

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Lékařská fakulta v Hradci Králové**  
**Katedra chirurgie**

**Disertační práce**

**INTERSTICIÁLNÍ MIKRODIALÝZA**  
**V KARDIOCHIRURGII**

**MUDr. Marek Pojar**

Školitel: prof. MUDr. Jan Dominik, CSc.

Školitel – konzultant: Doc. MUDr. Jiří Mand'ák, PhD.

Kardiochirurgická klinika FN a LF UK v Hradci Králové

Hradec Králové 2008

## **Poděkování**

Na úvod si dovoluji poděkovat svému školiteli prof. MUDr. Janu Dominikovi, CSc. za vedení své vědecké přípravy a za mnoho cenných rad při studiu.

Poděkovat bych chtěl Doc. MUDr. Jiřímu Mand'ákovi, PhD. za pomoc při výběru tématu a realizaci studie. Bez jeho pomoci by tato práce nikdy nevznikla.

Za vytvoření dobrých podmínek k uskutečnění studie děkuji přednostům zúčastněných pracovišť – Doc. MUDr. J. Harrerovi, CSc. a prof. MUDr. Vladimíru Paličkovi, CSc.

Děkuji rovněž MUDr. Norbertovi Cibíčkovi a PharmDr. Janě Malákové za pomoc při analýze a vyhodnocení vzorků. Za precizní statistické zpracování výsledků děkuji RNDr. Evě Čermákové.

Všem spolupracovníkům a zvláště rodině děkuji za trpělivost při realizaci této studie.

## Obsah

<b>2. Zkratky</b> .....	<b>4</b>
<b>3. Anotace</b> .....	<b>5</b>
<b>4. Úvod</b> .....	<b>6</b>
4.1. Mimotělní oběh – patofyziologie .....	8
4.2. Off-pump revaskularizace .....	10
4.3. Srdeční operace jako možná příčina pooperační komplikace (změny perfuze tkání, infekční komplikace) .....	11
4.4. Intersticiální mikrodialýza .....	14
4.4.1. Historie .....	14
4.4.2. Princip .....	14
4.4.3. Recovery .....	16
4.4.4. Výhody a nevýhody intersticiální mikrodialýzy .....	19
4.4.5. Aplikace v experimentální a klinické praxi .....	20
<b>5. Cíl práce</b> .....	<b>24</b>
<b>6. Změny metabolismu v periferním (kosterním) svalu během kardiokirurgické operace: on-pump versus off-pump revaskularizace</b> .....	<b>25</b>
6.1. Soubor nemocných .....	25
6.2. Metodika a materiál .....	26
6.2.1. Anestezie .....	26
6.2.2. On-pump technika .....	26
6.2.3. Off-pump technika .....	27
6.2.4. Mikrodialýza (design) .....	28
6.2.5. Analýza vzorků .....	31
6.3. Statistické zpracování .....	31
6.4. Výsledky .....	33
6.5. Diskuze .....	50
<b>7. Tkáňové a plazmatické koncentrace cefuroximu během kardiokirurgické operace</b>	

<b>s mimotělním oběhem .....</b>	<b>55</b>
7.1. Experimentální část (in vitro stanovení antibiotik) .....	55
7.1.1. Metodika a materiál – experimentální část .....	55
7.2. Klinická část (in vivo stanovení tkáňových koncentrací antibiotik) .....	56
7.2.1. Soubor .....	56
7.2.2. Metodika a materiál – klinická část .....	57
7.2.2.1. Anestezie .....	57
7.2.2.2. Operační technika, mimotělní oběh .....	57
7.2.2.3. Antibiotická profylaxe .....	58
7.2.2.4. Mikrodialýza (design) .....	59
7.2.2.5. Analýza vzorků .....	60
7.2.3 Statistické zpracování a výpočty .....	61
7.3. Výsledky .....	63
7.3.1. In vitro pokus .....	63
7.3.2. In vivo pokus .....	64
7.4. Diskuze .....	71
<b>8. Závěr .....</b>	<b>75</b>
<b>9. Přehled publikační a přednáškové aktivity autora .....</b>	<b>78</b>
<b>10. Literatura .....</b>	<b>82</b>

## 2. Zkratky

ACT – activated clotting time

ALT – alaninaminotransferáza

aPTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas

AST – aspartátaminotransferáza

ATB – antibiotikum

AUC – area under the curve (plocha pod křivkou)

HPLC – vysokotlaká kapalinová chromatografie

ICHS – ischemická choroba srdeční

INR – International Normalized Ratio

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. Anotace

Kardiochirurgické operace jsou standardní metodou léčby onemocnění kardiovaskulárního aparátu. Během operace dochází v organismu k výrazným změnám fyziologických funkcí, na kterých se v případě srdeční operace podílí především použití mimotělního oběhu. Negativní účinky srdeční operace a mimotělního oběhu na lidský organismus se mohou podílet na rozvoji závažných pooperačních komplikací.

Ke studiu změn metabolismu, ke kterým dochází v souvislosti se srdeční operací na úrovni periferní tkáně, a ke stanovení extracelulárních koncentrací exogenních látek (antibiotik) v periferní tkáni lze použít intersticiální mikrodialýzu. Mikrodialýza je minimálně invazivní metoda, která umožňuje biochemické monitorování endogenních a exogenních látek v extracelulárním prostoru tkání. Je založena na přestupu vzorků solubilních látek z intersticiálního prostoru tkání přes semipermeabilní membránu.

Cílem první části práce je porovnat dvě standardně prováděné metody chirurgické revaskularizace myokardu – metodu s použitím mimotělního oběhu a bez použití mimotělního oběhu (off-pump) – na základě vyhodnocení změn koncentrací vybraných endogenních markerů tkáňového metabolismu v extracelulárním prostoru a porovnat změny tkáňového metabolismu jako odrazu perfuze tkáně v průběhu dvou metod chirurgické revaskularizace myokardu.

Druhá část práce má za cíl sledovat koncentraci profylakticky podávaného antibiotika (cefuroximu) v extracelulárním prostoru kosterního svalu během srdeční operace s použitím mimotělního oběhu, porovnat tkáňové koncentrace s plazmatickými koncentracemi a posoudit adekvátnost dávkovacího schématu antibiotické profylaxe.

## 4. Úvod

Onemocnění kardiovaskulárního aparátu představují v současné době nejčastější onemocnění, která je důvodem hospitalizace. Mortalita kardiovaskulárních chorob je v České republice se zhruba 850 úmrtími na 100 000 obyvatel stále významně vyšší než v zemích západní Evropy. Tato onemocnění jsou pak zodpovědná za zhruba 52 % všech úmrtí. Největší podíl představuje ischemická choroba srdeční. Společným zájmem zdravotního systému a celé společnosti je tedy zlepšení péče o nemocné se srdečními chorobami. Cílem je snížení nemocnosti a úmrtnosti s prodloužením délky života a zlepšením jeho kvality u nemocných s kardiovaskulárními chorobami. Kardiovaskulární program, součást programu „Zdraví 21“ Ministerstva zdravotnictví České republiky, patří mezi základní pilíře zdravotní politiky státu.

Kardiochirurgická léčba srdečních onemocnění, především ischemické choroby srdeční a onemocnění chlopenního aparátu, se stala v rozvinutých zemích standardní metodou léčby těchto onemocnění. Ročně je v posledních letech ve dvanácti kardiochirurgických pracovištích České republiky prováděno kolem deseti tisíc srdečních operací u dospělých nemocných. Na kardiochirurgické klinice Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Hradci Králové je ročně uskutečňováno 750–850 srdečních operací. Po stálém navyšování počtu operací do roku 2004 zůstává již tento počet v posledních letech nezměněn. Nejčastější kardiochirurgickou operací představuje chirurgická revaskularizace myokardu, která se na celkovém počtu srdečních operací podílí téměř z 60 %.

K operaci je indikováno stále více nemocných vyššího věku. Celorepublikový věkový průměr operovaných se od roku 1993 zvýšil z 54 let na 60 let v roce 1998 a v roce 2005 dosáhl až 65 let. Ani do budoucna nelze očekávat změnu tohoto trendu. Počet operovaných nemocných starších 70 let vzrostl od roku 1994 z 5,2 % všech operovaných na 38 % v roce 2005. Přibývá rovněž nemocných s řadou dalších přidružených nemocí, jako je arteriální hypertenze (75 % nemocných), diabetes mellitus (35 %), hypercholesterolemie (65 %), chronická choroba bronchopulmonální (22 %), stav po cévní mozkové příhodě (10 %) a po prodělaném infarktu myokardu (45 %).

To vše vede ke zvýšení rizika operace, prodloužení doby operace, mimotělního oběhu a ve svém důsledku k zvýšení rizika výskytu pooperačních komplikací. Přes trvale se zlepšující operační postupy, technické vybavení, peroperační a pooperační péči však tyto

operace stále představují pro nemocného určité riziko, které vyplývá jak z náročnosti výkonu, tak i z celkového stavu operovaného, daného základní chorobou a dalšími přidruženými komorbiditami.

Přesto, že je celková 30denní mortalita srdečních operací poměrně nízká (přibližně 3,5%; v případě izolované revaskularizace myokardu 2,1% v roce 2005), naším cílem musí být i nadále snaha o zlepšení výsledků kardiochirurgických operací, prodloužení života našich nemocných, ale také snaha o jejich opětovné sociálně-ekonomické zařazení do společnosti.

Z tohoto pohledu musí být naší snahou snížení výskytu především závažných pooperačních komplikací, které se zásadním významem podílejí na pooperační mortalitě a morbiditě a vedou k prodloužení délky hospitalizace, které je negativně vnímáno především ze strany nemocných. V konečném důsledku dochází ke zvýšení ekonomických nákladů na léčbu těchto nemocných.

Rozvoj kardiochirurgie je nemyslitelný bez rozvoje ostatních lékařských, ale i nelékařských disciplín. Rozvoj moderní kardiochirurgie je úzce spjat s pokrokem v oblasti mimotělního oběhu. Jeho aplikace do klinické praxe splnila přání kardiochirurgů – umožnila práci na zastaveném srdci. V současné době tvoří operace prováděné v mimotělním oběhu 86 % všech operací; přes osm tisíc operací ročně je tedy v České republice provedeno v mimotělním oběhu.

Myšlenka náhrady srdce pumpou, která bude schopna zabezpečit průtok orgány, je stará již téměř dvě století. Předpověděl ji v roce 1812 francouzský lékař Julien-Jean LeGallois. První experimentální práce s přístroji nahrazujícími funkce srdce a plic byly provedeny až v roce 1885 Freyem a Gruberem (208). Předchůdkyně, ještě v současné době standardně používané rotační válečkové pumpy, byla patentována v USA Porterem a Bradleyem v roce 1855. V roce 1934 své pokusy s rotačním čerpadlem publikoval DeBakey. Vývoj mimotělního oběhu ale nemohl probíhat bez vývoje zařízení pro okysličování krve. První pokusy o užití diskového oxygenátoru v experimentu představil již v roce 1937 Gibbon (63). První, bohužel neúspěšný pokus s mimotělním oběhem u člověka provedli Denis a Varco na Minnesotské univerzitě v roce 1951 (45). V roce 1953 provedl první úspěšnou operaci srdce v mimotělním oběhu John Gibbon (62). Od té doby dochází k obrovskému vývoji v technice mimotělního oběhu. Zdokonalují se jeho jednotlivé části – krevní čerpadla (rotační válečková pumpa, pumpa centrifugální), oxygenátory (bublinové oxygenátory, diskové oxygenátory,



membránové oxygenátory), používají se nové materiály a technologie a zlepšuje se vedení vlastního oběhu.

S aplikací mimotělního oběhu do klinické praxe dochází také k poznání jeho nežádoucích účinků na lidský organizmus. Někteří autoři popisují jeho vliv na organizmus jako tzv. kontrolovaný šok (117). Ani nejdokonalejší systémy mimotělního oběhu nejsou pro organizmus fyziologické a použití mimotělního oběhu během kardiochirurgické operace v něm způsobuje patofyziologické změny. Ty jsou způsobeny především stykem krve s cizím povrchem systému mimotělního oběhu, změnami v hemodynamice, hemodilucí a hypotermií během mimotělního oběhu.

#### **4.1. Mimotělní oběh – patofyziologie**

##### **a) Styk krve s umělým povrchem**

V organizmu je krev oddělena od cévního řečiště a okolních tkání buňkami endotelu. Syntetické materiály, z nichž jsou vyrobeny jednotlivé součásti mimotělního oběhu, postrádají tuto nesmáčivou endotelovou výstelku. Kontakt krve s tímto povrchem vede k aktivaci buněčných složek krve a specifických proteinů plazmy. Aktivace, která představuje za normálního stavu účinnou obranou reakci s cílem zničení cizorodých částic, vede v průběhu mimotělního oběhu k nežádoucí reakci. Dochází ke kaskádovité aktivaci hemokoagulačního, kalikrein-kininového, fibrinolytického a komplementového systému, které společně s aktivací buněčných součástí krve vedou k tzv. generalizované zánětlivé reakci organizmu (SIRS – systemic inflammatory response syndrom) (6, 35, 80, 98, 159, 172).

Aktivované leukocyty a trombocyty společně s denaturovanými proteiny vytvářejí mikroagregáty, které se podílejí na mikroembolizaci. Mikroagregáty aktivovaných buněk (leukocyty a trombocyty), ale i volné buňky jsou významným zdrojem mnoha substancí, jako např. vasoaktivních látek serotoninu, kininu, histaminu, prostaglandinů. Dochází také k výrazné tvorbě volných kyslíkových radikálů, proteolytických enzymů a mediátorů zánětu (interleukin-1, tumor necrosis factor aj.) (80, 171, 173, 212). Na povrchu endotelu dochází k expresi povrchových adhezivních molekul (E-selectin, ICAM-1) (129). Výsledkem všech těchto změn je narušení integrity cévní stěny, změny její propustnosti a změny mikrocirkulace se všemi důsledky z toho vyplývajícími.

## **b) Změny hemodynamických parametrů během mimotělního oběhu**

Základní vlastností organismu a kardiovaskulárního aparátu je možnost reakce na změny jeho energetických nároků změnami minutového srdečního výdeje. Během mimotělního oběhu organismus tuto schopnost ztrácí. Fyziologický krevní průtok se u dospělého člověka v klidu pohybuje mezi 2,8 a 4,0 l.m<sup>-2</sup>.min<sup>-1</sup>. Během mimotělního oběhu je průtok obvykle mnohem menší a stanovuje se na hodnotu 2,2–2,4 l.m<sup>-2</sup>.min<sup>-1</sup> (97). Hodnota, která byla experimentálně stanovena, představuje kompromis mezi velikostí průtoku a traumatizací krevních elementů. Další snižování minutového průtoku je mimo jiné umožněno vedením perfuze v celkové hypotermii. Spotřeba kyslíku v tkáních klesá se snižující se teplotou organismu. Spotřeba 120 ml.m<sup>-2</sup>.min<sup>-1</sup> kyslíku při průtoku 2,4 l.m<sup>-2</sup>.min<sup>-1</sup> v normotermii klesne na 33 ml.m<sup>-2</sup>.min<sup>-1</sup> při teplotě 20 °C (35, 55).

I v současné době je na mnoha pracovištích k rutinní perfuzi používáno rotační válečkové čerpadlo, tak jak bylo použito Johnem Gibbonem v roce 1953 (62). Základní vlastností této pumpy je zajištění kontinuálního, nepulzatilního krevního toku. I když klinická praxe již mnoho let prokazuje, že přechodné období nepulzatilního krevního toku je organismem tolerováno, nejedná se o fyziologický stav (46, 83). Důsledkem lineárního krevního toku je systémová vazokonstrikce, na které se podílejí podle mnoha studií vazokonstrikčně působící látky, jako je vazopresin (ADH), tromboxan A<sub>2</sub>, angiotenzin II a další (108, 195, 196). Následkem těchto změn pak mohou být změny v distribuci krevního toku, známky periferní ischemie, ale i zvýšená práce myokardu v pooperačním období.

Problematika výše krevního průtoku během mimotělního oběhu je spjata s velikostí systémového tlaku. Obecně přijatým názorem pro vyšší perfuzního tlaku je udržení systémového tlaku mezi hodnotami 50 a 75 mmHg a hematokritu 0,20 a 0,25, za předpokladu udržení spočítaného průtoku (31). Výše perfuzního tlaku je výslednicí mnoha proměnných, z nichž z našeho pohledu hrají základní roli velikost průtoku krve pumpou a periferní cévní rezistence (SVR). Výsledkem však musí vždy být zajištění dostatečné orgánové perfuze. Otázka dostatečné perfuze periferních tkání a změny metabolismu, ke kterým v nich dochází během mimotělního oběhu, nebyla doposud dostatečně vyřešena.

## **c) Hemodiluce a hypotermie během mimotělního oběhu**

Důležitou součástí vedení mimotělního oběhu představuje hemodiluce. Změny hematokritu krve, ke kterým dochází v průběhu mimotělního oběhu, mají největší vliv na

viskozitu krve. Ta pak přímo ovlivňuje orgánovou mikrocirkulaci. Průtok tkáněmi je nepřímo úměrný viskozitě krve. Ve spojení s mimotělním oběhem představuje hemodiluce (pokles hematokritu) důležitý nástroj k zachování dostatečné tkáňové perfuze i při nižších průtocích než za normálních podmínek (117).

Snížení spotřeby kyslíku v orgánech, zpomalení tkáňového metabolismu a zachování energetických zásob je během kardiochirurgických operací dosahováno pomocí systémové hypotermie. Ta umožňuje zvýšit toleranci orgánů k případné hypoxii. Přes mnoho pozitivních účinků hypotermie dochází v organismu i k mnoha negativním reakcím. Dochází ke změnám ve funkci mnoha orgánů – srdce (zpomalení srdeční frekvence, arytmie), plic (zvětšení anatomického i fyziologického mrtvého prostoru), ledvin (pokles krevního průtoku, snížení tubulární reabsorbce), jater (snížení metabolismu a exkreční funkce) (117). Důsledkem vzestupu viskozity krve, produkce katecholaminů a látek s vazokonstrikčním účinkem dochází k zvýšení periferní a plicní cévní rezistence, které mohou vést až k poruše mikrocirkulace. Pro převažující negativní účinky hypotermie je od ní postupně upouštěno a většina operací v mimotělním oběhu je již vedena v normotermii.

## 4.2. Off-pump revaskularizace

V koronární chirurgii vedla snaha o snížení pooperačních komplikací a snížení do té doby známých nežádoucích účinků mimotělního oběhu k vývoji operační techniky bez použití mimotělního oběhu, tzv. metody off-pump. První zprávy o revaskularizaci myokardu bez klasického mimotělního oběhu lze datovat již do 60. let 20. století (52, 144). V roce 1964 provedl Kolesov první mamarokoronární by-pass rovněž bez použití mimotělního oběhu (49). Avšak zdokonalení mimotělního oběhu a používání kardioplegie k ochraně myokardu před ischemií umožnilo provádět revaskularizace na zastaveném srdci a vedlo k rutinnímu používání mimotělního oběhu v klinické praxi. Revaskularizace metodou off-pump tak byla na několik let „zapomenuta“. Teprve na konci 80. let došlo k „znovuobjevení“ metody chirurgické revaskularizace bez mimotělního oběhu (15, 28, 158). Rozšíření této metody umožnilo mimo jiné zdokonalení stabilizačních systémů (86) a zavedení intrakoronárních shuntů do praxe (164, 200). Metoda revaskularizace bez mimotělního oběhu, tzv. metoda off-pump (OPCAB – off-pump coronary artery bypass), se tak stala alternativní metodou ke klasické revaskularizaci s použitím mimotělního oběhu. Mnoho studií potvrdilo srovnatelné

výsledky této techniky s operacemi v mimotělním oběhu a pokles některých nežádoucích účinků během operací off-pump. Nižší aktivaci systémové zánětlivé reakce a menší aktivaci a koncentraci zánětlivých mediátorů (6, 147, 159, 180), sníženou tvorbu kyslíkových radikálů a menší známky oxidativního stresu (2, 32, 61), menší poškození srdeční tkáně s poklesem koncentrace kardiomarkerů v krvi (57, 147), snížený výskyt pooperačních cévních mozkových příhod (160) nebo menší riziko pooperační renální insuficience (77, 119). V neposlední řadě bylo prokázáno, že revaskularizace touto metodou jsou spojeny s poklesem pooperačních krevních ztrát (160), s menším množstvím podávaných transfuzních prostředků v pooperačním období, kratší délkou pooperační intubace, hospitalizace na jednotce intenzivní péče a celkovou délkou hospitalizace (4, 30, 119, 151).

