

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Použití experimentálního MR zobrazení v neurochirurgii, diagnostické markery u expanzivních procesů mozku

Diagnostické markery u pacientů s normotenzním hydrocefalem

MUDr. Aleš Vlasák

Praha, 2021

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Neurovědy

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

Školící pracoviště: Neurochirurgická a neuroonkologická klinika 1. LF UK a ÚVN Praha

Školitel: Doc. MUDr. RNDr. Ondřej Bradáč, Ph.D.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

1	Úvod	6
2	Vymezení cílů práce.....	6
3	Pacienti a metody	7
3.1	Soubor pacientů s normotenzním hydrocefalem z Neurochirurgické a neuroonkologické kliniky	
1.LFUK a ÚVN		7
3.1.1	Vyšetřovací protokol MRI.....	7
3.1.2	Interpretace obrazových výsledků	8
3.1.3	Segmentace	8
3.1.4	Statistická analýza výsledků.....	8
3.1.5	Kalkulace vektorů průtokové křivky	8
3.1.6	Algoritmy strojového učení	9
3.2	Soubor pacientů s hydrocefalem v misijní nemocnici v Keni	9
4	Výsledky.....	9
4.1	Volumetrická studie.....	9
4.1.1	Použití volumetrie v rámci diagnostiky NPH	9
4.1.2	Volumetrické změny po zavedení ventrikulo-peritoneálního zkratu.....	10
4.2	Studie fázového kontrastu MRI u NPH s využitím strojového učení	11
4.3	Zhodnocení revizních operací po inzerci ventrikulo-peritoneálního zkratu u dětských pacientů v Kijabe, Keňa.....	13
5	Diskuze	13
6	Závěry, naplnění cílů.....	16
7	Seznam použité literatury	17
8	Seznam publikací autora	19

Abstrakt

Přes dekády trvající výzkum normotenzního hydrocefalu (NPH) není dosud znám jednoznačný patofyziologický mechanismus tohoto onemocnění a z toho vyplývá i absence jednoznačného diagnostického biomarkeru. Přitom NPH je na rozdíl od podobných neurodegenerativních onemocnění plně léčitelný zavedením ventrikulo-peritoneálního zkratu. Diagnostika stojí na invazivním funkčním testování, naopak zobrazovací metody hrají pouze podpůrnou roli. Tato práce je vedena snahou o nalezení dostatečně senzitivního a specifického biomarkeru na MRI zobrazení s využitím pokročilých analytických metod. V tomto směru byla testována především strukturální volumetrie a metoda fázového kontrastu. Jednotlivé parciální výsledky obou těchto modalit již byly v literatuře popsány, závěry však byly nejednoznačné. Přínosem této práce je především rozsah testovaných parametrů a jejich dosud netestovaná pokročilá analýza – přesná automatická segmentace u volumetrické studie a algoritmy strojového učení u studie fázového kontrastu. V rámci volumetrické studie jsme provedli segmentaci celkem 26 struktur na 74 pacientech (29 s diagnostikovaným NPH, 45 bez NPH). V případech předoperačního vyšetření jsme prokázali statisticky významné rozdíly velikosti levého hipokampu, corpus callosum, levého globus pallidus internus, šedé a bílé hmoty a ve velikosti komorového systému. V rámci pooperačních kontrol jsme zjistili změny ve velikosti komor, telencefala, a pravého putamen. U studie fázového kontrastu jsme vyšetřili celkem 30 pacientů s NPH a objevili signifikantní rozdíly u 47 z 85 vyšetřených funkcí. Metodou strojového učení jsme dosáhli přesnosti 80 % u metody jako celku.

Volumetrická studie odhalila několik statisticky významných změn objemu vyšetřovaných struktur v rámci předoperační diagnostiky i v pooperačním vývoji. Přes tyto dílčí výsledky však nutno konstatovat, že jednoznačné vodítko k diagnostice NPH neposkytuje. Studii fázového kontrastu MRI u normotenzního hydrocefalu jsme prokázali efektivitu přístupu strojového učení, které významně zjednodušuje využití této metody a zvyšuje její prediktivní hodnotu. Fázově kontrastní MRI s pomocí strojového učení může rozlišovat pacienty s NPH od zdravých kontrol s více než 80% specificitou a senzitivitou. Dalším přidáváním pacientů do testovací populace by se výsledky metody dále zpřesňovaly.

Klíčová slova: normotenzní hydrocefalus, strukturální volumetrie, fázový kontrast, strojové učení, zkratové operace

Abstract

Despite decades of research of normal pressure hydrocephalus (NPH), a clear pathophysiological mechanism of the disease is still unknown. This results in the absence of a unambiguous diagnostic biomarker. Moreover, NPH in contrast to similar neurodegenerative diseases is curable by insertion of a ventrikulo-peritoneal shunt. Now the diagnostics is based on invasive functional testing, on the contrary, imaging methods play only a supporting role. This work is processed with an effort to find a sufficiently sensitive and specific biomarker of MRI imaging using advanced analytical methods. For this reason, the structural volumetry and the phase contrast method were tested. The individual partial results of both of these modalities have already been described in the literature, but the conclusions were controversial. The main contribution of this work is the range of tested parameters and their to date untested advanced analysis - accurate automatic segmentation in volumetric study and machine learning algorithms in phase contrast study. In a volumetric study, we segmented a total of 26 structures in 74 patients (29 with diagnosed NPH, 45 without NPH). In the case of preoperative examination, we demonstrated statistically significant differences in the size of the left hippocampus, corpus callosum, left globus pallidus internus, gray and white matter and in the size of the ventricular system. In the postoperative follow-up we found changes in the size of the ventricles, telencephalus, and right putamen. In the phase contrast study, we examined a total of 30 patients with NPH and found significant differences in 47 of the 85 functions examined. Using the machine learning method, we achieved an accuracy of 80 % for the method as a whole.

The volumetric study revealed several statistically significant changes in the volume of examined structures within preoperative diagnostics and in postoperative development. Despite these partial results, however, it must be stated that it does not provide an unambiguous biomarker to the diagnosis of NPH. In the phase contrast study we have demonstrated the effectiveness of the machine learning approach, which significantly simplifies the use of this method and increases its predictive value. Phase contrast MRI enhanced with machine learning can distinguish NPH patients from healthy controls with more than 80% specificity and sensitivity. Further addition of patients to the testing population would further refine the results of the method.

Keywords: normal pressure hydrocephalus, structural volumetry, phase contrast, machine learning, shunt surgery

1 Úvod

Normotenzní hydrocefalus byl poprvé popsán Salomónem Hakimem v roce 1957. Jedná se o onemocnění staršího věku s typickou klinickou triádou – porucha chůze, demence a porucha kontinence. Na rozdíl od jiných neurodegenerativních onemocnění je normotenzní hydrocefalus léčitelný zkratovou operací. Problémem je výběr vhodných kandidátů při absenci jednoznačných diagnostických kritérií. Většina pacientů tak bohužel zůstává bez správné diagnózy, a tím i léčby (Pujari et al., 2008). Navíc při diagnostice normotenzního hydrocefalu hraje významnou roli i časový faktor od vzniku onemocnění po zkratovou operaci (Vakili et al., 2016). Delší dobu trvající symptomy již nemají naději na zlepšení po léčbě ani při správné diagnostice onemocnění. Vzhledem k absenci jasných kritérií, chybí i jednoznačná informace o prevalenci tohoto onemocnění, nicméně nejčastěji se uvádí 10-22 případů na 100 000 obyvatel (Zaccaria et al., 2020).

