

Titl.

Děkanát 1. LF UK v Praze,
Kateřinská 32
121 08 Praha 2

V Praze, dne 28.2.2010

Věc: Oponentský posudek na doktorskou disertační práci – studijní program biomedicina –
oborová rada Experimentální chirurgie -
MUDr. Trča Stanislav

Tkáňová a klinická reakce při pentasacharidové prevenci

Cílem disertační práce bylo zjistit k jakému stupni ovlivnění obranné tkáňové reakce a změn hemostázy dochází u nemocných operovaných pro zlomeninu proximální části stehenní kosti, pokud jsou jim podávány různé druhy farmakologické prevence TEN.

V úvodu proto nejprve autor disertační práce uvádí obsáhlý přehled o současném stavu znalostí z této problematiky.

Jednak o vysokém riziku vzniku pooperační žilní trombózy a plicní embolie po této operaci, které vlastně předchází trauma při fraktuře a které ještě podporuje vysoké riziko vyplývající z poměrně vysokého věku nemocných (průměr věku sledovaných pacientů se pohyboval v rozmezí mezi 77-84 lety). Dále zde rozebírá otázky fyziologické obranné reakce organismu, které v pooperačním období přecházejí v trombofilii. Ta se může vymknout z regulace a vyústit až v trombotický proces při snížené mobilitě nemocných. Rozebírá také výsledky stávající farmakologické prevence s nefrakcionovaným heparinem (dále UFH) a nízkomolekulárními hepariny (dále LMWH) a výsledky nových studií prováděných s fondaparinuxem (dále FONDA), syntetickým pentasacharidem s již specifickým účinkem na hemostázu, kde inhibuje aktivovaný faktor Xa. Tato kapitola doplněná o poznatky z farmakokinetiky a farmakodynamiky uvedených antitrombotik svědčí o dobrém přehledu

autora disertace v této problematice, která je v oboru chirurgie stále aktuální. Je zde třeba také uvést, že autor disertační práce testoval vůbec poprvé pod vedením svého školitele nově vyvinuté antitrombotikum fondaparinux v klinickém pokusu v ČR. Na jiných pracovištích v republice nebyly s tímto farmakem ještě žádné zkušenosti.

V další části pak autor definuje vědeckou hypotézu a stanovuje i podmínky jejího ověření – to je výběr nemocných, druhů operačních postupů a použitých materiálů, postup při klinickém hodnocení a ověření zda u nemocných došlo k žilní trombóze - flebografie, nebo sonografie a také výběru laboratorních a statistických metod, které by měly z různých úhlů hodnotit pooperační změny hemostázy, reakce akutní fáze a zátěže endotelu vyvolané vlivem cytokinů typu IL – 1 a IL – 6 při hojivém procesu v pooperační době 28 dní. Odběry pro laboratorní vyšetření byly prováděny před operací (1.), do 6 hod po operaci (2.), dále za 7 (3.) a 28 dní (4.). I zde je třeba konstatovat, že autorem zvolený postup, včetně výběru statistických metod (Analýza rozptylu (ANOVA), t- testy, Friedmanův test, Wilcoxonův test a použitý software: SPSS verze 13.0, fa: SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) odpovídá stávajícím požadavkům na kvalitu vědecké práce.

Do studie bylo autorem disertační práce zařazeno po výběru celkem 146 pacientů ve věku, kteří utrpěli zlomeninu proximálního konce stehenní kosti a byli operováni na 1. chirurgické klinice VFN v období 2001 – 2006. Pacienti byli poté náhodným výběrem rozděleni do 4 skupin podle subkutánně podaného injekčního antitrombotika- UFH 3 x 5000 j s.c./24 hod, LMWH enoxaparinu 0,2- 0,4 ml 1 x denně s.c. a nového antitrombotika fondaparinuxu 1x denně 2,5 mg s.c., který byl aplikován buď 7 dní, nebo 28 dní po provedené operaci.

