

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

DISERTAČNÍ PRÁCE

Doktorský studijní program
Lékařská imunologie

Monitorování parametrů pleurálních výpotků při léčbě hrudních empyémů

Monitoring of pleural effusion parameters during the treatment of chest empyema

Ing. Bc. Inka Matuchová

Školitel: **prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.**
Školitel konzultant: **RNDr. Ing. Petr Kelbich, Ph.D.**

Hradec Králové, 2021

Prohlášení autora

Prohlášení:

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy, Praha.

Hradec Králové, 2022

Inka Matuchová

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě bych ráda věnovala veliké poděkování panu prof. RNDr. Janu Krejskovi, CSc. z Ústavu klinické imunologie a alergologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Hradci Králové za odborné vedení a veškerou podporu během studia. Dále bych ráda poděkovala jeho kolegům a kolegyním z ÚKIA LF UK a FN HK za veškerou vstřícnost a odborné rady.

Také věnuji poděkování RNDr. Ing. Petrovi Kelbichovi, Ph.D. z Ústavu biomedicíny a laboratorní diagnostiky Fakulty zdravotnických studií Univerzity J. E. Purkyně v Ústí nad Labem coby specialistovi na vyšetřování extravaskulárních tekutin za přivedení k problematice vyšetřování pleurálních výpotků a umožnění tuto problematiku společně rozvinout. Také děkuji za odborné rady během naší dlouhodobé spolupráce.

Především děkuji MUDr. Janu Kubalíkovi z oddělení hrudní chirurgie Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem za vstřícnost při konzultacích a za cenné rady z pohledu hrudního chirurga během celé tvorby. Dále děkuji MUDr. Ivanovi Staňkovi, MBA, MUDr. Vilémovi Malému, MUDr. Ondřejovi Karpjukovi a celému týmu hrudní chirurgie za cenné rady a možnosti konzultací při řešení této problematiky.

Také věnuji veliké poděkování Evě Hanuljakové a Květoslavě Sýkorové za pomoc při zpracování vzorků a při tvorbě primární databáze.

Na závěr bych chtěla poděkovat MUDr. Ondřejovi Sobkovi, CSc. MIAC. a kolegům a kolegyním z laboratoře pro likvorologii, neuroimunologii, patologii a speciální diagnostiku Topalex, s.r.o za vstřícnost a podporu, blízkým přátelům a celé rodině za veškerou psychickou podporu během celého studia.

Práce byly finančně zajištěny grantovým projektem Univerzity Karlovy, Lékařské fakulty v Hradci Králové „PROGRES Q40/10“ a interním grantem Krajské zdravotní, a.s. v Ústí nad Labem ‘IGA-KZ-2021-1-1’.

OBSAH

1	ÚVOD	14
1.1.	Extravaskulární kompartment	14
1.2.	Extravaskulární tekutina.....	14
1.2.1.	Přehled extravaskulárních tekutin	15
1.3.	Dutina hrudní.....	15
1.3.1.	Pleura.....	16
1.3.2.	Pleurální dutina.....	16
1.3.3.	Mezihrudí	16
1.3.4.	Pleurální tekutina.....	16
1.3.5.	Pleurální výpotek.....	17
1.3.6.	Detekce přítomnosti pleurálního výpotku	17
1.3.7.	Odběr pleurálního výpotku.....	17
1.3.8.	Laboratorní vyšetřování pleurálních výpotků	17
1.3.8.1.	Lightova kritéria	18
1.3.8.2.	Cytologicko-energetický princip	19
1.3.9.	Příčiny vzniku pleurálního výpotku	26
1.3.10.	Neinfekční postižení dutiny hrudní	27
1.3.10.1.	Kardiální postižení	27
1.3.10.2.	Jaterní <i>hydrothorax</i>	27
1.3.10.3.	Nefrotický syndrom.....	27
1.3.10.4.	<i>Urinothorax</i>	28
1.3.10.5.	Nádorové postižení.....	28
1.3.10.6.	<i>Hemothorax</i>	28
1.3.10.7.	<i>Pneumothorax</i>	28
1.3.10.8.	<i>Chylothorax</i>	29
1.3.11.	Infekční postižení dutiny hrudní.....	29
1.3.11.1.	Pneumonie	30
1.3.11.2.	Virová pneumonie	30
1.3.11.3.	Bakteriální pneumonie	30
1.3.11.3.1.	Purulentní zánětlivý proces	31
1.3.11.3.2.	Role neutrofilních granulocytů v purulentním zánětu.....	32
1.3.11.3.3.	Parapneumonický výpotek	33

1.3.11.3.4.	Komplikovaný purulentní výpotek.....	34
1.3.11.3.5.	Hrudní empyém.....	34
1.3.11.4.	Pneumonie vyvolaná plísněmi.....	35
2	CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	36
3	MATERIÁL A METODY	37
3.1.	Použitý materiál.....	37
3.1.1.	Biologický materiál	37
3.1.2.	Přístrojové vybavení a pomůcky	37
3.1.2.1.	Reagenční soupravy pro analytický systém Cobas 6000® c501.....	37
3.1.2.2.	Promývací roztoky pro analytický systém Cobas 6000® c501.....	39
3.1.3.	Další použité chemikálie	40
3.1.4.	Software.....	40
3.2.	Metodika.....	40
3.2.1.	Preanalytická fáze.....	41
3.2.2.	Vyšetření buněčnosti, tj. počtu jaderných elementů a erytrocytů, v pleurálním výpotku.....	41
3.2.3.	Příprava trvalého cytologického preparátu z pleurálního výpotku	42
3.2.4.	Odečet cytologického preparátu pleurálního výpotku.....	42
3.2.5.	Stanovení humorálních parametrů prostřednictvím biochemického analyzátoru Cobas 6000® c501	42
3.2.6.	Principy metod měření jednotlivých parametrů a související výpočty	42
3.2.7.	Statistické zpracování.....	44
3.2.7.1.	Primární databáze	44
3.2.7.2.	Průzkum cytologických nálezů pleurálních výpotků u pacientů s vybraným postižením dutiny hrudní.....	46
3.2.7.3.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní na četnost neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku.....	47
3.2.7.4.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na laboratorní parametry pleurálního výpotku s převahou neutrofilních granulocytů	47
3.2.7.5.	Testování vlivu energetických poměrů v pleurální dutině na laboratorní parametry v pleurálních výpotcích u pacientů po hrudně-chirurgické operaci	48
3.2.7.6.	Testování vlivu současně probíhajícího nádorového procesu v dutině hrudní na laboratorní obraz hrudního empyému	48
3.2.7.7.	ROC analýza.....	49

3.2.7.7.1.	Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení nezáznětlivých transudátů od parapneumonických výpotků	49
3.2.7.7.2.	Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení nezáznětlivých transudátů od hrudních empyémů	49
3.2.7.7.3.	Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení parapneumonických výpotků od hrudních empyémů	50
3.2.7.8.	Vliv výsledného vývoje hrudního empyému na laboratorní parametry pleurálních výpotků v čase	50
3.2.7.9.	Vliv časového období odběru pleurálního výpotku od zavedení hrudního drénu na laboratorní parametry hrudního empyému u pacientů s regreseí a bez regrese zánětu v období mezi 1. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu	51
4	VÝSLEDKY	52
4.1.	Charakteristika primárních dat	52
4.2.	Charakteristika kohorty pacientů z primární databáze	52
4.3.	Průzkum cytologických nálezů pleurálních výpotků u pacientů s vybraným postižením dutiny hrudní	53
4.4.	Testování vlivu typu postižení dutiny hrudní na relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích	55
4.5.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na laboratorní parametry pleurálního výpotku s převahou neutrofilních granulocytů	57
4.5.1.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci celkové bílkoviny v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů	58
4.5.2.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na počet jaderných elementů v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů	59
4.5.3.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci glukózy v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů	60
4.5.4.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci laktátu v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů	62

4.5.5.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů	63
4.5.6.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na cytologicko-energetické parametry pleurálního výpotku s převahou neutrofilních granulocytů.....	64
4.5.6.1.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na relativní četnost eutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku při jejich převaze.....	64
4.5.6.2.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koeficient energetické bilance v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů.....	66
4.5.6.3.	Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů	67
4.6.	Testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní na laboratorní parametry pleurálních výpotků pacientů po hrudní operaci.....	68
4.6.1.	Testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní na četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích při jejich převaze	68
4.6.2.	Testování vlivu energetických poměrů v pleurální dutině na koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v pleurálních výpotcích.....	70
4.6.3.	Testování vlivu energetických poměrů v pleurální dutině na koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy v pleurálních výpotcích	72
4.7.	Porovnání laboratorních parametrů hrudního empyému vzniklého z parapneumonického a paramaligního výpotku.....	73
4.8.	Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení nezánettivých transudátů a parapneumonických výpotků.....	75
4.9.	Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení nezánettivých transudátů a hrudních empyému	80
4.10.	Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení parapneumonických výpotků a hrudních empyémů.....	85

4.11.	Testování vlivu finálního vývoje hrudního empyému na laboratorní parametry v pleurálním výpotku odebraného v den zavedení hrudního drénu	90
4.12.	Testování vlivu vývoje hrudního empyému na laboratorní parametry v pleurálním výpotku odebraného v období mezi 1. a 10 dnem od zavedení hrudního drénu	92
4.13.	Testování vlivu vývoje hrudního empyému na laboratorní parametry v pleurálním výpotku odebraného v období mezi 11. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu	93
4.14.	Testování vlivu období vyšetření pleurálního výpotku u pacientů s hrudním empyémem na laboratorní parametry v pleurálním výpotku s ohledem na finální regresi zánětu	95
5	DISKUZE	97
6	ZÁVĚR	108
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	111

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ADP	adenosindifosfát
AST	aspartátaminotransferáza
ATP	adenosintrifosfát
AUC	area under the ROC Curve
CB	celková bílkovina
CD	z angl. <i>cluster of differentiation</i>
CI	interval spolehlivosti (z angl. <i>confidence interval</i>)
CRP	C-reaktivní protein
CT	počítačová tomografie (z angl. <i>computed tomography</i>)
DAMP	z angl. <i>damage-associated molecular pattern</i>
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace (z angl. <i>disseminated intravascular coagulation</i>)
FDG-PET	pozitronová emisní tomografie s využitím 18-fluorodeoxyglukózy
G-6-P	glukóza-6-fosfát
GIT	gastrointestinální trakt
HEPES	kyselina N'-2-hydroxyethylpiperazin-N'-2 ethansulfonová
HK	hexokináza
ICAM-1	z angl. <i>intercellular adhesion molecule 1</i>
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
IFN-γ	interferon γ
IL-4	interleukin 4
IL-10	interleukin 10
IL-12	interleukin 12
IL-13	interleukin 13
JE	jaderné elementy
JIP	jednotka intenzivní péče
KEB	koeficient energetické bilance
K-W	Kruskal-Wallisův test
LDH	laktátdehydrogenáza
LFA-1	z angl. <i>leucocyte function-associated antigen 1</i>
LL-37	katelicidin peptid LL-37

MES	2-(N-morfolino)ethan sulfonová kyselina
HLA	hlavní histokompatibilní komplex (z angl. <i>human leucocyte antigen</i>)
NAD	nikotinamidadeninukleotid
NK buňky	přirození zabíječi (z angl. <i>natural killers</i>)
NLR	z angl. <i>NOD-like receptor</i>
NO	oxid dusnatý
NT-proBNP	N-terminální prohormon natriuretický peptid B (z angl. <i>N-terminal pro B-type natriuretic peptide</i>)
NYHA	klasifikace dle New York Heart Association
PAMP	z angl. <i>pathogen-associated molecular pattern</i>
ROS	reaktivní kyslíkové radikály (z angl. <i>reactive oxygen species</i>)
PRR	z angl. <i>pattern recognition receptor</i>
PSGL-1	z angl. <i>p-selectin glycoprotein ligand-1</i>
ROC	receiver operating characteristic
RTG	rentgenové vyšetření
SE	standardní chyba (z angl. <i>standard error</i>)
TLR	z angl. <i>toll like receptors</i>
TRIS	tris(hydroxymethyl)aminomethan
UPV	umělá plicní ventilace
UZV	ultrazvukové vyšetření

SOUHRN

Hrudní empyém představuje závažnou zdravotní komplikaci s letalitou až 40 %. Podstatou je nahromadění purulentního zánětlivého výpotku v dutině hrudní. Léčba spočívá v zavedení drénu do zánětlivého ložiska, provádění průplachů a lokální aplikaci léčiv. Tyto postupy bývají zdlouhavé a zatížené rizikem recidivy zánětu. Naším cílem je podstatně urychlit a zefektivnit léčbu jejím správným načasováním s ohledem na průběžný stav zánětlivého ložiska. Pro získávání potřebných informací jsme zavedli cytologicko-energetickou analýzu pleurálních výpotků. Ta spočívá v detekci imunokompetentních buněk v pleurálním výpotku a měření jejich aktuální energetické náročnosti. Ze získaných údajů lze přesně určit charakter a intenzitu lokálního zánětu. Opakovaná měření pak poskytují informace o jeho vývoji a efektu léčby. Cílem studie je vytvoření teoretického rámce pro aplikaci cytologicko-energetické analýzy pleurálních výpotků u pacientů s hrudními empyémy. Doplnujícím vyšetřením jsou stanovení katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) a laktátdehydrogenázy (LDH) v pleurálním výpotku coby ukazatelů rozsahu destrukce tkáně poškozující složkou purulentního zánětu. Prokázali jsme, že náš způsob vyšetřování pleurálních výpotků představuje přidanou hodnotu tradičně užívaného vyšetřování pleurálních výpotků dle Lightových pravidel, která neřeší imunobiologickou podstatu zánětu. Nositeli purulentního zánětu jsou neutrofilní granulocyty. Úroveň jejich aktivace popisuje koeficient energetické bilance (KEB). Pleurální výpotky s převahou neutrofilních granulocytů v této studii byly získány od 91 pacientů s transudáty při kardiálním postižení či systémové sepsi, 95 pacientů s nekomplikovaným parapneumonickým výpotkem při bakteriální pneumonii a 282 pacientů s komplikovaným purulentním výpotkem (hrudní empyém). Cytologicko-energetickou analýzou pleurálních výpotků jsme prokázali absenci zánětu u kontrolní skupiny transudátů a přítomnost purulentního zánětu u pacientů s nekomplikovaným parapneumonickým výpotkem a hrudním empyémem. Intenzita zánětu se zvyšuje od nekomplikované k jeho komplikované formě. Tuto skutečnost podporuje také zvyšující se rozsah destrukce tkáně příslušné lokality poškozující složkou purulentního zánětu. Dále jsme poukázali na význam našeho způsobu vyšetřování pleurálních výpotků pro monitoraci pacientů po hrudní operaci vzhledem ke zvýšenému riziku pleurální infekce. Sledováním časového vývoje purulentního zánětu v dutině hrudní u 81 pacientů s hrudním empyémem jsme poukázali na vysoký přínos našeho způsobu vyšetřování pleurálních výpotků při léčbě hrudního empyému. Ten umožní snížit riziko následných komplikací včetně smrti pacienta.

SUMMARY

Monitoring of pleural effusion parameters during the treatment of chest empyema

Chest empyema is a severe complication with collection of pus in the pleural cavity. The mortality rate of chest empyema is up to 40 %. Generally, treatment involves a drain insertion into the inflammatory focus and pleural space irrigation with local application of medication. These processes are usually lengthy with high risk of relapse. Our aim is to shorten the period of treatment using cytological–energy analysis of pleural effusions. This approach is based on simultaneous cytological and metabolic investigation of the pleural effusion. Results allow us to determine the type and intensity of local immune response in the pleural cavity. Repetitive investigations of pleural effusions in time give us information aiming the development of local immunity response in the pleural cavity and can follow the effect of therapy. Our goal is to define the theoretical framework for application of cytological-energy analysis of pleural effusions in patients with chest empyemas. The determination of the catalytic activities of aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) in pleural effusion as parameters of tissue damage is introduced by us. We established that cytological-energy analysis of pleural effusion is complementary with traditional Light's criteria. The advantage of cytological-energy analysis is to characterize the local immune response and intensity of inflammation. Pleural effusions with predominance of neutrophils in this study were obtained from 91 patients with transudates caused by heart failure or systemic sepsis, 95 patients with uncomplicated parapneumonic effusion caused by bacterial pneumonia, and 282 patients with chest empyema (complicated purulent effusion). We found the absence of inflammation in the control group of patients with transudates and the presence of purulent inflammation in patients with uncomplicated parapneumonic effusion and with complicated purulent effusion. The intensity of purulent inflammation is increased from uncomplicated parapneumonic effusion to complicated purulent effusion. This is also supported by increased tissue injury caused by destructive purulent inflammation in pleural cavity. Furthermore, in patients after thoracic surgery, we evidenced the importance of cytological-energy analysis of pleural effusion for monitoring these patients because the risk of purulent complications. We evaluate time development of purulent inflammation in the pleural in 81 patients with chest empyema and demonstrated the high benefit of cytological-energy analysis of pleural effusions in the treatment of chest empyema thus reducing the risk of subsequent complications.

1 ÚVOD

Imunitní systém spolu s dalšími systémy je schopen identifikovat nežádoucí změny ve vnějším i vnitřním prostředí organismu. Pokud jsou ve vnějším životním prostředí člověka identifikovány signály nebezpečí (PAMP = *Pathogen Associated Molecular Pattern*) nebo jsou ve vnitřním prostředí těla identifikovány signály poškození (DAMP = *Damage Associated Molecular Pattern*) organismus na ně musí reagovat, zajistit jejich odstranění a spustit procesy, které zajistí reparaci poškozených struktur tkáně. Odpověď na přítomnost těchto signálů označujeme souhrnně jako zánět (1).

Převážná většina aktivit imunitního systému se odehrává mimo krevní řečiště, zejména v tkáních. Imunokompetentní buňky spolu s humorálními složkami imunitního systému musí v rámci imunitní odpovědi opouštět krevní řečiště a vstupovat do tkání (1).

1.1. Extravaskulární kompartment

Tělní kompartmenty lze rozdělit na intravaskulární a extravaskulární. Intravaskulární kompartment obsahuje krev v srdečních komorách a cévním systému těla. Vše mimo intravaskulárního kompartmentu je kompartment extravaskulární. Tekutina vyplňující extravaskulární prostor se nazývá extravaskulární tekutina (2, 3).

1.2. Extravaskulární tekutina

Pohyb tekutin a doprovodných látek mezi intravaskulárním a extravaskulárním kompartmentem se uskutečňuje skrz endotel cév a řídí se fyzikálními faktory, jako jsou hydrostatické a onkotické síly (2). V důsledku lokálního postižení zánětem pak souvisí pohyb tekutin se zvýšením permeability kapilár v důsledku působení zánětlivých působků v místě zánětu, kdy imunitní systém zajišťuje přísun potřebných buněčných i humorálních složek z krevního řečiště do místa zánětem postižené tkáně komunikující s daným extravaskulárním prostorem (1). Zánětlivý proces se promítne ve změně složení příslušné extravaskulární tekutiny.

Cílem vyšetřování extravaskulárních tekutin je tyto zánětlivé procesy v příslušném extravaskulárním kompartmentu identifikovat a charakterizovat.

1.2.1. Přehled extravaskulárních tekutin

V naší praxi se v rámci vyšetřování extravaskulárních tekutin nejčastěji setkáváme s likvorem, nitrooční tekutinou, pleurální, perikardiální, peritoneální a synoviální tekutinou. Výjimečně pak s plodovou vodou.

Likvor (CSF) se nachází za fyziologických podmínek u dospělého člověka v množství cca 150 ml v komorovém systému mozku a mezi obaly mozku a míchy, arachnoideou a pia mater (4 - 6).

Pleurální tekutina je za fyziologických podmínek u dospělého člověka v množství cca $0,26 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti v pleurálním prostoru, kde jsou uloženy plíce. V případě akumulace této tekutiny hovoříme o pleurálním výpotku. Vznik výpotku je vždy patologickým procesem (7, 8).

Perikardiální tekutina je za fyziologických podmínek u dospělého člověka v množství menším než 50 ml mezi epikardem a perikardem, kde je uloženo srdce. V případě akumulace této tekutiny hovoříme o perikardiálním výpotku (9, 10).

Peritoneální tekutina je za fyziologických podmínek u dospělého člověka v množství menším než 50 ml v peritoneálním prostoru, kde jsou uloženy orgány oblasti dutiny břišní. V případě akumulace této tekutiny hovoříme o břišním výpotku. Jeho tvorba souvisí především s postižením jater, struktur peritoneálního prostoru, s únikem tekutiny z jiného tělního kompartmentu do peritoneálního prostoru aj (11).

Synoviální tekutina je za fyziologických podmínek u dospělého člověka v množství menším než 6 ml v kloubním pouzdře. V případě akumulace této tekutiny v kloubním pouzdře a v jeho okolí hovoříme o kloubním výpotku. Souvisí především s poškozením přilehlých struktur kloubního pouzdra zánětem či fyzikálními vlivy (12 - 14).

1.3. Dutina hrudní

Hrudník *thorax* je umístěn v horní části trupu mezi břichem a kořenem krku. V hrudní dutině jsou uloženy životně důležité orgány a tkáň dýchacího systému (plíce, průdušky, průdušnice, pohrudnice), kardiovaskulárního systému (srdce, perikard, velké cévy, lymfatické cévy), nervového systému (vagový nerv, laryngeální nerv, sympatický řetězec), imunitního systému (brzlík) a trávicího systému (jícen). Hrudní dutinu můžeme rozdělit na dvě pleurální dutiny, které jsou vyplněny pravou a levou plící. Mezi pleurálními dutinami se nachází další prostor tzv. *mediastinum* (15 -18)

1.3.1. Pleura

Pleura je membrána vystýlající vnitřek dutiny hrudní. Membrána lemující vnitřní stranu hrudní se nazývá parietální pleura (pohrudnice). Membrána lemující vnější stranu plic se nazývá viscelární pleura (poplicnice). Obě tyto membrány jsou tvořeny vrstvou mezoteliálních buněk. Pleury se skládají na sebe a vytvářejí tak dvouvrstvou membránovou strukturu obklopující plíci, kterou oddělují od dutiny hrudní (19 - 23).

1.3.2. Pleurální dutina

Jedná se o úzký prostor mezi parietální a viscelární pleurou a u zdravého jedince obsahuje malé množství pleurální tekutiny. V pleurální dutině je udržován nižší tlak než v okolí za cílem udržet plíci rozvinutou (7, 20, 21).

1.3.3. Mezihrudí

Mediastinum (mezihrudí) je anatomický prostor mezi levou a pravou pleurální dutinou. V dolní části je tento prostor ohraničen bránicí, zepředu hrudní kostí, zezadu páteří a ze stran parietální pleurou. Obsahuje veškeré hrudní orgány kromě plic. V předním horním mediastinu je uložen brzlík, či jeho tukové zbytky u staršího jedince, vrstva žil a tepen, průdušnice, lymfatické uzliny. V předním dolním mediastinu je uložené srdce v perikardu (osrdečníku), nervy a lymfatické uzliny. Celým zadním mediastinem prochází jícn (24, 25).

1.3.4. Pleurální tekutina

Pleurální tekutina vzniká nepřetržitou ultrafiltrací krevní plazmy z cév zásobující parietální pleuru a nepřetržitě se absorbuje v parietální pleuře lymfatickým systémem. V malém množství tak vyplňuje pleurální dutinu. Množství pleurální tekutiny u zdravého člověka se pohybuje kolem $0,1 \text{ ml.kg}^{-1}$ až $0,3 \text{ ml.kg}^{-1}$. Tato tekutina umožňuje vzájemný pohyb listů pleury při dýchání (23, 26, 27).

1.3.5. Pleurální výpotek

Pokud dojde k nahromadění pleurální tekutiny v pleurální dutině, nazývá se tato tekutina pleurální výpotek neboli *fluidothorax*. Pleurální výpotky se dle mechanismu jejich vzniku dělí na transudáty a exsudáty (28). Transudát je pleurální nezápálivý výpotek, který vznikl pouze v důsledku nerovnováhy hydrostatického a onkotického tlaku cév. Exsudát je pleurální zápalivý výpotek, který vznikl v důsledku zvýšené mezotheliální či kapilární propustnosti při zápalivém postižení dutiny hrudní (7, 23, 28).

1.3.6. Detekce přítomnosti pleurálního výpotku

K posouzení přítomnosti pleurálního výpotku u každého pacienta slouží zobrazovací metody. Nejčastěji využívanou zobrazovací metodou pro počáteční fázi posouzení je rentgenový snímek (RTG) hrudníku. Ten je schopen identifikovat pleurální výpotek nad 50 ml. Detekci menšího množství tekutiny a její echogenicitu umožňuje ultrasonografie (UZV). K vyhodnocení složitých situací, ve kterých nelze anatomii plně posoudit prostou radiografií nebo ultrasonografií, lze využít počítačovou tomografií (CT). Ta je také velice účinným nástrojem pro detekci empyému a jeho diferenciaci od plicního abscesu (7, 29). Pro přesnější identifikaci nádorového postižení slouží pozitronová emisní tomografie s využitím 18 - fluorodeoxyglukózy (FDG - PET) (30).

1.3.7. Odběr pleurálního výpotku

Pleurální tekutinu získáváme nejčastěji hrudní punkcí. Punkce se provádí lokalizací výpotku u pacienta obvykle v zadní axilární čáře mezižebří pod horním okrajem výpotku, event. v místě označeném pod ultrazvukovou kontrolou. Punkční jehla se zavádí při horním okraji dolního žebra. K diagnostické punkci se používá tenká jehla a k evakuační punkci se používají punkční sety. Získaná pleurální tekutina se přepouští do sterilní zkumavky (31).

1.3.8. Laboratorní vyšetřování pleurálních výpotků

Složení pleurálních výpotků je ovlivňováno především procesy probíhající v oblasti dutiny hrudní nebo systémovými změnami na periférii (32).

Pro správnou diagnózu je zapotřebí jeho cytologické, biochemické a mikrobiologické vyšetření. Za nejdůležitější se považuje určení charakteru pleurálního výpotku, tj. určení, zda se jedná o nezáňtlivý transudát, nebo záňtlivý exsudát (7, 28, 31, 33). Za standardní nástroj pro odlišení transudátů a exudátů se již několik desítek let považují Lightova kritéria (28, 33).

Rutinní hodnocení pleurálního výpotku obvykle zahrnuje posouzení vzhledu a zápachu, cytologické vyšetření, včetně informace o počtu jaderných elementů (JE) a buněčné skladbě, stanovení pH, koncentrace glukózy, celkové bílkoviny (CB) a její poměr v pleurálním výpotku a v séru, koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) a její poměr v pleurálním výpotku a v séru (Tab. 1) (34).

Dalšími sledovanými parametry bývají koncentrace katalytické aktivity adenosindeaminázy, cholesterolu, triacylglycerolu. V pleurálních výpotcích pacientů s onemocněním slinivky břišní, rupturou jícnu a někdy s malignitou může být zvýšená koncentrace katalytické aktivity amylázy (7, 35).

Tab. 1: Rutinně využívaná kritéria laboratorních parametrů pro rozlišení transudátů a exudátů (36)

	Transudát	Exsudát
Vzhled	čirý	kalný
pH	> 7,2	< 7,2
CB (g.ml ⁻¹)	< 3,0	> 3,0
JE (.1μl)	< 10 000,0	> 50 000,0
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	≥ 3,4	≤ 3,4
LDH (IU.l ⁻¹)	< 200,0	> 200,0
LDH poměr	< 0,6	> 0,6

1.3.8.1. Lightova kritéria

Dr. Richard Light roku 1972 publikoval studii, ve které vytvořil kritéria pro diferenciaci transudativních a exsudativních výpotků pomocí sledování biochemických parametrů (28). Od té doby se tyto parametry považují za tradiční způsob vyšetřování. Lightova kritéria jsou založena na kvantifikaci biochemických parametrů v pleurálním výpotku nebo na poměrech jejich koncentrací v pleurálním výpotku a v krevním séru. Původně byl za exsudát považován pleurální výpotek, jehož poměr koncentrací celkové

bílkoviny v pleurálním výpotku a v séru byl vyšší než 0,5 a poměr koncentrací katalytických aktivit LDH v pleurálním výpotku a v séru vyšší než 0,6, příp. koncentrace LDH větší než 1000 IU.l⁻¹. Později bylo kritérium opraveno na dvě třetiny horní hranice normální hladiny koncentrace katalytické aktivity LDH. Vyšetřování dle Lightových kritérií poskytuje vysokou senzitivitu, ale nižší specifitu. Je tedy větší pravděpodobnost chybné záměny transudátu za exsudát než opačně. Toto riziko chybného zařazení pleurálního výpotku je zvýšené u pacientů s městnavým srdečním selháním a jaterní cirhózou, protože užívaná diuretika přesouvají vodu difúzí z extravaskulárního pleurálního prostoru do krve, a to vede ke zvýšení koncentrace bílkovin a laktátdehydrogenázy v pleurální tekutině. Významně zvýšená katalytická aktivita LDH je charakteristická pro parapneumonický výpotek nebo empyém, tuberkulózní pleuritidu nebo malignitu, není tedy specifickým ukazatelem příčiny exsudativního výpotku (28, 33, 37, 38, 39).

