

**ÚVN**ÚSTŘEDNÍ VOJENSKÁ NEMOCNICE
PRAHAUNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
2. LÉKAŘSKÁ FAKULTAChirurgická klinika 2. LF UK
a ÚVN Prahaplk. prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc.
přednosta kliniky

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta
Děkanát – oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky
Kateřinská 32
121 08 Praha 2

V Praze 25.5.2009

Oponentský posudek disertační práce : Užití gemcitabinu v antirejekční terapii na experimentálním modelu transplantace jater.

Autor: MUDr. Hynek Mergental
student doktorského studijního programu experimentální chirurgie na 1. lékařské fakultě UK v Praze

Charakteristika práce

Disertační práci z oblasti experimentální chirurgie je předložena ve vázané formě a je zpracována na 47 stranách. Práce kromě textu obsahuje 14 schématických obrázků a fotodokumentaci, 4 tabulky, seznam použitých zkratek. V práci je seznam 29 literárních odkazů. Většina odkazů je z angloamerické literatury, 5 odkazů je z českých literárních zdrojů. Ve 2 literárních odkazech je autor práce uveden jako první autor a ve 2 odkazech jako spoluautor.

Popis práce

Předkládaná práci je rozdělena do dvou hlavních částí. První obsáhlější obecná část je věnována problematice a podrobnému popisu techniky ortotopické transplantace jater na malém zvířeti (rOLTx). V druhé části autor popisuje experimentální model akutní rejekce u transplantace jater, udává hlavní charakteristiku podávaných léčiv a popisuje vlastní pozorování. Následuje kapitola s prezentací výsledků, diskuse a závěrečná kapitola. Práce je logicky členěna do 7 kapitol.

V krátké úvodní kapitole autor přibližuje pojmy experimentální model transplantace jater, model akutní rejekce v experimentu (AR) a stručně definuje hlavní cíle práce.

V další kapitole o metodice je popsán historický vývoj náročné techniky transplantace jater na malém zvířeti a jeho využití v experimentu. Metoda rOLTx s reartelizací štěpu je dnes považována za standardní model transplantace jater u potkana a je využíván ve především ve studiích s předpokladem dlouhodobějšího přežití zvířat. V další části této kapitoly je přiblížena problematika anestesie, výběru zvířat a jejich příprava k odběru štěpu a transplantaci. Následují dvě kapitoly detailně popisující postup a mikrochirurgickou techniku odběru jaterního štěpu a techniku vlastní ortotopické transplantace jater. Zvláštní pozornost je věnována popisu rekonstrukce hepatické arterie a „cuff techniky“ při rekonstrukci cévních anastomóz. Vedle zasvěceného popisu metodiky, autor upozorňuje na úskalí a jednotlivé klíčové body postupu. Obě kapitoly jsou přehledně doplněny autorovou vlastní fotodokumentací. V posledních dvou kapitolách první části práce je uvedena charakteristika používaných preparátů a hlavních

mechanizmů jejich účinků (Gemcitabin, Cyklosporin A). Rovněž je popsán model akutní rejekce transplantace jater v experimentu, který byl převzat z literatury a použit ve studii. K hodnocení aktivity AR byl autorem použit semikvantitativní test podle Banffského schématu.

V druhé části práce, rozdělené do jednotlivých kapitol, autor popisuje vlastní experiment ve kterém testuje a porovnává ovlivnění AR při aplikaci Gemcitabinu a Cyklosporinu A. Testovaná zvířata byla rozdělena do dvou skupin a výsledky porovnávány s výsledky v kontrolní třetí skupině zvířat (bez podané imunosuprese). Zvířata ve všech skupinách byla utracena 7. den po rOLTx s odebráním krevních vzorků a tkáně jaterního štěpu k histologickému vyšetření.

Při stručné prezentaci výsledků, autor dokumentuje, že histopatologické nálezy svědčící pro AR byly rozdílné v každé skupině zvířat. Při vzájemném porovnání jednotlivých skupin byly tyto rozdíly hodnoceny jako statisticky významné. Tyto nálezy jsou přehledně sumarizovány v tabulce. Morfologické změny svědčící pro těžkou AR rejekci byly pozorovány ve skupině zvířat bez podané imunosuprese. Ve skupině s podávaným Cyklosporinem A nebyla AR zaznamenána. Ve skupině zvířat s aplikací Gemcitabinu byly pozorovány morfologické známky středně závažné AR. V korelací s morfologickými změnami byly pozorovány rozdíly mezi jednotlivými skupinami při hodnocení sérových koncentrací transamináz a bilirubinu. Statisticky signifikantně vyšší hodnoty byly pozorovány ve skupině zvířat s těžkou AR rejekcí (bez imunosuprese) oproti skupinám zvířat s aplikovanou imunosupresí. Nefrotoxicita preparátu byla dle očekávání potvrzena ve skupině zvířat s Cyklosporinem A, kde byly naměřeny signifikantně vyšší hladiny urey a kreatininu ve srovnání se skupinou s Gemcitabinem.

