

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Monitorování parametrů pleurálních výpotků při léčbě hrudních empyémů

Inka Matuchová

Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program: Lékařská imunologie

Hradec Králové

2022

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Lékařská imunologie na Ústavu klinické imunologie a alergologie Univerzity Karlovy, Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Autor: **Ing. Bc. Inka Matuchová**
Ústav klinické imunologie a alergologie
Lékařská fakulta UK v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel: **prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.**
Ústav klinické imunologie a alergologie
Lékařská fakulta UK v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel konzultant: **RNDr. Ing. Petr Kelbich, Ph.D.**
Ústav biomedicíny a laboratorní diagnostiky
Fakulta zdravotnických studií Univerzity J. E. Purkyně a Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem

Oponenti: **prof. MUDr. Vladimír Bobek, Ph.D.**
3. chirurgická klinika
1. lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. MUDr. Josef Vodička, Ph.D.
Chirurgická klinika
Lékařská fakulta UK v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR dne v od hod.

Tato práce vznikla za podpory grantu Univerzity Karlovy „PROGRES Q40/10“ Lékařské fakulty v Hradci Králové a interního grantu Krajské zdravotní, a.s. v Ústí nad Labem ‘IGA-KZ-2021-1-1’.

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové (tel. 495 816 134).

Prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu Lékařská imunologie
Garant studijního programu

Obsah

1. Úvod	1
1.1. Tradiční vyšetřování pleurálních výpotků dle Lightových pravidel.....	2
1.2. Cytologicko-energetický princip vyšetřování pleurálních výpotků.....	2
1.3. Vyšetření parametrů rozsahu destrukce tkáně.....	4
2. Cíle disertační práce	5
3. Materiál a metodika	6
3.1. Soubor pacientů zařazených do studie	6
3.2. Odběr pleurálního výpotku a preanalytická fáze	7
3.3. Cytologické vyšetření pleurálních výpotků	7
3.4. Vyšetření humorálních parametrů pleurálních výpotků.....	7
3.5. Výpočet koeficientu energetické bilance (KEB).....	9
3.6. Statistické zpracování.....	9
4. Výsledky	11
4.1. Průzkum cytologických nálezů pleurálních výpotků pacientů z primární databáze	11
4.1.1. Průzkum cytologických nálezů v pleurálních výpotcích pacientů s transudáty	11
4.1.2. Průzkum cytologických nálezů v pleurálních výpotcích pacientů po hrudní operaci	11
4.1.3. Průzkum cytologických nálezů v pleurálních výpotcích pacientů s bakteriální pneumonií.....	12
4.1.4. Průzkum cytologických nálezů v pleurálních výpotcích pacientů s empyémem	12
4.2. Porovnání laboratorních parametrů v pleurálních výpotcích s převahou neutrofilních granulocyt u pacientů s transudáty, s bakteriální pneumonií a hrudním empyémem.	13
4.3. Porovnání cytologicko-energetického způsobu vyšetřování pleurálních výpotků s parametry Lightových pravidel	15
4.4. Testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní na laboratorní obraz pleurálního výpotku u pacientů po hrudní operaci.....	18
4.5. Testování vlivu nádorového procesu v dutině hrudní u pacientů s hrudním empyémem na jeho laboratorní obraz.....	20
4.6. Testování vlivu finální regrese hrudního empyému na cytologicko-energetické parametry pleurálního výpotku odebíraného v různém časovém období od zavedení drénu.....	21
4.6. Sledování vývoje cytologicko-energetických parametrů pleurálních výpotku v čase po zavedení hrudního drénu u pacientů s hrudním empyémem.....	23
5. Diskuze	25
6. Závěr	30
7. Použitá literatura	31
8. Přehled publikační činnosti disertantky	35

Seznam použitých zkratk

AST	aspartátaminotransferáza
ATP	adenosintrifosfát
AUC	area under the ROC Curve
CB	celková bílkovina
CRP	C-reaktivní protein
CT	počítačová tomografie (z angl. computed tomography)
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace (z angl. disseminated intravascular coagulation)
G-6-P	glukóza-6-fosfát
IL-1β	interleukin 1 β
IL-6	interleukin 6
IL-8	interleukin 8
JE	jaderné elementy
KEB	koeficient energetické bilance
K-W	Kruskal-Wallisův test
LDH	laktátdehydrogenáza
NAD	nikotinamidadenindinukleotid
NYHA	klasifikace dle New York Heart Association
PAMP	z angl. <i>pathogen-associated molecular pattern</i>
PRR	z angl. <i>pattern recognition receptor</i>
ROC	z ang. <i>receiver operating characteristic</i>
RTG	rentgenové vyšetření
SE	standardní chyba (z angl. standard error)
TNFα	z angl. <i>tumor necrosis factor α</i>
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 výplachů 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. Doplňujícím 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 jsme u 81 pacientů s hrudním empyémem 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 effusions. 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 effusions 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 either 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 cavity 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

Existuje dynamická rovnováha mezi mikrobiotou žijící 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]. Invaze a šíření extracelulárních bakterií do plicního parenchymu na alveolární úrovni způsobuje bakteriální pneumonii [2].

Vrozená imunita je zodpovědná za rozpoznání invazivního patogenu a je schopna zahájit okamžitou obranu. Rozpoznání mikrobů závisí na PRR receptorech, které umí rozpoznat molekulární vzory patogenních mikrobů PAMP. Přítomnost extracelulárních bakterií obvykle vede k rozvinutí purulentní zánětlivé reakce v příslušné lokalitě. Nositelé této imunitní reakce jsou neutrofilní granulocyty [1].

Podstatou purulentního zánětu je vlivem cytokinového a chemokinového prostředí, včetně IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8 tvořeného alveolárními makrofágy, migrace těchto imunokompetentních buněk do místa postiženého infekcí a eliminace infekčního agens prostřednictvím fagocytózy a produkci kyslíkových radikálů během jejich oxidačního vzplanutí [1][3].

Bakteriální pneumonie je přední příčinou úmrtnosti ve světě. [2]. Přibližně u 40 – 60 % pacientů s bakteriální pneumonií se vyvine parapneumonický výpotek [4]. Některé pleurální infekce vyžadují pouze antibiotickou léčbu, některé hrudní drenáž, některé intrapleurální terapii s lokální aplikací antibiotik a fibrinolytik a v krajním případě chirurgický zákrok [5]–[7]. V závislosti na stupni progresu tohoto onemocnění je pleurální infekce rozdělena do tří fází. První fází je tvorba jednoduchého exsudátu důsledkem zvýšené propustnosti kapilár bez přítomnosti bakterií v pleurální tekutině. Pokud v této fázi není poskytnuta včasná, vhodná a intenzivní léčba, dojde k přechodu do fibrinopurulentního stadia, ve kterém se množí bakterie. Jejich přítomnost v dutině hrudní vlivem cytokinového a chemokinového prostředí tvořeného zejména alveolárními makrofágy vede kromě migrace neutrofilních granulocytů a eliminace extracelulárních bakterií také k aktivaci koagulační kaskády vedoucí ke zvýšené prokoagulaci a snížení fibrinolýzy. Dochází k depozici fibrinu a tvorbě sept. V posledním kroku dochází k proliferaci fibroblastů a zesílení pleury zabraňující expanzi plic. Hovoříme o hrudním empyému. Ten je definován jako nahromadění hnisu v pleurální dutině a bez včasné, vhodné a intenzivní léčby vede k systémové sepsi až smrti pacienta [2][4][6][8].

Prvním krokem pro vyhodnocení přítomnosti pleurálního výpotku je zhotovení rentgenového snímku hrudníku. Pokud je podezření na výpotek, dalším krokem je ultrazvukové vyšetření (UZV). 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 [8][9].

1.1. Tradiční vyšetřování pleurálních výpotků dle Lightových pravidel

Za zlatý standard se považuje tradiční vyšetřování pleurálních výpotků dle Lightových pravidel. Jeho principem je kvantifikace biochemických parametrů, která určí charakter pleurálního výpotku. Poskytují informaci o tom, zda se jedná o transudát nebo exsudát [10][11]. Transudát je definován jako nezáznětlivá tekutina hromadící se v dutině hrudní pouze v důsledku změn tlakových poměrů na úrovni kapilár. Tyto změny mohou být indukované v důsledku kardiálního postižení, renálního selhání či jiného systémového onemocnění [12]-[14]. Exsudát je tekutina produkovaná při zánětu v důsledku zvýšené permeability cév. 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 vyšetřovaných parametrů. Autorský kolektiv spatřuje řešení v aplikaci cytologicko-energetického principu doposud praktikovaného při vyšetřování mozkomíšního moku sledujícího společné imunitní a biochemické procesy v oblasti produkce příslušné extravaskulární tělní tekutiny [15]-[27].

1.2. Cytologicko-energetický princip vyšetřování pleurálních výpotků

Prvním krokem cytologicko-energetické analýzy je cytologické vyšetření pleurálního výpotku s důrazem na přítomnost imunokompetentních buněk. Právě ty jsou nositeli imunitní reakce. Dalším krokem je vyšetření vhodných funkčních parametrů. Těmi jsou, obecně pro většinu extravaskulárních tělních tekutin, parametry energetického metabolismu glukózy [16][17][22][24]. Klíčovým parametrem je koeficient energetické bilance (KEB), definovaný jako teoretický průměrný počet molekul adenosintrifosfátu (ATP) vyprodukovaných za aktuálních energetických poměrů v oblasti rezervoáru příslušné extravaskulární tělní tekutiny z jedné molekuly glukózy. Podstata hodnocení pak spočívá ve společném nárůstu intenzity lokální imunitní odpovědi a jejích energetických nároků [1][16]-[18][21][24].