Tyto kritéria pro rozlišení povahy pleurálních výpotků poskytují kvantitativní znalost laboratorních parametrů, ale nepopisují vlastnosti zánětlivé reakce v dutině hrudní (28, 33).

V naší laboratorní praxi pro detekci a charakterizaci zánětlivé odpovědi v extravaskulárním prostoru vycházíme z principu osvědčeného vyšetřování mozkomíšního moku (40 - 45). Využíváme cytologicko-energetický princip vyšetřování pleurálních výpotků obohacený o ukazatele tkáňového poškození (46 - 49).

1.3.8.2. Cytologicko-energetický princip

Pokud chceme detekovat a charakterizovat lokální zánětlivou odpověď v dané lokalitě musíme v první řadě provést cytologické vyšetření příslušné tekutiny. To nám zajišťuje přehled o tom, jaké imunokompetentní buňky coby potenciální nositelky imunitní reakce, se v dané tekutině vyskytují (1). Cytologické vyšetření využíváme na pracovištích Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem ve smyslu vyšetřování všech extravaskulárních tělních tekutin, včetně pleurálních výpotků (40 - 49)

Na základě znalosti buněčné skladby a morfologických parametrů těchto buněk nejsme schopni zjistit úroveň jejich aktivace, tj. intenzitu lokální zánětlivé odpovědi (49). Pro tyto účely na pracovištích Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem využíváme funkční parametr koeficient energetické bilance (KEB), který vychází z aktuálních látkových koncentrací glukózy a laktátu v pleurálním výpotku. Je definován jako teoretická produkce adenosin trifosfátu (ATP) z jedné molekuly glukózy za aktuálních energetických

poměrů v příslušném rezervoáru extravaskulární tělní tekutiny. Aktuální koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) a aspartátaminotransferázy (AST) pak poskytují informaci o intenzitě poškozujícího zánětu, resp. o rozsahu destrukce tkáně v pleurálním prostoru. (40 - 49).

Vyšetřování buněčnosti, tj. počtu jaderných elementů a erytrocytů, v pleurálním výpotku

Vyšetření buněčnosti spočívá ve stanovení počtu elementů v pleurálním výpotku a diferenciaci na jaderné elementy a erytrocyty (7, 40, 43, 44). Jadernými elementy jsou především imunokompetentní buňky a mesothelie (1, 23). V Masarykově nemocnici v Ústí nad Labem považujeme počet jaderných elementů v pleurálním výpotku za normální do 1000.3 μ l. Pokud je v pleurálním výpotku nalezen vyšší počet jaderných elementů hovoříme o pleiocytose s přívlastkem příslušné převažující buněčné řady. Pokud je patrný v hrudním výpotku normální počet elementů, ale v patologickém složení buněk, jedná se o oligocytosu s přívlastkem příslušné převažující buněčné řady. Výjimku představuje nález nádorových buněk. V takovém případě popisujeme tumorózní oligocytosu či pleiocytosu i v případě jejich minoritního zastoupení (42, 50).

Kvalitativní cytologické vyšetření pleurálního výpotku

Kvalitativní vyšetření pleurálního výpotku je založeno na odečtení trvalého cytologického preparátu pomocí světelného mikroskopu. Znalost morfologických znaků buněk pak umožňuje identifikovat příslušné elementy v pleurálním výpotku a určit jejich míru aktivace či alterace. Kromě imunokompetentních buněk nacházíme v pleurálním výpotku také mezotelie, nádorové buňky, infekční agens a produkty metabolizovaného hemoglobinu (51 – 54).

Význam lymfocytárních elementů v pleurálním výpotku

Lymfocyty jsou imunokompetentní buňky, které se diferencují z lymfoidního prekursoru a liší se svojí funkcí (1). Pleurální výpotky s převahou lymfocytů jsou charakterizovány rozdílnými buněčnými odpověďmi v závislosti na etiologii onemocnění.

V pleurálních výpotcích dominují převážně CD3+ T-lymfocyty, které dělíme na pomocné CD4+ Th-lymfocyty a CD8+ Tc-lymfocyty. V závislosti na cytokinovém prostředí se CD4+ Th-lymfocyty diferencují do Th1 subsetu, které může vyústit ve vzplanutí makrofágů nebo Th2 subsetu vedoucí k protilátkové odpovědi prostřednictvím B-lymfocytů. CD8+ Tc-lymfocyty se spolu s NK buňkami podílí na cytotoxické zánětlivé odpovědi. Nejčastějšími příčinami tvorby pleurálního výpotku s dominující lymfocytární populací jsou nádorové procesy, virové infekce nebo infekce intracelulárních bakterií *Mycobacterium tuberculosis* (1, 55, 56).

Význam monocyto-makrofágových elementů v pleurálním výpotku

Monocyto-makrofágové elementy jsou imunokompetentní buňky, které se diferencují z myeloidního prekursoru. Mají schopnost fagocytózy a prezentace antigenu prostřednictvím HLA I a II (1). Monocyt se migrací přes sliznici pleurálního mezotelu z periferní krve stává pleurálním makrofágem. Pleurální makrofágy přispívají k udržení tkáňové homeostázy a jejich hlavní funkcí je fagocytóza degenerovaných mezoteliálních buněk (57).

Model aktivace makrofágů rozlišuje funkčně makrofágy vytvořené v reakci na různé zánětlivé faktory prostředí. Podle navrhovaného mechanismu funkčně polarizované makrofágy vylučují buď IL-12 nezbytný pro syntézu interferonu γ (IFN- γ) a indukci odpovědi Th1 v lymfocytech nebo IL-10 zvyšující produkci IL-4/IL-13 vyvolávající odpověď Th2 (57).

Další příčinou imunitní reakce s významnou spoluúčastí pleurálních makrofágů bývají pak buňky infikované intracelulárními bakteriemi, zejm. *Mycobacterium tuberculosis* a buňky po nádorové transformaci (1, 57).

Význam neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku

Význam neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku bude podrobněji popsán v kapitole 1.3.11.3.2.

Význam eosinofilních elementů v pleurálním výpotku

Eosinofilní granulocyty se diferencují v kostní dřeni z myeloidní pluripotentní buňky. Významně se podílejí na likvidaci mnohobuněčných parazitů. Jejich zvýšenou přítomnost v krevní cirkulaci pozorujeme v kontextu alergické reakce (1).

Harmsen roku 1894 definoval pleurální výpotek jako eosinofilní v případě přítomnosti eosinofilních granulocytů v pleurálním výpotku více než 10 % (58). Adelman *et al.* v roce 1994 pozorovali v určité části souboru pacientů s pneumothoraxem tvorbu eosinofilního pleurálního výpotku (59). Sadikot *et al.* v roce 2000 pozorovali vliv přítomnosti krve v pleurálním prostoru vedoucí k post-opeoperačnímu eosinofilnímu výpotku (60). Kumulaci eosinofilních granulocytů v pleurálním prostoru může mít indukována infekcí bakteriemi, parazity, plísněmi, viry, azbestózou či maligním nádorovým procesem (61).

Vyšetření energetických poměrů v pleurálním výpotku

Pro zhodnocení charakteru a intenzity zánětlivého procesu v pleurální dutině je samotný popis buněčné skladby nedostačující. Kromě počtu a morfologie buněk je důležité znát stupeň jejich aktivace, resp. míru aktivace části imunitního systému, kterou tyto buňky reprezentují. Vhodné je tedy cytologický obraz pleurálního výpotku hodnotit společně s energetickými poměry v předmětné lokalitě (41 - 49).

Tuto informaci nám na úrovni základního vyšetření umožňuje koeficient energetické bilance (KEB). Ten byl původně odvozen Kelbichem *et al.* v roce 1998 jako ukazatel energetických poměrů v likvorovém kompartmentu a následně aplikován na další extravaskulární kompartmenty včetně dutiny hrudní (40). Vypočítá se z látkových koncentrací glukózy a laktátu v pleurálním výpotku a vyjadřuje teoretický průměrný počet molekul adenosintrifosfátu (ATP) vyprodukovaných za aktuálních energetických poměrů v předmětné lokalitě z jedné molekuly glukózy (41 - 49).

Koeficient energetické bilance

Cytologický obraz pleurálního výpotku poskytuje informaci o přítomnosti imunokompetentních buněk coby potenciálních nositelů příslušné imunitní reakce v předmětné lokalitě. Koeficient energetické bilance je funkční parametr, který informaci o

aktuálním stavu imunitního systému zpřesňuje a umožňuje tak specifikovat úroveň jejich aktivace (41, 42, 43, 47, 49). Odvození koeficientu energetické bilance (KEB) bylo poprvé publikováno v roce 1998 a bylo odvozeno pro likvorový kompartment ve dvou variantách, statické a dynamické (40). Dnes se v praxi s úspěchem využívá jeho statická varianta (5, 6, 46, 47, 49, 50, 62). Jedná se o empirický model, který vyžívá předpokladu autonomie likvorového kompartmentu a dynamické rovnováhy mezi produkcí laktátu jakožto produktu anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu a přísunem glukózy coby energetického substrátu z krve (41, 42). Odvození KEB vychází ze tří axiomů popisujících metabolismus glukózy (41, 42, 63):

1. Aerobní produkce 38 molekul ATP z 1 molekuly glukózy
2. Anaerobní produkce 2 molekul ATP z 1 molekuly glukózy
3. Anaerobní produkce 2 molekul laktátu z 1 molekuly glukózy

Pro odvození KEB nejdříve definujeme x jako látkovou koncentraci glukózy a y jako látkovou koncentraci laktátu v příslušné extravaskulární tělní tekutině ($x = [\text{glukóza}] / [\text{mmol.l}^{-1}]$; $y = [\text{laktát}] / [\text{mmol.l}^{-1}]$).

Vychází se ze skutečnosti, že počet molekul glukózy (6 uhlíkových atomů v 1 molekule) za anaerobních podmínek odpovídá polovičnímu množství vyprodukovaného laktátu (3 uhlíkové atomy v 1 molekule) (41, 42, 63).

$$x_{\text{anaerobní}} = y^2$$

Z jakéhokoliv látkového množství glukózy v likvorovém kompartmentu se tedy anaerobně vyprodukuje dvojnásobné látkové množství laktátu, které je identické s vyprodukovaným množstvím ATP, tedy $[\text{ATP}_{\text{anaerobní}}] = y$.

Zbývající množství glukózy v likvorovém kompartmentu je metabolizováno aerobní cestou s produkcí 38 ATP na jednu molekulu glukózy (4, 42, 46, 47).

$$x_{\text{aerobní}} = x - x_{\text{anaerobní}} = x - \frac{y}{2}$$

$$[\text{ATP}_{\text{aerobní}}] = 38 \left(x - \frac{y}{2} \right)$$

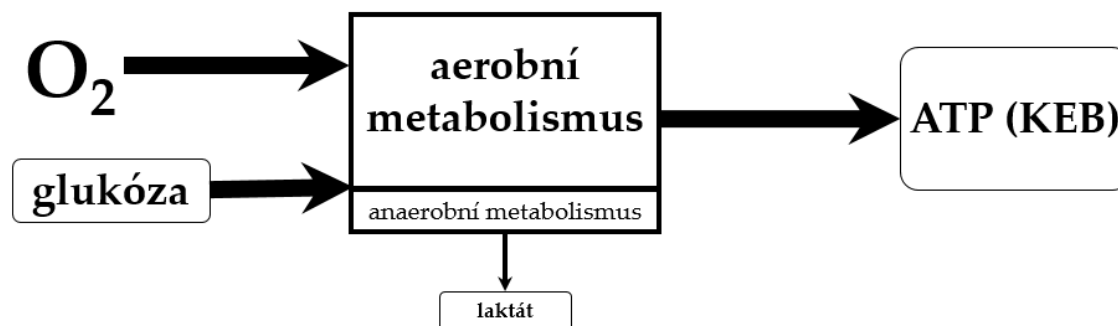
Celková produkce ATP odpovídá součtu jeho aerobní a anaerobní produkce. Lze ji tedy vyjádřit jako $[ATP] = [ATP_{\text{aerobní}}] + [ATP_{\text{anaerobní}}]$ a průměrnou produkci ATP pak představuje koeficient energetické bilance $KEB = \frac{[ATP]}{x}$. Po dosazení předešlých vztahů do čitatele dostaneme tento finální tvar pro KEB (41, 42, 46, 47):

$$KEB = \frac{y + 38 \left(x - \frac{y}{2} \right)}{x} = 38 - 18 \frac{y}{x}$$

$$KEB = 38 - 18 \frac{[\text{laktát}]}{[\text{glukóza}]}$$

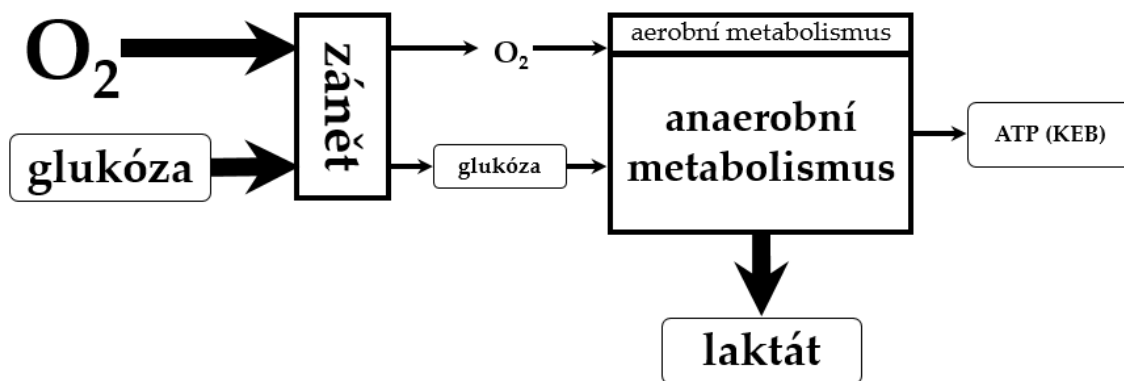
Dvě energetické úrovně pleurální dutiny

Za normálních podmínek je v pleurální dutině dostatečné množství kyslíku. Metabolické procesy mohou probíhat převážně aerobním způsobem s hojnou produkcí energie v podobě ATP (Obr. 1) (63).



Obr. 1: Normální energetické poměry v dutině hrudní (42)

Patologické změny v pleurální dutině jsou obvykle spojeny s lokálním zánětlivým procesem (Obr. 2). Do postiženého místa zánětem se mobilizují imunokompetentní buňky coby nositelky zánětlivé reakce. Jejich aktivace je pak spojena se zvýšenými nároky na glukózu a kyslík. Tyto energetické substráty postupně mizí z prostředí pleurálního výpotku, což vede k rozvoji anaerobního metabolismu s nadprodukcí laktátu. Anaerobní metabolismus je energeticky méně efektivní, což má za následek sníženou produkci ATP. Výsledkem jsou snížené hodnoty KEB (42 – 47, 49).



Obr. 2: Energetické poměry v dutině hrudní za přítomnosti zánětlivého procesu v pleurální dutině (42)

Ze závěrů dřívějších studií vyplývají následné charakteristiky cytologicko-energetické analýzy pleurálních výpotků (42 – 47, 49):

Hodnoty KEB $\geq 28,0$

Jedná se o normální energetické poměry v oblasti rezervoáru pleurálního výpotku a obvykle představují absenci zánětlivého procesu či reaktivní až mírné serózní zánětlivé změny v pleurální dutině.

Hodnoty KEB = 20,0 až 28,0

Jedná se o mírně zvýšený rozsah anaerobního metabolismu v oblasti rezervoáru pleurálního výpotku obvykle odpovídající zvýšeným energetickým nárokům aktivovaného imunitního systému při serózních zánětlivých změnách v pleurální dutině.

Hodnoty KEB = 10,0 až 20,0

Jedná se o středně zvýšený rozsah anaerobního metabolismu v oblasti rezervoáru pleurálního výpotku obvykle odpovídající výrazněji zvýšeným energetickým nárokům aktivovaného imunitního systému při intenzivním serózním zánětlivém procesu či tendenci k razantní zánětlivým změnám s oxidačním vzplanutím profesionálních fagocytů v pleurální dutině.

Hodnoty KEB < 10,0

Jedná se o vysoký rozsah anaerobního metabolismu v oblasti rezervoáru pleurálního výpotku zpravidla odpovídající přítomnosti razantního zánětu s oxidačním vzplanutím profesionálních fagocytů v pleurální dutině. Při významné přítomnosti neutrofilních granulocytů jde zpravidla o purulentní zánět s obvyklou účastí extracelulárních bakterií v patogenezi. Dominující přítomnost mononukleárních imunokompetentních buněk, tzn. lymfocytů či monocytárně-makrofágových elementů, pak vede k úvaze o razantním zánětu s oxidačním vzplanutím makrofágů s obvyklou účastí intracelulárních agens či nádorové proliferace v patogenezi.

Vyšetření ukazatelů tkáňové destrukce

Pro detekci tkáňového poškození se využívají strukturální a funkční součásti buněk komunikující s předmětnou lokalitou, příp. jejich metabolity, které se po rozpadu tkáně uvolňují do extracelulárního prostředí a zvyšují svoji přítomnost v příslušném biologickém materiálu (64). V naší laboratoři pro tyto potřeby využíváme koncentrace katalytických aktivit enzymů laktátdehydrogenázy (LDH, (S) - laktát: NAD⁺ oxidoreduktáza, EC 1.1.1.27 a aspartátaminotransferázy (AST, L-aspartát: 2 - oxoglutarát aminotransferáza, EC 2.6.1.1).

1.3.9. Příčiny vzniku pleurálního výpotku

Samotný vznik pleurálního výpotku není nikdy primárním onemocněním, ale je doprovodným jevem řady onemocnění. Nejčastějšími příčinami vzniku transudátu bývají srdeční selhání, jaterní cirhóza, nefrotický syndrom nebo vzácně *urinothorax*. Nejčastějšími příčinami vzniku exsudátu pak bývají neinfekční děje komunikující s pleurální dutinou (nádorové postižení pleury, extravazace lymfy při porušení *ductus thoracicus* (*chylothorax*), neinfekční postižení GIT) a infekční děje odehrávající se v pleurální dutině (infekce bakteriemi, viry, mykotickými agens). V případě bakteriální pneumonie a nevhodně nebo pozdě zvolené antibiotické léčby je zde vysoké riziko rozvoje hrudního empyému a systémové sepse (7, 32, 66, 67).

1.3.10. Neinfekční postižení dutiny hrudní

U pacientů s absencí lokální infekce dutiny hrudní vzniká nezánětlivý transudát v důsledku pouhých hydrostatických a onkotických změn tlaků kapilár. Rychlost tvorby pleurální tekutiny je tak vyšší než její reabsorbce. Jedná se zejména o pacienty se srdečním selháním, s jaterní cirhózou, po peritoneální dialýze, s nefrotickým syndromem, obstrukci močových cest, s traumaty a s nádorovým postižením pleury (7, 65, 68).

1.3.10.1. Kardiální postižení

Při selhání levé srdeční komory dochází ke zvýšení kapilárního tlaku v plicích a zvyšuje se tak průnik tekutiny do plicního intersticia, alveolů a pleurální dutiny. U pacientů s kardiálním selháním, kterým se vytvořil pleurální výpotek, je signifikantně vyšší kapilární tlak než u nemocných bez výpotku, zatímco tlak v pravé síni se u těchto dvou skupin neliší. Vzniká pleurální výpotek ve formě transudátu (68, 69).

1.3.10.2. Jaterní *hydrothorax*

Jaterní *hydrothorax* je definován jako pleurální výpotek vzniklý u pacienta s portální hypertenzí a bez kardiopulmonálního onemocnění. Jedná se o transudát objevující se až u 6 % pacientů s cirhózou jater. Téměř vždy je u těchto nemocných prokazatelná i přítomnost ascitu. Kromě hypoalbuminemie a z ní vyplývajícího snížení plazmatického onkotického tlaku je množství tekutiny v pohrudniční dutině určováno také přímým přestupem ascitické tekutiny defekty v bránici, které jsou většinou mikroskopické velikosti. Je zde vysoké riziko bakteriální infekce hydrothoraxu. Nejčastějšími původci jsou *Enterobacteriaceae* a grampozitivními koky. Bez následné antibiotické léčby je zde vysoké riziko rozvoje zánětlivého exudátu až empyému (31, 65, 70).

1.3.10.3. Nefrotický syndrom

Při nefrotickém syndromu dochází k významným ztrátám bílkovin prostřednictvím glomerulů a rozvíjí se hypoalbuminémie. Ta vede ke snížení plazmatického onkotického tlaku a může dojít k rozvoji pleurálního výpotku ve formě transudátu (71).

1.3.10.4. *Urinothorax*

Urinothorax vzniká přestupem moče z retroperitoneálního prostoru přes brániční lymfatické cévy do pleurální dutiny. Tento přestup bývá komplikací obstrukce močových cest, traumatu, renální biopsie nebo nádoru (72, 73). Ukazatelem urinothoraxu je koncentrace kreatininu, která je při tomto postižení dutiny hrudní vyšší v pleurálním výpotku než v séru pacienta (74).

1.3.10.5. *Nádorové postižení*

Přibližně 20 % pleurálních výpotku je způsobeno neoplastickými procesy. U některých pacientů může být prvním projevem přítomnosti nádorového procesu. Přítomnost nádorových buněk v pleurální tekutině definuje výpotek jako maligní. Vznik většiny těchto maligních výpotků provází nádorové postižení plic, karcinom prsu, lymfom nebo jiný nádorový metastazující proces (75, 76).

1.3.10.6. *Hemothorax*

Jedná se o krvácení do pleurální dutiny, nejčastěji v důsledku traumatického poranění bráničních, mediastinálních, plicních nebo pleurálních struktur, hrudní stěny či při poranění břicha. Pleurální dutina může pojmout až 40 % cirkulujícího objemu krve pacienta. Studie prokázaly, že poranění mezižeberních cév vede k významnému krvácení vyžadujícímu invazivní léčbu (77). Závažnost patofyziologické odpovědi pak závisí na umístění poranění, funkční rezervě pacienta, objemu krve a rychlosti akumulace v pleurální dutině (78 - 80). Nejčastějším mechanismem poranění je tupé nebo pronikavé poranění hrudních stuktur, které vedou k nitrohrudnímu krvácení. Netraumatické příčiny vzniku hemothoraxu zahrnují například iatrogenní příčiny, cévní nebo infekční procesy (81).

1.3.10.7. *Pneumothorax*

Pneumothorax je definován jako akumulace vzduchu v pleurální dutině. Za normálních okolností je tlak pleurálního prostoru mnohem nižší než atmosférický tlak. Akumulace vzduchu v pleurální dutině tak začne vyvíjet tlak na plíci, ta se nemůže

rozpínat a zkolabuje. Primární spontánní pneumothorax se vyskytuje nejčastěji u mladých lidí mezi 16 - 30 let, převážně u vysokých mužů. U tohoto typu pneumothoraxu není přesně známá příčina, neboť u postižených pacientů není zřejmé plicní onemocnění. V mnoha případech se předpokládá ruptura buly (puchýře či bubliny, které vznikají rupturou alveolů a průnikem vzduchu mezi *elastica interna* a *externa* poplicnice). Předpokládá se, že buly u této části populace se tvoří chybným vývojem plic, a tudíž mohou být změny již vrozené (82, 83).

Sekundární pneumothorax se vyskytuje při plicních abnormalitách, nejčastěji v důsledku chronické obstrukční plicní nemoci. Iatrogenní pneumothorax pak nejčastěji vzniká při centrální žilní kanylaci, punkci fluidothoraxu, biopsii plicních tumorů nebo při bronchoskopické biopsii. Intubovaní pacienti jsou ohroženi vznikem iatrogenního pneumothoraxu v důsledku vysokých inspiračních tlaků způsobujících barotrauma. Traumatický pneumothorax pak vzniká po přímém poranění hrudníku. Mezi běžné příčiny patří pronikající poranění hrudníku nebo zlomená žebra, která protrhla viscerální pleuru (82, 83).

1.3.10.8. Chylothorax

Chylus je emulze proudící lymfatickými cévami obsahující především lymfocyty, chylomikrony, agregáty triglyceridů s dlouhým řetězcem, estery cholesterolu a fosfolipidy. *Chylothorax* je akumulace chylu v pleurálním prostoru. K němu dochází např. po traumatickém poranění *ductus thoracicus*, či po jeho ruptuře na základě nádorového postižení a je obvykle diagnostikován na základě mléčného vzhledu tekutiny (84, 85). Mercer *et al.* v práci uvádí, že přítomnost chylomikronů a koncentrace triglyceridů větší než $1,24 \text{ mmol.l}^{-1}$ v pleurálním výpotku poukazuje na přítomnost chylothoraxu (86).

1.3.11. Infekční postižení dutiny hrudní

Pleurální infekce je běžnou komplikací pneumonie (36, 87, 88). Jedná o jednu z nejčastějších příčin úmrtí ve světě. Přibližně 230.000 lidí zemře na pneumonii za rok v celé Evropě. Ohroženi jsou zejména starší a polymorbidní lidé. Morbidita se významně liší v různých státech a nejsou o ní k dispozici ucelené informace (89).

1.3.11.1. Pneumonie

Existuje rovnováha mezi přirozenou mikrobiotou v dolních cestách dýchacích a lokálními a systémovými obrannými mechanismy imunitního systému. Pokud dojde k narušení této rovnováhy, dochází k zánětu plicního parenchymu, tj. pneumonii (1).

K ochraně plic před cizorodými patogeny slouží zejména makrofágy, které pohlcují patogeny a prostřednictvím cytokinů a chemokinů rekrutují neutrofilní granulocyty do místa infekce. Makrofágy prezentují antigeny T lymfocytům a tím spouštějí buněčné i humorální obranné mechanismy jako je aktivace komplementu a tvorba protilátek proti těmto organismům (1, 90).

Ohroženi jsou tak nejvíce lidé s deficiencí imunitního systému (běžná variabilní imunodeficience, X-vázaná agammaglobulinemie). Pacienti s poruchou buněčné imunity jsou ohroženi zejména infekcemi intracelulárními organismy, jako jsou viry, intracelulární bakterie a plísňe. Ohroženi jsou také pacienti s postižením plic, při kterých se akumuluje hlen, jako jsou reflexní porucha kašle, cystická fibróza či bronchiální obstrukce. Nejčastějším vyvolávajícím agens bývají viry, bakterie nebo plísňe (1, 90).

1.3.11.2. Virová pneumonie

V posledních 20 letech se ve světě vyskytlo několik velkých ohnisek virových nákaz a některé z nich (SARS-CoV, H₁N₁, MERS-CoV, SARS-CoV-2) mají afinitu k plicnímu parenchymu. Běžnými virovými agens bývají také viry chřipky, parainfluenzy a adenoviry. Virem zprostředkovaná imunosuprese vrozené imunity hostitele pak umožňuje oportunním bakteriím kolonizovat hostitele za vzniku sekundární bakteriální pneumonie (91 – 94).

1.3.11.3. Bakteriální pneumonie

Bakteriální plicní onemocnění jsou hlavní příčinou morbidit a úmrtnosti jak u imunokompromitovaných, tak u imunokompetentních jedinců. Pneumonie získaná mimo nemocniční zařízení se označuje jako komunitní pneumonie. Pneumonie získaná po více než 48 hodinách v nemocničním zařízení se označuje jako nozokomiální pneumonie (95 - 97). Jednou z nozokomiálních pneumonií je také ventilátorová pneumonie, kterou jsou ohroženi pacienti napojení na umělou plicní ventilaci (UPV). U těchto pacientů je riziko

mikroaspirace mikroorganismů z orofaryngu a žaludku (98). Mírné případy komunitních pneumonií mohou být úspěšně léčeny ambulantně, ale závažné případy vyžadují hospitalizaci a jsou spojeny s vyšší úmrtností (99). Nejčastějším patogenem vyvolávajícím bakteriální komunitní pneumonii je *Streptococcus pneumoniae* (1). Dále jsou to *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*, patogeny rodů *Staphylococcus*, *Legionella*, *Mycoplasma*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas* a další. U pacientů vyžadujících péči na jednotce intenzivní péče (JIP) jsou to nejčastěji infekce vyvolané *Staphylococcus aureus* a bakteriemi z čeledi *Enterobacteriaceae* (95). Za nejvýznamnější bakteriální patogen je považována *Mycobacterium tuberculosis* vyvolávající onemocnění zvané tuberkulóza. Ta je příčinou smrti 1 - 1,5 milionu lidí ročně, vzhledem k rychlému nárůstu multiresistentních kmenů *Mycobacterium*, které odolávají všem dostupným způsobům léčby (1).