Diagnostika nyní spočívá v klinickém vyšetření a identifikaci základních symptomů, ve vyšetření klinickým neuropsychologem a na funkčním testování. Mezi nejčastější funkční testy patří lumbální infuzní test a vyšetření pomocí lumbální drenáže. Oba tyto testy jsou invazivní a tím pádem zatížené určitým rizikem komplikací. Zobrazovací metody nyní hrají úlohu především v identifikaci hlavního příznaku, kterým je ventrikulomegalie, a jako diferenciativně diagnostické vyšetření. Použití zobrazovacích metod v samotné diagnostice je stále přes dekády trvající výzkum spíše v experimentální rovině. Jak dokazuje i náš článek hodnotící skóre disproporčně zvětšených subarachnoidálních prostor (Skalický et al., 2020).

Tato práce je zaměřená na hodnocení strukturální volumetrie a metodu fázového kontrastu MRI s využitím pokročilých analytických metod. Cílem je odhalení dostatečně specifického a sensitivního biomarkeru pro normotenzní hydrocefalus.

2 Vymezení cílů práce

1. Vyhodnotit strukturální volumetrii u pacientů s normotenzním hydrocefalem s využitím moderních metod analýzy obrazu a zvážit možnosti volumetrie v diagnostice onemocnění

Některé klinické symptomy normotenzního hydrocefalu mohou být vysvětlené kompresí periventrikulární šedé i bílé hmoty. Změny velikosti jednotlivých struktur byly v minulosti sledované i jinými autory. Přesto volumetrie jako diagnostická metoda v případě NPH dosahovala pouze minimálních prediktivních hodnot. V naší studii se zaměříme na sledování velikosti všech relevantních subkortikálních struktur s využitím nového autosegmenčního softwaru.

2. Zhodnotit prediktivní hodnotu fázového kontrastu MRI při diagnostice normotenzního hydrocefalu s využitím metod strojového učení

Vzhledem k nejvíce akceptované teorii rozvoje NPH lze předpokládat rozdíly v průtokových parametrech likvoru skrze aqueduct. Metoda fázového kontrastu MRI se tedy zdá být ve vyšetřovacím procesu jako

velmi nadějná. Přesto publikované výsledky jsou značně kontroverzní. Dosud byly publikované pouze omezené práce soustředící se na několik vybraných parametrů. V naší práci otestujeme metodu fázové kontrastu v rozsahu všech dostupných parametrů za pomoci algoritmů strojového učení.

3. Posoudit rizika zkratových operací

Léčebnou metodou NPH je zavedení ventrikulo-peritoneálního zkratu. Jako každý operační výkon je i tento zatížen určitým rizikem komplikací. Naším úkolem je posoudit míru tohoto rizika s ohledem na různé populace pacientů.

3 Pacienti a metody

3.1 Soubor pacientů s normotenzním hydrocefalem z Neurochirurgické a neuroonkologické kliniky 1.LFUK a ÚVN

Nábor pacientů pro účely této práce probíhal mezi zářím 2016 a březnem 2020 (volumetrická studie probíhala do října 2019). V té době jsme vyšetřili celkem 109 pacientů (ve volumetrické studii 92 pacientů). Všichni pacienti vykazovali poruchu chůze a minimálně jeden další symptom z typické triády příznaků – mentální deteriorace, či močová inkontinence. Současně měli pacienti provedené CT či MRI s nálezem ventrikulomegalie (Evansův index větší než 0,3 ml). Všichni byli vyšetřeni klinickým neuropsychologem. Dále vyšetřovací algoritmus pokračoval provedením lumbálního infuzního testu, v jehož závěru byla zavedena lumbální drenáž na dobu 120 hodin. Výsledkem bylo 40 pacientů identifikovaných jako NPH pozitivních, kterým byl indikován a nakonec zaveden ventrikulo-peritoneální zkrat.

Celkem bylo do volumetrické studie nakonec zařazeno 74 plně vyšetřených pacientů. U 29 z nich byl na základě výše uvedených testů diagnostikován normotenzní hydrocefalus, 45 pacientů kritéria nesplnilo. Zařazení do studie fázového kontrastu limitovala nutnost vyšetření na jednom MRI přístroji (Bradley, 2016). Nakonec bylo zařazeno 30 pacientů s normotenzním hydrocefalem. Všichni pacienti po implantaci VP zkratu standardně podstupují kontrolní klinické a grafické vyšetření 3 měsíce a 1 rok od implantace. Vyšetřovací protokol dále podstoupilo 15 zdravých kontrolních pacientů s odpovídajícím věkem a podílem pohlaví jako ve vyšetřované skupině.

3.1.1 *Vyšetřovací protokol MRI*

Pacienti podstoupili vyšetření na Radiodiagnostickém oddělení Ústřední vojenské nemocnice na 3T strojích, buď na GE Signa HDx nebo na GE Discovery 750w. Byla použita standardní 8kanálová (Signa

HDx) nebo 32kanálová (Discovery 750w) cívka. Kromě běžného standardního MRI protokolu zahrnovalo vyšetření sekvence s vysokým rozlišením – 3D T1 BRAVO a 3D T2 Cube, dále funkční magnetickou rezonanci, DTI sekvence a průtokovou studii fázového kontrastu. Pro účely metody fázového kontrastu byl pacientům aplikován MR kompatibilní periferní pulzní snímač. S jeho pomocí bylo vytvořeno 32 snímků rovnoměrně rozložených po celém srdečním cyklu. Místo snímání bylo určeno vedoucím neuroradiologem doprostřed aqueductu.

3.1.2 *Interpretace obrazových výsledků*

Obrázky fázového kontrastu byly rekonstruovány za pomoci komerčního softwaru – FlowAnalysis, GE. Oblast zájmu byla manuálně zakreslena zkušeným neuroradiologem do oblasti středu aqueductu a zabírala všechny voxely obsahující likvorový signál.

3.1.3 *Segmentace*

Na segmentaci obrazu jsme použili MRI obrazy s vysokým rozlišením v softwaru Anatomical Mapping Ver. 1.1, který je součástí vybavení plánovací stanice Brainlab Elements software. U všech automaticky vytvořených objektů jsme provedli manuální kontrolu, nicméně žádné větší úpravy nebyly nutné. Touto technikou byl postupně měřen objem bílé a šedé hmoty, capsuly interny a externy, corpus callosum, hippocampu, amygdaly, nukleus caudatus, putamen, globus pallidus internus a externus, thalamu, periaqueductální šedí a supratentoriální velikosti komor. Velikost IV. komory je značně variabilní a nemá souvislost s diagnózou NPH (Greitz, 2004). Proto byl obraz IV. komory pro účely volumetrických měření manuálně odstraněn.