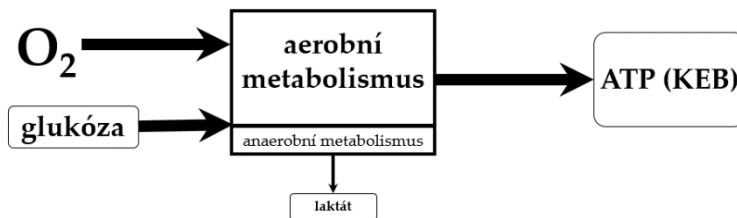
$$KEB = 38 - 18 \frac{[\text{laktát}]}{[\text{glukóza}]}$$

[glukóza] = látková koncentrace glukózy v pleurálním výpotku

[laktát] = látková koncentrace laktátu v pleurálním výpotku

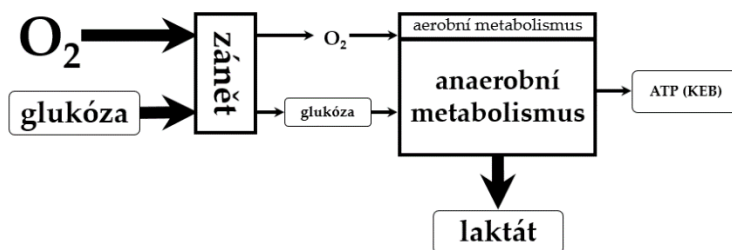
Dva energetické modely dutiny hrudní

Při bazální imunitní reakci v oblasti rezervoáru pleurálního výpotku registrujeme převážně aerobní metabolismus s hojnou produkcí energie v podobě vysokého počtu ATP vyjádřenou vysokými hodnotami KEB (Obr. 1) [17][24][21].



Obr. 1: Normální energetické poměry v dutině hrudní

Obvyklou příčinou, podstatou či následkem patologického procesu v dutině hrudní je imunitní, resp. zánětlivá, odpověď (Obr. 2). S nárůstem její intenzity se zvyšují lokální energetické nároky aktivovaných imunokompetentních buněk. Dochází tak ke zvýšené spotřebě glukózy a kyslíku, tím pádem k rozvoji anaerobního metabolismu a snížení produkce ATP, což pozorujeme na snižující se hodnotě KEB.



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

Ze závěrů dřívějších studií vyplývají následné charakteristiky cytologicko-energetické analýzy pleurálních výpotků [21][22][24].

Hodnoty KEB \geq 28: Jedná se o normální energetické poměry v oblasti rezervoáru pleurálního výpotku a obvykle představují reaktivní až mírné serózní zánětlivé změny v pleurální dutině.

Hodnoty KEB = 20 až 28: 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 až 20: 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 přítomnosti razantních zánětlivých změn s oxidačním vzplanutím profesionálních fagocytů v pleurální dutině.

Hodnoty KEB < 10 : 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.

1.3. Vyšetření parametrů rozsahu destrukce tkáně

Rozsah destrukce tkáně autorský kolektiv charakterizuje prostřednictvím koncentrace katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) a laktátdehydrogenázy (LDH), které slouží jako doplňující vyšetření cytologicko-energetické analýzy pleurálních výpotků. Umožňuje charakterizovat úroveň poškozující složky přítomného zánětu [28][29].

2. Cíle disertační práce

Disertační práce měla za cíl představit význam cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků a zhodnotit jeho přínos pro včasnou detekci purulentního zánětu pro včasné zahájení léčby pleurální infekce a monitoraci úspěšnosti terapeutických postupů při léčbě hrudního empyému. Vědecký kolektiv byl složen z pracovníků Oddělení hrudní chirurgie, Biomedicínského centra, Oddělení klinické biochemie Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem a Ústavu klinické imunologie a alergologie Univerzity Karlovy Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice Hradec Králové. Vedoucím výzkumného týmu byl RNDr. Ing. Petr Kelbich, Ph.D.

Cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků spojuje cytologické vyšetření pleurálních výpotků a funkční parametr. Funkčním parametrem je koeficient energetické bilance (KEB) odvozený z aktuálních látkových koncentrací glukózy a laktátu v pleurálním výpotku. Vyjadřuje průměrný počet molekul adenosintrifosfátu vyprodukovaného z 1 molekuly glukózy za aktuálních energetických poměrů v dutině hrudní. Jako doplňující vyšetření pak slouží parametr katalytické aktivity AST a LDH coby ukazatel rozsahu destrukce tkáně v příslušné lokalitě poškozující složkou devastujícího purulentního zánětu. Za zlatý standard se považuje vyšetřování pleurálních výpotků dle Lightových pravidel, která nepopisují imunobiologické děje, ale pouze kvantifikují příslušné biochemické parametry. Autorský kolektiv považoval za významné Lightův způsob s námi upraveným postupem vyšetřování pleurálních výpotků porovnat.

Tím, že cytologicko-energetický princip imunobiologické děje popisuje, tak poskytuje informaci o charakteru a intenzitě zánětu v dutině hrudní. To by mělo přinést značný přínos pro sledování pacientů s parapneumonickým výpotkem způsobeným bakteriální pneumonií za cílem zahájení včasné léčby a snížení rizika přechodu do jeho komplikované formy hrudního empyému. Také by tento způsob vyšetřování umožnil sledovat pacienty po hrudní operaci vzhledem k jejich zvýšenému riziku pleurální infekce za cílem zahájení včasné léčby a také monitorovat purulentní zánět v dutině hrudní u pacientů s hrudními empyémy a tím následně umožnit sledovat úspěšnost léčby, korigovat terapeutické postupy a snížit tak riziko následných komplikací včetně systémové sepse a smrti pacienta. Vzhledem k tomu, že hrudní empyém může být sekundárním projevem nádorového procesu v dutině hrudní, autorský kolektiv považuje také za významné otestovat jeho vliv na laboratorní obraz pleurálního výpotku u pacientů se současným nádorovým postižením dutiny hrudní.

3. Materiál a metodika

3.1. Soubor pacientů zařazených do studie

Do studie bylo zařazeno 915 pacientů přijatých na Oddělení hrudní chirurgie Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, kterým se vytvořil pleurální výpotek v důsledku kardiálního postižení, systémové sepse, hrudní operace, bakteriální pneumonie nebo měli diagnostikovaný hrudní empyém. Z 63 % se jednalo o muže a z 37 % o ženy v průměrném věku 63 let.

Vzhledem k tomu, že tato práce nezahrnovala žádné klinické studie 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).

Klinický obraz pacientů s **kardiálním selháním** zahrnoval přítomnost srdeční insuficience dle NYHA klasifikace, plicní edém, dušnost, hypertenzi, symetrický edém kotníků, nykturii, transudát, 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.

Klinický obraz pacientů **se systémovou sepsí** 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 multiorganové dysfunkce. Laboratorní obraz zahrnoval výrazně zvýšené parametry systémového zánětu (leukocytóza, koncentrace CRP, prokalcitoninu), změny hemokoagulace (trombocytóza) a rozvoj DIC.

Klinický obraz pacientů **po hrudní operaci bez purulentní komplikace** v dutině 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.

Klinický obraz pacientů s **bakteriální pneumonií** 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 nálezn 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** vykazovali progresi výše zmíněného infekčního postižení dutiny hrudní a ztlustění pleury na CT skenu.

3.2. Odběr pleurálního výpotku a 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 byly neprodleně analyzovány.

3.3. Cytologické vyšetření pleurálních výpotků

V každém vzorku pleurálního výpotku byl stanoven počet jaderných elementů (JE) a erytrocytů na 1 μ l ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce. Pomocí cytocentrifugy StatSpin Cytofuge 2 (Iris Sample Processing, USA) byl zhotoven trvalý cytologický preparát barvený cytologickým krevním barvením Hemacolor® (Merck, DE) a zamontovaný do montovacího média Enthellan® (Merck, DE). Způsobitým pracovníkem byl proveden odečet trvalého cytologického preparátu prostřednictvím mikroskopu BX40 (Olympus, JAP).

3.4. Vyšetření humorálních parametrů pleurálních výpotků

V každém vzorku pleurálního výpotku byla stanovena koncentrace celkové bílkoviny, glukózy, laktátu a katalytické aktivity aspartátaminotransferázy a laktátdehydrogenázy prostřednictvím analytického systému Cobas 600® c501 (Roche Diagnostics, CHE).

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, který absorbuje při vlnové délce 546nm a je detekován spektrofotometricky jako nárůst absorbance. Vinan sodnodraselný zabraňuje precipitaci hydroxidu měďnatého a jodidu draselného, která brání autoredukci mědi.

Stanovení koncentrace glukózy v pleurálním výpotku – hexokinázová metoda

Glukóza ve vzorku je fosforylována 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 oxidasová a peroxidasová 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.

Stanovení koncentrace katalytické aktivity AST v pleurálním výpotku – IFCC metoda

Metoda spočívá v konverzi L-aspartátu a 2-oxoglutarátu na oxalacetát a L-glutamát při katalytickém působení aspartátaminotransferázy (AST). Vznikající oxalacetát je detekován poklesem absorbance při vlnové délce 339 nm po oxidaci NADH na NAD^+ katalyzovanou enzymem malátdehydrogenázou.