1.3.11.3.1. Purulentní zánětlivý proces

Vrozená imunita je zodpovědná za identifikaci invazivního patogena a je schopna zahájit okamžitou obranu. Rozpoznání mikrobů závisí na PRR receptorech, které dokážou identifikovat molekulární vzory mikrobů PAMP (1). Důležitou roli v obraně proti bakteriálním infekcím hrají zejména TLR a NLR receptory. Každý patogen má celou řadu molekulárních vzorů (PAMP), které mohou aktivovat jednu nebo více těchto PRR. Iniciační signální kaskáda spuštěná prostřednictvím těchto receptorů pak může vést k aktivaci určitých transkripčních faktorů a aktivaci dalších proteinů, které dále regulují prozánětlivé mediátory jako jsou cytokiny a chemokiny. Z poškozených epitelů plic se navíc uvolňují signály poškození tkáně (DAMP), jejichž přítomnost prohlubuje zánět. Hlavní roli vrozeného imunitního systému hrají neutrofilní granulocyty, makrofágy a dendritické buňky. Dendritické buňky a makrofágy internalizují mikroba. Následně ho intracelulárně zpracují a vystaví jeho peptid prostřednictvím molekul HLA na svém povrchu T-lymfocytům. Nejčastěji se tím spouští Th1 a Th17 imunitní odpověď. Z krve jsou pak do místa infekce chemotakticky chemoatraktivovány neutrofilní granulocyty, které následně likvidují bakterie, zejména prostřednictvím fagocytózy (1).

1.3.11.3.2. Role neutrofilních granulocytů v purulentním zánětu

Neutrofilní granulocyty se diferencují v kostní dřeni z myeloidního prekursoru. Představují asi 60 - 70 % cirkulujících leukocytů. V krevním oběhu cirkulují zhruba 6 - 12 hodin. V tkáních vlivem prozánětlivého prostředí přežívají zhruba 4 - 5 dní (1, 100). Cirkulující neutrofilní granulocyty pod vlivem chemotaktických signálů z místa infekce přestupují diapedézou z krve do zánětem postižené tkáně přes cévní endotel. Pod vlivem prozánětlivých cytokinů buňky cévního endotelu exprimují na svém povrchu adhezní molekuly z rodiny selektinů (P-selektin a E-selektin). Cukerná determinanta sialyl Lewis^x molekuly CD15 a povrchová struktura PSGL-1 na povrchu neutrofilů pak interagují s těmito molekulami. Výsledkem interakce těchto molekul je následné zpomalení pohybu neutrofilů, tzv. *rolling* (1, 100, 101).

Samotným zpomalením pohybu neutrofilních granulocytů nedojde k jejich vycestování do tkáně. K tomu je zapotřebí další interakce povrchových molekul, a to integrinových glykoproteinů (LFA-1) s ligandem ICAM-1 exprimovaným na endotelových buňkách. Tato vazba pak umožní pevné přilnutí neutrofilního granulocytu na endotelovou výstelku a umožní diapedézu do tkáně rozrušením spojů mezi endotelovými buňkami. Prostup je také usnadněn částečnou proteolytickou degradací bazální membrány a mezibuněčné hmoty. Aktivní pohyb neutrofilních granulocytů v tkáni je pak spojen s neustálou přestavbou jeho cytoskeletu. V okamžiku, kdy neutrofilní granulocyt dorazí do tkáně je schopen aktivně zachycovat partikule ze svého okolí a fagocytovat je (1, 102).

Fagocytosa je schopnost pohlcení cizorodé částice fagocytem, tj. buňkou schopnou fagocytózy (1, 100). V první řadě je podmínkou úspěšného pohlcení částice její přilnutí k membráně fagocytů, které je významně zesíleno v přítomnosti opsoninů. Fagocyty začnou vytvářet výběžky (pseudopodia), kterými obklopí pohlcovanou částici a vytvoří novou organelu, tzv. fagozóm. Po fúzi fagozomu s lyzozomem je zahájen proces nitrobuněčného usmrcení a rozkladu fagocytované částice. Fagocyt je schopen pohlcenou infekční částicí usmrtit dvěma mechanismy: na kyslíku závislými mechanismy a na kyslíku nezávislými mechanismy (1, 100, 103).

Na kyslíku nezávislé mechanismy nitrobuněčného zabíjení

V azurofilních granulech a lyzozomech neutrofilních granulocytů jsou obsaženy biologicky aktivní látky účastníci se nitrobuněčného zabíjení fagocytovaných mikroorganismů a částic. Patří k nim zejména proteolytické enzymy ze skupiny serinových, cysteinových a aspartátových proteáz, metaloproteáz. Patří k nim např. katepsin G, neutrofilní elastáza a proteináza-3. Další skupinou jsou baktericidní proteiny, jako např. azurocidin, protein BPI likvidující Gram-negativní bakterie, katelicidin LL-37 a defenziny. Patří sem také fosfolipázy, lysozym (muraminidáza likvidující Gram-pozitivní bakterie) a laktoferin odebírající mikrobům z prostředí ionty železa (1).

Na kyslíku závislé mechanismy nitrobuněčného zabíjení

Charakteristickým znakem neutrofilních granulocytů je schopnost jejich oxidačního vzplanutí po pohlcení extracelulární bakterie. Jedná se o proces, který neutrofilní granulocyty využívají k nitrobuněčnému zabíjení prostřednictvím reaktivních kyslíkových sloučenin (ROS). Tento proces je extrémně náročný na spotřebu kyslíku. Produkce ROS začíná aktivací enzymu NADPH oxidázy, která produkuje do fagozomu s pohlceným mikroblem superoxidový anion. Enzym superoxidodismutáza pak vzniklý superoxidový anion konvertuje na peroxid vodíku. Ten je dále přeměněn prostřednictvím myeloperoxidázy v přítomnosti chloridových iontů na kyselinu chlornou, která může tvořit s proteiny biogenní chloraminy. Další reakce vedou k tvorbě singletového kyslíku. Všechny tyto ROS jsou účinné v nitrobuněčném zabití pohlcené bakterie (1, 100 104, 105).

1.3.11.3.3. Parapneumonický výpotek

Téměř u poloviny pacientů s bakteriální pneumonií se vytvoří pleurální výpotek. Hovoříme o tzv. parapneumonickém výpotku. Tito pacienti dobře reagují na podávání vhodných antibiotik a není potřeba hrudní drenáž. Koncentrace katalytické aktivity LDH nižší než $16,67 \mu\text{kat.l}^{-1}$, koncentrace glukózy vyšší než 40 g.l^{-1} a pH větší než 7,2 poukazuje na absenci komplikované formy parapneumonického výpotku (37).

1.3.11.3.4. Komplikovaný purulentní výpotek

V některých případech samotná antibiotická léčba purulentního výpotku bez zavedení hrudního drénu a jeho odvedení nestačí. V tomto případě hovoříme o komplikovaném purulentním výpotku. Je důležité identifikovat pacienty s těmito výpotky co nejdříve, protože evakuace výpotku hrudním drénem je s progresí infekce stále obtížnější a může vést bez včasné intervence až k systémové sepsi a smrti pacienta (106).

Dle Lightovy studie z roku 1986 by zavedení hrudního drénu mělo být provedeno okamžitě u pacienta s akutní bakteriální pneumonií, pokud koncentrace glukózy v jeho pleurálním výpotku klesne pod 40 g.l^{-1} , pH pod 7 nebo pokud je patrná přítomnost bakterií prokázaných mikrobiologickým barvením dle Grama (37).

1.3.11.3.5. Hrudní empyém

Hrudní empyém je forma komplikovaného purulentního výpotku a je definován jako nahromadění purulentního zánětlivého výpotku (hnisu) v pleurální dutině. Vždy se jedná o sekundární postižení. Vyvolávajícími agens jsou zpravidla extracelulární bakterie, nejčastěji rodu *Streptococcus* (3, 66, 107). Rozvojem empyému bývají ohroženi pacienti s parapneumonickým výpotkem při pneumonii, po hrudních operacích či traumatu. Rizikovými faktory pro rozvoj empyému bývají *diabetes mellitus*, intravenózní užívání drog, imunosuprese apod. (108).

Vývoj tvorby hrudního empyému u pacientů s pneumonií popisují jednotlivá stádia. První stádium je tzv. exsudativní. Dochází ke zvýšení produkce tekutin v dutině hrudní. Tvoří se řídký pleurální výpotek. Plíce jsou volné a schopné reexpanze. Při absenci vhodné léčby přechází toto stádium do tzv. fibrinopurulentního, během kterého dochází ke kumulaci imunokompetentních buněk, depozici fibrinových sraženin a membrán a zahušťování výpotku. Výpotek je hustý, neprůhledný, opouzdřuje se, fixuje plíce a zabraňuje jejich reexpanzi. V posledním stádiu fibroblasty tvoří tlustou pleurální slupku mezi viscerální a parietální pleurou. Tato slupka může obalit spodní plicní parenchym a zkomplikovat průběh inhibicí výměny plynu. Může dojít k chronické formě empyému. Při pozdní nebo nevhodně zvolené léčbě může hrudní empyém u pacienta vyústit až v systémovou sepsi až v smrt (109).

1.3.11.4. Pneumonie vyvolaná plísněmi

Plísňové infekce plicního parenchymu se vyskytují zejména u imunosuprimovaných pacientů. U těchto nemocných se jako nejčastější etiologická agens infekčních houbových plicních komplikací uplatňují mikroorganismy *Candida*, *Aspergillus*, méně často *Mucoraceae*, *Cryptococcus*, případně další. (90, 110).

2 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Předkládaná studie si vzala za cíl zhodnotit význam cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků při monitoraci hrudních empyémů během jeho léčby a monitoraci purulentních výpotků u pacientů, kteří jsou rozvojem purulentního zánětu, včetně hrudního empyému ohroženi. Cíle této práce jsou následující:

1. Zhodnotit význam cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů pro detekci purulentního zánětu v dutině hrudní.
2. Zhodnotit vliv nekomplikované a komplikované formy purulentního zánětu v dutině hrudní na parametry cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků.
3. Porovnat cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků s jeho tradičním vyšetřováním dle Lightových pravidel.
4. Zhodnotit význam cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků u pacientů po hrudní operaci.
5. Zhodnotit vliv současně probíhajícího nádorového procesu v dutině hrudní na laboratorní obraz hrudního empyému.
6. Zhodnotit význam cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků při sledování úspěšnosti léčby hrudního empyému.

3 MATERIÁL A METODY

3.1. Použitý materiál

3.1.1. Biologický materiál

Vzorky pleurálních výpotků od 924 pacientů s vybraným postižením dutiny hrudní.

Vzhledem k tomu, že tato práce nezahrnovala žádné lidské experimenty a nevyžadovala sběr dat mimo rutinní vyšetřování, nebyl vyžadován po pacientech informovaný souhlas. Všechny záznamy a informace o pacientech byly anonymizovány a deidentifikovány. Dílčí část této práce publikovaná v impaktovaném časopise byla schválena místní Etickou komisí Masarykovy nemocnice Ústí nad Labem (jednací číslo: 279/1).

3.1.2. Přístrojové vybavení a pomůcky

Modulární analytický systém Cobas 6000® c501 (Roche Diagnostics, CHE)

- Centrifuga Universal 30 F (Schoeller Instruments, DE)
- Cytocentrifuga StatSpin Cytofuge 2 (Iris Sample Processing, USA)
- Fuchsova-Rosenthalova komůrka
- Mikroskop BX40 (Olympus, JAP)
- Podložní a krycí skla pro přípravu trvalého cytologického preparátu likvoru
- Automatické pipety, špičky, zkumavky a další běžný spotřební laboratorní materiál.

3.1.2.1. Reagenční soupravy pro analytický systém Cobas 6000® c501

Reagencie – pracovní roztoky pro stanovení koncentrace celkové bílkoviny v pleurálním výpotku (Roche Diagnostics, CHE)

- Roztok 1 – Hydroxid sodný: 400 mmol.l⁻¹, vinan sodnodraselný: 89mmol.l⁻¹; pH 13,4
- Roztok 3 – Hydroxid sodný: 400 mmol.l⁻¹; vinan sodnodraselný: 89mmol.l⁻¹; jodid draselný: 61 mmol.l⁻¹; síran měďnatý: 24,3 mmol.l⁻¹; pH 13,2

Reagencie – pracovní roztoky pro stanovení koncentrace laktátu v pleurálním výpotku (Roche Diagnostics, CHE)

- Roztok 1 - Donor vodíku v koncentraci 1,75 mmol.l⁻¹; askorbát oxidáza (L-askorbát:oxygen oxidoreduktáza; EC 1.10.3.3; pův. okurka): 501 μ kat.l⁻¹; pufr, konzervans
- Roztok 2 - 4-aminoantipyrin v koncentraci 5 mmol.l⁻¹; laktát oxidáza ((S)-laktát: oxygen 2-oxidoreduktáza (dekarboxylující); EC 1.1.3.2; pův. mikrobiální): 251 μ kat.l⁻¹; křenová peroxidáza (donor: H₂O₂ oxidoreduktasa; EC 1.11.1.7): 410 μ kat.l⁻¹; pufr, konzervans

Reagencie – pracovní roztoky pro stanovení koncentrace glukózy v pleurálním výpotku (Roche Diagnostics, CHE)

- Roztok 1 - MES pufr o koncentraci 5 mmol.l⁻¹ a pH 6,0; Mg²⁺ v koncentraci 24 mmol.l⁻¹; ATP: \geq 4,5 mmol.l⁻¹; NADP⁺: \geq 7,0 mmol.l⁻¹; konzervans
- Roztok 2 - hexokinasa (ATP: D-hexosa 6-fosfotransferáza; EC 2.7.1.1; pův. kvasinky): \geq 300 μ kat.l⁻¹; glukóza-6-fosfátdehydrogenáza (D-glukóza-6-fosfát: NADP⁺-oxidoreduktáza; EC 1.1.1.49; pův. E. coli): \geq 300 μ kat.l⁻¹; konzervans
- Roztok 3 - HEPES pufr o koncentraci 200 mmol.l⁻¹ a pH 8,0; Mg²⁺ v koncentraci 4 mmol.l⁻¹

Reagencie – pracovní roztoky pro stanovení koncentrace katalytické aktivity aspartáminotransferázy v pleurálním výpotku (Roche Diagnostics, CHE)

- Roztok 1 - TRIS pufr o koncentraci 264 mmol.l⁻¹ a pH 7,8 (37 °C), L-aspartát v koncentraci 792 mmol.l⁻¹; malátdehydrogenáza ((S)-malát: NAD⁺-oxidoreduktáza; EC 1.1.1.37; pův. mikroorganismy): \geq 24 μ kat.l⁻¹; laktátdehydrogenáza ((S)-laktát:NAD⁺-oxidoreduktasa; EC 1.1.1.27; pův. mikroorganismy): \geq 48 μ kat.l⁻¹; 0,25% roztok hovězího albuminu; konzervans
- Roztok 2 - Pyridoxal fosfát v koncentraci 730 μ mol.l⁻¹; konzervans
- Roztok 3 - NADH (kvasinky): \geq 1,7 mmol.l⁻¹; 2-oxoglutarát v koncentraci 9 mmol.l⁻¹; konzervans

Reagencie – pracovní roztoky pro stanovení koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v pleurálním výpotku (Roche Diagnostics, CHE)

- Roztok 1 – N-methylglukamin: 400 mmol.l⁻¹, pH 9,4 (37°C); lithium laktát: 62 mmol.l⁻¹; stabilizátory
- Roztok 2 – NAD: 62 mmol.l⁻¹; stabilizátory; konzervans

Kalibrační soupravy pro analytický systém Cobas 6000® c501 (Roche Diagnostics, CHE)

- Calibrator for automated system (Roche Diagnostics, CHE) – lyofilizované lidské sérum s příslušnými chemickými přísadkami biologického původu zahrnující glukózu, laktát, AST, LDH a další analyty

Kontrolní materiál pro analytický systém Cobas 6000® c501 (Roche Diagnostics, CHE)

- PreciControl ClinCHem Multi 1 - lyofilizované lidské sérum s upravenými koncentracemi komponent (laktát, glukóza) a chemickými přísadkami biologického materiálu zahrnující lidskou nebo rekombinantní AST a LDH
- PreciControl ClinCHem Multi 2 - lyofilizované lidské sérum s upravenými koncentracemi komponent (laktát, glukóza) a chemickými přísadkami biologického materiálu zahrnující lidskou nebo rekombinantní AST a LDH

3.1.2.2. Promývací roztoky pro analytický systém Cobas 6000® c501

(Roche Diagnostics, CHE)

- Aditivum do reakční lázně pro redukci povrchového napětí
- ECO D – obsahuje oktylfenoxypolyethoxyethanol
- Diluent pro ředění vzorků ve spojení s reagensy
- NACL – diluent, 9% roztok NaCl pro ředění vzorků ve spojení s reagensy
- Promývací roztoky pro reagenční a vzorkovací jehly nebo reakční kyvety
- NAOH-D - cca 4% NaOH, detergent
- SMS - 200 mmol.l⁻¹ HCl

- Multiclean - 1 mol.l⁻¹ NaOH
- Special Cell Cleaning Solution (SCCS) - cca 12% roztok NaOH; roztok NaClO (< 2% aktivního chlóru); aditiva
- Cell Wash Solution I /NAOH-D – roztok NaOH o koncentraci 1 mol.l⁻¹; 4% detergent

3.1.3. Další použité chemikálie

- Hemacolor® Rychlé barvení krevních nátěrů, roztok 1 (Merck, DE) – obsahuje methanol
- Hemacolor® Rychlé barvení krevních nátěrů, roztok 2 (Merck, DE) – barevné činidlo červené obsahující eozin II
- Hemacolor® Rychlé barvení krevních nátěrů, roztok 3 (Merck, DE) - barevné činidlo modré
- Montovací médium pro přípravu trvalých cytologických preparátů pro světelnou mikroskopii Entellan® (Merck, DE)
- Demineralizovaná voda

3.1.4. Software

- SW pro Cobas 6000 c501 (Roche Diagnostics, CHE)
- Laboratorní informační systém OpenLims (STAPRO, CZ)
- Nemocniční informační systém FONS Enterprise (STAPRO, CZ)
- Microsoft Excel (Microsoft, USA)
- Statistica 13 (StatSoft, Inc, USA)
- MedCalc (MedCalc software, B)

3.2. Metodika

V Biomedicínském centru a na Oddělení klinické biochemie Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem jsme vyšetřili pleurální výpotky cytologicko-energetickým principem. Ze získaných výsledků vyšetření pleurálních výpotků a klinických informací o pacientech jsme vytvořili přehlednou databázi.

3.2.1. Preanalytická fáze

Vzorky pleurálních výpotků byly odebrány hrudním chirurgem do čistých zkumavek bez aditiv. Označené zkumavky byly co nejrychleji dopraveny do Biomedicínského centra a na Oddělení klinické biochemie Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, kde jsme vzorky pleurálních výpotků okamžitě zpracovali. Část vzorku byla použita k vyšetření počtu jaderných elementů a erytrocytů v pleurálním výpotku a přípravě trvalého cytologického preparátu. Zbytek vzorku byl centrifugován (1500g, 10 minut, 22 °C). Supernatant byl použit k vyšetření humorálních parametrů a zbylá část byla uskladněna v chladicím boxu při teplotě 4 až 8°C.

3.2.2. Vyšetření buněčnosti, tj. počtu jaderných elementů a erytrocytů, v pleurálním výpotku

Do Fuchsovy-Rosenthalovy komůrky (Obr. 3) o objemu 3,2 μl jsme nanесли příslušný objem nativního vzorku pleurálního výpotku a stanovili v něm počet jaderných elementů a erytrocytů.

Výsledky jsme uvedli v podobě „počet jaderných elementů. 1 μl “ a „erytrocytů. 1 μl “.



Obr. 3: Fuchsova-Rosenthalova komůrka pro vyšetření počtu jaderných elementů a erytrocytů v pleurálním výpotku

3.2.3. Příprava trvalého cytologického preparátu z pleurálního výpotku

V první řadě jsme centrifugací separovali buněčnou složku od tekuté složky pleurálního výpotku (55 g, 8 minut, 22 °C). Po zaschnutí buněk sedimentovaných na podložním skle jsme ve všech případech použili barvení Hemacolor®.

V prvním kroku jsme fixovali buňky roztokem 1 (methanol) po dobu cca 30 sekund, poté barvili roztokem 2 (eozin II) po dobu cca 30 sekund a nakonec roztokem 3 (barevné činidlo) také po dobu cca 30 sekund. Cytologický preparát jsme opláchli demineralizovanou vodou a po zaschnutí zamontovali Entellanem a přikryli krycím sklíčkem.

3.2.4. Odečet cytologického preparátu pleurálního výpotku

Odečet a zhodnocení cytologických preparátů pleurálních výpotků jsme provedli za použití světelného mikroskopu Olympus BX40 při zvětšení 400x. V dalším hodnocení jsme se zaměřili na relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku coby klíčových elementů nespecifické imunity.

3.2.5. Stanovení humorálních parametrů prostřednictvím biochemického analyzátoru Cobas 6000® c501

Ve všech vzorcích pleurálních výpotků jsme stanovili látkové koncentrace celkové bílkoviny, glukózy, laktátu a katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) a laktátdehydrogenázy (LDH).

3.2.6. Principy metod měření jednotlivých parametrů a související výpočty

Stanovení koncentrace celkové bílkoviny v pleurálním výpotku - biuretová metoda

Dvojmocná měď reaguje v alkalickém prostředí s peptidickými vazbami proteinů za vzniku purpurově zbarveného biuretového komplexu, která absorbuje při vlnové délce 546nm a je detekován spektrofotometricky jako nárůst absorbance. Vínan sodnodraselný zabraňuje precipitaci hydroxidu měďnatého a jodidu draselného, která brání autoredukci mědi.

Stanovení koncentrace glukózy v pleurálním výpotku - hexokinázová metoda

Glukóza ve vzorku je fosforylovaná hexokinázou (HK) za přítomnosti ATP a iontů hořčíku za vzniku glukóza-6-fosfátu (G-6-P) a ADP. Glukóza-6-fosfátdehydrogenáza specificky oxiduje G-6-P na glukonát-6-fosfát za souběžné redukce NAD^+ na NADH, který absorbuje při vlnové délce 340 nm a je detekován spektrofotometricky jako nárůst absorbance.

Stanovení koncentrace laktátu v pleurálním výpotku - laktát oxidázová a peroxidázová metoda

Laktát je přeměňován na pyruvát a peroxid vodíku prostřednictvím laktát oxidázy. Koncentrace vzniklého peroxidu je pak přímoúměrná koncentraci obsaženého laktátu a je kvantifikována pomocí peroxidázy, která katalyzuje oxidaci chromogenního substrátu peroxidem vodíku za vzniku barviva, které je kvantifikováno při vlnové délce 548 nm.

Výpočet koeficientu energetické bilance (KEB)

Původní koeficient energetické bilance vyjadřuje teoretický průměrný počet molekul ATP vyprodukovaných za aktuálních energetických poměrů v extravaskulárním prostoru z jedné molekuly glukózy a byl odvozen pouze na základě látkové bilance a stechiometrie aerobního a anaerobního odbourávání glukózy za současné tvorby ATP v obecném tvaru:

$$\text{KEB} = 38 - 18 \frac{y}{x}$$

Kde symboly x a y je označeno celkové látkové množství glukózy v uvažovaném kompartmentu za jednotku času, resp. látkové množství laktátu vzniklého v tomto prostoru z části glukózy spotřebované anaerobním mechanismem. Protože takto definované x a y jsou experimentálně nedostupné veličiny, autoři práce Kelbich *et al.*, 1998 dosadili experimentálně zjištěné aktuální koncentrace glukózy a laktátu, a tak obdrželi standardně používaný vzorec pro výpočet KEB, který se vypočítá podle následujícího vzorce z látkových koncentrací laktátu a glukózy (40, 42, 47, 46):

$$\text{KEB} = 38 - 18 \frac{[\text{laktát}]}{[\text{glukóza}]}$$

Stanovení koncentrace katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) v pleurálním výpotku - IFCC metoda

Metoda spočívá v konverzi L-aspartátu a 2-oxoglutarátu na oxalacetát a L-glutamát při katalytickém působení AST. Vznikající oxalacetát je detekován poklesem absorbance při vlnové délce 339 nm po oxidaci NADH na NAD^+ katalyzovanou enzymem malátdehydrogenázou. Koenzymem je pyridoxal-5'-fosfát a reakce probíhá při teplotě 37 °C v prostředí pufru Tris (hydroxymethyl)-aminometanovém pufru.

Stanovení koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) v pleurálním výpotku - FCC metoda

Metoda spočívá v konverzi L-laktátu na pyruvát při katalytickém působení LDH. NAD^+ je redukováno na NADH. Počáteční rychlost tvorby NADH je přímoúměrná katalytické aktivitě LDH a stanovuje se fotometricky měřením nárůstu absorbance při vlnové délce 340nm.

3.2.7. Statistické zpracování

3.2.7.1. Primární databáze

Do studie bylo zařazeno 924 pacientů přijatých na oddělení hrudní chirurgie Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, kterým se vytvořil pleurální výpotek v důsledku kardiálního postižení, systémové sepse, hrudně-chirurgické operace, bakteriální pneumonie nebo měli diagnostikovaný hrudní empyém. Na základě klinického a laboratorního hodnocení byli pacienti rozděleni do příslušných skupin (Tab. 2).

Pacienti s kardiálním selháním: Klinický obraz těchto pacientů zahrnoval přítomnost srdeční insuficience dle NYHA klasifikace, plicní edém, dušnost, hypertenzi, symetrický edém kotníků, nykturii, transudativní pleurální výpotek, cyanózu, posunutý apikální impuls, abnormální zvuky plic a známky kardiálního astmatu, hepatosplenomegalii, svalovou atrofii, typické změny na echokardiografii (srdeční arytmie nebo známky síňové či komorové hypertrofie). Laboratorní obraz zahrnoval pozitivní nález NT-proBNP a troponinu T.

Pacienti se systémovou sepsí: Klinický obraz zahrnoval přítomnost zrychlené srdeční a dechové frekvence, hypotenzi, infekci (kromě pleurální infekce), zvýšenou nebo sníženou tělesnou teplotu, příznaky dysfunkce orgánů, rozvoj septického šoku a syndrom multiorgánové dysfunkce. Laboratorní obraz zahrnoval výrazně zvýšené parametry systémového zánětu (leukocytóza, koncentrace CRP, prokalcitoninu), změny hemokagulace (trombocytóza) a rozvoj DIC.

Pacienti po hrudní operaci: Klinický obraz pacientů bez purulentní komplikace v dutiny hrudní zahrnoval přítomnost pleurálního výpotku. Klinický obraz pacientů s purulentní komplikací v dutině hrudní zahrnoval také zvýšenou tělesnou teplotu, pozitivní auskultační nález, typický UZ nález, zvýšenou denzitu na RTG nebo CT hrudníku, významnou produkci pleurálního výpotku, perzistující pleurální výpotek a jeho viditelné změny (vyšší viskozita a zákal). Laboratorní obraz těchto pacientů zahrnoval dále přítomnost zvýšených hodnot parametrů systémového zánětu v krvi (leukocytóza, koncentrace C-reaktivního proteinu, prokalcitoninu aj.) a možnou pozitivní bakteriální kultivaci v pleurálním výpotku.

Pacienti s bakteriální pneumonií: Klinický obraz zahrnoval přítomnost produktivního kašle, horečky doprovázené třesavkou, dušnosti, bodavé nebo ostré bolesti na hrudi, zrychleného dýchání, hypotenze, zvýšené srdeční frekvence, nízké saturace, auskultace. Prostřednictvím zobrazovacích metod byl u těchto pacientů prokázán typický nález na RTG snímku hrudníku, CT skenu hrudníku a ultrazvuku plic. Laboratorní obraz zahrnoval zvýšené parametry systémového zánětu (leukocytóza, vysoká koncentrace C-reaktivního proteinu, prokalcitoninu atd.). Přítomen byl zakalený exsudativní pleurální výpotek.

Pacienti s hrudním empyémem: progresse výše zmíněného infekčního postižení dutiny hrudní a ztlustění pleury na CT skenu.

Tab. 2: Typy postižení dutiny hrudní u pacientů z primární databáze

Příčiny postižení dutiny hrudní	Název výpotku pro statistické zpracování
Kardiální postižení	Transudát
Systémová sepe	Transudát
Post-operační komplikace	Post-operační
Bakteriální pneumonie	Parapneumonický
Hrudní empyém	Komplikovaný purulentní (empyém)

3.2.7.2. Průzkum cytologických nálezů pleurálních výpotků u pacientů s vybraným postižením dutiny hrudní

Zhodnotili jsme cytologické nálezy pleurálních výpotků pacientů s kardiálním postižením dutiny hrudní, se systémovou sepsí, s post-operační komplikací, s bakteriální pneumonií a s hrudním empyémem (Tab. 3). Prostřednictvím výsečových grafů vytvořených softwarem MS Excel jsme vizualizovali procentuální zastoupení výsledných cytologických nálezů pleurálních výpotků v jednotlivých skupinách pacientů rozdělených dle postižení dutiny hrudní.