3.1.4 *Statistická analýza výsledků*

Porovnání jednotlivých proměnných bylo provedeno za pomoci ANOVA či t-testu pro opakovaná měření. K následnému testování byl použit Fisherův LSD test. Pro porovnání kategoriálních proměnných byl použit chí kvadrátový test. Všechny výpočty byly prováděny za pomoci softwaru STATISTICA 13.5.

3.1.5 *Kalkulace vektorů průtokové křivky*

Signál fázového kontrastu MRI, charakterizující průtok likvoru aqueductem, je tvořen 7 vektory – areou akvaduktu, nejvyšší pozitivní rychlostí, nejvyšší negativní rychlostí, průměrnou rychlostí, pozitivním průtokem, negativním průtokem a průměrným průtokem. Každý vektor je tvořen 32 body rovnoměrně

rozloženými v průběhu srdečního cyklu. Celkem bylo pro každého pacienta spočítáno 85 komplexních funkcí.

3.1.6 *Algoritmy strojového učení*

Celá datová sada pacientů byla rozdělena na tréninkové a testovací části pomocí 5stupňové křížové validace. Tento způsob je výhodný pro malé anebo nevyvážené soubory, jako v našem případě 30 pacientů a 15 kontrol. Tento způsob jsme vylepšili 10násobným opakováním, které umožňují odhadnout průměr a standardní odchylku. Pro účely této studie bylo nasazeno celkem 8 nejmodernějších modelů strojového učení – Multilayer perceptron, Gaussian Naive Bayes, Gradient Boosting Decision Tree, Logistic Regression, Extra Trees, Random Forest, XGBoost and Adaptive Boosting (AdaBoost). Přesnost, citlivost, specifita, ROC křivka a plocha pod křivkou ROC (AUC) byly použity ke srovnání výkonnosti všech metod strojového učení.

3.2 Soubor pacientů s hydrocefalem v misijní nemocnici v Keni

V 5 letém období od roku 2009 do roku 2013 bylo provedeno celkem 1 840 výkonů v souvislosti s ventrikulo-peritoneálním zkratem u 1 427 pacientů. Současně zde byla během té doby provedena 216x III. ventrikulostomie a 45x kauterizace choroidálního plexu. Pacienti byli po výkonu rutinně sledováni ve 2 a 6 měsíci a dále v 1, 1,5 a 2 letech.

4 Výsledky

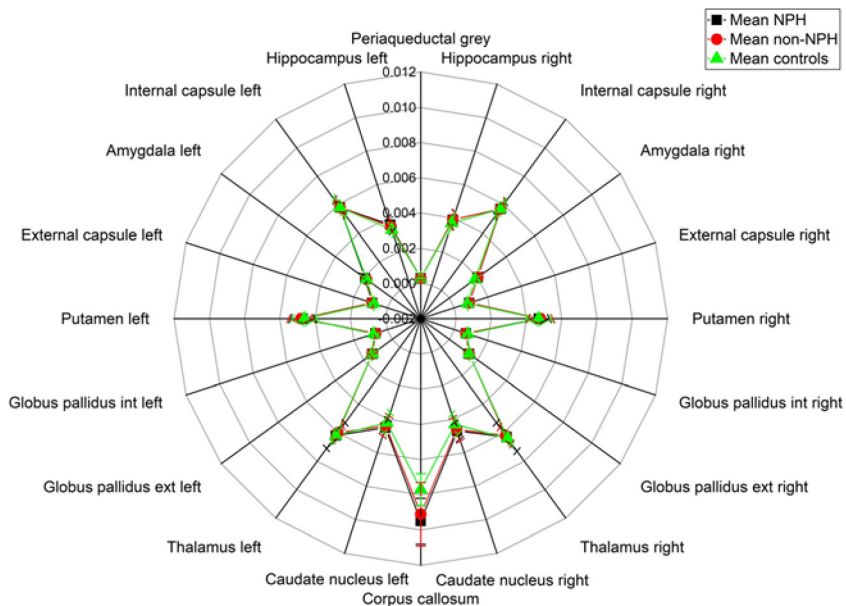
4.1 Volumetrická studie

4.1.1 *Použití volumetrie v rámci diagnostiky NPH*

Abychom vyloučili interpersonální variabilitu velikosti mozku, a tím i jednotlivých struktur, byly pro všechny vybrané struktury vypočítané tzv. „normalizované“ objemy – poměr velikosti struktury k objemu telencefala konkrétního pacienta. Porovnali jsme 3 skupiny – skupinu s potvrzeným NPH dle funkčních testů, skupinu, která vyšla negativně podle funkčního testování a skupinu věkově odpovídajících zdravých kontrol.

Prokázali jsme statisticky významné rozdíly ve velikosti levého hipokampu, corpus callosum, globus pallidus internus vlevo, bílé a šedé hmotě a ve velikosti komorového systému při porovnání mezi skupinami.

Graficky znázorněné výsledky všech vyšetřených subkortikálních struktur shrnuje Obrázek 1.

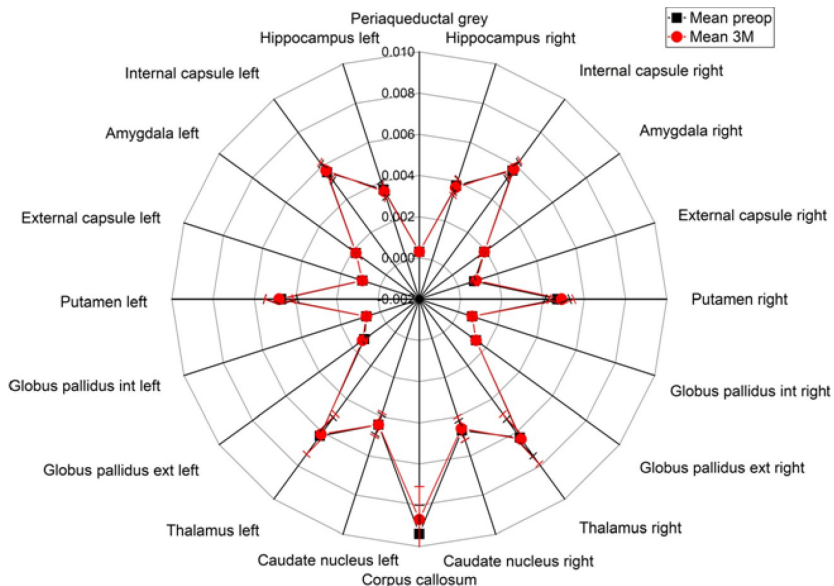


Obrázek 1 Porovnání relativních objemů subkortikálních struktur mezi skupinami s diagnostikovaným NPH, se skupinou s nepotvrzeným podezřením na NPH kontrolní skupinou.