Stanovení koncentrace katalytické aktivity LDH v pleurálním výpotku – IFCC metoda

Metoda spočívá v konverzi L-laktátu na pyruvát při katalytickém působení laktátdehydrogenázy (LDH). NAD^+ je redukováno na NADH. Počáteční rychlost tvorby

NADH je přímo úměrná katalytické aktivitě LDH a stanovuje se fotometricky měřením nárůstu absorbance při vlnové délce 340nm.

3.5. Výpočet koeficientu energetické bilance (KEB)

Původní koeficient energetické bilance vyjadřuje 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:

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

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 laktátů a glukózy [16, 17, 21, 22]:

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

3.6. Statistické zpracování

Prostřednictvím neparametrického Kruskal-Wallisova testu s *post hoc* vícenásobným porovnáním z-skóre bylo na hladině významnosti 5 % provedeno porovnání laboratorních parametrů pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů mezi skupinami pacientů s transudáty při kardiálním postižení či systémové sepsi, pacientů s bakteriální pneumonií a pacientů s hrudním empyémem. Stejným způsobem bylo provedeno testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní ve skupině pacientů po hrudní operaci na destrukční parametry v pleurálním výpotku s převahou neutrofilních granulocytů.

Diagnostické efektivity cytologických (počet jaderných elementů a četnost neutrofilních granulocytů), energetických (koncentrace glukózy, laktátu, KEB) a destrukčních

(katalytické aktivity LDH a AST) parametrů v pleurálních výpotcích vyšetřených dle Lightových kritérií a cytologicko-energetickým principem byly získány prostřednictvím ROC (*Receiver Operating Characteristic*) analýzy. Na hladině významnosti 5% bylo metodou dle *De Long et al.* provedeno porovnání ROC-křivek pro vzájemné odlišení nezánettivých výpotků, parapneumonických výpotků a výpotků od pacientů s hrudními empyémy [30].

Dále bylo prostřednictvím neparametrického Mann-Whitney U-testu na hladině významnosti 5% testován vliv současně probíhajícího nádorového procesu na laboratorní obraz hrudního empyému. Stejným způsobem byl testován vliv finálního vývoje hrudního empyému po zavedení hrudního drénu na parametry cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků.

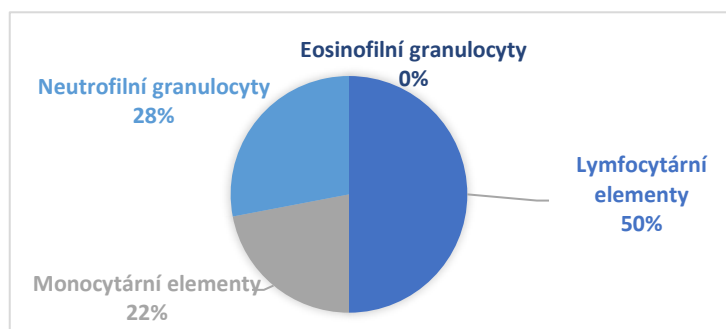
Ke statistické analýze byl použit program Statistica 13 (StatSoft, Inc, USA) a MedCalc (MedCalc software, B).

4. Výsledky

4.1. Průzkum cytologických nálezů pleurálních výpotků pacientů z primární databáze

4.1.1. Průzkum cytologických nálezů v pleurálních výpotcích pacientů s transudáty

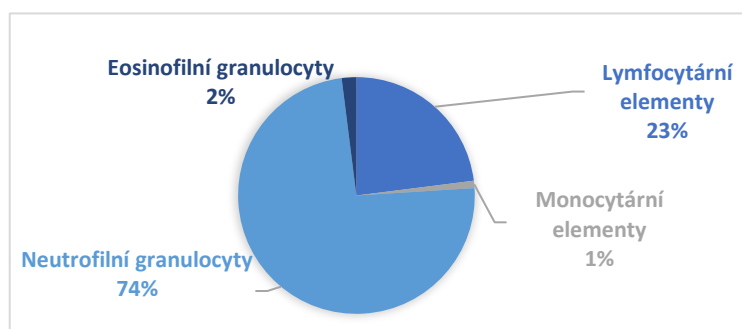
V transudátech u 28 % pacientů je patrná převaha neutrofilních granulocytů (Graf 1).



Graf 1: Výšečové grafy – procentuální zastoupení pacientů s transudáty s ohledem na převahu typu buněk v cytologickém obraze jejich pleurálního výpotku

4.1.2. Průzkum cytologických nálezů v pleurálních výpotcích pacientů po hrudní operaci

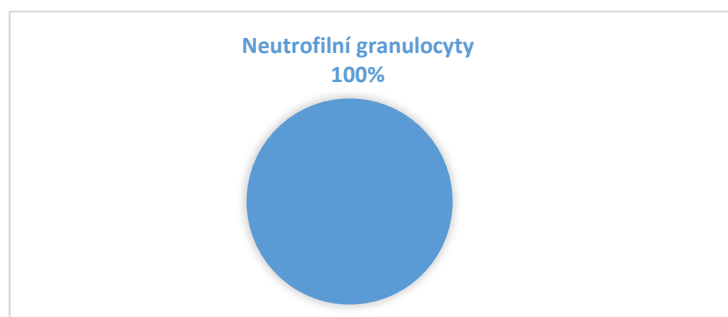
V pleurálních výpotcích je u 74 % pacientů po hrudní operaci patrná převaha neutrofilních granulocytů (Graf 2).



Graf 2: Výšečové grafy – procentuální zastoupení pacientů po hrudní operaci s ohledem na převahu typu buněk v cytologickém obraze jejich pleurálního výpotku

4.1.3. Průzkum cytologických nálezů v pleurálních výpotcích pacientů s bakteriální pneumonií

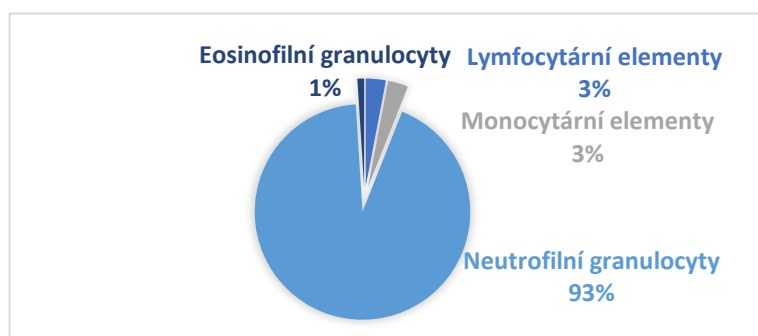
Ve všech pleurálních výpotcích pacientů s bakteriální pneumonií je patrná převaha neutrofilních granulocytů (Graf 3).



Graf 3: Výšečové grafy – procentuální zastoupení pacientů s bakteriální pneumonií s ohledem na převahu typu buněk v cytologickém obraze jejich pleurálního výpotku

4.1.4. Průzkum cytologických nálezů v pleurálních výpotcích pacientů s hrudním empyémem

V pleurálních výpotcích je u 93 % pacientů s hrudním empyémem patrná převaha neutrofilních granulocytů (Graf 4).



Graf 4: Výšečové grafy – procentuální zastoupení pacientů s hrudním empyémem s ohledem na převahu typu buněk v cytologickém obraze jejich pleurálního výpotku

4.2. Porovnání laboratorních parametrů v pleurálních výpotcích s převahou neutrofilních granulocytů u pacientů s transudáty, s bakteriální pneumonií a hrudním empyémem.

V transudátech pozorujeme statisticky významně nižší koncentraci celkové bílkoviny než v nekomplikovaných parapneumonických výpotcích a purulentních výpotcích pacientů s hrudními empyémy ($p < 0,05$). Koncentrace celkové bílkoviny se v nekomplikovaných parapneumonických pleurálních výpotcích a hrudním empyému téměř neliší ($p = 0,930$). Počet jaderných elementů, relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentrace laktátu, katalytické aktivity AST a LDH je statisticky významně vyšší u pacientů s nekomplikovaným parapneumonickým výpotkem než u pacientů s transudáty ($p < 0,05$), ale statisticky významně nižší než u pacientů s hrudním empyémem ($p < 0,05$). Koncentrace glukózy a koeficient energetické bilance (KEB) je statisticky významně nižší u pacientů s parapneumonickým výpotkem než u pacientů s transudáty ($p < 0,05$), ale statisticky významně vyšší než u pacientů s hrudními empyémy ($p < 0,05$) (Tab. 1, 2).

