

Vážený pan  
Prof. MUDr. RNDr. Miroslav Červinka, CSc.  
děkan  
LF UK v Hradci Králové  
Šimkova 870  
500 38 Hradec Králové 1

Praha, 22.8.2016

Oponentský posudek k disertační práci MUDr. Tomáše Garnola na téma: " Regenerace jater po částečné hepatektomii u potkanů s nealkoholovým ztukovatěním jater"

Dopisem děkana LF UK v Hradci Králové, pana prof. MUDr., RNDr. Miroslava Červinky, CSc., ze dne 26.7.2016 jsem byl jmenován oponentem výše zmíněné práce MUDr. Tomáše Garnola. Oponenturu jsem přijal a vypracoval následující posudek:

Předložená dizertační práce je psána přehlednou spisovnou češtinou. Práce obsahuje 115 stran textu, z čehož 15 stran zaujímá část práce s citacemi. Citace nejsou číslované, jsou řazené abecedně. Většina z nich jsou citace soudobé, ne starší 5 let. Autor též správně cituje i práce značně starší, z 30.let minulého století, které jsou však stále v experimentální chirurgii jater aktuální.

Na úvodu práce jsou uvedeny přehledně zkratky, které autor v textu používá. Text práce obsahuje minimum gramatických chyb, spíše překlepů, namátkou jen str. 60: "...přestože jde o levnou a metodu, její specifita je nízká, neboť...".

Práce je smysluplně členěna, obsahuje 8 kapitol, které jsou logicky uspořádané.

Úvodní část seznamuje s problematikou regenerace jater a nealkoholového ztukovatění jater (NAFLD). Autor správně poukazuje na vysokou četnost onemocnění NAFLD a jeho vliv na možnosti resekce jater z různých příčin – ať už z důvodu primárních nádorů jater, metastatického postižení, či v transplantační chirurgii.

Po úvodní části autor shrnuje literární přehled. Tento rozbor mimo jiné zabírá problematiku regenerace jater se zvířecími modely - toxické a chirurgické modely jaterní regenerace. Autor tuto část uzavírá konstatováním, že nejčastější model pro studium regenerace jater je 2/3 parciální hepatektomie u potkana (PHx).

Literární přehled ve své druhé části zahrnuje problematiku nealkoholového ztukovatění jater – etiopatogeneze a rozbor možných zvířecích modelů NAFLD.

Autor si jako cíle své práce vybral jednak vytvoření modelu NAFLD u potkana, dále stanovení zda je regenerace jater po parciální hepatektomii na tomto modelu alterována a zda steatotické hepatocyty vykazují změněnou citlivost vůči oxidačnímu stresu in vitro.

Metodická část práce je dobře popsána. K vytvoření modelu NAFLD autor použil celkem 73 potkanů s přežíváním po dobu 3 respektive 6 týdnů. Na základě výsledků této – řekněme pilotní – studie byl vybrán kmen potkana, na kterém se autor rozhodl provést vlastní resekci jater (kmen Sprague Dawley).

Autor zvířata rozdělil do několika skupin - skupiny s parciální hepatektomií krmené 2 různými dietami a jejich příslušné kontrolní skupiny. V takto uvedeném rozdělení prezentuje příslušné výsledky. PHx jater u potkana navodila poškození jater u obou skupin.

Pro hodnocení vlastní regenerace jater po PHx použil autor imunohistochemické barvení inkorporovaného BrdU (bromdeoxyuridin) do DNA hepatocytů. Autoři prokazují po indukci jaterní regenerace markantní zvýšení syntézy DNA (oproti kontrolní skupině), avšak bez signifikantních změn v porovnání s resekovanou nesteatotickou skupinou. Autoři taktéž prokázali zvýšení obsahu GSH po resekcí jater oproti kontrolní neresekované skupině. Změny v respiraci izolovaných mitochondrií autor neprokázal a tento důvod vidí ve statisticky malém počtu vzorků.

Vliv oxidačního stresu in vitro je v práci zkoumán na potkanech Wistar a pro stanovení vlivu oxidačního stresu byly použity izolované hepatocyty z intaktních steatotických jater. Autor prokazuje zvýšenou citlivost steatotických hepatocytů k oxidačnímu poškození.

Předkládaná práce je velmi zajímavá - má nejen experimentální dopad, ale též se dotýká i problematiky v klinických oborech. V experimentu bylo použito velké množství zvířat z důvodu poměrně velkého množství skupin jak v části NAFLD modelu, tak v části regenerace jater po PHx.

Experimentální část proto musela znamenat velkou časovou náročnost a též manuální mikrochirurgickou zručnost. Svoji strukturou je práce zajímavá, ačkoli se právě použití velkého množství skupin může zdát složité a je nutné poměrně hluboké studování práce a jejich výsledků pro pochopení závěrů práce.

V experimentu práce naplnila své cíle jednak vytvořením NAFLD modelu, dále též výše uvedeným studiem regenerace po resekcí jater.

Práce se týká důležité problematiky v klinické práci jednak u pacientů podstupující velké resekcí jater, ale též v transplantologii problematiky dárcovství marginálních jaterních štěpů, včetně splitovaných transplantovaných jater. Zvolený resekcí model je sice spíše střední (65-70%) – přestože je v literatuře nejpoužívanější, ale práci považuji za přínosnou mimo jiné z důvodu sledování množství parametrů jaterního selhání, regenerace. Práci doporučuji přijmout.

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

K autorovi mám následující dotazy:

1. Jakým způsobem autor stanovoval procento provedené resekcí (uvádí 65-70%). Byla resekovaná část jater vážena?
2. Autorem zvolený resekcí model je přeci jen pro potkana spíše menší/střední (65-70%) a je možné předpokládat, že závěry by u hraniční resekcí, či u modelu ALPPS (associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy) mohly být jiné, měl autor možnost provést pilotní studii s hraniční resekcí – cca 90% resekcí?
3. Bylo by zajímavé tuto studii rozšířit o model ALPPS, což je operační výkon, který se v hepatobiliární chirurgii poslední dobou hodně používá, diskutuje. Experimentální práce týkající se regenerace u tohoto modelu by byla jistě zajímavá a přínosná. Plánuje autor další práci na NAFLD modelu a přibrání dalších modelů resekcí jater?

Praha, 22.8.2016

MUDr. Tomáš Pantoflíček, Ph.D.  
Klinika Transplantační Chirurgie IKEM, Praha