Tab. 3: Hodnocení cytologických nálezů v pleurálních výpotcích

Cytologický nález	Popis cytologického nálezu
Lymfocytární pleocytosa	Převaha lymfocytárních elementů v cytologickém obraze pleurálního výpotku
Monocytární pleiocytosa	Převaha monocytárně-makrofagických elementů v cytologickém obraze pleurálního výpotku
Granulocytární pleiocytosa s převahou neutrofilů	Převaha neutrofilních granulocytů v cytologickém obraze pleurálního výpotku
Granulocytární pleiocytosa s převahou eosinofilů	Převaha eosinofilních granulocytů v cytologickém obraze pleurálního výpotku

3.2.7.3. Testování vlivu postižení dutiny hrudní na četnost neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku

Pro testování vlivu postižení dutiny hrudní na četnost neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku jsme využili 915 pacientů z primární databáze (pacienti s významně hemolytickým pleurálním výpotkem a s pleurálním výtokem obsahující četné rozpadlé buňky byly ze studie vyřazeny). Z toho 241 pacientů bylo s transudátem vzniklým v důsledku kardiálního postižení či systémové sepse, 269 pacientů s pleurálním výpotkem po hrudní operaci, 95 s pleurálním výpotkem při bakteriální pneumonii a 310 pacientů s hrudním empyémem. Pro testování významnosti rozdílů mezi těmito skupinami pacientů jsme použili neparametrický Kruskal-Wallisův test. Na hladině významnosti 5 % jsme testovali nulovou hypotézu H_0 jako předpoklad, že se distribuční funkce jednotlivých výběrů významně neliší proti alternativní hypotéze, že se jejich distribuční funkce liší a výběry pocházejí z odlišných základních souborů. V případě zamítnutí nulové hypotézy jsme provedli *post hoc* vícenásobné porovnání pomocí z-skóre a získali *p*-hodnoty.

3.2.7.4. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na laboratorní parametry pleurálního výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Z primární databáze pacientů jsme extrahovali pacienty, kteří měli v cytologickém obraze pleurálního výpotků převahu neutrofilních granulocytů, tj. byla u nich patrná granulocytární pleiocytosa s převažujícím výskytem neutrofilních granulocytů. Z primární databáze jsme tak získali skupinu 91 pacientů s nezánettivými transudáty, která sloužila jako skupina kontrolní, 95 pacientů s parapneumonickým výpotkem způsobeným bakteriální pneumonií (purulentní zánět v dutině hrudní) a 282 pacientů s hrudním empyémem (komplikovaný purulentní zánět v dutině hrudní).

Pro testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci celkové bílkoviny, počet jaderných elementů, relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentraci glukózy, laktátu, úroveň KEB a koncentraci katalytické aktivity LDH a AST v pleurálním výpotku jsme použili neparametrický Kruskal-Wallisův test. Na hladině významnosti 5 % jsme testovali nulovou hypotézu H_0 jako v kapitole 3.2.7.3. V případě zamítnutí nulové hypotézy jsme provedli *post hoc* vícenásobné porovnání pomocí z-skóre a získali *p*-hodnoty.

3.2.7.5. Testování vlivu energetických poměrů v pleurální dutině na laboratorní parametry v pleurálních výpotcích u pacientů po hrudní operaci

Z primární databáze pacientů jsme extrahovali 269 pacientů po hrudní operaci s převahou neutrofilních granulocytů v jejich pleurálních výpotcích. Pacienty jsme rozdělili do pěti skupin dle úrovně energetických poměrů (dále jen úroveň KEB) v jejich dutině hrudní (Tab. 4).

Tab. 4: Rozdělení pacientů s pleurálním výpotkem po hrudní operaci do skupin dle úrovně koeficientu energetické bilance

Skupina	Úroveň KEB
1	> 28
2	28 - 20
3	20 - 10
4	< 10

Pro testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní pacientů po hrudní operaci na relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentraci katalytické aktivity LDH a AST v pleurálním výpotku jsme použili neparametrický Kruskal-Wallisův test. Na hladině významnosti 5 % jsme testovali nulovou hypotézu H_0 jako v kapitole 3.2.7.3. V případě zamítnutí nulové hypotézy jsme provedli *post hoc* vícenásobné porovnání z-skóre a získali *p*-hodnoty.

3.2.7.6. Testování vlivu současně probíhajícího nádorového procesu v dutině hrudní na laboratorní obraz hrudního empyému

Skupinu 310 pacientů s hrudními empyémy jsme rozdělili na 244 pacientů s parapneumonickým empyémem a 56 pacientů s paramaligním empyémem. 10 pacientů bylo pro tyto potřeby testování vyřazeno pro nejasnost klinických údajů. Pro testování vlivu intenzity purulentního zánětu v dutině hrudní na koncentraci glukózy, laktátu, úroveň KEB a koncentraci katalytické aktivity LDH a AST v pleurálním výpotku u pacientů s parapneumonickým a paramaligním empyémem jsme použili neparametrický nepárový

Mann-Whitney U-test. Na hladině významnosti 5 % jsme testovali nulovou hypotézu H_0 jako předpoklad, že se distribuční funkce jednotlivých výběrů významně neliší proti alternativní hypotéze, že se jejich distribuční funkce liší a výběry pocházejí z odlišných základních souborů.

3.2.7.7. ROC analýza

3.2.7.7.1. Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení nezánettivých transudátů od parapneumonických výpotků

Z primární databáze jsme extrahovali 236 pacientů s nezánettivým transudátem vzniklým důsledkem kardiálního postižení a systémové sepse a 95 pacientů s parapneumonickým výpotkem způsobeným bakteriální pneumonií. V programu MedCalc (MedCalc SW, B) jsme sestrojili ROC-křivky pro stanovení koncentrace celkové bílkoviny, glukózy, laktátu, KEB, katalytické aktivity AST a LDH pro odlišení těchto dvou skupin pacientů. Získané hodnoty AUC jsme porovnali na hladině významnosti 5 % dle DeLong *et al.* Dále jsme navrhli kritéria jednotlivých parametrů, která dosahovala nejvyšší diagnostické účinnosti pro diskriminaci pacientů s parapneumonickým výpotkem a nezánettivým transudátem.

3.2.7.7.2. Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení nezánettivých transudátů od hrudních empyémů

Z primární databáze jsme extrahovali 236 pacientů s nezánettivým transudátem vzniklým důsledkem kardiálního postižení a systémové sepse a 282 pacientů s hrudním empyémem. V programu MedCalc (MedCalc SW, B) jsme navrhli ROC-křivky pro stanovení koncentrace celkové bílkoviny, glukózy, laktátu, KEB, katalytické aktivity AST a LDH pro odlišení těchto dvou skupin pacientů. Získali jsme hodnoty AUC, které jsme porovnali na hladině významnosti 5 % dle DeLong *et al.* Dále jsme navrhli kritéria jednotlivých parametrů, která dosahovala nejvyšší diagnostické účinnosti pro diskriminaci pacientů s nezánettivým transudátem a hrudním empyémem.

3.2.7.7.3. Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení parapneumonických výpotků od hrudních empyémů

Z primární databáze jsme extrahovali 95 pacientů s parapneumonickým výptokem způsobeným bakteriální pneumonií a 282 pacientů s hrudním empyémem. V programu MedCalc (MedCalc SW, B) jsme navrhli ROC-křivky pro stanovení koncentrace celkové bílkoviny, glukózy, laktátu, KEB, katalytické aktivity AST a LDH pro odlišení těchto dvou skupin pacientů. Získali jsme hodnoty AUC, které jsme porovnali na hladině významnosti 5% dle DeLong *et al.* (11). Dále jsme navrhly kritéria jednotlivých parametrů, která dosahovala nejvyšší diagnostické účinnosti pro diskriminaci pacientů s parapneumonickým výptokem a hrudním empyémem.

3.2.7.8. Vliv výsledného vývoje hrudního empyému na laboratorní parametry pleurálních výpotků v čase

U 81 pacientů s hrudními empyémy byl prováděn opakovaný odběr pleurálního výpotku v různých časových intervalech po různě dlouhý časový úsek od zavedení hrudního drénu. Výsledky pleurálních výpotků jsme rozdělili na dvě skupiny. První skupina zahrnovala pleurální výpotky pacientů s regresí zánětu, ke kterému došlo v období mezi 1. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu (zvyšující se hodnoty KEB) a druhá skupina zahrnovala pleurální výpotky pacientů bez výsledné regrese zánětu v období mezi 1. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu (snížení či bez zvýšení hodnot KEB). Dále jsme tyto dvě skupiny pleurálních výpotků rozdělili dle tří časových intervalů, ve kterém byly stanoveny koncentrace celkové bílkoviny, koncentrace glukózy, laktátu, počet jaderných elementů, relativní četnost neutrofilních granulocytů, KEB a katalytické aktivity AST a LDH. Přehledné rozdělení pleurálních výpotků do skupin dle výše zmíněných kritérií shrnuje Tab. 5. Na hladině významnosti 5 % jsme prostřednictvím Mann-Whitney U-testu testovali hypotézu, že distribuční funkce sledovaných laboratorních parametrů se ve skupinách pacientů s následnou regresí a bez regrese zánětu v dutině hrudní do 25. dne od zavedení hrudního drénu neliší.

Tab. 5: Počet vyšetřených pleurálních výpotků pacientů s hrudním empyémem v jednotlivém časovém úseku od záchytu hrudního empyému s ohledem na jeho výsledný vývoj

	Regrese hrudního empyému do 25. dne od zavedení hrudního drénu	Bez regrese hrudního empyému do 25. dne od zavedení hrudního drénu
0. den	51	27
1. – 10. den	60	22
11. – 25. den	29	9

3.2.7.9. Vliv časového období odběru pleurálního výpotku od zavedení hrudního drénu na laboratorní parametry hrudního empyému u pacientů s regresí a bez regrese zánětu v období mezi 1. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu

Stejným způsobem jako v kapitole 3.2.7.8 jsme v souboru pacientů z Tab. 5 testovali hypotézu na hladině významnosti 5 % prostřednictvím Kruskal-Wallisova testu *s post hoc* vícenásobným porovnáním z-skóre, že se distribuční funkce sledovaných laboratorních parametrů pleurálních výpotků v jednotlivých časových obdobích s ohledem na regresí zánětu neliší.

4 VÝSLEDKY

4.1. Charakteristika primárních dat

V Tab. 6 jsou charakterizované veškeré proměnné, se kterými budeme v následujícím textu pracovat.

Tab. 6: Charakteristika proměnných z primární databáze

Název proměnné	Zkratka	Typ
Postižení dutiny hrudní	Postižení	Nominální
Koncentrace celkové bílkoviny	CB	Číselná-spojité
Počet jaderných elementů	JE	Číselná-spojité
Četnost lymfocytárních elementů	Ly	Číselná-spojité
Četnost monocytárních elementů	Mo	Číselná-spojité
Četnost neutrofilních granulocytů	Ngr	Číselná-spojité
Četnost eosinofilních granulocytů	Eo	Číselná-spojité
Koncentrace glukózy	Glukóza	Číselná-spojité
Koncentrace laktátu	Laktát	Číselná-spojité
Koeficient energetické bilance	KEB	Číselná-spojité
Koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy	LDH	Číselná-spojité
Koncentrace katalytické aktivity aspartátaminotransferázy	AST	Číselná-spojité

4.2. Charakteristika kohorty pacientů z primární databáze

Průměrný věk pacientů z primární databáze postižených pleurálním výpotkem je 63 let. Jedná se převážně o dospělé jedince s převahou mužů. Zastoupení pacientů v jednotlivých skupinách shrnuje Tab. 7.

Tab. 7: Základní údaje a informace o procentuálním zastoupení pacientů v primární databázi

Celkem pacientů	924,0
Průměrný věk	63,0
Dospělí (%)	98,7
Děti (%)	1,3
Ženy (%)	36,4
Muži (%)	63,6
Kardiogenní postižení (%)	20,0

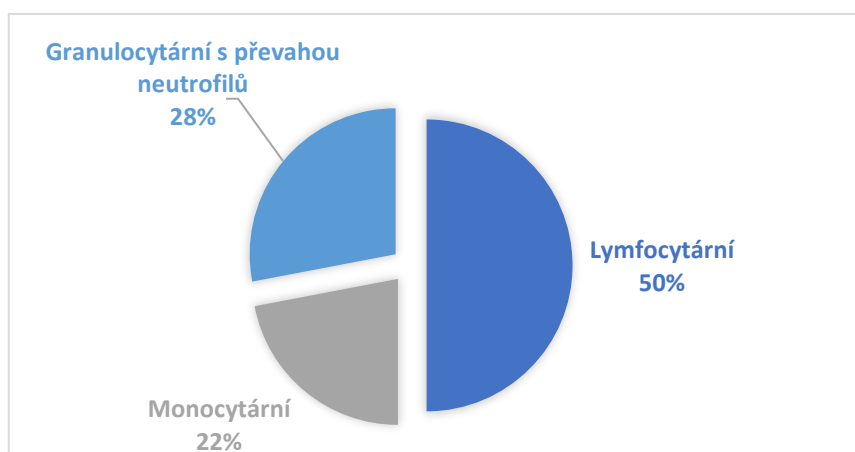
Tab. 7: Základní údaje a informace o procentuálním zastoupení pacientů v primární databázi - pokračování

Sepse (%)	6,3
Post-operační (%)	29,3
z toho s purulentní komplikací (%)	28,4
Bakteriální pneumonie (%)	10,6
Hrudní empyém (%)	33,9

4.3. Průzkum cytologických nálezů pleurálních výpotků u pacientů s vybraným postižením dutiny hrudní

Zastoupení výsledných cytologických nálezů hodnocených dle převažující buněčné řady v pleurálních výpotcích pacientů s kardiálním postižením a systémovou sepsí zobrazuje Graf 1.

U poloviny těchto pacientů pozorujeme převahu lymfocytárních elementů v pleurálních výpotcích. U nezanedbatelného počtu těchto výpotků (28 %) pozorujeme také převahu neutrofilních granulocytů. Naopak v téměř v žádném pleurálním výpotku těchto pacientů nenalzáme převahu eosinofilních granulocytů.

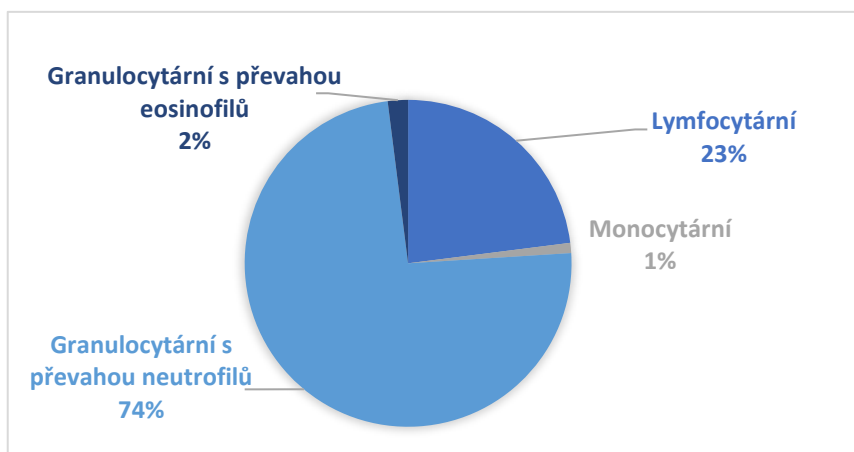


Graf 1: Výsledné procentuální zastoupení cytologických nálezů hodnocených dle převažující buněčné řady v pleurálních výpotcích pacientů s kardiálním postižením a se systémovou sepsí.

Zastoupení výsledných cytologických nálezů hodnocených dle převažující buněčné řady v pleurálních výpotcích u post-operačních pacientů zobrazuje Graf 2.

74 % případů tvoří pacienti, kterým v pleurálním výpotku převažují neutrofilní granulocyty.

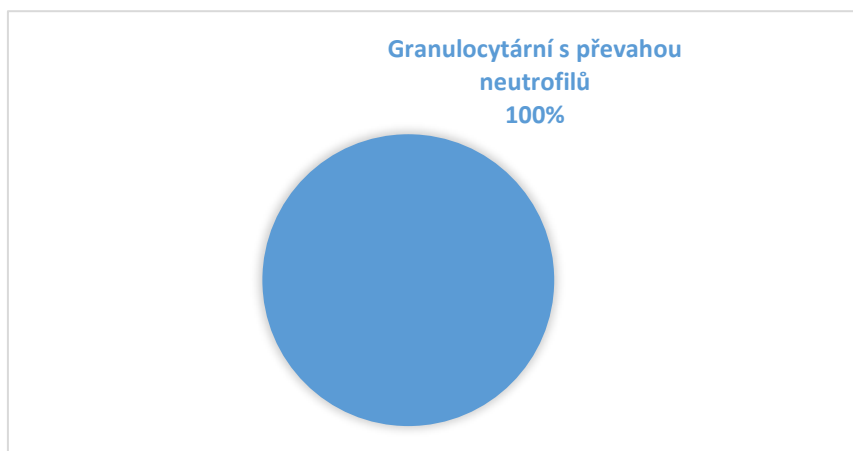
Ojedinele pak u těchto pacientů pozorujeme v pleurálním výpotku převahu monocytů a eosinofilních granulocytů.



Graf 2: Výsledné procentuální zastoupení cytologických nálezů hodnocených dle převažující buněčné řady v pleurálních výpotcích u pacientů po hrudně-chirurgické operaci

Zastoupení výsledných cytologických nálezů hodnocených dle převažující buněčné řady v pleurálních výpotcích pacientů postižených bakteriální pneumonií zobrazuje Obr. 6.

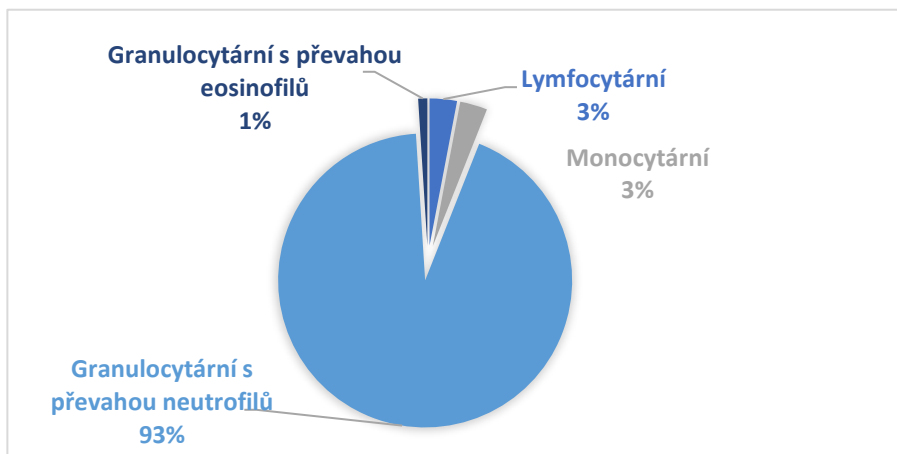
Ve všech pleurálních výpotcích od pacientů s bakteriální pneumonií je patrná převaha neutrofilních granulocytů. (Graf 3).



Graf 3: Výsledné procentuální zastoupení cytologických nálezů hodnocených dle převažující buněčné řady v pleurálních výpotcích u pacientů postižených bakteriální pneumonií

Zastoupení výsledných cytologických nálezů hodnocených dle převažující buněčné řady v pleurálních výpotcích u pacientů postižených hrudním empyémem zobrazuje Graf 4.

Téměř všichni pacienti (93 %) postižení hrudním empyémem jsou charakterizováni převahou neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku. Ojediněle nalézáme v pleurálním výpotku těchto pacientů převahu elementů jiné buněčné řady.



Graf 4: Výsledné procentuální zastoupení cytologických nálezů hodnocených dle převažující buněčné řady v pleurálních výpotcích u pacientů s hrudními empyémy

4.4. Testování vlivu typu postižení dutiny hrudní na relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž pleurálních výpotcích byl stanoven relativní počet neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 8. Převahu neutrofilních granulocytů v cytologickém obraze pleurálního výpotku pozorujeme převážně u pacientů po hrudní operaci s mediánem relativní četnosti neutrofilních granulocytů 77 %, u pacientů s parapneumonickým výpotkem způsobeným bakteriální pneumonií s mediánem 84 % a s hrudním empyémem s mediánem 87 %.

Tab. 8: Popisná statistika – relativní četnost neutrofilních granulocytů v jednotlivých typech pleurálních výpotků

	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nedefinované</i>	<i>Purulentní</i>	
			<i>Nekomplikovaný</i>	<i>Komplikovaný</i>
	Transudát	Post-operační	Parapneumonický	Empyém
Počet	241,0	269,0	95,0	310,0
Průměr	23,8	63,3	82,5	81,2
Medián	13,0	77,00	84,0	87,0
1. kvartil – 3. kvartil	4,0 – 38,0	40,6 - 88,0	75,0 – 92,0	76,0 – 93,0

Neparametrický Kruskal-Wallisův test pro relativní četnost neutrofilních granulocytů

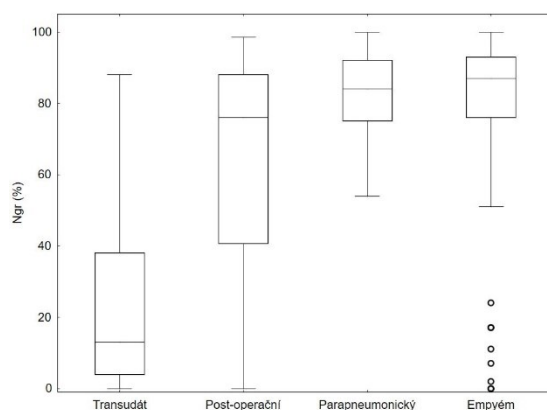
Testujeme hypotézu H_0 , že distribuční funkce jednotlivých výběrů se významně neliší, proti alternativní hypotéze, že se jejich distribuční funkce liší a pacienti s různým postižením dutiny hrudní pocházejí z odlišných základních souborů. Na hladině významnosti 5 % provedením Kruskal-Wallisova testu (K-W) zamítáme nulovou hypotézu s výslednou p -hodnotou $< 0,001$.

p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním pomocí z-skóre mezi páry typů pleurálních výpotků shrnuje Tab. 9.

Statistickou významnost rozdílu v četnosti neutrofilních granulocytů jsme našli téměř mezi všemi skupinami pleurálních výpotků ($p < 0,05$). Relativní četnost neutrofilních granulocytů se téměř neliší pouze v parapneumonickém výpotku od pacientů s bakteriální pneumonií a ve výpotku od pacientů s hrudním empyémem. Nejnížší relativní četnost neutrofilních granulocytů pozorujeme v transudátech s mediánem 13 % (Graf 5).

Tab. 9: p -hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z-skóre pro relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku

	Transudát	Post-operační	Parapneumonický
Post-operační	< 0,001		
Parapneumonický	< 0,001	< 0,001	
Empyém	< 0,001	< 0,001	1,00



Graf 5: Rozložení hodnot relativních četností neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích u pacientů s vybraným postižením dutiny hrudní

4.5. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na laboratorní parametry pleurálního výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Přehled počtu pacientů z primární databáze, u kterých byla získaná kompletní klinická data a pozorována převaha neutrofilních granulocytů v jejich pleurálních výpotcích zobrazuje Tab. 10.

Tab. 10: Přehled počtu pacientů s převahou neutrofilních granulocytů v jednotlivých typech pleurálních výpotků

Postižení dutiny hrudní	Typ pleurálního výpotku	Počet případů	Označení z hlediska zánětu
Kardiální postižení + Systémová sepse	Transudát	91	Absence purulentního postižení dutiny hrudní - kontrolní skupina
Bakteriální pneumonie	Parapneumonický	95	Purulentní postižení dutiny hrudní
Hrudní empyém	Empyém	282	Komplikované purulentní postižení dutiny hrudní
Celkem		443	

4.5.1. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci celkové bílkoviny v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž pleurálních výpotcích byla stanovena koncentrace celkové bílkoviny a splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 11.

Tab. 11: Popisná statistika koncentrace celkové bílkoviny v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

	<i>Purulentní</i>		
	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nekomplikované</i>	<i>Komplikované</i>
	Transudát	Parapneumonický	Empyém
Počet	91,00	95,00	282,00
Průměr (g.l ⁻¹)	24,48	36,69	35,00
Medián (g.l ⁻¹)	22,20	38,10	37,00
1. kvartil – 3. kvartil	16,20 - 30,50	27,80 - 47,10	25,60 - 45,00

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 , že distribuční funkce jednotlivých výběrů se významně neliší, proti alternativní hypotéze, že se jejich distribuční funkce liší a pacienti s různým typem pleurálního výpotku pocházejí z odlišných základních souborů. Na hladině významnosti 5 % provedením Kruskal-Wallisova testu (K-W) zamítáme nulovou hypotézu s výslednou p -hodnotou $< 0,001$.

p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry typů pleurálních výpotků shrnuje Tab. 12.

Statisticky významně se v koncentraci celkové bílkoviny liší transudát od ostatních typů pleurálních výpotků ($p < 0,05$). Nejnižší koncentraci celkové bílkoviny pozorujeme v transudátech s mediánem 22, 20 g.l⁻¹.

Tab. 12: *p*-hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z-skóre pro koncentraci celkové bílkoviny v pleurálním výpotku

	Transudát	Parapneumonický
Parapneumonický	< 0,001	
Empyém	< 0,001	0,930

4.5.2. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na počet jaderných elementů v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž pleurálních výpotcích byl stanoven počet jaderných elementů a byla splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 13.

Tab. 13: Popisná statistika pro počet jaderných elementů v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

	<i>Purulentní postižení dutiny hrudní</i>		
	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nekomplikované</i>	<i>Komplikované</i>
		Transudát	Parapneumonický
Počet	91,00	95,00	282,00
Průměr (.1μl)	1133,67	2816,00	171258,67
Medián (.1μl)	325,00	2901,00	25813,33
1. kvartil – 3. kvartil	128,00 – 981,33	768,00 – 14827,67	3413,33 – 109227,67

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 , že distribuční funkce jednotlivých výběrů se významně neliší, proti alternativní hypotéze, že se jejich distribuční funkce liší a pacienti s různým typem pleurálního výpotku pocházejí z odlišných základních souborů. Na hladině

významnosti 5 % provedením Kruskal-Wallisova testu (K-W) zamítáme nulovou hypotézu s výslednou p -hodnotou 0,000.

p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry typů pleurálních výpotků shrnuje Tab. 14.

Statistickou významnost rozdílu v počtech jaderných elementů jsme našli mezi všemi skupinami pleurálních výpotků. Nejnižší počet jaderných elementů pozorujeme v transudátech s mediánem 325.1 μ l a nejvyšší v pleurálních výpotcích od pacientů s hrudním empyémem s mediánem 25813.1 μ l.

Tab. 14: p -hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z -skóre pro počet jaderných elementů v pleurálním výpotku

	Transudát	Parapneumonický
Parapneumonický	< 0,001	
Empyém	< 0,001	< 0,001

4.5.3. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci glukózy v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž pleurálních výpotcích byla stanovena koncentrace glukózy a zároveň byla splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 15.

Tab. 15: Popisná statistika pro koncentraci glukózy v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

	<i>Purulentní postižení dutiny hrudní</i>		
	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nekomplikované</i>	<i>Komplikované</i>
		Transudát	Parapneumonický
Počet	91,00	95,00	282,00
Průměr (mmol.l ⁻¹)	8,18	1,60	1,20

Tab. 15: Popisná statistika pro koncentraci glukózy v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů - pokračování

	Nezánětlivé	Purulentní postižení dutiny hrudní	
		Nekomplikované	Komplikované
	Transudát	Parapneumonický	Empyém
Medián (mmol.l ⁻¹)	7,51	0,96	0,10
1. kvartil – 3. Kvartil	6,16 - 9,28	0,10 - 2,90	0,06 - 1,10

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2. Stejným způsobem testujeme vliv purulentního postižení dutiny hrudní na koncentraci glukózy v pleurálních výpotcích. Na hladině významnosti 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná p -hodnota je $< 0,001$.

Koncentrace glukózy se významně liší ve všech skupinách pleurálních výpotků ($p < 0,05$). p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků shrnuje Tab. 16.

Byla nalezena významnost rozdílu v koncentraci glukózy mezi všemi skupinami pleurálních výpotků ($p < 0,05$)

Nejnižší koncentraci glukózy v pleurálních výpotcích pozorujeme u pacientů s empyémou s mediánem 0,10 mmol.l⁻¹. Nejvyšší koncentraci glukózy pozorujeme v transudátech s mediánem 7,51 mmol.l⁻¹.

Tab. 16: p -hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z -skóre pro koncentraci glukózy v pleurálním výpotku

	Transudát	Parapneumonický
Parapneumonický	< 0,001	
Empyém	< 0,001	< 0,001

4.5.4. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci laktátu v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž hrudních výpotcích byla stanovena koncentrace laktátu a zároveň byla splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 17.