Tab. 1: Popisná statistika laboratorních parametrů v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů

	Nezánětlivé	Purulentní	
		Nekomplikované	Komplikované
	Transudát n=91	Parapneumonický n = 95	Empyém n = 282
Koncentrace celkové bílkoviny (g.l⁻¹)			
Medián	22,20	38,10	37,00
1. – 3. kvartil	16,20 - 30,50	27,80 - 47,10	25,60 - 45,00
Počet jaderných elementů (JE) (1.μl)			
Medián	325	2901	25813
1. – 3. kvartil	128 – 981	768 – 14827	3413 – 109227

Tab. 1: Popisná statistika laboratorních parametrů v jednotlivých typech pleurálních výpotků s převahou neutrofilních granulocytů - pokračování

	Nezánětlivé	Purulentní	
		Nekomplikované	Komplikované
	Transudát n=91	Parapneumonický n = 95	Empyém n = 282
Relativní četnost neutrofilních granulocytů (%)			
Medián	56,0	84,0	88,0
1. – 3. kvartil	49,0 – 72,0	75,0 – 91,0	78,0 – 94,0
Koncentrace glukózy (mmol.l⁻¹)			
Medián	7,51	0,96	0,10
1. – 3. Kvartil	6,16 - 9,28	0,10 - 2,90	0,06 - 1,1
Koncentrace laktátu (mmol.l⁻¹)			
Medián	2,53	9,98	14,65
1. – 3. Kvartil	1,61 - 3,30	6,96 - 12,70	9,87 - 21,7
Koeficient energetické bilance (KEB)			
Medián	32,73	-167,51	-2346,10
1. – 3. Kvartil	30,52 to 34,22	-1758,40 to -6,04	-5789,50 to -150,2
Koncentrace katalytické aktivity aspartátaminotransferázy (AST) (μkat.l⁻¹)			
Medián	0,25	1,13	3,95
1. – 3. Kvartil	0,15 - 0,42	0,76 - 2,36	1,28 - 9,56
Koncentrace katalytické aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) (μkat.l⁻¹)			
Medián	2,41	23,66	70,38
1. – 3. Kvartil	1,53 - 4,27	13,62 - 46,42	24,985 - 233,28

Table 2: *p*-hodnoty získané porovnáním laboratorních parametrů v jednotlivých typech pleurálních výpotků prostřednictvím K-W testu s *post hoc* vícenásobným porovnáním pomocí z-skóre (*p* < 0,05)

Měřené parametry v pleurálním výpotku	Transudát <i>versus</i> parapneumonický	Transudát <i>versus</i> empyém	Parapneumonický <i>versus</i> empyém
Koncentrace celkové bílkoviny	< 0,05	< 0,05	0,930
Počet jaderných elementů	< 0,05	< 0,05	< 0,05

Table 2: *p*-hodnoty získané porovnáním laboratorních parametrů v jednotlivých typech pleurálních výpotků prostřednictvím K-W testu s *post hoc* vícenásobným porovnáním pomocí z-skóre ($p < 0,05$) - pokračování

Parametry v pleurálním výpotku	Transudát <i>versus</i> parapneumonický	Transudát <i>versus</i> empyém	Parapneumonický <i>versus</i> empyém
Relativní četnost neutrofilů	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Koncentrace glukózy	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Koncentrace laktátu	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Koeficient energetické bilance	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Katalytická aktivita LDH	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Katalytická aktivity AST	< 0,05	< 0,05	< 0,05

4.3. Porovnání cytologicko-energetického způsobu vyšetřování pleurálních výpotků s parametry Lightových pravidel

Pro porovnání diagnostické efektivity cytologických (počet jaderných elementů a četnost neutrofilních granulocytů), energetických (koncentrace glukózy a laktátu a hodnoty KEB) a destrukčních (katalytické aktivity LDH a AST) parametrů v pleurálních výpotcích vyšetřených dle Lightových pravidel a cytologicko-energetickou analýzou jsme použili ROC analýzu. Významně vyšší účinnosti pro odlišení nezápálivých výpotků a parapneumonických výpotků bylo dosaženo v případě četností neutrofilních granulocytů oproti počtům jaderných elementů ($p < 0,05$) a hodnot KEB oproti koncentracím laktátu ($p < 0,05$). Naproti tomu statisticky významné rozdíly mezi hodnotami KEB a koncentracemi glukózy a katalytickými aktivitami LDH a AST patrné nebyly (Tab. 3).

Tab. 3: ROC-analýza pro cytologicko-energetické parametry a Lightova kritéria nezánettivých transudátů a nekomplikovaných parapneumonických pleurálních výpotků pacientů s bakteriální pneumonií

Negativní skupina: Nezánettivý transudát					
Pozitivní skupina: Nekomplikovaný parapneumonický výpotek					
Lightova kritéria	AUC	SE	Cut-off	Specificita (%)	Sensitivita (%)
JE (.1μl)	0,833	0,029	≥ 1120,00	86,26	70,83
CB (mg.l ⁻¹)	0,742	0,032	> 31,00	71,09	70,83
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	0,981	0,010	≤ 4,60	97,63	94,79
Laktát (mmol.l ⁻¹)	0,970	0,013	> 4,78	96,20	92,70
LDH (μkat.l ⁻¹)	0,962	0,015	≥ 7,64	94,23	89,58
Cytological-energetická analýza					
Neutrofilly	0,982	0,006	> 0,53	91,94	97,92
KEB	0,999	0,001	≤ 19,92	98,10	100,00
AST (μkat.l ⁻¹)	0,954	0,012	> 0,56	91,94	88,54
Lightova kritéria	Cytologicko-energetická analýza		p-hodnota		
JE	Neutrofilly		< 0,05		
Laktát	KEB		< 0,05		
Glukóza	KEB		0,63		
LDH	AST		0,57		

Při porovnání diagnostické efektivity vybraných parametrů v nezánettivých výpotcích a výpotcích pacientů s hrudními empyémy jsme opět dosáhli významně lepších výsledků u četností neutrofilních granulocytů oproti počtu jaderných elementů. Účinnost hodnot KEB pak byla statisticky významně příznivější v porovnání s koncentracemi glukózy. Mezi hodnotami KEB a koncentracemi laktátu a katalytickými aktivitami LDH a AST jsme významný rozdíl nezjistili (Tab. 4).

Tab. 4: ROC-analýza pro cytologicko-energetické parametry a Lightova kritéria nezánettivých transudátů a komplikovaných purulentních pleurálních výpotků pacientů s hrudním empyémem

Negativní skupina: Nezánettivý transudát					
Pozitivní skupina: Hrudní empyém					
Lightova kritéria	AUC	SE	Cut-off	Specifická (%)	Sensitivita (%)
JE (.1μl)	0,939	0,010	> 1640,00	91,94	84,04
CB (mg.l ⁻¹)	0,713	0,023	> 31,00	71,09	65,12
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	0,967	0,008	≤ 3,58	100,00	89,75
Laktát (mmol.l ⁻¹)	0,987	0,005	> 4,87	96,70	94,30
LDH (μkat.l ⁻¹)	0,984	0,005	> 8,68	95,67	94,35
Cytologicko-energetická analýza					
Neutrofilly	0,985	0,004	> 0,55	92,42	97,17
KEB	0,991	0,004	≤ 20,18	98,10	96,82
AST (μkat.l ⁻¹)	0,979	0,005	> 0,53	91,47	95,41
Lightova kritéria	Cytologicko-energetická analýza		p-hodnota		
JE	Neutrofilly		< 0,05		
Laktát	KEB		0,56		
Glukóza	KEB		< 0,05		
LDH	AST		0,39		

Diagnostická efektivita vybraných cytologických, energetických a destruktivních parametrů v parapneumonických výpotcích a purulentních výpotcích pacientů s hrudními empyémy zdaleka nedosahuje úrovně patrné z výše uvedených porovnání nezánettivých výpotků s oběma skupinami purulentních zánettivých výpotků. V tomto případě jsme zjistili statisticky významně vyšší efektivitu počtu jaderných elementů oproti četnostem neutrofilních granulocytů a koncentrace laktátu předčily hodnoty KEB. Významný rozdíl mezi katalytickými aktivitami LDH a AST opět nebyl prokázán (Tab. 5).

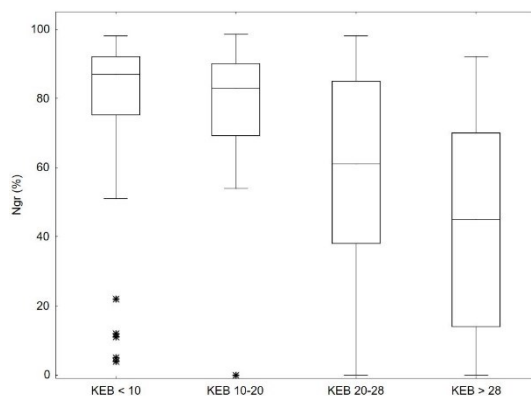
Tab. 5: ROC-analýza pro cytologicko-energetické parametry a Lightova kritéria nekomplikovaných parapneumonických výpotků a komplikovaných purulentních výpotků pacientů s hrudním empyémem

Negativní skupina: Nekomplikovaný parapneumonický výpotek					
Pozitivní skupina: Hrudní empyém					
Lightova kritéria	AUC	SE	Cut-off	Specifická (%)	Sensitivita (%)
JE (.1μl)	0,714	0,030	> 18,77	82,29	54,61
CB (mg.l ⁻¹)	0,537	0,035	≤ 48,90	22,92	86,12
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	0,631	0,033	≤ 0,43	63,54	64,66
Laktát (mmol.l ⁻¹)	0,721	0,028	> 13,13	80,20	60,10
LDH (μkat.l ⁻¹)	0,710	0,028	> 41,84	70,83	65,02
Cytologicko-energetická analýza					
Neutrofilý	0,553	0,034	> 91,00	75,00	35,69
KEB	0,671	0,031	≤ -738,95	68,75	64,31
AST (μkat.l ⁻¹)	0,718	0,028	> 2,60	83,33	57,60
Lightova kritéria	Cytologicko-energetická analýza		p-hodnota		
JE	Neutrofilý		< 0,05		
Laktát	KEB		< 0,05		
Glukóza	KEB		< 0,05		
LDH	AST		0,57		

4.4. Testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní na laboratorní obraz pleurálního výpotku u pacientů po hrudní operaci

Testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní na relativní četnost neutrofilních granulocytů při jejich převaze v pleurálním výpotku u pacientů po hrudní operaci

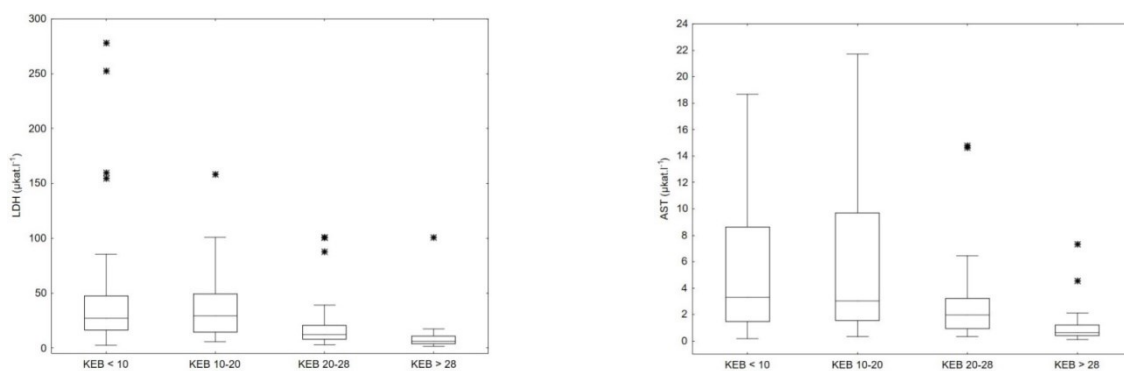
Prostřednictvím Kruskal-Wallisova testu s vícenásobným porovnáním pomocí z-skóre jsme prokázali významnost rozdílu mezi relativní četností neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích s energetickými úrovněmi KEB < 10 a KEB 20-28; KEB < 10 a KEB > 28; KEB 20-28 a KEB < 10 ($p < 0,05$) (Graf 5).



Graf 5: Rozložení relativních četností neutrofilních granulocytů (Ngr) v pleurálních výpotcích

Testování vlivu energetických poměrů v dutině hrudní na katalytickou aktivitu AST a LDH v pleurálních výpotcích s převahou neutrofilních granulocytů u pacientů po hrudní operaci

Koncentrace katalytické aktivity LDH i AST se téměř neliší pouze v pleurálních výpotcích s KEB < 10 a KEB 10 - 20 ($p > 0,05$). Nejnížší koncentrace katalytických aktivit LDH a AST pozorujeme v pleurálních výpotcích s KEB > 28. Nejvyšší koncentraci katalytické aktivity LDH i AST pak pozorujeme v pleurálních výpotcích s KEB < 10 (Graf 6 a 7).



Graf 6 a 7: Rozložení hodnot AST (vpravo) a LDH (vlevo) v pleurálních výpotcích pacientů rozdělených dle energetických poměrů v pleurálním výpotku

4.5. Testování vlivu nádorového procesu v dutině hrudní u pacientů s hrudním empyémem na jeho laboratorní obraz

Na hladině významnosti 5 % byla prostřednictvím neparametrického Mann-Whitney U-testu nalezena významnost rozdílu mezi počtem jaderných elementů (JE) v pleurálních výpotcích pacientů s parapneumonickým a paramaligním empyémem ($p < 0,05$). Relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentrace glukózy, laktátu, hodnota KEB a koncentrace katalytické aktivity LDH a AST v pleurálních výpotcích pacientů s parapneumonickým a paramaligním hrudním empyémem jsou téměř identické (Tab. 6).

Tab. 6: Popisná statistika proměnných v souborech pacientů s parapneumonickým a paramaligním empyémem a p -hodnoty M-W U-testu.

		Parapneumonický n = 244	Paramaligní n = 56	p -hodnota
JE	Medián	74880	37547	< 0,05
(.1μl)	1. kvartil – 3. kvartil	11136 - 323840	2987 - 100693	
Neutrofilny	Medián	88,0	84,0	0,039
(%)	1. kvartil – 3. kvartil	80,0 – 94,0	71,0 – 92,0	
Glukóza	Medián	0,10	0,10	0,857
(mmol.l⁻¹)	1. kvartil – 3. kvartil	0,06 - 1,30	(0,05 - 0,80)	
Laktát	Medián	14,20	15,01	0,339
(mmol.l⁻¹)	1. kvartil – 3. kvartil	9,86 - 21,66	9,70 - 20,40	
KEB	Medián	-2257,0	-2737,60	0,702
	1. kvartil – 3. kvartil	-5788,75 to -141,03	-5733,70 to -349,05	
LDH	Medián	67,84	60,682	0,418
(μkat.l⁻¹)	1. kvartil – 3. kvartil	23,62-219,09	21,714-232,84	
AST	Medián	3,74	4,011	0,448
(μkat.l⁻¹)	1. kvartil – 3. kvartil	1,25 - 8,84	1,250 - 12,027	

4.6. Testování vlivu finální regrese hrudního empyému na cytologicko-energetické parametry pleurálního výpotku odebíraného v různém časovém období od zavedení hrudního drénu

Prostřednictvím neparametrického Mann-Whitney U-testu nebyla prokázána významnost rozdílů v den zavedení hrudního drénu 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 (Tab. 7).

Tab. 7: Popisná statistika pro laboratorní parametry v pleurálních výpotcích odebraných v den zavedení (0. den) hrudního drénu s ohledem na finální vývoj hrudního empyému a *p*-hodnoty Mann-Whitney U-testu ($p < 0,05$).

	Regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu	Bez regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu	<i>p</i> -hodnota
	n = 51 Medián (1. – 3. kvartil)	n = 27 Medián (1. – 3. kvartil)	
JE (. 1μl)	15360 (1792,00-93297,70)	4701,33 (1877,33-81200,00)	0,622
Neutrofilly	89,00 (76,00-90,00)	87,00 (74,00-100,00)	0,748
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	0,10 (0,06-1,50)	0,54 (0,10-1,80)	0,180
Laktát (mmol.l ⁻¹)	13,76 (8,97-21,60)	12,63 (10,92-18,30)	0,835
KEB	-2338,00 (-4501,60 to -171,7)	-375,33 (-2905,00 to -92,8)	0,089
AST (μkat.l ⁻¹)	2,35 (1,43-11,00)	1,65 (0,79-10,80)	0,386
LDH (μkat.l ⁻¹)	58,28 (23,58-148,50)	40,50 (16,51-147,20)	0,676

Byla prokázána významnost rozdílů v období mezi 1. a 10. dnem od zavedení hrudního drénu mezi koncentracemi katalytické aktivity AST a LDH u 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 než u pacientů, u kterých k

regresi zánětu dojde. Počet jaderných elementů (JE), relativní četnost neutrofilních granulocytů, koncentrace glukózy, laktátu a hodnoty KEB v pleurálních výpotcích se v tomto období u těchto dvou skupin pacientů s hrudním empyémem téměř neliší ($p > 0,05$) (Tab. 8).

Tab. 8: 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, p -hodnoty Mann-Whitney U-testu ($p < 0,05$).

	Regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu	Bez regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu	p -hodnota
	n = 60 Medián (1. – 3. kvartil)	n = 22 Medián (1. – 3. kvartil)	
JE (. 1 μ l)	17621,34 (4906,67-50346,67)	27306,67 (938,67-115200,00)	0,402
Neutrofilly	91,00 (87,00-96,00)	89,00 (78,00-100,00)	0,229
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	0,15 (0,10-2,40)	0,10 (0,05-0,70)	0,057
Laktát (mmol.l ⁻¹)	11,97 (8,11-16,95)	14,32 (9,65-19,30)	0,241
KEB	-1722,40 (-3604,30 to -27,39)	-2498,20 (-59566,80 to -511,40)	0,063
AST (μ kat.l ⁻¹)	1,71 (0,92-4,18)	2,63 (1,37-5,50)	< 0,05
LDH (μ kat.l ⁻¹)	34,10 (21,94-102,00)	82,35 (48,59-102,00)	< 0,05

Byla prokázána významnost rozdílu v období mezi 11. a 25. dnem od zavedení hrudního drénu v počtu jaderných elementů, koncentraci glukózy a hodnot KEB mezi skupinami pacientů, u kterých došlo a u kterých nedošlo k regresi zánětu v tomto posledním sledovaném 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 než u pacientů, u kterých k regresi v tomto období dochází. Statisticky významně nižší koncentraci glukózy a nižší hodnoty KEB pozorujeme u pacientů, u kterých v tomto období nedochází k regresi zánětu než u pacientů, u kterých k regresi zánětu dochází. 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 ($p > 0,05$) (Tab. 9).

Tab. 9: 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, p -hodnoty Mann-Whitney U-testu ($p < 0,05$).

