAX 224 96 3556



Titl.

Děkanát 3. Lékařské fakulty

University Karlovy v Praze,

Referát vědy a výzkumu,

Ruská 87, 100 00 Praha 10.

V Praze, dne 10. 8. 2013

Věc: Oponentský posudek na doktorskou disertační práci MUDr. Jany Šnircové,  
studijní program: biomedicína, studijní program: fyziologie a patofyziologie člověka.

Název doktorské disertační práce MUDr. Jany Šnircové je **„Změny hemokoagulace  
v souvislosti s použitím mimotělního oběhu“**

V úvodu nejprve autorka disertační práce uvádí obsáhlý přehled o současném stavu znalostí o mimotělním oběhu kardiochirurgických operací, včetně historických začátků, dále fyziologii hemostázy a fibrinolytického systému a jejich ovlivnění - jednak tkáňovou perfúzí a retransfundovanou krví a jednak samotným mimotělním oběhem (stykem krve s umělým povrchem v přístroji) po uvolnění řady biologicky účinných látek, ovlivňujících hemostázu a fibrinolýzu, včetně cytokinů a následné endotelové zátěže, prokagulačního stavu a aktivace vnitřního systému fibrinolýzy.

V dalším je v úvodu disertační práce také uvedeno riziko krvácení při aktivaci fibrinolýzy, která byla vyvolána mimotělním oběhem a jsou probrány možnosti laboratorního vyšetření koagulace, včetně trombelastografie, jako jediného testu zachycujícího aktuální aktivaci fibrinolýzy, kterou je možné perioperačně provádět při monitorování změn hemokoagulace během mimotělního oběhu. Popsány jsou také stávající terapeutické možnosti při léčbě krvácení po nekompensovaném zvýšení fibrinolýzy v kardiochirurgii. To je použití

inhibitorů fibrinolýzy, zejména tranexamové kyseliny a aprotininu a v případě druhotného snížení fibrinogenu i jeho substituce.

Na základě tohoto přehledu a svých vlastních dřívějších zkušeností pak autorka disertace zvolila cíle svého výzkumu, to je zjistit změny koagulace při mimotělním oběhu (MO) a v jeho modifikaci a porovnat je s nálezy získanými při použití techniky kardiochirurgické operace bez použití mimotělního oběhu (bez MO) a zjistit jak se zde obě techniky liší, popřípadě která z nich je vhodnější z hlediska zábrany druhotného krvácení a ztráty krve.

Samotná studie byla proto provedena nejprve jako pilotní studie s cílem zjistit změny koagulace a fibrinolýzy (porovnání výsledků rotační tromboelastografie a hladiny D-dimerů) u 20 pacientů podstupujících operaci aortokoronárních bypassů bez použití MO a nebo s použitím konvenčního MO. Byla stanovena hypotéza, že pacienti podstupující operaci s MO budou mít vyšší výskyt fibrinolýzy. Tato hypotéza byla potvrzena - vyšší výskyt fibrinolýzy byl u pacientů s použitím MO.

V další klinické randomizované studii již byly porovnány 3 tři skupiny pacientů podstupujících operaci aortokoronárního bypassu (n 65), které byly označeny jako skupina s konvenčním MO (A), skupina bez MO (B) a skupina C, kde byl použit modifikovaný, tzv. „méně invazivní“ MO (reoparinem potažený povrch, oddělené kardiotoomické sání krve do separátního rezervoáru, bez návratu do systému MO). Cílem pak bylo zjistit rozdíl ve výši aktivované fibrinolýzy, jejího vlivu na pooperační krvácení a potřebu transfúze. Zde byla stanovena hypotéza, že ve skupinách B a C bude nižší výskyt aktivace fibrinolýzy, menší krevní ztráty a nižší potřeba krevních transfuzí v porovnání se skupinou A.

Krev z arteriálního katetru operovaných pacientů pak byla vyšetřena přístrojem ROTEG® Whole Blood Haemostasis System, model 05 (Pentapharm, Munich, Germany). Vzorky byly odebrány v následujících časech: předoperačně ( $t_0$ ), 15 minut po sternotomii ( $t_1$ ), v čase dokončení periferní anastomozy bypassu ( $t_2$ ) a na konci operace ( $t_3$ ). Dále byly odebrány i vzorky krve pro vyšetření hematologických parametrů (hemoglobin, hematokrit, trombocyty, protrombinový čas, APTT a fibrinogen). Vzorky krve pro vyšetření hladiny D-dimerů byly odebrány před operací, na konci chirurgického zákroku a po 24 hodinách.

Pro statistickou analýzu byl použit statistický software SPSS, verze 12.0.1 (SPSS Inc., Chicago, IL). Hodnoty spojitých veličin byly charakterizované jako aritmetický a geometrický průměr a jejich variabilita byla charakterizovaná 95% intervalem spolehlivosti. Pro statistické zpracování dat byla v případě potřeby použita logaritmická transformace. Pro porovnání skupin a k porovnání rozdílů v různých časech náběrů párový

t-test s aplikací Bonferroniho korekce mnohočetného porovnání. Ke komplexnějšímu šetření bylo použito mnohonásobné testování analýzy rozptylu. Stupeň závislosti mezi naměřenými hodnotami byl vypočítán pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Pro všechny statistické testy byla stanovena hladina významnosti 0,05.