Autor zde dokazuje, že druhotné změny hemostázy – hyperkoagulace (zýšení hladiny fibrinogenu, D-dimeru a inhibitoru PAI-1 (Ag) zde spolu se známkami pooperační reakce akutní fáze (zvýšení orosomukoidu, pokles transferinu) a zvýšení solubilních cytoadhezivních molekul, zejména sICAM-1 přetrvává po celou dobu sledování – to je nejméně 28 dní po provedené operaci ve všech sledovaných skupinách pacientů.

Pokusil se také na základě získaných laboratorních dat z provedených vyšetření vyhodnotit vliv jednotlivých antitrombotik a porovnat i možný vliv délky podávaného fondaparinuxu

Dochází k těmto závěrům :

Pokud byly sledovány výsledky jednotlivých koagulačních testů nedošlo při sledování INR a APTT v žádné skupině k výhylce průměrných hodnot v jednotlivých odběrech mimo referenční rozmezí. Pokud zde byly zjištěny statisticky významné změny neměly žádný klinicky významný korelát. Pokud byl sledován trombinový čas –TT, byl nalezen shodný

vývoj v obou skupinách s fondaparinuxem a u nemocných s profylaxi nefrakcionovaným heparinem, to je vzestup v 2.odběru (po operaci), pokles v 3.odběru (po týdnu) a opětný vzestup v 4.odběru (po měsíci). Ve skupině s LMWH byl zaznamenán vzestup v 2. (po operaci) i 3. odběru (po týdnu). Při srovnání průměrných hodnot na počátku a konci sledování byl nalezen statisticky významný vzestup průměrných hodnot ve skupinách s dlouhodobou léčbou FONDA, UFH a LMWH. Ve skupině s krátkodobou léčbou FONDA statistická významnost v tomto časovém intervalu nalezena nebyla. Při sledování aktivity antitrombinu v plasmě sice k výchylce průměrných hodnot z referenčního rozmezí nedošlo, ale ve všech skupinách byl nalezen statisticky významný pokles mezi 1. a 2. odběrem. V 3. odběru pak již došlo ve všech skupinách opět k nárůstu. V koncentraci D-dimeru byl nalezen statisticky významný nárůst mezi 1. a 2. odběrem v obou skupinách s FONDA a poté statisticky nejvýraznější pokles D-dimerů mezi 2.a 3. odběrem v porovnání s dynamikou změn koncentrací D-dimeru při profylaxi s LMWH nebo UFH. Opětovný návrat do referenčního rozmezí průměrné hodnoty v 4.odběru – to je po 28 dnech byl nalezen jen ve skupině po celou dobu léčených FONDA. Autor z toho správně vyvozuje, že profylaktický účinek FONDA, pokud je podáván po celou dobu 28 dní je v tomto případě ze všech použitých terapeutických režimů a antitrombotiky nejúčinnější z hlediska monitorování změn hemostázy, v tomto směru trombofilie.

Při sledování parametrů krevního obrazu byl zaznamenán statisticky významný strmější vzestup WBC ve skupinách s FONDA, ve všech skupinách se pak WBC po celou dobu sledování 28 dní udržovaly v průměru na horní hranici normy. Hodnoty hemoglobinu, MCV a MCHC byly ve všech skupinách při dolní mezi normy laboratoře, nedošlo tedy v žádném případě k vážné anemii. Při hodnocení počtu destiček (PLT) byl zaznamenán statisticky významný výraznější vzestup v 3.odběru v obou skupinách s FONDA ve srovnání se skupinou s UFH. Dále byla zaznamenána nejnižší průměrná hodnota v celém sledovaném souboru a čase - pooperačně a po měsíci ve skupině UFH. Ovšem bez klinických projevů H.I.T.

Pokud byly sledovány změny proteinů akutní fáze – pozitivních :CRP, orosomukoidu a negativních: prealbuminu a transferinu – odpovídala dynamika jejich změn rozvoji reakce akutní fáze v pooperačním období s klesajícím trendem u orosomukoidu ve všech skupinách po 28.dnech, kdy došlo ke snížení průměrných hodnot, nikoli však k normalizaci. Tedy stav, který upozorňuje na trvající zátěž a odezvu organismu i po měsíci. U negativních – zejména transferinu je pokles průměrných hodnot v 2.odběru (po operaci). K normalizaci průměrných hodnot pak dochází po měsíci. Alfa2M zprvu klesá, po týdnu je pak nalezen vzestupný trend.

