

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Kardiochirurgická klinika FN a LF UK v Hradci Králové

INTERSTICIÁLNÍ MIKRODIALÝZA V KARDIOCHIRURGII

MUDr. Marek Pojar

Autoreferát disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Jan Dominik, CSc.

Školitel – konzultant: Doc. MUDr. Jiří Mandřák, PhD.

Hradec Králové 2008

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Chirurgie na Kardiochirurgické klinice Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze.

Uchazeč: MUDr. Marek Pojar
Kardiochirurgická klinika, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

Školitel: Prof. MUDr. Jan Dominik, CSc.
Kardiochirurgická klinika, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

Konzultant: Doc. MUDr. Jiří Mandřák, PhD.
Kardiochirurgická klinika, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

Oponenti: Prof. MUDr. Jan Černý, CSc.
Centrum kardiiovaskulární a transplantační chirurgie, Brno

Prof. MUDr. Zbyněk Straka, CSc.
Kardiochirurgická klinika, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Stanovisko k disertaci bylo vypracováno vedením Kardiochirurgické kliniky Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové.

Obsah

2. Zkratky	4
3. Úvod	5
3.1 Intersticiální mikrodialýza	7
4. Cíl práce	7
5. Změny metabolismu v periferním (kosterním) svalu během kardiochirurgické operace: on-pump versus off-pump revaskularizace	8
5.1. Soubor nemocných	8
5.2. Metodika a materiál	8
5.2.1. Anestezie	8
5.2.2. On-pump technika	8
5.2.3. Off-pump technika	9
5.2.4. Mikrodialýza (design)	9
5.2.5. Analýza vzorků	10
5.3. Statistické zpracování	10
5.4. Výsledky	11
5.5. Diskuze	17
6. Tkáňové a plazmatické koncentrace cefuroximu během kardiochirurgické operace s mimotělním oběhem	21
6.1. Experimentální část (in vitro stanovení antibiotik)	21
6.1.1. Metodika a materiál – experimentální část	21
6.2. Klinická část (in vivo stanovení tkáňových koncentrací antibiotik)	21
6.2.1. Soubor	21
6.2.2. Metodika a materiál – klinická část	22
6.2.2.1. Anestezie	22
6.2.2.2. Operační technika, mimotělní oběh	22
6.2.2.3. Antibiotická profylaxe	22
6.2.2.4. Mikrodialýza (design)	22
6.2.2.5. Analýza vzorků	23
6.2.3 Statistické zpracování a výpočty	23
6.3. Výsledky	24
6.3.1. In vitro pokus	24
6.3.2. In vivo pokus	24
6.4. Diskuze	28
7. Závěr	30
8. Souhrn	32
9. Summary	33
10. Přehled publikační a přednáškové aktivity autora	34
11. Literatura	36

2. Zkratky

ACT – activated clotting time

ALT – alaninaminotransferáza

AST – aspartátaminotransferáza

ATB – antibiotikum

AUC – area under the curve (plocha pod křivkou)

HPLC – vysokotlaká kapalinová chromatografie

ICHS – ischemická choroba srdeční

JIP – jednotka intenzivní péče

LPR – lactate/pyruvate ratio

MIC – minimální inhibiční koncentrace

MO – mimotělní oběh

OPCAB – off-pump coronary artery bypass

RIM, RMS, RPLS – ramus intermedius, r. marginalis sinister, r. posterolateralis sinister

3. Úvod

Kardiochirurgická léčba srdečních onemocnění, především ischemické choroby srdeční a onemocnění chlopenního aparátu, se stala v rozvinutých zemích standardní metodou léčby těchto onemocnění. Během operace dochází v organismu k výrazným změnám fyziologických funkcí, na kterých se v případě srdeční operace podílí především použití mimotělního oběhu. Ty jsou způsobeny především stykem krve s cizím povrchem systému mimotělního oběhu, změnami v hemodynamice, hemodilucí a hypotermií během mimotělního oběhu. Negativní účinky mimotělního oběhu na lidský organismus se mohou podílet na rozvoji závažných pooperačních komplikací.

Operace s využitím mimotělního oběhu, ale i revaskularizace bez jeho použití jsou spojeny se změnami fyziologických funkcí organismu. Jak již bylo popsáno výše, ovlivňuje samotný mimotělní oběh mnoho základních fyziologických funkcí. K ovlivnění organismu dochází nepochybně také během revaskularizace technikou off-pump (bez mimotělního oběhu). Úspěšné provedení koronárních anastomózy vyžaduje vizualizaci místa distální anastomózy. Toho je docíleno pomocí polohování srdce v perikardiálním vaku nebo mechanickou stabilizací části srdeční stěny. Následkem je obvykle pokles arteriálního tlaku. Pokles krevního průtoku v periferní tkáni pak může vést k změnám tkáňového metabolismu s následným ovlivněním pooperačního průběhu, včetně vzniku pooperačních komplikací.

Mezi vyvolávající příčiny vzniku peroperačních a pooperačních komplikací patří systémové a orgánové změny, ke kterým dochází v důsledku sníženého prokrvení některých tkání během operace a v časném pooperačním období. Při srdeční operaci dochází k redistribuci krevního toku v periférii a splachniku v důsledku vazokonstrikce v těchto oblastech (8, 15, 26, 32, 41). Tyto změny pak mohou vést k závažným renálním, gastrointestinálním či jiným komplikacím. Změny v organismu, způsobené použitím mimotělního oběhu (celková zánětlivá reakce, poruchy hemokoagulace, mechanické poškození elementů), ale také během operace off-pump se mohou rozhodující měrou podílet na rozvoji pooperačních komplikací.

Doposud však neexistuje metoda, která by byla schopna exaktně stanovit změny prokrvení těchto oblastí a mapovat tak jejich metabolismus. Přímé měření průtoku splachníkem či kosterním svalem během rutinní srdeční operace je technicky neschůdné. Vyhodnocování standardně sledovaných parametrů (arteriální krevní tlak, centrální žilní tlak, srdeční frekvence, saturace O_2 v kapilárním řečišti, teplota, periferní cévní rezistence ap.) během výkonu poskytuje výsledky celkové, neinformuje však o regionálních změnách a neumožňuje kontinuální sledování změn v extracelulárním prostoru. Tento prostor je v přímém kontaktu s buňkami tkáni, a změny v jeho složení tak odrážejí aktuální metabolický stav buněk. Klasické metody studia metabolických změn v tkáních a orgánech, zahrnující vyšetřování dostupných tělesných tekutin nebo vzorků získaných biopsií, zprostředkovávají pouze celkové informace o vyšetřované tkáni. Jednou z možností monitorace extracelulárního prostoru je kontinuální sledování pomocí mikrodialýzy. Je to minimálně invazivní metoda pro studium intersticiálního metabolismu orgánů a tkáni za fyziologických i patologických podmínek. Nespornou výhodou této metody je možnost sběru vzorků z různých míst. Umožňuje sledovat kinetiku vybraných analytů (endogenních i exogenních) v místech, která nejsou žádným jiným známým způsobem dostupná. Analýza vybraných látek intersticiálního metabolismu, především pak změny koncentrací v čase, umožňuje hodnotit aktuální metabolický stav vyšetřované tkáně. Schopnost stanovit intersticiální koncentrace exogenních látek, tedy látek do organismu vpravených, skýtá další výhodu této metody. Tak lze např.

sledovat koncentrace profylakticky podávaných antibiotik v extracelulárním prostoru jednotlivých tkání v průběhu operace i v pooperačním průběhu a díky tomu udržovat požadovanou koncentraci antibiotika v tkáních. Je to jedna z cest, jak snížit výskyt závažných infekčních komplikací.

Výskyt všech druhů nozokomiálních infekcí v souvislosti s kardiochirurgickým výkonem je udáván mezi 5 a 20 % (20, 33). Ranné a mediastinální infekce spolu s pooperační endokarditidou vedou k zvýšené pooperační morbiditě a mortalitě, k prodloužení délky celkové hospitalizace a zvýšeným ekonomickým nákladům. Incidence ranných infekčních komplikací je udávána v rozmezí 0,9–20 % (36), incidence mediastinitidy v rozmezí 1–2 % (7, 16). Infekční komplikace v kardiochirurgii vyžadují většinou opakovanou chirurgickou, vysoce rizikovou intervenci společně s velmi agresivní a ekonomicky nákladnou medikamentózní léčbou. Použití syntetických materiálů v chirurgických oborech, jako např. chlopnenních protéz nebo cévních náhrad, může mít v případě infekčních komplikací pro nemocné tragické následky.

Na průniku a rozšíření infekčního agens se během srdeční operace podílí řada faktorů. Několik hodin trávající výkony, rozsáhlé operační pole, katétry umístěné ve velkých cévách operovaného, mimotělní oběh spolu s hypotermií a hemodilucí nebo kanyly pro MO, změny perфуze periferních tkání během operace, vlastní negativní dopady MO na imunitní systém a krevní elementy. Farmakokinetika antibiotik během výkonu v mimotělním oběhu je dále ovlivněna hemodilucí, hypotenzí a sníženou perfúzí periferních tkání, celkovou hypotermií, sníženou renální funkcí a clearance, alterací vazebné schopnosti bílkovin, sekvestrací antibiotik v systému MO, změnami v distribučním objemu a izolací plic z cirkulace (19, 28, 29).

Kardiochirurgický nemocný má často řadu přidružených onemocnění, které dále zvyšují riziko následných pooperačních komplikací, včetně infekčních. Mezi rizikové faktory vzniku ranných infekcí a mediastinitidy patří např. diabetes mellitus, obezita, reoperace, zhoršené renální funkce, délka operace a mimotělního oběhu, použití obou vnitřních mamárních arterií jako štepů aj. (7, 33, 36, 46).

Antibiotická profylaxe bakteriálních infekcí se stala standardní metodou ochrany pacientů během kardiochirurgické operace a v časném pooperačním období (13). Cílem antimikrobiální profylaxe je dosažení takové sérové a tkáňové hladiny antibiotika, která v době operace přesahuje minimální inhibiční koncentrace pro organizmy, jež mohou být příčinou infekční pooperační komplikace. Otázkou je, zdali profylaxe, která je na kardiochirurgických pracovištích v současnosti praktikována, chrání nemocného dostatečně po celou dobu operace a v časném pooperačním období. Studie hodnotící adekvátnost dávkovacích schémat profylakticky podávaných antibiotik jsou standardně založeny na vyhodnocení sérových koncentrací antibiotik. Výrobci léků navíc neuvádějí informace o dávkování daného léčiva v případě chirurgických operací s použitím mimotělního oběhu. V případě ranných infekcí probíhá infekce častěji v extracelulárním prostoru než v plazmě. V určení terapeutického efektu je tak důležitější určení koncentrace volného (nevázaného) antibiotika v intersticiální tekutině, které je zodpovědné za antibakteriální efekt. Nedostatečná hladina antibiotika v cílové tkáni může být tedy jednou z příčin selhání antiinfekční terapie a rozvoje lékové rezistence. Jednou z možností, jak měřit koncentraci volného nevázaného léčiva, může být i intersticiální mikrodiálýza (22, 23).

3.1 Intersticiální mikrodialýza

K monitorování extracelulárního prostoru periferní tkáně během srdeční operace lze použít metodu intersticiální mikrodialýzy.

Mikrodialýza je založena na získávání vzorků solubilních látek z intersticiálního prostoru tkání přestupujících semipermeabilní membránou do perfuzního roztoku, který je následně analyzován. Základním principem mikrodialýzy je vlastně napodobit funkci krevní kapiláry (3, 12, 42). Ta je představována mikrodialyzační sondou, která je proplachována vhodným fyziologicky neutrálním elektrolytovým roztokem (např. Ringerův roztok). Perfuzní roztok je přiváděn k semipermeabilní membráně, kde dochází k přestupu látek, a následně odchází již jako mikrodialyzát. K vyrovnání dochází na základě difuze látek podél koncentračního gradientu přes dialyzační membránu (9). Skutečná koncentrace látek v extracelulárním prostoru nemůže být jednoduše určena z koncentrace látky v mikrodialyzátu. Ve většině případů dochází k nedokonalému, (inkompletnímu) vyrovnání koncentrací látek mezi intersticiem a perfuzním roztokem v sondě (9, 37, 40). Hovoříme o tzv. recovery či extrakční frakci. Relativní recovery, hodnota uvedená v procentech, vyjadřuje poměr mezi koncentrací látky v mikrodialyzátu a v intersticiálním prostoru. Relativní recovery (%) = $100 \times \text{koncentrace}_{\text{dialyzát}} \times \text{koncentrace}_{\text{intersticiem}}^{-1}$ (40). Tato hodnota je ovlivněna mnoha faktory (rychlost perfuze, molekulární hmotnost stanovené látky, vlastnosti membrány atd.).

4. Cíl práce

- 1) Vyhodnotit použití intersticiální mikrodialýzy při výzkumu extracelulárního prostoru periferních tkání se zaměřením na kardiochirurgické operace.
- 2) Kontinuálně monitorovat metabolické změny odehrávající se v extracelulárním prostoru kosterního svalu během srdeční operace metodou intersticiální mikrodialýzy.
- 3) Pomocí mikrodialýzy porovnat dvě standardní metody revaskularizačních operací myokardu pro ICHS. Operací uskutečňovaných v mimotělním oběhu a operací bez mimotělního oběhu (OPCAB). Zjištěním rozdílů metabolické aktivity periferních tkání a jejich prokrvení během odlišných způsobů vedení operace v korelaci s ostatními výsledky a pooperačním stavem nemocného porovnat dané metody vedení operací.
- 4) Stanovit vzájemnou závislost (korelaci) mezi vybranými biochemickými markery tkáňového metabolismu kosterního svalu, stanovenými mikrodialýzou, a vybranými parametry v pooperačním a pooperačním průběhu chirurgické revaskularizace.
- 5) Určit a vyhodnotit tkáňové (extracelulární) koncentrace profylakticky podávaného antibiotika během kardiochirurgické operace v mimotělním oběhu zcela novou metodou intersticiální mikrodialýzy.
- 6) Posoudit adekvátnost standardně používaného dávkovacího schématu vybraného profylakticky podávaného antibiotika během srdeční operace v mimotělním oběhu a posoudit vliv mimotělního oběhu na distribuci antibiotika do periferní tkáně. Porovnat získané intersticiální koncentrace a koncentrace antibiotika v plazmě, porovnat zjištěné koncentrace s minimální inhibiční koncentrací (MIC) testovaného antibiotika pro předpokládaná agens.

