



## KATEDRA FARMAKOLÓGIE A TOXIKOLÓGIE

Farmaceutická fakulta, Univerzity Komenského

Kalinčiakova 8, 832 32 Bratislava

tel. 02-501 17 371, e-mail: kftox@fpharm.uniba.sk

### OPONENTSKÝ POSUDOK

na disertační práci

**Názov: Elektrofyziologie myokardu ve zdraví a nemoci.**

Myocardial Electrophysiology in Health and Disease

*Študijný program:* Fyziologie a patologická fyziologie

*Autor:* Ing. Dagmar Jarkovská

*Školiteľ:* doc. MUDr. Milan Štengl, Ph.D.

*Oponent:* doc. MUDr. Tatiana Stankovičová, CSc.

Autorka predkladá k obhajobe experimentálnu prácu, ktorá bola vypracovaná v dennej forme doktorandského štúdia na Ústave fyziologie, Lekárskej fakulty v Plzni, Univerzity Karlovej v spolupráci s viacerými kolegami z ústavu alebo ďalších pracovísk a finančne podporená viacerými grantovými projektami ČR.

Dizertačná práca sa zaoberá problematikou elektrofyziologických a kontraktálnych zmien myokardu prasaťa pri sepe a v 2 modeloch acidózy – metabolickej a hyperkapnickej. Keďže v uvedených patologických stavoch sa používal ako celkové anestetikum propofol, v práci sa testoval aj efekt tohto celkového anestetika na fyziologické vlastnosti multicelulárneho preparátu (trabekula, papilárny sval) komorového myokardu potkana.

Predložená dizertačná práca spĺňa požiadavky kladené na postupové práce podľa Zákona č. 111/1998 Sb. ČR o vysokých školách a o zmene a doplnení ďalších zákonů (z r. 2000-2010), je spracovaná na 130 stranách plus zoznam 6 publikácií autorky (tj. celkovo 133 strán). Text je doplnený názornými 38 kompletne popísanými obrázkami a 7 tabuľkami a 208 pedantne spracovanými citáciami od začiatkov elektrofyziológie srdca po 42 citácií z posledných 5 rokov.

#### **Aktuálnosť zvolenej témy**

Téma práce predstavuje aktuálny a významný medicínsky problém. Sepsa u človeka je systémová infekcia sprevádzaná celkovou zápalovou odpoveďou a ťažká sepsa je sprevádzaná prejavmi orgánového zlyhania a môže vyústiť do fatálnej komplikácie - septického šoku. Znížená perfúzia tkanív vedie k poruchám výmeny krvných plynov, poruchám acidobázickej rovnováhy a metabolizmu. V patogenéze sa uplatňujú pro- aj protizápalové mediátory s protichodnými účinkami na cievny systém a prácu srdca.

Sepsa a septický šok sú považované za najčastejšiu príčinu mortality u kriticky chorých pacientov na nekoronárnych oddeleniach intenzívnej medicíny (16%-46% Rangel-Frausto

1995) a na oddeleniach intenzívnej medicíny je podľa francúzskej, nemeckej, britskej, austrálskej a novozélandskej epidemiologickej štúdie výskyt 80-90 prípadov na 100,000 dospelaj populácie (Padkin 2003, Weycker 2003, Finfer 2004, Brun-Buisson 2004). Na Slovensku je výskyt 1770 prípadov ročne (Záhorec a kol. 2005).

Sepsa a septický šok je častokrát diagnostikovaný neskoro, pričom významne limituje kvalitu a dĺžku života a nezriedka vedie k smrti jedincov. Tieto skutočnosti viedli autorku a jej spolupracovníkov k charakterizácii živočíšneho modelu pre septický stav.

V teoretickej časti práce doktorandka zhrnula doterajšie poznatky o elektrofyziológii srdca a podrobne sa venovala variabilite srdcovej činnosti, možnostiam hodnotenia a spracovania získaných údajov. Zhrnula fyziologické aj patologické faktory, ktoré srdcovú činnosť a variabilitu modifikujú, nevynechala ani farmakologické ovplyvnenie.

