

## **Teze k habilitační přednášce:**

**Jan Vojáček**

### **Kryoprezervované chlopenní alografty**

Během posledních šedesáti let se chirurgická léčba vad srdečních chlopní posunula od teoretických úvah do rutinní medicíny. Ani po 40 letech vývoje však nemáme k dispozici ideální chlopenní náhradu, tedy bezpečný jednocestný ventil, který by se technicky snadno implantoval, nepoškozoval by krevní elementy, byl netrombogenní, napodoboval by reologii nativní lidské chlopně a fungoval neomezeně dlouho. Prakticky od samého začátku jsou paralelně vyvíjeny chlopenní protézy mechanické (z ušlechtilých kovů, grafitu a umělých hmot) a biologické – xenotransplantáty z tkání zvířat (především hovězí a vepřové) a alotransplantáty (alografty, homografty) z lidské kadaverózní tkáně. Zvláštní skupinu biologických chlopní tvoří autotransplantáty (autologní plicnice pacienta může být použita k náhradě jeho vlastní aortální či mitrální chlopně).

Aortální alograft může být teoreticky použit k náhradě aortální, pulmonální, raritně i mitrální či trikuspidální chlopně. Tato specifická biologická protéza je stále diskutována z aspektu zpracování tkáně (Tissue Banking) i z aspektu klinického použití – tedy chirurgické techniky implantace a dlouhodobých výsledků. Plicnicové alografty se používají zejména v dětské kardiologii anebo stále častěji k náhradě výtokového traktu pravé komory jako součást tzv. Rossovy operace. Mitrální alografty se v kardiologii používají raritně a nikdy se výrazněji nerozšířily.

Mezi obecné výhody chlopenního alograftu (ve srovnání s mechanickou a/nebo biologickou protézou) patří:

1. Maximální možná (téměř fyziologická) EOA (Effective Orifice Area), která je srovnatelná s nativní chlopní event. pulmonálním autografem a současně výrazně větší, než všechny používané stentované i bezstentové chlopně.
2. Má potenciál „dilatace anulu“ a zvětšení EOA v případě zvýšených nároků na srdeční výdej – např. při zátěži.
3. Je minimálně trombogenní a není proto nutná žádná antikoagulační či antiagregační medikace.

4. Je naprosto nehlučný.
5. Je relativně odolný proti infekci.

Vedle výhod, má ale použití alograftu i své závažné nevýhody:

1. Limitovaná životnost (zejména u velmi mladých nemocných lze s vysokou pravděpodobností očekávat rozvoj degenerativních změn, které mohou vyústit až v potřebu nové náhrady).
2. Vyšší technickou náročnost implantace.
3. Limitaci v dostupnosti (danou počtem dárců a dostupností tkáňové banky), což neplatí v naší zemi.

Je nutno zdůraznit, že mluvíme-li o užití alogenní lidské tkáně v chlopenní chirurgii, máme na mysli zejména alografty aortální a pulmonální. V současnosti jsou alogenní chlopenní štěpy nejčastěji užívány v chirurgii vrozených srdečních vad v dětském a juvenilním věku, ale užití nalézají i v kardiochirurgické léčbě dospělých nemocných. Základní indikací pro použití aortálního alograftu u dospělých je infekční endokarditida aortální chlopně. Z dalších indikací se aortální alograft používá k náhradě aortální chlopně jako alternativa xenotransplantátu.

V průběhu let se měnil i způsob zpracování chlopenních alograftů. Nejprve to byla chemická fixace tkáně a dále pak sterilizace alograftu pomocí antibiotik. Kryoprezervace byla poprvé použita v procesu zpracování chlopenních alograftů v roce 1975 O'Brien a od té doby je jednoznačně nejpoužívanější metodou. Její výhody jsou možnost dlouhodobého uchování (řádově roky) a šetrná prezervace tkáně, která za dodržení určitých pravidel může zachovat strukturální integritu a dokonce i viabilitu alograftu.

Zachování strukturální integrity a viability alograftu, tj. endotelových buněk a fibroblastů se zdá být důležité pro udržení dlouhodobé dobré funkce alograftu a jeho biofyzikálních vlastností. Viabilita se pravděpodobně podílí i na zvýšené rezistenci alograftu k infekci.

Proto je maximální snaha, aby během procesu odběru a zpracování byla viabilita a strukturální integrita alograftů alespoň částečně zachována. Obě tyto proměnné jsou zejména ovlivněny způsobem odběru (odběr od heart-beating versus non heart-beating), dobou teplé a studené ischémie, způsobem antibiotické sterilizace a konečně samotným procesem kryoprezervace. Všechny tyto fáze procesu významně ovlivňují tzv. předimplantační viabilitu

alografu. Koncepce tzv. viabilního chlopenního alograftu má i své nevýhody. Viabilní endotel je nositelem MHC I a II antigenů (především HLA antigeny A, B a DR skupiny = vznik imunitní reakce). Tato imunitní reakce může mít za následek rovněž předčasnou degeneraci implantovaného alograftu.

V České republice existuje jediná specializovaná tkáňová banka, která se věnuje zpracování a kryoprezervaci chlopenních alograftů a to Banka kardiovaskulární tkáně Transplantačního centra FN Motol. Pokrývá potřeby všech kardiochirurgických pracovišť České republiky.

Cílem mé habilitační práce bylo ověřit protokol zpracování a kryoprezervace aortálních a pulmonálních alograftů, který se používá v Bance kardiovaskulární tkáně Transplantačního centra FN Motol. Konkrétně pak zjistit, jak se jednotlivé fáze zpracování, které jsou součástí našeho protokolu, odrážejí v povrchové morfologii zpracovávaných chlopní. Změny v povrchové morfologii chlopenních cípů byly hodnoceny pomocí skenovací elektronové mikroskopie.

Bylo zjištěno, že kombinace jednotlivých fází zpracování vede k těžkému poškození endotelu nebo event. až ke ztrátě endotelové výstelky. Zejména se to týká doby studené a teplé ischémie a byl rovněž zjištěn destruktivní účinek fyziologického roztoku. Samotný proces kryoprezervace již tyto pokročilé změny dále významněji neprohloubil. Výsledkem celého procesu je to, že implantujeme chlopenní alografty bez endotelu a již se známkami poškození i hlubších struktur, tj. je již narušena struktura extracelulární matrix.

Na základě těchto výsledků jsou navrženy konkrétní změny v postupu zpracování chlopenních alograftů. Tyto změny se netýkají pouze zpracování aortálních a pulmonálních alograftů, ale budou platit i pro zpracování mitrálních alograftů. Tento program chystá Banka kardiovaskulární tkáně a Transplantační centrum Motol v budoucnu zahájit. V současnosti probíhá experimentální fáze tohoto programu. Rovněž byly již kryoprezervovány dva lidské mitrální alografty, prozatím pro experimentální účely.