### **4.3. Srdeční operace jako možná příčina pooperační komplikace (změny perfuze tkání, infekční komplikace)**

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. Úspěšné provedení koronární anastomózy vyžaduje přesnou 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 (22, 58, 127, 148, 184). 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<sub>2</sub> 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 tkání, 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 tkání 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 % (102, 150). 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 % (33, 126, 162), incidence mediastinitidy v rozmezí 1–2 % (19, 59, 65). 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. chlopenních 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 trvající výkony, rozsáhlé operační pole, katétry umístěné ve velkých cévách operovaného, mimotělní oběh spolu s hypotermií a hemodilucí nebo kanyly pro MO, změny perfuze 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 perfuzí 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 (78, 131, 132, 169, 216).

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 štěpu aj. (19, 33, 65, 150, 162, 217).

Antibiotická profylaxe bakteriálních infekcí se stala standardní metodou ochrany pacientů během kardiochirurgické operace a v časném pooperačním období (53, 54). 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 mikrodialýza (109–111).

## 4.4. Intersticiální mikrodialýza

### 4.4.1. Historie

Začátek historie intersticiální mikrodialýzy se datuje do 60. let minulého století. První pokusy v poznání složení intersticiálního prostoru tkání spočívaly v aplikaci speciálních „dialyzačních váčků“, tvořených polopropustnou membránou, do tkáně zvířat. V roce 1966 Bito et al. (20) implantovali váčky, ve kterých po vyjmutí měřili hladiny elektrolytů a aminokyselin, do mozku psa (146). Konstrukce mikrodialyzační membrány byla postupně zdokonalována, až v roce 1974 Ungerstedt and Pycock oznámili použití tzv. hollow-fibres (205). Vývoj těchto „vláken“ vedl až k dnešní podobě mikrodialyzačních katétrů.

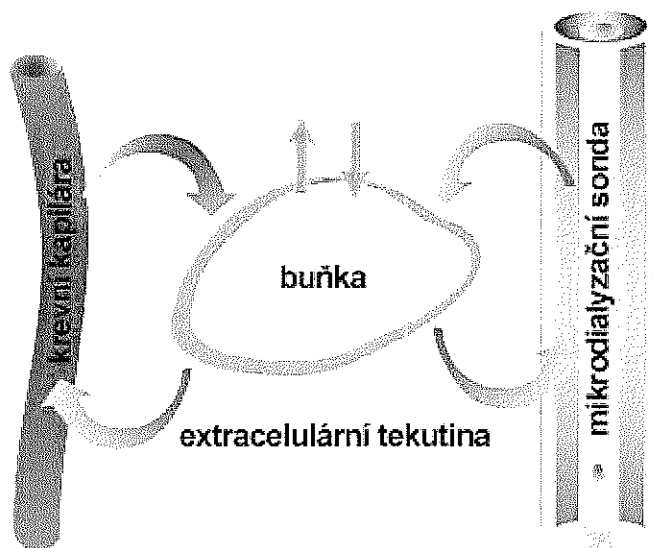
Zpočátku byla mikrodialýza využívána k měření koncentrací neurotransmiterů v nervové tkáni laboratorních zvířat. Později se tato metoda stala užitečným nástrojem v poznání metabolických dějů a složení extracelulární tekutiny i v jiných tkáních. Mezi průkopníky této metody patří především skupina vědců ze Švédska [Ungerstedt a Meyerson z Univerzity Karolinska ze Stockholmu (204), Hillered z Univerzity v Uppsale (76), Lönnroth z univerzity v Göteborgu (112, 115, 116)] a Delgado ze Spojených států amerických (44).

V roce 1987 publikuje Lönnroth první zkušenosti s aplikací mikrodialyzační kanyly u člověka ve studii koncentrace glukózy v podkožní tkáni zdravých dobrovolníků (115). Od té doby bylo popsáno mnoho prací o využití intersticiální mikrodialýzy s aplikací do různých tkání a orgánů, např. mozku, oka, srdce, plic, solidních tumorů, střev, peritoneální dutiny, podkožní tukové tkáně, kosterní svalové tkáně, jater, slinivky břišní a jiných (43, 194).

### 4.4.2. Princip

Mikrodialýza je založena na získávání vzorků solubilních látek z intersticiálního prostoru tkání přestupujícími semipermeabilní membránou do perfuzního roztoku, který je následně analyzován. Základním principem mikrodialýzy je vlastně napodobit funkci krevní kapiláry (obr. 1) (5, 43, 203). Ta je představovaná mikrodialyzační sondou, která je proplachována vhodným fyziologicky neutrálním elektrolytovým roztokem (např. Ringerův roztok).

**Obr. 1. Schematické znázornění principu intersticiální mikrodialýzy.**



V současné době se využívají dva typy katétrů, které se liší uspořádáním přívodné a odvodné kanyly. První systém tvoří přívodná kanyla připojená k jednomu a odvodná kanyla připojená k druhému konci vlastní mikrodialyzační sondy, tzv. sériové uspořádání. Druhý systém představují komerčně vyráběné katetry. Přívodná a odvodná kanyla jsou zde uspořádány tzv. paralelně. Kanyly jsou z části zasunuty do sebe a tvoří tak sondu se dvojitým lumenem. Vnější část sondy je z části tvořena vlastní semipermeabilní membránou (178). Semipermeabilní membrána, která je nejčastěji vyrobena z polyamidu, polyethylensulfonu (7, 72, 175) nebo jiného polopropustného materiálu (48), představuje nejdůležitější část celého systému. Membrána svými vlastnostmi (velikost pórů, náboj aj.) má vliv na přestup látky do mikrodialyzátu. Hodnota „cut-off“ membrány, tedy velikost „pórů“ se obvykle pohybuje od 1 000 do 50 000 Da (dalton). V praxi je možné studovat i látky vyšších molekulových kolem 100 000 Da. Problémem je velikost pórů membrány, přes které dochází spíše k mikrofiltraci než mikrodialýze (5). Na druhou stranu právě nemožnost přestupu látek vyšší molekulové hmotnosti, především bílkovin, zaručuje relativní stálost získaného mikrodialyzátu, v kterém nejsou přítomné bílkovinné enzymy. Nedochází tak k degradaci získaných látek a ty mohou být analyzovány s časovým odstupem.

Během vlastní mikrodialýzy je katétr připojen k velmi přesné mikropumpě s lineárním dávkováním a kontinuálně proplachován fyziologicky neutrálním roztokem. 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 (24). Přestup látek přes membránu se uskutečňuje jak směrem z intersticia do perfuzního roztoku, tak také ve směru obráceném. Přidáním vazoaktivní nebo metabolicky aktivní látky do perfuzního roztoku je možné ovlivnit metabolismus na úrovni extracelulárního prostoru a zároveň sledovat tkáňovou odezvu analýzou získaného mikrodialyzátu (106, 122, 167).

Obvyklá rychlost perfuze se pohybuje mezi  $0,1$  a  $10 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  (5). Nízké rychlosti je třeba k dokonalému vyrovnání koncentrací látek mezi intersticiální tekutinou a perfuzním roztokem v sondě.

Látky malé molekulové hmotnosti a látky lipofilní snáze přestupují přes membránu. Malé molekuly, vázané na bílkovinné nosiče, procházejí přes membránu obtížně. Proto lze mikrodialýzou stanovit pouze koncentrace volných, nevázaných látek (5). Metodou intersticiální mikrodialýzy je měřena koncentrace látek v intersticiálním prostoru v těsné blízkosti sondy. Tento prostor byl podle některých studií vypočten na přibližně  $100 \text{ mg}$  tkáně (167). Koncentrace intracelulární se neměří. I když se jedná o minimálně invazivní metodu, aplikace kanyly do tkáně pochopitelně vždy způsobí minimální poškození některých buněk v tkáni s uvolněním nitrobuněčného obsahu a zvýšením lokálního krevního průtoku. Proto po aplikaci mikrodialyzační kanyly do tkáně vždy následuje časový interval nutný k zotavení okolní tkáně, jehož délka závisí na typu vyšetřované tkáně a látky. Obvykle se pohybuje mezi  $30$  a  $90$  minutami. Teprve pak je možné zahájit vlastní měření (167, 178). Na druhou stranu je možné ponechat katétr v tkáni i delší časový interval, až několik dní. Histologické vyšetření tkáně po  $12$  hodinách mikrodialýzy v některých studiích potvrzuje pouze malou zánětlivou odezvu v okolí membrány (43).

#### **4.4.3. Recovery**

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 (24, 167, 178). Hovoříme o tzv. recovery či extrakční frakci. Rozlišujeme tzv. relativní recovery a absolutní recovery.

Relativní recovery, hodnota uvedená v procentech, vyjadřuje poměr mezi koncentrací látky v mikrodialyzátu a v intersticiálním prostoru. Relativní recovery =  $(\text{koncentrace}_{\text{dialyzát}} - \text{koncentrace}_{\text{perfúzát}}) \times (\text{koncentrace}_{\text{intersticiium}} - \text{koncentrace}_{\text{perfúzát}})^{-1}$ . Ve většině případů perfuzní roztok neobsahuje sledovanou látku a rovnici lze zjednodušit: recovery (%) =  $100 \times \text{koncentrace}_{\text{dialyzát}} \times \text{koncentrace}_{\text{intersticiium}}^{-1}$  (178).

Hodnoty relativní recovery 100%, tedy tzv. úplného vyrovnání, by bylo teoreticky dosaženo při nulové rychlosti. Hodnota postupně klesá při zvyšující se rychlosti perfuze. Absolutní recovery je definována jako množství látky, které přestoupí za určitý časový interval přes membránu sondy. Nabývá hodnoty nula při nulové rychlosti perfuze a přibližuje se svému maximu při vyšších rychlostech perfuze.

Hodnota recovery je ovlivňována mnoha faktory. Proto se recovery určená na základě experimentů in vitro se různí od hodnot získaných při pokusech in vivo (178). Hodnota recovery in vitro dané látky je konstantní pro určitou rychlost perfuze, teplotu a typ sondy.

V přehledu jsou uvedeny některé základní faktory, které ovlivňují hodnotu in vitro recovery (178, 5):

- délka a průměr membrány,
- rychlost perfuze,
- teplota prostředí,
- molekulární hmotnost stanovené látky,
- tvar molekuly stanovené látky,
- molekulární náboj,
- fyzikálně-chemické vlastnosti látky,
- hodnota „cut-off“ dialyzační membrány,
- schopnost vazby na membránu sondy,
- dalšími faktory jsou např. pH prostředí a degradace látky v prostředí.

Složitější situace nastává v případě určení in vivo recovery. Tkání prostupují látky na základě difuze intersticiální tekutinou okolo buněk směrem k mikrodialyzační sondě. Transport látky extracelulární tekutinou limituje její přísun k membráně sondy a následně tak i vlastní recovery (5). In vivo recovery je tedy navíc ovlivněna lokální tkáňovou rezistencí. Vlastnosti okolní tkáně mohou také způsobit odchylky hodnot recovery pro danou látku mezi

jednotlivými tkáněmi u téhož jedince (167). Stanovení hodnoty recovery in vitro pomocí pokusu se zavedením sondy do roztoku ve zkumavce (in vitro) a výpočtu poměru koncentrace v mikrodialyzátu a koncentrace látky v okolním prostředí není pro použití v pokusech in vivo vhodné. Při následném výpočtu koncentrací látky v tkáni na základě takto stanovené hodnoty recovery může dojít ke zkreslení výsledků, neboť recovery in vivo dosahuje nižší hodnoty než hodnota stanovená in vitro (5).

In vivo recovery je výslednicí mnoha proměnných. S prodlužující se délkou membrány a s klesající rychlostí perfuze stoupá hodnota recovery a obráceně. Látky malé molekulové hmotnosti a hydrofilní látky procházejí přes membránu snáze než látky o velké molekulové hmotnosti a látky lipofilní. Malé molekuly, vázané na bílkovinné nosiče, procházejí přes membránu sondy obtížně, proto mikrodialýzou lze stanovit pouze koncentrace volných, nevázaných látek v intersticiu.

Důležitým momentem při použití mikrodialýzy v kvantitativních studiích je stanovení správné hodnoty recovery a určení intersticiálních koncentrací. V praxi bylo a je používáno několik metod stanovení recovery.

Nejstarší metoda, tzv. mass transfer metoda je založena na postupném snižování rychlosti perfuze a změnách koncentrací látky v mikrodialyzátu. Základní myšlenkou tohoto konceptu je, že při nulové rychlosti je koncentrace v mikrodialyzátu stejná jako koncentrace extracelulární (5, 85).

Velmi častou metodou určení recovery je metoda „zero-net-flux“, a metoda „zero-flow“, které jsou založeny na dosažení ustáleného stavu (115, 152, 178). Metoda zero-net-flux byla poprvé popsána Lönnrothem při stanovení koncentrace glukózy v tukové tkáni. Principem této metody je nalezení takové koncentrace látky perfuzního, vstupujícího roztoku, která se rovná koncentraci látky v mikrodialyzátu. Nedochází tak ke ztrátám ani k získávání látek z intersticia přes membránu. Koncentrace látek se na obou stranách membrány rovnají. Vztah mezi koncentrací látky v perfuzním roztoku a mikrodialyzátu je následně určen pomocí lineární regresní analýzy (82, 115).

Jiným způsobem určení recovery je změna rychlosti perfuze mikrodialyzační kanylou. V průběhu mikrodialýzy je perfuze vedena různými rychlostmi. Výsledné koncentrace látky v dialyzátu jsou graficky vyjádřeny a následně analyzovány. Metoda je založena na předpokladu 100% recovery při nulové rychlosti perfuze, která je však v praxi nemožná (24).

Metody tzv. retrodialýzy a reverzní dialýzy jsou založeny na předpokladu stejné rychlosti difuze látky v obou směrech přes semipermeabilní membránu (178, 192). Vyšetřovaná látka je přidána do perfuzního roztoku. Na základě vztahu mezi koncentrací látky v perfuzátu a mikrodialyzátu je podle vztahu  $\text{recovery (\%)} = 100 - (100 \times \text{koncentrace}_{\text{dialyzát}} \times \text{koncentrace}_{\text{perfuzát}}^{-1})$  určena příslušná hodnota recovery (15, 27, 84, 138, 199).

In vivo recovery může být určena také pomocí radioizotopů. Do perfuzního roztoku je přidána izotopem značená látka. Poměr koncentrace značené látky v mikrodialyzátu a perfuzátu je použit při stanovení tkáňové koncentrace neznačené látky v extracelulárním prostoru (5, 91).

Ke zjištění skutečné extracelulární koncentrace látky v extracelulárním prostoru lze také použít katétr s větší délkou membrány (30 mm a více) a velmi pomalé rychlosti perfuze ( $0,3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Cílem je teoretické dosažení 100% recovery (5, 24). V experimentálních pracích lze při výpočtu intersticiální koncentrace použít speciální matematické modely (189, 190).

#### 4.4.4. Výhody a nevýhody intersticiální mikrodialýzy

Jak již bylo uvedeno při mikrodialýze je rychlost perfuze velmi malá. Obvykle se používají rychlosti mezi  $0,1 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  do  $10 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ . Při této rychlosti perfuze je celkový objem získaného vzorku velmi malý. Z toho pramení mnoho praktických problémů. Množství vzorku může být tak malé, že je nedostatečné k následné chemické analýze. Při perfuzi pomalou rychlostí ( $0,1 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$  a méně) také dochází k výrazným ztrátám vzorku odpařováním (24).

Při vyšších rychlostech perfuze s cílem získat větší množství vzorku dochází pouze k částečnému vyrovnání. Klesá tak hodnota recovery. Naší snahou je stanovit tkáňovou koncentraci látky v určitém krátkém časovém intervalu, který vede k malému množství získaného vzorku, a zároveň dosáhnout co největšího vyrovnání mezi sondou a okolním prostředím. Výsledkem je tedy vždy určitý kompromis mezi perfuzní rychlostí, velikostí recovery a objemem získaného vzorku. Někteří autoři se snaží vyřešit tento problém přidáním osmoticky aktivních látek (např. dextran) do perfuzního roztoku (70, 98).

K analýze takto malých objemů vzorků je třeba velmi citlivých analytických metod, jako např. plynové chromatografie, hmotnostní spektrometrie, kapilární elektroforézy, imunoanalytické metody a v neposlední řadě HPLC (5, 178).

Jednou z výhod mikrodialýzy je možnost relativně neinvazivně studovat metabolismus tkání *in vivo* v delším časovém úseku (několik hodin až dní) (136). Jiné metody, jako např. biopsie, jsou pro pacienty již více invazivní nebo jsou pro běžnou praxi a výzkum nedostupné. Mikrodialýza se tak stává cenným prostředkem při studiu tkání, které nejsou běžnými metodami snadno přístupné (metabolismus mozkové tkáně, srdeční svaloviny, oko) (167). I přes malé množství získaného vzorku lze v dialyzátu stanovit více látek souběžně. Technika intersticiální mikrodialýzy je snadná a nevyžaduje na obsluhujícím personálu větší technické schopnosti. Pro pacienty představuje pouze malý dyskomfort. Nevyžaduje ani imobilizaci pacientů nebo zvířat při použití k tomu uzpůsobených sond a technického zařízení.

Může být použita k simultánnímu studiu různých tkání (např. svalová a tuková tkáň) nebo studiu stejného typu tkáně v různé lokalizaci (podkožní tuková tkáň břišní stěny a stehna).

Vyšší pořizovací náklady jsou dány cenou kanyly, ale i cenou precizních mikropump, vysoce citlivých analytických metod nebo sterilizací materiálu v humánním výzkumu.

Mikrodialýza umožňuje studovat pouze látky hydrofilní. Hydrofobní látky a látky s vysokou vazbou na bílkovinné nosiče nelze touto metodou stanovit. Obtížný přestup bílkovin přes membránu se tak stává výhodou. V získaném vzorku nedochází k nežádoucí enzymatické degradaci látek. Některé práce se však zabývají možností stanovení látek bílkovinné povahy (např. inzulinu). Toho je dosaženo pomocí membrány s vysokým „cut-off“ (90).

Při stanovení tkáňové koncentrace látky je problémem kalibrace. Stanovení vztahu mezi koncentrací látky v mikrodialyzátu a extracelulární tekutině je základním předpokladem této metody v kvantifikačních studiích.

#### **4.4.5. Aplikace v experimentální a klinické praxi**

Metoda intersticiální mikrodialýzy, zpočátku používaná ve výzkumu neurotransmitterů, se postupem času ukázala jako cenný prostředek v získávání informací

o metabolismu na úrovni extracelulárního prostoru. Uplatnění našla při studiu metabolismu mnoha endogenních a exogenních látek v tkáních živých organismů.

Svalová tkáň, podkožní tuková tkáň a kůže jsou pro svoji relativní přístupnost častým místem aplikace mikrodialyzační sondy. Výzkum se především soustřeďuje na stanovení lokálních změn koncentrací endogenních látek v periferní svalové tkáni kosterního svalu či periferní tukové tkáni a posouzení lokálního krevního průtoku. Stanovení koncentrací některých látek, jako např. glukózy, laktátu, pyruvátu, urey, kalia, cytokinů, vypovídá o změně metabolismu svalové tkáně za různých fyziologických a patologických podmínek (3, 8, 23, 38, 51, 64, 79, 93, 101, 104, 113, 114, 118, 120, 141, 168, 170, 182, 201).

Úbytek „flow-markeru“, nejčastěji etanolu nebo gentamicinu, z perfuzního roztoku je pak úměrný krevnímu průtoku (73, 74, 193). Tkáňové koncentrace látek, které jsou základní komponentou kontraktinálních proteinů aktinu a myozinu, pak vypovídají o stupni svalové proteolýzy (202).

Ponechání katétru v tkáni po delší časový interval bez nutnosti opakovaného odebrání bioptických vzorků se s výhodou používá při studiu tkáně centrálního nervového systému (12, 60, 165). Mikrodialýza našla uplatnění především v intenzivní péči u neurochirurgických nemocných v monitorování sekundární ischemie vznikající po poranění mozkové tkáně nebo intracerebrálním krvácení (17, 75, 134). Přímé sledování místních změn koncentrací látek spojených s energetickým metabolismem (laktát, pyruvát, adenosin, inozin a hypoxantin) může v klinické praxi sloužit jako tzv. marker ischemie. Vzestup poměru koncentrace laktát / pyruvát se ukázal jako časný indikátor mozkové ischemie a vzestup koncentrace glycerolu je zase indikátorem porušené integrity neuronální membrány (47). Mikrodialýza se tak stala součástí tzv. „Lund terapie“ v léčbě traumatického poškození mozku (145).

