

**Oponentský posudek: MUDr. Tomáš Drábek – The effect of hypothermia on outcome and neurologic injury after prolonged cardiac arrest treated by emergency preservation and delayed resuscitation**

MUDr. Tomáš Drábek předložil disertační práci: The effect of hypothermia on outcome and neurologic injury after prolonged cardiac arrest treated by emergency preservation and delayed resuscitation. Práce vznikla pod vedením školitele doc. MUDr. Roberta Jecha, PhD., který je z neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Safar Center for Resuscitation Research v Pittsburghu. Má rozsah 186 stran, včetně obsáhlé vysoce aktuální literatury, a seznamu použitých zkratk, obsahuje 42 grafů, tabulek a obrázků. Je svázána v pevné vazbě.

Úvod se zabývá historií resuscitace včetně historického užití hypotermie v medicíně od času Napoleonových válek. Je zmíněn rozsáhlý přínos Petera Safara, jednoho ze zakladatelů moderní resuscitace, který měl české předky. Závěrem je konstatováno, že úspěchy v resuscitaci jsou i přes velké technické pokroky v medicíně dosud skromné. V civilním sektoru je 50% smrtí následkem traumatu přímo při nehodě a dalších 30% lidí umírá během několika hodin po zranění. Ve vietnamské válce umřela řada vojáků na penetrující zranění hrudníku a vykrvácení bez poškození mozku. Při tom byla zranění ošetřitelná celkem snadno chirurgicky. Akutní mortalita na traumata zůstává nezměněna po dekády.

Dále je uveden koncept tzv. Emergency Preservation and resuscitation (EPR) u jehož zrodu byli již zmíněný Peter Safar a Ronald Bellamy. Základem této metody je navození hluboké hypotermie infuzí ledových roztoků do arteriálního systému s následným zpomalením metabolických procesů. Postižený je ve stavu pozastavené animace – suspended animation. Místo často marného zahájení resuscitace umožňuje hypotermie získat čas na transport a ošetření zranění. Odložená resuscitace pak nastává pomocí kardiopulmonálního bypassu (CPB).

V Safarově resuscitačním centru byla provedena řada experimentů na zvířatech, které prokázaly, že EPR je uskutečnitelný na velkém zvířecím modelu. Byla provedena exsanguinace s náhlým hemoragickým šokem a srdeční zástavou s následnou hlubokou hypotermií s přežitím u psa a prasete. V následujících letech byl vypracován experimentální model EPR na malém zvířeti – potkanovi. Bylo nutno vyřešit ještě celou řadu problémů, např. vyvinutí mimotělního oběhu pro potkana. Dr. Drábek se aktivně podílel na některých otázkách PEPR modelu na hlodavcích. Tento model snižuje výrazně náklady pokusů a umožňuje rychlý screening vlivu některých farmak na EPR.

Cíle a metodika práce jsou formulovány jasně a přesně. Cíle jsou vhodně zvoleny, teoretická východiska práce jsou diskutována v úvodu práce.

V rozsáhlé experimentální části jsou postupně uvedeny metodiky všech výzkumných úkolů.

V první studii je popsán protražovaný hemoragický šok u psa. Předchozí pokusy prokázaly, že psi přežili rychlé navození hemoragického šoku po dvouhodinové EPR bez následků. Nyní 2 minuty po srdeční zástavě s protražovaného hemoragického šoku rozdělili Drábek a spol. psy do tří podskupin. V první podskupině provedli konvenční resuscitaci, u dalších dvou podskupin promyli aortu 20 l fyziologického roztoku o teplotě 2°C k dosažení teploty mozku 10-15°C. Konvenční resuscitace nebo EPR trvaly 60 minut, po kterých byli všichni psi resuscitováni po 2 hodiny napojením na mimotělní oběh. U psů z první podskupiny s konvenční resuscitací byla tělesná teplota držena při 38°C. U dalších dvou podskupin byla mírná hypothermie 34°C vedena po 12 a 36 hodin. Za 60 hodin po resuscitaci byly hodnoceny neurologické funkce a histologie mozku. Ve skupině konvenční resuscitace nepřežil nikdo, ve skupině EPR 12 psů ze 14. Neurologické skóre však bylo lepší u zvířat při kratším trvání hypothermie. U první skupiny psů s klasickou resuscitací byly nalezeny velké nekrózy v neokortexu. EPR velice zmírnila tyto následky. K poškození také přispívala hyperglykemie. Hypothermie je účinná při ochraně při ischemickém poškození mozku během hyperglykemie. Délka užití mírné hypothermie musí být v dalších pokusech optimalizováno.

Ve druhé studii přidání energetických substrátů glukózy s kyslíkem k roztokům navozujících hypothermii vede k prodloužení úspěšného zotavení neurologických funkcí po 3 hodinové zástavě srdce. K prodloužení ochranného účinku hypothermie testoval Dr. Drábek se svými spolupracovníky i 14 různých farmak s cílem ochrany buněčné membrány, prevenci strukturální degradace buňky, regulace syntézy proteinů nebo ochrany mitochondrií. Ukázalo se však, že všechna tato farmaka v podstatě selhala při zvýšení protektivního účinku hypothermie ve srovnání s ledovým fyziologickým roztokem.