5. Změny metabolismu v periferním (kosterním) svalu během kardiochirurgické operace: on-pump versus off-pump revaskularizace

5.1. Soubor nemocných

Soubor této části studie byl tvořen 40 náhodně vybranými nemocnými s ischemickou chorobou srdeční, u kterých byla provedena srdeční operace, chirurgická revaskularizace myokardu, na Kardiochirurgické klinice Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty v Hradci Králové Univerzity Karlovy v Praze. Studie probíhala se souhlasem etické komise Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Nemocní byli před zařazením do studie plně informováni o průběhu studie a podepsali informovaný souhlas. Do studie bylo zařazeno čtyřicet nemocných (33 mužů, 7 žen), kteří podstoupili plánovanou chirurgickou revaskularizaci myokardu. Do studie nebyli zařazováni nemocní indikovaní k akutní operaci, reoperaci, nemocní s těžkou systolickou dysfunkcí levé srdeční komory (ejekční frakce levé komory srdeční < 30 %), renálním selháním (sérový kreatinin > 180 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) nebo nemocní v dialyzačním programu, nemocní se známkami lokální nebo systémové infekce či zánětu. Všichni nemocní splňovali kritéria pro operaci bez použití mimotělního oběhu i s mimotělním oběhem. Operující kardiochirurg byl vždy s mnohaletými zkušenostmi s operační technikou bez mimotělního oběhu i s použitím mimotělního oběhu. U nemocných byla provedena veškerá rutinní předoperační vyšetření.

Nemocní byli před operací náhodně zařazeni do 2 skupin:

- Skupina A byla tvořena 20 nemocnými, u kterých byla provedena revaskularizace myokardu s použitím mimotělního oběhu (on-pump).
- Skupina B byla tvořena 20 nemocnými, u kterých byla provedena srdeční revaskularizace myokardu bez použití mimotělního oběhu (off-pump).

5.2. Metodika a materiál

5.2.1. Anestezie

Premedikace, úvod do celkové anestezie, peroperační anestezie a analgezie probíhala standardním způsobem. Anestezie a analgezie byla udržována sufentanylem (0,5 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, Sufenta, Janssen Pharmaceutica N.V., Belgie) a propofolem (1 $\text{mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, Propofol 1% „Fresenius“, FreseniusKabi Deutschland GmbH, SRN), dostatečná myorelaxace zajištěna cisatracuriem (0,04 $\text{mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, Nimbox, GSK, Itálie) v dávkách zajišťující adekvátní anestezii, myorelaxaci a hemodynamickou stabilitu v průběhu operace. Isoflurane (Forane, Abbot Laboratories, Velká Británie; 0,7-0,8%) byl přidáván v kyslíku.

5.2.2. On-pump technika

Po provedení mediální sternotomie a perikardotomie byly kanyly pro mimotělní oběh zavedeny do vzestupné aorty (arteriální kanyla) a přes pravou síň do dolní duté žíly (žilní kanyla – dvoustupňová „two-stage“ kanyla). Celková heparinizace byla zajištěna heparinem (Heparin Léčiva, Zentiva, ČR) v dávce 2,5 mg.kg^{-1} . Hodnota ACT (Activated Clotting Time)

byla udržována nad 480 sekund (HEMOCHRON[®] International Technidyne Corporation, Edison, USA). Systém mimotělního oběhu se skládal z membránového oxygenátoru s integrovaným výměníkem tepla (Polystan Safe Maxi, Maquet Cardiopulmonary AG, Hirrlingen, SRN) a válečkové pumpy s nepulzaticím tokem (Stöckert S3, Sorin Group, Mnichov, Německo). Primární náplň systému mimotělního oběhu se skládala z krystaloidů a koloidních roztoků. Náplň neobsahovala antibiotika. Operace probíhala v celkové normotermii s kalkulovaným průtokem krve $2,4 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$, střední arteriální tlak byl udržován mezi 50 a 75 mmHg. Hodnota hematokritu nad 20 % (20–25 %).

K ochraně myokardu před ischemií po dobu uzávěru aorty svorkou bylo použito integrační aplikace studeného (4 °C) krystalického kardioplegického roztoku (St. Thomas solution, Ardeapharma, Ševětín, ČR) nebo studené krevní kardioplegie (krev : roztok St. Thomas v poměru 4 : 1), která byla opakována každých 20 minut. Zevně bylo srdce ochlazováno ledovou tříští. Po provedení proximálních anastomóz a odstranění kanyl MO byl heparin vyvázán protaminem (Protamin Valeant, ICN, ČR) (1 : 1) za kontroly ACT.

5.2.3. Off-pump technika

Celková heparinizace byla zajištěna intravenózní aplikací heparinu v dávce $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, za kontroly ACT nad 250 sekund. Mechanická stabilizace místa koronární arteriotomie byla zajištěna pomocí mechanického stabilizátoru Guidant (Guidant Acrobat, Vacuum Stabilizer System, Santa Clara, CA, USA) nebo pomocí stabilizátoru Octopus (Octopus Evolution Tissue Stabilizer, Medtronic Inc., Minneapolis, USA). Hemostáza zajištěna pomocí silikonového turniketu okolo koronární arterie. K zlepšení vizualizace místa anastomózy jsme použili „blower“ s oxidem uhličitým (Guidant Axis Blower, Guidant, CA, USA). Po provedení koronární arteriotomie byla provedena vlastní anastomóza. V případě známek hemodynamické nebo elektrokardiografické nestability byl použit intraluminální „shunt“ (Guidant Axis Coronary Shunt, Guidant, CA, USA). Po skončení revaskularizace byl heparin vyvázán protaminem.

5.2.4. Mikrodialýza (design)

Po úvodu do celkové anestezie, před vlastním chirurgickým zákrokem, byl nemocnému za sterilních podmínek a bez použití lokální anestezie zaveden do levého deltového svalu mikrodialyzační katétr CMA 60 (CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko). Jedná se o komerčně vyráběný katétr obsahující semipermeabilní membránu z polyamidu (délka membrány 30 mm, vnější průměr 0,6 mm) a s „cut-off“ membrány 20 000 Daltonů. Sonda byla v průběhu celého experimentu proplachována Ringerovým roztokem (Ringer's solution, Braun Melsungen AG, Melsungen, Německo) konstantní rychlostí $0,1 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ pomocí lineární pumpy (Pilote A2 IS2, Fresenius Vial, Le Grand Chemin, Brezins, Francie).

Před zahájením vlastního sledování byl katétr po dobu minimálně 30 minut proplachován Ringerovým roztokem. Odebírání vzorků bylo zahájeno v době kožní incize. Mikrodialyzáty byly odebírány v 30minutových intervalech v průběhu celé operace ($t_{0,5} = 30$ minut, $t_{1,0} = 30$ minut – 60 minut atd.). Při výměně zkumavek bylo počítáno s „mrtvým prostorem“ (časové zpoždění) mezi vlastní membránou a místem jímání vzorků do

mikrozkumavky (2 min pro rychlost perfuze $0,1 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$). Po skončení operace byl po provedení kožní sutyry za sterilních podmínek katétry odstraněn. Mikrodialyzáty byly jímány do speciálních uzavřených mikrozkumavek (CMA Microvials, CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko) zabráňujících odpařování vzorku. Do doby biochemické analýzy byly vzorky zmrazeny.

5.2.5. Analýza vzorků

Vzorky mikrodialyzátů byly do doby biochemické analýzy zamrazeny a uchovány při $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. Analýza vzorků probíhala v Ústavu klinické biochemie a diagnostiky Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Ve vzorcích byly (bez dalšího preanalytického zpracování) kolorimetricky stanoveny koncentrace glukózy, laktátu, pyruvátu a glycerolu pomocí biochemického analyzátoru CMA 600 Microdialysis Analyser (CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko) dle manuálu výrobce.

5.3. Statistické zpracování

Statistické zpracování bylo provedeno ve spolupráci s Ústavem lékařské biofyziky Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu NCSS 2007 a programu Statistica. Zvolená hladina významnosti byla $\alpha = 0,05$.

Demografická, peroperační a pooperační data jsou prezentována jako počet (procento), data s normálním rozložením jako průměr \pm směrodatná odchylka nebo jako medián (minimum – maximum), pokud nesplňovala kritéria normálního rozložení.

K porovnání kvantitativních předoperačních, peroperačních a pooperačních parametrů mezi oběma skupinami (on-pump versus off-pump) byl použit dvouvýběrový t-test (parametrické porovnání), případně Mann-Whitney test nebo Kolmogorov-Smirnovův test (neparametrické porovnání). Kvalitativní parametry byly zhodnoceny pomocí χ^2 testu nezávislosti v kontingenční tabulce, případně byl použit Fisherův přesný test.

Výsledky měření jednotlivých parametrů (absolutní + relativní data) jsou vyjádřeny jako medián (25. - 75. percentil). Relativní hodnoty (absolutní změřené hodnoty vyjádřeny jako procento první naměřené hodnoty v čase $t_{0,5}=100\%$).

Porovnání hodnot mezi souborem on-pump versus off-pump bylo provedeno pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) s opakovanými měřeními s následným vícenásobným porovnáním Fisherovým LSD testem (parametrické porovnání) a Mann-Whitney testu případně Kolmogorov-Smirnovova testu (neparametrické porovnání). Porovnání časového vývoje pro každý parametr bylo provedeno (zvlášť ve skupině on-pump a off-pump) pomocí Friedmanovy neparametrické analýzy rozptylu a Wilcoxonova párového testu (s Bonferroniho korekcí na dosaženou hladinu významnosti).

Souvislost mezi námi změřenými koncentracemi látky (glukóza, laktát, pyruvát a glycerol) v kosterním svalu v průběhu operace a vybranými peroperačními a pooperačními parametry byla hodnocena pomocí Spearmanova korelačního koeficientu.

Z hodnot naměřených v průběhu celé operace byla vypočtena individuální plocha pod křivkou (AUC, area under the curve) pro daný parametr. AUC byla pro absolutní hodnoty (AUC_{abs}) vypočtena lichoběžníkovým pravidlem. Pro daný interval sběru byla AUC_{abs} vypočtena podle vzorce $T \times (h_{1abs} + h_{2abs}) / 2$, kde T je délka intervalu sběru v hodinách, h_{1abs} a h_{2abs} jsou hraniční hodnoty měřeného parametru (např. koncentrací analytu) v intervalu sběru, kterými se rozumí hodnoty na konci předchozího a aktuálního sběru (rozměr tudíž dle parametru představoval buď $mmol.l^{-1}.h$, nebo $\mu mol.l^{-1}.h$). Úhrnná AUC_{abs} tot pro daného pacienta byla dána sumou dílčích hodnot získaných za celkovou dobu sledování. Hodnoty ploch pod křivkou (AUC) jsou prezentována jako medián (25.–75. percentil). Porovnání AUC mezi skupinou on-pump a off-pump bylo provedeno pomocí dvouvýběrového t-testu, případně Mann-Whitneyho testu nebo Kolmogorov-Smirnovova testu (neparametrické porovnání).

5.4. Výsledky

a) předoperační a pooperační charakteristiky

Soubor této části studie byl tvořen 40 nemocnými, kteří podstoupili chirurgickou revaskularizaci myokardu. Do skupiny A bylo zařazeno 20 nemocných operovaných s použitím mimotělního oběhu. Soubor se skládal ze 17 mužů a 3 žen s průměrným věkem 67 let. Ve skupině B bylo 20 nemocných operovaných bez použití mimotělního oběhu. Skupina byla složena z 16 mužů a 4 žen s průměrným věkem 66 let. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi soubory v základních demografických, anamnestických a předoperačních laboratorních vyšetřeních.

Byl zjištěn statisticky významný rozdíl v délce operace ($p < 0,01$). Delší operační čas byl zaznamenán ve skupině on-pump. Porovnáním průměrného počtu distálních anastomóz provedených u jednoho nemocného byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi oběma soubory ($p < 0,05$). Vyšší průměrný počet distálních anastomóz provedených u jednoho nemocného ve skupině on-pump byl zapříčiněn vyšším počtem distálních anastomóz v oblasti ramus circumflexus (RIM, RMS, RPLS) ve skupině on-pump ($p < 0,001$). U všech nemocných ve skupině on-pump byla použita vena saphena magna jako štěp, zatímco ve skupině off-pump pouze u 70 % nemocných ($p < 0,05$). V této skupině byla u všech nemocných použita arteria mammaria sin. (včetně sekvence) a u jednoho nemocného jako štěp arteria radialis. Ve skupině on-pump byla zaznamenána statisticky významně vyšší diuréza během operace ve srovnání se skupinou off-pump (1 200 ml versus 500 ml, $p < 0,01$).

U jednoho nemocného ve skupině on-pump došlo pooperačně k rozvoji ischemie myokardu (nedošlo k vývoji infarktu myokardu). Relativně častou komplikací v pooperačním období byla u obou skupin nemocných fibrilace síní (30–35 %), která však nebyla spojena s hemodynamickou nestabilitou. U 4 nemocných (20 %) ve skupině on-pump byly v pooperačním období na JIP zaznamenány klinické nebo laboratorní známky nízkého srdečního výdeje. K pooperační povrchové infekci kůže a podkoží v místě sternotomie, potvrzené kulturací a úspěšně vyléčené, došlo u jednoho nemocného z obou souborů.

Nebyl zaznamenán významný rozdíl mezi oběma soubory v základních předoperačních laboratorních vyšetřeních hodnotící renální a jaterní funkce, předoperační glykémii a v dalších vyšetřeních, vyjma hodnoty pCO_2a ($p < 0,05$). V pooperačních výsledcích byl nalezen rozdíl mezi oběma soubory v koncentraci urey ($p < 0,01$) a kreatininu ($p < 0,05$).

Vyšší koncentrace byly nalezeny ve skupině on-pump (hodnoty však ve fyziologických mezích). Vyšší koncentrace AST první pooperační den byla zaznamenána ve skupině on-pump ($p < 0,01$), u obou skupin došlo k elevaci AST ve srovnání s předoperační hodnotou. I když došlo i k elevaci ALT, významný rozdíl mezi soubory nebyl zaznamenán. U obou souborů došlo k poklesu koncentrace trombocytů v krvi ve srovnání s předoperačními hodnotami ($p < 0,001$). K výraznějšímu poklesu, pravděpodobně v důsledku použití mimotělního oběhu, došlo především ve skupině on-pump, kdy pooperační koncentrace trombocytů ve srovnání se skupinou off-pump byla nižší ($p < 0,05$).

b) koncentrace sledovaných látek v mikrodialyzátu („absolutní hodnoty“)

V každém získaném vzorku byla následně stanovena koncentrace glukózy, laktátu, pyruvátu a glycerolu (Obr. 1). Ze získaných výsledků byl pro každý časový interval vypočítán poměr laktát / pyruvát jako marker tkáňového metabolismu a tkáňové hypoxie. Porovnání výsledků mezi skupinou on-pump versus off-pump bylo provedeno do 3. hodiny od začátku operace, kdy bylo možno získat vzorky od všech nemocných.