Z tejto časti práce vyplynuli aj **ciele** práce, významné pre rozšírenie poznatkov o rozvoji septického stavu a zamerané na elektrofyziologické a hemodynamické vlastnosti myokardu v podmienkach septického stavu organizmu, počas navodenej experimentálnej metabolickej či respiračnej acidózy. Použitie nového celkového anestetika propofolu si vyžiadalo aj otestovanie jeho potenciálnych účinkov na myokard.

### **Zvolené metódy spracovania**

Experimentálna časť práce je detailne popísaná a vhodne obrázkovo dokumentovaná. Pri použitých zvieratách je potrebné doplniť okrem vyjadrenia etickej komisie aj povolenia k pokusom vydané príslušnou inštitúciou ČR. Autorka vysvetlila dizajn štúdie, popísala model navodenia patologických stavov a spôsoby monitorovania priebehu ochorenia. Nosná téma práce – analýza variability srdcovej frekvencie, ktorá je metodicky aj časovo veľmi náročná, je veľmi prehľadne, detailne a názorne spracovaná. Páčila sa mi komplexnosť riešenia problému - z úrovne celého organizmu až po tkanivo a bunkovú charakteristiku komorových kardiomyocytov, na modeloch sepsy a experimentálnej acidózy na prasati. Veľmi oceňujem analýzu elektrického signálu od EKG až po akčný potenciál. Analýza prípadného pôsobenia anestetika na KVS v modeli sepsy bola taktiež významným doplnkom. Funkčné analýzy sú vhodne doplnené biochemickým vyšetrením a detekciou vybraných prozápalových cytokínov a chemokínov.

Získané dáta boli spracované štatistickou analýzou, vysokokvalitnou analýzou srdcovej variability, ktorá rešpektuje aktuálne požiadavky odborných časopisov.

### **Získané výsledky s uvedením nových poznatkov**

Prvá časť výsledkov zahŕňa analýzu srdcovej činnosti v animálnom modeli septického stavu. Rozvoj patologického stavu charakterizuje významná zmena frekvencie, vývrhového objemu a periférnej rezistencie. Zvýšené hladiny protizápalových kinínov poukázali na rozvoj septického stavu. U zvierat s ťažkou sepsou ani podanie noradrenalínu nazabránilo úhynu. S rozvojom šoku sa menila variabilita srdcovej frekvencie (HRV). Autorka sa preto sústredila na analýzu variability srdcovej frekvencie, ako na možný marker dynamických zmien charakterizujúci priebeh septického stavu. Kľúčovým nálezom predkladanej práce je zistenie, že počas septického stavu sa znižuje variabilita srdcovej frekvencie nezávisle od orgánového poškodenia a predchádza zmenám hemodynamiky a prozápalových markerov. V rámci

početných analýz ma zaujalo významné zníženie spektrálnej hustoty v pásme vysokej frekvencie, ktorá poukazuje na potlačenie aktivity parasimpatikového nervového systému a nárast v oblasti spektra nízkej frekvencie naznačuje prevahu sympatikovej regulácie srdcovej činnosti. Je možné, že potlačená aktivita n. vagus súvisí aj so zvýšením prozápalových kinínov.

Prejavom ťažkej sepsy alebo septického šoku je zmena hemodynamických mechanizmov srdca, pľúc aj obličiek a sprievodným prejavom môže byť rozvoj acidózy. Preto sa autorka zamerala aj na testovanie vplyvu experimentálnej metabolickej (MAC) a hyperkapnickej acidózy (HCA) na funkciu kardiovaskulárneho systému prasaťa. V podmienkach acidózy poukázala na zrýchlenie srdcovej frekvencie a skrátenie QT a QTc intervalov bez významného vplyvu na variabilitu HR. Oba typy experimentálnej acidózy viedli k zvýšeniu pľúcneho odporu, poklesu tepového objemu a hyperkapnická acidóza navyše zvyšovala systémový odpor a menila prietok pečeňou a krčnicami. Zníženie vývrhového systolického objemu by mohlo vysvetliť oslabenie sily kontrakcie komorovej svaloviny zistené v podmienkach *in vitro* na izolovanom tkanivovom preparáte myokardu prasaťa. Prekvapujúce je chýbanie zmien v trvaní akčného potenciálu, ktoré by zodpovedalo skrátenému QT intervalu.