V dalších studiích již byl využit model EPR u potkana. Dr. Drábek nejprve testoval jeho vhodnost pro EPR. Studoval přežití potkanů po rychlém vykrvácení následovaném 20 minutovou srdeční zástavou při hluboké hypothermii a následné resuscitaci pomocí CPB.

V následné studii srovnával EPR v délce 60 minut versus 75 minut. Zjistil, že prodloužení EPR vede v závislosti na čase ke zhoršení fyziologických funkcí.

Nitrace proteinů a aktivace PARP vede při déle trvající ischemii k poškození neuronů, proto se v páté studii zabýval Drábek stupněm nitrace a PARP aktivace při EPR v délce 60 minut versus 75 minut. Při déle trvající hypothermii zjistil imunohistologickým vyšetřením vyšší nitraci a PARP aktivaci v různých oblastech mozku potkana. Nejvíce byly změny vyznačeny v hipokampu, cortexu a striatu. Tyto oblasti mozku jsou vůči ischemii vysoce vulnerabilní. Protektivní účinek EPR se tedy ztrácí při jejím prodloužení nad určitou časovou mez.

V dalších několika studiích se Dr. Drábek zabývá vlivem některých farmak na EPR. Především studoval vliv hibernačního triggeru a  $\delta$  opioidního agonisty enkefalinu na neurologický stav a histologický nález v modelech prolongované EPR u potkana. Tento opioid však nepřinesl podstatný benefit pro přežití neuronů. Minocyklin snižuje aktivaci

mikroglie a tím má neuroprotektivní účinek při poškození mozku. Dr. Drábek proto testoval hlubokou hypothermii s kombinací s minocyklinem a odečítal sníženou aktivaci mikroglie a snížený počet poškozených neuronů a zlepšení neurologického skóre. Hluboká hypothermie snížila aktivaci mikroglie, ale nezabránila smrti hipokampálních neuronů přeživších zvířat. Minocyklin měl mírný protektivní účinek na neurologické skóre u přeživších zvířat, ale nesnížil aktivaci mikroglie v mozku. Tato aktivace vede k uvolnění neurotoxických substancí jako jsou prozánětlivé cytokiny.

Účinek farmak při EPR byl limitován. Vliv na to může mít změněná permeabilita hematoencefalické bariéry (HEB). Permeabilita HEB při EPR je neznámá, na rozdíl od traumatu není HEB při EPR narušena, ale vyžaduje to dalších výzkumů.

V deváté studii testoval Dr. Drábek vliv clodronátu, který injikoval do hipokampu a tak dokázal snížit aktivaci mikroglie potkana. Nedošlo však ke snížení počtu odumřelých neuronů.

To svědčí proto, že mikroglie nehraje hlavní roli při smrti neuronů při hypothermické zástavě srdce. Konečně v poslední studii se disertant zabýval vlivem cytokinů po hypothermické zástavě oběhu potkana. Mikroglie je hlavním zdrojem cytokinů. Cytokiny působí zánětlivé změny v CNS. Toto zvýšení cytokinů je však redukováno hlubokou hypothermií. Srdeční zástava vede ke zvýšení hladiny cytokinů vysoce specificky v různých oblastech mozku.

Zjištěné výsledky jsou přehledně představeny v tabulkách a v následné diskuzi. Jeho vlastní nálezy jsou porovnávány s podobnými, dosud publikovanými zjištěními. Použité metody bádání byly zcela přiměřené dané problematice, jejímu praktickému dosahu i závažnosti. Dosažené výsledky jsou prioritní, protože až dosud se domácí písemnictví těmto otázkám vůbec nevěnovalo. Závěry s výsledků učiněné jsou formulovány jasně a stručně, oponent k nim nemá připomínky.

Závěrem práce je předložen souhrn výsledků a je konstatováno, že stanovené cíle byly splněny, s čímž se oponent ztotožňuje. Výsledky zmíněné práce výrazně přispějí k dalšímu prohloubení našich poznatků o vlivu hypothermie na mozek a k výraznému zlepšení resuscitačních výsledků. Přednostmi práce jsou především její původnost a téma. Diskutovaným otázkami se v ČR nikdo nezabýval a Dr. Tomáš Drábek přinesl původní pohled.

K práci bych měl dva dotazy:

- 1) Jak odlišíme změny navozené na mimotělním oběhu potkana od změn navozených hemoragickým šokem, srdeční zástavou a hypothermií.
- 2) V práci je uveden hemoragický šok u prasete, potkana a psa, jak se liší jeho průběh, jak jsou výsledky výzkumu převeditelné na člověka.

Práci MUDr. Tomáše Drábka: The effect of hypothermia on outcome and neurologic injury after prolonged cardiac arrest treated by emergency preservation and delayed resuscitation hodnotím jako mimořádně kvalitní, přínosnou a doporučuji proto k obhajobě. O úspěchu obhajoby jsem přesvědčen.

V Praze dne 12. 12. 2012

doc. MUDr. Ladislav Hess, DrSc.  
IKEM, pracoviště experimentální medicíny