Tab. 17: Popisná statistika pro koncentraci laktátu v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

	<i>Purulentní postižení dutiny hrudní</i>		
	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nekomplikované</i>	<i>Komplikované</i>
	Transudát	Parapneumonický	Empyém
Počet	91,00	95,00	282,00
Průměr (mmol.l ⁻¹)	2,70	10,60	17,20
Medián (mmol.l ⁻¹)	2,53	9,98	14,65
1. kvartil – 3. kvartil	1,61 - 3,30	6,96 - 12,70	9,87 - 21,7

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2 Stejným způsobem testujeme vliv purulentního postižení dutiny hrudní na koncentraci laktátu v pleurálních výpotcích. Na hladině významnosti 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná p -hodnota je $< 0,001$.

p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků shrnuje Tab. 18.

V koncentraci laktátu se liší všechny skupiny pleurálních výpotků ($p < 0,05$). Nejnižší koncentraci laktátu pozorujeme v transudátech s mediánem 2,53 mmol.l⁻¹. Nejvyšší koncentraci laktátu naopak dosahují pleurální výpotky pacientů s hrudním empyémem, jejichž medián je 14,65 mmol.l⁻¹.

Tab. 18: *p*-hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z-skóre pro koncentraci laktátu v pleurálním výpotku

	Transudát	Parapneumonický
Parapneumonický	< 0,001	
Empyém	< 0,001	< 0,001

4.5.5. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž pleurálních výpotcích byla stanovena koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) a zároveň byla splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 19.

Tab. 19: Popisná statistika pro koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

	<i>Purulentní postižení dutiny hrudní</i>		
	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nekomplikované</i>	<i>Komplikované</i>
		Transudát	Parapneumonický
Počet	91,00	95,00	282,00
Průměr ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	4,22	56,79	163,11
Medián ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	2,41	23,66	70,38
1. kvartil – 3. kvartil	1,53 - 4,27	13,62 - 46,42	24,985 - 233,28

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2. Stejným způsobem testujeme vliv typu pleurálního výpotku na koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH). Na hladině významnosti 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná *p*-hodnota je < 0,001.

p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků shrnuje Tab. 20.

Byla nalezena významnost rozdílu v koncentraci katalytické aktivity LDH mezi všemi skupinami pleurálních výpotků ($p < 0,05$). Nejnížší koncentrace katalytických aktivit LDH pozorujeme v transudátech s mediánem $2,41 \mu\text{kat.l}^{-1}$. Nejvyšší koncentrace katalytických aktivit pak pozorujeme v pleurálních výpotcích u pacientů s hrudním empyémem s mediánem $70,38 \mu\text{kat.l}^{-1}$.

Tab. 20: p -hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z -skóre pro koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v pleurálním výpotku

	Transudát	Parapneumonický
Parapneumonický	< 0,001	
Empyém	< 0,001	< 0,001

4.5.6. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na cytologicko-energetické parametry pleurálního výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

4.5.6.1. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku při jejich převaze

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž pleurálních výpotcích byl stanoven relativní počet neutrofilních granulocytů a zároveň byla splněna podmínka jejich převahy v cytologickém obraze, zobrazuje Tab. 21.

Tab. 21: Popisná statistika pro relativní četnost neutrofilních granulocytů při jejich převaze v jednotlivých typech pleurálních výpotků

	<i>Purulentní postižení dutiny hrudní</i>		
	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nekomplikované</i>	<i>Komplikované</i>
	Transudát	Parapneumonický	Empyém
Počet	91,0	95,0	282,0
Průměr (%)	60,3	82,1	84,6
Medián (%)	56,0	84,0	88,0
1. kvartil – 3. kvartil	49,0 – 72,0	75,0 – 91,0	78,0 – 94,0

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2. Stejným způsobem testujeme vliv daného postižení dutiny hrudní na relativní počet neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích. Na hladině významnosti 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná p -hodnota je $< 0,001$.

p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků shrnuje Tab. 22.

Statisticky významně se v koncentraci katalytické aktivity LDH liší transudát od ostatních typů pleurálních výpotků. Nejnižší relativní četnosti neutrofilních granulocytů pozorujeme v transudátech s mediánem 56 %. Tato skupina pacientů se statisticky významně odlišuje od pacientů postižených bakteriální pneumonií a hrudním empyémem ($p < 0,05$).

Tab. 22: p -hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z -skóre pro relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku

	Transudát	Parapneumonický
Parapneumonický	< 0,001	
Empyém	< 0,001	0,319

4.5.6.2. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koeficient energetické bilance v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, pro jejichž pleurální výpotky byl vypočítán koeficient energetické bilance (KEB) a zároveň byla splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů v cytologickém nálezu, zobrazuje Tab. 23.

Tab. 23: Popisná statistika pro koeficient energetické bilance v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

	<i>Purulentní postižení dutiny hrudní</i>		
	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nekomplikované</i>	<i>Komplikované</i>
	Transudát	Parapneumonický	Empyém
Počet	91,00	95,00	282,00
Průměr	31,37	-2179,80	-6059,20
Medián	32,73	-167,51	-2346,10
1. kvartil – 3. kvartil	30,52 to 34,22	-1758,40 to -6,04	-5789,50 to -150,20

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2. Stejným 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná p -hodnota je $< 0,001$.

p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků shrnuje Tab. 24.

Byla nalezena významnost rozdílu KEB mezi všemi skupinami pleurálních výpotků ($p < 0,01$). Nejvyšší hodnoty KEB pozorujeme v transudátech s mediánem 32,73. Nejnižší hodnoty pozorujeme v pleurálních výpotcích u pacientů s empyémy s mediánem -2346,10.

Tab. 24: *p*-hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z-skóre pro koeficient energetické bilance v pleurálním výpotku

	Transudát	Parapneumonický
Parapneumonický	< 0,001	
Empyém	< 0,001	< 0,001

4.5.6.3. Testování vlivu postižení dutiny hrudní purulentním zánětem na koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž pleurálních výpotcích byla stanovena koncentrace katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) a zároveň byla splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 25.

Tab. 25: Popisná statistika pro koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

	<i>Purulentní postižení dutiny hrudní</i>		
	<i>Nezánětlivé</i>	<i>Nekomplikované</i>	<i>Komplikované</i>
		Transudát	Parapneumonický
Počet	91,00	95,00	282,00
Průměr ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	0,46	2,34	8,29
Medián ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	0,25	1,13	3,95
1. kvartil – 3. kvartil	0,15 - 0,42	0,76 - 2,36	1,28 - 9,56

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2. Stejným způsobem testujeme vliv typu postižení dutiny hrudní na koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) v pleurálním výpotku. Na hladině významnosti 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná *p*-hodnota je < 0,001.

p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků shrnuje Tab. 26.

Byla nalezena významnost rozdílu koncentrací katalytických aktivit AST mezi všemi skupinami pleurálních výpotků ($p < 0,05$).

Nejnižší koncentrace katalytických aktivit AST pozorujeme v transudátech s mediánem $0,25 \mu\text{kat.l}^{-1}$. Její nejvyšší koncentrace pak pozorujeme v pleurálních výpotcích u pacientů s hrudními empyémy s mediánem $3,95 \mu\text{kat.l}^{-1}$.

Tab. 26: p -hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z -skóre pro koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy v pleurálním výpotku

	Transudát	Parapneumonický
Parapneumonický	< 0,001	
Empyém	< 0,001	< 0,001

4.6. Testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní na laboratorní parametry pleurálních výpotků pacientů po hrudní operaci

4.6.1. Testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní na četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích při jejich převaze

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů po hrudní operaci rozdělených dle energetických poměrů v dutině hrudní, v jejichž pleurálních výpotcích byla stanovena relativní četnost neutrofilních granulocytů a zároveň byla splněna podmínka jejich převahy, zobrazuje Tab. 27.

Tab. 27: Popisná statistika pro relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích s jejich převahou ze souboru post-operačních pacientů rozdělených dle energetických poměrů v dutině hrudní

KEB	> 28	28-20	20-10	< 10
Počet	65,0	82,0	47,0	75,0
Průměr (%)	43,6	58,6	73,6	79,1

Tab. 27: Popisná statistika pro relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích s jejich převahou ze souboru post-operačních pacientů rozdělených dle energetických poměrů v dutině hrudní - pokračování

KEB	> 28	28-20	20-10	< 10
Medián (%)	45,0	61,0	83,0	87,0
1. kvartil – 3. kvartil	14,0 - 70,0	38,0 - 85,0	69,2 - 90,0	75,2 - 92,0

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2. Stejným způsobem testujeme vliv energetických poměrů v dutině hrudní na relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích při jejich převaze u pacientů po hrudní operaci. Na hladině významnosti 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná p -hodnota je $< 0,001$.

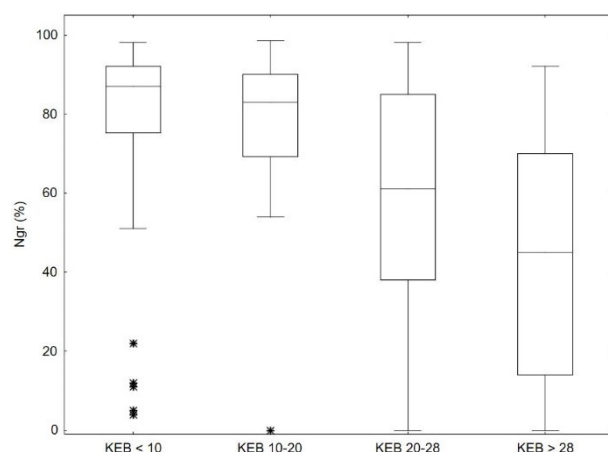
p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků s různou úrovní anaerobního metabolismu shrnuje Tab. 28.

Relativní počty neutrofilních granulocytů se téměř neliší pouze v pleurálních výpotcích s energetickými úrovněmi KEB < 10 a $10-20$ ($p > 0,05$).

Nejnižší relativní četnost neutrofilních granulocytů pozorujeme v pleurálních výpotcích s hladinou KEB > 20 . Nejvyšší relativní četnosti neutrofilních granulocytů pak pozorujeme v pleurálních výpotcích s KEB < 10 (Graf 6).

Tab. 28: p -hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z -skóre pro relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku

	KEB 10 - 20	KEB 20 - 28	KEB > 28
KEB < 10	1,00	< 0,001	< 0,001
KEB > 28	< 0,001	< 0,001	



Graf 6: Rozložení relativních četností neutrofilních granulocytů (Ngr) v pleurálních výpotcích pacientů rozdělených dle energetických poměrů v pleurálním výpotku

4.6.2. Testování vlivu energetických poměrů v pleurální dutině na koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v pleurálních výpotcích

Základní popisnou charakteristiku souboru post-operačních pacientů rozdělených dle energetických poměrů v dutině hrudní, v jejichž pleurálních výpotcích byla stanovena koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) a zároveň byla splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 29.

Tab. 29: Popisná statistika pro koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v pleurálních výpotcích s převahou neutrofilních granulocytů u post-operačních pacientů rozdělených dle energetických poměrů v pleurální dutině

KEB	> 28	28-20	20-10	< 10
Počet	64,00	80,00	47,00	75,00
Průměr ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	7,52	16,08	31,95	44,25
Medián ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	6,19	11,82	26,06	27,13
1. kvartil – 3. kvartil	3,74 - 10,60	8,017 - 20,37	14,058 - 42,56	16,29 - 47,72

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2. Stejným způsobem testujeme vliv energetických poměrů v pleurální dutině na látkovou koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) v pleurálních výpotcích s převahou neutrofilních granulocytů u post-operačních pacientů. Na hladině významnosti 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná p -hodnota je $< 0,001$.

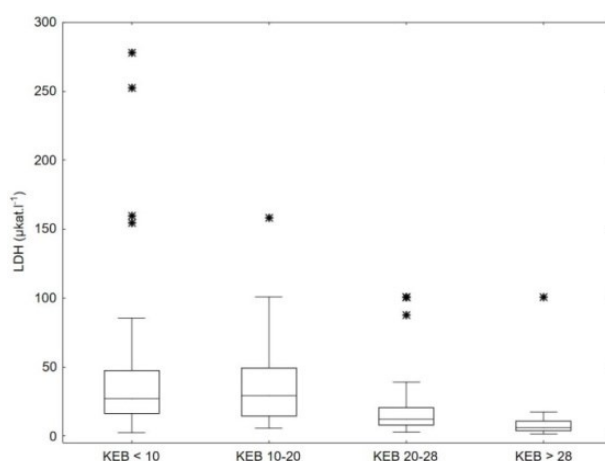
p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků s různou úrovní anaerobního metabolismu shrnuje Tab. 30.

Koncentrace katalytické aktivity LDH se téměř neliší pouze v pleurálních výpotcích s KEB < 10 a KEB 10-20 ($p > 0,05$).

Nejnižší koncentrace katalytických aktivit LDH pozorujeme v pleurálních výpotcích s KEB > 28 . Nejvyšší koncentraci laktátu pak pozorujeme v pleurálních výpotcích s KEB < 10 (Graf 7).

Tab. 30: p -hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z -skóre pro koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy v pleurálním výpotku

	KEB 10 - 20	KEB 20 - 28	KEB > 28
KEB < 10	1,00	$< 0,001$	$< 0,001$
KEB > 28	$< 0,001$	$< 0,001$	



Graf 7: Rozložení hodnot koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) v pleurálních výpotcích pacientů rozdělených dle energetických poměrů v pleurálním výpotku

4.6.3. Testování vlivu energetických poměrů v pleurální dutině na koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy v pleurálních výpotcích

Základní popisnou charakteristiku souboru post-operačních pacientů rozdělených dle energetických poměrů v dutině hrudní a v jejichž pleurálních výpotcích byla stanovena koncentrace katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) a zároveň byla splněna podmínka převahy neutrofilních granulocytů, zobrazuje Tab. 31.

Tab. 31: Popisná statistika pro koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy v pleurálních výpotcích s převahou neutrofilních granulocytů u post-operačních pacientů rozdělených dle energetických poměrů v pleurální dutině

KEB	> 28	28-20	20-10	< 10
Počet	65,00	82,00	47,00	75,00
Průměr ($\mu\text{kat.l}^{-1}$).	1,04	2,71	5,46	6,24
Medián ($\mu\text{kat.l}^{-1}$).	0,66	1,98	3,02	3,32
1. kvartil – 3. kvartil	0,43 - 1,21	0,94 - 3,20	1,50 - 9,70	1,46 - 8,64

Neparametrický Kruskal-Wallisův test

Testujeme hypotézu H_0 jako v kapitole 4.5.2. Stejným způsobem testujeme vliv energetických poměrů v dutině hrudní na látkovou koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) v pleurálních výpotcích post-operačních pacientů. Na hladině významnosti 5 % zamítáme hypotézu, že se distribuční funkce výběrů významně neliší. Výsledná p -hodnota je 0,000.

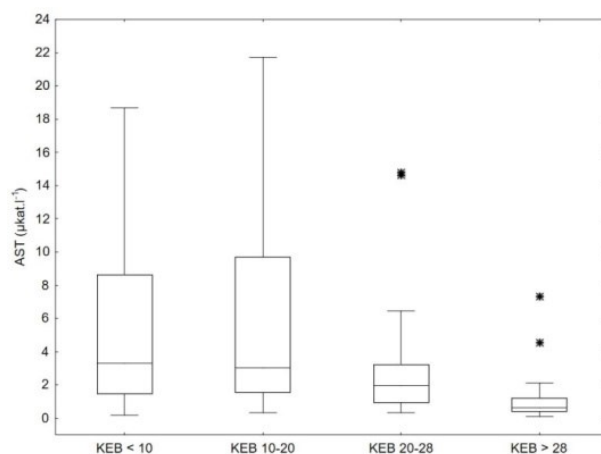
p -hodnoty získané vícenásobným porovnáním z -skóre mezi páry pleurálních výpotků s různou úrovní anaerobního metabolismu shrnuje Tab. 32.

Koncentrace katalytických aktivit AST se téměř neliší pouze v pleurálních výpotcích s KEB < 10 a 10 – 20 ($p > 0,05$).

Nejnižší koncentrace katalytických aktivit AST v pleurálních výpotcích s KEB > 28. Nejvyšší koncentrace katalytických aktivit AST pak pozorujeme v pleurálních s KEB < 10 (Graf 8).

Tab. 32: *p*-hodnoty K-W testu vícenásobného porovnání pomocí z-skóre pro koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy

	KEB 10 - 20	KEB 20 - 28	KEB > 28
KEB < 10	0,096	< 0,001	< 0,001
KEB > 28	< 0,001	< 0,001	



Graf 8: Rozložení hodnot koncentrace katalytické aktivity aspartátaminotransferázy v pleurálních výpotcích pacientů rozdělených dle energetických poměrů v pleurálním výpotku

4.7. Porovnání laboratorních parametrů hrudního empyému vzniklého z parapneumonického a paramaligního výpotku

Na hladině významnosti 5 % testujeme hypotézu H_0 , že se distribuční funkce měřených veličin skupin pacientů s parapneumonickým a paramaligním empyémem neliší.

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů, v jejichž pleurálních výpotcích byl stanoven počet jaderných elementů, celková koncentrace bílkoviny, relativní četnost neutrofilních granulocytů, látková koncentrace glukózy, laktátu, úroveň KEB a koncentrace katalytické aktivity LDH a AST popisuje spolu s významnostmi rozdílu mezi skupinami pacientů postižených parapneumonickým a paramaligním empyémem Tab. 33.

Tab. 33: Popisná statistika proměnných v souborech pacientů s parapneumonickým a paramaligním empyémem a *p*-hodnoty M-W U-testu

Typ empyému:		Parapneumonický	Paramaligní	<i>p</i> -hodnota
		n = 244	n = 56	< 0,05
CB (g.l ⁻¹)	Průměr	35,45	35,64	
	Medián	37,30	37,15	0,18
	1. kvartil – 3. kvartil	26,00 - 45,50	26,10 - 47,35	
JE (.1μl)	Průměr	171258,50	21233,98	
	Medián	25813,33	12515,67	< 0,01
	1. kvartil – 3. kvartil	3413,33 – 109226,70	995,67 – 33564,33	
Ngr (%)	Průměr	84,50	78,04	
	Medián	88,00	84,00	0,04
	1. kvartil – 3. kvartil	80,00 - 94,00	71,00 - 92,00	
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	Průměr	1,22	1,01	
	Medián	0,10	0,10	0,86
	1. kvartil – 3. kvartil	0,06 - 1,30	0,05 - 0,80	
Laktát (mmol.l ⁻¹)	Průměr	17,21	16,17	
	Medián	14,20	15,01	0,34
	1. kvartil – 3. kvartil	9,86 - 21,66	9,70 - 20,40	
KEB	Průměr	-6847,23	-6550,81	
	Medián	-2257,00	-2737,60	0,70
	1. kvartil – 3. kvartil	-5788,75 to -141,03	-5733,70 to -349,05	
LDH (μkat.l ⁻¹)	Průměr	156,80	144,84	
	Medián	67,84	60,68	0,42
	1. kvartil – 3. kvartil	23,62 - 219,09	21,71 - 232,84	

Tab. 33: Popisná statistika proměnných v souborech pacientů s parapneumonickým a paramaligním empyémem a *p*-hodnoty M-W U-testu - pokračování

Typ empyému:		Parapneumonický	Paramaligní	<i>p</i> -hodnota
		n = 244	n = 56	< 0,05
	Průměr	7,63	10,65	
AST	Medián	3,74	4,01	0,45
($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	1. kvartil – 3. kvartil	1,25 - 8,84	1,25 - 12,03	

Na hladině významnosti 5 % byla nalezena významnost rozdílu mezi počtem jaderných elementů v pleurálních výpotcích pacientů s parapneumonickým a paramaligním empyémem ($p < 0,05$). Koncentrace celkové bílkoviny, relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentrace glukózy, laktátu, hodnoty KEB a koncentrace katalytické aktivity LDH a AST v pleurálních výpotcích pacientů s parapneumonickým a paramaligním hrudním empyémem jsou téměř identické ($p > 0,05$).

4.8. Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení nezáznětlivých transudátů a parapneumonických výpotků

Z primární databáze jsme extrahovali 236 pacientů s nezáznětlivým transudátem při kardiálním postižení či systémové sepsi (negativní skupina) a 96 pacientů s parapneumonickým výpotkem způsobeným bakteriální pneumonií (pozitivní skupina). Provedli jsme ROC-analýzu pro parametry Lightových pravidel (koncentrace celkové bílkoviny, počet jaderných elementů, koncentrace glukózy, laktátu, katalytické aktivity LDH) a parametry cytologicko-energetického vyšetřování (relativní počet neutrofilních granulocytů, KEB, koncentrace katalytické aktivity AST) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezáznětlivých transudátů od parapneumonického výpotku.

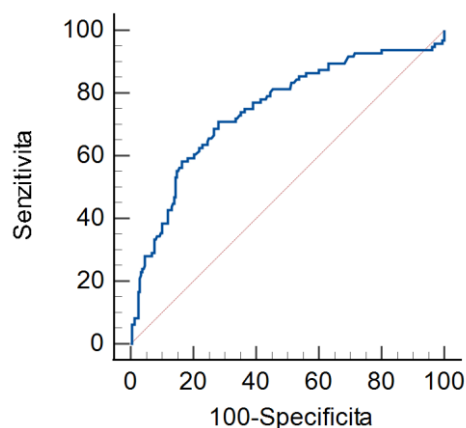
Výsledky ROC-analýzy a *p*-hodnoty získané porovnáním ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení počtu jaderných elementů s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetické“ stanovení relativního počtu neutrofilních granulocytů, ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení koncentrace glukózy a laktátu s ROC-křivkou pro „cytologicko-

energetický“ výpočet KEB a ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení koncentrace LDH s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetické“ stanovení AST dle DeLong *et al.* (1988) na hladině významnosti 5% shrnuje Tab. 34.

Tab. 34: Výsledky ROC-analýzy a *p*-hodnoty získané porovnáním ROC-křivek pro vybrané parametry Lightových pravidel a cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků

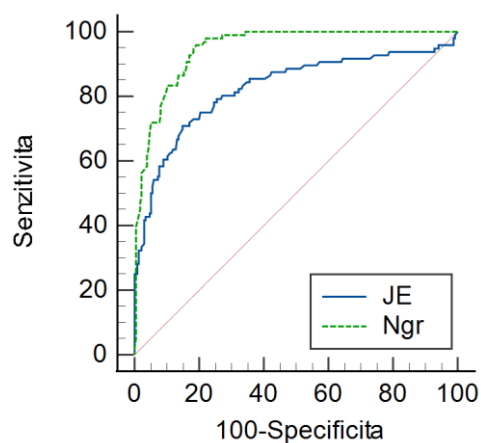
Negativní: nezáznětlivý transudát			
Pozitivní: nekomplikovaný parapneumonický výpotek			
Lightova pravidla	AUC	SE	95% CI
CB	0,725	0,021	0,688 - 0,760
JE	0,826	0,029	0,780 - 0,865
glukóza	0,981	0,010	0,960 - 0,993
laktát	0,969	0,013	0,944 - 0,985
LDH	0,957	0,015	0,929 - 0,976
Cytologicko-energetická analýza	AUC	SE	95% CI
Ngr	0,948	0,011	0,919 - 0,970
KEB	0,999	0,001	0,987 - 1,000
AST	0,945	0,001	0,915 - 0,967
Lightova pravidla	Cytologicko-energetické vyšetřování		<i>p</i>-hodnoty
JE	Ngr		< 0,001
Glukóza	KEB		0,064
Laktát	KEB		0,024
LDH	AST		0,402

Nejnižší hodnotu plochy pod ROC-křivkou (AUC) pozorujeme u diagnostického testu stanovení celkové bílkoviny v pleurálním výpotku (AUC = 0,725). Průběh ROC-křivky zobrazuje Graf 8.



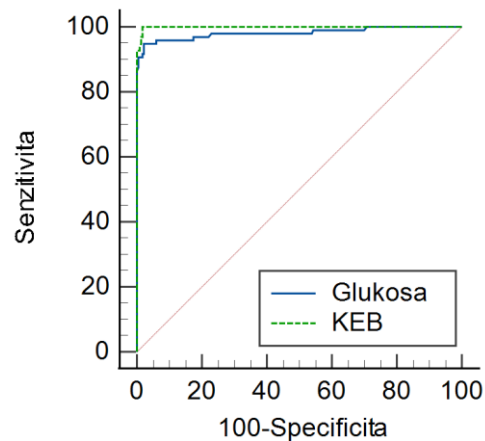
Graf 8: ROC-křivka pro „Lightovo“, stanovení koncentrace celkové bílkoviny v pleurálním výpotku pro odlišení nezánettivého transudátu od parapneumonického výpotku.

Na hladině významnosti 5 % byla nalezena významnost rozdílu mezi diagnostickými silami „Lightovo“ počtu jaderných elementů (AUC = 0,826) a „cytologicko-energetické“ relativní četnosti neutrofilních granulocytů (AUC = 0,948) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezánettivých transudátů a parapneumonických výpotků ($p < 0,01$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 9.



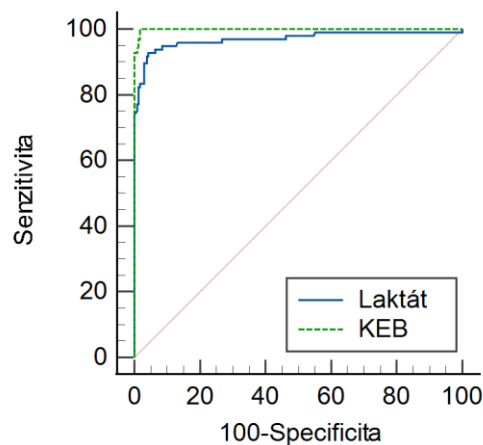
Graf 9: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ počet jaderných elementů s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetickou“ relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích pro odlišení nezánettivých transudátů od parapneumonických výpotku.

Diagnostická efektivita „Lightovo“ stanovení koncentrace glukózy (AUC = 0,981) je téměř identická s diagnostickou efektivitou „cytologicko-energetického“ výpočtu KEB (AUC = 0,999) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezánettivých transudátů od parapneumonických výpotků ($p > 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 10.



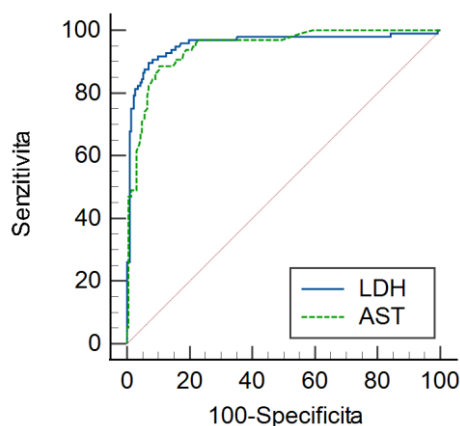
Graf 10: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ koncentraci glukózy s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetický“ koeficient energetické bilance (KEB) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezáňtlivých transudátů od parapneumonických výpotku.

Na hladině významnosti 5 % byla nalezena významnost rozdílu mezi diagnostickou efektivitou „Lightovo“ koncentrace laktátu (AUC = 0,969) a „cytologicko-energetického“ KEB (AUC = 0,999) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezáňtlivých transudátů a parapneumonických výpotků ($p < 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 11.



Graf 11: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ koncentraci laktátu s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetický“ KEB v pleurálních výpotcích pro odlišení nezáňtlivých transudátů od parapneumonických výpotku.

Diagnostická síla „Lightovo“ stanovení koncentrace katalytické aktivity LDH (AUC = 0,957) je téměř identická s diagnostickou silou „cytologicko-energetické“ koncentrace katalytické aktivity AST (AUC = 0,945) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezánettlivých transudátů od parapneumonických výpotků ($p > 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 12.



Graf 12: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ LDH s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetickou“ AST v pleurálních výpotcích pro odlišení nezánettlivých transudátů od parapneumonických výpotku.

Optimální kritéria pro odlišení nezánettlivých transudátů od parapneumonických výpotků

Tab. 35 shrnuje optimální hodnoty laboratorních parametrů pleurálních výpotků pro odlišení nezánettlivých transudátů od parapneumonických výpotků.

Tab. 35: Optimální hodnoty jednotlivých parametrů v pleurálním výpotku s nejlepší specificitou a senzitivitou pro odlišení nezánettlivých transudátů a parapneumonických výpotků

	Optimální kritérium	Specificita (%)	Senzitivita (%)
CB (g.l ⁻¹)	> 31,00	72,03	70,83
JE (.1μl)	> 1120,00	85,17	70,83
Ngr (%)	> 57,00	80,93	95,83
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	< 4,60	97,88	94,79
Laktát (mmol.l ⁻¹)	> 4,78	95,76	92,71

Tab. 35: Optimální hodnoty jednotlivých parametrů v pleurálním výpotku s nejlepší specificitou a senzitivitou pro odlišení nezánettivých transudátů a parapneumonických výpotků - *pokračování*

	Optimální kritérium	Specificita (%)	Senzitivita (%)
KEB	< 19,92	98,31	100,00
LDH ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	> 7,64	93,13	89,58
AST ($\mu\text{kat.l}^{-1}$)	> 0,56	89,83	88,54

4.9. Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení nezánettivých transudátů a hrudních empyému

Z primární databáze jsme extrahovali 236 pacientů s nezánettivým transudátem při kardiálním postižení či systémové sepsi (negativní skupina) a 282 pacientů s parapneumonickými hrudními empyémy.

