

Věc : Oponentský posudek na disertační práci

**MUDr. Svatopluk OSTRÝ : Neuronální a vaskulární reaktivita u nemocných se symptomatickou stenózou vnitřní karotidy. Praha 2007.**

Práce byla vypracována v rámci doktorského studijního programu „ Neurovědy „ v letech 2001 – 2007 na Neurochirurgické klinice 1. LF UK v Praze.

### Úvod. Kvalita formálního zpracování.

Na základě rozhodnutí předsedy OR PDSB v programu neurověd podávám následující oponentský posudek na výše citované disertační práci. Pro stručnost používám některé zkratky podle autora. K posudku byla dodána svázaná práce a brožovaný autoreferát. Vlastní práce má rozsah 118 s., autoreferát 31 s. Práce je rozdělena na obsah, zkratky ( 3 s. ), úvodní slovo, úvod, vyšetřovací metody s podkapitolami stručné vysvětlení pojmů, regulace průtoku krve mozkem, neuronální aktivita. Dále obsahuje poznámky k fyziologii a patofyziologii iktu, předpoklady a cíl práce, materiál a metodiku, výsledky, diskuzi, závěry, summary, literaturu a publikace autora. Anglický souhrn má 18 s., literatura 20 s., publikace autora 8 s., „ stručné „ vysvětlení pojmů s úvodem je na celých 38 s.. Vlastní práce autora má tudíž jen 30 s., z toho metody a výsledky 14 s.. Práce obsahuje pouze 11. tab., dalších 9 je jen anglickým překladem. Práce nemá žádnou obrazovou dokumentaci a žádné grafy. To ji činí při 3 s. zkratkách těžko až zcela nesrozumitelnou. Literatura osahuje 160 citací, jen 13 našich autorů, z toho 6 z vlastního pracoviště. Jako č. 85 ( autoreferát č. 54 ) cituje práci z vlastního pracoviště, která nevyšla, pouze je odeslána k recenzi. Č. 133 ( autoref. č. 81 ) je teprve přijato k tisku. Necituje práce domácích autorů, které s tématem úzce souvisejí, např. Gregová D. a spol. Čes a slov Neurol Neurochir 2004, 67/100 : 409 – 414, Čes a slov Neurol Neurochir 2005, 68/101: 310 – 315. Překvapivě chybí citace monografie Stejskal L. a spol. : Evokované odpovědi a jejich klinické využití. Praha Publishing, Praha 1993, 376 s. Citovat dosud neexistující práci nebo necitovat monografii školitele a celé generace našich autorů s nejužším vztahem k tématu disertace považují za etický prohřešek.

V práci je množství gramatických chyb ( nejen překlepů ) a formulací, které ji činí obtížně srozumitelnou. Jen „ Úvodní slovo „ na s. 5 ( autoreferát s. 5 ) jich na jedné straně obsahuje 6. Uvádím některé bez úvozovek. Např. : řada prací dosvědčilo vliv, znaků morfologických nálezech, korových subpopulace neuronů, zdokonalení technika jejich provedení, prací na toto téma v podmínkách zvířecích je více, má příčinu v, setkáváme termínem, normálním frakce, její záchrana předmětem trombolýzy, studiem ukazující zvýšenou, s kompromitovanou perfuzí, časové okno je zde v řádu několika hodin, stimulace byla povrchovou elektrodou, příznačný nemocný, nemocní snesli, potencionálně zachranitelnou oblastí, výsledky jsou v souladu se jsou zprávami , k relativnímu hypoperfuzi zóny, byly v klidovém stavu perfuze měly, takoví nemocní jsou vzácné ( s. 65 ), psaní čárky před nebo. Za 3 měsíce po CEA se hodnoty i parametrů neuronální aktivity i hemodynamických v obou skupinách statisticky významně nelišily....Všechny tyto chyby se beze zbytku opakují v autoreferátu. Na konci práce s. 118 a autoreferátu s. 31 je uvedeno že „ K tématu disertační práce mají vztah tyto práce : B2,...E 18. „ Žádné takové práce zde označeny nejsou.