Glukóza:

Časový průběh koncentrací glukózy v mikrodialyzátu byl podobný v obou skupinách. Koncentrace v mikrodialyzátu v průběhu operace vzrůstala. Ve skupině on-pump došlo k maximálnímu vzestupu koncentrace glukózy v intervalu t_{2,5} ve srovnání se základní hodnotou t_{0,5} o 150% ($p < 0,01$). U nemocných ve skupině off-pump pak došlo k maximálnímu vzestupu koncentrace glukózy ve srovnání se základní hodnotou o 90% ($p < 0,01$) v čase t_{3,0}. V žádném čase nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v koncentraci glukózy v mikrodialyzátu mezi skupinou on-pump a off-pump.

Laktát:

V průběhu operace došlo v obou skupinách k vzestupu koncentrace laktátu. Ve skupině on-pump se koncentrace laktátu zvýšila o 97% ($p < 0,01$) v čase t_{3,0} ve srovnání se základní hodnotou, ve skupině off-pump o 66% ($p < 0,01$). Koncentrace laktátu byla v jednotlivých časových intervalech vyšší ve skupině on-pump, přesto nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi skupinou on-pump versus off-pump.

Pyruvát:

Časový průběh koncentrací pyruvátu v mikrodialyzátu byl odlišný v obou skupinách. Ve skupině off-pump došlo k významnému vzestupu koncentrací pyruvátu od intervalu t_{2,0}. V čase t_{3,0} dosahovala maximální hodnota 340% hodnoty na začátku operace ($p < 0,01$). Ve skupině on-pump byl časový průběh obdobný jako ve skupině off-pump až do intervalu t_{1,5} (196% bazální hodnota; $p < 0,01$). Od intervalu t_{2,0} však došlo k poklesu koncentrací pyruvátu. Koncentrace pyruvátu byly ve skupině on-pump 2,2 – 3,2 krát menší ve srovnání s koncentracemi ve skupině off-pump. Porovnáním koncentrací pyruvátu v mikrodialyzátu ve skupině on-pump versus off-pump byly zjištěny statisticky významné rozdíly v intervalech t_{2,0} ($p < 0,01$), t_{2,5} ($p < 0,001$) a t_{3,0} ($p < 0,001$).

Glycerol:

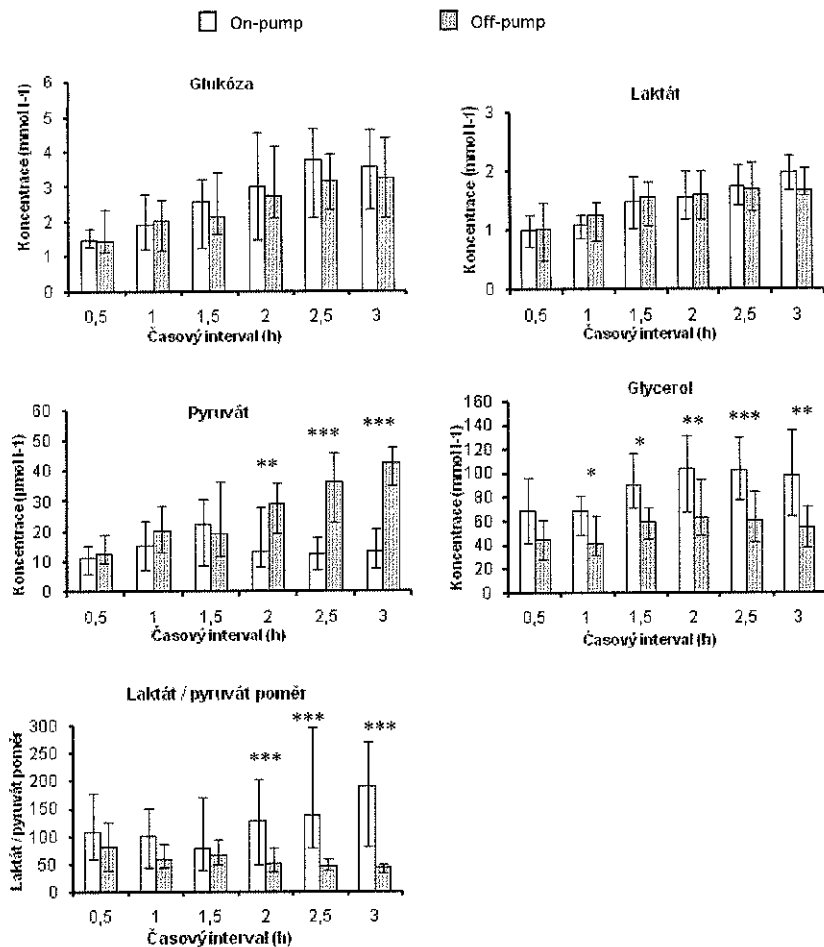
V průběhu operace byly vyšší koncentrace glycerolu změřeny ve skupině on-pump ve srovnání se skupinou off-pump, a to přibližně 1,4 – 1,7 krát vyšší. Porovnáním skupin mezi sebou byly zaznamenány statisticky významně vyšší hodnoty koncentrací glycerolu ve skupině on-pump (t1,0 a t1,5 $p < 0,05$, t2,0 a t3,0 $p < 0,01$, t2,5 $p < 0,001$). Ve skupině on-pump došlo k maximálnímu vzestupu koncentrace glycerolu v t2,0 o 51% ve srovnání s bazální hodnotou v čase t0,5.

Laktát / Pyruvát poměr:

Hodnoty koncentrací laktátu a pyruvátu v jednotlivých intervalech byly použity k výpočtu poměru laktát / pyruvát (LPR – lactate/pyruvate ratio). Vyšší koncentrace LPR byly zaznamenány ve skupině on-pump ve srovnání se skupinou off-pump. V intervalu t2,0 - t3,0 byly zaznamenány vysoce statisticky významné rozdíly ($p < 0,001$) mezi oběma soubory. K vzestupu hodnot LPR ve skupině on-pump došlo především od intervalu t2,0 s maximem v čase t3,0 (178% bazální hodnoty). Ve skupině off-pump hodnota LPR lehce klesala. Porovnáním v čase však nebyl ve skupině off-pump zaznamenán významný rozdíl.

Obř. 1. Změny koncentrací glukózy, laktátu, pyruvátu, glycerolu a hodnoty laktát / pyruvát poměru v mikrodialyzátu během chirurgické revaskularizace. Skupina on-pump (n=20), skupina off-pump (n=20). Hodnoty jsou vyjádřeny jako medián (25. - 75. percentil).

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (on-pump versus off-pump)



c) relativní hodnoty sledovaných látek v mikrodialyzátu

Získané koncentrace jednotlivých látek v mikrodialyzátu, absolutní hodnoty, byly použity k výpočtu relativních hodnot (Obr. 2). Absolutní hodnota změřeného parametru v jednotlivém časovém intervalu byla vyjádřena jako procentuální část (v %) základní hodnoty. V naší studii základní hodnotu („baseline“) představuje absolutní hodnota v intervalu t0,5, který představuje časové období sternotomie a odběru štěpů, tedy období před otevřením perikardu a manipulací se srdcem.

Glukóza:

Tak jako u hodnot absolutních, i hodnoty relativní v průběhu operace stoupaly shodně v souboru on- a off-pump (on-pump skupina vzestup na 241% základní hodnoty, $p < 0,01$; off-pump skupina na 203% základní hodnoty $p < 0,001$).

Laktát:

Relativní změny koncentrací laktátu stoupaly u obou skupin v průběhu operace. S dosaženým maximem v čase t3,0 ve skupině on-pump 204% ($p < 0,001$) a skupině off-pump 170% ($p < 0,01$). Vyšší relativní hodnoty byly zaznamenány v jednotlivých intervalech ve skupině on-pump. Statisticky významné rozdíly mezi soubory však nebyly zaznamenány.

Pyruvát:

Časový průběh relativních hodnot koncentrací pyruvátu byl v průběhu operace obdobný s průběhem absolutních hodnot. Relativní hodnoty shodně stoupaly až do intervalu t1,5. Od intervalu t2,0 byl průběh rozdílný ve skupině on- a off-pump. Ve skupině off-pump došlo k vzestupu hodnot s dosaženým maximem v čase t3,0 (326% základní hodnoty; $p < 0,001$). Ve skupině on-pump po dosažení maxima v čase t1,5 (187%; $p < 0,001$) došlo k poklesu hodnot. Porovnáním hodnot mezi oběma soubory byl zjištěn významný rozdíl v čase t2,5 ($p < 0,001$) a t3,0 ($p < 0,01$).

Glycerol:

Časový průběh byl shodný ve skupině on- i off-pump. Maximální hodnoty bylo dosaženo v čase t2,0 (on-pump 169%; $p < 0,01$; off-pump 162%; $p < 0,05$). Významné rozdíly mezi oběma soubory nebyly nalezeny.

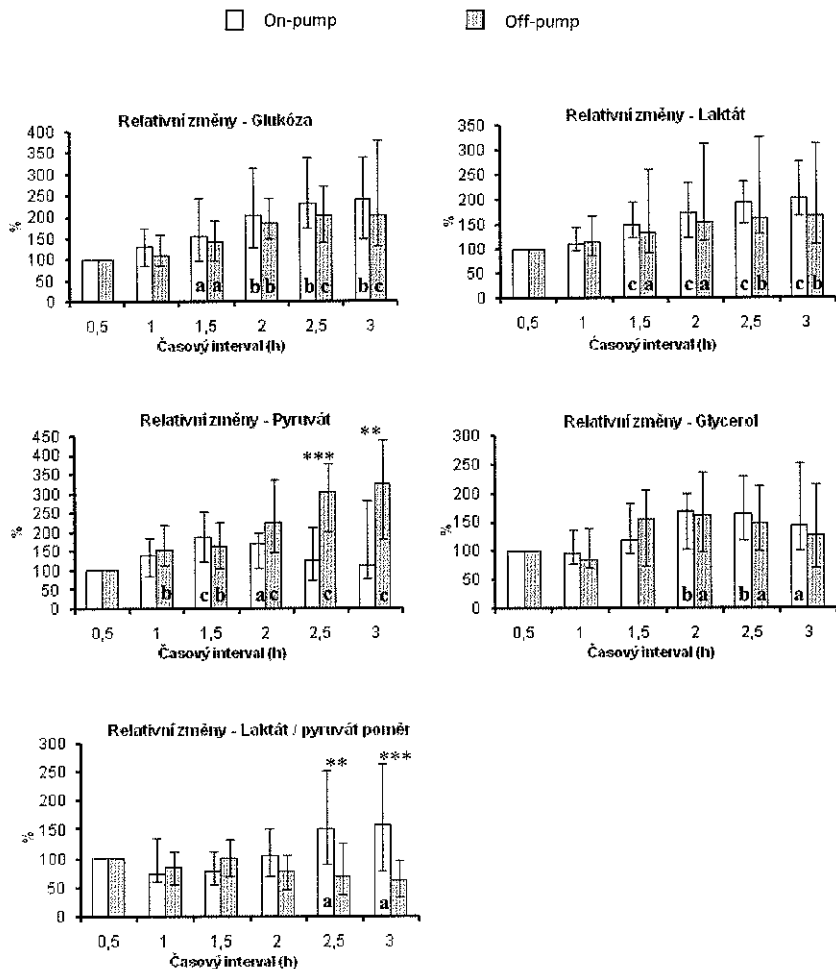
Laktát / Pyruvát poměr:

Průběh relativních hodnot poměru laktát / pyruvát se lišil mezi oběma soubory. Ve skupině on-pump došlo od intervalu t1,0 (74% základní hodnoty) k postupnému vzestupu hodnot až do konce sledovaného období (158% v čase t3,0). Střední hodnota v tomto intervalu je 2,5 krát větší ve srovnání s hodnotou ve skupině off-pump ($p < 0,001$). V souboru off-pump došlo od intervalu t2,0 k poklesu poměru LPR (62% v t3,0).

Obr. 2 Relativní změny koncentrace glukózy, laktátu, pyruvátu, glycerolu a hodnoty laktát / pyruvát poměru v mikrodialyzátu během chirurgické revaskularizace. Skupina on-pump (n=20), skupina off-pump (n=20). Hodnoty jsou vyjádřeny jako procento základní hodnoty („baseline“, 0,5 =100%). Data vyjádřena jako medián (25. - 75. percentil).

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (on-pump versus off-pump)

a $p < 0,05$; b $p < 0,01$; c $p < 0,001$ (hodnota v daném intervalu versus základní hodnota)



d) plocha pod křivkou, korelace

Absolutní hodnoty změřených koncentrací v mikrodialyzátu byly použity k výpočtu individuální plochy pod křivkou pro každý parametr.

Porovnáním hodnot plochy pod křivkou (AUC, interval 0–3 hodiny) mezi skupinou on-pump a off-pump byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi AUC_{pyruvát} (vyšší ve skupině off-pump, $p < 0,05$), AUC_{glycerol} (vyšší ve skupině on-pump, $p < 0,001$) a AUC_{laktát/pyruvát} poměr (vyšší ve skupině on-pump, $p < 0,001$).

Individuální hodnoty ploch pod křivkou (AUC_{glukóza}, AUC_{laktát}, AUC_{pyruvát}, AUC_{glycerol}, AUC_{laktát/pyruvát} poměr) pro interval t0,5–t3,0 byly následně použity k zjištění, zda-li existuje vztah (souvislost, korelace), mezi vybranými parametry (délka operace, délka hospitalizace, délka pobytu na JIP, doba ventilace, diuréza během operace, maximální dávka noradrenalinu, změna koncentrace leukocytů, BMI, věk, koncentrace laktátu a glukózy v krvi po operaci, pooperační dávky inzulínu, výsledky vyšetření krevních plynů apod.) a těmito hodnotami plochy pod křivkou. Korelace byla vypočítána také pro poslední změřené koncentrace v mikrodialyzátu (absolutní hodnoty) a vybrané pooperační parametry.

Zhodnocením Spearmanova korelačního koeficientu s příslušnou hladinou významnosti a bodových grafů nebyl nalezen těsnější vztah mezi námi měřenými parametry a některým parametrem z peroperačního období nebo anamnestických údajů.

5.5. Diskuze

Kardiologická operace, tak jako každá operace, představuje pro organizmus nefyziologický zásah do jeho integrity. Během operace dochází ke změnám ve funkci některých orgánů jako reakci na tento zásah. Dochází k porušení „homeostázy“ vnitřního prostředí. Pokračováním nebo dlouhodobým negativním působením na organizmus může dojít k takovým funkčním změnám, které již organizmus není schopen kompenzovat, a tyto změny pokračují i v pooperačním období. Změny ve funkci orgánů v pooperačním období, nebo dokonce strukturální změny se následně podílejí na vzniku nežádoucích pooperačních komplikací.