Doplňujúca charakterizácia pôsobenia propofolu neukázala významný efekt na trvanie akčného potenciálu, avšak zistila významný inotropný účinok na svalovinu komory potkana. Ako si autorka vysvetľuje tento nález?

O kvalite získaných výsledkov hovoria aj 4 práce *in extenso* a 2 abstrakty v renomovaných časopisoch pričom v 3 prácach je prvou autorkou.

### **Splnenie cieľov a prínos pre ďalší rozvoj vedy a techniky**

Autorka Ing. Dagmar Jarkovská predložila k obhajobe dizertačnú prácu vysokej odbornej kvality, so splnením všetkých cieľov, v ktorej podrobne charakterizovala model septického stavu navodeného u prasiat. Doktorandka úspešne zaviedla analýzu variability srdcovej frekvencie, ako potenciálnu včasnú identifikáciu septických stavov a poukázala aj na jej možný diagnostický význam v humánnej klinickej praxi. Doktorandka nezistila úlohu experimentálne navodenej acidózy, ako jedného z príznakov septického stavu, v analýze HRV. Analýzou efektu propofolu vylúčila jeho možný vplyv na elektrickú aktivitu srdca a tým aj na HRV počas celkovej anestézie jedinca.

Model experimentálnej sepsy navodenej u prasiat sa svojimi elektrofyziologickými, hemodynamickými, biochemickými parametrami približuje humánnemu septickému stavu a je preto vhodný na použitie v experimentálnej praxi.

V perspektívach projektu, autorka naznačila úlohu ovplyvnenia funkcie autonómneho nervového systému pri liečbe septických stavov. V závere práce spomenula aj perspektívne terapeutické prístupy v experimentálne navodenej sepsy pomocou kmeňových mezenchymálnych buniek.

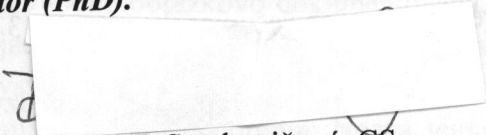
### **Otázky do diskusie**

1. Akú úlohu má prítomnosť ektopických komplexov v analýze HRV? (str. 26))
2. Aká je úspešnosť použitia analýzy HRV v detekcii humánnych ochorení? Je vhodná aj na charakterizáciu terapeutického či toxického pôsobenia liečiv?

3. Z klinického hľadiska je vhodnejšia zvýšená alebo znížená variabilita HR? Mení sa variabilita HR v závislosti od cirkadiálneho rytmu? Aký to má význam pre fyziologický/ patologický stav jedinca?
4. Prečo sa predpokladá, že zložka výkonného spektra v oblasti nízkej frekvencie obsahuje sympatickú aj parasimpatickú aktivitu?
5. Koreluje variabilita HF so zmenami pulzovej vlny?
6. Analýza HRV neukázala žiadne zmeny pri charakterizácii acidózy. Máte pre tento fakt vysvetlenie?

**Záverom** môžem konštatovať, že autorka preukázala kvalitné a rozsiahle vedomosti v študovanej problematike, využila komplexný metodický prístup k získaniu radu zaujímavých a originálnych výsledkov, ktoré prezentovala v odbornej vedeckej literatúre a preto predloženú dizertačnú prácu odporúčam k obhajobe a navrhujem Ing. Dagmar Jarkovskej udelenie akademického titulu

*philosophiae doctor (PhD).*

  
doc. MUDr. T. Stankovičová, CSc.

V Bratislave 20.7.2017

Doc. MUDr. Tatiana Stankovičová, CSc.  
Univerzita Komenského Bratislava  
Farmaceutická fakulta  
Katedra farmakológie a toxikológie  
Kalinčiakova 8  
832 32 Bratislava  
tel: 02/501 17 369  
e-mail: stankovicova@fpharm.uniba.sk