V časopisech s IF je S. Ostrý údajně prvním autorem 2x, z toho 1x „ přijato do tisku „, Uvádí celkem 7 prací, z toho 5 v domácím tisku, jediné 2 práce v cizích časopisech s vyšším IF jsou dosud jen „ přijaty k tisku „. Skutečný IF dosažený autorem při recenzi je tudíž 0, 168 ( 4x Čes a slov Neurol Neurochir ). Potenciální IF prací „ přijatých k tisku „ by byl 1, 976,

dohromady 2, 144. Považuji za správné vyčkat na skutečnou hodnotu IF, dosaženou S. Ostrým a nevycházet jen z předpokladů.

### K aktuálnosti tématu.

Cévní mozkové příhody jsou 3. nejčastější příčinou úmrtí. Stenóza karotidy a jí způsobená embolizace zodpovídá za polovinu mozkových ischemií. Patofyziologie je složitá. Dokládají to 3 skupiny pacientů, víceméně bez ohledu na stupeň stenózy. Jsou to asymptomatictí pacienti, nemocní s přechodnými příznaky a pacienti s trvalými následky. Obecně se z hlediska aktuálnosti práce dotýká jednoho z nejvíce studovaných témat současné neurologie, neurochirurgie, cévní chirurgie a intervenční neuroradiologie. Svědčí pro to i obhajoby v oborové radě neurověd. Na blízké téma úspěšně obhajoval disertaci P. Netuka 2005 ( Stenóza vnitřní krkavice – morfologická korelace digitální subtrakční angiografie a dopplerovské ultrasonografie s nálezy na histologicky zpracovaných aterosklerotických plátech ) a D. Gregová – Tejklová 2006 ( Hemodynamické parametry cervikálního karotického řečiště fyziologického, stíženého stenózou karotického bulbu a řečiště ošetřeného rekanalizačním výkonem.).

S. Ostrý si položil 4 cíle, 4 otázky. Cituji : 1 ) Je u nemocných s jednostrannou symptomatickou stenózou vnitřní karotidy vyššího stupně v extrakraniálním řečišti narušena elektrická funkce korových neuronů ? 2 ) Existuje korová oblast mozku s kompromitovanou perfuzí natolik, že v ní neurony přežívají, ale jsou elektricky němé ? 3 ) Je možné arteficeální vazodilatací dočasně obnovit elektrickou aktivitu těchto neuronů ? 4 ) V případě, že existuje předpokládaná přežívající neuronální populace, je možné karotickou endarterektomií dosáhnout zvýšení perfuze a obnovení elektrické aktivity neuronů ?

Autor, nejspíše aby přesvědčil o jedinečnosti svého projektu píše : „ Existuje jen málo zpráv o vlivu extrakraniální stenózy nebo okluze ICA na elektrickou aktivitu korových neuronů a také o sledování závislosti změn neuronální aktivity na změnách regionální perfuze v humánních podmínkách.“ Říká dokonce : „ Stav neuronální aktivity při symptomatické stenóze vnitřní karotidy a její změny vlivem hyperkapnie a CEA zatím nebyly v humánních podmínkách popsány. „ Říká ( s. 56, autoref. s. 18 ) : „ V humánních podmínkách nebylo dosud dokumentováno, zda zprůchodněním vnitřní krkavice je dosaženo zlepšení funkce korových neuronů.“ Při existenci desítek monografií a stovek prací , zabývajících se těmito problémy z hlediska základního výzkumu i humánní aplikace je to tvrzení podivné. Dokonce školitel S. Osterého, L. Stejskal, věnuje SEP a okluzím mozkových tepen v monografii 1993 celou kapitolu a již 2001 analyzoval 100 pacientů a napsal práci :“ Somatosenzorické evokované odpovědi n. medianus před a po karotické endarterektomii“. Podrobnosti krevního průtoku v závislosti na arteriálním pCO<sub>2</sub> a hodnotách středního arteriálního tlaku byly popsány již 1965. Problematika ischemického polostínu, penumbry, včetně SEP, byla popsána již 1987. S Kalvachem jsme vše u nás podrobně uvedli v monografii „ Mozkové ischemie a hemoragie „ 1997. Domnívám se, že otázky č.1 a 4 autor již nemusel řešit. Zaslouhou by mohlo být přispění k otázce č. 2 a č. 3 ( i když se jen domnívám, co chtěl autor říci vyjádřením „ kompromitovaná perfuze „ ). Řešení by vyžadovalo speciální metodický postup. Použil autor takový výběr souboru a tak citlivé metody, že by tyto otázky mohly zodpovědět ?

