

Oponentní posudek doktorské dizertační práce MUDr. Radovana Fialy

Mechanické a morfologické vlastnosti lidských chlopenních štěpů v závislosti na délce kryoprezervace

Dizertační práce má rozsah 117 stránek a je doplněna čtyřmi přílohami z nichž tři jsou texty článků dizertanta, mající přímý vztah k práci. Členěna je do sedmi kapitol. Kladně hodnotím seznam použitých symbolů a zkratk, který výrazně ulehčuje čtení práce.

Obsáhlá úvodní kapitola uvádí čtenáře do problematiky chlopenních náhrad včetně testování jejich mechanických vlastností a morfologického hodnocení. Podrobně jsou popsány alografty (alotransplantáty srdeční chlopně – ASCH), na které je práce zaměřena. Uvedeny jsou jejich výhody i nevýhody.

S tématem práce bezprostředně souvisí popis odběru, přípravy a uchování chlopenního alograftu. Z pohledu biomechaniky je zajímavá pasáž věnovaná jejich funkci a patologii a to pro aortální i pulmonální chlopně.

Jeden odstavec úvodní kapitoly je věnován testování mechanických vlastností biomateriálů. Obsáhlý poslední odstavec pak popisuje morfologické hodnocení, které je zaměřené především na určení podílu elastinu a kolagenu ve zkoumané tkáni.

Následuje formulace cíle dizertační práce, kterým je určení mechanických a strukturálních vlastností nejdůležitějších částí alograftů a zejména jejich závislosti na délce kryoprezervace. Na základě výsledků této analýze hodlá dizertant ověřit hypotézu, že kryoprezervované alografty srdečních chlopní neztrácejí ani po doposud stanovené 5-leté maximální délce skladování své zásadní mechanické a strukturální vlastnosti. Potvrzení této hypotézy by dovolilo prodloužit expirační dobu pěti let a tak výrazně rozšířit nabídku ASCH.

Pro výzkum bylo k dispozici 64 alograftů a to 31 aortálních a 33 pulmonálních. Rozděleny byly do čtyř skupin 0, I, II, III podle délky kryoprezervace. V každé z takto vzniklých osmi skupin byly chlopně dárců různého věku a pohlaví. Z každé chlopně byly po standardním procesu rozmrazení odebrány vzorky z šesti pro funkci chlopně významných míst. Ty pak byly podrobeny testování mechanických vlastností a histologickému hodnocení.

Z mechanických vlastností byly určeny Youngovy moduly E_0 , E_1 a dále mezní napětí a mezní deformace. Při histologickém hodnocení bylo určeno zastoupení elastinu a kolagenu. Výsledky byly statisticky zpracovány a prezentovány ve čtvrté kapitole.

V první části této kapitoly jsou uvedeny výsledky velice přehledně pro jednotlivé skupiny 0-III. Zásadní jsou pak odstavce 4.5 a 4.6 ve kterých je provedeno srovnání vlastností na délce kryoprezervace a věkem a pohlavím dárců.

V tabulkách 20, 21 a 23, 24 jsou přehledně uvedeny rozdíly mezi jednotlivými intervaly kryoprezervace pro aortální a pulmonální alografty detailně pro jednotlivé vzorky.

V odstavci 4.6 je analyzována korelace mechanických a strukturálních vlastností ASCH a charakteristik dárců. Výsledky jsou velmi přehledně uvedeny v přílohách 1a až 1h.

V kapitole nazvané Diskuse autor nejprve do jisté míry opakuje historické poznatky a metody kryoprezervace. K vlastnímu hodnocení získané výsledků přistupuje na str. 102. Uvádí kriticky i omezení, které daný výzkum má.

V závěru pak konstatuje, že výsledky potvrzují hypotézu, že kryoprezervované alografty srdečních chlopní neztrácejí ani po 5 letech skladování své zásadní mechanické a strukturní vlastnosti. Navrhuje proto prodloužit expiraci aortálních alograftů na 6 let a pulmonálních na 8 let.

Následuje abstrakt a rozsáhlý seznam použité literatury. Práce je doplněna texty tří časopiseckých publikací.

Při posuzování práce jsem samozřejmě vzhledem k svému odbornému zaměření soustředil především na posuzování mechanických vlastností. K práci mám následující poznámky a dotazy:

1. Tvrzení „Vztah mezi napětím a deformací vyjadřuje Hookeův zákon deformace je přímo úměrná napětí“ neplatí obecně, jak by se z uvedeného mohlo zdát. Ostatně v dalším je uvedena nelineární závislost, kde toto neplatí.
2. V průběhu zatěžování dochází nejen k prodloužení ale změně průřezu. Je proto důležité uvést, k jakému průřezu jsou uváděná napětí vztažena a jak byl tento určen!
3. Význam veličiny p lze interpretovat takto:
 $p < 0.05$... statisticky významný *
 $p < 0.01$... statisticky významný **
 $p < 0.001$... velmi statisticky významný
Z tohoto pohledu se jeví řada údajů v tabulkách jako statisticky významné. Postrádám jednoznačně definované kritérium, kdy změna v parametrech je přípustná či nikoliv. Např. jaká změna v procentech té které veličiny je ještě přípustná. Bez tohoto se jeví některá tvrzení jako vágní. Jsem si samozřejmě vědom toho, jak obtížné by stanovení těchto kritérií bylo.
4. Co vedlo autora k navržení prodloužení expirace právě na 6 (aortální ASCH) resp. 8 let (pulmonální ASCH)? Přitom dle údajů odst. 4.5.2 se zdají být změny u pulmonálních ASCH významnější.
5. Jak rozumět větám na str. 82 nahoře?
6. Srovnání jednotlivých skupin s ohledem na délku kryoprezervace je samozřejmě ovlivněno tím, že se jedná vždy o jinou skupinu dárců s jiným věkovým rozložením i jiným poměrem mužů a žen. Toho si je doktorand vědom.

Hodnocení:

Práce se věnuje dozajista velmi aktuálnímu a potřebnému tématu. Dizertant použil adekvátní a dostupné metody. Zpracování výsledků je přehledné a ukazuje na velkou pečlivost autora. Domnívám se, že získané výsledky výrazně rozšiřují a obohacují danou oblast. O tom svědčí i přiložené publikace, z nichž dvě jsou s IF. Autor sám kriticky přistupuje k získaným výsledkům a je si vědom omezení, které s sebou nese daný počet vzorků. Práce tak vytváří podklad pro další práci v tomto oboru.

Výše uvedené připomínky, zejména č. 3., mají napomoci právě další precizace tohoto výzkumu.

Práce beze sporu splňuje nároky na dizertační práci a prokazují předpoklady autora k samostatné vědecké práci. Doporučuji proto, aby po úspěšné obhajobě byl MUDr. Radovanu Fialovy udělen titul Ph.D.