4.1.2 Volumetrické změny po zavedení ventrikulo-peritoneálního zkratu

V rámci této části studie jsme zjistili statisticky významné změny ve velikosti komorového systému, mozkové tkáně a pravého putamen. Na hranici významnosti byla i změna velikosti corpus callosum.

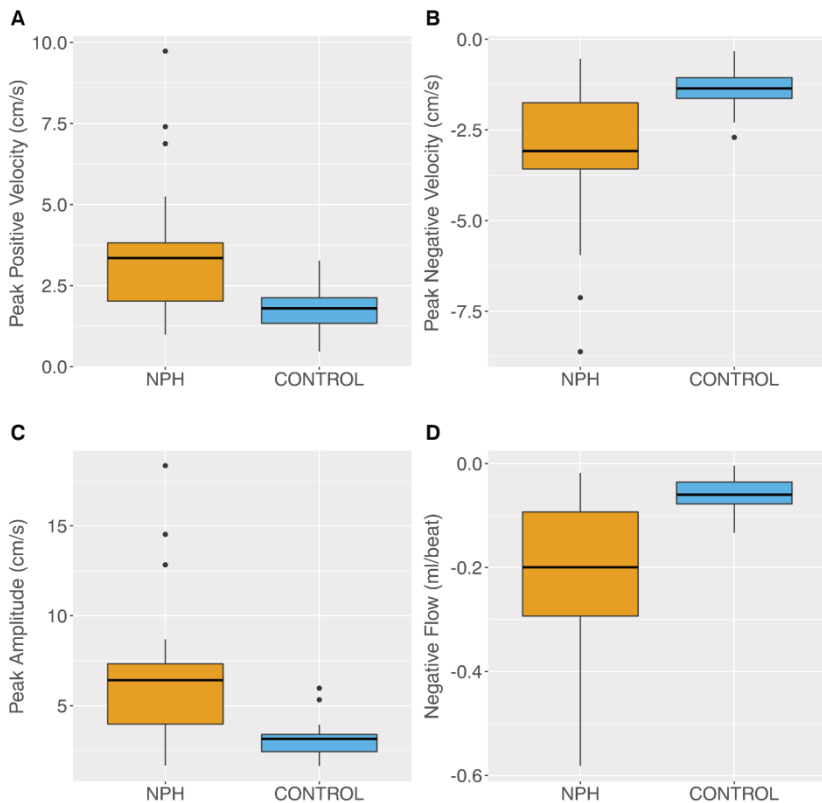
Relativní velikosti u všech měřených subkortikálních struktur jsou následně shrnuté v radiálním grafu (Obrázek).



Obrázek 2 Porovnání relativních objemů subkortikálních struktur u pacientů s NPH před zavedením VP zkratu s kontrolou po 3 měsících.

4.2 Studie fázového kontrastu MRI u NPH s využitím strojového učení

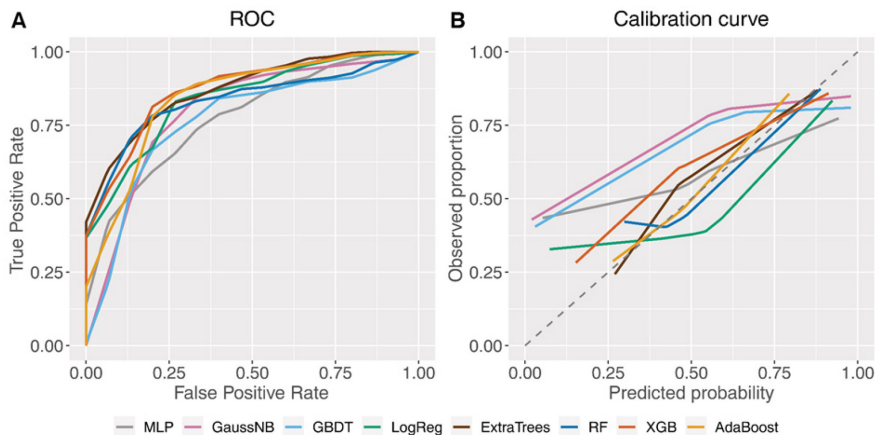
Použitím standardních statistických metod ve skupině hlavních znaků fázového kontrastu MRI vyšly nejvíce signifikantní tyto 4 znaky – maximální pozitivní rychlost, maximální negativní rychlost, maximální amplituda a negativní tok. Výsledky graficky shrnuje Obrázek 3.



Obrázek 3 Grafy znázorňující nejvíce signifikantní parametry ze všech sledovaných funkcí průtokové křivky

Signifikantních parametrů však bylo daleko více. Celkem 47 funkcí z 85 vyšetřených s p-hodnotou v rozsahu 0,001-0,049. Po aplikaci osmi modelů strojového učení na všechny dostupné parametry jsme byli schopni dosáhnout až 85 % sensitivity a 84 % specificity s přesností 80 %.

Nejlepší rozlišovací potenciál z provedených algoritmů vykazoval AdaBoost s přesností $80,4 \pm 2,9$ %, senzitivitou $72,0 \pm 5,6$ %, specificitou $84,7 \pm 3,8$ % a $0,812 \pm 0,047$ AUC. Kromě toho nejlepší senzitivitu $85,7 \pm 5,6$ % bylo dosaženo modelem GaussNB a nejlepší AUC $0,854 \pm 0,028$ podle klasifikátoru ExtraTrees. Konečné hodnoty ROC a kalibrační křivky pro všechny modely strojového učení jsou uvedeny na Obrázku 4.



Obrázek 4 Kalibrační křivky a ROC pro sledované modely strojového učení

4.3 Zhodnocení revizních operací po inzerci ventrikulo-peritoneálního zkratu u dětských pacientů v Kijabe, Keňa

Během 5letého sledovaného období bylo na uvedeném pracovišti provedeno celkem 1 840 zkratových výkonů, z toho 592 revizí (tj. 32 %). Většina (69 %) pacientů s malfunkcí VP zkratu podstoupila jeden revizní operační výkon, dvě revize byly nutné u 22 %, 3 revize u 5 % a 4 nebo 5 revizí u 3 % pacientů. 85 % revizních výkonů bylo nutné provést v prvním roce od zavedení VP zkratu, třicetidenní četnost revizí byla 15 %, celková 5letá četnost 29 %.

5 Diskuze

Ideální zobrazovací biomarker pro NPH diagnózu dosud chybí a diagnostika stojí na invazivních funkčních testech. Podle velké Evropské multicentrické studie je pozitivní prediktivní hodnota tap testu 88 % a lumbálního infuzního testu 86 % (Wikkelsø, Hellström, Klinge, & Tans, 2013). Dosud není znám nález na zobrazovacích metodách, který by se k těmto výsledkům přiblížil.

Zatímco diagnostika normotenzního hydrocefalu je poměrně kontroverzní a nejednoznačná, shoda panuje v oblasti léčby. Léčebnou metodou je v tomto případě zavedení ventrikulo-peritoneálního zkratu. Naše studie na dětské populaci potvrdila, že zavedení ventrikulo-peritoneálního zkratu je bezpečný výkon s celosvětově obdobnými výsledky bez většího vlivu geografické lokality pracoviště. Jako klíčový se spíše zdá objem provedených výkonů a zkušenost týmu.