Během chirurgické revascularizace dochází k bezprostřednímu ovlivnění kardiovaskulárního aparátu se změnami hemodynamiky. To ve svém důsledku může vést ke změnám v perfuzi tkání. V důsledku poklesu prokrvení tkání dochází k posunu rovnováhy mezi poptávkou tkání po kyslíku a zásobením tkání kyslíkem. Nedostatečný přísun kyslíku do tkání vede ke vzniku ischemie, během které dochází k poklesu tvorby energie ve formě ATP (adenozintrifosfát). Pokles energetických zásob buňky vede ke změnám buněčného metabolismu (tvorba laktátu) a porušení iontového gradientu na buněčné membráně. Dochází k buněčnému edému a aktivaci enzymových kaskád, které vedou k buněčnému katabolismu. Následná reperfuze tkání a obnovení dodávky kyslíku vede k tvorbě reaktivních kyslíkových radikálů, které se dále podílejí na porušení integrity buněk, a tedy i funkce orgánů. Zvýšené známky oxidativního stresu během operace s MO ve srovnání s operací bez MO popisují shodně Gerritsen et al. (17) a Akila et al. (2).

Změny perfuze během operace s MO byly již částečně popsány na základě vyhodnocení hemodynamických parametrů, krevních plynů a hodnot metabolismu O₂ a CO₂.

Ganushchak et al. (15) na základě vyhodnocení hemodynamických parametrů a krevních vzorků popisuje pokles dodávky kyslíku (DO_2) a spotřeby kyslíku (VO_2) během MO vedeným v mírné hypotermii s následným vzestupem hodnot v pooperačním období (především v souvislosti se změnami tělesné teploty). Niinikoski et al. (32) nepřímým hodnocením změn perfuze ve splanchniku a periferní tkáni během MO (s hypotermií) popisuje hypoperfuzi a hypoxii periferní tkáně horní končetiny. Sledováním změn pH ve sliznici žaludku a oxygenace popisují dostatečnou perfuzi splanchniku během MO s hypotermií, s poklesem perfuze na konci operace a v časném pooperačním období. Boakstegers et al. (8) pak popisuje pokles pO_2 v kosterním svalu během MO.

Nedostatečná perfuze a oxygenace tkání v souvislosti s MO může být vedle redistribuce krevního toku způsobena vazokonstrikcí, poklesem krevního tlaku, řízenou hemodilucí a hypotermií s aktivací adrenergního systému.

V této studii byla k vyhodnocení tkáňové perfuze použita metoda intersticiální mikrodiálýzy. Tato metoda umožňuje vyhodnotit koncentrace sledovaných látek v extracelulárním prostoru, který je v bezprostředním styku s buňkami, a odráží tak změny, které se v buňce odehrávají. Na rozdíl od vyšetření krve, zjišťujeme mikrodiálýzou pouze lokální koncentrace. Ve studii jsme se zaměřili na monitorování změn látek základního energetického metabolismu (glukóza, laktát, pyruvát) a glycerolu. Změny v koncentraci metabolitů jsou dány především dvěma základními faktory: lokální produkcí látky (lokální pokles nebo vzestup koncentrace daný funkcí buněk) a změnami lokálního krevního průtoku.

Cílem bylo porovnat dvě standardně prováděné metody chirurgické revaskularizace s ohledem na změny tkáňového metabolismu jako odrazu perfuze tkáně. V současné době se standardně provádí revaskularizace s použitím MO a bez použití MO. Obě metody mají své výhody i nevýhody. Mimetělní oběh umožňuje provedení koronární anastomózy na nehybném srdci. Dnes je již však známo mnoho negativních účinků MO na organismus, které jsou způsobeny především stykem buněk krve s cizím povrchem systému MO, hypotenzí, hemodilucí, hypotermií atd. Během MO ztrácí organismus schopnost reagovat na energetické a metabolické změny tkání změnou srdečního výdeje. Systémový průtok je během MO určen na základě tělesného povrchu a tělesné teploty během operace, obvykle $2,2-2,4 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$. V průběhu MO tento kalkulovaný průtok udržuje perfuzionista změnou otáček čerpadla.

Hlavní výhodou metody revaskularizace bez použití MO, tzv. metody off-pump, je právě odstranění negativních dopadů MO na organismus. K provedení anastomózy, především na laterální stěně levé srdeční komory nebo zadní stěně, je zapotřebí polohovat srdce do nefyziologické pozice (vertikalizace) a dále lokální stabilizace srdeční stěny s její kompresí. Následkem sníženého diastolického plnění pravé komory dochází k poklesu středního arteriálního tlaku a poklesu tepového a srdečního výdeje (6, 27). Pokles systémového tlaku je obvykle kompenzován optimalizací preloadových parametrů, event. podáním vazoaktivních látek. Pokles středního arteriálního tlaku při současném vzestupu centrálního žilního tlaku následně vede k poklesu perfuzního tlaku s možným snížením perfuze orgánů (18).

Glukóza, která je základním substrátem intermediárního metabolismu, slouží jako zdroj pro tvorbu energie. Její koncentrace v krvi je v určitém fyziologickém rozmezí udržována řadou regulačních látek (inzulín, glukagon atd.). Koncentrace v extracelulárním prostředí je ovlivněna mimo jiné poptávkou buněk po glukóze, především v přítomnosti dostatečné oxygenace. K poklesu intersticiální koncentrace glukózy dochází v případě

přesunu metabolismu směrem k anaerobnímu metabolismu s akcelerací glykolýzy. Cílem je zajistit dostatečnou tvorbu energie (4, 21).

Námi měřené koncentrace glukózy v mikrodialyzátu v době incize jsou v rozmezí koncentrací naměřených ve svalu jinými autory (21, 24, 39). V průběhu operace jsme shodně v obou skupinách zaznamenali vzestup koncentrací glukózy. Rozdíl mezi oběma skupinami jsme však nezaznamenali. Koncentrace glukózy v séru byla před operací shodně v obou skupinách ve fyziologickém rozmezí. Po operaci došlo v obou skupinách k vzestupu glykemie.

Na vzestupu ať již intersticiálních, nebo plazmatických koncentrací glukózy v průběhu operace se mohla podílet stresová reakce s tvorbou hyperglykemicky působících hormonů a inzulínová rezistence, která je popisovaná v souvislosti s MO. Zvýšená sekrece kortizolu a katecholaminů způsobuje poruchu transportu glukózy do buněk a jejího využití, a dochází tak k vzestupu koncentrací glukózy.

Nedostatečný přísun kyslíku do tkání je spojen, jak již bylo uvedeno, s posunem intermediárního metabolismu směrem k anaerobnímu využití glukózy, glykolýze. V případě nedostatku kyslíku dochází k přeměně konečného produktu pyruvátu pomocí laktátdehydrogenázy na laktát. Výsledkem je produkce laktátu v tkání, jehož vyplavování do krve vede k vzestupu plazmatických koncentrací laktátu (hyperlaktatemie typu A). Výsledná koncentrace je dána relativně rychlou tvorbou laktátu a jeho pomalou clearance. Přítomnost hyperlaktatemie v souvislosti se srdeční operací je udávána jako faktor spojený s nepříznivým pooperačním průběhem (25, 35). Plazmatické koncentrace laktátu však odrážejí změny v celém organismu. Nelze tedy říci, v které tkáni dochází k hypoxii nebo zdá se jedná o globální stav.

V naší studii jsme sledovali změny laktátu v kosterním svalu. Iničiální hodnoty laktátu jsou v rozmezí hodnot pozorovaných jinými autory (24, 38, 39). V obou souborech jsme zaznamenali nárůst koncentrací laktátu. Významný rozdíl koncentrací mezi soubory jsme nezaznamenali. Také střední hodnoty plazmatických koncentrací laktátu po operaci nebyly významně odlišné a pohybovaly se ve fyziologických mezích. Průběh plazmatických koncentrací v průběhu operace však nebyl v této studii sledován. Warang et al. (45) obdobně jako v naší studii srovnává plazmatické koncentrace laktátu v době příjmu na JIP. Průměrná koncentrace laktátu v krvi nemocných operovaných s MO byla statisticky významně vyšší ve srovnání se skupinou off-pump a přesahovala fyziologickou mez. Ganushchak et al. (15) uvádí vzestup plazmatických koncentrací laktátu v průběhu operace s MO, nepřesahují však fyziologickou mez.

Intersticiální koncentrace laktátu odrážejí pouze lokální stav. V naší studii jsme nezaznamenali přímý vztah (korelaci) mezi koncentrací laktátu naměřenou intersticiální mikrodialýzou a plazmatickou koncentrací laktátu po operaci.

Případný vzestup plazmatických koncentrací po operaci může být právě způsoben vyplavením laktátu z extracelulárního prostoru periferní tkáně.

Metabolismus pyruvátu je úzce spojen s laktátem. Konečným produktem využití glukózy je za aerobních podmínek pyruvát, který za pomoci pyruvátdehydrogenázového systému vstupuje do citrátového cyklu ve formě acetyl-CoA. Za anaerobních podmínek, při nedostatku kyslíku, se však pyruvát mění na laktát.

Bazální koncentrace pyruvátu v mikrodialyzátu v naší studii byla lehce nižší v porovnání s koncentracemi pyruvátu z jiných studií s přihlédnutím k rychlosti perfuze (38, 39). Zajímavým zjištěním byl rozdílný průběh koncentrací v obou skupinách: nárůst extracelulárních koncentrací ve skupině off-pump, zatímco ve skupině on-pump došlo po přechodném vzestupu koncentrací k opětovnému poklesu na základní úroveň.

Plazmatické koncentrace pyruvátu v průběhu MO sledoval Ganushchak et al. (15). Prokázal pokles koncentrace pyruvátu po zahájení MO a vzestup koncentrací ke konci MO (po 60 minutách) a dále v pooperačním období.

Hodnocení koncentrací pyruvátu je obtížné. Na metabolismu pyruvátu se podílí řada mechanismů. Vedle redox stavu v tkáni je to aktivace nebo inhibice enzymů podílejících se na jeho přeměně, především pak pyruvátdehydrogenázový systém. Některé práce popisují možnost inhibice tohoto enzymu volnými radikály v reperfundované tkáni, např. v souvislosti s MO (5, 47). Svalová tkáň je také schopna za určitých podmínek vychytávat laktát z cirkulace a přeměňovat jej následně na pyruvát (43). Rosendal et al. (38) zaznamenal vzestup koncentrace pyruvátu v kosterním svalu po intenzivních svalových kontrakcích. Jedním z možných vysvětlení tohoto děje je přeměna laktátu, který byl vytvořen v průběhu anaerobního cvičení na pyruvát po obnovení dodávky kyslíku do tkání. Právě vzestup koncentrací pyruvátu ve skupině off-pump ke konci operace, v době, kdy již nedochází k polohování srdce, může být způsoben zlepšením dodávky kyslíku do tkání.

Úzkého vztahu mezi laktátem a pyruvátem se využívá při kalkulaci poměru laktát / pyruvát (LPR), který obvykle slouží jako marker hypoxie. Poměr LPR v krvi je za normálních okolností menší nebo roven 10 : 1 (15). $LPR > 10 : 1$ odpovídají nedostatečné dodávce kyslíku tkáním. Bazální hodnota LPR v mikrodialyzátu v naší studii byla vyšší ve srovnání s hodnotami uváděnými v jiných studiích (39). Příčinou byla nižší bazální koncentrace pyruvátu. Důležitější než koncentrace dané látky nebo LPR je však vývoj koncentrací v čase a porovnání jednotlivých koncentrací se základní hodnotou (relativní hodnoty). Minimalizuje se tak vliv individuální recovery, která by mohla zkreslit výsledky měření. Porovnáním získaných hodnot LPR jsme zjistili vzestup hodnot LPR ve skupině off-pump a významně vyšší hodnoty LPR ve skupině off-pump, především pak v důsledku vzestupu koncentrací pyruvátu. Na základě hodnocení LPR lze říci, že operace s MO vede k většímu nedostatku kyslíku v periferní tkáni ve srovnání s metodou off-pump.

Glycerol, který je základním stavebním prvkem triacylglycerolů a fosfolipidů buněčné membrány, slouží jako marker tkáňové ischemie. Během ischemie dochází k elevaci extracelulárních koncentrací glycerolu (4, 30). Na uvolnění glycerolu do extracelulárního prostoru se podílejí 3 mechanismy. Aktivace fosfolipázy v důsledku selhání kalciové pumpy vede k degradaci buněčné membrány. V časně fázi ischemie může být glycerol produkován hydrolyzou glycerol-3-fosfátu, který vzniká v průběhu glykolýzy. Alternativním zdrojem pak může být lipolýza intracelulárních triacylglycerolů v průběhu ischemie (4, 30).

V průběhu operace jsme zaznamenali vzestup koncentrací glycerolu v mikrodialyzátu v obou skupinách, s vyššími absolutními koncentracemi ve skupině on-pump, ukazující na ischemický infarkt v průběhu operace.

Vyšší hodnoty extracelulárního glycerolu spolu s nižší hodnotou LPR v průběhu operace s mimotělním oběhem v porovnání s operací bez použití MO ukazují, že během operace s MO dochází k vyššímu stupni nedostatku kyslíku (ischemii) v periferním svalstvu.

Během studie jsme nezaznamenali žádné komplikace v souvislosti s aplikací mikrodialyzačního katétru do deltového svalu.

6. Tkáňové a plazmatické koncentrace cefuroximu během kardiochirurgické operace s mimotělním oběhem

6.1. Experimentální část (in vitro stanovení antibiotik)

Před vlastním in vivo stanovením tkáňových koncentrací sledovaného antibiotika byl proveden in vitro pokus. Cílem bylo zjistit schopnost přestupu sledovaného antibiotika, cefuroximu, přes dialyzační membránu, sledovat vliv různých koncentrací cefuroximu v okolním prostředí na schopnost přestupu cefuroximu přes membránu a určit vliv rychlosti perfuze mikrodialyzační kanylou na hodnotu in vitro recovery.