Hematoencefalická bariéra představuje pro mnoho léků překážku v přestupu do parenchymu mozkové tkáně. Aplikace mikrodialyzační sondy do mozku umožňuje posoudit schopnost systémově aplikovaných léků procházet přes bariéru do intersticia nervové tkáně (149, 176, 177, 191).

Miniinvazivita mikrodialýzy umožnila i aplikaci sondy do orgánů dutiny břišní, jako jsou střeva, pankreas, játra (87, 88). Mikrodialýza střevní stěny a stanovení koncentrací látek spojených s energetickým metabolismem je cenným nástrojem v poznání střevní ischemie,

kteřá je vážnou komplikací sníženého krevního průtoku během srdeční zástavy, šokového stavu nebo srdeční operace (198). Některé experimentální práce na zvířatech se zabývají vlastnostmi střevní stěny a funkcí střevní bariéry (34, 87–89, 99, 103, 183, 185, 186).

Experimentální mikrodialýza našla uplatnění i v časně detekci ischemie myokutálních laloků po rekonstrukčních operacích v plastické chirurgii, kde ischemie přeneseného laloku a jeho možné ohrožení cévním uzávěrem představuje závažnou pooperační komplikaci. Podobně lze mikrodialýzu využít i v transplantační chirurgii S úspěchem byla použita např. při monitorování ischemicko-reperfuzního poškození některých transplantovaných orgánů (175, 181).

V posledních dvou desetiletích se mikrodialýza stala velmi oblíbenou v preklinických a klinických farmakologických studiích mnoha farmakologicky aktivních látek (např. antibiotik, cytostatik, dermatologicky aktivních látek, látek působících na centrální nervový systém) v různých místech lidského těla. Výhodou in vivo mikrodialýzy před ostatními metodami je schopnost měřit koncentrace volné látky v extracelulárním prostoru, které je hlavním místem působení mnoha léků (92). Dostatečné sérové koncentrace léčiva nejsou vždy spojeny s adekvátní klinickou odpovědí. Příčinou selhání léčby může být nedostatečná koncentrace látky v místě jeho působení. Proto se mikrodialýza ukázala jako velmi nadějná metoda ve farmakokinetických a farmakodynamických studiích. Cílem je optimalizovat dávkovací schéma mnoha v praxi používaných léků (42, 110, 135, 140, 188). Nadějnou metodou se ukázala mikrodialýza i v určení lokálního metabolismu a koncentrace chemoterapeutik v některých solidních nádorech (21, 41, 50, 121, 139, 137, 166, 197).

Předností topicky aplikovaných látek je snížení nežádoucích účinků, které souvisejí s jejich systémovým podáním. Základním předpokladem je i zde dostatečná tkáňová koncentrace, kterou lze pomocí mikrodialýzy určit. Často jsou sledovány koncentrace topicky aplikovaných nesteroidních protizánětlivých léků, lokálních anestetik a jiných lokálně používaných látek (39, 40, 142, 178, 187).

Malý rozměr mikrodialyzační sondy je s výhodou využíván při studiu endogenních látek a koncentrací léků v různých tkáních oka zvířat. To je umožněno intraokulární aplikací sondy (16, 66, 163).

Z pohledu kardiochirurgického pracoviště je třeba se zmínit o doposud publikovaném využití mikrodialýzy v experimentálním studiu srdeční tkáně a v kardiochirurgii. Minimální

rozměry sondy a malá invazivita dovoluje bezpečnou aplikaci sondy do myokardu stěny srdeční komory nebo mezikomorového septa. V experimentálních pracích na zvířatech byl pomocí mikrodialýzy sledován vliv ischemie na srdeční sval (213, 215), změny metabolismu během ischemie a kardioplegické srdeční zástavy (9, 10, 69, 94, 128, 133, 174, 206, 210, 214, 218) a vliv některých látek na změny metabolismu a stupeň ischemie (36, 81, 214). Další práce popisují stupeň poškození mozkové tkáně během mimotělního oběhu, hypotermie a srdeční zástavy (13, 25, 37, 153, 179).

Habicht et al. (68) publikoval první úspěšné zavedení mikrodialyzační sondy do srdečního svalu člověka. Následovalo mnoho prací stanovujících různé látky v intersticiálním prostoru myokardu. Stanovení koncentrací troponinu T, aspartátaminotransferázy, glukózy, laktátu, pyruvátu, glycerolu, glutathionu a jiných endogenních látek bylo využito k posouzení ischemicko-reperfuzního poškození myokardu během kardiokirurgické operace, během kardioplegické srdeční zástavy a v pooperačním období (11, 71, 95, 96, 107, 125, 143, 154–156). Ojedinelé jsou pak práce, v nichž Solligård et al. (184) analyzoval změny metabolismu a perfuze v tlustém střevě a Mand'ák et al. (124) vliv celkové hypotermie během kardiokirurgické operace v mimotělním oběhu na prokrvení periferního svalu.



## 5. 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 peroperačním 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.

## **6. Změny metabolismu v periferním (kosterním) svalu během kardiokirurgické operace: on-pump versus off-pump revaskularizace**

### **6.1. 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 Kardiokirurgické 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.

Od února 2007 do listopadu 2007 bylo zařazeno do studie čtyřicet nemocných (33 mužů, 7 žen), kteří podstoupili plánovanou chirurgickou revaskularizaci myokardu (tab. 1). 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 kardiokirurg byl vždy s mnohaletými zkušenostmi s operační technikou bez mimotělního oběhu i s použitím mimotělního oběhu.

U nemocných byla provedena veškerá rutinní předoperační vyšetření (fyzikální vyšetření, biochemické a hematologické vyšetření krve, vyšetření moče, RTG plic, EKG, UZ srdce a koronarografické 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).

Základní předoperační charakteristiky souboru jsou shrnuty v tabulce 1, vybraná data z peroperačního a pooperačního průběhu jsou uvedena v tabulce 2 a 3.

## 6.2. Metodika a materiál

### 6.2.1. Anestezie

Premedikace: Večer před operací bromazepamum (Lexaurin, Krka, Slovinsko) + bisulepini hydrochloridum (Dithiaden, Zentiva, ČR). Zpravidla 1,5 mg Lexaurinu a 2 mg Dithiadenu p. o. Ráno v den operace 1,5 mg Lexaurinu + 2 mg Dithiadenu. Od půlnoci nemocný lačný.

Úvod do anestezie: Po kanylaci arteria radialis byl podán sufentanyl v dávce  $1\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Sufenta, Janssen Pharmaceutica N.V., Belgie), propofol v dávce  $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Propofol 1% „Fresenius“, FreseniusKabi Deutschland GmbH, SRN), svalová relaxace zajištěna cisatracuriem v dávce  $0,1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Nimbex, GSK, Itálie). Látky podány intravenózně. Po podání této medikace byla provedena intubace nemocného, kanylace dvou centrálních žilních katétrů, zavedení nazogastrické sondy, nazopharyngeálního a rektálního teploměru a permanentního močového katétru.

Vedení anestezie a analgezie: Anestezie byla udržována sufentanylem ( $0,5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) a propofolem ( $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ), dostatečná myorelaxace zajištěna cisatracuriem ( $0,04\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) v dávkách zajišťujících adekvátní anestezii, myorelaxaci a hemodynamickou stabilitu v průběhu operace. Isoflurane (Forane, Abbot Laboratories, Velká Británie; 0,7–0,8 %) byl přidáván v kyslíku.

V průběhu operace byla zajištěna monitorace arteriálního tlaku, centrálního žilního tlaku, pulzní oximetrie a monitorace 6svodovým EKG.

### 6.2.2. 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  $2,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Hodnota ACT (Activated Clotting Time) byla udržována nad 480 sekund (HEMOCHRON<sup>®</sup> 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 nepulzatilním tokem (Stöckert S3, Sorin Group, Mnichov, Německo). Standardní součástí tepenné linky byl filtr s filtrační schopností 40 mikronů (Jostra Quart, Maquet Cardiopulmonary AG, Hirrlingen, Německo). Hadicový okruh mimotělního oběhu byl složen z PVC (polyvinylchlorid), kromě rotoru čerpadla, kde byla použita silikonová trubice.

Primární náplň systému mimotělního oběhu se skládala z krystaloidů (Hartmanův roztok nebo Ringerfundin), koloidních roztoků (10% Rheodextran nebo Voluven), 10% Manitolu, 8,4%  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4$ , 5 000 IU heparinu a 50  $\mu\text{g}$  noradrenalinu. Náplň neobsahovala antibiotika. Operace probíhala v celkové normotermii (teplota jádra nad  $35 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 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 antegrádní aplikace studeného ( $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 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. Proximální anastomózy aortokoronárních by-passů byly našívány na ascendentní aortu po povolení aortální svorky. Po provedení proximálních anastomóz a odstranění kanyl MO byl heparin vyvážen protaminem (Protamin Valeant, ICN, ČR) (1 : 1) za kontroly ACT.

Hodnoty acidobazické rovnováhy vnitřního prostředí a krevních plynů byly po dobu mimotělního oběhu udržovány ve fyziologických hodnotách (metoda „alpha-stat“).

### 6.2.3. 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 Axius Blower, Guidant, CA, USA). Po provedení koronární arteriotomie byla provedena vlastní anastomóza. V případě známek hemodynamické nebo elektrokardiografické nestability byl použit intraluminální „shunt“ (Guidant Axius Coronary Shunt, Guidant, CA, USA).

Pokles arteriálního tlaku způsobený polohováním srdce během provedení anastomózy byl kompenzován adekvátním podáváním intravenózních tekutin, zajišťujícím dostatečné plnění srdce, polohováním (Trendelenburgova poloha) nebo podáváním vazopresorů k udržení středního arteriálního tlaku nad 50 mmHg.

Po skončení revaskularizace byl heparin vyváán protaminem.

#### 6.2.4. Mikrodialýza (design)

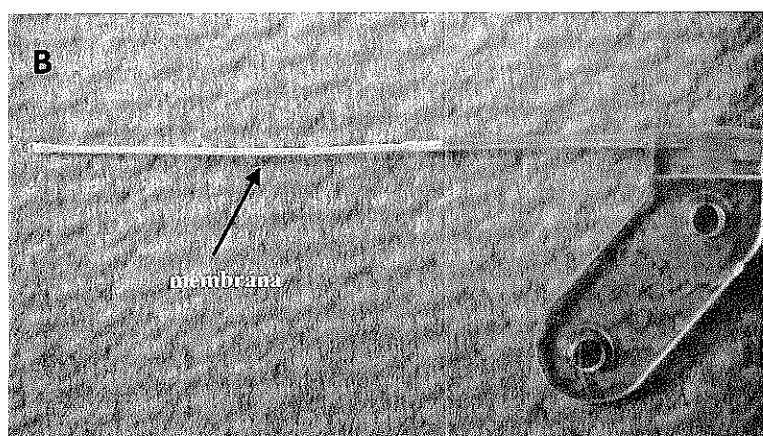
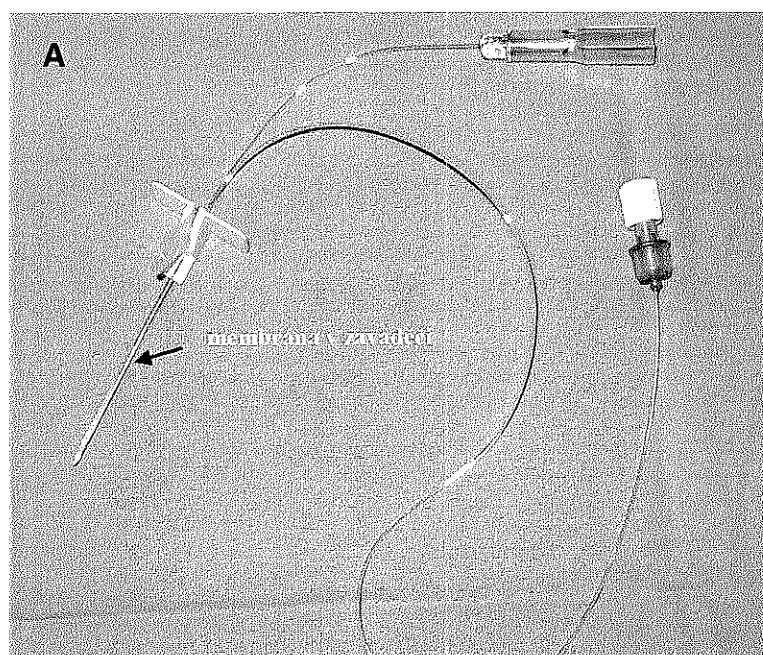
Po úvodu do celkové anestezie, před vlastním chirurgickým zákrokem, byl nemocnému za sterilních podmínek a bez použití lokální anestezie zaveden do levého deltového svalu mikrodialyzační katétr CMA 60 (CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko) (obr. 2, 3). Jedná se o komerčně vyráběný katétr obsahující semipermeabilní membránu z polyamidu (délka membrány 30 mm, vnější průměr 0,6 mm) a s „cut-off“ membrány 20 000 Daltonů.

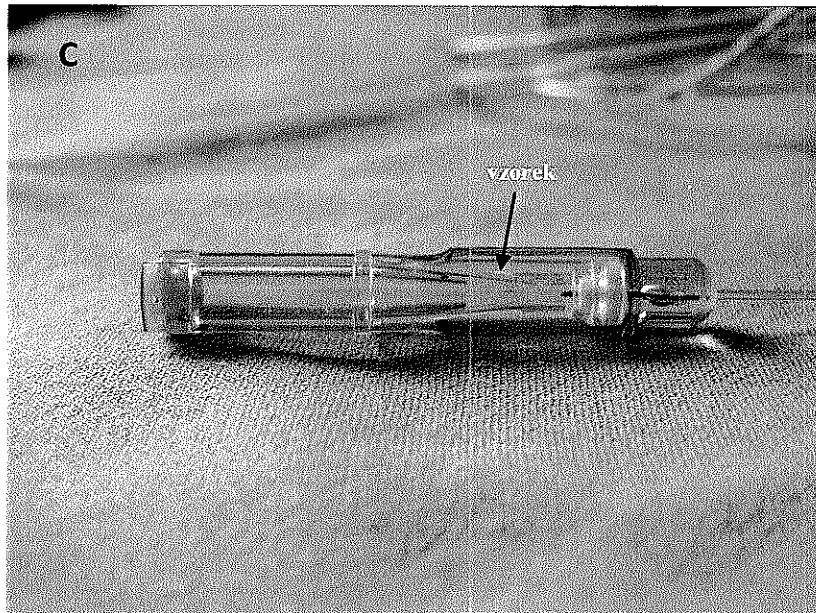
Sonda byla v průběhu celého experimentu proplachována Ringerovým roztokem (Ringer's solution, Braun Melsungen AG, Melsungen, Německo:  $\text{Na}^+$  147  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{K}^+$  4  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  2,25  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{Cl}^{-1}$  156  $\text{mmol.l}^{-1}$ , 309  $\text{mosmol.l}^{-1}$ ) konstantní rychlostí 0,1  $\text{ml.h}^{-1}$  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

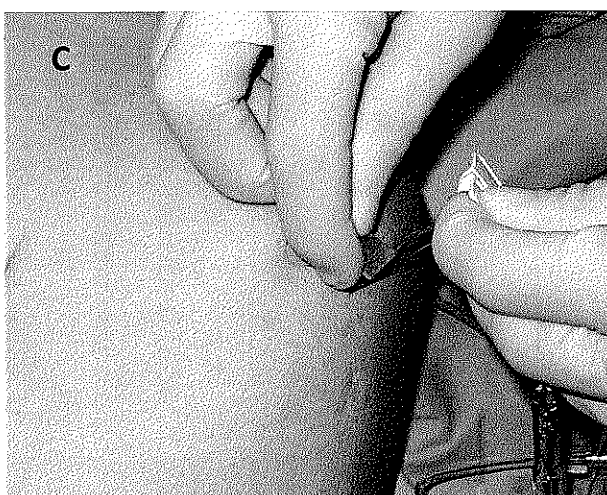
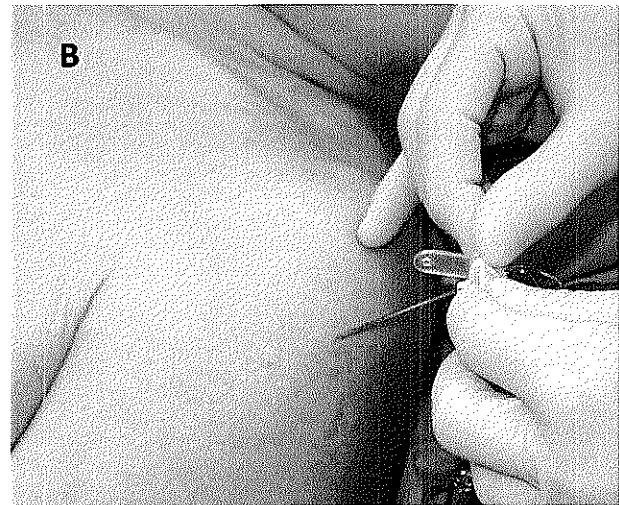
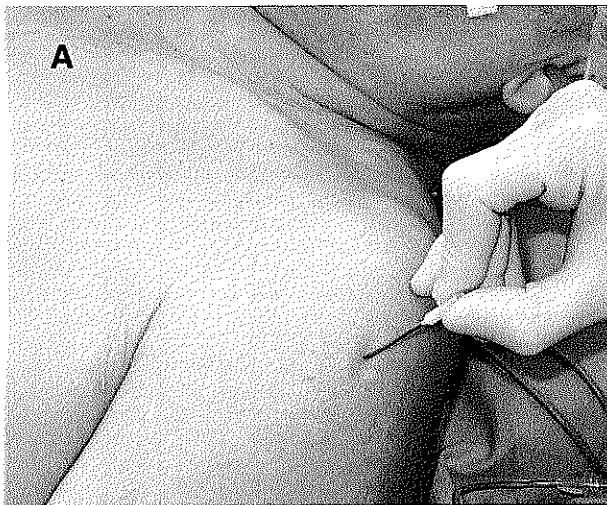
mikrozkumavky (2 min pro rychlost perfuze  $0,1 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$ ). Po skončení operace byl po provedení kožní sutury za sterilních podmínek katétre odstraněn. Mikrodialyzáty byly jímány do speciálních uzavřených mikrozkumavek (CMA Microvials, CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko) zabraňujících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

**Obr. 2.** A) Mikrodialyzační katétre CMA 60 (CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko). Vlastní mikrodialyzační membrána skryta v kovovém zavaděči. B) Konec katétru s membránou. C) Mikrozkumavka obsahující část vzorku.





**Obr. 3. Aplikace mikrodialyzačního katétru do deltového svalu.** A) Punkce kůže jehlou v místě aplikace katétru. B) Zavedení katétru do svalu pomocí kovového zavaděče. C) Katétr zavedený do svalu, odstranění zavaděče. D) Katétr zavedený do svalu a následně sterilně překryt.



### 6.2.5. 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. Princip stanovení spočíval v enzymatické oxidaci analytu za tvorby peroxidu vodíku, který byl následně využit v peroxidázou katalyzované reakci s činidlem (4-aminoantipyrin), které se mění v barevný produkt (chinonimin). Koncentrace analytu byla vypočtena v závislosti na rychlosti tvorby chinoniminu, tj. změně absorpce reakční směsi při 546 nm. Objem spotřebovaného vzorku činil (dle analytu) 0,5–2  $\mu\text{l}$ . Limity stanovitelnosti pro glukózu, laktát, pyruvát a glycerol byly nastaveny na 0,1–25  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ , 0,1–12  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ , 10–1 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  a 10–1 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  (v daném pořadí).

### 6.3. 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). K porovnání výsledků před operací a po ní (zvláště ve skupině on-pump a off-pump) byl použit párový t-test, případně neparametrický Wilcoxonův test. Kvalitativní parametry byly zhodnoceny pomocí  $\chi^2$  testu nezávislosti v kontingenční tabulce, případně byl použit Fisherův přesný test.



Výsledky měření jednotlivých parametrů (absolutní hodnoty) jsou vyjádřeny jako medián (25.–75. percentil). Porovnání absolutních 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-Whitneyho testu (neparametrické porovnání). Porovnání časového vývoje pro každý parametr bylo provedeno (zvláště ve skupině on-pump a off-pump) pomocí Friedmanovy neparametrické analýzy rozptylu a Wilcoxonova párového testu (s Bonferroniho korekcí na dosaženou hladinu významnosti).