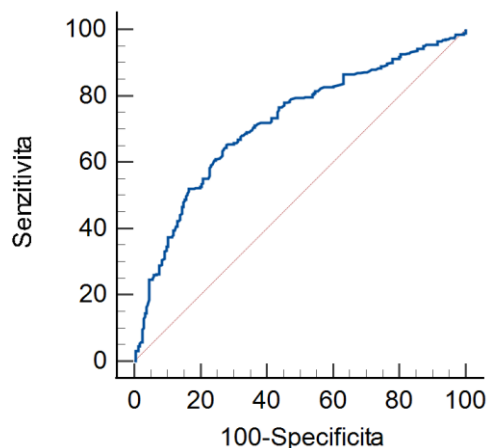
Provedli jsme ROC-analýzu pro parametry Lightových pravidel (koncentrace celkové bílkoviny, počet jaderných elementů, koncentrace glukózy, laktátu, katalytické aktivity LDH) a parametry cytologicko-energetického vyšetřování (relativní počet neutrofilních granulocytů, KEB, koncentrace katalytické aktivity AST) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezánettivých transudátů od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému.

Výsledky ROC-analýzy a *p*-hodnoty získané porovnáním ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení počtu jaderných elementů s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetické“ stanovení relativního počtu neutrofilních granulocytů, ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení koncentrace glukózy a laktátu s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetický“ výpočet KEB a ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení koncentrace LDH s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetické“ stanovení AST dle DeLong *et al.* na hladině významnosti 5% shrnuje Tab. 36.

Tab. 36: Výsledky ROC-analýzy a *p*-hodnoty získané porovnáním ROC-křivek pro vybrané parametry Lightových pravidel a cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků

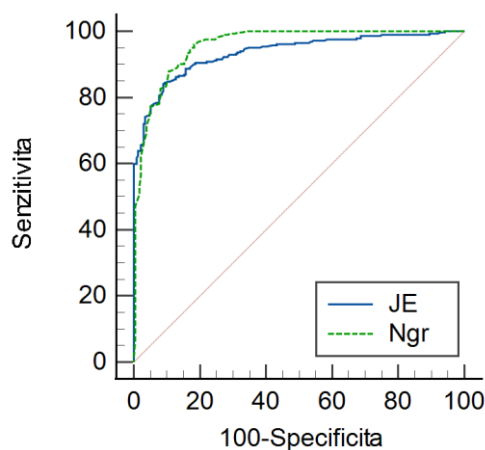
Negativní: nezáznětlivý transudát			
Pozitivní: komplikovaný purulentní výpotek – hrudní empyém			
Lightova pravidla	AUC	SE	95 % CI
CB	0,718	0,023	0,677 - 0,756
JE	0,935	0,011	0,911 - 0,955
glukóza	0,968	0,008	0,948 - 0,981
laktát	0,987	0,005	0,973 - 0,995
LDH	0,982	0,006	0,966 - 0,991
Cytologicko-energetická analýza	AUC	SE	95 % CI
Ngr	0,957	0,008	0,936 - 0,973
KEB	0,991	0,004	0,978 - 0,997
AST	0,975	0,006	0,958 - 0,987
Lightova pravidla	Cytologicko-energetické vyšetřování		<i>p</i>-hodnoty
JE	Ngr		0,037
Glukóza	KEB		0,002
Laktát	KEB		0,518
LDH	AST		0,262

Nejnižší hodnotu plochy pod ROC-křivkou (AUC) pozorujeme u diagnostického testu stanovení celkové bílkoviny v pleurálním výpotku (AUC = 0,718). Průběh ROC-křivky zobrazuje Graf 13.



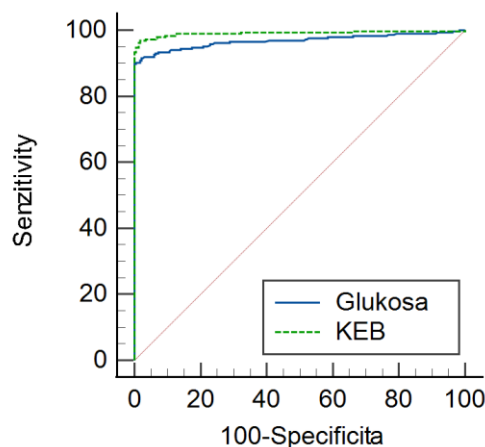
Graf 13: ROC-křivka pro „Lightovo“ stanovení koncentrace celkové bílkoviny v pleurálním výpotku pro odlišení nezápálivého transudátu od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému

Na hladině významnosti 5 % byla nalezena významnost rozdílu mezi diagnostickými silami „Lightovo“ počtu jaderných elementů (AUC = 0,935) a „cytologicko-energetické“ relativní četnosti neutrofilních granulocytů (AUC = 0,957) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezápálivých transudátů a hrudních empyémů ($p < 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 14.



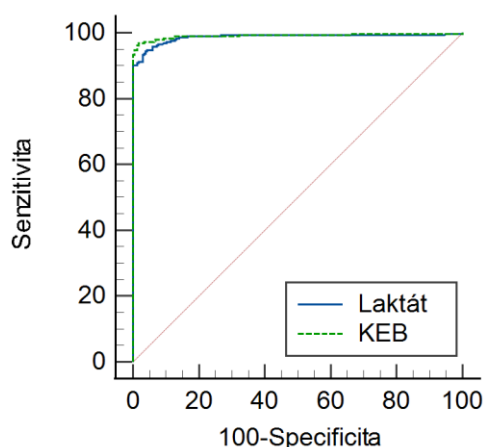
Graf 14: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ počet jaderných elementů s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetickou“ relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích pro odlišení nezápálivých transudátů od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému.

Na hladině významnosti 5 % byla nalezena významnost rozdílu mezi diagnostickými silami „Lightovo“ stanovení koncentrace glukózy (AUC = 0,968) a „cytologicko-energetického“ KEB (AUC = 0,991) v pleurálních výpotcích pro odlišení neznánětlivých transudátů a hrudních empyémů ($p < 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 15.



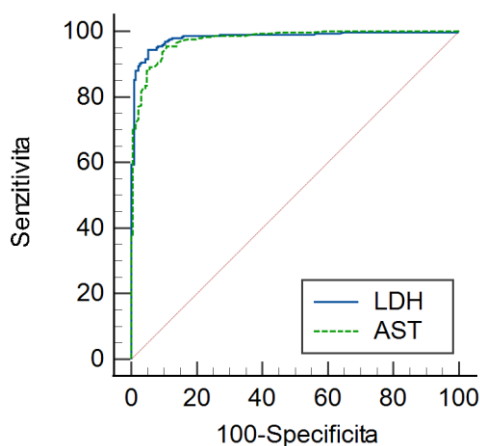
Graf 15: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo,“ koncentraci glukózy s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetický,“ koeficient energetické bilance (KEB) v pleurálních výpotcích pro odlišení neznánětlivých transudátů od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému

Diagnostická síla „Lightova“ stanovení koncentrace laktátu (AUC = 0,987) je téměř identická s diagnostickou silou „cytologicko-energetického“ KEB (AUC = 0,991) v pleurálních výpotcích pro odlišení neznánětlivých transudátů od hrudních empyémů ($p > 0,051$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 16.



Graf 16: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ koncentraci laktátu s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetický,“ KEB v pleurálních výpotcích pro odlišení neznánětlivých transudátů od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému

Diagnostická síla „Lightovo“ stanovení koncentrace katalytické aktivity LDH (AUC = 0,982) je téměř identická s diagnostickou silou „cytologicko-energetické“ koncentrace katalytické aktivity AST (AUC = 0,975) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezáňtlivých transudátů od hrudních empyémů ($p > 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 17.



Graf 17: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ koncentraci katalytické aktivity LDH s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetickou“ koncentraci katalytické aktivity AST v pleurálních výpotcích pro odlišení nezáňtlivých transudátů od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému

Optimální kritéria pro odlišení nezáňtlivých transudátů od parapneumonických výpotků

Tab. 37 shrnuje optimální hodnoty laboratorních parametrů pleurálních výpotků pro odlišení nezáňtlivých transudátů od komplikovaného purulentního zánětu ve formě hrudního empyému.

Tab. 37: Optimální hodnoty jednotlivých parametrů v pleurálním výpotku s nejlepší specificitou a senzitivitou pro odlišení nezánettivých transudátů a komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému

	Optimální kritérium	Specificita (%)	Senzitivita (%)
CB (g.l ⁻¹)	> 31,00	72,03	65,12
JE (.1μ)	≥ 1640,00	91,10	84,04
Ngr (%)	> 58,00	81,78	95,76
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	≤ 3,58	100,00	89,75
Laktát (mmol.l ⁻¹)	> 4,87	96,19	94,35
KEB	≤ 20,18	98,31	96,82
LDH (μkat.l ⁻¹)	> 8,68	94,85	94,35
AST (μkat.l ⁻¹)	> 0,53	89,41	95,41

4.10. Porovnání diagnostické efektivity vyšetření pleurálních výpotků dle Lightových pravidel s jejich cytologicko-energetickou analýzou pro odlišení parapneumonických výpotků a hrudních empyémů

Z primární databáze jsme extrahovali 96 pacientů s parapneumonickým výpotkem způsobených bakteriální pneumonií (negativní skupina) a 282 pacientů s klinicky prokázanou přítomností komplikovaného parapneumonického výpotku ve formě hrudního empyému.

Provedli jsme ROC-analýzu pro parametry Lightových pravidel (koncentrace celkové bílkoviny, počet jaderných elementů, koncentrace glukózy, laktátu, katalytické aktivity LDH) a parametry cytologicko-energetického vyšetřování (relativní počet neutrofilních granulocytů, KEB, koncentrace katalytické aktivity AST) v pleurálních výpotcích pro odlišení nezánettivých transudátů od parapneumonického výpotku.

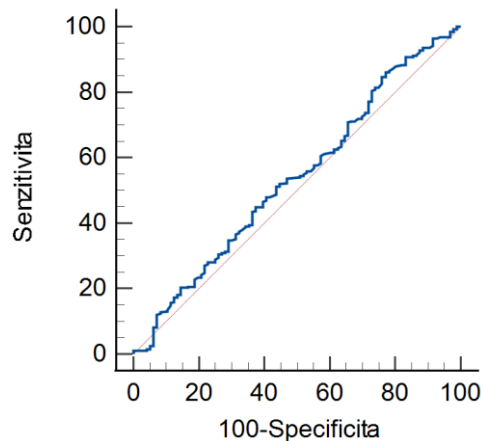
Výsledky ROC-analýzy a *p*-hodnoty získané porovnáním ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení počtu jaderných elementů s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetické“ stanovení relativního počtu neutrofilních granulocytů, ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení koncentrace glukózy a laktátu s ROC-křivkou pro „cytologicko-

energetický“ výpočet KEB a ROC-křivky pro „Lightovo“ stanovení koncentrace LDH s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetické“ stanovení AST dle DeLong *et al.* na hladině významnosti 5 % shrnuje Tab. 38 (11).

Tab. 38: Výsledky ROC-analýzy a p-hodnoty získané porovnáním ROC-křivek pro vybrané parametry Lightových pravidel a cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků

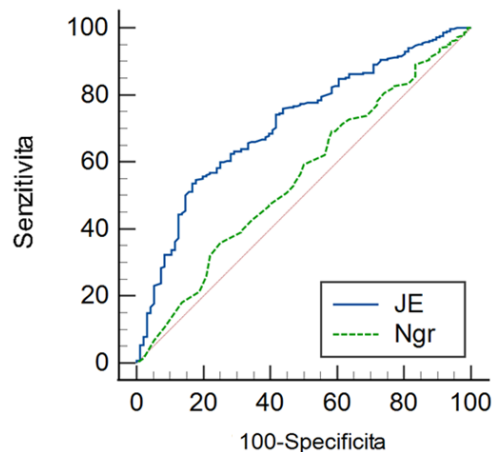
Negativní: nekomplikovaný parapneumonický výpotek			
Pozitivní: komplikovaný purulentní výpotek – hrudní empyém			
Lightova pravidla	AUC	SE	95 % CI
CB	0,537	0,035	0,486 - 0,589
JE	0,714	0,030	0,665 - 0,759
glukóza	0,631	0,033	0,580 - 0,679
laktát	0,721	0,028	0,673 - 0,765
LDH	0,710	0,028	0,661 - 0,755
Cytologicko-energetická analýza	AUC	SE	95 % CI
Ngr	0,554	0,034	0,501 - 0,603
KEB	0,671	0,003	0,622 - 0,718
AST	0,718	0,028	0,670 - 0,763
Lightova pravidla	Cytologicko-energetické vyšetřování		p-hodnoty
JE	Ngr		< 0,001
Glukóza	KEB		< 0,001
Laktát	KEB		< 0,001
LDH	AST		0,569

Nejmenší hodnotu plochy pod ROC-křivkou (AUC) pozorujeme u diagnostického testu stanovení celkové bílkoviny (Graf 18) a relativní četnosti neutrofilních granulocytů v pleurálním výpotku s hodnotou 0,537 a 0,554.



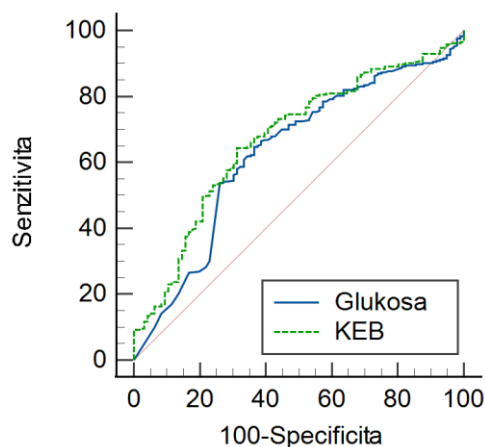
Graf 18: ROC-křivka pro „Lightovo“ stanovení koncentrace celkové bílkoviny v pleurálním výpotku pro odlišení parapneumonického výpotku od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému

Na hladině významnosti 5 % byla nalezena významnost rozdílu mezi diagnostickými silami „Lightovo“ počtu jaderných elementů (AUC = 0,714) a „cytologicko-energetické“ relativní četnosti neutrofilních granulocytů (AUC = 0,554) v pleurálních výpotcích pro odlišení parapneumonických výpotků a hrudních empyémů ($p < 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 19.



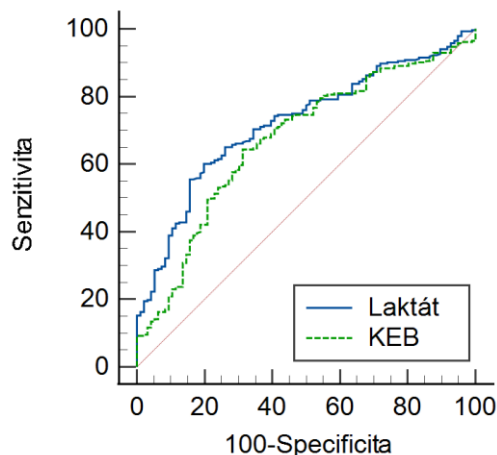
Graf 19: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ počet jaderných elementů s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetickou“ relativní četnost neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích pro odlišení parapneumonických výpotků od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému.

Na hladině významnosti 5 % byla nalezena významnost rozdílu mezi diagnostickými silami „Lightovo“ koncentrace glukózy (AUC = 0,631) a „cytologicko-energetický“ KEB (AUC = 0,671) v pleurálních výpotcích pro odlišení parapneumonických výpotků a hrudních empyémů ($p < 0,01$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 20.



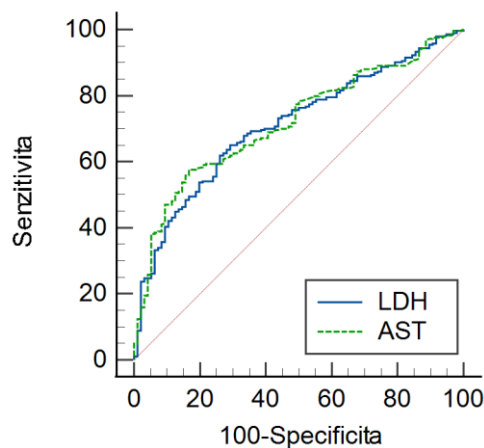
Graf 20: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ koncentraci glukózy s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetický“ koeficient energetické bilance (KEB) v pleurálních výpotcích pro odlišení parapneumonických výpotku od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému.

Na hladině významnosti 5 % byla nalezena významnost rozdílu mezi diagnostickou silou „Lightova“ koncentrace laktátu (AUC = 0,721) a „cytologicko-energetického“ KEB (AUC = 0,671) v pleurálních výpotcích pro odlišení parapneumonických výpotků od komplikovaného purulentního zánětu ve formě hrudního empyému ($p < 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 21.



Graf 21: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ koncentraci laktátu s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetický“ koeficient energetické bilance (KEB) v pleurálních výpotcích pro odlišení parapneumonických výpotků od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému.

Diagnostická síla „Lightovo“ stanovení koncentrace katalytické aktivity LDH (AUC = 0,718) je téměř identická s diagnostickou silou „cytologicko-energetické“ koncentrace katalytické aktivity AST (AUC = 0,710) v pleurálních výpotcích pro odlišení parapneumonických výpotků od komplikovaného purulentního zánětu ve formě hrudního empyému ($p > 0,05$). Průběh ROC-křivek zobrazuje Graf 22.



Graf 22: Porovnání ROC-křivky pro „Lightovo“ koncentraci katalytické aktivity LDH s ROC-křivkou pro „cytologicko-energetickou“ koncentraci katalytické aktivity AST v pleurálních výpotcích pro odlišení parapneumonického výpotku od komplikovaného purulentního výpotku

Optimální kritéria pro odlišení parapneumonických výpotků od hrudních empyémů

Tab. 39 shrnuje optimální hodnoty parametrů k odlišení nekomplikovaného parapneumonického výpotku od komplikovaného purulentního výpotku ve formě hrudního empyému

Tab. 39: Optimální hodnoty jednotlivých parametrů v pleurálním výpotku a jejich specifity a senzitivity pro odlišení pacientů s parapneumonickými výpotky od pacientů s komplikovaným purulentním výpotkem ve formě hrudního empyému

	Optimální kritérium	Specifická (%)	Senzitivita (%)
CB (g.l ⁻¹)	x	x	x
JE (.1 μl)	> 18773,33	82,29	54,61
Ngr (%)	x	x	x
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	≤ 0,43	63,54	64,66
Laktát (mmol.l ⁻¹)	> 13,13	80,21	60,07
KEB	≤ -738,95	68,75	64,31
LDH (μkat.l ⁻¹)	> 8,68	94,85	92,35
AST (μkat.l ⁻¹)	> 2,60	83,33	57,60

4.11. Testování vlivu finálního vývoje hrudního empyému na laboratorní parametry v pleurálním výpotku odebraného v den zavedení hrudního drénu

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů s hrudním empyémem, jejichž pleurální výpotky byly odebrány v den zavedení hrudního drénu a v kterých byl stanoven počet jaderných elementů, relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentrace glukózy a laktátu a koncentrace katalytické aktivity LDH a AST, s ohledem na finální vývoj hrudního empyému popisuje Tab. 40.

Na hladině významnosti 5 % testujeme hypotézu H_0 , že se distribuční funkce měřených veličin v pleurálních výpotcích pacientů, u kterých dojde a nedojde k regresi zánětu v dutině hrudní do 25. dne od zavedení hrudního drénu neliší.

Prostřednictvím neparametrického Mann-Whitney U-testu nebyla prokázána významnost rozdílu v žádných z výše zmíněných laboratorních parametrech mezi skupinami pacientů, u kterých došlo a u kterých nedošlo k regresi zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu. Výše zmíněné laboratorní parametry se v pleurálních výpotcích těchto dvou skupin pacientů s hrudním empyémem téměř neliší ($p > 0,05$). Přehled p -hodnot získaných prostřednictvím Mann-Whitney U-testu shrnuje tabulka 40.

Tab. 40: Popisná statistika pro laboratorní parametry v pleurálních výpotcích odebraných v den zavedení hrudního drénu s ohledem na finální vývoj hrudního empyému a porovnání p -hodnot prostřednictvím Mann-Whitney U-testu ($p < 0,05$).

	Regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu n=51	Bez regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu n=27	<i>p</i> -hodnota
	Median (1. – 3. kvartil)	Median (1. – 3. kvartil)	
JE (. 1μl)	15360,00 (1792,00 - 93297,70)	4701,33 (1877,33 - 81200,00)	0,62
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	0,10 (0,06 - 1,50)	0,54 (0,10 - 1,80)	0,18
Laktát (mmol.l ⁻¹)	13,76 (8,97 - 21,60)	12,63 (10,92 -18,30)	0,84
Ngr (%)	89,00 (76,00 - 90,00)	87,00 (74,00 - 100,00)	0,75
KEB	-2338,00 (-4501,60 to -171,70)	-375,33 (-2905,00 to -92,80)	0,09
AST (μkat.l ⁻¹)	2,35 (1,43 - 11,00)	1,65 (0,79 - 10,80)	0,39
LDH (μkat.l ⁻¹)	58,28 (23,58 - 148,50)	40,50 (16,51 - 147,20)	0,68

4.12. Testování vlivu vývoje hrudního empyému na laboratorní parametry v pleurálním výpotku odebraného v období mezi 1. a 10 dnem od zavedení hrudního drénu

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů s hrudním empyémem, jejichž pleurální výpotky byly odebrány v období mezi 1. a 10. dnem od zavedení hrudního drénu a následně v nich bylo provedeno stanovení počtu jaderných elementů, relativní četnosti neutrofilních granulocytů, koncentrace glukózy a laktátu, hodnot KEB a koncentrace katalytické aktivity LDH a AST popisuje Tab. 41.

Na hladině významnosti 5 % testujeme hypotézu H_0 , že se distribuční funkce měřených veličin v pleurálních výpotcích pacientů, u kterých dojde a nedojde k regresi zánětu v dutině hrudní do 25. dne od zavedení hrudní drenáže neliší.

Prostřednictvím neparametrického Mann-Whitney U-testu byla prokázána významnost rozdílu koncentrace katalytické aktivity AST a LDH mezi skupinami pacientů, u kterých došlo a u kterých nedošlo k regresi zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu ($p < 0,05$). Statisticky významně vyšší hodnoty koncentrací katalytické aktivity AST a LDH pozorujeme u pacientů, u kterých nedojde k regresi zánětu v dutině hrudní (medián AST = 2,63 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ a medián LDH = 82,35 $\mu\text{kat.l}^{-1}$) než u pacientů, u kterých k regresi zánětu dojde (medián AST = 1,71 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ a medián LDH = 34,10 $\mu\text{kat.l}^{-1}$).

Počet jaderných elementů, koncentrace glukózy, laktátu a hodnoty KEB v pleurálních výpotcích se v tomto období u těchto dvou skupin pacientů s hrudním empyémem téměř neliší ($p > 0,05$). Přehled p -hodnot získaných prostřednictvím Mann-Whitney U-testu shrnuje tabulka 41.

Tab. 41: Popisná statistika pro sledované laboratorní parametry v pleurálních výpotcích v období mezi 1. a 10. dnem od zavedení hrudního drénu s ohledem na finální vývoj hrudního empyému, porovnání p -hodnot prostřednictvím Mann-Whitney U-testu ($p < 0,05$).

	Regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu n=60	Bez regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu n=22	p -hodnota
	Median (1. – 3. kvartil)	Median (1. – 3. kvartil)	
JE (. 1 μ l)	17621,34 (4906,67 - 50346,67)	27306,67 (938,67 - 115200,00)	0,40
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	0,15 (0,10 - 2,40)	0,10 (0,05 - 0,70)	0,06
Laktát (mmol.l ⁻¹)	11,97 (8,11 - 16,95)	14,32 (9,65 - 19,30)	0,24
Ngr (%)	91,00 (87,00 - 96,00)	89,0 (78,0 - 100,0)	0,23
KEB	-1722,40 (-3604,30 to -27,39)	-2498,20 (-59566,80 to -511,40)	0,06
AST (μ kat.l ⁻¹)	1,71 (0,92 - 4,18)	2,63 (1,37 - 5,50)	0,03
LDH (μ kat.l ⁻¹)	34,10 (21,94 - 102,00)	82,35 (48,59 -102,00)	0,02

4.13. Testování vlivu vývoje hrudního empyému na laboratorní parametry v pleurálním výpotku odebraného v období mezi 11. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu

Základní popisnou charakteristiku souboru pacientů s hrudním empyémem, jejichž pleurální výpotky byly odebrány v období mezi 11. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu a v kterých byl následně stanoven počet jaderných elementů, relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentrace glukózy a laktátu a koncentrace katalytické aktivity LDH a AST s ohledem na pozdější vývoj hrudního empyému popisuje Tab. 42.

Na hladině významnosti 5 % testujeme hypotézu H_0 , že se distribuční funkce měřených veličin v pleurálních výpotcích pacientů, u kterých dojde a nedojde k regresi zánětu v tomto posledním sledovaném období od zavedení hrudní drenáže neliší.

Prostřednictvím neparametrického Mann-Whitney U-testu byla prokázána významnost rozdílu v počtu jaderných elementů, koncentraci glukózy a hodnot KEB mezi

skupinami pacientu, u kterých došlo a u kterých nedošlo k regresi zánětu v tomto období od zavedení hrudního drénu ($p < 0,05$). Statisticky významně vyšší počet jaderných elementů pozorujeme u pacientů, u kterých nedochází k regresi zánětu v dutině hrudní (medián = 86852,61.1 μ l) než u pacientů, u kterých k regresi v tomto období dochází (medián = 23675,09.1 μ l).

Statisticky významně nižší koncentraci glukózy a nižší hodnoty KEB pozorujeme u pacientů, u kterých v tomto období nedochází k regresi zánětu (medián koncentrace glukózy = 0,8 mmol.l⁻¹; median KEB = - 4143, 14) než u pacientů, u kterých k regresi zánětu dochází (medián koncentrace glukózy = 1,2 mmol.l⁻¹; median KEB = -89,32).

Koncentrace laktátu, relativní četnost neutrofilních granulocytů a katalytické aktivity AST, LDH se v pleurálních výpotcích v tomto období u těchto dvou skupin pacientů s hrudním empyémem téměř neliší ($p > 0,05$). Přehled p -hodnot získaných prostřednictvím Mann-Whitney U-testu shrnuje Tab. 42.

Tab. 42: Popisná statistika pro sledované laboratorní parametry v pleurálních výpotcích monitorovaných v období mezi 11. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu s ohledem na výsledný vývoj hrudního empyému, porovnání p -hodnot prostřednictvím Mann-Whitney U-testu ($p < 0,05$).

	Regrese zánětu v tomto období	Bez regrese zánětu v tomto období	
	n=29	n=9	
	Median	Median	p -hodnota
	(1. – 3. kvartil)	(1. – 3. kvartil)	
JE (. 1 μ l)	23675,09 (266,67 - 128000,00)	86852,61 (640,00 - 286720,00)	0,01
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	1,20 (0,10 - 3,23)	0,08 (0,04 - 0,50)	0,02
Laktát (mmol.l ⁻¹)	10,30 (7,58 - 14,78)	14,63 (12,32 - 17,30)	0,10
Ngr (%)	86,00 (80,00 - 92,00)	91,00 (82,00 - 100,00)	0,44
KEB	-89,32 (-2402,80 to -2,40)	-4143,14 (-6912,25 to -273,80)	0,01
AST (μ kat.l ⁻¹)	1,52 (0,49 - 3,63)	2,40 (1,62 - 2,90)	0,31
LDH (μ kat.l ⁻¹)	38,03 (12,37 - 94,89)	57,00 (34,45 - 72,70)	0,40

4.14. Testování vlivu období vyšetření pleurálního výpotku u pacientů s hrudním empyémem na laboratorní parametry v pleurálním výpotku s ohledem na finální regresi zánětu v dutině hrudní

Na hladině významnosti 5 % testujeme hypotézu H_0 , že se distribuční funkce měřených veličin, tj. počet jaderných elementů, relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentrace glukózy a laktátu, hodnoty KEB a koncentrace katalytické aktivity AST a LDH v pleurálních výpotcích v jednotlivých obdobích jejich odběru téměř neliší (Tab. 43).

U pacientů, u kterých nedošlo k regresi zánětu v dutině hrudní do 25. dne od zavedení hrudní drenáže, byla nalezena významnost rozdílu mezi koncentracemi glukózy v pleurálních výpotcích odebraných v den zavedení hrudního drénu a následujícím období mezi 1. a 10. dnem odběru ($p < 0,05$).