6.1.1. Metodika a materiál – experimentální část

a) testované antibiotikum

Cefuroximum natriicum (AXETINE 1,5 g; Medochemie Ltd., Limassol, Kypr)

b) stanovení in vitro recovery cefuroximu

Mikrodialyzační katétr CMA 60 (CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko) byl pevně umístěn do kádinky obsahující 100 ml roztoku cefuroximu – Ringerův roztok (Ringer's solution, Braun Melsungen AG, Melsungen, Německo) + vypočtené množství cefuroximu. 1 ml vzorku roztoku byl následně odebrán k určení výsledné koncentrace antibiotika v roztoku. Roztok v kádince byl kontinuálně promícháván a teplota roztoku kontinuálně udržována na 25 °C. Poté byl mikrodialyzační katétr perfundován Ringerovým roztokem bez antibiotika rychlostí 0,1 ml.h⁻¹ po dobu 20 minut. Mikrodialyzát jímán do mikrozku mávek a následně zamražen. Do doby analýzy uchováván při -80 °C. Následovala výměna roztoku ve zkumavce a propláchnutí sondy Ringerovým roztokem. Pokus byl ve stejném uspořádání proveden pro devět různých koncentrací cefuroximu v okolním roztoku.

c) vliv rychlosti perfuze na hodnotu in vitro recovery cefuroximu

Pokus byl proveden v obdobném uspořádání jako v pokusu viz. odstavec b. Pokus byl proveden celkem dvakrát pro rychlost perfuze 0,1 ml.h⁻¹, 0,3 ml.h⁻¹ a 0,5 ml.h⁻¹.

6.2. Klinická část (in vivo stanovení tkáňových koncentrací antibiotik)

6.2.1. Soubor

Soubor byl tvořen 11 (9 mužů, 2 ženy) náhodně vybranými nemocnými. Všichni nemocní podstoupili srdeční operaci s použitím mimotělního oběhu na Kardiochirurgické klinice Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty v Hradci Králové Univerzity Karlovy v Praze.

Studie probíhala se souhlasem etické komise Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Nemocní byli před zařazením do studie plně informováni o průběhu studie a podepsali informovaný souhlas.

Do studie nebyli zařazováni nemocní indikováni k akutní operaci, reoperaci, s anamnézou užívání antibiotik v posledních 14 dnech, s probíhajícím infekčním nebo zánětlivým onemocněním, s renální insuficiencí (sérový kreatinin $> 180 \mu\text{mol l}^{-1}$), alergickou nebo hypersenzitivní reakcí na β -laktamová antibiotika.

6.2.2. Metodika a materiál – klinická část

6.2.2.1. Anestezie

Premedikace, úvod do celkové anestezie, peroperační anestezie a analgezie probíhala standardním způsobem. Anestezie a analgezie byla udržována sufentanylem ($0,5 \mu\text{g.kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, Sufenta, Janssen Pharmaceutica N.V., Belgie) a propofolem ($1 \text{ mg.kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, Propofol 1% „Fresenius“, FreseniusKabi Deutschland GmbH, SRN), dostatečná myorelaxace zajištěna cisatracuriem ($0,04 \text{ mg.kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, Nimbex, GSK, Itálie) v dávkách zajišťující adekvátní anestezii, myorelaxaci a hemodynamickou stabilitu v průběhu operace. Isoflurane (Forane, Abbot Laboratories, Velká Británie; 0,7-0,8%) byl přidáván v kyslíku.

6.2.2.2. Operační technika, mimotělní oběh

Vedení mimotělního oběhu (normotermie) probíhalo způsobem popsaným v kapitole 5.2.2. Systém mimotělního oběhu se skládal z membránového oxygenátoru s integrovaným výměníkem tepla (D903 AVANT, Dideco, Mirandola, Itálie) a válečkové pumpy s nepulzatilním tokem (Stöckert S3, Sorin Group, Mnichov, Německo). Primární náplň neobsahovala antibiotika.

6.2.2.3. Antibiotická profylaxe

Cefuroxim (Axetine, Medochemie Ltd., Limassol, Kypr), cephalosporin 2. generace, byl použit jako profylaktické antibiotikum. První dávka – 3,0 g cefuroximu (1,5 g cefuroximu/20 ml NaCl aplikováno jako bolus přes centrální žilní katétr) – aplikována v úvodu do celkové anestezie, druhá dávka cefuroximu (1,5 g) po skončení mimotělního oběhu v době aplikace protaminu. V případě revaskularizace následovala třetí dávka cefuroximu (1,5 g) po osmi hodinách od druhé dávky, u výkonů na chlopních byl cefuroxim (1,5 g) podáván po 8 hodinách do 48 hodin pooperačně.

6.2.2.4. Mikrodialýza (design)

Před chirurgickým zákrokem byl nemocnému za sterilních podmínek a bez použití lokální anestezie zaveden do levého deltového svalu mikrodialyzační katétr CMA 60 (CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko). Následně byl katétr po dobu 30 minut proplachován Ringerovým roztokem (Ringer's solution, Braun Melsungen AG, Melsungen, Německo) konstantní rychlostí $0,1 \text{ ml.h}^{-1}$ pomocí lineární pumpy (Pilote A2 IS2, Fresenius Vial, Le Grand Chemin, Brezins, Francie).

Před podáním první profylaktické dávky antibiotika byla provedena in vivo kalibrace sondy metodou retrodialýzy. Metoda retrodialýzy je založena na principu kvantitativně stejné schopnosti difuze látek oběma směry přes semipermeabilní membránu. Katétr byl proplachován Ringerovým roztokem s obsahem cefuroximu o známé koncentraci rychlostí $0,1 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$. Pokles koncentrace cefuroximu v perfúzním roztoku a následně zjištěná koncentrace cefuroximu v mikro dialyzátu získaném po 30 minutách byla použita k výpočtu recovery. Pro výpočet individuální hodnoty recovery byl použit následující vzorec: $\text{recovery (\%)} = 100 - (100 \times \text{koncentrace cefuroximu}_{\text{dialyzát}} \times \text{koncentrace cefuroximu}_{\text{perfúzát}}^{-1})$. Po dostatečném (30 minut) propláchnutí celého systému Ringerovým roztokem bez antibiotika byla po úvodu do celkové anestezie podána první dávka cefuroximu (3 g cefuroximu i. v.).

Dialyzáty byly odebírány v 30minutových intervalech v průběhu operace: 1 – řez kůže, před mimotělním oběhem, 2 - 4 – v průběhu mimotělního oběhu, 5 – sutura kůže, po mimotělním oběhu. Vzorky krve (2 ml) byly v průběhu operace odebírány z arteriálního katétru: 1 – řez kůže, 2 - 5 – po 30 minutách v průběhu mimotělního oběhu, 6 – sutura kůže.

Po skončení operace byl po provedení kožní suture za sterilních podmínek katétr odstraněn.

6.2.2.5. Analýza vzorků

Vzorky mikro dialyzátů a plazmy získané centrifugací krve byly před analýzou uchovávány při $-80 \text{ }^\circ\text{C}$. Analýza vzorků probíhala v Ústavu klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty v Hradci Králové. Stanovení koncentrací cefuroximu ve vzorcích plazmy a ve vzorcích z mikro dialýzy bylo provedeno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s detekcí na detektoru diodového pole (photodiode-array detection PDA). Vazebnost cefuroximu na bílkoviny krevní plazmy se zjišťovala metodou ultrafiltrace.

6.2.3 Statistické zpracování a výpočty

a) kalkulace in vivo recovery a intersticiálních koncentrací

Absolutní koncentrace cefuroximu v kosterním svalu (musculus deltoideus) byly vypočítány z naměřených koncentrací cefuroximu v mikro dialyzátu a individuální recovery podle rovnice: $\text{intersticiální koncentrace cefuroximu (mg} \cdot \text{ml}^{-1}) = 100 \times \text{koncentrace cefuroximu v mikro dialyzátu (mg} \cdot \text{ml}^{-1}) \times \text{in vivo recovery cefuroximu (\%)}^{-1}$.

b) vazba na bílkoviny

Vazba cefuroximu na bílkoviny plazmy byla v každém vzorku krve vypočtena z naměřené celkové koncentrace cefuroximu v plazmě a volné koncentrace cefuroximu v plazmě podle vzorce: $\text{vazba cefuroximu na bílkoviny (\%)} = 100 - (\text{volná koncentrace cefuroximu plazmě (mg} \cdot \text{ml}^{-1}) \times \text{celková koncentrace cefuroximu v plazmě (mg} \cdot \text{ml}^{-1})^{-1} \times 100)$.

c) statistické zpracování

Statistické zpracování bylo provedeno ve spolupráci s Ústavem lékařské biofyziky Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Výsledky byly statisticky

zpracovány pomocí programu NCSS 2007 a programu Statistica. Zvolená hladina významnosti byla $\alpha = 0,05$.

In vitro: Vztah mezi koncentrací cefuroximu v roztoku z kádinky a koncentrací cefuroximu v získaném mikrodialyzátu a mezi *in vitro* recovery a rychlostí perfuzního roztoku byl zhodnocen pomocí Spearmanova korelačního koeficientu.

In vivo: Demografická, peroperační a pooperační data jsou uvedena jako počet (procento), data s normálním rozložením jako průměr \pm směrodatná odchylka nebo jako medián (minimum – maximum) v případě zamítnutí normality dat.

Zjištěné koncentrace cefuroximu v plazmě a tkáni jsou uvedeny jako průměr \pm směrodatná odchylka. Kalkulovaná vazba cefuroximu na bílkoviny jako průměr \pm směrodatná odchylka. Porovnání koncentrací cefuroximu v čase, zvláště v plazmě a tkáni, bylo provedeno pomocí párového t-testu, případně neparametrického Wilcoxonova testu (s Bonferroniho korekcí na dosaženou hladinu významnosti).

Souvislost mezi změřenými koncentracemi cefuroximu (v plazmě a tkáni) v jednotlivých intervalech v průběhu operace a vybranými peroperačními a pooperačními parametry byla hodnocena pomocí Spearmanova korelačního koeficientu.

6.3. Výsledky

6.3.1. In vitro pokus

a) stanovení in vitro recovery cefuroximu

Z výsledků lineární regrese byla zjištěna lineární korelace mezi koncentrací cefuroximu v mikrodialyzátu a koncentrací cefuroximu v okolním roztoku v kádince pro široké rozmezí koncentrací (korelační koeficient 0,976, $p < 0,001$). Pomocí konstrukce lineární a horizontální přímkou byla určena hodnota recovery *in vitro* cefuroximu (89 %) pro rychlost perfuze $0,1 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ a teplotu $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

b) vliv rychlosti perfuze na hodnotu in vitro recovery cefuroximu

Z naměřených hodnot cefuroximu v mikrodialyzátu a okolním roztoku byla podle rovnice ($\text{recovery (\%)} = 100 \times \text{koncentrace}_{\text{dialyzát}} \times \text{koncentrace}_{\text{okolní roztok}}^{-1}$) vypočtena hodnota recovery cefuroximu. Průměrná hodnota recovery cefuroximu klesala z hodnoty 86 % při rychlosti $0,1 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ na hodnotu 53 % při rychlosti $0,5 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ (korelační koeficient 0,717; $p < 0,01$).

6.3.2. In vivo pokus

a) předoperační a pooperační charakteristiky

Soubor druhé části studie byl tvořen 11 nemocnými (9 mužů, 2 ženy), kteří podstoupili operaci srdce s použitím mimotělního oběhu (7 nemocných chirurgickou revaskularizací, 4 nemocní náhradu aortální chlopně). Průměrný věk operovaných byl 65,5 let. Každému nemocnému byla v úvodu do celkové anestezie aplikována standardní (stejná) dávka antibiotika. V důsledku rozdílné tělesné hmotnosti a povrchu operovaných se liší i

kalkulovaná dávka antibiotika (první dávka ATB) na tělesnou hmotnost a povrch. Rozdíl mezi touto kalkulovanou dávkou byl mezi nejmenší a největší dávkou přibližně dvojnásobný (33–60 mg.kg⁻¹; 1 415–2 013 mg.cm⁻²). V průběhu operace byly sledovány mimo jiné údaje týkající se bilance tekutin. Průměrná primární náplň mimotělního oběhu byla 1 538 ml, celkové množství tekutin podané během mimotělního oběhu 2 566 ml. Celková bilance tekutin byla výrazně pozitivní, přibližně + 4 000 ml. Základní předoperační a perioperační charakteristiky nemocných jsou shrnuty v tabulce 1.

Tabulka č. 1. Předoperační a perioperační charakteristiky souboru („ATB“)

n = 11	
Muž	9 (82)
Věk (rok)	65,5 ± 11,0
Váha (kg)	75,1 ± 12,2
Výška (m)	171,7 ± 9,8
Tělesný povrch (m ²)	1,89 ± 0,20
Body mass index	25,4 ± 3,1
Ejektční frakce levé komory (%)	58,8 ± 12,4
Předoperační hodnoty:	
Úrea (mmol.l ⁻¹)	5,6 ± 1,8
Kreatinin (μmol.l ⁻¹)	101,5 ± 21,2
ALT (μkat.l ⁻¹)	0,51 ± 0,18
AST (μkat.l ⁻¹)	0,53 ± 0,13
Celkový bilirubin (μmol.l ⁻¹)	9 (3 – 33)
Leukocyty (10 ⁹ l ⁻¹)	7,2 ± 1,1
Celková bílkovina (g.l ⁻¹)	72,7 ± 5,9
Délka operace (min)	189,1 ± 39,2
Délka mimotělního oběhu (min)	87,8 21,9
Délka aortální svorky (min)	50,7 ± 12,5
První dávka ATB (mg.kg ⁻¹)	41,1 (33,0 – 60,0)
První dávka ATB (mg.cm ⁻²)	1 631,2 ± 188,6
Interval mezi 1. a 2. dávkou ATB (min)	193,7 ± 26,8
Primární náplň MO (ml)	1 538,2 ± 220,6
Tekutiny během MO (ml)	2 566,4 ± 469,6
Bilance tekutin během op. (ml)	4 070,9 ± 815,7
Hemoglobin před MO (g.l ⁻¹)	122,9 ± 9,6
Hematokrit před MO	0,37 ± 0,03
Hemoglobin po MO (g.l ⁻¹)	87,2 ± 9,6 ^c
Hematokrit po MO	0,26 ± 0,03 ^c
Leukocyty 1. poop. den (10 ⁹ l ⁻¹)	13,6 ± 3,2 ^e
CRP 1. poop. den (mg.l ⁻¹)	69,5 ± 28,1
Diuréza během op. (ml)	918,2 ± 435,5
Pobyť JIP (h)	41 (16 – 70)
Ventilace JIP (h)	7,3 ± 3,9
Délka hospitalizace poop. (dny)	10,5 ± 2,1

b) koncentrace cefuroximu v plazmě

V průběhu operace byly ve stanovených intervalech (viz. 6.2.2.4.) odebrány vzorky krve. Stanovené koncentrace cefuroximu v plazmě, celková koncentrace a volná frakce cefuroximu jsou znázorněny v grafu č. 1. Po zahájení mimotělního oběhu došlo k významnému poklesu obou koncentrací ve srovnání s koncentrací v době incize. Celková koncentrace klesla o 52 % (± 8 %); $p < 0,05$, volná koncentrace o 43 % (± 9 %); $p < 0,05$. Průměrná doba od incize do spuštění mimotělního oběhu byla 50 minut (± 21 minut). V průběhu mimotělního oběhu pak docházelo k dalšímu poklesu plazmatických koncentrací. Např. po 90 minutách mimotělního oběhu došlo v průměru k 31 % (± 7 %) poklesu celkové koncentrace ($p < 0,01$) a v průměru k 33 % (± 8 %) poklesu volné frakce ($p < 0,05$). Po podání druhé dávky cefuroximu (1,5 g po protaminu) docházelo k výraznému vzestupu plazmatických koncentrací, přičemž koncentrace v době sutury (průměrný interval 58 ± 19 minut) byla vyšší v porovnání s poslední měřenou hodnotou před koncem mimotělního oběhu o 119 ± 38 % (celková koncentrace; $p < 0,05$) resp. o 118 ± 41 % (volná frakce; $p < 0,05$).