Hlavním zaměřením této práce je však diagnostika normotenzního hydrocefalu pomocí MRI s využitím pokročilých analytických metod. V této souvislosti jsme se zaměřili především na strukturální volumetrii a metodu fázového kontrastu MRI.

Volumetrických studií u normotenzního hydrocefalu najdeme v literatuře jen velmi málo a na malých skupinkách pacientů. Je to dané především tím, že dříve takové měření vyžadovalo manuální „obkreslení“ požadované struktury s následnou kalkulací jejího objemu. Tento proces byl velmi časově náročný. Metoda voxel-based morfometrie v posledních dvou dekáдах tento proces výrazně zrychlila. Přesto se dosavadní studie zaměřují většinou pouze na několik klíčových struktur. My v naší studii hodnotíme všechny relevantní struktury najednou, což zvyšuje možnosti pozdější statistické analýzy.

Nejprve jsme vybrali klíčové struktury, které hrají roli v klinickém obraze normotenzního hydrocefalu. Porucha chůze je dominantním příznakem NPH a je nejčastěji způsobena kompresí zadního raménka capsula interna. Předchozí studie potvrdily zvýšenou frakční anisotropii v této oblasti v porovnání se zdravými kontrolami i jiným typem demencí (Kim et al., 2011). Capsula externa vede dráhy mezi striatem a prefrontálním kortexem a její poškození modifikuje sociální chování (Andrejević, Meshi, van den Bos, & Heekeren, 2017). Další klíčovou strukturou hrající zásadní roli v neurodegenerativních onemocněních je corpus callosum. Jeho atrofie byla pozorovaná u Alzheimerovy choroby a lehkého kognitivního deficitu (X.-D. Wang et al., 2015), tak jako levostranná mímá, ale signifikantní atrofie hipokampu (Savolainen et al., 2000). Velikost amygdaly souvisí s úzkostmi a iritabilitou u pacientů s Alzheimerovou nemocí (Poulin, Dautoff, Morris, Barrett, & Dickerson, 2011). Funkce bazálních ganglií souvisí s volnými pohyby a kognicí. Putamen hraje známou roli v patogenezi Alzheimerovy nemoci díky depositům amyloidu v raných fázích onemocnění (Braak & Braak, 1990). Redukce jeho objemu koreluje se zhoršením kognitivních funkcí (de Jong et al., 2008). Nucleus caudatus je zodpovědný za „na cíl zaměřené“ chování (Grahm, Parkinson, & Owen, 2008) a konkrétně objem pravého nucleus caudatus je asociovaný s kognitivním výkonem u starších lidí (Bauer, Toepper, Gebhardt, Gallhofer, & Sammer, 2015). Globus pallidus hraje zásadní roli v průběhu chůze zřejmě přes cortico-striato-pallido-thalamo-corticální okruh (Draganski et al., 2008). Objem globus pallidus koreluje s tíží poruchy chůze u roztroušené sklerózy (Motl et al., 2015). Talamické léze byly pozorované v případech kognitivního deficitu. Především v oblasti levého talamu v případech vaskulární demence. Takové poškození vede k poruše paměti a řeči (Swartz & Black, 2006).

V naší studii jsme měřili objemy všech výše uvedených struktur, jejichž velikost může mít potenciální vliv na klinický obraz normotenzního hydrocefalu – jmenovitě: capsula interna a externa, corpus callosum, hipokampus, amygdala, putamen, globus pallidus internus a externus, talamus, nucleus caudatus, periaqueduktální šed', temporální lalok, šedá a bílá hmota, celkový objem telencefala a supratentoriální komorový systém. Všechny párové struktury byly vyšetřené oboustranně.

Nejprve jsme hodnotili volumetrii jako diagnostickou metodu normotenzního hydrocefalu. Velikosti všech výše uvedených struktur jsme porovnávali ve třech skupinách – pacienti s diagnostikovaným NPH, se

suspektním, ale nakonec vyloučeným NPH a skupinu kontrol. Očekávaně byl statisticky významný rozdíl ve velikosti komor - $p < 0.000001$. Stejně tak byl signifikantní rozdíl v objemu šedé a bílé hmoty s p -hodnotou 0,007 pro bílou hmotu a 0,005 pro šedou hmotu. Dále jsme pozorovali změny ve velikosti corpus callosum (p -hodnota 0,002), levého hipokampu (p -hodnota 0,02) a levého globus pallidus internus (p -hodnota 0,04). Zachycené rozdíly diskriminovaly skupinu pacientů s normotenzním hydrocefalem a kontroly, mezi skupinami s NPH a bez NPH byly rozdíly minimální.

Statistická analýza změn strukturálních objemů tři měsíce po zavedení VP zkratu prokázala očekávaný signifikantní rozdíl ve velikosti komorového systému (p -hodnota 0,0001) a objemu telencefala (p -hodnota 0,05). Signifikantně se zvětšil objem pravého putamen (p -hodnota 0,04). Tento nálezy lze vysvětlit lepší drenáží pravé hemisféry při rutinním zavádění komorového konce zkratu do pravé postranní komory. Tuto hypotézu podporují další nálezy větších strukturálních objemů v pravé hemisféře, byť se nejednalo o statisticky významné nálezy.

Celkově lze konstatovat, že strukturální volumetrie sice přináší určité dílčí výsledky, jednoznačné vodítko k diagnostice NPH však nedává.

Druhou testovanou metodou bylo měření průtokových parametrů v úrovni aqueductu. Podle nejuznávanější teorie o normotenzním hydrocefalu je vývoj hlavních symptomů způsoben ventrikulární dilatací, která vede k mechanickému stresu periventrikulární bílé hmoty, což způsobuje ischemii a hypoxii axonů (Akai, Uchigasaki, Tanaka, & Komatsu, 1987). Narušená ependymální vrstva postupně ztrácí plasticitu a pulzabilita je současně významně snížena (Greitz, 2004). Tento proces vede ke zhoršení průtoku likvoru komorovým systémem (Rekate, Nadkarni, & Wallace, 2008). Komprimovaná přilehlá bílá hmota ztrácí integritu a tuhne, což vede ke snížení přenosu pulzních vln (Preuss et al., 2013). Tento proces způsobuje dilataci komor, což ještě více zpomaluje tok mozkomíšního moku (Ammar et al., 2017). Přesný patofyziologický mechanismus normálního tlakového hydrocefalu zůstává nejasný, ale výše uvedená teorie stále zůstává jednou z nejvíce přijímaných (Z. Wang, Zhang, Hu, Ding, & Wang, 2020). Od samého počátku širší dostupnosti vyšetření MRI mnoho vědců vkládalo velké naděje do MRI s fázovým kontrastem, která se zdála být dlouho očekávaným biomarkerem pro výběr pacientů s NPH reagujících na zkrat (Bradley et al., 1996).