Fibrinogen zde byl hodnocen jako protein akutní fáze- měl stejnou dynamiku jako orosomukoid. Ve všech skupinách byl nalezen vzestupný trend parametru. K návratu průměrných hodnot do referenčního rozmezí nedošlo v žádné ze skupin ani po měsíci. Podobně se choval PAI-1 . Vzájemný poměr řádové převahy PAI nad t-PA byl po celou dobu sledování zachován.

Sledované koncentrace solubilních cytoadhezivních molekul vykazaly opět změny. sICAM-1 nejprve pooperačně pokles, pak ale po týdnu nárůst a zvýšení nad normu přetrvávalo i po 28 dnech, zde však více než po UFH a LMWH. sE-sel ukázal ve všech skupinách nalezen obdobný vývoj. Žádná z průměrných hodnot však nevybočila z referenčního rozmezí. sP-sel vykazal ve všech skupinách shodný trend poklesu hodnot po operaci a vzestup po týdnu ve skupinách s UFH a LMWH a po měsíci ve i ve skupinách s FONDA. Žádná z nalezených průměrných hodnot však nevybočila z referenčního rozmezí.

Autor z uvedených výsledků pak velmi správně ukazuje na to, že změny koagulace (zejména koncentrace D-dimerů), proteinů akutní fáze (fibrinogen, PAI-1, orosomukoid) a zánětlivé dysfunkce endotelu (sICAM-1) ukazují na trvalý zvýšené riziko vzniku žilní trombózy ve všech skupinách léčených pacientů i po 28 dnech, ale při vzájemném porovnání nemocní s FONDA , zejména při dlouhodobém podávání, vykazují nižší míru aktivace koagulační a fibrinolytické kaskády. Tedy vyšší míru stability hemostázy a její regulace, včetně endotelu. Odpovídá to také v literatuře uváděným větším úspěchům v profylaxi TEN u nemocných po operaci fraktury, kde je podle závěrů 8. ACCP (Chest, Suppl., 2008) FONDA k profylaxi indikován na prvním místě, jako 1A.

Autor zde také správně v celkovém hodnocení udává, že celkového profylaktického účinku je třeba dosáhnout při vyhodnocení všech rizik TEN , jako je třeba i dědičná trombofilie- zde v jednom případě byla žilní trombóza zaznamenána u nosiče trombofilní mutace FV Leiden, ale také nezbytné rehabilitace a kombinace farmakologické profylaxe s mechanickou (kompresivní punčochy a j.).

Dizertační práce má 131 stran textu doplněného 42 grafy statistických nálezů a 68 tabulkami. Literatura uvádí přehled písemností k tématu z posledních 15 let, celkem je zde citováno 77 prací z našeho a zahraničního písemnictví. Rozdělení kapitol je přehledné, z chyb lze vytknout několikrát v textu uvedený „počeštěný“ název fondaparín , místo správného pojmenování fondaparinux.

K práci mám ještě tyto otázky:

1. Jakým laboratorním způsobem lze kvantifikovat účinek fondaparinuxu v organizmu ?
2. Který způsob profylaxe žilní trombózy v perioperačním období po operaci fraktury horního konce kosti stehenní by autor disertace zvolil v případě, že se jedná o osobu se zvýšeným sklonem ke krvácení?

Závěr oponentského posudku:

Autor disertační doktorské práce splnil hlavní cíle výzkumu a plně osvědčil, že je schopen samostatné vědecké práce při klinickém experimentu.

Doktorskou disertační práci hodnotím kladně a doporučuji, aby MUDr. Stanislavu Trčovi byl po úspěšné obhajobě a správné odpovědi na kladené otázky udělen titul PhD.


Prof. MUDr. Jan Kvasnička DrSc.

Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky,
Centrální hematologická laboratoř a Trombotické
Centrum, 1.LF UK v Praze

Příloha: disertační práce

1x zpět.