



**Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany  
Ústav molekulární patologie**

Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové  
Tel.: 973 255 201, Fax: 495 513 018

---

## **Oponentský posudek disertační práce**

Název práce:

**Záněťová odpověď indukovaná kardiochirurgickou operací v mimotělním oběhu; vliv metylprednisolonu v náplni oběhu.**

Předkládá: Mgr. Martina KOLÁČKOVÁ

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové,  
DSP Lékařská imunologie

Mgr. Martina KOLÁČKOVÁ vypracovala svoji disertační práci pod vedením přednosty Ústavu klinické imunologie a alergologie FN HK prof. RNDr. Jana Krejska, CSc.. Tato práce sleduje vybrané buněčné znaky (CD163, FcγRI, FasR, TLR2 a TLR4) na krevních monocytech a granulocytech a produkci IL-10 a IL-6 v sérech pacientů, které podstoupili kardiochirurgickou operaci.

Cílem hodnocené disertační práce bylo 1/ sledovat dynamiku imunitní odpovědi u kardiochirurgických pacientů operovaných pro ischemickou chorobu srdeční, 2/ porovnat imunitní odpověď u dvou skupin pacientů; do první skupiny byli zařazeni pacienti, u kterých byl v náplni mimotělního oběhu použit metylprednisolon a do druhé skupiny pacienti s náplní bez metylprednisolonu a 3/ vyhodnotit vliv pre-existujících klinických faktorů na vybrané ukazatele zánětu a zhodnotit vliv záněťové reakce na pooperační komplikace.

Práce je sepsána v rozsahu 154 stran, je standardně členěna do následujících kapitol: úvod a teoretická část, cíl práce, materiál a metody, výsledky, diskuze, závěr, literatura, přehled publikační činnosti autora a přílohy, tvořené 8 publikacemi. Rozsah použitých zkratk je odpovídající.

V teoretické části nás autorka seznámila se vznikem a charakterem onemocnění aterosklerózou a technikou operací s mimotělním oběhem a změnami indukovanými tímto typem operací. Dále pak velmi podrobně popsala charakteristiku a funkci jednotlivých sledovaných znaků a cytokinů.

V experimentální části je popsán soubor pacientů, podmínky operací, anestézie a pooperační péče. Co se týče vlastní metodiky analýzy vzorků je popsán odběr vzorků, stanovení počtu buněk, příprava vzorků a měření na průtokovém cytometru a příprava vzorků a stanovení cytokinů metodou ELISA. Analýzy vzorků krve pacientům byly provedeny před operací, po ukončení mimotělního oběhu, ihned po ukončení operace a první, třetí a sedmý den po operaci. Pomocí průtokové cytometrie byly stanoveny monocyty v populaci leukocytů z FSC/SSC a současné pozitivní exprese CD14. Granulocyty byly určeny podle morfologie (vysoký SSC) a pomocí nízké exprese CD14. U těchto buněčných populací byla pak sledována exprese jednotlivých povrchových molekul CD163 (receptor pro hemoglobin-haptoglobin), CD64 (FcγRI), CD95 (FasR), TLR2 a TLR4. V odebraných vzorcích krve byly pak stanoveny sérové koncentrace IL-10 a IL-6. Pro statistické vyhodnocení dynamiky měřených parametrů byly hodnoty stanovené v průběhu operace a po operaci porovnávány s hodnotami předoperačními. Dále bylo provedeno porovnání mezi oběma skupinami. Pro analýzu získaných výsledků byla použita celá řada statistických test, programem použitých statistickou analýzu Statistica9.

