

Oponentský posudek na disertační práci

Název práce: Patofyziologie poškození mozku po subarachnoidálním krvácení a možnosti terapeutického ovlivnění

Disertant: MUDr. Martin Kolář

Školitel: prof. MUDr. Jan Páchl, CSc.

Práce předložena: Univerzita Karlova
3. lékařská fakulta
Klinika anesteziologie a resuscitace 3. LF UK a FNKV

Oponent: doc. MUDr. Roman Zazula, Ph.D.
Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta
Anesteziologicko-resuscitační klinika 1. LF UK a TN

Datum vypracování: 30. srpna 2019

Doktorand se ve své obsáhlé práci věnoval velice významné oblasti medicíny – patofyziologii časného poškození mozku, a to konkrétně po subarachnoidálním krvácení s cílem nastínit některé nové možnosti léčebných intervencí. Poznávání patofyziologických mechanismů nemoci má zásadní význam pro zvládání nejtěžších stavů v oblasti medicíny kritických stavů a je klíčem k úspěchu v klinické praxi, v níž doktorand pracuje.

Subarachnoidální krvácení představuje velmi závažnou chorobu s vysokou mortalitou a morbiditou. Písemnictví udává, že v případě etiologie rupturou aneurysmatu přibližně 11 % pacientů zemře v terénu před jakýmkoliv možným zdravotnickým zásahem a 40 % pacientů umírá v průběhu prvních čtyř týdnů od přijetí do nemocnice. Až u 30 % přeživších přetrvává významná morbidita, která zapříčiňuje jejich každodenní závislost na pomoci druhých, a téměř polovina přeživších má kognitivní poruchy, jež negativně a trvale ovlivňují kvalitu jejich života. Incidence onemocnění se udává kolem jednoho z deseti tisíc obyvatel, nejčastěji ve věku 40 až 60 let. Lze tedy říci, že ročně subarachnoidální krvácení z ruptury aneurysmatu mozkové cévy postihne jednoho mladého obyvatele malého města. Trend odborných publikací na zvolené téma je rostoucí a pozornost kliniků se více soustředí na časné mechanismy poškození mozku. Z těchto pohledů je zvolené téma disertační práce naprosto relevantní a vysoce aktuální.

Předložená disertační práce je v rozsahu 112 stran, na poslední straně autor uvádí seznam tří vlastních publikací k tématu, jež jsou in extenso přílohou práce. Práce je členěna ve standardním profilu na úvodní přehled problematiky a vlastní práci obsahující stanovené cíle a hypotézy, popis souboru a metodiky, výsledky, diskusi, závěry a přehled literárních pramenů. Jednotlivé kapitoly jsou obsahově vyvážené. Před samotným úvodem je zařazen souhrn práce v českém i anglickém jazyce a podrobný seznam zkratk. Práce je bohatě proložena obrázky, fotografiemi a grafickou ilustrací výsledků.

Teoretická část v rozsahu 19 stran je dělena do logických celků a je uceleným pohledem na danou problematiku. Autor výtečně sevrěnou a přehlednou formou zpracoval velké množství aktuálních informací, uvedl a definoval základní pojmy. Nastínil možnosti terapeutického ovlivnění perfuzních poruch a rovněž současné kontroverze v patofyziologii a terapii onemocnění. V úvodu lze nalézt východiska pro formulaci autorových hypotéz, jejichž otestování na experimentálních modelech si stanovil za cíl práce:

Cílem práce bylo na experimentálním modelu časných perfuzních poruch po subarachnoidálním krvácení testovat následující hypotézy:

1. Prudké zvýšení objemu subarachnoidálního prostoru způsobí akutní pokles kortikální perfuze.
2. Subarachnoidální krvácení způsobí pokles mozkové perfuze jak mechanismem nitrolební hypertenze, tak mechanismem časně vazokonstrikce.
3. Eliminace nitrolební hypertenze dekompresní kraniektomií zlepší perfuzi mozku bezprostředně po navození subarachnoidálního krvácení.
4. V důsledku SAK dochází k vzniku významného množství hydroxylových a nitroxylových radikálů.
5. Časné perfuzní změny mohou být ovlivněny podáváním vazodilatancia (nitroprussid sodný).
6. Podání vazodilatancia do komorového systému mozku sníží výskyt systémových nežádoucích účinků.
7. Dlouhodobé následky subarachnoidálního krvácení mohou být zmírněny podáním antioxidantu (melatonin).

Vlastní práce spočívala v řadě dílčích experimentů na mladých samcích laboratorních potkanů kmene Wistar v souladu s eticko-právními předpisy. V práci prezentované výsledky vycházejí z měření při pokusech na celkem 143 laboratorních jedincích. K metodice obecně (volba anestezie, model subarachnoidálního krvácení, měření mozkové perfuze) nemám z pohledu vlastní odbornosti zásadních výhrad a rovněž tak ani k dílčím metodikám jednotlivých skupin experimentů (intracerebroventrikulární podání nitroprussidu sodného, dekompresní kraniektomie, preemptivní podání melatoninu). Vytvořený a ověřený vlastní model subarachnoidálního krvácení založený na aplikaci 250 ul autologní krve kanylou zavedenou do prechiasmatické cisterny považuji za velice zdařilý a šťastně zvolený zejména pro možnost postavit sham-operated kontrolní skupiny pomocí aplikace izotonického roztoku za stejných podmínek. Stěžejní metodou experimentů je real-time měření mikrocirkulace snímané pomocí CCD kamery a následně převedené do map kortikální perfuze, které by v případě jiných modelů, např. endovaskulárních, nebylo elegantně použitelné. Rozdělení pokusných zvířat do skupin uvedených na stranách 40 až 44 u popisu dílčích experimentů i postavení skupin kontrolních včetně naivní kontroly při preemptivním podání melatoninu je zcela adekvátní testovaným hypotézám.