Průměrný rozdíl celkové a volné koncentrace cefuroximu byl v době incize $43,7 \pm 13,4$ mg. Γ^{-1} . Po zahájení mimotělního oběhu došlo k poklesu rozdílu koncentrací na $11,1 \pm 6,5$ mg. Γ^{-1} a po 90. minutách byl rozdíl v průměru $7,3 \pm 2,6$ mg. Γ^{-1} . V době sutury rány došlo k mírnému vzestupu rozdílu koncentrací na $17,9 \pm 9,9$ mg. Γ^{-1} .

c) koncentrace cefuroximu v tkáni

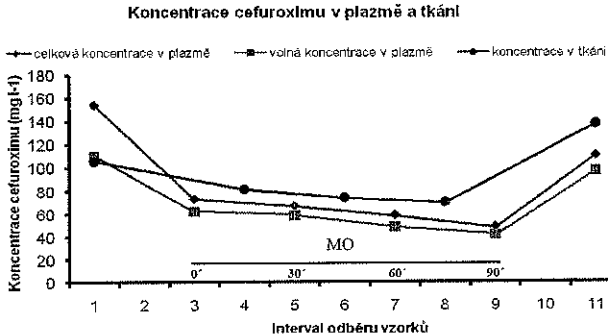
Časový průběh intersticiálních koncentrací cefuroximu v musculus deltoideus v průběhu operace znázorňuje graf č. 1. Koncentrace cefuroximu získané pomocí mikrodialýzy odpovídají 30 minutovému odběrovému intervalu. V grafu jsou koncentrace vyjádřené bodem v polovině tohoto měřeného intervalu. Vzorky byly odebrány ve stanovených intervalech (viz. 6.2.2.4.). Podobně jako v případě plazmatických koncentrací došlo po zahájení MO k poklesu intersticiálních koncentrací ve srovnání s koncentrací v době incize. Střední hodnota rozdílu koncentrací v době incize a v prvním měřeném intervalu (0-30 minut) po spuštění mimotělního oběhu byla $12,6$ mg. Γ^{-1} (mezikvartilové rozpětí 4,7 - 33,7 mg Γ^{-1}). V průběhu mimotělního oběhu docházelo k dalšímu poklesu koncentrací. Střední rozdíl koncentrací v intervalu 0-30 min. a 60-90 min. byl $10,2$ mg. Γ^{-1} (mezikvartilové rozpětí 6,6 - 39,3 mg. Γ^{-1}). Po aplikaci druhé profylaktické dávky cefuroximu (1,5 g po protaminu) došlo k výraznému vzestupu intersticiálních koncentrací. Střední hodnota rozdílu koncentrace v době sutury a poslední koncentrace získané během MO byla $64,7$ mg. Γ^{-1} (mezikvartilové rozpětí 36,8 - 376,7 mg. Γ^{-1}).

V době incize byla celková koncentrace v plazmě vyšší než v intersticiální tekutině. Průměrná koncentrace volné frakce v plazmě byla pouze lehké vyšší. V průběhu mimotělního oběhu byly extracelulární koncentrace ve všech intervalech vyšší než koncentrace v plazmě. Tento rozdíl byl ještě vyšší po aplikaci druhé dávky antibiotika po ukončení mimotělního oběhu.

Průměrné koncentrace cefuroximu v plasmě a v intersticiální tekutině po celou dobu operace převyšovaly minimální inhibiční koncentraci (MIC) pro předpokládá infekční agens (MIC cefuroximu pro gram-pozitivní bakterie 2 mg. Γ^{-1} , gram-negativní bakterie 4 mg. Γ^{-1}).

Také u tří nemocných, u nichž mimotělní oběh trval 120 minut, změřené koncentrace cefuroximu převyšovaly ke konci MO doporučenou MIC.

Graf č. 1. Koncentrace cefuroximu v plazmě a tkáni kosterního svalu v průběhu srdeční operace s použitím mimotělního oběhu. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr. MO – mimotělní oběh



d) vazba cefuroximu na bílkoviny plazmy

Vazba cefuroximu na bílkoviny plazmy byla vypočítána z naměřených plazmatických koncentrací, celkové a volné koncentrace, podle následujícího vztahu: vazba cefuroximu na bílkoviny (%) = $100 - (\text{volná koncentrace cefuroximu plazmě (mg·ml}^{-1}) \times \text{celkové koncentrace cefuroximu v plazmě (mg·ml}^{-1})^{-1} \times 100)$. Před zahájením MO, v době kožní incize, průměrná vazba na bílkoviny plazmy dosahovala 29 %. Po zahájení MO došlo k poklesu vazby na průměrnou hodnotu 15 % ($p < 0,01$). Na této úrovni průměrná vazba zůstala po celou dobu MO a dále i po ukončení MO.

e) korelace

Vztah mezi výsledky měření plazmatických a intersticiálních koncentrací a vybranými anamnestickými, peroperačními a pooperačními parametry (váha, výška, povrch, BMI, délka MO, délka operace, primární náplň, bilance tekutin atd.) byl zhodnocen pomocí výpočtu korelačního koeficientu (Spearmanův korelační koeficient – r s příslušnou hladinou významnosti) a konstrukcí bodových grafů.

Významnější vztah byl zjištěn mezi celkovou koncentrací cefuroximu v plazmě v době sutury a délkou operace ($r = -0,78$; $p < 0,01$), koncentrací cefuroximu v tkáni a plazmě na konci MO ($r = 0,87$; $p < 0,001$), koncentrací cefuroximu v plazmě v době sutury a délkou intervalu mezi první a druhou dávkou antibiotika ($r = -0,65$; $p < 0,05$), celkovou bilancí tekutin v průběhu MO a celkovou koncentrací cefuroximu v plazmě v době sutury rány ($r = -0,72$; $p < 0,05$).

6.4. Diskuze

Technika mikrodialýzy se v posledních letech s výhodou využívá při studiu průniku látek exogenní povahy do extracelulárního prostoru tkání. Příkladem jsou antibiotika. Vychází se z předpokladu, že kromě septikemie či endokarditidy je hlavním místem působení antibiotik tkáň, či spíše extracelulární prostor tkání, kde se odehrává hlavní účinek těchto látek. In vivo mikrodialýza umožňuje monitorovat složení extracelulárního prostoru, včetně antibiotik. Předností této techniky, na rozdíl od technik, které se zabývají studiem antibiotik v tkáni, jako je biopsie s homogenizací tkáně, pozitronová emisní tomografie nebo magnetická rezonance, je relativně nízká cena, miniinvazivita, schopnost zjistit pouze volnou frakci a kontinuální měření (10, 31). Podle zjištění některých studií mohou být intersticiální koncentrace antibiotik nízké ve srovnání s plazmatickými koncentracemi, a jsou tedy možnou příčinou selhání antiinfekční terapie (23, 31). Možným rizikem nedostatečné koncentrace antibiotika je vedle selhání terapie i nárůst rezistence bakterií k této látce.

Možnost měřit průnik antibiotika do tkáně a jeho koncentraci v tkáni jsme využili v naší studii, neboť právě ranné infekční komplikace po srdeční operaci jsou závažnou komplikací vedoucí k zvýšené morbiditě a mortalitě vyžadující obvykle komplikovanou a nákladnou léčbu. Povrchové ranné infekce, ať již v oblasti sternotomie, nebo v koronární chirurgii po odběru štepů jsou infekce, které se odehrávají právě v extracelulárním prostoru tkání. Mnoho let se za účelem snížení výskytu těchto infekcí aplikují nemocným v průběhu operace profylakticky antibiotika. Studie, které se až doposud zabývaly vyhodnocením koncentrací antibiotika, však sledovaly buď pouze koncentrace antibiotika v krvi, nebo ve vzorku homogenátu tkáně (svalu, tukové tkáně z mediastina), kdy nelze určit přesné místo lokalizace antibiotika a určit volnou frakci (14, 34). Během srdeční operace s použitím MO je navíc farmakokinetika antibiotik ovlivněna řadou faktorů, se kterými se jinde nesetkáváme. Farmakokinetika látek je ovlivněna aktivací systémové zánětlivé reakce, hemodilucí, hypotermií, změnami v perfuzi tkání, sekvestrací látek v systému MO, poklesem renální funkce, sníženou clearance některých látek nebo změnou vazby na bílkoviny plazmy (11, 29).

V naší studii jsme se zabývali vyhodnocením koncentrací profylakticky podávaného antibiotika v periferní tkáni během operace s MO a porovnáním zjištěných koncentrací s plazmatickými koncentracemi. Cílem bylo posoudit, zda je dávkovací schéma adekvátní ve vztahu k zajištění dostatečné koncentrace antibiotika v periferní tkáni a plazmě po celou dobu operace. Tkáňové koncentrace antibiotika byly pomocí mikrodialýzy monitorovány v deltovém svalu. Jedná se o periferní tkáň, která je navíc dobře přístupná k výměně vzorků v průběhu operace, aniž by byla porušena sterilita operačního pole. Sledovaným antibiotikem byl cefuroxim (cefalosporin druhé generace), který jsme v době studie používali k antibiotické profylaxi.

Cefalosporiny a jiná beta-laktamová antibiotika jsou často používaným profylaktickým antibiotikem v srdeční chirurgii, neboť obvyklým infekčním agens jsou *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus epidermidis* (7). Problém je, že výrobcem léků doporučená dávkovací schémata jsou pouze obecná a lze je aplikovat u běžných chirurgických výkonů bez použití MO. Nicméně dávkovací schéma, ať již dávkovací interval nebo velikost dávky, pro chirurgické výkony s použitím MO není v doporučení uvedeno. V souvislosti s monitorováním koncentrace beta-laktamového antibiotika a vyhodnocením adekvátnosti této koncentrace se obvykle uvádí minimální inhibiční koncentrace (MIC),

respektive překročení koncentrace antibiotika nad hodnotu MIC a dále doba, kdy je koncentrace antibiotika nad MIC ($T > MIC$). Dosažení koncentrace větší než $4 \times MIC$ se pak považuje za dostatečnou antibakteriální koncentraci (1).

V první fázi studie jsme v pokusu *in vitro* potvrdili schopnost přestupu testovaného antibiotika, cefuroximu, přes membránu katétru. Schopnost přestupu byla zachována pro poměrně široký interval koncentrací v okolí katétru. Prokázali jsme také vliv změny rychlosti perfuze na hodnotu recovery cefuroximu.

Profylaxe během operace spočívala v podání 3 gramů cefuroximu v úvodu do celkové anestezie a 1,5 gramu cefuroximu po ukončení MO době aplikace protaminu. Po zahájení MO došlo k výraznému poklesu především celkové plazmatické koncentrace cefuroximu v porovnání s koncentrací v době incize (v průměru o 50 %). K výraznějšímu poklesu došlo především v celkové koncentraci. Došlo tak k snížení rozdílu mezi celkovou a volnou koncentrací. Vazba na bílkoviny plazmy se snížila téměř o 50 %. V průběhu MO docházelo k dalšímu poklesu plazmatických koncentrací, tento pokles však již nebyl tak výrazný a také rozdíl mezi celkovou a volnou koncentrací se již dále nezvětšoval. Průběh plazmatických koncentrací včetně dosažených koncentrací je obdobný jako ve studii sérových koncentrací cefuroximu, kterou prezentoval Vourisalo et al. (44). Výrazný pokles po zahájení MO je způsoben především zvýšením cirkulujícího objemu primární náplní MO s následnou hemodilucí a snížením vazebné schopnosti bílkovin spojené se vzestupem distribučního objemu. Mírnější pokles plazmatických koncentrací během MO je vysvětlován sníženou renální funkcí během MO s poklesem clearance, který byl u některých beta-laktamů během MO zaznamenán (1, 29).

Extracelulární koncentrace cefuroximu v kosterním svalu byly zahájením MO ovlivněny méně ve srovnání s plazmatickými koncentracemi. Po zahájení MO došlo v průměru k 22% poklesu tkáňových koncentrací ve srovnání s koncentrací v prvním sledovaném intervalu (0–30 minut). Adrianzén Vargas et al. (1) podobně pozoruje menší pokles amoxicilinu a flucloxacilinu ve vzorcích svalové tkáně (musculus rectus abdominis) v souvislosti se zahájením MO. Během MO docházelo k dalšímu poklesu extracelulárních koncentrací. Důležitým faktorem, který ovlivňuje míru distribuce antibiotik do tkáně, je vazba na bílkoviny plazmy. Pokles vazebné schopnosti bílkovin v souvislosti s MO, který jsme v této studii také zaznamenali, způsobuje větší přestup antibiotika do extracelulárního prostoru tkání. To se mimo jiné může podílet na relativně vyšší koncentraci cefuroximu v průběhu MO v porovnání s plazmatickými koncentracemi.

Extracelulární koncentrace cefuroximu po celou dobu MO a v průběhu celé operace převyšovaly minimální inhibiční koncentraci pro předpokládaná infekční agens, včetně hodnoty $4 \times MIC$. Tato hodnota byla překročena i u tří nemocných, u kterých MO trval 120 minut. Také plazmatické koncentrace byly v průběhu celé operace vyšší než MIC.

Z praktického hlediska byla všem nemocným aplikována shodná dávka cefuroximu. Kalkulace dávky na tělesnou hmotnost ani jiný způsob kalkulace jsme neprováděli. I přesto, že se tělesná hmotnost pohybovala mezi 50 a 91 kg výsledné koncentrace přesahovaly MIC.

Otázkou je, zdali je nutná aplikace druhé dávky cefuroximu (1,5 g) po ukončení MO. Z našich výsledků vyplývá, že po 90 minutách (a také po 120 minutách) MO je koncentrace dostatečná a z časového průběhu křivky koncentrace lze předpokládat, že i po další přibližně 1 hodině, nutné k uzavření operační rány, budou plazmatické koncentrace a koncentrace v kosterním svalu dostatečné. Aplikace druhé dávky v menším množství je však doporučena

k zajištění vysoké koncentrace v nově tvořených koagulech, k zajištění ochrany před infekcí v delším pooperačním intervalu a dále možnosti nižších koncentrací v tukové podkožní tkáni nad místem sternotomie.

