



Oponentský posudek na dizertační práci MUDr. Martina Blažka – odborného asistenta II.  
interní kliniky FN a LF v Hradci Králové UK v Praze

na téma:

## **„Změny vybraných laboratorních parametrů metabolismu a faktorů hemostázy u nemocných s vrozenou poruchou metabolismu lipidů v léčbě LDL- aferézou“**

Dizertace MUDr. Martina Blažka se zabývá vcelku jedinečnou problematikou sledování hematologického a biochemického spektra laboratorního vyšetření u nemocných s familiární hypercholesterolémií.

Text dizertace zaujímá 140 stran včetně dokumentace, seznamu literatury a zkratk. Literatura zahrnuje úctyhodných 256 titulů s dostatečným množstvím recentních prací, a co je nutno velmi ocenit, i prací z domácího písemnictví. Předložená práce je doplněna i o jednu vlastní publikaci tématicky doplňující spis.

Cílem práce bylo monitorovat a zhodnotit změny v hematologickém a biochemickém profilu nemocných při dlouhodobé LDL-aferetické terapii, pokusit se najít parametry (časné markery) optimální účinnosti procedur LDL-aferézy, pokusit se monitorovat vliv aferéz na primární hemostázu a navíc neinvazivně monitorovat morfologické změny karotických tepen. Shrnutím zhodnocení výše uvedených parametrů je pak snaha o optimalizaci celého léčebného postupu, včetně ekonomických parametrů.

Autor dlouhodobě sledoval ve spolupráci s kolegy z aferetického centra II. interní kliniky FN Hradec Králové 9 pacientů s familiární hypercholesterolémií (FH). Autor správně uvádí, že se jedná sice o velmi malý soubor nemocných, avšak vzhledem k relativní vzácnosti FH i největší světová centra disponují soubory maximálně o 20 pacientech. Autor proto nemůže statisticky spolehlivě hodnotit klinické konsekvence léčby, ale lze provést jak longitudinální analýzu zvolených parametrů, tak i zhodnocení změn před a po aferézách. Nemocní byli samozřejmě léčeni i režimovou a farmakologickou terapií.

Centrum má patentovanou specifickou modifikaci LDL-aferézy, jde o velmi zkušené, akreditované centrum, rovněž i spolupracující laboratoře jsou akreditovány a na vysoké úrovni. Práce je zčásti podporována granty IGA a MŠMO.

Prvá, rozsáhlá část práce je věnována podrobnému a fundovanému teoretickému rozboru historie i současného pohledu na etiopatogenezu aterosklerózy, kde hrají dyslipidémie velmi významnou roli.

V druhé části práce autor definuje cíle studie, uvádí výsledky jednotlivých analýz a věnuje se rozboru získaných dat.

Z výsledků vyplývá, že co se týče longitudinálního porovnání laboratorních parametrů (méně než 100 dnů a více jak 600 dnů LDL-aferéz), nedochází v čase k statisticky významným změnám sledovaných laboratorních parametrů.

Co se týče srovnání dat před a po LDL-aferézách, dochází k statisticky významným změnám v parametrech tukového metabolismu, v některých dalších biochemických vyšetřeních, ve viskozitě plazmy a v koncentraci markerů aktivace a/nebo poškození endotelu. Vesměš jde o pozitivní (ve smyslu prospěchu nemocných) změny.

Při vyšetření parametru IMT (intima-media thickness) arteria carotis autor detegoval mírnou regresi nebo jen mírnou progresi postižení, což svědčí o pozitivním vlivu aferéz na onemocnění cév. Některé parametry (velikost destiček, běžná agregační vyšetření trombocytů) se ukázaly jako nevýpovědné. Určitá výpovědní hodnota byla prokázána u agregace po indukci nízkými koncentracemi ADP. Vyšetření pomocí analyzátoru destičkových funkcí PFA-100 nepřinesla klinicky využitelné informace (statisticky nevýznamné změny měřených hodnot).

Poměrně překvapivě přinesla práce využitelné informace měření koncentrace některých cytoadhezivních molekul, kdy před aferézami byly signifikantně vyšší hodnoty P-selektinu a MCP-1, které se výrazně upravovaly po výkonech. Autor uzavírá, že tyto markery jsou využitelné v hodnocení efektivity léčby.

V další části autor rozvádí zavedení algoritmu optimální LDL-aferézy.