V pleurálních výpotcích těchto pacientů pozorujeme významně vyšší koncentrace glukózy v období mezi 1. a 10. dnem od zavedení hrudního drénu (medián = 0,54 mmol.l⁻¹) než v den jeho zavedení (medián = 0,1 mmol.l⁻¹). Ostatní sledované laboratorní parametry v pleurálních výpotcích se v daných období odběru téměř neliší ($p > 0,05$).

U pacientů, u kterých došlo k regresi zánětu v dutině hrudní do 25. dne od zavedení hrudního drénu, byla nalezena významnost rozdílu mezi hodnotami koeficientu energetické bilance a mezi koncentracemi katalytické aktivity AST v pleurálních výpotcích odebraných v den zavedení hrudního drénu a obdobím mezi 11. a 25. dnem odběru ($p < 0,05$).

V pleurálních výpotcích těchto pacientů pozorujeme významně vyšší hodnoty KEB v období mezi 11. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu (medián = -89,3) než v den jeho zavedení (medián = -2338,00). Dále v pleurálních výpotcích těchto pacientů pozorujeme významně nižší hodnoty koncentrací katalytické aktivity AST v období mezi 11. a 25. dnem odběru (medián = 1,52 μ kat.l⁻¹) než v den zavedení hrudní drenáže (medián = 2,35 μ kat.l⁻¹).

Tab. 43: *p*-hodnoty Kruskal-Wallisova testu získané vícenásobným porovnáním pomocí z-skóre

	Regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu		Bez regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu	
	1. až 10. den	11. až 25. den	1. až 10. den	11. až 25. den
JE				
0. den	1,00	1,00	1,00	0,33
1. až 10. den	x	1,00	x	1,00
Neutrofily				
0. den	0,67	1,00	1,00	1,00
1. až 10. den	x	0,63	x	1,00
Glukóza				
0. den	1,00	0,06	0,04	0,59
1. až 10. den	x	0,29	x	1,00
Laktát				
0. den	0,44	0,10	0,18	0,34
1. až 10. den	x	0,95	x	0,18
KEB				
0. den	0,49	0,02	0,07	0,62
1. až 10. den	x	0,31	x	1,00
AST				
0. den	0,08	0,01	0,92	1,00
1. až 10. den	x	0,70	x	1,00
LDH				
0. den	1,00	0,31	0,54	1,00
1. až 10. den	x	1,00	x	1,00

5 DISKUZE

Existuje rovnováha mezi přirozenou mikrobiotou v dolních cestách dýchacích a lokálními a systémovými obrannými mechanismy imunitního systému. Pokud dojde k narušení této rovnováhy, dochází k zánětu plicního parenchymu, tj. pneumonii (1, 112).

Invaze a šíření extracelulárních bakterií do plicního parenchymu na alveolární úrovni způsobuje bakteriální pneumonii. Vrozená imunita je zodpovědná za identifikaci invazivního patogenu a je schopna zahájit okamžitou obranu. Identifikace mikrobů závisí na PRR receptorech, které umí rozpoznat molekulární vzory mikrobů PAMP. Přítomnost extracelulárních bakterií nejčastěji vede k rozvinutí purulentní zánětlivé reakce v příslušné lokalitě. Nositeli této reakce jsou neutrofilní granulocyty. Podstatou purulentního zánětu je vlivem cytokinového prostředí migrace těchto imunokompetentních buněk do místa postiženého infekcí a eliminace infekčního agens prostřednictvím fagocytózy a oxidačního vzplanutí (1, 90).

Bakteriální pneumonie je hlavní příčinou nemoci a úmrtnosti způsobenou bakteriálními patogeny. Ve Spojených státech infekce dolních cest dýchacích způsobuje větší nemocnost a úmrtnost než jakákoliv jiná infekce. Onemocní tam ročně 5 milionů lidí. Z toho 80 % je léčeno ambulantně s úmrtností nižší než 1 %. Dalších 20 % je léčeno v nemocnici s úmrtností 12 % až 40 % (112).

Přibližně u 40 až 60 % pacientů s bakteriální pneumonií se vyvine parapneumonický výpotek (113). Při nevhodně zvolené nebo pozdní léčbě jeho přítomnost může vést k rozvoji jeho komplikované formy, zejm. hrudního empyému. Ten je definován jako nahromadění hnisu v pleurální dutině a může vést k systémové sepsi až smrti (66, 112, 113).

Prvním krokem pro vyhodnocení přítomnosti pleurálního výpotku je zhotovení rentgenového snímku hrudníku. Pokud je podezření na výpotek, dalším krokem je ultrazvukové vyšetření (UZ). Pokud je podezření na přítomnost hrudního empyému, mělo by být provedeno vyšetření hrudníku počítačovou tomografií (CT). Následně by měl být proveden odběr pleurálního výpotku a jeho laboratorní analýza (7, 66).

Za základní krok ve vyšetřování pleurálních výpotků se považuje určení jeho charakteru, tj. určení, zda se jedná o nezápětlivý výpotek (transudát) nebo zápětlivý výpotek (exudát). K tomu účelu se posledních 50 let využívají parametry Lightových pravidel (28, 33). Limitujícím faktorem při interpretaci výsledků analýzy pleurálních výpotků dle Lightových pravidel je skutečnost, že tento způsob neposkytuje informaci o

mechanismech, které vedly k výsledné úrovni vyšetřených parametrů. Řešení spatřujeme v aplikaci cytologicko-energetického principu, sledujícího společné imunitní a biochemické procesy v oblasti produkce příslušné extravaskulární tělní tekutiny (46, 47, 49, 114).

Prvním krokem cytologicko-energetické analýzy pleurálních výpotků je provedení cytologického vyšetření, které poskytuje informaci o skladbě imunokompetentních buněk v pleurálním výpotku. V případě purulentního zánětu se zaměřujeme zejména na neutrofilní granulocyty coby nositele tohoto typu zánětu (1). Během jejich oxidačního vzplanutí jsou kladeny vysoké nároky na energetické substráty, tj. glukózu a kyslík. Tyto energetické substráty během oxidačního vzplanutí neutrofilních granulocytů z prostředí mizí a rozvíjí se vysoký rozsah anaerobního metabolismu v příslušné lokalitě. Ten jsme schopni identifikovat a určit jeho úroveň prostřednictvím koeficientu energetické bilance (KEB) (41, 42, 46, 47, 49).

Vznik kyslíkových radikálů při oxidačním vzplanutí těchto imunokompetentních buněk přispívá k poškození přilehlé tkáně. Za doplňkový parametr cytologicko-energetického vyšetřování tak považujeme koncentraci katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) a laktátdehydrogenázy (LDH) coby ukazatele rozsahu destrukce tkáně poškozující složkou tohoto devastujícího zánětu v příslušné lokalitě (47, 48, 49, 115). Koncentrace katalytické aktivity LDH je parametr, který sice spadá do způsobu tradičního vyšetřování pleurálních výpotků dle Lightových pravidel, ale pro potřeby našeho způsobu vyšetřování tento parametr považujeme za ukazatel rozsahu destrukce tkáně (28, 33).

Zhodnocení významu cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

U pacientů s různým postižením dutiny hrudní se často setkáváme s převahou neutrofilních granulocytů v cytologických obrazech jejich pleurálních výpotků. Příslušný typ lokální imunitní odpovědi ale představuje až úroveň aktivace těchto imunokompetentních buněk (1, 47, 49). Samotná jejich kumulace nemusí vždy představovat přítomnost purulentního zánětu. Porovnali jsme výsledky cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů od pacientů s nezánětlivými transudáty vzniklé důsledkem kardiálního postižení či systémové sepse, pacientů s parapneumonickými výpotky způsobenými bakteriální pneumonií a pacientů s komplikovanými parapneumonickými výpotky ve formě hrudního empyému.

Následně jsme porovnali mezi těmito skupinami pacientů rozsah destrukce tkáně prostřednictvím koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) a aspartátaminotransferázy (AST).

U pacientů s transudáty pozorujeme i přes významnou kumulaci neutrofilních granulocytů absenci výraznějšího zánětlivého procesu v dutině hrudní. Úroveň koeficientu energetické bilance neprokazuje žádnou významnou aktivaci těchto imunokompetentních buněk (medián = 31,37). Jejich zvýšený přísun do dutiny hrudní může u těchto pacientů souviset jak s jejich celkově zvýšenou distribucí, tak s jejich následným přestupem přes cévní endotel v důsledku cytokinového prostředí a dalších zánětlivých mediátorů produkovaných během zvýšené systémové zánětlivé reakce (1). Absenci lokálního zánětu v dutině hrudní podporuje také skutečnost, že u těchto pacientů nepozorujeme přítomnost destrukce tkáně v příslušné lokalitě. Z těchto výsledků vyplývá, že kumulace neutrofilních granulocytů, jakožto nositelů purulentní zánětlivé reakce, nemusí vždy znamenat její bezprostřední lokální přítomnost. Přesto považujeme za důležité být při nálezů jejich zvýšeného zastoupení v pleurálním výpotku na pozoru a prověřit jejich úlohu funkčním parametrem. Tím je pro náš způsob vyšetřování pleurálních výpotků, koeficient energetické bilance KEB.

Zhodnocení vlivu komplikované a nekomplikované formy purulentního zánětu v dutině hrudní na parametry cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků

Přibližně u 20 % pacientů s pneumonií se vyvine parapneumonický výpotek. Ten při nevhodně zvolené nebo pozdní léčbě může vést k rozvoji jeho komplikované formy, zejm. hrudního empyému. Ten dále může vést k následné systémové sepsi a smrti pacienta (28, 37, 66, 108).

Lightova studie z roku 1985 definuje absenci komplikované formy parapneumonického výpotku při hodnotách koncentrace katalytické aktivity LDH nižší než 1000 IU.l^{-1} ($16,67 \mu\text{kat.l}^{-1}$), koncentraci glukózy vyšší než 40 g.l^{-1} ($2,2 \text{ mmol.l}^{-1}$) a pH vyšší než 7,2 (37).

Náš soubor nekomplikovaných parapneumonických pleurálních výpotků pacientů s bakteriální pneumonií splňuje Lightova kritéria pouze v koncentraci katalytické aktivity LDH. Jak jsme výše zmínili, tento parametr v rámci našeho způsobu vyšetřování považujeme za ukazatel rozsahu destrukce tkáně a u pacientů s nekomplikovaným

parapneumonickým pleurálním výpotkem pozorujeme skutečně nižší rozsah destrukce tkáně v dutině hrudní než u pacientů s jeho komplikovanou formou hrudního empyému.

Parametry komplikovaných purulentních výpotků ve formě hrudního empyému v našem souboru pacientů odpovídají výše zmíněným Lightovým kritériím, ale bohužel neposkytují popis mechanismů, kterými byly dané hladiny jednotlivých parametrů dosaženy, jako je tomu u našeho způsobu vyšetřování (42, 49, 115, 46, 47).

U pacientů s parapneumonickým výpotkem způsobeným bakteriální pneumonií a u pacientů s komplikovaným purulentním výpotkem ve formě hrudního empyému pozorujeme snížené hodnoty koeficientu energetické bilance (pneumonie: median KEB = -167,5; empyém: median KEB = -6059,20). Významná kumulace neutrofilních granulocytů při těchto energetických poměrech v pleurálním výpotku u obou skupin pacientů poukazuje na přítomnost purulentního zánětu v dutině hrudní (1, 102, 108, 48). Významně zvýšený rozsah destrukce tkáně v příslušné lokalitě u těchto dvou skupin pacientů poukazuje na významnou poškozující složku tohoto typu zánětu (48, 46). Komplikovaná forma purulentního výpotku ve formě hrudního empyému přesto dosahuje významně vyšší intenzity purulentního zánětu a významně vyššího rozsahu destrukce tkáně (median AST = 3,95 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ a medián LDH = 70,38 $\mu\text{kat.l}^{-1}$) než v případě nekomplikovaného parapneumonického výpotku (median AST = 1,13 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ a median LDH = 23,66 $\mu\text{kat.l}^{-1}$).

Pacienti s nekomplikovaným parapneumonickým výpotkem dobře reagují na podávání vhodných antibiotik a není potřeba hrudní drenáž (37). Při absenci včasné a vhodné léčby nekomplikovaného purulentního výpotku dojde ke kumulaci imunokompetentních buněk, depozici fibrinových sraženin a membrán a zahušťování výpotku a vzniká jeho fibrinopurulentní fáze ve formě hrudního empyému. V tomto okamžiku je nutná správně načasovaná hrudní drenáž a správná volba terapeutických postupů, aby se předešlo rozvoji systémové sepse, která může skončit i úmrtím pacienta (31, 66, 116, 117, 118). Vzhledem k tomu, že cytologicko-energetická analýza pleurálních výpotků umožňuje sledovat intenzitu purulentního zánětu v dutině hrudní, umožní tak následně sledovat úspěšnost léčby a korigovat terapeutické postupy. Jsme přesvědčení, že by se tak dala snížit pravděpodobnost přechodu parapneumonického výpotku do jeho komplikované formy. S klesajícími hodnotami KEB se bude pravděpodobnost rozvoje komplikované formy purulentního zánětu v dutině hrudní zvyšovat.

Zhodnocení významu cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků pro monitoraci dutiny hrudní u pacientů po hrudní operaci

Postoperační pneumonie je nejčastější příčinou pooperačního úmrtí. Důvodem postoperační pneumonie po hrudně-chirurgické operaci může být hypoventilace v důsledku bolesti a s tím související nedostatečné expektorace. Její úmrtnost se pohybuje mezi 19 % až 40 % a navzdory pokroku hrudní medicíny, stále přetrvává jako relativně častá pooperační komplikace. S výjimkou operace břicha je riziko pneumonie po hrudní operaci 38krát vyšší než u jiných typů operací (119, 120).

Přístup k vyhodnocení a diagnostice pneumonie závisí na klinickém stavu, laboratorních parametrech a radiologickém hodnocení. Pokud nedojde k včasné a vhodné léčbě hrozí rozvoj hrudního empyému, systémová sepsa a respirační selhání (120).

Hrudní operace může být podnětem k tvorbě pleurálního výpotku různého charakteru. Od transudátů až po purulentní exudát (118). Při průzkumu výsledků cytologických nálezů pleurálních výpotků těchto pacientů jsme zjistili, že jejich společným jmenovatelem je kumulace neutrofilních granulocytů v dutině hrudní. Z výsledků nezánettivých transudátů vyplývá, že pouhou kumulaci těchto imunokompetentních buněk nelze ale vždy považovat za bezprostřední přítomnost purulentního zánětu. Hrudně-chirurgický zásah v dutině hrudní bude představovat podnět k různým typům imunitní reakce v příslušné lokalitě (1, 7, 118).

Pacienty po hrudních operacích jsme rozdělili dle úrovně rozsahu anaerobního metabolismu v jejich dutině hrudní, tj. dle úrovně KEB v pleurálních výpotcích (47, 49, 114). Otestovali jsme vliv rozsahu anaerobního metabolismu na rozsah destrukce tkáně v příslušné lokalitě, tj. na koncentrace katalytické aktivity AST a LDH.

Pleurální výpotky pacientů po hrudně-chirurgických výkonech s normálními energetickými poměry ($KEB > 28$) v pleurálních výpotcích považujeme za transudáty při absenci výraznějšího zánětlivého procesu v dutině hrudní. U těchto pacientů pozorujeme absenci známek výraznější destrukce tkáně v příslušné lokalitě nebo pouze zvýšený buněčný rozpad ve smyslu poškození tkáně hrudně-chirurgickou intervencí. Kumulaci neutrofilních granulocytů v dutině hrudní u těchto pacientů považujeme za preventivní protekci, která může představovat do jisté míry riziko jejich oxidačního vzplanutí (121, 122).

Pleurální výpotky pacientů po hrudně-chirurgických výkonech se zvýšeným rozsahem anaerobního metabolismu ($KEB = 28-20$) na úrovni mírnějších serózních

zánětlivých změn v dutině hrudní považujeme za zánětlivé výpotky. Tyto mírné serózní zánětlivé změny budou souviset zejména se zvýšenými energetickými nároky aktivovaného imunitního systému ve smyslu úklidové reakce, reparace a regenerace tkáně poškozené hrudně-chirurgickou intervencí (1, 47, 49). Intenzita zánětlivého procesu bude opět souviset s rozsahem destrukce tkáně, který je v porovnání s nezápětlivými transudáty u těchto pacientů o něco vyšší. Kumulaci neutrofilních granulocytů v dutině hrudní si opět vysvětlujeme jako známku preventivní protekce, která bude ale při těchto energetických poměrech představovat o něco vyšší riziko oxidačního vzplanutí.

Pleurální výpotky pacientů po hrudně-chirurgických výkonech se zvýšeným rozsahem anaerobního metabolismu (KEB = 20-10) na úrovni výraznějších serózních zánětlivých změn až na úrovni mírných purulentních zánětlivých změn v pleurální dutině považujeme za zánětlivé výpotky. Intenzita těchto zánětlivých změn může souviset jak s úklidovou reakcí po hrudní intervenci tak s počínající infekcí pleurální dutiny. Kumulaci neutrofilních granulocytů při těchto energetických poměrech považujeme za vysoce rizikovou ve smyslu jejich vzplanutí a rozvoje purulentního zánětu v příslušné lokalitě. Na této energetické úrovni již mohou také probíhat mírné purulentní zánětlivé změny (121, 122). Tento fakt podporuje statisticky významně vyšší rozsah destrukce tkáně v příslušné lokalitě než u pacientů s mírnými serózními zánětlivými změnami v pleurální dutině.

Pleurální výpotky pacientů po hrudních operacích s vysokým rozsahem anaerobního metabolismu nasvědčující přítomnosti purulentního zánětlivého procesu (KEB = < 10) v dutině hrudní považujeme za purulentní výpotky. Významně vyšší kumulace neutrofilních granulocytů v dutině hrudní těchto pacientů představuje imunitní reakci na pomnožení extracelulárních bakterií v příslušné lokalitě (Krejsek 2016; Bartůňková 2008). Purulentní zánět je vysoce poškozující, a proto pozorujeme v dutině hrudní těchto pacientů významně vyšší rozsah destrukce tkáně než v předešlé skupině pacientů (121, 122).

Vzhledem k tomu, že ve fázi purulentního zánětu v dutině hrudní jsou pacienti ohroženi rozvojem hrudního empyému, považujeme včasnou detekci purulentního zánětu a jeho monitoraci za významnou. Právě sledování dynamiky zánětu v dutině hrudní u těchto pacientů umožní zahájit včas léčebné postupy a předejít tak případným komplikacím, které mohou vyústit až v hrudní empyém. S intenzitou purulentního zánětu, tj. s klesajícími hodnotami KEB se toto riziko bude opět zvyšovat.

Porovnání cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků s tradičním vyšetřováním dle Lightových pravidel

Přibližně posledních 50 let se extravaskulární tělní tekutiny, včetně pleurálních výpotků, vyšetřují dle Lightových kritérií. Jak jsme již zmínili, postup spočívá v analýze několika laboratorních parametrů. Podle jejichž úrovně se výpotky diferencují na zánětlivé exudáty a nezápětlivé transudáty (28, 33). V naší laboratoři dlouhodobě provádíme tzv. cytologicko-energetickou analýzu pleurálních výpotků, která na rozdíl od zmíněných Lightových pravidel vychází z imunitních a biochemických procesů a sleduje lokální metabolické změny ve vztahu k různé intenzitě a charakteru imunitní odpovědi v dutině hrudní (42, 47, 49).

V této kapitole jsme porovnali diagnostické efektivitu parametrů cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků s parametry tradičního vyšetřování dle Lightových pravidel pro rozlišení pacientů s parapneumonickým exudátem od transudátu a komplikovaného od nekomplikovaného parapneumonického exudátu.

Porovnali jsme „Lightův“ počet jaderných elementů s „cytologicko-energetickým“ relativním počtem neutrofilních granulocytů, „Lightovu“ koncentraci glukózy a laktátu s „cytologicko-energetickým“ koeficientem energetické bilance (KEB) a „Lightovu“ koncentraci katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) s „cytologicko-energetickou“ koncentrací katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) prostřednictvím ROC-analýzy.

Patrné jsou rozdíly mezi nezápětlivými transudáty pacientů s kardiálním postižením či systémovou sepsí a parapneumonickými výpotky pacientů s bakteriální pneumonií a komplikovanými parapneumonickými výpotky pacientů s hrudními empyémy. Tento obraz odpovídá podstatě purulentního zánětu spočívajícího v přísunu neutrofilních granulocytů do místa zánětu a jejich oxidačním vzplanutím (1, 66, 49, 121, 123). Proto pozorujeme vysoké počty jaderných elementů s naprostou převahou neutrofilů u obou skupin pacientů s purulentními výpotky. Oba tyto parametry disponují značnou diagnostickou efektivitou. Neutrofilní granulocyty jsou nositeli purulentní zánětlivé odpovědi (1). To je důvod příznivějších výsledků při hodnocení jejich četnosti v porovnání s prostým počtem jaderných elementů při rozlišení nezápětlivého a purulentního výpotku. Naopak, pro pneumonii a hrudní empyém je typický stejný purulentní charakter zánětu s identickou buněčnou skladbou výpotku. Z předchozích výsledků vyplývá, že rozdíl je ve vyšší intenzitě zánětlivé odpovědi v případě empyému (49, 66, 116). Důsledkem toho je

pravděpodobně nižší diagnostická efektivita relativní četnosti neutrofilních granulocytů v porovnání s počty jaderných elementů při odlišení parapneumonického výpotku a hrudního empyému.

Oxidační vzplanutí neutrofilů má za následek vysokou spotřebu kyslíku. Tato skutečnost vede k intenzivnímu rozvoji anaerobního metabolismu v pleurálním výpotku. Výsledkem je snaha o saturaci energetického deficitu zvýšeným metabolickým obratem a tím pádem větší spotřeba glukózy a výrazná nadprodukce laktátu v purulentních výpotcích (63, 121).

Interpretační potenciál koncentrací glukózy a laktátu ve výpotcích je limitován. Koncentrace glukózy ve výpotku je ovlivněna systémovou glykemií. Výsledná koncentrace laktátu ve výpotku podléhá dvěma faktorům; množství energetického substrátu vstupujícího do metabolických procesů, tedy systémové glykémii a rozsahu anaerobního metabolismu v rezervoáru výpotku (41, 42, 47 - 49). Eliminaci těchto vlivů řeší přepočít na teoretickou produkci ATP. Ten poskytuje koeficient energetické bilance (KEB). Při rozlišení nezáznětlivých a purulentních výpotků dosahuje nejvyšší diagnostické efektivity ze všech hodnocených parametrů (AUC = 0,999). Pro rozlišení parapneumonických výpotků a hrudních empyémů se spolu s dalšími parametry diagnostická efektivita hodnot KEB snižuje. Zároveň ale pokles hodnot KEB odpovídající zvýšení intenzity lokálního zánětu zvyšuje opět pravděpodobnost hrudního empyému. Hodnoty KEB navíc umožňují bez ohledu na momentální glykemické výkyvy spolehlivé spojitě monitorování vlivu léčby na vývoj intenzity lokální zánětlivé odpovědi v pleurální dutině (41, 42, 46 - 48).

Při porovnání všech výše zmíněných skupin pleurálních výpotků pozorujeme skokový nárůst katalytických aktivit LDH a AST v pořadí transudát – parapneumonický výpotek – empyém. Chavallitamong *et al.* zmínili souvislost nárůstu katalytických aktivit LDH s nárůstem anaerobní glykolýzy v pleurálních výpotcích pacientů s hrudními empyémy (124). Téměř identický projev LDH a AST v pleurálních výpotcích všech tří zmíněných skupin pacientů nás ale utvrzuje v přesvědčení, že skutečnou příčinou významně zvýšených katalytických aktivit obou enzymů v pleurálních výpotcích pacientů s purulentním zánětlivým postižením orgánů dutiny hrudní je jejich uvolnění z poškozených či rozpadlých buněk. Souvislost elevace LDH s nárůstem anaerobního metabolismu v pleurálních výpotcích však nepopíráme. Není ale výhradní. Společným jmenovatelem je purulentní zánět. Jeho vyšší intenzita je příčinou většího rozsahu anaerobního metabolismu a také vede k rozsáhlejšímu tkáňovému poškození (1, 49, 122).

Zhodnocení vlivu současně probíhající imunitní reakce na nádorový proces v dutině hrudní na laboratorní obraz hrudního empyému

Pneumonie se může vyvinout také jako komplikace nádorového procesu. Obstrukce dýchacích cest v důsledku malignity může být způsobena různými mechanismy, včetně komprese nádorem (125). Výpotek vzniklý nepřímým působením nádoru, ve kterém cytologicky ani histologicky není ani při opakovaném vyšetření prokázána maligní tkáň, nazýváme paramaligní výpotek (7). V našem souboru pacientů s paramaligním empyémem je příčinou vzniku hrudního empyému nejčastěji bronchogenní karcinom, který prostřednictvím své nekrotické složky narušuje příslušnou tkáň a tím umožňuje vstup bakteriální infekce. Ta vede k bakteriální pneumonii a bez její včasné léčby až k rozvoji hrudního empyému (7, 126, 127 - 129).

V této kapitole jsme porovnali běžně vyšetřované laboratorní parametry (koncentrace glukózy a laktátu, LDH) a cytologicko-energetické parametry (relativní četnost neutrofilních granulocytů, KEB, koncentrace katalytické aktivity AST) v pleurálních výpotcích pacientů s hrudním empyémem rozvinutého z paramaligního a parapneumonického výpotku.

V cytologických obrazech pleurálních výpotků pacientů s paramaligním i parapneumonickým hrudním empyémem je dominantním purulentním zánětem zcela potlačen podíl imunokompetentních buněk a nalézáme tak u obou skupin téměř výhradně neutrofilní granulocyty. Nižší počet jaderných elementů v pleurálních výpotcích pacientů s paramaligním empyémem evokuje úvahu o kumulaci imunokompetentních buněk v místě nádorového postižení a tím ke snížení jejich celkového počtu v pleurálním výpotku. O souvislosti léčby nádorového postižení s nižším počtem celkových jaderných elementů v pleurálním výpotku neuvažujeme, protože nádorové postižení bývá u těchto pacientů odhaleno až současně s hrudním empyémem, pro který pacient přišel s klinickými obtížemi.

Parametry cytologicko-energetického vyšetřování ukázaly téměř identicky vysokou intenzitu purulentního zánětu v dutině hrudní pacientů s paramaligním i parapneumonickým empyémem. Tuto skutečnost dále podporuje téměř identicky vysoký rozsah destrukce tkáně v příslušné lokalitě.

Purulentní zánětlivý proces v dutině hrudní představuje při boji proti extracelulárním bakteriím dominující složku imunitní reakce (1). Výsledky poukazují na to, že pokud je tento typ imunitní odpovědi v dutině hrudní přítomen ve vysoké intenzitě,

jako je tomu právě u hrudních empyémů, může skrýt projevy dalších imunitních mechanismů probíhajících na pozadí purulentního zánětu. Skrytými imunitními mechanismy mohou být právě imunitní reakce v dutině hrudní sekundárně reagující na nádorový proces (1).

Zhodnocení významu cytologicko-energetické monitorace pleurálních výpotků v čase při léčbě hrudních empyémů

V předešlých kapitolách jsme si ověřili, že jsme schopni detekovat purulentní zánět a určit jeho intenzitu prostřednictvím cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků. Jak jsme již zmínili, nositeli purulentního zánětu jsou neutrofilní granulocyty. Jejich stupeň aktivace jsme schopni charakterizovat prostřednictvím koeficientu energetické bilance (KEB). Znalost úrovně katalytické aktivity AST a LDH nám pak poskytne informaci o rozsahu destrukce příslušné tkáně poškozující složkou tohoto typu zánětu.

Jednou z forem velice intenzivního purulentního zánětu je hrudní empyém. Ten je charakterizován akumulací hnisu v dutině hrudní. Jeho přítomnost bez okamžité a vhodně zvolené intervence může končit systémovou sepsí a smrtí (66, 107, 109). Za užitečné tak považujeme sledovat dynamiku purulentního zánětu v příslušné lokalitě při jeho léčbě za cílem její případné korekce a eliminace následných komplikací zvyšující riziko úmrtí pacienta. U všech pacientů z našeho souboru, kteří měli klinicky prokázaný hrudní empyém, byla provedena okamžitá hrudní drenáž. Ta slouží k evakuaci hnisu, k pravidelnému proplachování dezinfekčním roztokem a k případné intrapleurální aplikaci fibrinolytik a antibiotik (109, 117, 130, 131). Cílem hrudní drenáže je potlačení infekce, evakuace hnisu a likvidace empyémové kapsy. Léčba musí být intenzivní a musí být zahájena co nejdříve (66, 108, 132).

Soubor pacientů sledovaných pro hrudní empyém jsme rozdělili na dvě skupiny dle toho, zda u nich došlo k regresi zánětu v dutině hrudní do 25. dne od zavedení drénu, tj. na pacienty, u kterých došlo k významnému zvýšení KEB v tomto období a na pacienty, u kterých k významnému zvýšení v tomto období nedošlo.

V den zavedení hrudního drénu je lokální intenzita purulentního zánětu téměř identická bez ohledu na to, zda pacient do 25. dne od zavedení drénu dosáhne regrese zánětu v dutině hrudní či ne.