	Regrese zánětu v tomto období	Bez regrese zánětu v tomto období	p -hodnota
	n=29 Medián (1. – 3. kvartil)	n=9 Medián (1. – 3. kvartil)	
JE (. 1 μ l)	23675,09 (266,67-128000,00)	86852,61 (640,00-286720,00)	< 0,05
Neutrofily	86,00 (80,00-92,00)	91,00 (82,00-100,00)	0,436
Glukóza (mmol.l ⁻¹)	1,20 (0,10-3,23)	0,08 (0,04-0,50)	< 0,05
Laktát (mmol.l ⁻¹)	10,30 (7,58-14,78)	14,63 (12,32-17,30)	0,100
KEB	-89,32 (-2402,80 to -2,40)	-4143,14 (-6912,25 to -273,80)	< 0,05
AST (μ kat.l ⁻¹)	1,52 (0,49-3,63)	2,40 (1,62-2,90)	0,309
LDH (μ kat.l ⁻¹)	38,03 (12,37-94,89)	57,00 (34,45-72,70)	0,397

4.6. Sledování vývoje cytologicko-energetických parametrů pleurálního výpotku v čase po zavedení hrudního drénu u pacientů s hrudním empyémem

U pacientů, u kterých nedošlo k regresi zánětu v dutině hrudní do 25. dne od zavedení hrudní drenáže, byla prostřednictvím Kruskal-Wallisova testu *s post hoc* vícenásobným porovnáním pomocí z-skóre 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 = 0,10 mmol.l⁻¹). Ostatní

sledované laboratorní parametry v pleurálních výpotcích se v daných obdobích 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 $\mu\text{kat.l}^{-1}$) než v den zavedení hrudní drenáže (medián = 2,35 $\mu\text{kat.l}^{-1}$) (Tab. 10).

Tab. 10: p -hodnoty Kruskal-Wallisova testu s *post hoc* vícenásobným porovnáním pomocí z-skóre

	Regrese zánětu do 25. dne od zavedení hrudního drénu		Bez regrese zánětu do 25. dnem od zavedení hrudního drénu	
	0.-10. den	11.-25. den	0.-10. den	11.-25. den
JE				
0. den	1,00	1,00	1,00	0,33
1.-10. den	x	1,00	x	1,00
Neutrofilly				
0. den	0,67	1,00	1,00	1,00
1.-10. den	x	0,63	x	1,00
Glukóza				
0. den	1,00	0,06	< 0,05	0,59
1.-10. den	x	0,29	x	1,00
Laktát				
0. den	0,44	0,10	0,18	0,34
1.-10. den	x	0,95	x	0,18
KEB				
0. den	0,49	< 0,05	0,07	0,62
1.-10. den	x	0,31	x	1,00
AST				
0. den	0,08	< 0,05	0,92	1,00
1.-10. den	x	0,70	x	1,00
LDH				
0. den	1,00	0,32	0,54	1,00
1.-10. den	x	1,00	x	1,00

5. Diskuze

Cílem disertační práce bylo ověřit námi navrhovaný cytologicko-energetický způsob vyšetřování pleurálních výpotků a poukázat na vysoký přínos tohoto způsobu vyšetřování pro monitoraci purulentního zánětu v dutině hrudní při léčbě hrudních empyémů. Autorský tým se zaměřil na pleurální výpotky s převahou neutrofilních granulocytů coby nositelů tohoto typu zánětu. Jednalo se o pacienty s transudáty, s nekomplikovanými parapneumonickými výpotky způsobenými bakteriální pneumonií a s komplikovanými purulentními výpotky ve formě hrudních empyémů, kteří byli přijati na Oddělení hrudní chirurgie Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem.

V každém vzorku pleurálního výpotku těchto pacientů byly v Biomedicínském centru a na Oddělení klinické biochemie Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem stanoveny cytologicko-energetické parametry. Bylo prokázáno, že kumulace neutrofilních granulocytů v nezánětlivých transudátech nepředstavuje bezprostřední přítomnost purulentního zánětu v dutině hrudní. V této skupině pacientů je patrná absence jakéhokoliv výrazného zánětlivého procesu s vysokými hodnotami KEB. Tuto skutečnost také podporuje absence známek destrukce tkáně v příslušné lokalitě. Významný přísun jaderných elementů s převahou neutrofilních granulocytů v nekomplikovaných parapneumonických výpotcích pacientů s bakteriální pneumonií a v komplikovaných purulentních výpotcích pacientů s hrudními empyémy je podstatou purulentního zánětu, vzhledem k extrémně nízkým hodnotám KEB a přítomností významných známek destrukce tkáně v příslušné lokalitě [1]. Pacienti s nekomplikovaným parapneumonickým výpotkem dobře reagují na podávání vhodných antibiotik a není potřeba hrudní drenáž [31]. Při absenci včasné a vhodné léčby nekomplikovaného purulentního výpotku dojde ke kumulaci imunokompetentních buněk, depozici fibrinových sraženin a membrán a zahušťování výpotku a přechodu do jeho komplikované formy [6, 7]. U pacientů s hrudními empyémy byla cytologicko-energetickým principem vyšetřování pleurálních výpotků prokázána významně vyšší intenzita purulentního zánětu v dutině hrudní než u pacientů s nekomplikovaným parapneumonickým výpotkem. Tuto skutečnost podporuje významně vyšší rozsah destrukce tkáně poškozující složkou tohoto zánětu v příslušné lokalitě.

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

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 [31]. Tento způsob vyšetřování neposkytuje informaci o imunobiologické podstatě procesů odehrávající se v dutině hrudní. Autorský kolektiv spatřuje potenciál v cytologicko-energetickém vyšetřování pleurální výpotků.

V této části práce bylo provedeno porovnání vyšetřování pleurálních výpotků dle Lightových pravidel a cytologicko-energetickým principem. Vzhledem k podstatě purulentního zánětu spočívajícího v akumulaci jaderných elementů s převahou neutrofilních granulocytů a následným oxidačním vzplanutím, disponují tyto parametry pro rozlišení mezi nezáznětlivými transudáty a purulentními výpotky pacientů s bakteriální pneumonií a s hrudními empyémami značnou diagnostickou efektivitou [1, 8, 24, 29, 29]. Naopak, pro pneumonii a hrudní empyém je typický stejný purulentní charakter zánětu s identickou buněčnou skladbou výpotku [8, 24, 32]. Jelikož je u těchto pacientů rozdíl ve vyšší intenzitě zánětlivé odpovědi v případě empyému, vysvětlujeme si tak podstatně nižší diagnostickou efektivitu 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, což vede k intenzivnímu rozvoji anaerobního metabolismu v rezervoáru výpotku. Výsledkem je snaha o saturaci energetického deficitu zvýšeným metabolickým obratem a v důsledku větší spotřeby glukózy a výrazná nadprodukce laktátu v purulentních výpotcích [33, 34].

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 [16, 17, 21, 22, 34]. Eliminaci těchto vlivů řeší přepočtení na teoretickou produkci ATP. Ten poskytuje koeficient energetické bilance (KEB). Při rozlišení nezáznětlivých a purulentních výpotků dosahuje nejvyšší diagnostické efektivity ze všech hodnocených parametrů ($\text{AUC} = 0,999$). Pro rozlišení parapneumonických výpotků a 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 [16, 17, 21, 22].

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

Postoperační pneumonie je nejčastější příčinou pooperačního úmrtí. Příčinou 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 [35, 36].

Přístup k vyhodnocení a diagnostice pneumonie závisí na klinickém stavu, laboratorních parametrech a radiologickém hodnocení. Pokud nedojde k včasné a vhodné léčbě hrozí opět rozvoj hrudního empyému, systémová sepse a respirační selhání [36]. Pacienty po hrudní operaci jsme rozdělili dle úrovně rozsahu anaerobního metabolismu v jejich dutině hrudní, tedy dle úrovně KEB v pleurálních výpotcích [22, 24]. Otestovali jsme vliv rozsahu anaerobního metabolismu na rozsah destrukce tkáně v příslušné lokalitě, tj. na koncentraci katalytické aktivity AST a LDH [22, 24].

Pleurální výpotky pacientů po hrudně-chirurgických výkonech s normálními energetickými poměry ($KEB > 28$) považuje autorský kolektiv za transudáty s absencí nebo se zvýšeným rozpadem tkáně v příslušné lokalitě intervencí. Pleurální výpotky pacientů se zvýšenými energetickými poměry na úrovni mírnějších serózních zánětlivých změn ($KEB = 28 - 20$) v dutině hrudní považuje autorský kolektiv za zánětlivé výpotky v důsledku reparačních změn po chirurgické intervenci. Přítomnost zánětu je charakterizována vyšším rozsahem destrukce tkáně v dutině hrudní než v předešlé skupině pacientů. Pleurální výpotky u pacientů na úrovni výraznějších serózních zánětlivých změn až na úrovni mírných purulentních zánětlivých změn ($KEB = 20 - 10$) v pleurální dutině považuje autorský kolektiv za zánětlivé výpotky. Vzhledem k vyšší intenzitě zánětu na hranici purulentního je patrný vyšší rozsah destrukce tkáně v příslušné lokalitě než v předešlé skupině. Pleurální výpotky pacientů po hrudní operaci s vysokým rozsahem anaerobního metabolismu nasvědčující přítomnosti purulentního zánětlivého procesu ($KEB = < 10$) v dutině hrudní považuje autorský kolektiv za purulentní výpotky. Významně vyšší kumulace neutrofilních granulocytů v tomto případě představuje imunitní reakci na pomnožení extracelulární bakterie v příslušné

lokalitě [1]. Purulentní zánět je vysoce poškozující, proto je v dutině hrudní těchto pacientů pozorována významně vyšší rozsah destrukce tkáně než v předešlé skupině pacientů [33, 37].

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

Pleurální výpotek vzniklý nepřímým působením nádoru, ve kterém cytologicky ani histologicky není ani při opakovaném vyšetření prokázána maligní tkáň, se označuje za paramaligní výpotek [9]. Nejčastější příčinou jeho vzniku v souboru pacientů této práce je bronchogenní karcinom. Ten prostřednictvím své nekrotické složky umožňuje vstup infekce vedoucí k pneumonii. Její progresí pak k hrudnímu empyému [9][38]-[41].