Relativní hodnoty (absolutní změřené hodnoty vyjádřeny jako procento první naměřené hodnoty v čase  $t_{0,5} = 100\%$ ) jsou vyjádřeny jako medián (25.–75. percentil). Porovnání relativních hodnot mezi soubory on-pump a off-pump bylo provedeno pomocí Mann-Whitneyho testu, případně Kolmogorov-Smirnovova testu. Porovnání časového vývoje bylo hodnoceno pomocí Friedmanovy neparametrické analýzy rozptylu. K porovnání hodnot se základní hodnotou v čase  $t_{0,5}$  byl použit jednovýběrový t-test, případně Wilcoxonův test (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. Byl sledován vztah mezi poslední naměřenou hodnotou daného parametru s vybranou pooperační proměnnou. Z hodnot naměřených v průběhu celé operace byly zkonstruovány grafy a vypočtena individuální plocha pod křivkou (AUC, area under the curve) pro daný parametr. Získané hodnoty byly následně použity k zjištění korelací s vybranými parametry.

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).

## 6.4. 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. Základní předoperační charakteristiky souboru jsou uvedeny v tabulce 1. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi soubory v základních demografických, anamnestických a předoperačních laboratorních vyšetřeních.

Základní peroperační a pooperační charakteristiky obou souborů jsou shrnuty v tabulce 2. 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 peroperačně 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 kultivací a úspěšně vyléčené, došlo u jednoho nemocného z obou souborů.

Tabulka č. 1. Předoperační charakteristiky souboru (ON/OFF)

	On-pump (n = 20)	Off-pump (n = 20)	P
<b>Muž</b>	17 (85)	16 (80)	n.s.
<b>Věk (rok)</b>	67,0 ± 7,3	66,3 ± 7,0	n.s.
<b>Váha (kg)</b>	88,0 ± 15,5	83,7 ± 13,6	n.s.
<b>Výška (m)</b>	170,8 ± 8,3	171,4 ± 9,4	n.s.
<b>Tělesný povrch (m<sup>2</sup>)</b>	1,99 ± 0,21	1,96 ± 0,20	n.s.
<b>Body mass index</b>	30,1 ± 4,5	28,4 ± 3,2	n.s.
<b>Ejekční frakce levé komory (%)</b>	57,0 ± 9,8	56,2 ± 12,7	n.s.
<b>Arteriální hypertenze</b>	17 (85)	15 (75)	n.s.
<b>Diabetes mellitus</b>	4 (20)	8 (40)	n.s.
<b>IDDM / NIDDM</b>	2 / 2 (10/10)	1 / 7 (5/35)	
<b>CHOPN</b>	2 (10)	1 (5)	n.s.
<b>Stav po cévní mozkové příhodě</b>	3 (15)	0 (0)	n.s.
<b>Stav po infarktu myokardu</b>	17 (85)	13 (65)	n.s.
<b>Periferní ateroskleróza</b>	6 (30)	2 (10)	n.s.
<b>Kuřák</b>	6 (30)	4 (20)	n.s.
<b>Canadian Cardiovascular Society grade</b>			n.s.
<b>I</b>	1	1	
<b>II</b>	7	10	
<b>III</b>	12	9	
<b>New York Heart Association grade</b>			n.s.
<b>0</b>	3	1	
<b>I</b>	10	9	
<b>II</b>	6	9	
<b>III</b>	1	1	
<b>Předoperační medikace:</b>			
<b>Kyselina acetylsalicylová</b>	16 (80)	16 (80)	n.s.
<b>Betablokátory</b>	16 (80)	17 (85)	n.s.
<b>ACE inhibitory</b>	15 (75)	14 (70)	n.s.
<b>Ca blokátory</b>	2 (10)	2 (10)	n.s.
<b>Diuretika</b>	9 (45)	9 (45)	n.s.
<b>Statiny</b>	18 (90)	17 (85)	n.s.
<b>Předoperační laboratorní hodnoty:</b>			
<b>Glykemie (mmol.l<sup>-1</sup>)</b>	5,9 (3,9 – 13,2)	6,2 (4,2 – 12,8)	n.s.
<b>Urea (mmol.l<sup>-1</sup>)</b>	5,7 (4,4 – 9,6)	5,5 (3,2 – 7,9)	n.s.
<b>Kreatinin (μmol.l<sup>-1</sup>)</b>	92,6 ± 22,3	89,3 ± 11,9	n.s.
<b>Leukocyty (10<sup>9</sup> l<sup>-1</sup>)</b>	7,8 (4,7 – 11,9)	7,1 (4,0 – 9,4)	n.s.
<b>Hemoglobin (g.l<sup>-1</sup>)</b>	147,0 ± 13,6	143,5 ± 14,0	n.s.
<b>Hematokrit</b>	0,44 (0,37 – 0,50)	0,43 (0,34 – 0,51)	n.s.
<b>Trombocyty (10<sup>9</sup> l<sup>-1</sup>)</b>	234,8 ± 55,2	233,9 ± 55,9	n.s.
<b>ALT (μkat.l<sup>-1</sup>)</b>	0,50 (0,22 – 3,35)	0,46 (0,25 – 1,69)	n.s.
<b>AST (μkat.l<sup>-1</sup>)</b>	0,48 (0,18 – 1,97)	0,45 (0,29 – 1,56)	n.s.
<b>Celkový bilirubin (μmol.l<sup>-1</sup>)</b>	9 (6 – 15)	10 (6 – 26)	n.s.

IDDM / NIDDM = inzulin dependentní diabetes mellitus/ inzulin non-dependentní diabetes mellitus; CHOPN = chronická choroba bronchopulmonální; ACE = angiotenzin konvertující enzym; Ca blokátory = blokátory vápníkového kanálu; ALT = alaninaminotransferáza; AST = aspartátaminotransferáza

Tabulka č. 2. Peroperační a pooperační data (ON/OFF)

	On-pump (n = 20)	Off-pump (n = 20)	p
Délka operace (min)	231 (168 – 430)	200 (115 – 268)	0,002
Délka mimotělního oběhu (min)	81 (50 – 138)		
Délka aortální svorky (min)	43 (28 – 75)		
Počet distálních anastomóz / nemocný	2,9 ± 0,7	2,4 ± 0,8	0,049
<b>Distribuce distálních anastomóz:</b>			
Oblast RIA	19 (95)	20 (100)	n.s.
Oblast RCx	19 (95)	9 (45)	0,001
Oblast ACD	12 (60)	13 (65)	n.s.
LIMA	19 (95)	20 (100)	n.s.
VSM	20 (100)	14 (70)	0,020
AR	0 (0)	1 (5)	n.s.
Diuréza během operace (ml)	1 200 (200 – 2 000)	500 (200 – 1 750)	0,004
Pobyt JIP (h)	56 (16 – 240)	41 (15 – 72)	n.s.
Ventilace JIP (h)	8 (4 – 20)	6 (4 – 18)	n.s.
Laktát příjem JIP (mmol.l <sup>-1</sup> )	1,7 (1,2 – 6,9)	1,4 (0,9 – 3,6)	n.s.
Glykemie příjem JIP (mmol.l <sup>-1</sup> )	8,4 (6,7 – 12,2) <sup>b</sup>	7,6 (5,3 – 14,3)	n.s.
Inzulín / 16 hodin <sub>JIP</sub> (IU)	55 (36 – 100)	44 (0 – 206)	n.s.
Krevní ztráty / 24 hodin (ml)	550 (350 – 1 150)	575 (150 – 1 600)	n.s.
Noradrenalin během operace	20 (100)	18 (90)	n.s.
max. dávka (µg.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	0,10 (0,02 – 0,43)	0,11 (0,08 – 0,26)	n.s.
Noradrenalin po operaci	19 (95)	17 (85)	n.s.
max. dávka 0-24 hodin po operaci (µg.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	0,14 (0,07 – 0,34)	0,12 (0,08 – 0,39)	n.s.
Délka hospitalizace poop. (dny)	11,5 (8 – 47)	10 (7 – 30)	n.s.
Transfuze krve (TU / nemocný)	1 (0 – 6)	0 (0 – 3)	n.s.
Plazma (TU / nemocný)	0 (0 – 3)	0 (0 – 2)	n.s.
<b>Pooperační komplikace:</b>			
Ischémie myokardu	1 (5)	0 (0)	n.s.
Fibrilace síní	7 (35)	6 (30)	n.s.
Nízký minutový srdeční výdej	4 (20)	1 (5)	n.s.
Infekce v ráně	1 (5)	1 (5)	n.s.

RIA = ramus interventricularis anterior; RCx = ramus circumflexus; ACD = arteria coronaria dextra; LIMA = left internal mammary artery; VSM = vena saphena magna; AR = arteria radialis; JIP = jednotka intenzivní péče; TU = transfúzní jednotka

V tabulce 3 jsou shrnuty výsledky základních laboratorních vyšetření provedených před operací a po operaci v době příjmu na JIP nebo první pooperační den (ALT, AST, INR, aPTT). 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  $p\text{CO}_2\text{a}$  ( $p < 0,05$ ). 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. 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. V příslušných grafech (tabulka) jsou dále prezentovány všechny získané výsledky, tedy až do 4. hodiny od začátku operace, včetně počtu získaných vzorků v intervalu  $t_{3,5}$  a  $t_{4,0}$ .

Tabulka č. 3. Změny vybraných parametrů během operace (ON/OFF)

	Před operací			Po operaci		
	On-pump (n = 20)	Off-pump (n = 20)	p	On-pump (n = 20)	Off-pump (n = 20)	p
Glykemie (mmol.l <sup>-1</sup> )	5,9 (3,9 – 13,2)	6,2 (4,2 – 12,8)	n.s.	8,4 (6,7 – 12,2) <sup>b</sup>	7,6 (5,3 – 14,3) <sup>c</sup>	n.s.
Urea (mmol.l <sup>-1</sup> )	5,7 (4,4 – 9,6)	5,5 (3,2 – 7,9)	n.s.	5,5 (3,4 – 9)	4,7 (3,3 – 8,6) <sup>a</sup>	0,006
Kreatinin (μmol.l <sup>-1</sup> )	92,6 ± 22,3	89,3 ± 11,9	n.s.	84,9 ± 15,2 <sup>b</sup>	73,9 ± 11,6 <sup>c</sup>	0,014
ALT (μkat.l <sup>-1</sup> )	0,50 (0,22 – 3,35)	0,46 (0,25 – 1,69)	n.s.	0,53 (0,16 – 2,33)	0,38 (0,20 – 0,81) <sup>a</sup>	n.s.
AST (μkat.l <sup>-1</sup> )	0,48 (0,18 – 1,97)	0,45 (0,29 – 1,56)	n.s.	1,24 (0,48 – 3,51) <sup>c</sup>	0,76 (0,28 – 1,99) <sup>b</sup>	0,004
Leukocyty (10 <sup>9</sup> l <sup>-1</sup> )	7,8 (4,7 – 11,9)	7,1 (4,0 – 9,4)	n.s.	10,8 (7,3 – 21,9) <sup>a</sup>	12,2 (6,4 – 16,5) <sup>c</sup>	n.s.
Hemoglobin (g.l <sup>-1</sup> )	147,0 ± 13,6	143,5 ± 14,0	n.s.	112,7 ± 12,0 <sup>c</sup>	113,9 ± 16,3 <sup>c</sup>	n.s.
Hematokrit	0,44 (0,37 – 0,50)	0,43 (0,34 – 0,51)	n.s.	0,32 (0,26 – 0,38) <sup>c</sup>	0,33 (0,21 – 0,39) <sup>c</sup>	n.s.
Trombocyty (10 <sup>9</sup> l <sup>-1</sup> )	234,8 ± 55,2	233,9 ± 55,9	n.s.	151,9 ± 49,7 <sup>c</sup>	189,0 ± 52,5 <sup>c</sup>	0,027
INR	1,09 (0,93 – 1,27)	1,12 (1,01 – 1,95)	n.s.	1,48 (1,17 – 1,86) <sup>c</sup>	1,37 (1,05 – 2,27) <sup>b</sup>	n.s.
aPTT	1,04 (0,84 – 1,44)	0,99 (0,85 – 1,88)	n.s.	1,23 (1,02 – 5,17) <sup>c</sup>	1,2 (0,95 – 5,3) <sup>b</sup>	n.s.
pH <sub>a</sub>	7,47 (7,43 – 7,56)	7,46 (7,43 – 7,53)	n.s.	7,39 (7,25 – 7,48) <sup>c</sup>	7,34 (7,17 – 7,45) <sup>c</sup>	n.s.
pO <sub>2a</sub> (kPa)	10,9 (8,5 – 13,2)	10,5 (8,0 – 11,9)	n.s.	17,9 (9,4 – 26,1) <sup>c</sup>	18,5 (11,2 – 23,8) <sup>c</sup>	n.s.
pCO <sub>2a</sub> (kPa)	4,1 (3,5 – 4,7)	4,4 (3,3 – 5,2)	0,035	4,9 (3,1 – 8,0) <sup>c</sup>	5,4 (1,1 – 8,7) <sup>b</sup>	n.s.
BE <sub>a</sub>	0,3 (-2,3 – 3,8)	0,75 (-1,2 – 4,1)	n.s.	-3,5 (-7,8 – 0,3) <sup>c</sup>	-4,1 (-7,2 – 0,1) <sup>c</sup>	n.s.
SO <sub>2a</sub> (%)	97,4 (93,9 – 99,7)	96,8 (93,5 – 99,9)	n.s.	99,0 (94,0 – 99,9) <sup>c</sup>	99,1 (94,2 – 99,9) <sup>c</sup>	n.s.

INR = International Normalized Ratio; aPTT = aktivovaný parciální tromboplastinový čas; ALT = alaninaminotransferáza; AST = aspartátaminotransferáza

<sup>a</sup> p < 0,05; hodnota po operaci versus před operací

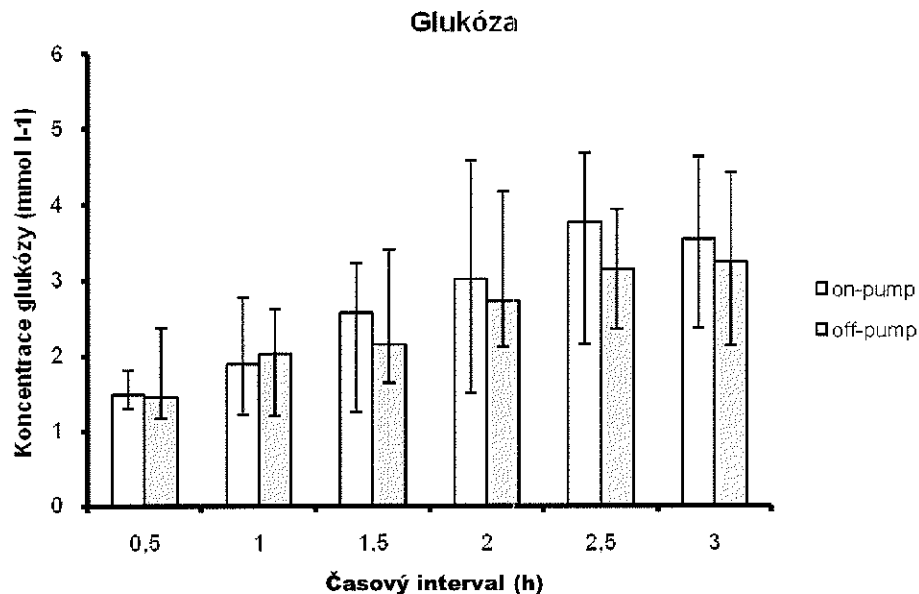
<sup>b</sup> p < 0,01; hodnota po operaci versus před operací

<sup>c</sup> p < 0,001; hodnota po operaci versus před operací

## Glukóza:

Výsledky měření koncentrace glukózy jsou znázorněny v grafu č. 1. 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<sub>2,5</sub> ve srovnání se základní hodnotou t<sub>0,5</sub> 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<sub>3,0</sub>. V žádném čase nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v koncentraci glukózy v mikrodialyzátu mezi skupinou on-pump a off-pump.

**Graf č. 1. Změny koncentrace glukózy v mikrodialyzátu během chirurgické revaskularizace.** Skupina on-pump (n=20), skupina off-pump (n=20). Hodnoty jsou vyjádřeny jako medián (25. - 75. percentil). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián) až do 4. hodiny od začátku operace (v závorce uveden počet měření v intervalu 3,5 a 4).

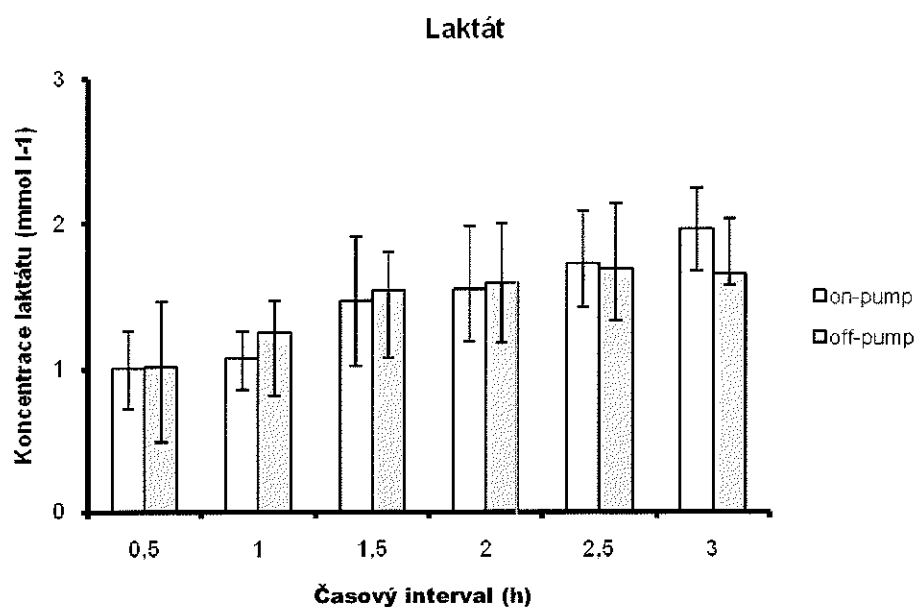


Glukóza (mmol.l-1)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
ON	1,48	1,89	2,57	3,01	3,76	3,55	2,55 (13)	2,62 (7)
OFF	1,45	2,03	2,14	2,72	3,15	3,24	2,74 (7)	3,18 (3)

## Laktát:

Získané koncentrace laktátu v mikrodiályzátu jsou znázorněny v grafu č. 2. 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 t3,0 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.

**Graf č. 2. Změny koncentrace laktátu v mikrodiályzátu během chirurgické revaskularizace.** Skupina on-pump (n=20), skupina off-pump (n=20). Hodnoty jsou vyjádřeny jako medián (25. - 75. percentil). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián) až do 4. hodiny od začátku operace (v závorce uveden počet měření v intervalu 3,5 a 4).



Laktát (mmol.l-1)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
ON	1,00	1,08	1,48	1,56	1,73	1,97	1,88 (13)	1,76 (7)
OFF	1,02	1,25	1,55	1,60	1,69	1,66	2,10 (7)	2,49 (3)

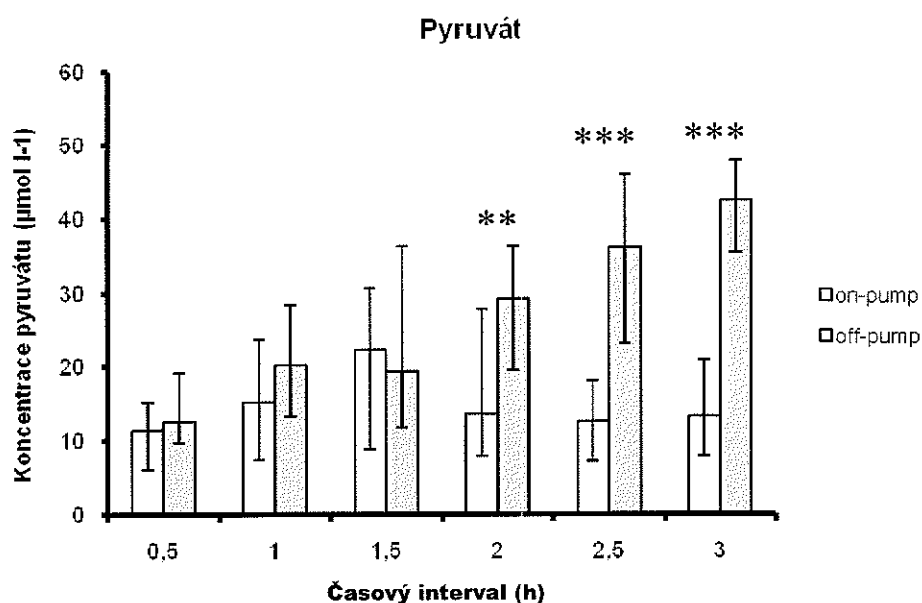


## Pyruvát:

Časový průběh koncentrací pyruvátu v mikrodialyzátu byl odlišný v obou skupinách, jak je zobrazeno v grafu č. 3. Ve skupině off-pump došlo k významnému vzestupu koncentrací pyruvátu od intervalu t2,0. V čase t3,0 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 t1,5 (196% bazální hodnota;  $p<0,01$ ). Od intervalu t2,0 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 t2,0 ( $p<0,01$ ), t2,5 ( $p<0,001$ ) a t3,0 ( $p<0,001$ ).