V obsáhlé diskusi s uvedením dalších dat z recentních publikovaných studií na podobná témata jsou pak rozváděny nalezené výsledky se závěrem: V pilotní randomizované prospektivní studii byly porovnány výsledky 20 pacientů (10 s MO, 10 bez MO). Tromboelastografické známky hyperfibrinolýzy byly detekované u 2 pacientů a známky zvýšené fibrinolytické aktivity u dalších 2 pacientů podstupujících operaci s MO, zatímco ve skupině bez MO se nevyskytly žádné znaky aktivace fibrinolýzy.

V prospektivní experimentální studii bylo randomizováno 65 pacientů do 3 skupin: A - s konvenčním MO, B – bez MO, C – s modifikovaným MO. V čase dokončení periferních anastomóz bypassů byl mezi skupinami statisticky významný rozdíl v parametru LOT (lysis on set time) v 60. minutě ( $P = 0,003$ ) a ve 150. minutě ( $P < 0,001$ ). Střední hodnoty těchto parametrů byly signifikantně nižší ve skupině A než ve skupinách B a C, kde se mezi sebou statisticky nelišily. LOT nižší než 50 % byl nalezen v čase dokončení periferních anastomóz u 12 pacientů (52,2 %) ve skupině A. V ostatních časech náběrů (předoperačně, 15 min po sternotomii, na konci operace a 24 hodin po operaci) byly tromboelastografické parametry ve všech skupinách podobné. Korelace mezi LOT, krevními ztrátami a hladinou D-dimerů však ve skupině A nalezena nebyla.

Aktivovaná fibrinolýza se tedy v obou studiích v čase dokončení periferních anastomóz vyskytovala pouze u operací s klasickým mimotělním oběhem. Její známky mizely spontánně na konci operace a nekorelovaly s krevními ztrátami, ani s hladinou D-dimerů. U pacientů operovaných bez mimotělního oběhu (B) a s modifikovaným mimotělním oběhem (C) detekovatelné známky aktivace fibrinolýzy nalezeny nebyly.

Výsledky obou studií pak byly publikovány v 5 vědeckých časopisech s IF (MUDr. Šnircová 2x jako 1. autor v pořadí) a ve 3 recenzovaných časopisech bez IF. Ve výčtu sdělení je také uváděna řada prezentací výsledků studie na odborných konferencích u nás i v zahraničí. Toto vše dokazuje, že autorkou zvolený laboratorní postup, včetně výběru statistických metod odpovídá stávajícím požadavkům na kvalitu vědecké práce.

K práci mám ještě tyto 2 doplňující otázky:

1. Pro jakou skupinu nemocných by byl na základě předoperačních vyšetření vhodnější mimotělní oběh a pro kterou zase operace bez použití mimotělního oběhu.
2. Byla krev na stanovení u sledovaných osob odebírána vždy ve stejnou denní dobu? Aktivita fibrinolýzy (t-PA) a nebo inhibitorů fibrinolýzy (PAI-1) kolísá v průběhu 24 hodin.

### **Závěr oponentského posudku:**

Autorka disertační doktorské práce splnila stanovené hlavní cíle výzkumu a plně osvědčila, že je schopna samostatné vědecké práce při klinickém experimentu. Dokazuje to i její další publikační aktivita v jiných oblastech (3 x v časopise s IF, 3 x v recenzovaném časopise bez IF).

Disertační práce je přehledně zpracována s jasnou formulací cílů, metod, zpracování i interpretací výsledků. V textu je zařazeno 11 přehledných tabulek s výsledky a 10 obrázků. Přílohou je i 7 kopií uvedených publikací k předmětu dizertace *in extenso*.

Autorka v disertační práci přináší některé nové poznatky, které se uplatní jak v oboru anesteziologie a resuscitace, tak i v oborech chirurgie, kardiochirurgie a kardiologie. Přináší i některé méně známé poznatky v oblasti hematologické laboratorní diagnostiky. Řada zjištěných poznatků uvedených v disertační práci byla objevná, v naší odborné literatuře ještě nepublikovaná a je v souladu s podobným výzkumem prováděným ve vyspělých vědeckých lékařských institucích ve světě.

Předloženou disertační práci „**Změny hemokoagulace v souvislosti s použitím mimotělního oběhu**“ proto doporučuji k obhajobě. Pokud bude před komisí pro obhajoby doktorské disertační práce úspěšně obhájena, doporučuji, aby byl MUDr. Janě Šnircové udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č.111/98 Sb.

Prof. MUDr. Jan Kvasnička DrSc.

1. interní klinika – klinika hematologie, 1. LF UK

Příloha: disertační práce 1x zpět