Bohužel se ukázalo, že MRI s fázovým kontrastem není snadné interpretovat a její výsledky se liší podle použitého zařízení MRI (Bradley, 2016). Výsledky publikovaných studií jsou doposud značně kontroverzní. Nejvíce studovaným parametrem je tepový objem mozkomíšního moku. Podle některých autorů funguje jako neinvazivní doplňkový test (Algin, Hakymez, & Parlak, 2010; Yamada et al., 2020). Jiné práce jeho přínos zpochybňují (Blitz et al., 2018; Ringstad, Emblem, & Eide, 2016). Dalšími často studovanými parametry jsou rychlosti toku. Publikované výsledky jsou opět přinejmenším nejednoznačné, od příznivých výsledků (Algin et al., 2010; Tawfik, Elsorogy, Abdelghaffar, Naby, & Elmenshawī, 2017) až po žádný významný rozdíl mezi skupinou NPH a zdravými kontrolami (Shanks et al., 2019).

Průtoková křivka u normotenzního hydrocefalu je definována sedmi vektory: area aqueductu, maximální pozitivní rychlost, maximální negativní rychlost, průměrná rychlost, pozitivní, průměrný a negativní průtok. Přímým srovnáním pomocí t-testu jsme identifikovali tři nejvýraznější parametry s hodnotou p menší než 0,005 – maximální pozitivní rychlost, nejvyšší amplitudu a negativní tok. Tato zjištění mohou souviset s pozorovanou zvýšenou pulzatilitou ICP u pacientů s NPH při invazivním monitorování ICP (Per K. Eide & Brean, 2010; Per Kristian Eide & Sorteberg, 2010). Výsledky monitorování ICP na predikci zkratové operace jsou v publikované literatuře odlišné (Per Kristian Eide & Sorteberg, 2016; Qvarlander, Lundkvist, Koskinen, Malm, & Eklund, 2013). Role změněných charakteristických vln (které jsme pozorovali i v naší studii) na predikci odpovědi na zkrat musí být ještě objasněna.

Postupy strojového učení byly již úspěšně použity v lékařském výzkumu (Garg & Mago, 2021). Pokud jde o NPH, tuto techniku použilo několik autorů, například při analýze chůze (Jeong, Yu, Park, & Kang, 2021) nebo MRI obrazu (Irie et al., 2020). Není nám známo, že by byla metoda strojové učení použita v souvislosti vyšetření průtoků u normotenzního hydrocefalu. Použitím této metody jsme dosáhli citlivosti až 85% a specificity 84%. Nejlepší přesnost byla 80%. Nejvýkonnějším algoritmem strojového učení byl Adaptive Boosting. Tento model vykazoval dobrou kalibraci a rozlišení testovacích dat s 80,4% přesností, 72,0% citlivostí, 84,7% specificitou a 0,812 AUC.

Vyvinuté modely strojového učení byly optimalizovány čistě za účelem diskriminace mezi skupinou NPH pacientů a zdravých kontrol. Některé z použitých modelů umožňují použití takzvané optimalizace hyperparametrů. Dalším přidáváním pacientů do testovací populace by se výsledky metody dál zpřesňovaly. Před uvedením našeho postupu do praxe by také byla externí validace dat z více neurochirurgických center.

6 Závěry, naplnění cílů

1. Moderní způsob analýzy obrazu umožnil provést volumetrickou analýzu velkého počtu suspektních struktur pacientů s normotenzním hydrocefalem. Podrobná volumetrická studie prokázala statisticky významné změny ve velikosti komor a v objemu šedé a bílé hmoty, dále v objemu corpus callosum, levého hipokampu a levého globus pallidus internus. Rozdíly byly nicméně především mezi skupinami pacientů s normotenzním hydrocefalem a pacientů se suspektním NPH na jedné straně a zdravými kontrolami na straně druhé. Rozdíl mezi skupinou s NPH a suspektním NPH byl minimální a skupiny se navzájem překrývaly. Statistická analýza změn strukturálních objemů tři měsíce po zavedení VP zkratu prokázala očekávaný signifikantní rozdíl ve velikosti komorového systému a objemu telencefala. Další signifikantní změna objemu se týkala pravého putamen, tu lze vysvětlit lepší drenáží pravé postranní komory. Celkově lze konstatovat, že strukturální volumetrie sice přináší určité dílčí výsledky, jednoznačné vodítko k diagnostice NPH však neposkytuje.

2. Studií fázového kontrastu MRI u normotenzního hydrocefalu jsme prokázali efektivitu přístupu strojového učení, které významně zjednodušuje využití této metody a zvyšuje její prediktivní hodnotu. Fázově kontrastní MRI s pomocí strojového učení může rozlišovat pacienty s NPH od zdravých kontrol s více než 80% specificitou a senzitivitou. Nejvýkonnějším algoritmem ze sledovaných byl Adaptive Boosting. Tento model vykazoval dobrou kalibraci a rozlišení testovaných dat s 80,4% přesností, 72,0% citlivostí, 84,7% specificitou a 0,812 AUC. Tato studie dosud nebyla publikovaná, t.č. je v recenzním řízení v časopise *Neurosurgery*.
3. Studie hodnotící vysoko objemové dětské neurochirurgické oddělení v subsaharské Africe ukazuje, že zkratové operace lze i v podmínkách rozvojové země provádět s obdobnými výsledky jako ve vyspělých státech. Náklady na léčbu jsou přitom výrazně nižší. Klíčovým parametrem pro kvalitní léčbu se zdá být vysoký objem pacientů a zkušený chirurgický a ošetrovatelský tým.