Přestože v období mezi 1. a 10. dnem od zavedení hrudního drénu pozorujeme stále stejnou intenzitu purulentního zánětu v obou skupinách pacientů, tak u pacientů bez

pozdější regrese zánětu v dutině hrudní pozorujeme významně vyšší úroveň poškozující složky lokálního zánětu. To si vysvětlujeme o něco větším prohloubením destruuující složky purulentního zánětu v důsledku obtížnější eliminace infekce (1). V období mezi 11. a 25. dnem od zavedení hrudní drenáže tento fakt podporuje významně zvýšený příliv jaderných elementů a přetrvávající absence regrese zánětu v dutině hrudní.

Důvodem přítomnosti téměř stále identického purulentního zánětu v dutině hrudní u pacientů s hrudním empyémem ve všech obdobích od zavedení drénu může být například špatná odezva léčby hrudních empyémů v důsledku ukládání fibrinových náletů na pleure či fibrinového ztlustění pleury, kdy může být znesnadněno fibrinolytické léčbě proniknout na cílové místo působení a purulentní zánět se stále udržuje (130 - 133). Může dojít k tvorbě nových kapes hrudního empyému při neschopnosti zcela rozpustit fibrinová depozita a drén se musí přesunout tam, kde se nová kapsa vytvořila. Tím se purulentní obraz pleurálního výpotku může stát téměř identickým jako na začátku zavedení hrudní drenáže. Intrapleurálním podáváním fibrinolytik může také docházet k fibrinolýze dalších kapes hrudního empyému, jehož obsah se pak vylíje do drénované oblasti a obraz purulentního zánětu se stane téměř identickým jako v den zavedení hrudního drénu. Další možností neschopnosti dosáhnout regrese lokálního zánětu může být sekundární bakteriální infekce při infektu rány kolem hrudního drénu (130). Vzhledem ke komplikované léčbě hrudních empyémů se tak jeví za velice významné sledovat právě dynamiku purulentního zánětu. Tato monitorace umožní lépe pochopit procesy odehrávající se v dutině hrudní, sledovat a korigovat léčebné postupy.

6 ZÁVĚR

Výzkumná práce měla za cíl zavést cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků a zhodnotit jeho potenciál jak pro detekci purulentního zánětu v dutině hrudní, tak pro sledování jeho dynamiky za cílem umožnit včasné zahájit léčbu, monitorovat úspěšnost léčby a korigovat terapeutické postupy a předejít tak následným komplikacím. Výsledky této práce lze shrnout do následujících bodů:

1) Cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků je srovnatelné s vyšetřováním pleurálních výpotků dle Lightových pravidel a vhodně je doplňují

Na úrovni cytologických parametrů: Pro odlišení nezánettivých a purulentních parapneumonických výpotků vykazují „Lightovy“ počty jaderných elementů i „cytologicko-energetické“ četnosti neutrofilních granulocytů vysokou diagnostickou efektivitu, přičemž četnosti neutrofilů dosahují poněkud vyšší úrovně. Při rozlišení parapneumonických výpotků a empyémů diagnostické efektivitu u obou parametrů klesají. V tomto případě jsou příznivější výsledky patrné u „Lightových“ počtů jaderných elementů.

Na úrovni energetických parametrů: „Lightovy“ koncentrace glukózy a laktátu i „cytologicko-energetické“ hodnoty KEB vykazují vysokou diagnostickou efektivitu. Přesto přepočtení látkových koncentrací glukózy a laktátu na produkci ATP v podobě hodnot KEB získané informace z dříve popsaných důvodů zpřesňuje.

Parametry destrukce tkáně: „Lightovy“ katalytické aktivity LDH i „cytologicko-energetické“ katalytické aktivity AST vykazují shodně vysokou diagnostickou efektivitu a vhodně se doplňují.

Koncentrace celkové bílkoviny: „Lightova“ koncentrace celkové bílkoviny nemá „cytologicko-energetickou“ alternativu. Z dlouhodobých praktických zkušeností i na základě provedené ROC analýzy konstatujeme její mizivý přínos pro diagnostiku postižení orgánů dutiny hrudní.

Parametry Lightových pravidel si s parametry cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků neodporují, ale vzájemně se doplňují. Přesto cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků považujeme za určité zpřesnění, protože popisuje zánětlivý proces a umožňuje tak rychlejší orientaci ve smyslu detekce a sledování

dynamiky zánětu. Tato skutečnost může urychlit rozhodování o dalším léčebném postupu a předejít tak následným komplikacím.

2) Kumulace neutrofilních granulocytů v dutině hrudní nemusí vždy představovat přítomnost purulentního zánětu v dutině hrudní.

U pacientů s transudáty způsobenými kardiálním postižením nebo systémovou sepsí je i přes významnou kumulaci neutrofilních granulocytů v jejich dutině hrudní patrná absence zánětlivého procesu.

3) Cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků umožňuje detekovat purulentní zánět v dutině hrudní a určit jeho intenzitu.

Kumulace neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích od pacientů s bakteriální pneumonií a hrudním empyémem vycházejí z podstaty purulentního zánětu. Na rozdíl od nezáánětlivých transudátů jsou během tohoto typu zánětu aktivovány a dochází k jejich oxidačnímu vzplanutí.

Cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků správně tento typ zánětu v dutině hrudní detekovalo. Dále také prokázalo mnohem vyšší intenzitu purulentního zánětu v dutině hrudní u pacientů s hrudním empyémem než u pacientů s nekomplikovaným parapneumonickým výpotkem. Skutečnost je dále podpořena mnohem vyšším rozsahem destrukce tkáně v příslušné lokalitě u pacientů s hrudním empyémem významně poškozující složkou tohoto typu zánětu.

4) Patrná je souvislost mezi intenzitou purulentního zánětu a pravděpodobností rozvoje hrudního empyému

Čím nižší hodnoty KEB a vyšší koncentrace katalytické aktivity LDH a AST, tím větší progrese zánětlivého ložiska a tím větší riziko rozvoje komplikované formy purulentního zánětu, včetně hrudního empyému.

5) Cytologicko-energetická analýza pleurálních výpotků umožňuje včas zahájit léčbu pleurální infekce u pacientů po hrudní operaci

Vzhledem k vysokému riziku pleurální infekce následkem porušení příslušné tkáně hrudně-chirurgickou intervencí považujeme kumulaci neutrofilních granulocytů v nezánětlivých transudátech a serosních výpotcích za jisté riziko vzplanutí purulentního zánětu. Sledování cytologicko-energetických parametrů v pleurálních výpotcích těchto pacientů by mohlo umožnit zahájit včasnou léčbu, příp. korigovat terapeutické postupy a předejít tím dalším komplikacím, nevyjímaje vznik hrudního empyému.

6) Současně probíhající imunitní reakce na probíhající nádorový proces v dutině hrudní u pacientů s hrudním empyémem jsou skryty na pozadí purulentního zánětu.

Nález hrudního empyému může být také projevem komplikací nádorového procesu probíhajícího na pozadí vysoce intenzivního purulentního zánětu.

7) Cytologicko-energetická analýza pleurálních výpotků umožňuje monitorovat úspěšnost léčby hrudních empyémů

Vzhledem ke komplikované a mnohdy vleklé léčbě hrudních empyémů považujeme za užitečné současné sledování zánětlivých dějů odehrávajících se v dutině hrudní. Cytologicko-energetická analýza pleurálních výpotků umožňuje tyto děje detekovat, popsat a sledovat jejich dynamiku. Tím umožňuje sledovat úspěšnost léčby, zpřesňovat a korigovat terapeutické postupy a snížit tak pravděpodobnost dalších komplikací, včetně systémové sepse a smrti pacienta.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Krejssek J, Andrýs C, Krčmová I. *Imunologie člověka*. 1.vyd. Hradec Králové: Garamon, 2016:495 stran.
2. Langmeier M a kol. *Základy lékařské fyziologie*. 1.vyd. Praha: Grada, 2009: 320 stran.
3. Rokyta R, Marešová D, Turková Z. *Somatologie*. 7.vyd. Praha: Wolters Cluver, 2016:260 stran.
4. Sameš M a kol. *Neurochirurgie*. 1.vyd. Praha: Maxdorf, 2005: 127 stran.
5. Sobek O, Dušková J. *Laboratorní vyšetření likvoru*. Štětkářová, I a kol., eds. Spinální neurologie. Praha: Maxdorf, 2019:57-83.
6. Zeman D. *Praktický průvodce laboratorním vyšetřením likvoru*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2018:136 stran.
7. Karkhanis VS, Joshi, JM. Pleural effusion: diagnosis, treatment, and management. *Open Access Emerg. Med.* 2012; 4:31–52.
8. Na MJ. Diagnostic tools of pleural effusion. *Tuberc. Respir. Dis.* 2014; 76(5):199–210
9. Jaworska-Wilczynska M, Trzaskoma P, Szczepankiewicz AA, Hryniewiecki T. Pericardium: structure and function in health and disease. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2016; 54(3):121-125.
10. Jung HO. Pericardial effusion and pericardiocentesis: role of echocardiography. *Korean circulation journal.* 2012; 42(11):725–734.
11. Moore CM, Van Thiel DH. Cirrhotic ascites review: Pathophysiology, diagnosis and management. *World J Hepatol.* 2013; 5(5):251-63.
12. Brannan SR, Jerrard DA. Synovial fluid analysis. *J Emerg Med.* 2006; 30(3):331-339.
13. Huang LL, Xia, HH, Zhu SL. Ascitic Fluid Analysis in the Differential Diagnosis of Ascites: Focus on Cirrhotic Ascites. *J Clin Transl Hepatol.* 2014; 2(1):58-64.
14. Seidman AJ, Limaïem F. Synovial Fluid Analysis. (naposled připojeno 13. června 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544279>>).
15. Clemens MW, Evans KK, Mardini S, Arnold PG. Introduction to chest wall reconstruction: anatomy and physiology of the chest and indications for chest wall reconstruction. *Semin Plast Surg.* 2011; 25(1):5-15.
16. Donley ER, Holme MR, Loyd JW. Anatomy, Thorax, Wall Movements. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526023>>).

17. Kudzinskas A, Callahan AL. Anatomy, Thorax. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557710>>).
18. Stoddard N, Heil JR, Lowery DR. Anatomy, Thorax, Mediastinum. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539819>>).
19. Batra H, Antony VB. Pleural mesothelial cells in pleural and lung diseases. *J Thorac Dis.* 2015; 7(6):964-980.
20. Charalampidis C, Youroukou A, Lazaridis G *et al.* Physiology of the pleural space. *J Thorac Dis.* 2015; 7(Suppl 1):S33-S37.
21. Finley DJ, Rusch VW. Anatomy of the pleura. *Thorac Surg Clin.* 2011; 21(2):157-163
22. Mahabadi N, Goizueta AA, Bordoni B. Anatomy, Thorax, Lung Pleura And Mediastinum. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519048>>).
23. Teřl M, Pešek M, Tauchman A. Pleurální výpotek v interní praxi. *Vnitř Lék.* 2005; 51(4):430-437.
24. Duwe BV, Sterman DH, Musani AI. Tumors of the mediastinum. *Chest.* 2005; 128(4):2893-2909.
25. Esposito C, Romeo C. Surgical anatomy of the mediastinum. *Semin Pediatr Surg.* 1999; 8(2):50-53.
26. D'Agostino HP, Edens MA. Physiology, Pleural Fluid. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513353>>).
27. Krishna R, Rudrappa M. Pleural effusion. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448189>>).
28. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC Jr. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med.* 1972; 77(4):507-13.
29. Stark DD, Federle MP, Goodman PC, Podrasky AE, Webb WR. Differentiating lung abscess and empyema: radiography and computed tomography. *AJR Am J Roentgenol.* 1983; 141(1):163-167.
30. Kim BS, Kim IJ, Kim SJ, Pak K, Kim K. Predictive value of F-18 FDG PET/CT for malignant pleural effusion in non-small cell lung cancer patients. *Onkologie.* 2011; 34(6):298-303.
31. Fila L. Pleurální výpotky. *Interní Med.* 2007; 9(11): 490-494.

32. Jany B, Welte T. Pleural Effusion in Adults-Etiology, Diagnosis, and Treatment. *Dtsch Arztebl Int.* 2019; 116(21):377-386.
33. Light RW. The Light criteria: the beginning and why they are useful 40 years later. *Clin Chest Med.* 2013; 34(1):21-26.
34. Porcel JM. Pearls and myths in pleural fluid analysis. *Respirology.* 2011; 16(1):44-52.
35. Salyer WR, Eggleston JC, Erozan YS. Efficacy of pleural needle biopsy and pleural fluid cytopathology in the diagnosis of malignant neoplasm involving the pleura. *Chest.* 1975; 67(5):536-539.
36. Rosenstengel A. Pleural infection-current diagnosis and management. *J Thorac Dis.* 2012; 4(2):186-193.
37. Light RW. Parapneumonic effusions and empyema. *Clin Chest Med.* 1985;6(1):55-62.
38. Bielsa S, Porcel JM, Castellote J, Mas E, Esquerda A, Light RW. Solving the Light's criteria misclassification rate of cardiac and hepatic transudates. *Respirology.* 2012; 17(4):721-726.
39. Roth BJ, O'Meara TF, Cragun WH. The serum-effusion albumin gradient in the evaluation of pleural effusions. *Chest.* 1990; 98(3):546-549.
40. Kelbich P, Adam P, Sobek O *et al.* Základní vyšetření likvoru v diagnostice postižení centrálního nervového systému. *Neurologie pro praxi.* 2009; 10(5):285-289.
41. Kelbich P, Slavík, S, Jasanská J *et al.* Evaluations of the energy relations in the CSF compartment by investigation of selected parameters of the glucose metabolism in the CSF. *Klin. Biochem. Metab.* 1998; 6:213–225.
42. Kelbich P, Hejčl A, Selke Krulichová I *et al.* Coefficient of energy balance, a new parameter for basic investigation of the cerebrospinal fluid. *Clin Chem. Lab. Med.* 2014; 52:1009–1017.
43. Kelbich P, Hejčl A, Procházka J *et al.* Koeficient energetické bilance jako užitečný pomocník v likvorové diagnostice zánětlivých postižení centrálního nervového systému. *Neurológia,* 2013; 8(3):123-128.
44. Kelbich P, Hejčl A, Procházka J, Hanuljaková E, Peruthová J, Špička J. Cytologie a energetika jako důležité atributy vyšetření likvoru. *Klin. Biochem. Metab.* 2012; 20(41):17-24.
45. Kelbich P, Procházka J, Sameš M *et al.* Principy a zvláštnosti neurochirurgické a neurointenzivistické likvorologie (1. část: Úvod do problematiky). *Klin. Biochem. Metab.* 2011; 19(40):223-228.

46. Kelbich P, Hejčl A, Staněk I *et al.* Principles of the cytological-energy analysis of the extravascular body fluids. *Biochem. Mol. Biol. J.* 2017; 3:1-3.
47. Kelbich P, Malý V, Matuchová I *et al.* Cytological-energy analysis of pleural effusions. *Ann. Clin. Biochem.* 2019; 56:630–637.
48. Kelbich P, Radovnický T, Selke-Krulichová *et al.* Can Aspartate Aminotransferase in the Cerebrospinal Fluid Be a Reliable Predictive Parameter? *Brain Sci.* 2020; 10:1-7.
49. Matuchova I, Kelbich P, Kubalik J *et al.* Cytological-energy analysis of pleural effusions with predominance of neutrophils. *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2020;14:1753466620935772.
50. Sobek O, Adam P, Kelbich P *et al.* Vyšetření likvoru – současné možnosti. *Neurologie pro praxi.* 2009; 10(5):261-265.
51. Hurwitz S, Leiman G, Shapiro C. Mesothelial cells in pleural fluid: TB or not TB? *S Afr Med J.* 1980; 57(23):937-739.
52. Ferrer A, Osset J, Alegre J *et al.* Prospective clinical and microbiological study of pleural effusions. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999; 18(4):237-2341.
53. Kamal YA. Black pleural effusion: etiology, diagnosis, and treatment. *Indian J Thorac Cardiovasc Surg.* 2019; 35(3):485-492.
54. Skok K, Hladnik G, Grm A, Crnjac A. Malignant Pleural Effusion and Its Current Management: A Review. *Medicina (Kaunas).* 2019; 55(8):1-21.
55. Goseva Z, Kaeva BJ, Gjorcev A *et al.* Analysis of Lymphocyte Immunological Reactivity in Patients with Pleural Effusions of Different Aetiology. *Open Access Maced J Med Sci.* 2016; 4(1):50-53.
56. Lucivero G, Pierucci G, Bonomo L. Lymphocyte subsets in peripheral blood and pleural fluid. *Eur Respir J.* 1988; 1(4):337-340.
57. Kaczmarek M, Sikora J. Makrofágy v maligních pleurálních výpotcích - alternativně aktivované makrofágy spojené s nádorem. *Současná onkologie.* 2012; 16(4):279–284.
58. Chang CJ, Cheng JH, Lin MS, Dai YC, Hsiue TR. Eosinophilic pleural effusion as the first presentation of angioimmunoblastic T cell lymphoma. *J Formos Med Assoc.* 2007; 106(2):156-160.
59. Adelman M, Albelda SM, Gottlieb J, *et al.* Diagnostic utility of pleural fluid eosinophilia. *Am J Med.* 1984; 77:915–920.
60. Sadikot RT, Rogers JT, Cheng DS, Moyers P, Rodriguez M, Light RW. Pleural fluid characteristics of patients with symptomatic pleural effusion after coronary artery bypass graft surgery. *Arch Intern Med.* 2000; 160(17):2665-2668.

61. Kalomenidis I, Light RW. Eosinophilic pleural effusions. *Curr Opin Pulm Med.* 2003; 9(4):254-260.
62. Hejčl A, Kelbich P, Bolcha M *et al.* Význam a možnosti vyšetřování metabolismu mozku pomocí mikrodialýzy v neurointenzivní péči. *Klin. Biochem. Metab.* 2013; 21(42):13-20.
63. Karlson, P. *Základy biochemie.* 3. vyd. Praha: Academia, 1981:504 stran.
64. Zetterberg H, Smith DH, Blennow K. Biomarkers of mild traumatic brain injury in cerebrospinal fluid and blood. *Nat Rev Neurol.* 2013; 9(4):201-210.
65. Salajka F. Pleurální výpotky – etiologie a diagnostika. *Kardiol. Rev. Int. Med.* 2009; 11(4):181-186.
66. Ahmed AEH, Yacoub TE. Empyema Thoracis. *Clinical Medicine Insights Circulatory. Respiratory and Pulmonary Medicine.* 2010; 4:1-8.
67. von Haehling G, Burghart H. Chylothorax: Ursachen, Diagnose, Therapie [Chylothorax: causes, diagnosis, therapy]. *Fortschr Med.* 1976; 94(26):1409-1411.
68. D'Agostino HP, Edens MA. Physiology, Pleural Fluid (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513353>>).
69. Wiener-Kronish JP, Matthay MA, Callen PW *et al.* Relationship of pleural effusions to pulmonary hemodynamics in patients with congestive heart failure. *Am Rev Respir Dis.* 1985; 132:1253-1256.
70. Alonso JC. Pleural effusion in liver disease. *Semin Respir Crit Care Med.* 2010; 31(6):698-705.
71. Ferreiro L, Porcel JM, Valdés L. Diagnosis and Management of Pleural Transudates. *Arch Bronconeumol.* 2017; 53(11):629-636.
72. Garcia-Pachon E, Padilla-Navas I. Urinothorax: case report and review of the literature with emphasis on biochemical diagnosis. *Respiration.* 2004; 71(5):533-536.
73. Toubes ME, Lama A, Ferreiro L *et al.* Urinothorax: a systematic review. *J Thorac Dis.* 2017; 9(5):1209-1218.
74. Garcia-Pachon E, Padilla-Navas I. Urinothorax: case report and review of the literature with emphasis on biochemical diagnosis. *Respiration.* 2004; 71(5):533-536.
75. Antonangelo L, Sales RK, Corá AP, Acencio MM, Teixeira LR, Vargas FS. Pleural fluid tumour markers in malignant pleural effusion with inconclusive cytologic results. *Curr Oncol.* 2015; 22(5):e336-341.
76. Nam HS. Malignant pleural effusion: medical approaches for diagnosis and management. *Tuberc Respir Dis (Seoul).* 2014; 76(5):211-217.

77. Ota K, Fumimoto S, Iida R. *et al.* Massive hemothorax due to two bleeding sources with minor injury mechanism: a case report. *J Med Case Reports*. 2018; 12:1-5.
78. Chou YP, Lin HL, Wu TC. Video-assisted thoracoscopic surgery for retained hemothorax in blunt chest trauma. *Curr Opin Pulm Med*. 2015; 21(4):393-398.
79. Morley EJ, Johnson S, Leibner E, Shahid J. Emergency department evaluation and management of blunt chest and lung trauma (Trauma CME). *Emerg Med Pract*. 2016; 8(6):1-20.
80. Scott MF, Khodaverdian RA, Shaheen JL, Ney AL, Nygaard RM. Predictors of retained hemothorax after trauma and impact on patient outcomes. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2017; 43(2):179-184.
81. Pumarejo Gomez L, Tran VH. Hemothorax. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538219>>)
82. Currie GP, Alluri R, Christie GL, Legge JS. Pneumothorax: an update. *Postgrad Med J*. 2007; 83(981):461-465.
83. McKnight CL, Burns B. Pneumothorax. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441885>>)
84. Riley LE, Ataya A. Clinical approach and review of causes of a chylothorax. *Respir Med*. 2019; 157:7-13.
85. Rudrappa M, Paul M. Chylothorax. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459206>>).
86. Mercer RM, Corcoran JP, Porcel JM, Rahman NM, Psallidas I. Interpreting pleural fluid results . *Clin Med (Lond)*. 2019; 19(3):213-217.
87. Davies CW, Kearney SE, Gleeson FV, Davies RJ. Predictors of outcome and long-term survival in patients with pleural infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 160(5Pt 1):1682-1687.
88. Ferguson AD, Prescott RJ, Selkon JB, Watson D, Swinburn CR. The clinical course and management of thoracic empyema. *QJM*. 1996; 89(4):285-289.
89. GBD 2015 LRI Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17(11):1133-1161.
90. Chapel H, Haeney M, Misbah SA, Snowden N. *Základy klinické imunologie*. 6. vyd. Přeložil Thon V. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2018:343 stran.

91. Demmler GJ, Ligon BL. Severe acute respiratory syndrome (SARS): a review of the history, epidemiology, prevention, and concerns for the future. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2003; 14(3):240-244.
92. Manohar P, Loh B, Nachimuthu R, Hua X, Welburn SC, Leptihn S. Secondary Bacterial Infections in Patients With Viral Pneumonia. *Front Med (Lausanne).* 2020; 7:1-8.
93. Okur M, Erbey F, Yazicioglu O *et al.* H1N1 influenza A virus Related Pneumonia and Respiratory Failure. *Indian J Virol.* 2013; 24(1):85-89.
94. Zhou P, Yang XL, Wang XG *et al.* Addendum: A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020; 588(7836):E6.
95. Jain V, Vashisht R, Yilmaz G, *et al.* Pneumonia Pathology. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526116>>).
96. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M *et al.* Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 2016; 63(5):e61-e111.
97. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A *et al.* Infectious Diseases Society of America; American Thoracic Society. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis.* 2007; 44 Suppl 2(Suppl 2):S27-72.
98. Johnstone J, Heels-Ansdell D, Thabane L *et al.*, PROSPECT Investigators and the Canadian Critical Care Trials Group. Evaluating probiotics for the prevention of ventilator-associated pneumonia: a randomised placebo-controlled multicentre trial protocol and statistical analysis plan for PROSPECT. *BMJ Open.* 2019 Jun 20; 9(6):e025228. doi: 10.1136/bmjopen-2018-025228.
99. Grief SN, Loza JK. Guidelines for the Evaluation and Treatment of Pneumonia. *Prim Care.* 2018; 45(3):485-503.
100. Hořejší V, Bartůňková J. *Základy imunologie.* 4. vyd. Praha: Triton, 2009:316.
101. Miyara M, Chader D, Sage E *et al.* Sialyl Lewis x (CD15s) identifies highly differentiated and most suppressive FOXP3high regulatory T cells in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015; 112(23):7225-7230.
102. Rosales C. Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? *Front Physiol.* 2018; 9:1-17.

103. Lee WL, Harrison RE, Grinstein S. Phagocytosis by neutrophils. *Microbes Infect.* 2003; 5(14):1299-1306.
104. Chen Y, Junger WG. Measurement of oxidative burst in neutrophils. *Methods Mol Biol.* 2012; 844:115-124.
105. Panasiuk A, Wysocka J, Maciorkowska E *et al.* Phagocytic and oxidative burst activity of neutrophils in the end stage of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(48):7661-7665.
106. Rodríguez Suárez P, Freixinet Gilart J, Hernández Pérez JM, Hussein Serhal M, López Artalejo A. Treatment of complicated parapneumonic pleural effusion and pleural parapneumonic empyema. *Med Sci Monit.* 2012; 18(7):CR443-449.
107. Muhammad MI. Management of complicated parapneumonic effusion and empyema using different treatment modalities. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2012; 20(2):177-181.
108. Garvia V, Paul M. Empyema. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459237>>).
109. Iguina MM, Danckers M. Thoracic Empyema. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544279>>).
110. Skříčková J. Pneumonie u imunokompromitovaných. *Vnitřní lékařství.* 2017; 63 (11): 786-795.
111. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics.* 1988; 44(3):837-845.
112. Sattar SBA, Sharma S. Bacterial Pneumonia. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513321>>).
113. Shebl E, Paul M. Parapneumonic Pleural Effusions And Empyema Thoracis. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534297>>).
114. Matuchová I., Kelbich P., Kubalík J *et al.* Pleurální výpotky - cytologicko-energetická analýza versus tradiční Lightova kritéria. *Klin. Biochem. Metab.* 2021; 29(50):190 – 198.
115. Matuchová I. *Stanovení aspartátaminotransferasy v likvoru pro detekci destrukce tkáně centrálního nervového systému* (bakalářská práce). Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2014. 59 stran.

116. McCauley L, Dean N. Pneumonia and empyema: causal, casual or unknown. *J Thorac Dis.* 2015; 7(6):992-998.
117. McDermott S, Levis DA, Arellano RS. Chest drainage. *Semin Intervent Radiol.* 2012; 29(4):247-255.
118. Yu H. Management of pleural effusion, empyema, and lung abscess. *Semin Intervent Radiol.* 2011;28(1):75-86.
119. Chughtai M, Gwam CU, Mohamed N *et al.* The Epidemiology and Risk Factors for Postoperative Pneumonia. *J Clin Med Res.* 2017; 9(6):466-475.
120. Özcan PE, Şentürk E. Pneumonia After Thoracic Surgery. *Postoperative Care in Thoracic Surgery.* 2017; 207–217.
121. Borregaard N, Herlin T. Energy metabolism of human neutrophils during phagocytosis. *J Clin Invest.* 1982; 70(3):550-557.
122. Lucchesi BR. Complement, neutrophils and free radicals: mediators of reperfusion injury. *Arzneimittelforschung.* 1994; 44(3A):420-432.
123. Babior BM. The respiratory burst of phagocytes. *J Clin Invest.* 1984;73(3):599-601.
124. Chavalittamrong B, Angsusingha K, Tuchinda M, *et al.* Diagnostic Significance of pH, Lactic Acid Dehydrogenase, Lactate and Glucose in Pleural Fluid. *Respiration.* 1979; 38:112-120.
125. Valvani A, Martin A, Devarajan A, Chandy D. Postobstructive pneumonia in lung cancer. *Ann Transl Med.* 2019; 7(15):1-13.
126. Siddiqui F, Siddiqui AH. Lung Cancer. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482357>>).
127. Antus B, Barta I. Exhaled breath condensate pH in patients with lung cancer. *Lung Cancer.* 2012; 75(2):178-180.
128. Bisenkov LN, Shalaev SA, Kuznetsov IM, Zubov GS, Il'ina OB. Surgical treatment of lung cancer complicated by intrathoracic inflammatory paracancerous alterations. *Vestn Khir Im I I Grek.* 2006;165(3):11-14.
129. Rosado-de-Christenson ML, Templeton PA, Moran CA. Bronchogenic carcinoma: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics.* 1994; 14(2):429-446.
130. Porcel JM. Chest Tube Drainage of the Pleural Space: A Concise Review for Pulmonologists. *Tuberc Respir Dis (Seoul).* 2018; 81(2):106-115.
131. Wells RG, Havens PL. Intrapleural fibrinolysis for parapneumonic effusion and empyema in children. *Radiology.* 2003; 228(2), 370-8.

132. Brims FJH, Lansley SM., Waterer GW., Lee YCG. Empyema thoracis: new insights into an old disease. *European Respiratory Review*. 2010; 19(117):220-228.
133. Idell S, Girard W, Koenig KB, McLarty J, Fair DS. Abnormalities of pathways of fibrin turnover in the human pleural space. *Am Rev Respir Dis*. 1991; 144(1):187-94.