V cytologických obrazech pleurálních výpotků pacientů s paramaligním i parapneumonickým hrudním empyémem je dominantním purulentním zánětem zcela potlačen podíl dalších imunokompetentních buněk. I přes významně odlišný počet jaderných elementů v obou skupinách pleurálních výpotků je nalezena identicky zvýšená kumulace neutrofilních granulocytů a identicky vysoká intenzita purulentního zánětu. Nižší počet jaderných elementů v pleurálních výpotcích pacientů s paramaligním empyémem evokuje úvahu o možné kumulaci imunokompetentních buněk v místě nádorového postižení a tím ke snížení jejich celkového počtu v pleurálním výpotku. Purulentní zánětlivý proces v dutině hrudní představuje při boji proti extracelulárním bakteriím dominující součást imunitní odpovědi [1]. Výsledky poukazují na to, že takto vysoká intenzita purulentního zánětu může skrýt projevy dalších imunitních mechanismů probíhajících na jeho pozadí.

Zhodnocení významu monitorace laboratorních parametrů pleurálních výpotků v čase při léčbě hrudních empyémů

Z předchozích kapitol autorský kolektiv uvažuje o značném přínosu cytologicko-energetického vyšetřování pleurálních výpotků pro monitoraci dynamiky zánětu v dutině hrudní za cílem sledovat úspěšnost léčby a eliminovat následné komplikace zvyšující riziko úmrtí pacienta. U všech pacientů z této studie, kteří měli klinicky prokazaný 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 [6, 7]. Cílem hrudní drenáže je potlačení infekce, evakuace hnisu a likvidace empyémové kapsy. Léčba musí být intenzivní a musí být zahájena co nejdříve [5, 8, 42].

Soubor pacientů sledovaných pro hrudní empyém byl rozdělen 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 zahájení léčby hrudního empyému pozoruje autorský tým stále stejnou intenzitu purulentního zánětu v obou skupinách pacientů, tak u pacientů bez pozdější regrese zánětu v dutině hrudní pozoruje významně vyšší úroveň poškozující složky lokálního zánětu. To si vysvětlují o něco větším prohloubením destrující 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 si autorský kolektiv vysvětluje například špatnou odezvou léčby hrudních empyému 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 může udržovat [5, 43]-[45]. Může také docházet k tvorbě nových kapes hrudního empyému při neschopnosti zcela rozpustit fibrinová depozita a drén se pak přesouvá tam, kde se nová kapsa vytvořila. Tím se purulentní obraz pleurálního výpotku stane téměř identickým jako na začátku zavedení hrudní drenáže. Intrapleurálním podáváním fibrinolytik může také docházet k fibrinolýze dalších kapes hrudního empyému, jehož obsah se pak může vylít 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 [43].

Vzhledem ke komplikované léčbě hrudních empyémů se tak jeví za velice významné sledovat právě dynamiku purulentního zánětu. Tato monitorace by mohla umožnit 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 přínos pro monitoraci purulentního zánětu při léčbě hrudního empyému. Hrudní empyém je definován jako akumulace purulentního výpotku v dutině hrudní a jeho mortalita se pohybuje kolem 20 – 40 %. Nejčastěji bývá důsledkem pozdě zahájené nebo nevhodně zvolené léčby bakteriální pneumonie. Ta může vzniknout důsledkem vstupu infekce na alveolární úrovni při respiračním infektu, po hrudní operaci nebo v důsledku nádorového procesu narušující příslušnou tkáň. Výsledky této práce lze shrnout do následujících bodů:

- 1) Cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků je srovnatelné s vyšetřováním pleurálních výpotků dle Lightových pravidel. Náš způsob vyšetřování navíc poskytuje informaci o imunobiologických procesech odehrávajících se v dutině hrudní a umožňuje tak popsat charakter a intenzitu zánětu.
- 2) Cytologicko-energetické vyšetřování pleurálních výpotků umožňuje detekovat purulentní zánět v dutině hrudní a určit jeho intenzitu, patrná je souvislost mezi intenzitou purulentního zánětu a pravděpodobností rozvoje hrudního empyému.
- 3) Vzhledem k významné kumulaci neutrofilních granulocytů v pleurálních výpotcích pacientů po hrudní operaci, u kterých je zvýšené riziko pleurální infekce, může cytologicko-energetická analýza pleurálních výpotků sloužit jako užitečný nástroj sledování odehrávajících se zánětlivých procesů, které umožní zahájit včasnou léčbu a snížit tak pravděpodobnost následných komplikací.
- 4) V případě probíhajícího nádorového procesu na pozadí purulentního zánětu, je imunitní reakce na probíhající nádorový proces zcela skryta a nelze o něm dle laboratorní analýzy uvažovat. Přesto je důležité možnost současného nádorového procesu mít na paměti.
- 5) Cytologicko-energetická analýza pleurálních výpotků má vysoký potenciál v monitoraci úspěšnosti léčby purulentního zánětu, včetně hrudního empyému, umožní korigovat terapeutické postupy a snížit tak riziko následných komplikací, včetně systémové sepse a smrti pacienta.

Výsledky analýz byly průběžně publikovány v odborných časopisech s impakt faktorem a prezentovány na odborných akcích. 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’.

7. Použitá literatura

- [1] Krejssek J, Andrýs C, Krčmová I. *Imunologie člověka*. 1.vyd. Hradec Králové: Garamon, 2016:496 stran.
- [2] Sattar SBA, Sharma S. Bacterial Pneumonia. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513321>>).
- [3] Bordon J, Aliberti S, Fernandez-Botran R, Uriarte SM, Rane MJ, Duvvuri P, Peyrani P, Morlacchi LC, Blasi F, Ramirez JA. Understanding the roles of cytokines and neutrophil activity and neutrophil apoptosis in the protective versus deleterious inflammatory response in pneumonia. *Int J Infect Dis*. 2013;17(2):e76-83, doi: 10.1016/j.ijid.2012.06.006.
- [4] 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>>).
- [5] Brims FJH, Lansley SM., Waterer GW., Lee YCG. Empyema thoracis: new insights into an old disease. *European Respiratory Review*. 2010; 19(117):220-228, doi: 10.1183/09059180.00005610.
- [6] Iguina MM, Danckers M. Thoracic Empyema. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544279>>).
- [7] Wells RG, Havens PL. Intrapleural fibrinolysis for parapneumonic effusion and empyema in children. *Radiology*. 2003; 228(2):370-378, doi: 10.1148/radiol.2282020486.
- [8] Ahmed AEH, Yacoub TE. Empyema Thoracis. *Clinical Medicine Insights Circulatory, Respiratory and Pulmonary Medicine*. 2010; 4:1-8, doi: 10.4137/ccrpm.s5066.
- [9] Karkhanis VS, Joshi, JM. Pleural effusion: diagnosis, treatment, and management. *Open Access Emerg. Med*. 2012; 4:31–52, doi:10.2147/OAEM.S29942.
- [10] Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC Jr. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med*. 1972; 77(4):507-513, doi: 10.7326/0003-4819-77-4-507.
- [11] Light RW. The Light criteria: the beginning and why they are useful 40 years later. *Clin Chest Med*. 2013; 34(1):21-26, doi: 10.1016/j.ccm.2012.11.006.
- [12] Teřl M, Pešek M, Tauchman A. Pleurální výpotek v interní praxi. *Vnitř Lék*. 2005; 51(4):430-437.

- [13] Uzan, G., İkitimur, H. Pleural Effusion in End Stage Renal Failure Patients. *Sisli Etfal Hastan Tip. Bul.*, 2019, 1953(1), 54-57, doi:10.14744/SEMB.2018.40327.
- [14] Wiener-Kronish JP, Matthay MA, Callen PW, Filly RA, Gamsu G, Staub NC. Relationship of pleural effusions to pulmonary hemodynamics in patients with congestive heart failure. *Am Rev Respir Dis.* 1985; 132:1253-1256, doi: 10.1164/arrd.1985.132.6.1253.
- [15] Kelbich P, Adam P, Sobek O, Koudelková M, Procházka J, Hanuljaková E, Válková R, Tomaškovič M, Krušina M. Základní vyšetření likvoru v diagnostice postižení centrálního nervového systému. *Neurologie pro praxi.* 2009; 10(5):285-289.
- [16] Kelbich P, Slavík, S, Jasanská J, Adam P, Hanuljaková E, Jermanová K, Řepková E, Šimečková M, Procházková J, Gajdošová R, Sobek O, Zeman D, Nekola P. 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.
- [17] Kelbich P, Hejčl A, Selke Krulichová I, Procházka J, Hanuljaková E, Peruthová J, Koudelková M, Sameš M, Krejsek J. Coefficient of energy balance, a new parameter for basic investigation of the cerebrospinal fluid. *Clin Chem. Lab. Med.* 2014; 52:1009–1017, doi: 10.1515/cclm-2013-0953.
- [18] Kelbich P, Hejčl A, Procházka J, Čuchran P, Hanuljaková E, Peruthová J, Koudelková M. Koeficient energetické bilance jako užitečný pomocník v likvorové diagnostice zánětlivých postižení centrálního nervového systému. *Neurologia.* 2013; 8(3):123-128.
- [19] 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.
- [20] Kelbich P, Procházka J, Sameš M, Vachata P, Hušková E, Peruthová J, Hanuljaková E, Špička J. Principy a zvláštnosti neurochirurgické a neurointenzivistické likvorologie (1. část: Úvod do problematiky). *Klin. Biochem. Metab.* 2011; 19(40):223-228.
- [21] Kelbich P, Hejčl A, Staněk I, Svítlová E, Hanuljaková E, Sameš M. Principles of the cytological-energy analysis of the extravascular body fluids. *Biochem. Mol. Biol. J.* 2017; 3:1-3, doi: 10.21767/2471-8084.100031
- [22] Kelbich P, Malý V, Matuchová I, Čegan M, Staněk I, Král J, Karpjuk O, Moudrá-Wünschová I, Kubalík J, Hanuljaková E, Krejsek J. Cytological-energy analysis of pleural effusions. *Ann. Clin. Biochem.* 2019; 56:630–637, doi: 10.1177/0004563219845415.