Profylaxe cefuroximem v dávce 3 g v úvodu do celkové anestezie a 1,5 g po ukončení MO zajišťuje dostatečnou ochranu nemocného během srdeční operace s MO. Toto schéma však nelze obecně aplikovat na všechna antibiotika. Důležitou informací je epidemiologická situace na konkrétním pracovišti a citlivost infekčních agens k danému antibiotiku. Proto doporučujeme při plánované změně používaného antibiotika nebo výskytu zvýšených ranných komplikací provést na vzorku nemocných vyhodnocení plazmatických koncentrací a především koncentrací extracelulárních blízko místa sternotomie. K tomuto účelu lze na základě naší studie doporučit techniku mikrodialýzy.

Během studie jsme nezaznamenali žádné komplikace v souvislosti s aplikací mikrodialyzačního katétru do deltového svalu. Také aplikace katétru bez lokální anestezie nezpůsobovala nemocným větší bolest. V pooperačním období (30 dnů) jsme nezaznamenali žádné ranné infekční komplikace.

7. Závěr

Na základě našich zkušeností s mikrodialýzou, získaných výsledků a informací z dostupné literatury lze konstatovat, jsme splnili cíle této práce:

- 1) *Vyhodnotit použití intersticiální mikrodialýzy při výzkumu extracelulárního prostoru periferních tkání se zaměřením na kardiochirurgické operace.*

Na základě vlastních zkušeností s technikou mikrodialýzy získaných během realizace obou částí této studie lze konstatovat, že se jedná o relativně jednoduchou metodu, která umožňuje získat cenné poznatky o složení extracelulárního prostoru za různých stavů, včetně kardiochirurgické operace. V případě aplikace katétru do periferní tkáně lze získávat cenné informace o jeho stavu v dlouhém časovém intervalu, nejenom během operace, ale i v pooperačním období.

- 2) *Kontinuálně monitorovat metabolické změny odehrávající se v extracelulárním prostoru kosterního svalu během srdeční operace metodou intersticiální mikrodialýzy.*

Miniinvasivita mikrodialýzy a možnost získávat opakovaně vzorky v průběhu operace bez nutnosti opakovaných invazivních vstupů nám umožnily získávat vzorky v průběhu celé operace. Zvolením vhodných markerů energetického metabolismu (glukóza, laktát, pyruvát) a glycerolu jsme byli schopni na základě změn jejich koncentrací v extracelulárním prostoru monitorovat změny buněčného metabolismu v průběhu srdeční operace.

- 3) *Pomocí mikrodialýzy porovnat dvě standardní metody revaskularizačních operací myokardu pro ICHS. Operací uskutečňovaných v mimotělním oběhu a operací bez mimotělního oběhu (OPCAB). Zjištěním rozdílů metabolické aktivity periferních tkání a jejich prokrvení během*

odlišných způsobů vedení operace v korelaci s ostatními výsledky a pooperačním stavem nemocného porovnat dané metody vedení operací.

V první části studie jsme provedli porovnání metabolických změn na základě změn extracelulárních koncentrací vybraných markerů metabolismu, odehrávajících se v periferním kosterním svalu během chirurgické revaskularizace s použitím MO a bez použití MO (off-pump). Na základě zjištěných rozdílů mezi oběma soubory, především vyšší hodnoty poměru laktát / pyruvát a koncentrace glycerolu ve skupině on-pump, lze konstatovat, že revaskularizace s použitím MO způsobuje v periferní tkáni vyšší stupeň nedostatku kyslíku (ischemii).

- 4) Stanovit vzájemnou závislost (korelaci) mezi vybranými biochemickými markery tkáňového metabolismu kosterního svalu, stanovenými mikrodialýzou, a vybranými parametry v peroperačním a pooperačním průběhu chirurgické revaskularizace.*

Na základě konstrukce bodových grafů a stanovení korelačních koeficientů jsme nenalezli jednoduchý vztah (korelaci) mezi koncentracemi a plochou pod křivkou sledovaných biochemických markerů zjištěných v periferním svalu během chirurgické revaskularizace a mezi vybranými parametry v peroperačním a pooperačním období.

- 5) Určit a vyhodnotit tkáňové (extracelulární) koncentrace profylakticky podávaného antibiotika během kardiochirurgické operace v mimotělním oběhu zcela novou metodou intersticiální mikrodialýzy.*

V druhé fázi studie jsme pomocí mikrodialýzy provedli určení extracelulárních koncentrací profylakticky podávaného antibiotika v periferním kosterním svalu, které podle dostupných informací v době studie nebylo dříve provedeno. Mikrodialýza se ukázala jako metoda, která je schopna určit extracelulární koncentrace antibiotika v průběhu srdeční operace. Velkou důležitost klademe na kalibraci sondy, kterou jsme provedli metodou retrodialýzy.

- 6) Posoudit adekvátnost standardně používaného dávkovacího schématu vybraného profylakticky podávaného antibiotika během srdeční operace v mimotělním oběhu a posoudit vliv mimotělního oběhu na distribuci antibiotika do periferní tkáně. Porovnat získané intersticiální koncentrace a koncentrace antibiotika v plazmě, porovnat zjištěné koncentrace s minimální inhibiční koncentrací (MIC) testovaného antibiotika pro předpokládaná agens.*

Vyhodnocením získaných extracelulárních a plazmatických koncentrací cefuroximu lze konstatovat, že aplikace 3 gramů cefuroximu v úvodu do celkové anestezie a 1,5 gramu po skončení mimotělního oběhu, aplikovaných za účelem antibiotické profylaxe, zajišťuje dostatečné koncentrace antibiotika převyšující minimální inhibiční koncentrace pro předpokládaná infekční agens. Tyto adekvátní koncentrace byly zachovány i po 120 minutách mimotělního oběhu. K výraznému poklesu koncentrací cefuroximu dochází po zahájení mimotělního oběhu, což je způsobeno především hemodilucí. Další mírný pokles pokračuje v průběhu mimotělního oběhu, jehož vlivem také dochází k poklesu vazby cefuroximu na bílkoviny plazmy spolu s přestupem cefuroximu do extracelulárního prostoru.

8. Souhrn

Kardiochirurgická léčba srdečních onemocnění je standardní metodou léčby těchto onemocnění. Během operace dochází v organismu k výrazným změnám fyziologických funkcí, na kterých se v případě srdeční operace podílí především použití mimotělního oběhu. Metoda revaskularizace bez mimotělního oběhu, tzv. metoda off-pump (OPCAB – off-pump coronary artery bypass), se stala alternativní metodou ke klasické revaskularizaci s použitím mimotělního oběhu. Oba způsoby chirurgické revaskularizace jsou spojeny se změnami hemodynamiky. Negativní účinky srdeční operace a mimotělního oběhu na lidský organizmus se mohou podílet na rozvoji závažných pooperačních komplikací.

Cílem práce bylo pomocí intersticiální mikrodialýzy monitorovat metabolické změny odehrávající se v extracelulárním prostoru kosterního svalu během srdeční operace metodou intersticiální mikrodialýzy. Pomocí mikrodialýzy porovnat dvě standardní metody revaskularizačních operací myokardu pro ICHS. Operací uskutečňovaných v mimotělním oběhu a operací bez mimotělního oběhu. Druhá část práce měla za cíl vyhodnotit tkáňové (extracelulární) koncentrace profylakticky podávaného antibiotika během kardiochirurgické operace v mimotělním oběhu. Posoudit adekvátnost standardně používaného dávkovacího schématu vybraného profylakticky podávaného antibiotika během srdeční operace v mimotělním oběhu a posoudit vliv mimotělního oběhu na distribuci antibiotika do periferní tkáně.

Pomocí mikrodialyzačního katétru aplikovaného do levého deltového svalu jsme v první části práce porovnali koncentrace vybraných endogenních markerů tkáňového metabolismu a perfuze tkáně (glukóza, laktát, pyruvát, glycerol) v extracelulárním prostoru periferní tkáně.

Porovnáním zjištěných koncentrací nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v koncentraci glukózy a laktátu mezi skupinou operovaných s použitím mimotělního oběhu a bez mimotělního oběhu. Také časový průběh koncentrací glukózy a laktátu byl u obou skupin podobný. Hlavním zjištěním této práce byl statisticky významný rozdíl v koncentraci pyruvátu (vyšší hodnoty ve skupině off-pump) a glycerolu (vyšší hodnoty ve skupině on-pump). Kalkulací poměru laktát / pyruvát byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi soubory (vyšší ve skupině on-pump).

Na základě zjištěných rozdílů mezi oběma soubory, především vyšší hodnoty poměru laktát / pyruvát a koncentrace glycerolu ve skupině on-pump, jsme zjistili, že revaskularizace s použitím mimotělního oběhu způsobuje v periferní tkáni vyšší stupeň nedostatku kyslíku (ischemii). Nejistili jsme vztah mezi markery tkáňového metabolismu kosterního svalu, stanovenými mikrodialýzou, a vybranými pooperačními a pooperačními parametry.

V druhé části práce jsme pomocí mikrodialyzačního katétru stanovili extracelulární koncentrace profylakticky podávaného antibiotika (cefuroximu) v periferním kosterním svalu. Zjištěné tkáňové koncentrace jsme porovnali s plazmatickými koncentracemi.

V in vitro studii jsme prokázali dobrou schopnost přestupu cefuroximu přes mikrodialyzační membránu. Pozorován byl také vliv rychlosti perfuze katétru na hodnotu recovery (extrakční frakce). Klesající hodnota recovery při zvyšující se rychlosti perfuze.

Vyhodnocením získaných extracelulárních a plazmatických koncentrací cefuroximu bylo možné konstatovat, že aplikace 3 gramů cefuroximu v úvodu do celkové anestezie a 1,5 gramu po skončení mimotělního oběhu zajišťuje dostatečné koncentrace antibiotika převyšující minimální inhibiční koncentrace pro předpokládaná infekční agens. Tyto adekvátní koncentrace byly zachovány i po 120 minutách mimotělního oběhu.

9. Summary

Cardiac surgery treatment of heart diseases is a standard method of treating these diseases. During operation, significant changes occur in the physiological functions of the body, which in the instance of heart operations are primarily carried out by the use of cardiopulmonary bypass. The revascularisation method without cardiopulmonary bypass, so-called off-pump method (OPCAB – off-pump coronary artery bypass), has become the alternative method of conventional revascularisation using extracorporeal circulation. Both methods of surgical revascularisation are associated with hemodynamic changes. The negative effects of cardiac surgery and cardiopulmonary bypass on the human body can contribute to developing serious post-surgical complications.

The aim of the work was to monitor metabolic changes occurring in the extracellular space of the skeletal muscle during cardiac operation using interstitial microdialysis. With the help of microdialysis, two standard methods of myocardium revascularisation operations for ischemic heart disease were compared. Operations performed in cardiopulmonary bypass and operations without cardiopulmonary bypass. The aim of the second part of the work was to evaluate tissue (extracellular) concentrations prophylactic administered antibiotic during cardiac operation in cardiopulmonary bypass. To assess the level of adequacy of the standard applied dose scheme of selected antibiotic given in prophylactic form during cardiac operations in cardiopulmonary bypass and to assess the effect of cardiopulmonary bypass on the distribution of antibiotic in peripheral tissue.

In the first part of the work, using a microdialysis catheter applied into the left deltoid muscle, we compared the concentrations of selected endogenous markers of tissue metabolism and tissue perfusion (glucose, lactate, pyruvate, glycerol) in the extracellular space of the peripheral tissue.

The comparison of detected concentrations did not show any significant statistical difference in glucose and lactate tissue concentrations between groups operated on with cardiopulmonary bypass and without cardiopulmonary bypass. The time course of glucose and lactate concentrations were also similar in both groups. The main finding of this work was the statistically significant difference in pyruvate (higher values in off-pump group) and glycerol (higher values in on-pump group) concentrations. The calculation of lactate/pyruvate ratio showed statistically significant differences between the groups (higher in on-pump group).

Based on the findings in differences between both groups, primarily in the higher values of lactate/pyruvate ratio and glycerol concentrations in the on-pump group, we found that revascularisation with the help of cardiopulmonary bypass induces a higher degree of oxygen insufficiency (ischemia) in peripheral tissue. We did not find a relation between the

markers of skeletal muscle tissue metabolism, set by microdialysis, and the selected perioperative and postoperative parameters.

Using a microdialysis catheter, we set the extracellular concentrations of prophylactic administered antibiotic (cefuroxime) in the peripheral skeletal muscle. The tissue concentrations were compared with plasma concentrations.

In the in vitro study, we proved a satisfactory level of cefuroxime transfer abilities through the microdialysis membrane. The effect of the catheter perfusion speed on the recovery value (extraction fraction) was also monitored. Decreasing recovery value was associated with increasing perfusion speed.

By evaluating the acquired extracellular and plasma concentrations of cefuroxime, it was possible to conclude that the application of 3 grams of cefuroxime at the induction of anaesthesia and 1.5 grams following the termination of extracorporeal circulation ensures sufficient concentrations of antibiotic exceeding the minimum inhibitory concentrations (MIC) for the suspected pathogens. These adequate concentrations were maintained for 120 minutes of extracorporeal circulation.

10. Přehled publikační a přednáškové aktivity autora

A) Původní práce

1. Mandák J, **Pojar M**, Maláková J, Lonský V, Palička V, Živný P. Tissue and plasma concentrations of cephuroxime during cardiac surgery in cardiopulmonary bypass – a microdialysis study. *Perfusion* 2007;22:129-136. (ISSN 0267-6591) (IF 0,626)
2. Dominik J, Tuna M, Šteiner I, Žáček P, **Pojar M**. Papillary fibroelastoma - an unusual cause of angina pectoris. *Thorac Cardio Surg* 2007;55:515-516. (ISSN 0171-6325) (IF 0,814)
3. **Pojar M**, Mandák J, Cibíček N, Lonský V, Dominik J, Palička V, Kubiček J. Peripheral tissue metabolism during off-pump versus on-pump coronary artery bypass graft surgery: the microdialysis study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;33:899-905. (ISSN 1010-7940) (IF 2,106)
4. **Pojar M**, Mandak J, Malakova J, Jokesova I. Tissue and plasma concentrations of antibiotic during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass – microdialysis study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2008 (přijato k tisku)

B) Přehledový článek

1. **Pojar M**, Mandák J. Intersticiální mikrodialýza v klinické a experimentální medicíně. *Čas Lék Čes* 2006;145:766-770. (ISSN 0008-7335)

C) Přednášky a abstrakta

1. Mandák J, Lonský V, **Pojar M**, Živný P, Palička V. Mikrodialýza v kardiochirurgii. I. Pracovní setkání slovenských a českých kardiochirurgů. Bratislava, Slovenská republika, 2.9.2005.

