

Handwritten mark or signature in the top right corner.

Chirurgická klinika LF UK a FN v Plzni na Lochotíně

alej Svobody 80, 304 60 Plzeň

Přednosta: prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.

tel.: 377 104 270, e-mail: treska@fnplzen.cz

Sekretariát kliniky – tel.: 377 104 271

fax: 377 103 965

e-mail: haasova@fnplzen.cz



Vážený pan

Doc. MUDr. Ondřej Hrušák, Ph.D.

děkan 2. Lékařské fakulty UK

V Úvalu 84

150 06 P r a h a 5 – Motol

V Plzni dne 17.7.2009

Vážený pane děkane,

dovoluji si Vám zaslat svůj posudek na doktorskou dizertační práci MUDr. Jana Burkerta s názvem „Změna kvality povrchu alogenního chlopenního štěpu během zpracování – morfologické změny sledované skenovacím mikroskopem“. Bohužel se musím omluvit z obhajoby doktorské dizertační práce dne 16. září 2009, neboť jsem v zahraničí na chirurgickém kongresu.

S úctou

Prof. MUDr Vladislav Třeška, DrSc.
přednosta chirurgické kliniky



Posudek doktorské dizertační práce MUDr. Jana Burkerta s názvem „Změna kvality povrchu alogenního chlopenního štěpu během zpracování – morfologické změny sledované skenovacím mikroskopem“.

Doktorská dizertační práce je prací z oboru klinického experimentu a je psána spisovnou češtinou na 92 stránkách. Dizertační práce je doplněna vysoce aktuálními citacemi z literatury o celkovém počtu 174 citací. Práce je opatřena velmi názornou a graficky precizní dokumentací tvořenou histologickými obrázky, grafy a tabulkami. Je členěna na úvod, materiál a metodiku, výsledky, diskuse a závěr a je psána zcela jasnou, pro čtenáře velmi čtivou a přehlednou formou.

Práce vychází z motolského pracoviště, které je pracovištěm prioritního významu v oblasti tkáňové banky srdečních chlopní, kdy toto pracoviště nemá pouze prioritu v České republice, ale patří mezi světově uznávaná pracoviště s vynikajícími výsledky. Dizertační práce MUDr. Jana Burkerta vychází ze stále diskutovaného tématu, tj. náhrady chorobou postižených srdečních chlopní, ať již umělou náhradou či využitím tzv. biologické protězy – alograftu či xenograftu. Smyslem celé práce je přinést další nové, klinicky aplikovatelné poznatky do této velmi zajímavé, nicméně velmi složité problematiky. Práce si klade za svůj zásadní cíl zhodnotit využití chlopenních alotransplantátů na základě zjištění kvality tkáně těchto štěpů v procesu jejich zpracování podle nejnovějšího protokolu vlastní tkáňové banky a navrhnout určitá opatření, která by zlepšila dále kvality používaných štěpů a tedy zlepšila i středně a dlouhodobé výsledky alograftů v srdeční chirurgii. Jako metodu hodnocení kvality štěpů autoři využili jim dostupnou metodiku sledování povrchových endoteliálních změn těchto chlopní pomocí skenovacího mikroskopu. Autor se podrobně zabývá technikou vlastní přípravy aortálního a plicnicového alograftu, technikou skladování pomocí kryoprezervace a s tím spojeným i rozmrazovacím procesem a přípravě štěpů k vlastní transplantaci. Autor vyšetřil celkem 20 chlopenních alograftů, z toho 9 aortálních a 11 pulmonálních, ze kterých využil celkem 40 vzorků, 20 na cévní povrch a 20 na komorový povrch chlopně. Tyto vzorky pak rozdělil dle způsobu zpracování a uskladnění do 5-ti skupin a hodnotil povrch vzorku pomocí elektronového mikroskopu. Stanovil morfologická kritéria poškození struktury alograftu a využil skórovací 6-ti stupňový systém.

Na základě detailního zpracování vzorků pomocí elektronového mikroskopu došel autor k závěru, že jednotlivé fáze zpracování vzorků vedou k významnému poškození až k úplné ztrátě endotelů, která je závislá na době teplé ischemie, na uskladnění alograftu ve fyziologickém roztoku či kultivačním médiu E 199 s roztokem antibiotik. Na základě těchto výsledků, které byly velmi podstatné pro klinickou praxi, motolské pracoviště pak ustoupilo od krátkodobého kontaktu alograftu s fyziologickým roztokem, neboť byl zjištěn značně devastující účinek fyziologického roztoku, který byl již v minulosti popsán. Chlopně tak byly ihned ukládány k perfuzním roztokům pro odběr orgánů a cévních štěpů nebo přímo v kultivačním médiu E 199. Zajímavý byl i poznatek, že kryoprezervace nevede k dalšímu poškozování tkáně. Autor na základě svého klinického experimentu zjistil, že zpracované alografty jsou při současných prezervačních podmínkách implantovány bez endotelu a dosud není jasné, zda poškození fibroblastů a extracelulárních matrix probíhá simultánně s poškozením povrchových struktur nebo k němu dochází až déle po implantaci chlopně, což je proces, který je samozřejmě podstatný pro mechanické vlastnosti i dlouhodobé funkční vlastnosti a trvanlivosti alograftu. V závěru autor uvádí, že studie splnila své cíle a jednoznačně povede ke změně protokolárního postupu při zpracování chlopenních alograftů, tj. vynechání lázně alograftů ve fyziologickém roztoku. Autor předpokládá, že změna tohoto postupu se nebude týkat pouze aortálních a pulmonálních alograftů, ale v budoucnosti bude platit i pro zpracování mitrálních chlopní. Dalším důležitým poznatkem

práce je, že prozatím by se měly odebírat aortální a pulmonální alografty pouze z tzv. heart beating donors, tj. s minimalizací teplé ischemie, která značnou měrou poškozuje vlastní alograft, což bylo jasně dokumentováno ve stávající doktorské dizertační práci. Rovněž zkrácení doby studené ischemie, tedy skladování chlopenních alograftů, bude mít zásadní význam pro zlepšení funkčních vlastností alograftů, kdy v ideálním případě by bylo vhodné alografty kryoprezervovat bezprostředně po ukončení jejich sterilizace.

Předkládaná dizertační práce je prací, která využila dokonale zkušenosti a poznatky tkáňové banky motolského transplantačního centra a vedla k velmi významným poznatkům, které nepochybně dále přispějí k dalšímu rozšíření využití alograftů v kardiovaskulární chirurgii. Jedná se o práci velmi zajímavou s velmi kvalitním klinickým impaktem, což považuji za zásadní, zejména v oblasti transplantační chirurgie.

K doktorské dizertační práci nemám žádných zásadních připomínek a plně ji doporučuji k obhajobě. Po úspěšné obhajobě doporučuji, aby MUDr. Janu Burkertovi byl udělen titul Ph.D.

K autorovi má následující dotaz:

Bylo by jistě zajímavé sledovat pomocí imunohistochemických testů změny v oblasti média a adventicie u zkoumaných alograftů, zejména z hlediska prozánětlivých cytokinů a adhezivních molekul. Domnívám se, že hodnocení těchto změn před implantací alograftu by mohlo zásadní měrou predikovat především mechanické vlastnosti a další histopatologický vývoj alograftu po jeho implantaci. Na základě výše uvedeného bych se rád autora zeptal, jaký má názor na vliv těchto změn a event. možnosti jejich ovlivnění pro další pooperační vývoj alograftu.

V Plzni dne 17.7.2009

Prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.
přednosta Chirurgické kliniky FN a LF UK v Plzni