K dizertaci mám následující připomínky a dotazy:

1. Autor na str. 13 uvádí, že acetylosalicylová kyselina vyvolává vedle ireverzibilní blokády cyklooxygenázy i blokádu receptorů pro adrenalin, TXA<sub>2</sub> a serotonin. Tato informace není zcela relevantní a v citované literatuře není uvedena. Kyselina acetylsalicylová vyvolává ireverzibilní blokádu cyclooxygenázy 1.
2. Na téže straně (str. 13) je také uvedeno: „Komplex GPIIb-IX-V je oproti GPIIb/IIIa exprimován také na klidových destičkách. Toto tvrzení není zcela přesné. Určitý podíl GPIIb/IIIa je lokalizován v alfa-granulích trombocytů a při jejich aktivaci přechází z klidové do aktivované konformace.
3. Na str. 16: ...Dále trombomodulin aktivuje protein C.. – trombomodulin váže trombin a ten pak aktivuje protein C.
4. Na str.17 : endotel zastává také významnou funkci jako semipermeabilní buněčná membrána. Tato věta není zcela jasná – endotel nemůže fungovat jako membrána ve smyslu buněčné membrány, která ohraničuje cytoplasmu. Není zcela jasné, co přesně touto větou autor myslí. Endotel působí jako sofistikovaný regulátor transportu částic přes stěnu cév a lze si těžko představit, že by byl volně permeabilní pro některé molekuly (tj. semipermeabilní).
5. Na str. 33 asi vypadla věta nebo odstavec : Lipidy reagují na akutní..
6. Na str. 34: statiny..... snižují uvolňování trombinu z destiček. Jedná se o nepřesnou formulaci. Trombocyty neobsahují trombin a nemohou jej proto uvolňovat. Autor asi

- myslí blokádu uvolnění na trombocyty již z plazmy navázaného trombinu (k vazbě trombinu na destičky dochází při aktivaci hemostázy).
7. Na str. 38: Defekt spočívá v mutaci domény LDL receptoru pro apoB... Mělo by to být právě obráceně. Mutace se týká apoB ( apoB3500Gln-Arg) a ne LDL receptoru. Mutovaný apo B má pak sníženou afinitu k LDL receptoru, který má intaktní (normální, wild-type) genotyp i strukturu.
  8. Str. 38 : Apo(a) má i podobné složení jako plazminogen (**proteázová doména**). Homologie mezi molekulou apo(a) a plazminogenu není lokalizována v proteázové doméně, ale v tzv. kringle doménách.
  9. Str. 48: věta ..I naše studie, přestože hodnotí poměrně širokou paletu laboratorních vyšetření, jež standardně statisticky a v dostatečném počtu hodnotí.... nedává úplně jasný smysl.
  10. Na str. 53 autor uvádí, že k posouzení adhezní schopnosti endotelu byl stanovován von Willebrandův faktor a (solubilní) trombomodulin v séru. Z koncentrace ani jednoho z obou proteinů nelze posoudit adhezní schopnosti endotelu. Lze říci, že v současnosti ani neexistuje dostupná metodika, která by byla schopna *in vitro* adhezivní vlastnosti endotelu posoudit. Von Willebrandův faktor se do cirkulace uvolňuje při aktivaci endotelu, solubilní trombomodulin je jedním z markerů poškození a/nebo dysfunkce endotelu.
  11. Na str. 71 je v poznámce uvedena možnost záměny roztoků. Nebylo by možné tomu předcházet jejich barevným odlišením ?
  12. Budou u pacientů s LDL aferézami nadále rutinně stanovovány koncentrace P-selektinu a MCP-1 jako jedny z markerů účinnosti výkonu?
  13. Může nastat situace, kdy dojde k žádoucímu poklesu LDL a cytoadhezivní molekuly poklesnou jen nevýznamně a představovalo by to v tom případě indikaci k zintenzívnění procedury?
  14. Na závěr spíše jedna jazyková drobnost – zápas s užíváním vztažného zájmena „jenž“, které autor užívá jak také pro ženský rod, tak i pro množné číslo.

Zde přiložené připomínky a dotazy jsou však spíše než snižováním významu díla výrazem zájmu, které vzbuzuje.

Dizertační práce MUDr. Martina Blažka se zaměřuje na účinnou možnost řešení závažné hereditární zátěže a analyzuje hematologický, resp. hemostazeologický a biochemický profil pacientů. Představuje významný praktický i vědecko-výzkumný záměr.

Úvod prokazuje dokonalou znalost studovaného předmětu. Použité metody prováděných laboratorních vyšetření jsou moderní, spolehlivé a přiměřené kladeným cílům. Cíle jsou přehledně formulovány a autor je splnil. Závěry práce jsou jasně a přehledně deklarovány a mají praktické i další vědecko-výzkumné využití.

Po stránce obsahové se jedná o koncepční práci, po stránce formální o práci klasicky uspořádanou, velmi pečlivě zpracovanou a bohatě dokumentovanou. Celé dílo je přehledné a ve všech oddílech propracované.

### Závěr:

Předložená dizertace svědčí o autorově znalosti problematiky, o zájmu a o zaujetí pro studovaný předmět. Svým dílem prokazuje dr. Martin Blažek schopnost samostatné vědecké práce. Přínos práce spočívá v doplnění literatury o vlastní a v mnohém i prioritní výsledky.

Dizertace MUDr. Martina Blažka splňuje podmínky stanovené v § 47 VŠ zákona 111/98 Sb., a proto **doporučuji** vědecké radě Lékařské fakulty v Hradci Králové Karlovy Univerzity v Praze, aby práci přijala k obhajobě za účelem získání titulu **doktor – Ph.D.**

V Brně dne 16.2.2006

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.  
Interní hematologická klinika  
Lékařské fakulty Masarykovy  
univerzity v Brně