7 Seznam použité literatury

- Akai, K., Uchigasaki, S., Tanaka, U., & Komatsu, A. (1987). Normal pressure hydrocephalus. Neuropathological study. *Acta Pathol Jpn*, 37(1), 97-110.
- Algin, O., Hakyemez, B., & Parlak, M. (2010). The efficiency of PC-MRI in diagnosis of normal pressure hydrocephalus and prediction of shunt response. *Acad Radiol*, 17(2), 181-187. doi:10.1016/j.acra.2009.08.011
- Ammar, A., Abbas, F., Al Issawi, W., Fakhro, F., Batarfi, L., Hendam, A., . . . Al Jehani, H. (2017). Idiopathic Normal-Pressure Hydrocephalus Syndrome: Is It Understood? The Comprehensive Idiopathic Normal-Pressure Hydrocephalus Theory (CiNPHT). In A. Ammar (Ed.), *Hydrocephalus: What do we know? And what do we still not know?* (pp. 67-82). Cham: Springer International Publishing.
- Andrejević, M., Meshi, D., van den Bos, W., & Heekeren, H. R. (2017). Individual differences in social desirability are associated with white-matter microstructure of the external capsule. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 17(6), 1255-1264. doi:10.3758/s13415-017-0548-2
- Bauer, E., Toepper, M., Gebhardt, H., Gallhofer, B., & Sammer, G. (2015). The significance of caudate volume for age-related associative memory decline. *Brain Research*, 1622, 137-148. doi:<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.06.026>
- Blitz, A. M., Shin, J., Balédent, O., Pagé, G., Bonham, L. W., Herzka, D. A., . . . Rigamonti, D. (2018). Does Phase-Contrast Imaging through the Cerebral Aqueduct Predict the Outcome of Lumbar CSF Drainage or Shunt Surgery in Patients with Suspected Adult Hydrocephalus? *AJNR Am J Neuroradiol*, 39(12), 2224-2230. doi:10.3174/ajnr.A5857
- Braak, H., & Braak, E. (1990). Alzheimer's disease: striatal amyloid deposits and neurofibrillary changes. *J Neuropathol Exp Neurol*, 49(3), 215-224.
- Bradley, W. G., Jr. (2016). Magnetic Resonance Imaging of Normal Pressure Hydrocephalus. *Semin Ultrasound CT MR*, 37(2), 120-128. doi:10.1053/j.sult.2016.01.005
- Bradley, W. G., Jr., Scalzo, D., Queralt, J., Nitz, W. N., Atkinson, D. J., & Wong, P. (1996). Normal-pressure hydrocephalus: evaluation with cerebrospinal fluid flow measurements at MR imaging. *Radiology*, 198(2), 523-529. doi:10.1148/radiology.198.2.8596861
- de Jong, L. W., van der Hiele, K., Veer, I. M., Houwing, J. J., Westendorp, R. G. J., Bollen, E. L. E. M., . . . van der Grond, J. (2008). Strongly reduced volumes of putamen and thalamus in Alzheimer's disease: an MRI study. *Brain*, 131(12), 3277-3285. doi:10.1093/brain/awn278
- Draganski, B., Kherif, F., Klöppel, S., Cook, P. A., Alexander, D. C., Parker, G. J. M., . . . Frackowiak, R. S. J. (2008). Evidence for Segregated and Integrative Connectivity Patterns in the Human Basal Ganglia. *The Journal of Neuroscience*, 28(28), 7143-7152. doi:10.1523/jneurosci.1486-08.2008

- Eide, P. K., & Breaun, A. (2010). Cerebrospinal fluid pulse pressure amplitude during lumbar infusion in idiopathic normal pressure hydrocephalus can predict response to shunting. *Cerebrospinal Fluid Research*, 7(1), 5. doi:10.1186/1743-8454-7-5
- Eide, P. K., & Sorteberg, W. (2010). Diagnostic Intracranial Pressure Monitoring and Surgical Management in Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus: A 6-Year Review of 214 Patients. *Neurosurgery*, 66(1), 80-91. doi:10.1227/01.Neu.0000363408.69856.B8
- Eide, P. K., & Sorteberg, W. (2016). Outcome of Surgery for Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus: Role of Preoperative Static and Pulsatile Intracranial Pressure. *World Neurosurgery*, 86, 186-193.e181. doi:<https://doi.org/10.1016/j.wneu.2015.09.067>
- Garg, A., & Mago, V. (2021). Role of machine learning in medical research: A survey. *Computer Science Review*, 40, 100370. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cosrev.2021.100370>
- Grahn, J. A., Parkinson, J. A., & Owen, A. M. (2008). The cognitive functions of the caudate nucleus. *Progress in Neurobiology*, 86(3), 141-155. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.09.004>
- Greitz, D. (2004). Radiological assessment of hydrocephalus: new theories and implications for therapy. *Neurosurgical Review*, 27(3), 145-165. doi:10.1007/s10143-004-0326-9
- Irie, R., Otsuka, Y., Hagiwara, A., Kamagata, K., Kamiya, K., Suzuki, M., . . . Aoki, S. (2020). A Novel Deep Learning Approach with a 3D Convolutional Ladder Network for Differential Diagnosis of Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus and Alzheimer's Disease. *Magn Reson Med Sci*, 19(4), 351-358. doi:10.2463/mrms.mp.2019-0106
- Jeong, S., Yu, H., Park, J., & Kang, K. (2021). Quantitative gait analysis of idiopathic normal pressure hydrocephalus using deep learning algorithms on monocular videos. *Scientific Reports*, 11(1), 12368. doi:10.1038/s41598-021-90524-9
- Kim, M. J., Seo, S. W., Lee, K. M., Kim, S. T., Lee, J. I., Nam, D. H., & Na, D. L. (2011). Differential diagnosis of idiopathic normal pressure hydrocephalus from other dementias using diffusion tensor imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*, 32(8), 1496-1503. doi:10.3174/ajnr.A2531
- Motl, R. W., Hubbard, E. A., Sreekumar, N., Wetter, N. C., Sutton, B. P., Pilutti, L. A., . . . Benedict, R. H. B. (2015). Pallidal and caudate volumes correlate with walking function in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 354(1), 33-36. doi:10.1016/j.jns.2015.04.041
- Poulin, S. P., Dautoff, R., Morris, J. C., Barrett, L. F., & Dickerson, B. C. (2011). Amygdala atrophy is prominent in early Alzheimer's disease and relates to symptom severity. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 194(1), 7-13. doi:<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2011.06.014>
- Preuss, M., Hoffmann, K. T., Reiss-Zimmermann, M., Hirsch, W., Merckenschlager, A., Meixensberger, J., & Dengl, M. (2013). Updated physiology and pathophysiology of CSF circulation--the pulsatile vector theory. *Childs Nerv Syst*, 29(10), 1811-1825. doi:10.1007/s00381-013-2219-0
- Pujari, S., Kharkar, S., Metellus, P., Shuck, J., Williams, M. A., & Rigamonti, D. (2008). Normal pressure hydrocephalus: long-term outcome after shunt surgery. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 79(11), 1282-1286. doi:10.1136/jnnp.2007.123620
- Qvarlander, S., Lundkvist, B., Koskinen, L.-O. D., Malm, J., & Eklund, A. (2013). Pulsatility in CSF dynamics: pathophysiology of idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 84(7), 735-741. doi:10.1136/jnnp-2012-302924
- Rekate, H. L., Nadkarni, T. D., & Wallace, D. (2008). The importance of the cortical subarachnoid space in understanding hydrocephalus. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics PED*, 2(1), 1-11. doi:10.3171/ped/2008/2/7/001
- Ringstad, G., Emblem, K. E., & Eide, P. K. (2016). Phase-contrast magnetic resonance imaging reveals net retrograde aqueductal flow in idiopathic normal pressure hydrocephalus. *J Neurosurg*, 124(6), 1850-1857. doi:10.3171/2015.6.Jns15496
- Savolainen, S., Laakso, M. P., Paljarvi, L., Alafuzoff, I., Hurskainen, H., Partanen, K., . . . Vapalahti, M. (2000). MR imaging of the hippocampus in normal pressure hydrocephalus: correlations with cortical Alzheimer's disease confirmed by pathologic analysis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 21(2), 409-414.
- Shanks, J., Markenroth Bloch, K., Laurell, K., Cesarini, K. G., Fahlström, M., Larsson, E. M., & Virhammar, J. (2019). Aqueductal CSF Stroke Volume Is Increased in Patients with Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus and Decreases after Shunt Surgery. *AJNR Am J Neuroradiol*, 40(3), 453-459. doi:10.3174/ajnr.A5972