**Graf č. 3. Změny koncentrace pyruvátu v mikrodialyzátu během chirurgické revaskularizace.** Skupina on-pump (n=20), skupina off-pump (n=20). Hodnoty jsou vyjádřeny jako medián (25. - 75. percentil). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián) až do 4. hodiny od začátku operace (v závorce uveden počet měření v intervalu 3,5 a 4).

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



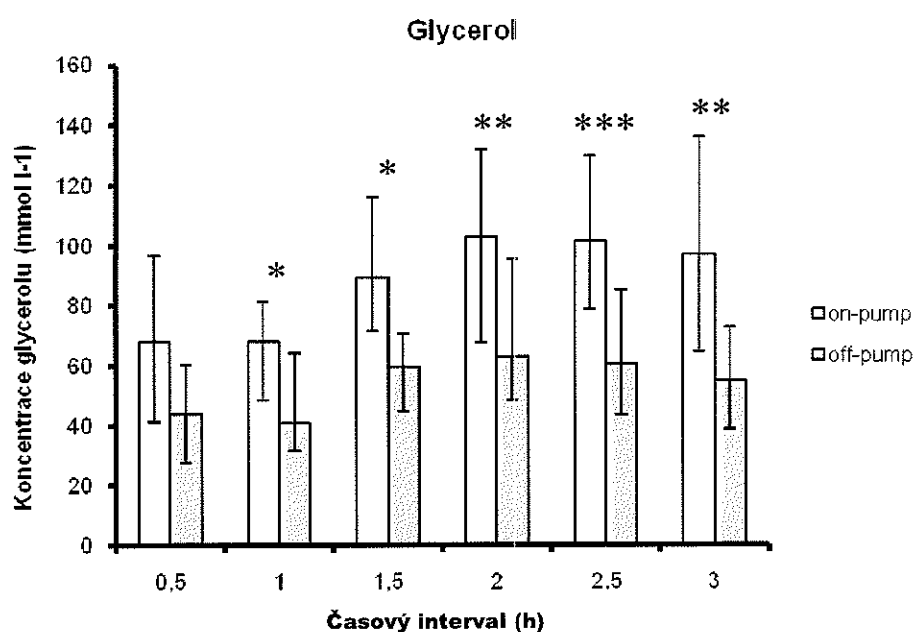
Pyruvát (µmol.l-1)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
ON	11,35	15,30	22,30	13,65	12,60	13,35	17,60 (13)	9,20 (7)
OFF	12,70	20,15	19,30	29,25	36,15	42,50	28,60 (7)	36,40 (3)

## Glycerol:

Časový průběh koncentrací glycerolu v mikrodialyzátu v průběhu chirurgické revaskularizace myokardu znázorňuje graf č. 4. 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.

**Graf č. 4. Změny koncentrace glycerolu v mikrodialyzátu během chirurgické revaskularizace.** Skupina on-pump (n=20), skupina off-pump (n=20). Hodnoty jsou vyjádřeny jako medián (25. - 75. percentil). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián) až do 4. hodiny od začátku operace (v závorce uveden počet měření v intervalu 3,5 a 4).

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



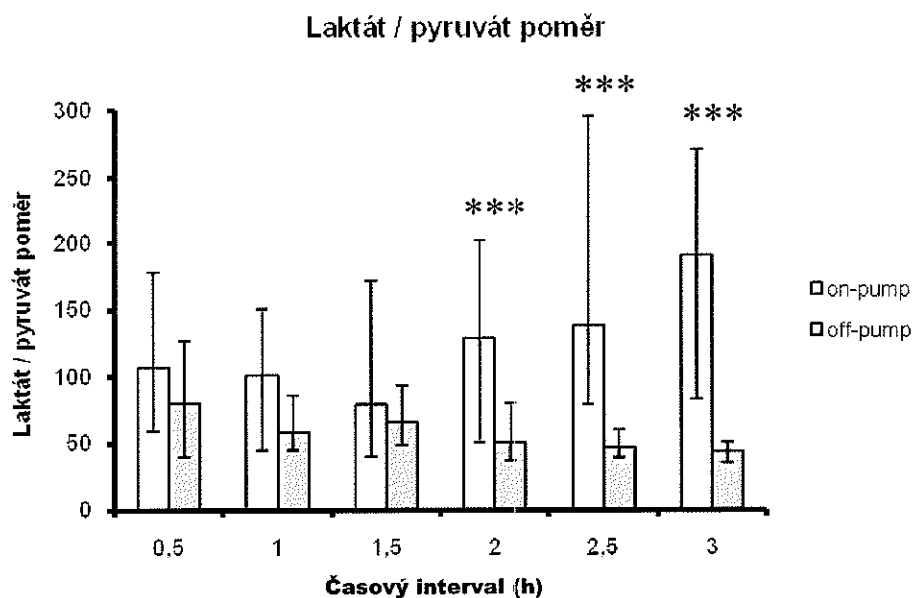
Glycerol (μmol.l-1)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
ON	68,20	67,90	89,15	103,10	101,60	97,05	88,50 (13)	75,40 (7)
OFF	44,00	40,80	59,50	62,95	60,35	54,90	52,3 (7)	60,1 (3)

## Laktát / Pyruvát poměr:

Hodnoty koncentrací laktátu a pyruvátu v jednotlivých intervalech byly použity k výpočtu poměru laktát / pyruvát (LPR – lactate/pyruvate ratio). Získané hodnoty a časový průběh znázorňuje grafu č. 5. 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.

**Graf č. 5. Změny poměru Laktát / Pyruvát v mikrodialyzátu během chirurgické revaskularizace.** Skupina on-pump (n=20), skupina off-pump (n=20). Hodnoty jsou vyjádřeny jako medián (25. - 75. percentil). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián) až do 4. hodiny od začátku operace (v závorce uveden počet měření v intervalu 3,5 a 4).

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



Laktát / Pyruvát poměr								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
<b>ON</b>	106,96	100,81	78,74	128,44	138,37	190,44	141,32 (13)	314,11 (7)
<b>OFF</b>	80,22	57,48	65,50	49,84	46,78	43,05	62,26 (7)	53,21 (3)

### ***c) relativní hodnoty sledovaných látek v mikrodialyzátu***

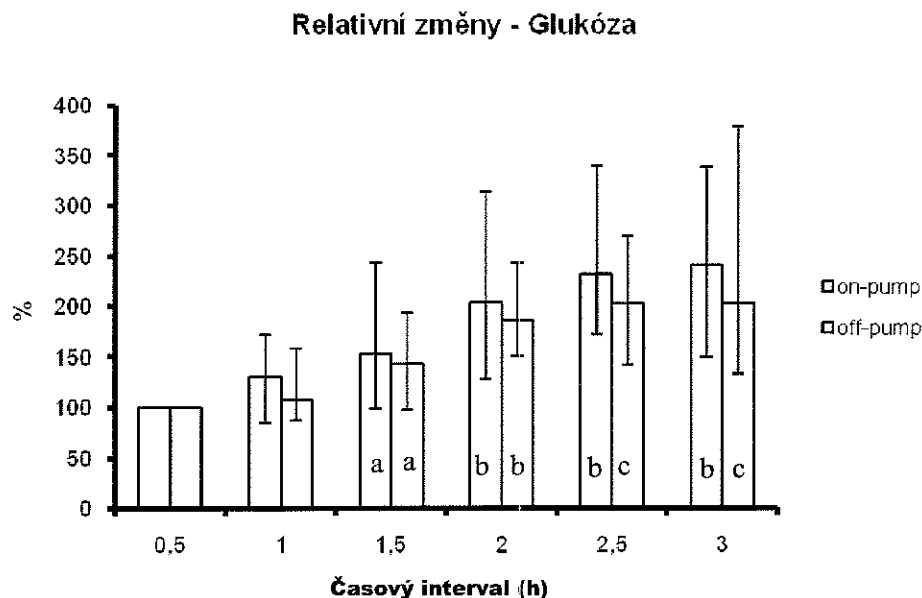
Získané koncentrace jednotlivých látek v mikrodialyzátu, absolutní hodnoty, byly použity k výpočtu relativních hodnot. Absolutní hodnota změřeného parametru v jednotlivém časovém intervalu byla vyjádřena jako procentuální část (v %) základní hodnoty. V naší studii základní hodnotu („baseline“) představuje absolutní hodnota v intervalu  $t_{0,5}$ , který představuje časové období sternotomie a odběru štěpů, tedy období před otevřením perikardu a manipulací se srdcem.

#### **Glukóza:**

Relativní hodnoty koncentrace glukózy v mikrodialyzátu během chirurgické revaskularizace znázorňuje graf č. 6. 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  $p < 0,001$ ).

**Graf č. 6. Relativní změny koncentrace glukózy 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). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián).

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



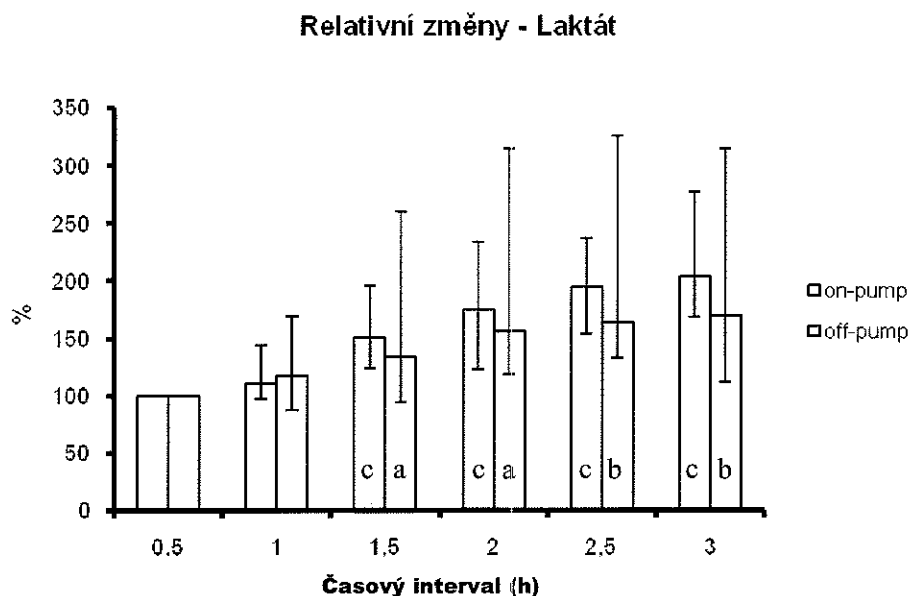
Glukóza (%)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
<b>ON</b>	100	130,6	153,1	204,3	231,0	240,9	160,3 (13)	222,91 (7)
<b>OFF</b>	100	107,9	143,0	185,6	202,2	202,7	207,82 (7)	228,24 (3)

#### Laktát:

Relativní změny koncentrací laktátu stoupaly u obou skupin v průběhu operace (graf č. 7). 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.

**Graf č. 7. Relativní změny koncentrace laktátu 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). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián).

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



Laktát (%)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
<b>ON</b>	100	111,2	150,8	174,6	195,0	203,7	213,30 (13)	274,74 (7)
<b>OFF</b>	100	116,9	133,9	156,5	163,5	169,4	150,11 (7)	153,08 (3)

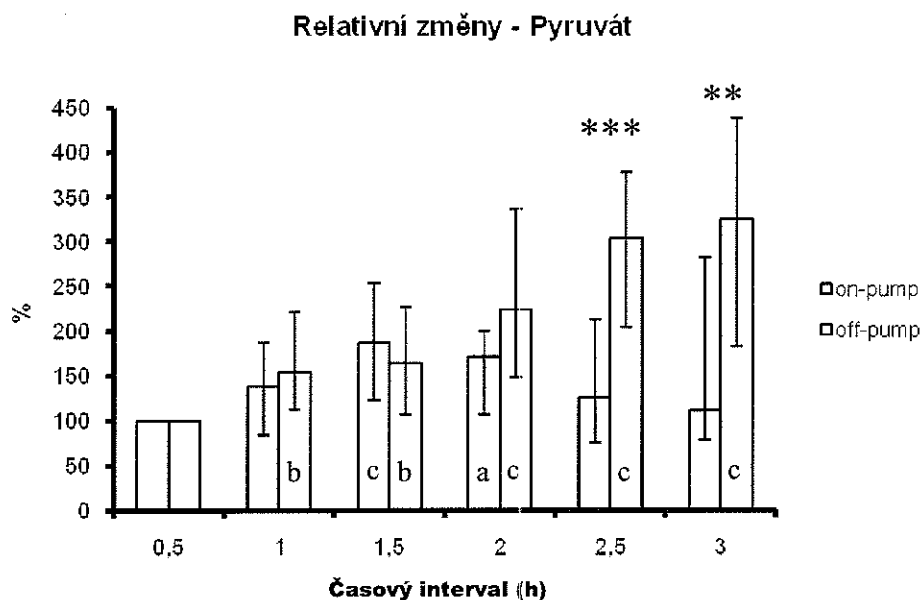
### Pyruvát:

Časový průběh relativních hodnot koncentrací pyruvátu byl v průběhu operace obdobný s průběhem absolutních hodnot (graf č. 8). 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 ( $p < 0,01$ ).

**Graf č. 8. Relativní změny koncentrace pyruvátu 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). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián).

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

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



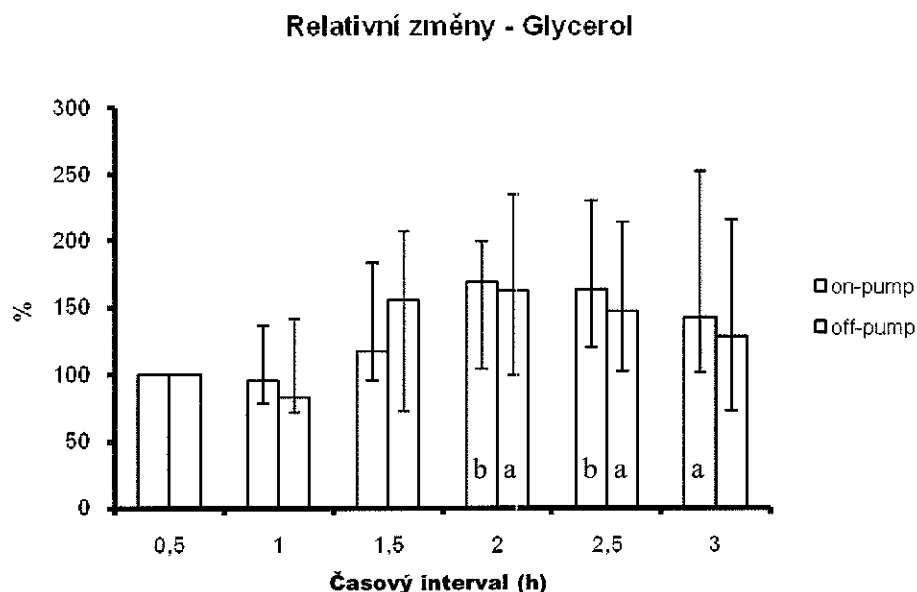
Pyruvát (%)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
<b>ON</b>	100	138,5	186,7	171,8	125,6	111,0	156,91 (13)	75,68 (7)
<b>OFF</b>	100	153,5	164,4	223,6	304,4	325,5	160,93 (7)	241,06 (3)

### Glycerol:

Relativní změny koncentrace glycerolu v průběhu operace znázorňuje graf č. 9. 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.

**Graf č. 9. Relativní změny koncentrace glycerolu 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). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián).

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



Glycerol (%)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
<b>ON</b>	100	95,0	116,9	169,0	163,1	142,4	139,27 (13)	193,73 (7)
<b>OFF</b>	100	82,9	154,9	161,7	146,8	127,8	126,63 (7)	123,02 (3)

### Laktát / Pyruvát poměr:

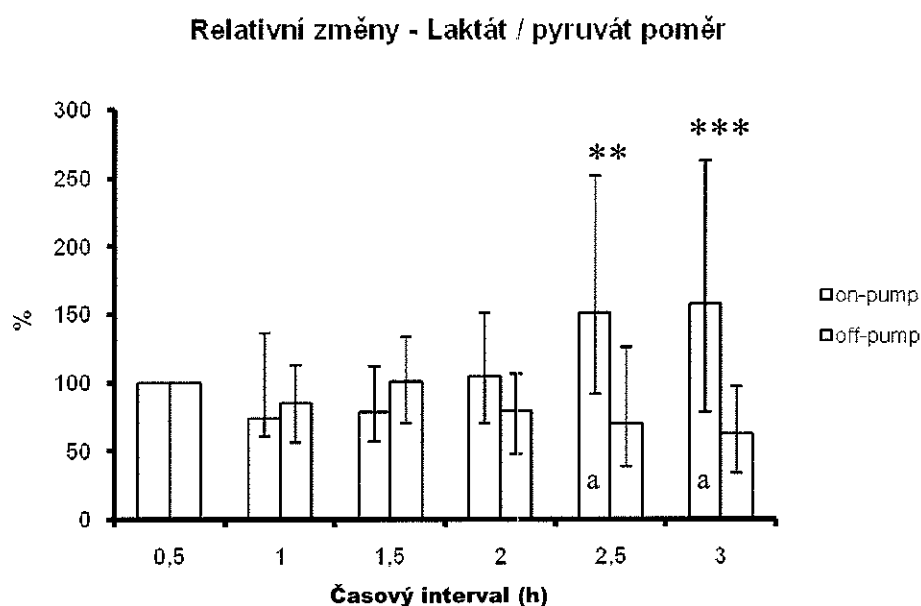
Průběh relativních hodnot poměru laktát / pyruvát se lišil mezi oběma soubory (graf č. 10). Ve skupině on-pump došlo od intervalu t1,0 (74% základní hodnoty) k postupnému vzestupu hodnot až do konce sledovaného období (158% v čase t3,0). Střední hodnota v tomto intervalu je 2,5 krát větší ve srovnání 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).



**Graf č. 10. Relativní změny poměru Laktát / pyruvát 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). V tabulce jsou uvedeny příslušné hodnoty (medián).

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

a  $p < 0,05$  (hodnota v daném intervalu versus základní hodnota)



Laktát / Pyruvát poměr (%)								
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
<b>ON</b>	100	73,9	78,1	104,5	151,0	157,5	130,64 (13)	302,59 (7)
<b>OFF</b>	100	84,3	100,3	79,1	70,2	62,3	72,78 (7)	58,82 (3)

#### d) plocha pod křivkou, korelace

Absolutní hodnoty změřených koncentrací v mikrodialyzátu byly použity k výpočtu individuální plochy pod křivkou pro každý parametr (tab. 4).

Tabulka č. 4. Plocha pod křivkou (ON/OFF).

	On-pump (n =20)	Off-pump (n =20)	P
AUC <sub>glukóza</sub>	7,12 (4,17 – 9,25)	6,27 (5,03 – 8,70)	n.s.
AUC <sub>laktát</sub>	3,58 (2,98 – 4,46)	3,70 (3,05 – 4,45)	n.s.
AUC <sub>pyruvát</sub>	34,4 (22,14 – 63,30)	63,71 (50,71 – 80,88)	< 0,05
AUC <sub>glycerol</sub>	228,56 (172,66 – 260,25)	139,61 (118,39 – 178,18)	< 0,001
AUC <sub>laktát/pyruvát poměr</sub>	355,52 (136,57 – 554,38)	154,05 (120,94 – 194,64)	< 0,001

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

Individuální hodnoty ploch pod křivkou (AUC<sub>glukóza</sub>, AUC<sub>laktát</sub>, AUC<sub>pyruvát</sub>, AUC<sub>glycerol</sub>, AUC<sub>laktát/pyruvát poměr</sub>) 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 inzulinu, 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.