V diskusi autor zdůrazňuje technický aspekt rOLTx. Především technickou náročnost rOLTx a celosvětově literárně dokumentovanou obtížnost její zavedení jako standardní metody pro studium transplantace jater v experimentu. V současné době je tato metoda zavedena i u nás a je součástí experimentálních modelů používaných v transplantologii. Na základě prvních literárních zkušeností s Gemcitabinem jako imunosupresivem u experimentální transplantace srdce a ledvin, byl v předkládané práci preparát testován u rOLTx. Autor diskutuje rozdílný design vlastní práce a literárních sdělení. Uvedené literární studie hodnotily antirejekční vliv na základě přežívání zvířat po transplantaci. Ve předkládané studii je antirejekční vliv preparátu hodnocen na základě koncentrace sérových hladin aminotransferáz a bilirubinu a na základě morfologických změn 7. den po rOLTx. Autor předpokládá, že tyto změny korelují s dlouhodobým přežíváním zvířat po rOLTx. Rejekční změny byly hodnoceny pomocí standardizovaného indexu aktivity rejekce. V obavě před závažnými nežadoucími účinky a předčasným úhynem zvířat byla ve studii použitá dávka Gemcitabinu 100 ug/kg/den, tedy nižší než v citovaných studiích. Jiné citované práce, naopak uvádějí tuto dávku pro ovlivnění AR jako dostatečně účinnou. Při užití uvedeného dávkování Gemcitabinu autor neprokázal významné ovlivnění AR v časném období po rOLTx. Ve srovnání s Cyklosporinem A byla prokázána nižší nefrotoxicita Gemcitabinu.

V závěru práce autor stručně konstatuje, že Gemcitabin není vhodný k antirejekční monoterapii po rOLTx. Využití preparátu v eventuální kombinaci s jinými imunosupresivy bude nutné testovat v dalších experimentálních studiích, nicméně jeho přínos a využití pro klinickou transplantaci jater vyznívá skepticky.

Připomínky

Obsah nemá číselnání stránek a toto stěžuje orientaci v textu.

Číselnání stránek v práci končí na stránce 30, zřejmě technickým nedopatřením číselnání dále nepokračuje. V práci jsou drobné překlepy (např. inhibice místo inhibice).

Obrázky nemají uvedený zdroj čerpání.



V textu není uveden odkaz na tabulku č. 1.

Některé kapitoly a pasáže jsou velmi stručné. Vzhledem k problematice a zaměření práce by zejména diskuse a počet literárních odkazů mohly být obsáhlejší.

V diskusi a v závěru autor zmiňuje model alogenní transplantace střeva v experimentu. Tato problematika nesouvisí se zadáním a názvem disertační práce.

Závěr

Přes uvedené připomínky neshledávám zásadní nedostatky v předložené disertační práci. Práce je podložena vlastními zkušenostmi autora v technicky náročné oblasti experimentální chirurgie. Po formální stránce práce splňuje požadavky na způsob zpracování disertační práce. Práce přináší detailní popis standardizovaného modelu transplantace jater a modelu akutní rejekce v experimentu, který byl právě autorem poprvé použit v našich podmírkách. V druhé části práce je popsána aplikace metody při testování a srovnání účinku dvou imunosupresiv na ovlivnění akutní rejekce při transplantaci jater. Dosažené výsledky jsou korektně statisticky zpracovány a zhodnoceny. Aktuálnost a přínos práce spočívá v zavedení standardního modelu transplantace jater v experimentu a ověření jeho funkčnosti v našich podmírkách.

Vyjádření

Na základě předložené disertační práce a s přihlédnutím k přiloženému seznamu vlastní publikáční činnosti se domnívám, že autor prokázal schopnost metodické práce a předpoklady pro další odborný a vědecký růst. Doporučuji po úspěšném obhájení disertační práce udělit MUDr. Hynku Mergentalovi titul „Ph.D.“.

Otázky na autora:

1. Mohly být výsledky a závěr práce ovlivněny malým počtem zvířat v jednotlivých srovnávaných skupinách?
2. Lze očekávat lepší efekt a větší ovlivnění AR užitím Gemcitabinu v kombinaci s dalšími imunosupresivy?

doc. MUDr. František Bělina, CSc.
Chirurgická klinika 2. LF UK a ÚVN Praha
U Vojenské nemocnice 1200
169 02 Praha 6