2. Mandak J, **Pojar M**, Malaková J, Lonsky V, Palicka V, Zivný P. Tissue and serum antibiotic (cefuroxim) levels during cardiopulmonary bypass. 16th World Congress of the World Society of Cardio-Thoracic Surgeons, Ottawa, Kanada, 17.8. – 20.8.2006.
3. Dominik J, Mědílek K, Žáček P, **Pojar M**, Štásek J. Aneurysma plicnice. II. Sjezd České společnosti kardiiovaskulární chirurgie. Brno, Česká republika, 30.11. – 1.12.2006.
4. Harrer J, Žáček P, Drašnar A, Šorm Z, Kubiček V, **Pojar M**. Vzácnější chirurgické komplikace po akutním infarktu myokardu. II. Sjezd České společnosti kardiiovaskulární chirurgie. Brno, Česká republika, 30.11. – 1.12.2006.
5. Mandák J, Lonský V, Živný P, Palička V, **Pojar M**, Kubiček J, Kakrdová D. Biochemical changes in skeletal muscle during cardiac surgery with and without cardiopulmonary bypass – a microdialysis study. 11. Vědecká konference Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Hradci Králové Hradec Králové, Česká republika, leden 2007. (abstrakt)
6. Brzek V, Lonský V, **Pojar M**. Hojení rozsáhlých ran. XI. Harrachovské chirurgické dny. Harrachov, Česká republika, 31.5. – 1.6.2007.
7. Malakova J, **Pojar M**, Mandak J, Jokesova I, Zivny P, Palicka V. Determination of cefuroxime using HPLC method in plasma samples and in the samples from in vivo microdialysis in patients during cardiac surgery. 10th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology. Nice, Francie, 9.9. – 14.9.2007.
8. **Pojar M**, Mandák J, Maláková J, Lonský V, Palička V, Živný P, Jokešová I. Interstitial tissue and plasma concentrations of cefuroxime during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. 4th International Conference on Clinical Microdialysis. Cambridge, Velká Británie, 19.9. – 21.9.2007.
9. **Pojar M**, Mandák J, Cibíček N, Lonský V, Palička V, Živný P, Nedvídková J, Kubiček J. Peripheral tissue metabolism during the on-pump versus off-pump coronary artery bypass graft surgery: the microdialysis study. 4th International Conference on Clinical Microdialysis. Cambridge, Velká Británie, 19.9. – 21.9.2007.
10. Cibíček N, Mandák J, **Pojar M**, Nedvídková J, Čermáková E, Živný P, Palička V. Použití mimotělního oběhu v kardiochirurgii kompromituje energetický metabolismus kosterního svalu – mikrodialyzační studie. VIII. Celostátní sjezd České společnosti klinické biochemie s mezinárodní účastí. České Budějovice, Česká republika, 23.9. – 25.9.2007.
11. Mandak J, **Pojar M**, Malakova J, Lonsky V, Palicka V, Zivny P. The tissue and plasma concentrations of cephuroxime during cardiac surgery in cardiopulmonary bypass (a microdialysis study). 19th Annual Meeting of the Mediterranean Association of Cardiology and Cardiac Surgery. Opatija, Chorvatsko, 27.9. – 30.9.2007. (ISSN 1330-4917)
12. Mandak J, **Pojar M**, Cibíček N., Lonsky V, Palicka V, Zivny P, Nedvidkova J, Kubicek J. Biochemical monitoring of metabolic changes in skeletal muscle during cardiac operations with and without cardiopulmonary bypass. 19th Annual Meeting of the Mediterranean Association of Cardiology and Cardiac Surgery. Opatija, Chorvatsko, 27.9. – 30.9.2007. (ISSN 1330-4917)

13. **Pojar M**, Mandak J, Cibicek N, Dominik J, Palicka V, Kubicek J. Metabolic changes in skeletal muscle during off-pump versus on-pump coronary artery bypass graft surgery. The microdialysis study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2008;7 Suppl.1:S1-S146.
14. Mandak J, **Pojar M**, Cibicek N, Lonsky V, Palicka V. Biochemical monitoring of metabolic changes in skeletal muscle during cardiac operations with and without cardiopulmonary bypass. A microdialysis study. 18th World Congress – World Society of Cardio-thoracic Surgeons, Kos Island, Recko, 30.4. – 3.5.2008.
15. Mandáček J, **Pojar M**, Lonský V, Cibíček N, Palička V, Živný P, Nedvídková J, Kakrdová D, Kubiček J. Vliv mimotělního oběhu na metabolismus v periferní tkáni. 7. Konference České společnosti pro mimotělní oběh a podpůrné systémy, Martinice, Česká republika, 15.5. – 17.5.2008.
16. Kubiček V, **Pojar M**. Problematika hojení a ošetřování ran u nemocných po kardiokirurgických operacích. XII. Harrachovské chirurgické dny. Harrachov, Česká republika, 29.5. – 30.5.2008.
17. **Pojar M**, Mandáček J, Cibíček N, Lonský V, Maláková J. Mikrodialýza v kardiokirurgii. II. Navrátilův den. Brno, Česká republika, 6.6.2008.

11. Literatura

1. Adrianzen Vargas MR, Danton MH, Javaid SM, Gray J, Tobin C, Brawn WJ, Barron DJ. Pharmacokinetics of intravenous flucloxacillin and amoxicillin in neonatal and infant cardiopulmonary bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004;25:256-260.
2. Akila, D'souza B, Vishwanath P, D'souza V. Oxidative injury and antioxidants in coronary artery bypass graft surgery: off-pump CABG significantly reduces oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2007;375:147-152.
3. Arner P. Microdialysis: use in human exercise studies. *Proc Nutr Soc* 1999;58:913-917.
4. Bäckström T, Franco-Cereceda A. Intravasal microdialysis is superior to intramyocardial microdialysis in detecting local ischaemia in experimental porcine myocardial infarction. *Acta Physiol Scand* 2004;180:5-12.
5. Bahlmann L, Misfeld M, Klaus S, Leptien A, Heringlake M, Schmucker P, Sievers HH, Ungerstedt U, Kraatz EG. Myocardial redox state during coronary artery bypass grafting assessed with microdialysis. *Intensive Care Medicine* 2004;30(5):889-894.
6. Biswas S, Clements F, Diodato L, Hughes GC, Landolfo K. Changes in systolic and diastolic function during multivessel off-pump coronary bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;20(5):913-917.
7. Bitkover CY, Gardlund B. Mediastinitis after cardiovascular operations: a case-control study of risk factors. *Ann Thorac Surg* 1998;65:36-40.
8. Boekstegers P, Fleckenstein W, Rosport A, Ruschewsky W, Braun U. Monitoring the oxygen supply of skeletal muscle and total oxygen uptake in coronary surgery interventions. *Anaesthesist* 1988;37(5):287-296.

9. Boutelle MG, Fillenz M. Clinical microdialysis: The role of on-line measurement and quantitative microdialysis. *Acta Neurochir Suppl* 1996;67:13-20.
10. Brunner M, Langer O. Microdialysis versus other techniques for the clinical assessment of in vivo tissue drug distribution. *AAPS J* 2006;8(2):E263-E271.
11. Buylaert WA, Herregods LL, Mortier EP, Bogaert MG. Cardiopulmonary bypass and the pharmacokinetics of drugs. *Clin Pharmacokinet* 1989;17(1):10-26.
12. de la Peña A, Liu P, Derendorf H. Microdialysis in peripheral tissues. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;45:189-216.
13. Fong I, Baker C, McKee D. The value of prophylactic antibiotics in aorta-coronary bypass operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979;78:908-913.
14. Frank UK, Schmidt-Eisenlohr E, Mlangeni D, Schindler M, Hoh A, Beyersdorf F, Daschner FD. Penetration of teicoplanin into heart valves and subcutaneous and muscle tissues of patients undergoing open-heart surgery. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(11):2559-2561.
15. Ganushchak YM, Maessen JG, de Jong DS. The oxygen debt during routine cardiac surgery: illusion or reality? *Perfusion* 2002;17:167-173.
16. Gardlund B, Bitkover CY, Vaage J. Postoperative mediastinitis in cardiac surgery – microbiology and pathogenesis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002;21(5):825-830.
17. Gerritsen WBM, van Boven WJP, Driessen AHG, Haas FJLM, Aarts LPHJ. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: oxidative stress and renal function. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;20:923-929.
18. Gwozdziwicz M. Arteriální revaskularizace myokardu. Praha: Grada Publishing, 2007; Kapitola 4, Aortokoronární bypass bez použití mimotělního oběhu – „off-pump“: 64-75.
19. Holley FO, Ponganis KV, Stanski DR. Effect of cardiopulmonary bypass on the pharmacokinetics of drugs. *Clin Pharmacokinet* 1982;7(3):234-251.
20. Kollef MH, Sharpless L, Vlasnik J, Pasque C, Murphy D, Fraser VJ. The impact of nosocomial infections on patients outcomes following cardiac surgery. *Chest* 1997;112:666-675.
21. Korth U, Merkel G, Fernandez FF, Jandewerth O, Dogan G, Koch T, van Ackern K, Weichel O, Klein J. Tourniquet-induced changes of energy metabolism in human skeletal muscle monitored by microdialysis. *Anesthesiology* 2000;93:1407-1412.
22. Liu P, Derendorf H. Antimicrobial tissue concentrations. *Infect Dis Clin North Am* 2003;17(3):599-613.
23. Liu P, Muller M, Derendorf H. Rational dosing of antibiotics: the use of plasma concentrations versus tissue concentrations. *Int J Antimicrob Agents* 2002;19:285-290.
24. MacLean D, Bangsbo J, Saltin B. Muscle interstitial glucose and lactate levels during dynamic exercise in humans determined by microdialysis. *J Appl Physiol* 1999;87(4):1483-1490.
25. Maillet JM, Le Besnerais P, Cantoni M, Nataf P, Ruffenach A, Lessana A, Brodaty D. Frequency, risk factors, and outcome of hyperlactatemia after cardiac surgery. *Chest* 2003;123(5):1361-1366.

26. Masai T, Taniguchi K, Kuki S, Yokota T, Yoshida K, Yamamoto K, Matsuda H. Usefulness of continuous air tonometry for evaluation of splanchnic perfusion during cardiopulmonary bypass. *ASAIO J* 2003;49(1):108-111.
27. Mathison M, Edgerton JR, Horswell JL, Akin JJ, Mack MJ. Analysis of hemodynamic changes during beating heart surgical procedures. *Ann Thorac Surg* 2000;70(4):1355-1360.
28. McAllister RG Jr, Tan TG. Effect of hypothermia on drug metabolism. In vitro studies with propranolol and verapamil. *Pharmacology* 1980;20:95-100.
29. Mets B. The pharmacokinetics of anesthetic drugs and adjuvants during cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000;44:261-273.
30. Metzsch C, Liao Q, Steen S, Algotsson L. Myocardial glycerol release, arrhythmias and hemodynamic instability during regional ischemia-reperfusion in an open chest pig model. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50:99-107.
31. Müller M, Haag O, Burgdorff T, Georgopoulos A, Weninger W, Jansen B, Stanek G, Pehamberger H, Agneter E, Eichler HG. Characterization of peripheral-compartment kinetics of antibiotics by in vivo microdialysis in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:2703-2709.
32. Niinikoski J, Kuttilla K. Adequacy of tissue oxygenation in cardiac surgery: regional measurements. *Crit Care Med* 1993;21 Suppl2:77-83.
33. Olsen MA, Lock-Buckley P, Hopkins D, Polish LB, Sundt TM, Fraser VJ. The risk factors for deep and superficial chest surgical-site infections after coronary artery bypass graft surgery are different. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124:136-145.
34. Pryka RD, Rodvold KA, Ting W, Levitsky S, Frost RW, Lettieri JT. Effects of cardiopulmonary bypass surgery on intravenous ciprofloxacin disposition. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37(10):2106-2111.
35. Ranucci M, Isgro G, Romitti F, Mele S, Biagioli B, Giomarelli P. Anaerobic metabolism during cardiopulmonary bypass: predictive value of carbon dioxide derived parameters. *Ann Thorac Surg* 2006;81:2189-2195.
36. Ridderstolpe L, Gill H, Granfeldt H, Ahlfeldt H, Rutberg H. Superficial and deep sternal wound complications: incidence, risk factors and mortality. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;20:1168-1175.
37. Rooyackers O, Thorell A, Nygren J, Ljungqvist O. Microdialysis methods for measuring human metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7:515-521.
38. Rosendal L, Blangsted AK, Kristiansen J, Søgaard K, Langberg H, Sjøgaard G, Kjær M. Interstitial muscle lactate, pyruvate and potassium dynamics in the trapezius muscle during repetitive low-force arm movements, measured with microdialysis. *Acta Physiol Scand* 2004;182:379-388.
39. Setälä L, Kornvenoja EM, Härmä MA, Alhava EM, Uusaro AV, Tenhunen JJ. Glucose, lactate, and pyruvate response in an experimental model of microvascular flap ischemia and reperfusion: a microdialysis study. *Microsurgery* 2004;24(3):223-231.

40. Schnetz E, Fartasch M. Microdialysis for the evaluation of penetration through the human skin barrier – a promising tool for future research? *Eur J Pharm Sci* 2001;12(3):165-74.
41. Solligård E, Wahba A, Skogvoll E, Stenseth R, Grønbech JE, Aadahl P. Rectal lactate levels in endoluminal microdialysate during routine coronary surgery. *Anaesthesia* 2007;62(3):250-258.
42. Ungerstedt U. Microdialysis – principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med* 1991;230(4):365-373.
43. van Hall G. Lactate as fuel for mitochondrial respiration. *Acta Physiol Scand* 2000;168:643-656.
44. Vourisalo S, Pokela R, Syrjälä H. Is single-dose antibiotic prophylaxis sufficient for coronary artery bypass surgery? An analysis of peri- and postoperative serum cefuroxime and vancomycin levels. *J Hosp Infect* 1997;37:237-247.
45. Warang M, Waradkar A, Patwardhan A, Agrawal N, Kane D, Parulkar G, Khandeparkar J. Metabolic changes and clinical outcomes in patients undergoing on and off pump coronary artery bypass surgery. *IJTCVS* 2007;23:9-15.
46. Zacharias A, Habib RH. Factors predisposing to median sternotomy complications. Deep vs superficial infection. *Chest* 1996;110:1173-1178.
47. Zemgulis V, Ronguist G, Bjerner T, Henze A, Waldenström A, Thelin S, Wikström G. Energy-related metabolites during and after induced myocardial infarction with special emphasis on the reperfusion injury after extracorporeal circulation. *Acta Physiol Scand* 2001;171(2):129-143.