## 6.5. Diskuze

Kardiologická operace, tak jako každá operace, představuje pro organismus 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 organismus může dojít k takovým funkčním změnám, které již organismus 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 revaskularizace 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 reperfúze 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. (61) a Akila et al. (2).

Změny perfúze během operace s MO byly již částečně popsány na základě vyhodnocení hemodynamických parametrů, krevních plynů a hodnot metabolismu  $O_2$  a  $CO_2$ . Ganushchak et al. (58) 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. (148) nepřímým hodnocením změn perfúze ve splachniku a periferní tkáni během MO (s hypotermií) popisuje hypoperfúzi a hypoxii periferní tkáně horní končetiny. Sledováním změn pH ve sliznici žaludku a oxygenace popisují dostatečnou perfúzi splachniku během MO s hypotermií, s poklesem perfúze na konci operace a v časném pooperačním období. Boakstegers et al. (22) 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 mikrodialýzy. 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 mikrodialýzou 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. Mímotělní 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 (18, 130). 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 (67).

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 (9, 104).

Námi měřené koncentrace glukózy v mikrodialyzátu v době incize jsou v rozmezí koncentrací naměřených ve svalu jinými autory (104, 120, 175). V průběhu operace jsme shodně v obou skupinách zaznamenali vzestup koncentrací glukózy. Rozdíly 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 tkáni, 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 (123, 161). Plazmatické koncentrace laktátu však odrážejí změny v celém organismu. Nelze tedy říci, v které tkáni dochází k hypoxii nebo zdali 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 (120, 170, 175). 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. (211) 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. (58) 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 utilizace 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 (170, 175). 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. (58). 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 (11, 218). Svalová tkáň je také schopna za určitých podmínek vychytávat laktát z cirkulace a přeměňovat jej následně na pyruvát (207). Rosendal et al. (170) 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 (58).  $LPR > 10 : 1$  odpovídají nedostatečné dodávce kyslíku tkáním. Bazální hodnota LPR v mikrodialyzátu v naší studii byla vyšší ve srovnání s hodnotami uváděnými v jiných studiích (175). 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 (9, 133). 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 hydrolýzou glycerol-3-fosfátu, který vzniká v průběhu glykolýzy. Alternativním zdrojem pak může být lipolýza intracelulárních triacylglycerolů v průběhu ischemie (9, 133).

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

## **7. Tkáňové a plazmatické koncentrace cefuroximu během kardiokirurgické operace s mimotělním oběhem**

### **7.1. Experimentální část (in vitro stanovení antibiotik)**

Schopnost přestupu přes semipermeabilní membránu mikrodialyzačního katétru závisí na mnoha faktorech, tak jak bylo přehledně uvedeno v úvodu. Proto 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.

#### **7.1.1. 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:  $\text{Na}^+$  147  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{K}^+$  4  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  2,25  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{Cl}^{-1}$  156  $\text{mmol.l}^{-1}$ , 309  $\text{mosmol.l}^{-1}$ ) + 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  $\text{ml.h}^{-1}$  po dobu 20 minut. Mikrodialyzát jímán do mikrozkušavek (CMA Microvials, CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko) 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*

Tak, jako v předchozím pokusu (viz. odstavec b) byl mikrodialyzační katétr CMA 60 umístěn do kádinky se 100 ml roztoku (Ringerova roztoku + cefuroximu). 1 ml vzorku roztoku odebrán k určení výsledné koncentrace cefuroximu v roztoku. Roztok v kádince byl kontinuálně promícháván a teplota roztoku kontinuálně udržována na 25 °C. Mikrodialyzační katétr byl perfundován Ringerovým roztokem bez antibiotika rychlostí 0,1 ml.h<sup>-1</sup> po dobu 20 minut. Mikrodialyzát jímán do mikrozkušavek (CMA Microvials, CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko) a následně zamražen. Do doby analýzy uchováván při -80 °C. Pokus byl danou rychlostí proveden celkem dvakrát. Poté byl pokus ve stejném uspořádání proveden vždy dvakrát pro rychlost perfuze 0,3 ml.h<sup>-1</sup> a 0,5 ml.h<sup>-1</sup>.

## **7.2. Klinická část (in vivo stanovení tkáňových koncentrací antibiotik)**

### **7.2.1. 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 μmol l<sup>-1</sup>), alergickou nebo hypersenzitivní reakcí na β-laktamová antibiotika.

U nemocných byla provedena veškerá rutinní předoperační vyšetření (fyzikální vyšetření, biochemické a hematologické vyšetření krve, vyšetření moče, RTG plic, EKG, UZ srdce a koronarografické vyšetření).

Základní předoperační charakteristiky souboru a vybraná data z peroperačního a pooperačního průběhu jsou shrnuty v tabulce č. 5.

## 7.2.2. Metodika a materiál – klinická část

### 7.2.2.1. Anestezie

Premedikace: Večer před operací bromazepamum (Lexaurin, Krka, Slovinsko) + bisulepini hydrochloridum (Dithiaden, Zentiva, ČR). Zpravidla 1,5 mg Lexaurinu a 2 mg Dithiadenu p. o. Ráno v den operace 1,5 mg Lexuarinu + 2 mg Dithiadenu. Od půlnoci nemocný lačný.

Úvod do anestezie: Po kanylaci arteria radialis byl podán sufentanyl v dávce  $1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Sufenta, Janssen Pharmaceutica N. V., Belgie), propofol v dávce  $1 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Propofol 1% „Fresenius“, FreseniusKabi Deutschland GmbH, SRN), svalová relaxace zajištěna cisatracuriem v dávce  $0,1 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Nimbex, GSK, Itálie). Látky podány intravenózně. Po podání této medikace byla provedena intubace nemocného, kanylace dvou centrálních žilních katétrů, zavedení nazogastrické sondy, nazopharyngeálního a rektálního teploměru a permanentního močového katétru.

Vedení anestezie a analgezie: Anestezie byla udržována sufentanylem ( $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) a propofolem ( $1 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ), dostatečná myorelaxace zajištěna cisatracuriem ( $0,04 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) v dávkách zajišťujících adekvátní anestezii, myorelaxaci a hemodynamickou stabilitu v průběhu operace. Isoflurane (Forane, Abbot Laboratories, Velká Británie; 0,7–0,8 %) byl přidáván v kyslíku.

V průběhu operace byla zajištěna monitorace arteriálního tlaku, centrálního žilního tlaku, pulzní oximetrie a monitorace 6svodovým EKG.

### 7.2.2.2. Operační technika, mimotělní oběh

Po provedení mediální sternotomie a perikardotomie (v případě revaskularizace po odběru a. mammaia a žilních štěpů) byly rutinním způsobem zavedeny kanyly pro mimotělní oběh. Do vzestupné aorty (arteriální kanyla) a přes pravou síň do dolní duté žíly (žilní kanyla – dvoustupňová „two-stage“ kanyla). Celková heparinizace byla zajištěna heparinem v dávce  $2,5 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Hodnota ACT udržována nad 480 sekundami. Systém mimotělního oběhu se skládal z membránového oxygenátoru s integrovaným výměníkem tepla (D903 AVANT, Dideco, Mirandola, Itálie) a válečkové pumpy s nepulzatickým tokem (Stöckert S3, Sorin

Group, Mnichov, Německo). Standardní součástí tepenné linky byl filtr s filtrační schopností 40 mikronů (Jostra Quart, Maquet Cardiopulmonary AG, Hirrlingen, Německo). Hadicový okruh mimotělního oběhu byl složen z PVC (polyvinylchlorid), kromě rotoru čerpadla, kde byla použita silikonová trubice.

Primární náplň systému mimotělního oběhu se skládala ze směsi krystaloidů (Hartmanův roztok), koloidních roztoků (10% Rheodextran s molekulární hmotností 40 000), 10% manitolu, methylprednisolonu, 8,4% NaHCO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub> a 5 000 IU heparinu a 50 µg noradrenalinu. Náplň neobsahovala antibiotika. Operace probíhala v celkové normotermii (teplota jádra nad 35 °C) s kalkulovaným průtokem krve 2,4 l.m<sup>-2</sup>.min<sup>-1</sup>, střední arteriální tlak byl mezi 50 a 75 mmHg. Hodnota hematokritu nad 20 % (20–25%).

K ochraně myokardu před ischemií po dobu uzávěru aorty svorkou bylo použito antegrádní aplikace studeného (4 °C) krystalického kardioplegického roztoku (St. Thomas solution, Ardeapharma, Ševětín, Česká republika), která byla opakována každých 20 minut. Zevně bylo srdce ochlazováno ledovou tříští. Proximální anastomózy aortokoronárních by-passů byly našívány na ascendentní aortu po povolení aortální svorky. Po provedení proximálních anastomóz a odstranění kanyl MO byl heparin vyváán protaminem (1 : 1) za kontroly ACT.

Hodnoty acidobazické rovnováhy vnitřního prostředí a krevních plynů byly v průběhu mimotělního oběhu udržovány ve fyziologických hodnotách (metoda „alpha-stat“).

### 7.2.2.3. Antibiotická profylaxe

Cefuroxim (Axetine, Medochemie Ltd., Limassol, Kypr), cefalosporin 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.

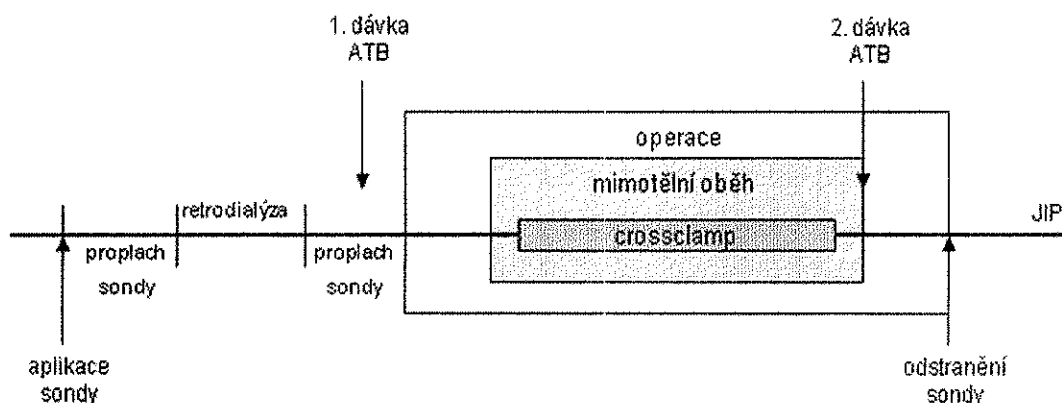
#### 7.2.2.4. Mikrodialýza (design)

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), obsahující semipermeabilní membránu z polyamidu (délka membrány 30 mm, vnější průměr 0,6 mm) a s „cut-off“ membrány 20 000 Daltonů. Následně byl katétr po dobu 30 minut proplachován Ringerovým roztokem (Ringer's solution, Braun Melsungen AG, Melsungen, Německo:  $\text{Na}^+$  147  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{K}^+$  4  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  2,25  $\text{mmol.l}^{-1}$ ,  $\text{Cl}^{-1}$  156  $\text{mmol.l}^{-1}$ , 309  $\text{mosmol.l}^{-1}$ ) 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. Cílem bylo určit individuální hodnotu recovery pro dané antibiotikum - **Cefuroximum natricum** (AXETINE 1,5 g; Medochemie Ltd., Limassol, Kypr).

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  $\text{ml.h}^{-1}$ . Pokles koncentrace cefuroximu v perfuzním roztoku a následně zjištěná koncentrace cefuroximu v mikrodialyzátu získaném po 30 minutách byla použita k výpočtu recovery. Pro výpočet individuální hodnoty recovery byl použit následující vzorec:  $\text{recovery (\%)} = 100 - (100 \times \text{koncentrace cefuroximu}_{\text{dialyzát}} \times \text{koncentrace cefuroximu}_{\text{perfuzát}}^{-1})$ . 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.).

#### Schematické znázornění časové posloupnosti studie:



**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.

V průběhu celé operace bylo při výměně zkumavek počítáno s „mrtvým prostorem“ (časové zpoždění) mezi vlastní membránou a místem jímání vzorků do mikrozkušavky (2 minuty pro rychlost perfuze  $0,1 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ ). Po skončení operace byl po provedení kožní sutury za sterilních podmínek katétra odstraněn. Mikrodialyzáty byly jímány do speciálních uzavřených mikrozkušavek (CMA Microvials, CMA/Microdialysis AB, Solna, Švédsko) zabráňujících odpařování vzorku. Vzorky byly zmrazeny a uchovávány při  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  až do analýzy dialyzátu. Vzorky krve byly odebírány do zkumavek s obsahem EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid). Po centrifugaci byla získaná plazma uchovávána při  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ . Druhá dávka cefuroximu (1,5 g i. v.) aplikována po skončení mimotělního oběhu v době podání protaminu.

#### **7.2.2.5. Analýza vzorků**

Vzorky mikrodialyzátů 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 mikrodialýzy bylo provedeno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s detekcí na detektoru diodového pole (photodiode-array detection PDA). Zpracování vzorků plazmy (0,5 ml) zahrnovalo precipitaci bílkovin

acetonitrilem (0,5 ml) a přečištění supernatantu (0,85 ml) dichlormethanem (7 ml). Cefuroxim (20 µl vzorku) a vnitřní standard cefoxitin byly následně separovány na koloně (Ascentis Amide C<sub>16</sub> column, 4,6×150 mm, 5 µm, Sulpeco; rychlost mobilní fáze 0,8 ml.min<sup>-1</sup> při 30 °C) na reverzní fázi a kvantifikace se uskutečnila při 254 nm. Mobilní fáze složena z amonia acetátu (pH 5; 85 %) a 15 % acetonitrilu. U vzorků získaných při mikro dialýze byl ke vzorkům pouze předán vnitřní standard a následovala separace na koloně.

Vazebnost cefuroximu na bílkoviny krevní plazmy se zjišťovala metodou ultrafiltrace na kolonkách Microcon YM 10 (Amicon).

### 7.2.3 Statistické zpracování a výpočty

#### *a) kalkulace in vivo recovery a intersticiálních koncentrací*

Individuální in vivo recovery cefuroximu byla u každého nemocného před vlastní operací určena metodou retrodialýzy (viz. výše). Na základě stanovených koncentrací cefuroximu v perfuzním roztoku a mikro dialyzátu byla hodnota recovery vypočtena pomocí vzorce:  $\text{recovery (\%)} = 100 - (100 \times \text{koncentrace cefuroximu}_{\text{dialyzát}} \times \text{koncentrace cefuroximu}_{\text{perfuzát}}^{-1})$ . Absolutní koncentrace cefuroximu v kosterním svalu (musculus deltoideus) byly vypočítány z naměřených koncentrací cefuroximu v mikro dialyzátu a individuální recovery podle rovnice:  $\text{intersticiální koncentrace cefuroximu (mg.ml}^{-1}\text{)} = 100 \times \text{koncentrace cefuroximu v mikro dialyzátu (mg.ml}^{-1}\text{)} \times \text{in vivo recovery cefuroximu (\%)}^{-1}$ .

#### *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:  $\text{vazba cefuroximu na bílkoviny (\%)} = 100 - (\text{volná koncentrace cefuroximu plazmě (mg.ml}^{-1}\text{)} \times \text{celkové koncentrace cefuroximu v plazmě (mg.ml}^{-1}\text{)}^{-1} \times 100)$ .

### *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. Porovnání předoperačních a pooperačních dat (leukocyty, hemoglobin, hematokrit) bylo provedeno párovým t-testem.

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.

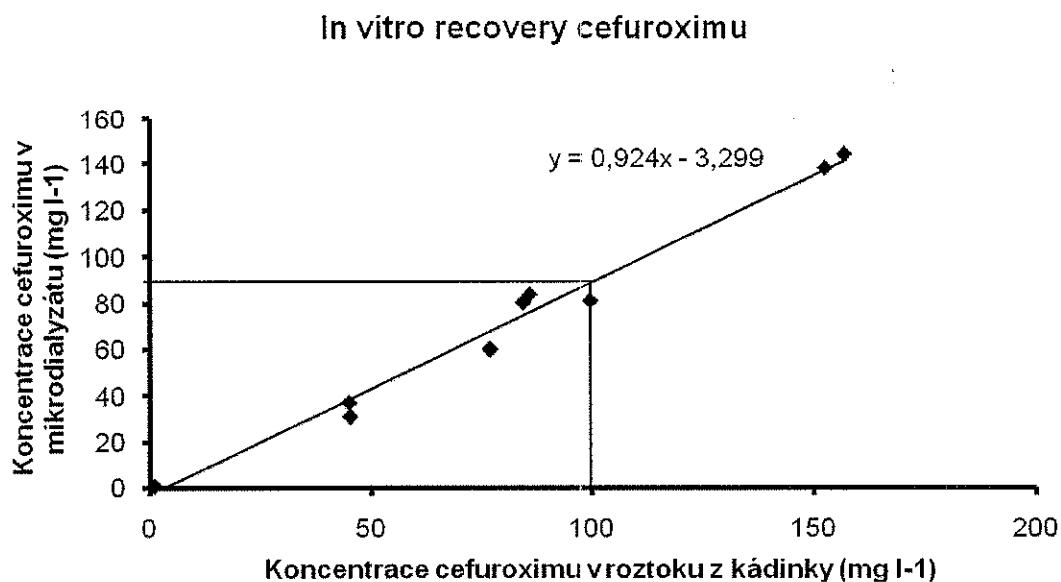
## 7.3. Výsledky

### 7.3.1. In vitro pokus

#### a) stanovení in vitro recovery cefuroximu:

Naměřené koncentrace cefuroximu v okolním roztoku v kádince a koncentrace cefuroximu v získaných mikrodialyzátech byly vyjádřeny v grafu č. 11. Z výsledků lineární regrese je zřejmá 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 přímky byla určena hodnota recovery in vitro cefuroximu (89 %) pro rychlost perfúze  $0,1 \text{ ml}\cdot\text{h}^{-1}$  a teplotu  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**Graf č. 11. In vitro pokus.** Vztah mezi koncentrací cefuroximu v okolním prostředí (roztok v kádince) a koncentrací cefuroximu v mikrodialyzátu. Vertikální a horizontální přímky znázorňují způsob určení recovery.

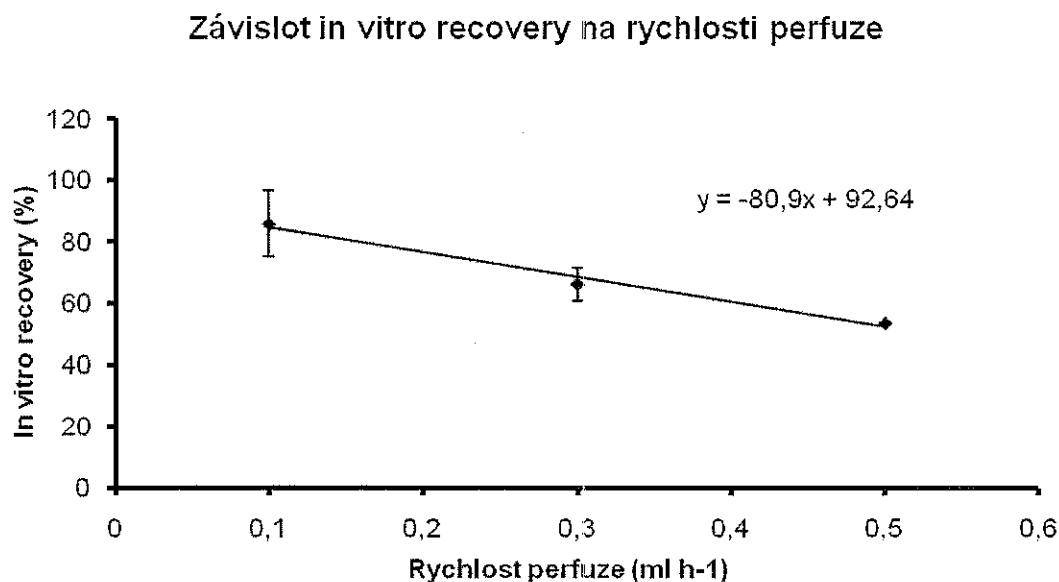




### b) vliv rychlosti perfuze na hodnotu in vitro recovery cefuroximu

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. Graf č. 12 vyjadřuje závislost in vitro recovery cefuroximu na rychlosti aplikace perfuzního roztoku. 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;  $p < 0,01$ ).

**Graf č. 12. In vitro pokus.** Vztah mezi in vitro recovery a rychlostí perfuzního roztoku. (průměr  $\pm$  směrodatná odchylka).