### K použitým metodám.

K výběru souboru.

Předmětem prospektivní studie jsou pacienti, které charakterizuje, že „ v posledních 6 týdnech“ prodělali ischemickou mozkovou příhodu. Na DSA měli unilaterální extrakraniální stenózu ICA 70-99 % . Na stejné s. 41 je uvedeno, že byla diagnostikována sonograficky. Jak tedy? DSA , sonograficky nebo oběma metodami ? Na základě vstupního neurol. vyšetření dle NIHSS byli rozděleni na skupinu A ( v rozmezí 0 – 2 bodů ) a B ( 3 – 8 ). Nejprve je uvedeno celkem 69 pacientů, pak 58 a nakonec sám zjišťuji, že pro různé důvody jich může být hodnoceno jen 50 ( s. 47 ) a to v A 36 a v B 14 . Soubor je tak malý, že jen v krajních případech může vést k statisticky významným závěrům. Nic na tom nemění Wilcoxonův test. Přitom jsou dnes tématu věnovány tisícové multicentrické sestavy. Dělení na soubor A a B považuji za chybné. Autor uvádí : „ Četnost CT/MRI nálezů odpovídajících normě byl ve skupině A významně vyšší.“ Tento údaj neodpovídá pravdě. V práci je totiž uvedeno, že hladina statistické významnosti byla předem stanovena (  $p = 0,05$  ). V tab. 1 ( s. 47 ), kde je skupina A a B porovnávána, jsou jen % , bez jakékoliv významnosti. Do charakteristiky souboru vnáší nejasno i údaj, že po CEA „ celková 30denní morbidita byla souhrnně 3,4%.“ Vysazení léků ovlivňujících hemodynamiku mozkového řečiště někdy jen 24 hod. před vyšetřením nepřispívá k stejným podmínkám vyšetření.

Z hlediska řešené problematiky je zásadně důležitý údaj, za jak dlouho od mozkové příhody byli pacienti vyšetřeni. Ten v práci zcela chybí. Víme jen, že to bylo někdy před 0 až 6 týdny. Znamená to, že pacienti měli různé stadium kompenzace jak krevního průtoku, tak vývoje iktového ložiska a jeho penumbry ? Sám řešitel píše ( autoref. s. 20 ): „ Příčinou toho, že v souboru nebyla prokázána vada hemodynamiky, je už ve výběru nemocných k CEA.“ „ Stenóza ICA se vyvíjela pomalu a kolaterální oběh měl dostatek času se vyvinout. Z toho vyplývá skutečnost minimálního poškození mozku při dobře kompenzovaném cévním zásobení.“ Dále na s. 62 píše : „ S odstupem několika týdnů od vzniku ischemie je oblast přechodové zóny buď natolik malá, že její případný příspěvek se neprojeví v sumární elektrické aktivitě snímané ze skalpu nebo se jedná o naprosto výjimečnou situaci.“ Proč tedy chtěl S. Ostrý hledat a ovlivňovat penumbry na souboru s minimální pravděpodobností její prokazatelné existence ? Zvláště, když charakteristiky penumbry a její detekovatelnost a ovlivnění hemodynamikou byly již tolikrát popsány.

Víme, že pacienti byli vyšetřeni 0-2 dny před CEA, ale za jak dlouho po iktu byla CEA indikována nevíme. Lze rozumět údaji 0 – 2 dny před CEA, že hyperkapnii podstoupili pacienti i v den operace ?

K použitým metodám.

V celé práci jsou použity pouze dvě metody. Rychlost průtoku v a. cerebri media ( MCA ) byla vyšetřována transkraniální Dopplerovou metodou ( TCD ) . Neuronální aktivita byla registrována somatosenzorickými evokovanými potenciály ( SEPs ). Jedná se o aplikaci komerčních metod.

Pomocí TCD ( pro chybějící temporální okno ) nebylo možno vyšetřit až 12,2% pacientů skupiny A a dokonce 17,6 % pacientů B, dohromady 13,8 % . U nezanedbatelné části pacientů proto nebylo z metodických důvodů možno hemodynamické poměry vyšetřit. To dokládá, že část pacientů z metodických důvodů unikla hodnocení. Kritéria vylučující pacienty ze souboru ( s. 41, autoref. s. 12 ) tudíž neodpovídají skutečnosti. Selektce vznikla i z metodických důvodů. Znehodnocuje to vyšetření celého souboru. Z práce není jasné, zda tito pacienti byli vyloučeni i z hodnocení SEPs a ostatních parametrů.