V kapitole výsledků jsou uvedeny tabulky a grafy (včetně odchylek a výsledků testů signifikance), které ukazují počet leukocytů, relativní zastoupení monocytů a granulocytů, dynamiku exprese sledovaných znaků a produkce cytokinů a to vždy u obou sledovaných skupin pacientů s/bez metylprednisolonu (MP). U obou skupin pacientů byl pozorován zvýšený počet leukocytů až do 3. dne po operaci, nicméně relativní zastoupení monocytů bylo u obou skupin snižené. U skupiny pacientů s MP bylo relativní zastoupení monocytů signifikantně nižší než bez MP. Autorka se domnívá, že MP v primární náplni negativně ovlivňuje procento monocytů a to ve prospěch granulocytů, kterých v průběhu pooperačního stavu významně přibývá. Přesto, že má MP negativní vliv na přítomnost monocytů v krvi, v jeho přítomnosti dochází k zvýšené expresi molekuly CD163, která je vychytávací receptor pro komplex haptoglobin s hemoglobinem a tedy důležitou molekulou při krvácivých stavech. Dalším protizánětlivým měřeným faktorem byl interleukin 10, který se signifikantně zvyšoval u obou skupin a opět signifikantně více u skupiny s MP. U obou skupin se dále zvyšovala exprese molekuly FcγRI a to jak na monocytech tak granulocytech.

Jak autorka uvádí v závěru, ačkoliv metylprednisolon podporuje produkci proti zánětových parametrů, co se týká vlivu na pro zánětových proteinů, je jeho role nejasná. Nicméně souvislost mezi aplikací MP a vyšším a nižším výskytem pooperačních komplikací nebyl pozorován, jak je patrné z výsledků uvedených v kapitole sledující vztah parametrů k pre- a po-operačním charakteristikám u pacientů se selháním orgánům a diabetes mellitus.

Disertační práce Mgr. Martiny Koláčkové je napsaná velmi dobrou češtinou, bez chyb, všechny kapitoly jsou jednoznačně pochopitelné, obsahuje velký soubor literatury velmi dobře zpracované. Mgr. Koláčková je první autorkou 4 původních článků se souhrnným IF 8.704, spoluautorkou 13 původních článků se souhrnným IF 10.695 a spoluautorkou 18 přehledových článků se souhrnným IF 9.937.

#### **Dotazy oponenta k obhajobě disertační práce:**

1/ V teoretické části, kdy autorka popisuje jednotlivé molekuly uvádí v kapitole 1.5.3., že TLR receptory spouští signální dráhy, které vedou k produkci pro zánětových cytokinů, jako je IL-6 a TNF- $\alpha$ . Dále v kapitole 1.7.2. uvádí, že exprese genu *il-10* je vyvolána také stimulací TLR. Interleukin 10 je uváděn jako proti zánětový cytokin. Mohla by autorka objasnit mechanismy a důsledky signalizace přes TLR.

2/ V kapitole 3.1 (Soubor pacientů) uvádí autorka metodiku výběru pacientů do této studie, tak že byli vybíráni pacienti s operačním rizikem spočítaným pomocí logistického EUROSCORE I menší než 5%. Mohla by autorka vysvětlit podmínky jak byli pacienti vybíráni, popř. vysvětlit co to je EUROSCORE I.

3/ Na straně 87 je uvedeno, že ve skupině s metylprednisolonem dosahoval septický pacient první den po operaci vůbec nejvyšších hodnot exprese CD163. Myslí si autorka, že by bylo dobré se zaměřit na další výzkum zabývající se korelací exprese CD163 a septických stavů u pacientů podstupujícím mimotělní operace?

4/ Methylprednisolon působí při mimotělní operaci jak pozitivně tím, že se zvyšuje exprese CD163, tak negativně tím, že přibývá poměrné zastoupení granulocytů na úkor monocytů. Domnívá se autorka, že je vhodné metylprednisolon během operace podávat či ne a proč.

**Závěr:** Mgr. Martina KOLÁČKOVÁ získané výsledky úspěšně publikovala v časopisech s IF a v recenzovaných časopisech. Předložená disertační práce splnila dané cíle a zodpověděla zadané otázky, které si v úvodní části kladla.

**Předložená disertační práce Mgr. Marty KOLÁČKOVÉ splňuje požadavky standardně kladené na disertační práce a jednoznačně doporučuji její přijetí k obhajobě.**



pplk. doc. RNDr. Zuzana Kročová, Ph.D.

Fakulta vojenského zdravotnictví

Univerzita obrany Hradec Králové

V Hradci Králové 23. 6. 2014