### 7.3.2. 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 ( $33\text{--}60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  $1\,415\text{--}2\,013\text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}$ ). V průběhu operace byly sledovány mimo jiné údaje týkající se bilance tekutin. Průměrná primární náplň mimotělního oběhu byla  $1\,538\text{ ml}$ , celkové množství tekutin podané během mimotělního oběhu  $2\,566\text{ ml}$ . Celková bilance tekutin byla výrazně pozitivní, přibližně  $+4\,000\text{ ml}$ . Základní předoperační a perioperační charakteristiky nemocných jsou shrnuty v tabulce 5.

Tabulka č. 5. Předoperační a perioperační charakteristiky souboru („ATB“)

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

<b>Pobyt JIP (h)</b>	41 (16 – 70)
<b>Ventilace JIP (h)</b>	7,3 ± 3,9
<b>Délka hospitalizace poop. (dny)</b>	10,5 ± 2,1

ALT = alaninaminotransferáza; AST = aspartátaminotransferáza; ATB = antibiotikum; MO = mimotělní oběh; op. = operace; JIP = jednotka intenzivní péče

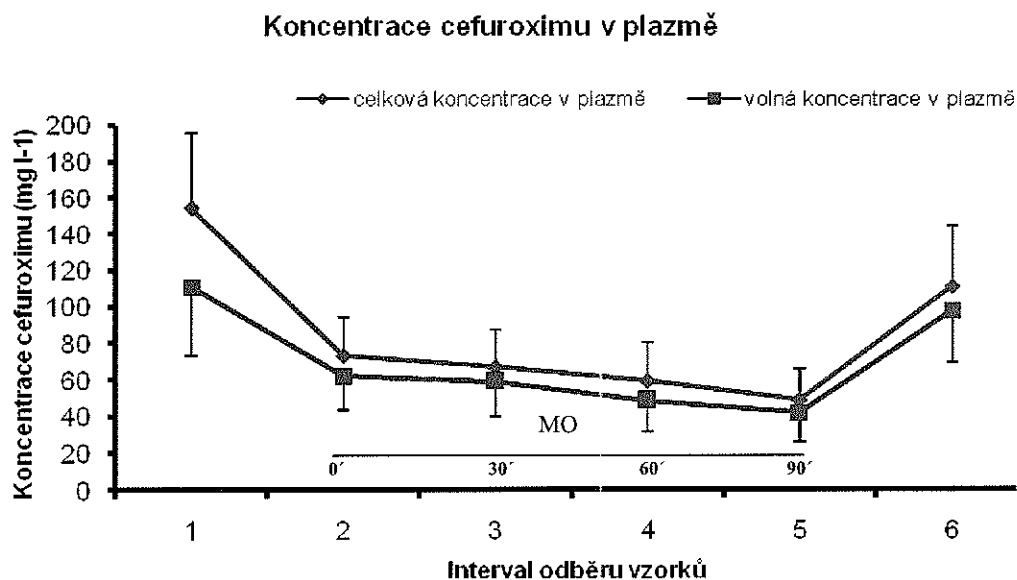
<sup>c</sup>  $p < 0,001$  (pooperační versus předoperační hodnoty)

### ***b) koncentrace cefuroximu v plazmě***

V průběhu operace byly ve stanovených intervalech (viz. 7.2.2.4.) odebírány vzorky krve. Stanovené koncentrace cefuroximu v plazmě, celková koncentrace a volná frakce cefuroximu jsou znázorněny v grafu č. 13. Po zahájení mimotělního oběhu došlo k významnému poklesu obou koncentrací ve srovnání s koncentrací v době incize. Celková koncentrace klesla o 52 % ( $\pm 8$  %);  $p < 0,05$ , volná koncentrace o 43 % ( $\pm 9$  %);  $p < 0,05$ . Průměrná doba od incize do spuštění mimotělního oběhu byla 50 minut ( $\pm 21$  minut). V průběhu mimotělního oběhu pak docházelo k dalšímu poklesu plazmatických koncentrací. Např. po 90 minutách mimotělního oběhu došlo v průměru k 31 % ( $\pm 7$  %) poklesu celkové koncentrace ( $p < 0,01$ ) a v průměru k 33 % ( $\pm 8$  %) 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  $58 \pm 19$  minut) byla vyšší v porovnání s poslední měřenou hodnotou před koncem mimotělního oběhu o  $119 \pm 38$  % (celková koncentrace;  $p < 0,05$ ) resp. o  $118 \pm 41$  % (volná frakce;  $p < 0,05$ ).

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

**Graf č. 13. Koncentrace cefuroximu v plazmě (celková a volná frakce) v průběhu srdeční operace s použitím mimotělního oběhu.** Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka. MO – *mimotělní oběh*



### c) koncentrace cefuroximu v tkáni

Časový průběh intersticiálních koncentrací cefuroximu v musculus deltoideus v průběhu operace znázorňuje graf č. 14. Vzorky byly odebírány ve stanovených intervalech (viz. 7.2.2.4.). 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.l<sup>-1</sup> (mezikvartilové rozpětí 4,7 - 33,7 mg.l<sup>-1</sup>). 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.l<sup>-1</sup> (mezikvartilové rozpětí 6,6 - 39,3 mg.l<sup>-1</sup>). 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.l<sup>-1</sup> (mezikvartilové rozpětí 36,8 - 376,7 mg.l<sup>-1</sup>).

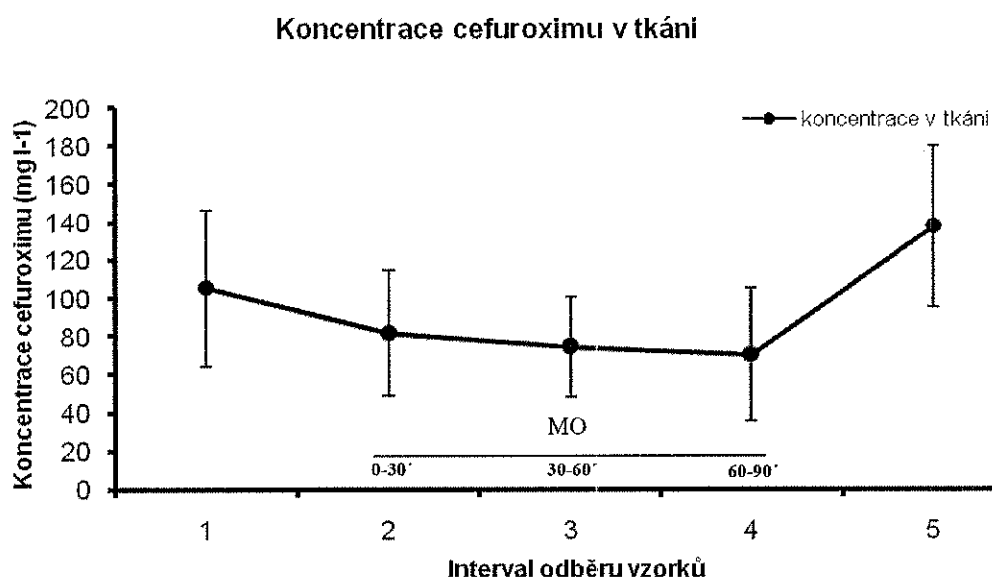
Porovnání koncentrací cefuroximu v plazmě a extracelulárním prostoru periferního kosterního svalu znázorňuje graf č. 15. Koncentrace cefuroximu získané pomocí mikrodialýzy odpovídají 30 minutovému odběrovému intervalu. V grafu jsou koncentrace vyjádřené bodem v polovině tohoto měřeného intervalu. V době incize byla celková koncentrace v plazmě vyšší

než v intersticiální tekutině. Průměrná koncentrace volné frakce v plazmě byla pouze lehce 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.

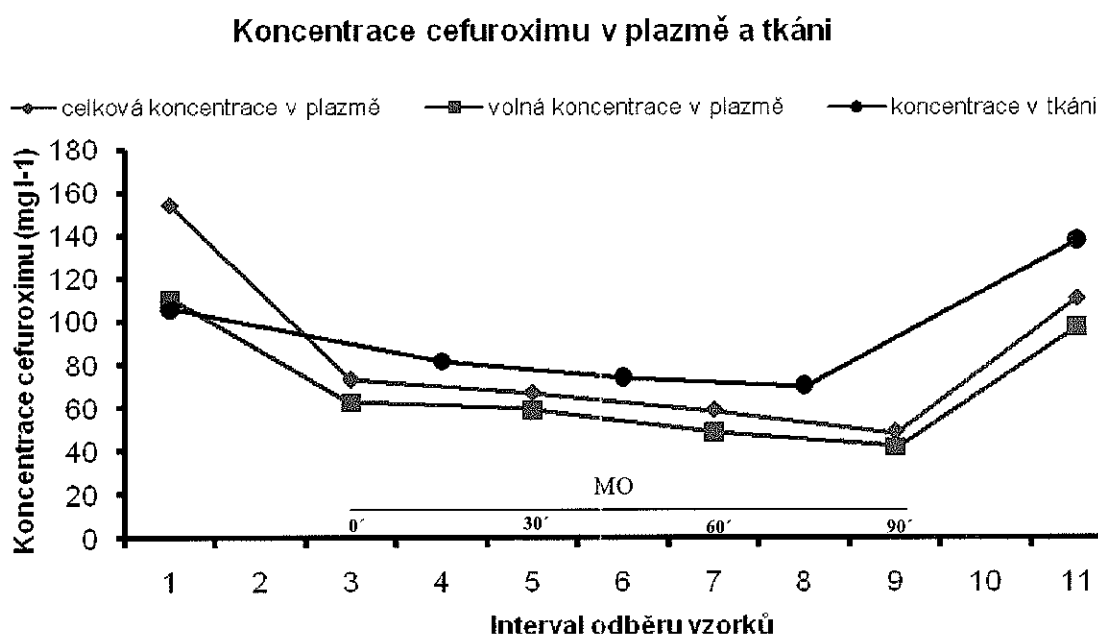
Průměrné koncentrace cefuroximu v plazmě a v intersticiální tekutině po celou dobu operace převyšovaly minimální inhibiční koncentraci (MIC) pro předpokládaný infekční agens (MIC cefuroximu pro gram-pozitivní bakterie 2 mg.l<sup>-1</sup>, gram-negativní bakterie 4 mg.l<sup>-1</sup>).

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

**Graf č. 14. Koncentrace cefuroximu v tkáni kosterního svalu v průběhu srdeční operace s použitím mimotělního oběhu.** Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka. MO – mimotělní oběh



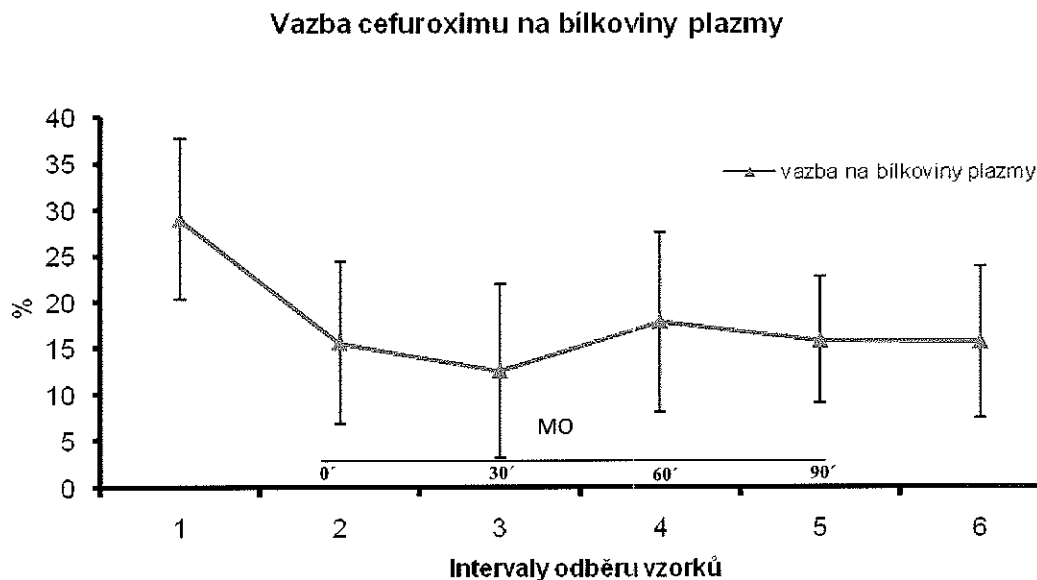
Graf č. 15. Koncentrace cefuroximu v plazmě a tkáni kosterního svalu v průběhu srdeční operace s použitím mimotělního oběhu. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr. MO – mimotělní oběh



**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 (%) =  $100 - \frac{\text{volná koncentrace cefuroximu plazmě (mg.ml}^{-1})}{\text{celková koncentrace cefuroximu v plazmě (mg.ml}^{-1})} \times 100$ . 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 (graf č. 16).

**Graf č. 16. Vazba cefuroximu na bílkoviny plazmy v průběhu srdeční operace s použitím mimotělního oběhu.** Navázaná frakce vyjádřena jako procento celkové koncentrace. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka. MO – mimotělní oběh



#### 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 –  $r_s$  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 ( $r = -0,72$ ;  $p < 0,05$ ).

## 7.4. 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 (26, 138). Podle zjištění některých studií mohou být intersticiální koncentrace antibiotik nízké ve srovnání s plazmatickými koncentracemi, a jsou tedy možnou příčinou selhání antiinfekční terapie (110, 138). 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 štěpů 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 (56, 157). Během srdeční operace s použitím MO je navíc farmakokinetika antibiotik ovlivněna řadou faktorů, se kterými se jinde nesečkáme. 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 (29, 100, 132).

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* (19, 105). 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 x 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. (209). 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, 132).

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 x 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.

## 8. 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.*

Miniinvazivita 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.

## 9. Přehled publikační a přednáškové aktivity autora

### A) Původní práce

1. Mand'ák 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 Cardiovasc Surg* 2007;55:515-516. (ISSN 0171-6325) (IF 0,814)
3. **Pojar M**, Mand'ák J, Cibíček N, Lonský V, Dominik J, Palička V, Kubíček 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**, Mand'ák J, Maláková J, Jokesová 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**, Mand'ák J. Intersticiální mikrodiálýza v klinické a experimentální medicíně. *Čas Lék Čes* 2006;145:766-770. (ISSN 0008-7335)

### C) Přednášky a abstrakta

1. Mand'ák J, Lonský V, **Pojar M**, Živný P, Palička V. Mikrodiálýza 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. 16<sup>th</sup> 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**, Štřásek J. Aneurysma plicnice. II. Sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie. Brno, Česká republika, 30.11. – 1.12.2006.
4. Harrer J, Žáček P, Drašnar A, Šorm Z, Kubíček V, **Pojar M**. Vzácnější chirurgické komplikace po akutním infarktu myokardu. II. Sjezd České společnosti kardiovaskulární chirurgie. Brno, Česká republika, 30.11. – 1.12.2006.
5. Mand'ák J, Lonský V, Živný P, Palička V, **Pojar M**, Kubíček 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. 10<sup>th</sup> International Congress of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology. Nice, Francie, 9.9. – 14.9.2007.
8. **Pojar M**, Mand'ák J, Maláková J, Lonský V, Palička V, Živný P, Jokešová I. Interstitial tissue and plasma concentrations of cefuroxime during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. 4<sup>th</sup> International Conference on Clinical Microdialysis. Cambridge, Velká Británie, 19.9. – 21.9.2007.
9. **Pojar M**, Mand'ák J, Cibíček N, Lonský V, Palička V, Živný P, Nedvídková J, Kubíček J. Peripheral tissue metabolism during the on-pump versus off-pump coronary artery bypass graft surgery: the microdialysis study. 4<sup>th</sup> International Conference on Clinical Microdialysis. Cambridge, Velká Británie, 19.9. – 21.9.2007.



10. Cibíček N, Mandáček 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). 19<sup>th</sup> 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. 19<sup>th</sup> 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. 18<sup>th</sup> World Congress – World Society of Cardio-thoracic Surgeons, Kos Island, Řecko, 30.4. – 3.5.2008.
15. Mandáček J, **Pojar M**, Lonský V, Cibíček N, Palička V, Živný P, Nedvídková J, Kakrdová D, Kubíček 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. Kubíček V, **Pojar M**. Problematika hojení a ošetřování ran u nemocných po kardiochirurgických operacích. XII. Harrachovské chirurgické dny. Harrachov, Česká republika, 29.5. – 30.5.2008.

17. **Pojar M**, Mand'ák J, Cibíček N, Lonský V, Maláková J. Mikrodialýza v kardiologii. II. Navrátilův den. Brno, Česká republika, 6.6.2008.

## 10. Literatura

1. Adrianzén 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. Alfredson H. The chronic painful Achilles and patellar tendon: research on basic biology and treatment. *Scand J Med Sci Sports* 2005;15(4):252-259.
4. Al-Ruzzeh S, George S, Bustami M, Wray J, Ilsley C, Athanasious T, Amrani M. Effect of off-pump coronary artery bypass surgery on clinical, angiographic, neurocognitive, and quality of life outcomes: randomised controlled trial. *BMJ* 2006;332(7554):1365.
5. Arner P. Microdialysis: use in human exercise studies. *Proc Nutr Soc* 1999;58:913-917.
6. Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ, Lotto AA, Pitsis AA, Angelini GD. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1198-1204.
7. Averbek M, Beilharz S, Bauer M, Gebhardt C, Hartmann A, Hochleitner K, Kauer F, Voith U, Simon JC, Termeer C. In situ profilig and quantification of cytokines released during ultraviolet B-induced inflammation by combining dermal microdialysis and protein microarrays. *Exp Dermatol* 2006;15:447-454.
8. Axelson HW, Melberg A, Ronquist G, Askmark H. Microdialysis and electromyography of experimental muscle fatigue in healthy volunteers and patients with mitochondrial myopathy. *Muscle Nerve* 2002;26:520-526.
9. 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.
10. Bäckström T, Lockowandt U, Liska J, Sylven C, Franco-Cereceda A. Monitoring of porcine myocardial ischemia and reperfusion by intravasal microdialysis. *Scand Cardiovasc J* 2002;36(1):27-34.
11. 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.
12. Battezzati A, Bertoli S. Methods of measuring metabolism during surgery in humans: focus on the liver-brain relationship. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7(5):523-553.
13. Baumgartner WA, Walinsky PL, Salazar JD, Tseng EE, Brock MV, Doty JR, Redmond JM, Blue ME, Goldsborough MA, Troncoso JC, Johnston MV. Assessing the impact of cerebral injury after cardiac surgery: will determining the mechanism reduce this injury? *Ann Thorac Surg* 67(6):1871-1873.
14. Bellmann R, Kuchling G, Dehghanyar P, Zeitlinger M, Minar E, Mayer BX, Müller M,

- Joukhadar C. Tissue pharmacokinetics of levofloxacin in human soft tissue infections. *Br J Clin Pharmacol* 2004;57:563-568.
15. Benetti FJ. Direct coronary surgery with saphenous vein bypass without either cardiopulmonary bypass or cardiac arrest. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1985;26(3):217-222.
  16. Ben-Nun J, Cooper RL, Cringle SJ, Constable IJ. A new method for continuous intraocular drug delivery. *Aust N Z J Ophthalmol* 1989;17(2):185-190.
  17. Benveniste H. Brain microdialysis. *J Neurochem* 1989;52:1667-1679.
  18. 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.
  19. Bitkover CY, Gardlund B. Mediastinitis after cardiovascular operations: a case-control study of risk factors. *Ann Thorac Surg* 1998;65:36-40.
  20. Bito L, Davson H, Levin E, Murray M, Snider N. The concentration of free amino acids and others electrolytes in cerebrospinal fluid, in vivo dialysate of brain, and blood plasma of the dog. *J Neurochem* 1966;13:1057-1067.
  21. Blöchl-Daum B, Müller M, Meisinger V, Eichler HG, Fassolt A, Pehamberger H. Measurement of extracellular fluid carboplatin kinetics in melanoma metastases with microdialysis. *Br J Cancer* 1996;73:920-924.
  22. 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.
  23. Boix F, Roe C, Rosenborg L, Knardahl S. Kinin peptides in human trapezius muscle during sustained isometric contraction and their relation to pain. *J Appl Physiol* 2005;98(2):534-540.
  24. Boutelle MG, Fillenz M. Clinical microdialysis: The role of on-line measurement and quantitative microdialysis. *Acta Neurochir Suppl* 1996;67:13-20.
  25. Brock MV, Blue ME, Lowenstein CJ, Northington FA, Lange MS, Johnston MV, Baumgartner WA. Induction of neuronal nitric oxide after hypothermic circulatory arrest. *Ann Thorac Surg* 1996;62(5):1313-1320.
  26. 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.
  27. Brunner M, Pernerstorfer T, Mayer BX, Eichler HG, Müller M. Surgery and intensive care procedures affect the target site distribution of piperacillin. *Crit Care Med* 2000;28:1754-1759.
  28. Buffolo E, Andrade JC, Succi JE, Leão LE, Cueva C, Branco JN, Carvalho AC, Gallucci C. Direct myocardial revascularization without extracorporeal circulation: technique and initial results. *Tex Heart Inst J* 1985;12:33-41.
  29. Buylaert WA, Herregods LL, Mortier EP, Bogaert MG. Cardiopulmonary bypass and the pharmacokinetics of drugs. *Clin Pharmacokinet* 1989;17(1):10-26.