Práce je metodicky postavena na detekování penumbry registrací skaplových SEPs. Fyzikálně se jedná o skalpovou detekci šíření ekvipotenciálních ploch z předpokládaného penumbrického generátoru. Udělal autor studii jak velká populace neuronů a drah, jak velký objem mozkové tkáně v penumbře by musel obnovit funkci, aby byla detekovatelná skalpovou registrací SEPs? Mohou být eventuální změny SEPs vztaženy pouze k úpravě v penumbře? Odkazují na bohatou literaturu, na práci školitele L. Stejskala a spol. z 1993 a zvláště na práci z Čes. a slov. Neurol. Neurochir., 2001, 64/97 : 114 – 123. Je prokázáno, že k zvýšení SEPs může docházet i při porušené hemodynamice a ischemii a nemusí vždy znamenat obnovu funkce neuronů. Opakovaně je prokázáno, že změny SEPs nekorrespondují s klinickými změnami.

Jako relativně původní lze z metodického hlediska označit využití vlivu hyperkapnie na mozkovou hemodynamiku k obnově funkce neuronů v předpokládané penumbře. Obecně lze vliv hyperkapnie na mozkovou hemodynamiku označit za dokonale prostudovaný. Je správná představa, že pouhým zvýšením průtoku se obnoví funkce neuronů? O funkci neuronů rozhoduje mozkový metabolický obrat kyslíku a glukózy. Nemohla jej zvýšená hladina CO<sub>2</sub> dokonce zhoršit (i přes zvýšený průtok)? Hyperkapnie byla zajištěna inhalací směsi 5 % CO<sub>2</sub> a 95% O<sub>2</sub>, cílová hodnota p CO<sub>2</sub> byla 7-5,7 kPa. Je to relativně nízká koncentrace, která vyvolá vzestup průtoku asi o 50 %. Metodickým problémem hyperkapnie je nutnost korigovat hodnoty rychlosti průtoku, pokud aktuální střední arteriální tlak (MAP) vzroste nad 10 mm Hg. Zdůrazňují aktuální. V práci je napsáno (s. 49, autoref. s. 14), že vzestup MAP byl jen 0 – 10 mm Hg, takže nebyl korigován. Dále je uvedeno (s. 44), že před zahájením vyšetření byl změřen krevní tlak manžetou na obou pažích a na s.45, že všechna vyšetření byla provedena při TK v mezích 120/70 – 140/90 mmHg, který byl změřen před a po každém vyšetření. Vysloveně: „V průběhu hyperkapnie TK měřen nebyl.“ Jak tedy autor došel k údaji, že během hyperkapnie byl vzestup MAP jen 0 – 10 mm Hg? Navíc je v práci uvedeno, že při hyperkapnii docházelo k neklidu vyšetřovaných, i když hyperkapnii „snesli“. Jak to, že při vyšetření byli všichni pacienti normotoniky, když jinde (autoref. s. 12) lze zjistit, že 46 pacientů (tedy skoro všichni) se léčilo pro hypertenzi? K metodice hodnocení.

Na s. 43 (autoref. s. 12) je napsáno, že u každého nemocného bylo provedeno 3x vyšetření a to v období 0 – 2 dny před CEA, 3. – 7. den po CEA a 3 měsíce po CEA. Každé vyšetření mělo 3 fáze. V klidu, při hyperkapnii a v klidu po ní. Údajně byly hodnoceny 4 sety SEPs. Není jasné zda oboustranně. Vyšetření transkraniálním Dopplerem bylo oboustranné a nejspíše také 3x. V každém ze tří období vyšetření by mělo být zhodnoceno 3 x 4 setů SEPs, tedy 12 a 3 x 2 vyšetření TCD se všemi dalšími veličinami. Z toho vyplývá, že práce by měla mít statistické porovnání desítek veličin s uvedenými počty n. Hodnoty by měly být prezentovány alespoň v grafech. Ty v práci zcela chybí. Hemodynamické parametry jsou vztahovány k SEPs. Probíhala vyšetření TCD a SEPs simultánně nebo následně a jak? Nepřehlednost práce zvětšuje používání výrazů ipsilaterální a kontralaterální bez jednotného určení k čemu. Práci jistě metodicky komplikuje a zneřehledňuje i to, že řada hodnot je odvozena z porovnávání a nemůže dobře vycházet z absolutních veličin.