K prezentaci dat je použito metody popisné statistiky (průměr, směrodatná odchylka). Nejsou uvedeny výsledky testování rozložení dat souborů, nicméně testování je uvedeno. Statistické metody vlastního vyhodnocení dat jsou relevantní vytčeným cílům. Výsledky jsou prezentovány ve srozumitelné formě, včetně názorných grafů a obrázků. Rovněž tak jsou

výsledky shrnuty v široké diskusi, která je rozsahem přiměřená a členěná dle výsledků jednotlivých dílčích experimentů. V části diskuse věnované limitacím studie a přesahem do klinické medicíny lze nalézt odpovědi na otázky k vysvětlení volby konkrétních metodik experimentů.

V souvislém textu v závěru práce autor uvádí výsledky testování jednotlivých hypotéz.

Prostřednictvím experimentálních modelů autor prokázal:

ad 1, 2, 3)

Subarachnoidální aplikace arteriální krve i izotonického roztoku způsobila prudký pokles mozkové perfuze; hlavním mechanismem uplatňujícím se v časně hypoperfuzi byla nitrolební hypertenze a pokles mozkového perfuzního tlaku. Přestože dekompresní kraniektomie efektivně snížila nitrolební tlak a bezprostřední mortalitu, vedla paradoxně ke zvýšení mozkové cévní rezistence.

ad 5, 6)

Intracerebrovaskulární podání nitroprussidu sodného po subarachnoidálním krvácení zlepšilo mozkovou perfuzi jen minimálně, kromě toho mělo závažné systémové nežádoucí účinky (hypotenze), které mohou perfuzi naopak zhoršit. Tyto nežádoucí účinky souvisí se skutečností, že mozková perfuze v iniciální fázi výrazně korelovala s mozkovým perfuzním tlakem.

ad 4, 7)

Bylo pozorováno zvýšené množství volných radikálů vzniklých v důsledku iniciální hypoperfuze mozku. Z hlediska dlouhodobého neurologického deficitu preemptivní podání melatoninu – antioxidantu a scavengeru volných radikálů – snížilo množství odumřelých neuronů v hippocampu, nicméně nevedlo k signifikantnímu zlepšení výsledků v neurobehaviorálních testech.

Autor dosáhl stanovených cílů disertační práce.

Z formálního pohledu veškeré kapitoly přítomné v disertační práci mají jasně definovanou pozici. Práce je velmi dobře strukturována a graficky upravena. Veškeré detaily v protokolech byly řádně vysvětleny a zkratky, hutně používané v textu jsou uvedeny nejen v jejich seznamu před úvodem do disertační práce, ale vtípně i na k práci přiložené záložce. Výsledky experimentů jsou pečlivě zpracovány a prezentovány v přehledných grafech. Jen ojediněle dochází k prolínání českého a anglického jazyka v legendě grafu. Přehled současného stavu poznání je v práci obsáhle citován. Citovaná literatura je aktuální, z 207 citací je 30 % mladších 10 let a 10 % z posledních pěti let. Odkazy na literaturu jsou rovněž řádně zpracovány.

Závěrem konstatuji, že tato práce experimentální povahy je nesporně přesahující do klinické praxe a zároveň dosažené výsledky skýtají potenciál k možnému směřování dalšího klinicko-experimentálního výzkumu.

K práci mám následující otázky:

1. Potkani byly anestetizováni kombinací ketaminu v dávce 100 mg/kg s midazolamem 1,2 mg/kg podané intraperitoneálně. O ketaminu je známo, že zvyšuje metabolismus mozku, zvyšuje perfuzi mozku i intrakraniální tlak, stimuluje krevní oběh a dýchání. Připouštíte v souvislosti s použitím ketaminu a současně při spontánní ventilaci změny krevních plynů, které rovněž mohou ovlivňovat mozkový průtok? Bylo by technicky možné sledovat jejich parciální tlaky?

2. Popsal byste prosím blíže praktický postup a logistiku měření volných kyslíkových radikálů v tkáni mozku (str. 43)?

3. Jak si vysvětľujete rozdíl v ovlivnění perfuze mozku po podání nitroprussidu sodného mezi skupinami SAK - SNP a Sham - SNP? Mohl byste blíže osvětlit, jak byla stanovena optimální dávka nitroprussidu 10 ug?

4. Neprokázal jste, že intracerebrovaskulární podání nitroprussidu sodného je prosto nežádoucích systémových účinků, naopak. Při farmakologické PTA je jako vazodilatační agens používán mj. nitroglycerin. Lze připustit, že systémové účinky mohou být méně vyjádřeny, jaký byste předpokládal jeho účinek jakožto donora NO? V této souvislosti mi rovněž vyvstává otázka, jaký máte názor na působení systémově podávaného nimodipinu (kalciový blokátor)? Ovlivňuje přímo vazospasmy, či spíše zvyšuje piální kolaterální cirkulaci?

5. Vaše práce přinesla mnoho zajímavých výsledků. Co z dosažených poznání plyne pro klinickou praxi?

Závěr:

Disertační práce MUDr. Martina Koláře s originálními výsledky splňuje výběrem tématu, realizací a zpracováním požadavky, které jsou na takovou práci kladeny. Autor prokázal tvůrčí schopnosti a předpoklady pro samostatnou vědeckou práci.

Předloženou práci doporučuji k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby poté doporučuji udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Praze dne 30. srpna 2019



doc. MUDr. Roman Zazula, Ph.D.