- Skalický, P., Vlasák, A., Mládek, A., Vrána, J., Bajaček, M., Whitley, H., . . . Bradáč, O. (2020). Role of DESH, callosal angle and cingulate sulcus sign in prediction of gait responsiveness after shunting in iNPH patients. *J Clin Neurosci*. doi:10.1016/j.jocn.2020.11.020
- Swartz, R. H., & Black, S. E. (2006). Anterior-medial thalamic lesions in dementia: frequent, and volume dependently associated with sudden cognitive decline. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 77(12), 1307-1312. doi:10.1136/jnnp.2006.091561
- Tawfik, A. M., Elsorogy, L., Abdelghaffar, R., Naby, A. A., & Elmenshaw, I. (2017). Phase-Contrast MRI CSF Flow Measurements for the Diagnosis of Normal-Pressure Hydrocephalus: Observer Agreement of Velocity Versus Volume Parameters. *AJR Am J Roentgenol*, 208(4), 838-843. doi:10.2214/ajr.16.16995
- Vakili, S., Moran, D., Hung, A., Elder, B. D., Jeon, L., Fialho, H., . . . Rigamonti, D. (2016). Timing of surgical treatment for idiopathic normal pressure hydrocephalus: association between treatment delay and reduced short-term benefit. *Neurosurg Focus*, 41(3), E2. doi:10.3171/2016.6.Focus16146
- Wang, X.-D., Ren, M., Zhu, M.-W., Gao, W.-P., Zhang, J., Shen, H., . . . Gao, K. (2015). Corpus callosum atrophy associated with the degree of cognitive decline in patients with Alzheimer's dementia or mild cognitive impairment: A meta-analysis of the region of interest structural imaging studies. *Journal of Psychiatric Research*, 63, 10-19. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.02.005>
- Wang, Z., Zhang, Y., Hu, F., Ding, J., & Wang, X. (2020). Pathogenesis and pathophysiology of idiopathic normal pressure hydrocephalus. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 26(12), 1230-1240. doi:<https://doi.org/10.1111/cns.13526>
- Wikkelso, C., Hellström, P., Klinge, P. M., & Tans, J. T. J. (2013). The European iNPH Multicentre Study on the predictive values of resistance to CSF outflow and the CSF Tap Test in patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 84(5), 562-568. doi:10.1136/jnnp-2012-303314
- Yamada, S., Ishikawa, M., Ito, H., Yamamoto, K., Yamaguchi, M., Oshima, M., & Nozaki, K. (2020). Cerebrospinal fluid dynamics in idiopathic normal pressure hydrocephalus on four-dimensional flow imaging. *Eur Radiol*, 30(8), 4454-4465. doi:10.1007/s00330-020-06825-6
- Zaccaria, V., Bacigalupo, I., Gervasi, G., Canevelli, M., Corbo, M., Vanacore, N., & Lacorte, E. (2020). A systematic review on the epidemiology of normal pressure hydrocephalus. *Acta Neurol Scand*, 141(2), 101-114. doi:10.1111/ane.13182

8 Seznam publikací autora

Publikace s IF, které jsou podkladem disertační práce

Vlasák A, Skalický P, Mládek A, Vrána J, Beneš V, Bradáč O. Structural volumetry in NPH diagnostics and treatment-future or dead end? *Neurosurg Rev*. 2020 Jan 24. doi: 10.1007/s10143-020-01245-y. Epub ahead of print. PMID: 31980974. (IF 3,042)

Skalický P, Mládek A, **Vlasák A**, De Lacy P, Beneš V, Bradáč O. **Normal pressure hydrocephalus-an overview of pathophysiological mechanisms and diagnostic procedures.** *Neurosurg Rev*. 2020 Dec;43(6):1451-1464. doi: 10.1007/s10143-019-01201-5. Epub 2019 Nov 8. (IF 3,042)

Vlasak A, Okechi H, Horinek D, Albright AL. Pediatric Ventriculoperitoneal Shunts Revision Rate and Costs in High-Volume sub-Saharan Department. *World Neurosurg*. 2019 Oct;130:e1000-e1003. doi: 10.1016/j.wneu.2019.07.059. Epub 2019 Jul 12. PMID: 31306836. (IF 2,104)

Publikace s IF, které souvisí s tématem disertační práce, nebyly však jejím přímým podkladem

Hoza D, **Vlasák A**, Hořínek D, Sameš M, Alfieri A. **DTI-MRI biomarkers in the search for normal pressure hydrocephalus aetiology: a review**. *Neurosurg Rev*. 2015 Apr;38(2):239-44; discussion 244. doi: 10.1007/s10143-014-0584-0. Epub 2014 Oct 28. PMID: 25345377. (IF 3,042)

Skalický P, **Vlasák A**, Mládek A, Vrána J, Bajaček M, Whitley H, Beneš V, Bradáč O. **Role of DESH, callosal angle and cingulate sulcus sign in prediction of gait responsiveness after shunting in iNPH patients**. *J Clin Neurosci*. 2021 Jan;83:99-107. doi: 10.1016/j.jocn.2020.11.020. Epub 2020 Dec 14. PMID: 33334664 (IF 1,961)

Publikace s IF, které nesouvisejí s tématem disertační práce

Plzák J, Kratochvíl V, Kešner A, Šurda P, **Vlasák A**, Zvěřina E. **Endoscopic endonasal approach for mass resection of the pterygopalatine fossa**. *Clinics (Sao Paulo)*. 2017 Oct;72(9):554-561. doi: 10.6061/clinics/2017(09)06. (IF 2,365)

Zukić, D., **Vlasák, A.**, Egger, J., Hořínek, D., Nimsky, C. and Kolb, A. (2014), **Robust Detection and Segmentation for Diagnosis of Vertebral Diseases Using Routine MR Images**. *Computer Graphics Forum*, 33: 190-204. doi:10.1111/cgf.12343 (IF 2,076)

Vlasak A, Horinek D, Sames M. **Radiographic changes after anterior cervical discectomy and their clinical impact**. *Acta Neurochir (Wien)*. 2014 Nov;156(11):2153-4. doi: 10.1007/s00701-014-2110-0. Epub 2014 May 30. (IF 2,216)

Guerreiro H, **Vlasak A**, Horinek D, Tichy M, Lisy J, Vanek P, Liby P, Hoza D, Beneš V, Nimsky C. **Bobble-head doll syndrome: therapeutic outcome and long-term follow-up in four children**. *Acta Neurochir (Wien)*. 2012 Nov;154(11):2043-9. doi: 10.1007/s00701-012-1458-2. Epub 2012 Aug 11. (IF 2,216)

IF všech již vydaných publikací

Souhrnný IF všech dosud vydaných publikací je **22,064**.