Neměl být stanoven rozsah penumbry i morfologicky, např. MRI-DWI/PWI?

### **K výsledkům práce.**

Jsou uvedeny na s. 47 - 55, 69 – 70, autoref. s. 14 – 17, 22. Vzhledem k výhradám uvedeným k metodice, nemohu jako oponent plně ověřit, zda prezentované výsledky byly předkládanou prací dosaženy. Slovní vyjadřování statistické významnosti je nedůsledné. Snad



lze akceptovat, že: Ve skupině A došlo vlivem hyperkapnie k statisticky významnému zvýšení hemodynamiky v MCA a to jak před CEA, tak po CEA a za 3 měsíce po CEA. Amplituda SEPs paradoxně klesla před a bezprostředně po CEA. Statistická významnost i těchto údajů je problematická. Ve skupině B také došlo k zvýšení hemodynamiky. Opět popisovaný pokles SEPs je uváděn jako nevýznamný.

Vlivem CEA ve skupině A nedošlo k ovlivnění SEPs, ve skupině B rovněž, i když některé hemodynamické parametry částečně ovlivněny byly. Tento výsledek odporuje např. výše citované práci Stejkala a spol. 2001, který prokázal po CEA zvýšení amplitudy N20/P25 až o 106 – 280 %. Kapitulu „Závěry“ na s. 69 – 70, autoref. s. 22, považuji za problematickou. V bodě 2) S. Ostrý např. říká : „ V rámci celkové evokované aktivity somatosenzorické korové oblasti nedošlo zvýšením průtoku ani v průběhu hyperkapnie ani po CEA ke zvýšení elektrické aktivity korových neuronů, které by ukazovaly na oblast přežívajících elektricky němých buněk. Jejich předpokládaná přítomnost v místě proběhlé ischemie nebyla potvrzena.“ Jak s tím souvisí, že ve výsledcích je uvedeno, že i přes zvýšení hemodynamiky po hyperkapnii došlo dokonce k snížení SEPs ? Zvýšení hemodynamiky funkci neuronů zhoršilo ? Myslím, že některé údaje, které si protirečí, vyjadřují pouze to, že při zvolených metodách a souboru víc ani prokázat nešlo. Jak je možné v závěru celé práce chápat autorovu větu : „ Aktivita neuronů byla při všech vyšetřeních normální “, což je další podivné tvrzení, které odporuje mnoha jiným údajům v práci.

#### **Připomínky.**

Jsou uvedeny výše, včetně otázek.

#### **Z á v ě r .**

K disertaci v rámci postgraduálního doktorského studia biomedicíny v oboru **neurověd** byla **MUDr. Svatoplukem Ostrým** předložena práce : „Neuronální a vaskulární reaktivita u nemocných se symptomatickou stenózou vnitřní karotidy“, která byla vypracována v rámci doktorského studijního programu 2001 – 07 na Neurochirurgické klinice 1. LF UK ( též v rámci IGA MZ ČR 6980-4 ). Práce si dává v podstatě za úkol přispět k otázce, zda po iktu, způsobeném stenózou vnitřní krkavice, existuje v oblasti mozku, zásobené a.cerebri media, populace neuronů, které jsou v penumbře, elektricky němé, ale schopné funkční obnovy. Jedná se o aktuální téma. Práce v podstatě tuto oblast neprokázala. Nemůže ji však ani vyloučit. Domnívám se, že příčinou je problematicky zvolená a realizovaná metodika. V práci chybí jakákoliv obrazová dokumentace a grafy a obsahuje množství stylistických chyb, které ji činí až nesrozumitelnou. Obsahuje např.odkazy, které neexistují. Jen menšina objemu disertace prezentuje vlastní výsledky. Přestože práce zpracovává množství dat, jsou nepřehledná a statistická významnost je problematická. Autor je jistě vzdělaný a za práci je mnoho úsilí. Přesto musím s politováním konstatovat : **Předložená práce v souladu s PDSB v programu neurověd nemůže MUDr. Svatopluka Ostrého oprávnit k udělení titulu „ Ph.D.“ za jménem.**

V Praze dne 10. 7. 2007

**Prof. MUDr. Eduard Zvěřina, DrSc.**