- [23] Kelbich P, Radovnický T, Selke-Krulichová I, Lodin J, Matuchová I, Sameš M, Procházka J, Krejsek J, Hanuljaková E, Hejčl A. Can Aspartate Aminotransferase in the Cerebrospinal Fluid Be a Reliable Predictive Parameter? *Brain Sci.* 2020; 10:698-705, doi: 10.3390/brainsci10100698.
- [24] Matuchová I, Kelbich P, Kubalík J, Hanuljaková E, Staněk I, Maly V, Karpjuk O, Krejsek J. Cytological-energy analysis of pleural effusions with predominance of neutrophils. *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2020; 14:1-10, doi: 10.1177/1753466620935772.
- [25] Sobek O, Adam P, Kelbich P, Koudelková M, Doležil D, Kasík J, Hajduková L, Krušina M, Hybeřová M. Vyšetření likvoru – současné možnosti. *Neurologie pro praxi.* 2009; 10(5):261-265.
- [26] Sobek O, Dušková J. *Laboratorní vyšetření likvoru.* Štětkářová, I a kol., eds. Spinální neurologie. Praha: Maxdorf, 2019:57-83.
- [27] Zeman D. *Praktický průvodce laboratorním vyšetřením likvoru.* Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2018:136 stran.
- [28] Matuchová I. *Stanovení aspartátaminotransferasy v likvoru pro detekci destrukce tkáně centrálního nervového systému* (bakalářská práce). Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2014:59 stran.
- [29] Matuchová I, Kelbich P, Kubalík J, Staněk I, Špička J, Malý V, Karpjuk O, Hanuljaková E, Krejsek J. Pleurální výpotky - cytologicko-energetická analýza versus tradiční Lightova kritéria. *Klin. Biochem. Metab.* 2021; 29(50):190 – 198.
- [30] 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, doi: 10.2307/2531595.
- [31] Light RW. Parapneumonic effusions and empyema. *Clin Chest Med.* 1985; 6(1):55-62, doi: 10.1513/pats.200510-113JH
- [32] McCauley L, Dean N. Pneumonia and empyema: causal, casual or unknown. *J Thorac Dis.* 2015; 7(6):992-998, doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.04.36
- [33] Borregaard N, Herlin T. Energy metabolism of human neutrophils during phagocytosis. *J Clin Invest.* 1982; 70(3):550-557, doi: 10.1172/jci110647.
- [34] Karlson, P. *Základy biochemie.* 3. vyd. Praha: Academia, 1981:504 stran.
- [35] Chughtai M, Gwam CU, Mohamed N, Khlopas A, Newman JM, Khan R, Nadhim A, Shaffiy S, Mont MA. The Epidemiology and Risk Factors for Postoperative Pneumonia. *J Clin Med Res.* 2017; 9(6):466-475, doi: 10.14740/jocmr3002w

- [36] Özcan PE, Şentürk E. Pneumonia After Thoracic Surgery. *Postoperative Care in Thoracic Surgery*. 2017; 207–217, doi:10.1007/978-3-319-19908-5_14.
- [37] Lucchesi BR. Complement, neutrophils and free radicals: mediators of reperfusion injury. *Arzneimittelforschung*. 1994; 44(3A):420-432.
- [38] Antus B, Barta I. Exhaled breath condensate pH in patients with lung cancer. *Lung Cancer*. 2012; 75(2):178-180, doi: 10.1016/j.lungcan.2011.07.007.
- [39] 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.
- [40] Rosado-de-Christenson ML, Templeton PA, Moran CA. Bronchogenic carcinoma: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*. 1994; 14(2):429-446, doi: 10.1148/radiographics.14.2.8190965.
- [41] Siddiqui F, Siddiqui AH. Lung Cancer. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482357>>).
- [42] Garvia V, Paul M. Empyema. (naposled připojeno 13. července 2021, dostupné na <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459237>>).
- [43] Porcel JM. Chest Tube Drainage of the Pleural Space: A Concise Review for Pulmonologists. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2018; 81(2):106-115, doi:10.4046/trd.2017.0107.
- [44] Wells RG, Havens PL. Intrapleural fibrinolysis for parapneumonic effusion and empyema in children. *Radiology*. 2003; 228(2), 370-378, doi: 10.1148/radiol.2282020486.
- [45] 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):187-194, doi: 10.1164/ajrccm/144.1.187.

8. Přehled publikační činnosti disertantky

• Původní vědecké práce v impaktovaném časopise

Matuchová I, Kelbich P, Kubalík J, Hanuljaková E, Staněk I, Malý V, Karpjuk O, Krejsek J. Cytological-energy analysis of pleural effusions with predominance of neutrophils. *Ther Adv Respir Dis.* 2020; 14:1-10, doi: 10.1177/1753466620935772. Také dostupné z <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32600177>> **IF=4,031**

Kelbich P, Vachata P, Malý V, Novotný T, Špička J, **Matuchová I**, Radovnický T, Staněk I, Kubalík J, Karpjuk O, Smiško F, Hanuljaková E, Krejsek J. Neutrophils in Extravascular Body Fluids: Cytological-Energy Analysis Enables Rapid, Reliable and Inexpensive Detection of Purulent Inflammation and Tissue Damage. *Life.* 2022; 12:1-13. Také dostupné z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8877237/>> **IF=3,817**

Kelbich P, Hejčl A, Krejsek J, Radovnický T, **Matuchová I**, Lodin J, Špička J, Sameš M, Procházka J, Hanuljaková E, Vachata P. Development of the Cerebrospinal Fluid in Early Stage after Hemorrhage in the Central Nervous System. *Life (Basel).* 2021;11(4):1-11, doi: 10.3390/life11040300. Také dostupné z <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33915782>> **IF=3,817**

Kelbich P, Radovnický T, Selke-Krulichová I, Lodin J, **Matuchová I**, Sameš M, Procházka J, Krejsek J, Hanuljaková E, Hejčl A. Can aspartate aminotransferase in the cerebrospinal fluid be a reliable predictive parameter? *Brain Sciences.* 2020; 10(10):1-7, doi: 10.3390/brainsci10100698. Také dostupné z <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33019758>> **IF=3,703**

Kelbich P, Malý V, **Matuchová I**, Čegan M, Staněk I, Král J, Karpjuk O, Moudrá-Wünschová I, Kubalík J, Hanuljaková E, Krejsek J. Cytological-energy analysis of pleural effusions. *Ann Clin Biochem.* 2019; 56 (6):630-637, doi: 10.1177/0004563219845415. Také dostupné z <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31037951>> **IF=2,268**

Hajduková L, Sobek O, Prchalová D, Bílková Z, Koudelková M, Lukášková J, **Matuchová I**. Biomarkers of Brain Damage: S100B and NSE Concentrations in Cerebrospinal Fluid--A

Normative Study. *Biomed Res Int.* 2015; 1-7, doi: 10.1155/2015/379071. Také dostupné z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4569754>> **IF=3,411**

- **Původní vědecké práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise**

Matuchová I, Kelbich P, Kubalík J, Staněk I, Špička J, Malý V, Karpjuk O, Hanuljaková E, Krejsek J. Pleurální výpotky - cytologicko-energetická analýza versus tradiční Lightova kritéria. *Klin. Biochem. Metab.* 2021; 29(50):190 – 198. Také dostupné z < https://www.cskb.cz/wp-content/uploads/2022/02/KBM_4_2021_Matuchova.pdf>.

- **Přednášky na odborných setkáních**

Matuchová I: Cytological-energy analysis of pleural effusions from patients with chest empyema and other impairment with predominance of neutrophils in pleural effusion
15. fakultní konference studentů doktorského studia, Hradec Králové, 21.10.2019

Matuchová I, Šimková J: Průtoková cytometrie partnerem cytologického vyšetření serosních zánětů CNS
XXVII. Cytologický den, Kobyli, 19.9.2019

Matuchová I: Cytologicko-energetická analýza pleurálních výpotků.
XII. Symposium pro laboratorní a klinické aspekty likvorologie, neuroimunologie a analýzy extravaskulárních tekutin, Praha, 12.6.2018

- **Pedagogická činnost na katedře biologických a biochemických věd Fakulty chemicko-technologické, Univerzita Pardubice**

Matuchová I: Likvorologie, albuminový quocient, intrathekální protilátky, 30.11.2021.

Matuchová I: Blotovací techniky pro průkaz autoprotiátěk, 13.4.2021.

Matuchová I: Likvorologie, albuminový quocient, intrathekální protilátky, 4.11.2020.

Matuchová I: Blotovací techniky pro průkaz autoprotiátěk, 13.4.2022.