30. Calafiore AM, Di Mauro M, Canosa C, Di Giammarco G, Iaco AL, Contini M. Myocardial revascularization with and without cardiopulmonary bypass: advantages, disadvantages and similarities. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;24:953-960.
31. Casthely PA, Bregman D. *Cardiopulmonary bypass: Physiology, Related Complications, and Pharmacology*. Mount Kisco, NY: Futura Publishing Company, Inc., 1991; Chapter 4, Optimal Flow During Cardiopulmonary Bypass: 85-106.
32. Cavalca V, Sisillo E, Veglia F, Tremoli E, Cighetti G, Salvi L, Sola A, Mussoni L, Biglioli P, Folco G, Sala A, Parolari A. Isoprostanes and oxidative stress in off-pump and on-pump coronary bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 2006;81:562-567.
33. Centofanti P, Savia F, La Torre M, Ceresa F, Sansone F, Veglio V, Fossati L, Guglielmi E, Rinaldi M. A prospective study of prevalence of 60-days postoperative wound infections after cardiac surgery. An updated risk factor analysis. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2007;48(5):641-646.
34. Cibicek N, Zivná H, Zadak Z, Kulir J, Cermakova E, Palicka V. Colon submucosal microdialysis: a novel in vivo approach to barrier function assessment – a pilot study in rats. *Physiol. Res* 2007;56(5):611-617.
35. Cohn LH. *Cardiac surgery in the adult*. Third Edition. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc., 2003; Part II Perioperative/Intraoperative Care, Chapter 12, Extracorporeal circulation: 349-414.
36. Cohen MV, Snell KS, Tsuchida A, Van Wylen DG, Downey JM. Effects of anesthesia and K<sup>+</sup> ATP channel blockade on interstitial adenosine accumulation in ischemic rabbit myocardium. *Basic Res Cardiol* 1995;90(5):410-417.
37. Conroy BP, Lin CY, Jenkins LW, DeWitt DS, Zornow MH, Uchida T, Johnston WE. Hypothermic modulation of cerebral ischemic injury during cardiopulmonary bypass in pigs. *Anesthesiology* 1998;88(2):390-402.
38. Crandall CG, MacLean DA. Cutaneous interstitial nitric oxide concentration does not increase during heat stress in humans. *J Appl Physiol* 2001;90:1020-1024.
39. Cross SE, Anderson C, Roberts MS. Topical penetration of commercial salicylate esters and salts using human isolated skin and clinical microdialysis studies. *Br J Clin Pharmacol* 1998;46:29-35.
40. Cross SE, Anderson C, Thompson MJ, Roberts MS. Is there tissue penetration after application of topical salicylate formulations? *Lancet* 1997;350:636.
41. Dabrosin C. Microdialysis – an in vivo technique for studies of growth factors in breast cancer. *Front Biosci* 2005;10:1329-1335.
42. Delacher S, Derendorf H, Hollenstein U, Brunner M, Joukhadar C, Hofmann S, Georgopoulos A, Eichler HG, Müller M. A combined in vivo pharmacokinetic-in vitro pharmacodynamic approach to simulate target site pharmacodynamics of antibiotics in humans. *J Antimicrob Chemother* 2000;46:733-739.
43. de la Peña A, Liu P, Derendorf H. Microdialysis in peripheral tissues. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;45:189-216.

44. Delgado JM, Defeudis FV, Roth RH, Ryugo DK, Mitruka BM. Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1972;198:9-21.
45. Dennis C, Spreng DS Jr., Nelson GE, Karlson KE, Nelson RM, Thomas JV, Eder WP, Varco RL. Development of pump-oxygenator to replace the heart and lungs; an apparatus applicable to human patients and application to one case. *Ann Surg* 1951;134(4):709.
46. Driessen JJ, Dhaese H, Fransen G, Verrelst P, Rondalez L, Gevaert L, van Becelaere M, Schelstraete E. Pulsatile compared with nonpulsatile perfusion using a centrifugal pump for cardiopulmonary bypass during coronary artery bypass rafting. Effects on systemic haemodynamics, oxygenation, and inflammatory response parameters. *Perfusion* 1995;10(1):3-12.
47. Eblad P, Valtysson J, Andersson J, Lilja A, Valind S, Antoni G et al. Simultaneous intracerebral microdialysis and positron emission tomography in the detection of ischemia in patients with subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16:637-644.
48. Ederoth P, Sun Z, Nordstrom CH, Andersson R. Experimental pancreatitis causes acute perturbation of energy metabolism in the intestinal wall. *Pancreas* 2002;25(3):270-276.
49. Edmunds LH Jr. Cardiac surgery in the adult. 1997;51-55:482.
50. Ekstrom PO, Andersen A, Seater G, Giercksky KE, Slordal L. Continuous intratumoral microdialysis during highdose methotrexate therapy in patient with malignant fibrous histiocytoma of the femur: a case report. *Cancer Chemother. Pharmacol* 1997;39:267-272.
51. Enoksson S, Caprio SK, Rife F, Shulman GI, Tamborlane WV, Sherwin RS. Defective activation of skeletal muscle and adipose tissue lipolysis in type 1 diabetes mellitus during hypoglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(4):1503-1511.
52. Favalaro RG. Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion. *Ann Thorac Surg* 1968;5:334-339.
53. Fekety F, Cluff L, Sabiston D, Seid L, Smith J, Thoburn R. A study of antibiotic prophylaxis in cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1969;57:757-763.
54. Fong I, Baker C, McKee D. The value of prophylactic antibiotics in aorta-coronary bypass operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979;78:908-913.
55. Fox LS, Blackstone EH, Kirklin JW, Stewart RW, Samuelson PN. Relationship of whole body oxygen consumption to perfusion flow rate during hypothermic cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982;83(2):239-248.
56. 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.
57. Fransen EJ, Maessen JG, Hermens WT, Glatz JFC, Buurman WA. Peri-operative myocardial tissue injury and the release of inflammatory mediators in coronary artery bypass graft patients. *Cardiovascular Research* 2000;45:853-859.
58. Ganushchak YM, Maessen JG, de Jong DS. The oxygen debt during routine cardiac surgery: illusion or reality? *Perfusion* 2002;17:167-173.

59. Gardlund B, Bitkover CY, Vaage J. Postoperative mediastinitis in cardiac surgery – microbiology and pathogenesis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002;21(5):825-830.
60. Gassen M, Lamensdorf I, Armony T, Finberg JPM, Youdim MBH. Attenuation of methamphetamine induced dopaminergic neurotoxicity by flupirtine: microdialysis study on dopamine release and free radical generation. *J Neural Transm* 2003;110:171-182.
61. 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.
62. Gibbon JH Jr. Application of a mechanical heart and lungs apparatus to cardiac surgery. *Minn Med* 1954;37(3):171-185.
63. Gibbon JH Jr. Artificial maintenance of circulation during experimental occlusion of pulmonary artery. *Arch Chir* 1937;34:1105-1131.
64. Green S, Bülow J, Saltin B. Microdialysis and the measurement of muscle interstitial K<sup>+</sup> during rest and exercise in humans. *J Appl Physiol* 1999;87(1):460-464.
65. Gummert JF, Barten MJ, Hans C, Kluge M, Doll N, Walther T, Hentschel B, Schmitt DV, Mohr FW, Diegeler A. Mediastinitis and cardiac surgery - an updated risk factor analysis in 10,373 consecutive adult patients. *Thorac Cardiovasc Surg* 2002;50(2):87-91.
66. Gunnarson G, Jakobsson AK, Hamberger A, Sjostrand J. Free amino acids in the pre-retinal vitreous space. Effect of high potassium and nipecotic acid. *Exp Eye Res* 1987;44:235-244.
67. Gwozdziwicz M. *Arteriální revaskularizace myokardu*. Praha: Grada Publishing, 2007; Kapitola 4, Aortokoronární bypass bez použití mimotělního oběhu – „off-pump“: 64-75.
68. Habicht JM, Wolff T, Langemann H, Schulz P. Intraoperative and postoperative microdialysis measurement of the human heart – feasibility and initial results. *Swiss Surg* 1998;2 Suppl:26-30.
69. Hall JL, Hernandez LA, Henderson J, Kellerman LA, Stanley WC. Decreased interstitial glucose and transmural gradient in lactate during ischemia. *Basic Res Cardiol* 1994;89(5):468-486.
70. Hamrin K, Rosdahl H, Ungerstedt U, Henriksson J. Microdialysis in human skeletal muscle: effects of adding a colloid to the perfusate. *J Appl Physiol* 2002;92(1):385-393.
71. Heringlake M, Bahlmann L, Misfeldt M, Poeling J, Leptien A, Kraatz E, Klaus S. High myocardial lactate concentration is associated with poor myocardial function prior to cardiopulmonary bypass. *Minerva Anesthesiol* 2005;71:775-783.
72. Herkner H, Müller MR, Kreischitz N, Mayer BX, Frossard M, Joukhadar C, Klein N, Lackner E, Müller M. Closed-chest microdialysis to measure antibiotic penetration into human lung tissue. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:273-276.
73. Hickner RC, Ekelund U, Mellander S, Ungerstedt U, Henriksson J. Muscle blood flow in cats: comparison of microdialysis ethanol technique with direct measurement. *J Appl Physiol* 1995;79:638-647.

74. Hickner RC, Rosdahl H, Borg I, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. The ethanol technique of monitoring local blood flow changes in rat skeletal muscle: implications for microdialysis. *Acta Physiol Scand* 1992;146(1):87-97.
75. Hillered L, Persson L. Neurochemical monitoring of the acutely injured human brain. *Scand J Clin Lab Invest* 1999 Suppl;229:9-18.
76. Hillered L, Persson L, Ponten U, Ungerstedt U. Neurometabolic monitoring of the ischaemic human brain using microdialysis. *Acta Neurochir (Wien)* 1990;102:91-97.
77. Hix JK, Thakar CV, Katz EM, Yared JP, Sabik J, Paganini EP. Effect of off-pump coronary artery bypass graft surgery on postoperative acute kidney injury and mortality. *Crit Care Med* 2006;34(12):2979-2983.
78. Holley FO, Ponganis KV, Stanski DR. Effect of cardiopulmonary bypass on the pharmacokinetics of drugs. *Clin Pharmacokinet* 1982;7(3):234-251.
79. Holzinger A, BonfigW, Kusser B, Eggermann T, Müller H, Munch HG. Use of long-term microdialysis subcutaneous glucose monitoring in the management of neonatal diabetes. *Biol Neonate* 2005;89(2):88-91.
80. Hornick P, George A. Blood contact activation: pathophysiological effects and therapeutic approaches. *Perfusion* 1996;11:3-19.
81. Hudspeth DA, Williams MW, Zhao ZQ, Sato H, Nakanishi K, McGee DS, Hammon JW Jr, Vinten-Johansen J, Van Wylene DG. Pentostatin-augmented interstitial adenosine prevents postcardoplegia injury in damaged hearts. *Ann Thorac Surg* 1994;58(3):719-727.
82. Chen KC. Insensitivity of the microdialysis zero-net-flux method to nonlinear uptake and rebase processes. *Neurosc Res* 2003;46:251-256.
83. Chow G, Roberts ID, Harris D, Wilson J, Elliott MJ, Edwards AD, Kirkham FJ. Stöckert roller pump generated pulsatile flow: cerebral metabolic changes in adult cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 1997;12(2):113-119.
84. Islinger F, Dehghanyar P, Sauermann R, Bürger C, Kloft C, Müller M, Joukhadar C. The effect of food on plasma and tissue concentrations of linezolid after multiple doses. *Int J Antimicrob Agents* 2006;27:108-112.
85. Jacobson I, Sandberg M, Hamberg A. Mass transfer in brain dialysis device – a new method for the estimation of extracellular amino acid concentration. *J Neurosci Methods* 1985;15:263-268.
86. Jansen EW, Gründeman PF, Borst C, Eefting F, Diephuis J, Nierich A, Lahpor JR, Bredée JJ. Less invasive off-pump CABG using a suction device for immobilization: the „Octopus“ method. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997;12(3):406-412.
87. Jansson K, Redler B, Truedsson L, Magnuson A, Ungerstedt U, Norgren L. Postoperative on-line monitoring with intraperitoneal microdialysis is a sensitive clinical method for measuring increased anaerobic metabolism that correlates to the cytokine response. *Scand J Gastroenterol* 2004;39(5):434-439.
88. Jansson K, Strand I, Redler B, Magnuson A, Ungerstedt U, Norgren L. Results of intraperitoneal microdialysis depend on the location of the catheter. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64(1):63-70.



89. Jansson K, Ungestredt J, Jonsson T, Redler B, Andersson M, Ungerstedt U, Norgren L. Human intraperitoneal microdialysis: increased lactate/pyruvate ratio suggests early visceral ischaemia. A pilot study. *Scand J Gastroenterol* 2003;38(9):1007-1011.
90. Jansson PA, Fowelin JP, von Schenck HP, Smith UP, Lönnroth PN. Measurement by microdialysis of the insulin concentration in subcutaneous interstitial fluid. Importance of the endothelial barrier for insulin Diabetes. 1992;42:1469-1473.
91. Jansson PA, Veneman T, Nurjahan N, Gerich J. An improved method to calculate adipose tissue interstitial substrate recovery for microdialysis studies. *Life Sci* 1994;54:1621-1624.
92. Joukhadar C, Müller M. Microdialysis: current applications in clinical pharmacokinetic studies and its potential role in the future. *Clin Pharmacokinet* 2005;44:895-913.
93. Juel C, Pilegaard H, Nielsen JJ, Bangsbo J. Interstitial K<sup>+</sup> in human skeletal muscle during and after dynamic graded exercise determined by microdialysis. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2000;278:R400-R406.
94. Kaviani-pour M, Wikstrom G, Ronquist G, Waldenstrom A. Validity of elevated interstitial levels of taurine as a predictor of myocardial ischemic injury. *Amino Acids* 2004;27(1):107-111.
95. Kennergren C, Mantovani V, Lonroth P, Nystrom B, Berglin E, Hamberger A. Monitoring of extracellular aspartate aminotransferase and troponin T by microdialysis during and after cardioplegic heart arrest. *Cardiology* 1999;92(3):162-170.
96. Kennergren C, Mantovani V, Strindber L, Berglin E, Hamberger A, Lönnroth P. Myocardial interstitial glucose and lactate before, during, and after cardioplegic heart arrest. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284:E788-E794.
97. Kirklin JW, Dushane JW, Patrick RT, Donald DE, Hetzel PS, Harshbarger HG, Wood EH. Intracardiac surgery with the aid of a mechanical pump-oxygenator system (gibbon type): report of eight cases. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1955;30:201-206.
98. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH, Kirklin JW, Chenoweth DE, Pacifico AD. Complement and the damaging effects of cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983;86(6):845-857.
99. Kitano M, Norlén P, Hakanson R. Gastric submucosal microdialysis: a method to study gastrin – and food-evoked mobilization of ECL-cell histamine in conscious rats. *Regul Pept* 2000;86:113-123.
100. Klamerus KJ, Rodvold KA, Silverman NA, Levitsky S. Effect of cardiopulmonary bypass on vancomycin and netilmicin disposition. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32(5):631-635.
101. Klaus S, Heringlake M, Block K, Nolde J, Staubach K, Bahlmann L. Metabolic changes detected by microdialysis during shock and after endotoxin preconditioning. *Intensive Care Med* 2003;56(3):299-305.
102. 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.

103. Korth U, Krieter H, Denz C, Janke C, Ellinger K, Bertsch T, Henn C, Klein J. Intestinal ischaemia during cardiac arrest and resuscitation: comparative analysis of extracellular metabolites by microdialysis. *Resuscitation* 2003;58:209-217.
104. 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.
105. Kriaras I, Michalopoulos A, Turina M, Geroulanos S. Evolution of antimicrobial prophylaxis in cardiovascular surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;18:440-446.
106. Lafontan M, Arner P. Application of in situ microdialysis to measure metabolic and vascular responses in adipose tissue. *Trends Pharmacol Sci* 1996;17:309-313.
107. Langemann H, Habicht J, Mendelowitsch A, Kanner A, Alessandri B, Landolt H, Gratzl O. Microdialytic monitoring during a cardiovascular operation. *Acta Neurochir* 1996;67Suppl:70-74.
108. Levine FH, Philbin DM, Kono K, Coggins CH, Emerson CW, Austen WG, Buckley MJ. Plasma vasopresin levels and urinary sodium excretion during cardiopulmonary bypass with and without pulsatile flow. *Ann Thorac Surg* 1981;32(1):63-67.
109. Liu P, Derendorf H. Antimicrobial tissue concentrations. *Infect Dis Clin North Am* 2003;17(3):599-613.
110. 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.
111. Liu P, Muller M, Grant M, Webb AI, Obermann B, Derendorf H. Interstitial tissue concentrations of cefpodoxime. *J Antimicrob Chemother* 2002;50Suppl:19-22.
112. Lönnroth P. Microdialysis – a new and promising method in clinical medicine. *J Intern Med* 1991;230(4):363-364.
113. Lönnroth P. Microdialysis in adipose tissue and skeletal muscle. *Horm Metab Res* 1997;29(7):344-346.
114. Lönnroth P, Jansson PA, Fredholm BB, Smith U. Microdialysis of intercellular adenosine concentration in subcutaneous tissue in humans. *Am J Physiol* 1989;256:E250-E255.
115. Lönnroth P, Jansson PA, Smith U. A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans. *Am J Physiol* 1987;253:E228-E231.
116. Lönnroth P, Smith U. Microdialysis – a novel technique for clinical investigations. *J Intern Med* 1990;227(5):295-300.
117. Lonský V. *Mimotělní oběh v klinické praxi*. Praha: Grada Publishing 2004; Kapitola 3, Fyziologie a patofyziologie mimotělního oběhu:69-115.
118. Lourido J, Ederoth P, Sundvall N, Ungerstedt U, Nordstrom CH. Correlation between blood glucose concentration and glucose concentration in subcutaneous adipose tissue evaluated with microdialysis during intensive care. *Scand J Clin Lab Invest* 2002;62(4):285-292.
119. Mack MJ, Pfister A, Bachand D, Emery R, Magee MJ, Connolly M, Subramanian V.

- Comparison of coronary bypass surgery with and without cardiopulmonary bypass in patients with multivessel disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127:167-173.
120. 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.
  121. Mader RM, Brunner M, Rizovski B, Mensik C, Steger GG, Eichler HG, Müller M. Analysis of microdialysates from cancer patients by capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 1998;19: 2981-2985.
  122. Maggs DG, Jacob R, Rife F, Lange R, Leone P, During MJ, Tamboralane WV, Scherwin RS. Interstitial fluid concentrations of glycerol, glucose and amino acids in human quadriceps muscle and adipose tissue. Evidence for significant lipolysis in skeletal muscle. *J Clin Invest* 1995;96:370-377.
  123. 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.
  124. Mand'ák J, Živný P, Lonský V, Palička V, Kakrdová D, Maršíková M, Kuneš P, Kubiček J. Changes in metabolism and blood flow in peripheral tissue (skeletal muscle) during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: the biochemical microdialysis study. *Perfusion* 2004;19(1):53-63.
  125. Mantovani V, Kennergren C, Berglin E, Moratti R, Lonroth P, Hamberger A, Vigano M. Intramyocardial troponin-T monitoring with microdialysis in coronary artery bypass surgery. *Scand Cardiovasc J* 2002;36(5):308-312.
  126. Martorell C, Engelman R, Corl A, Brown RB. Surgical site infections in cardiac surgery: an 11-year perspective. *Am J Infect Control* 2004;32(2):63-68.
  127. 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.
  128. Mathei SA, Reiling CM, Van Wylen DG. Dual cardiac microdialysis to assess drug-induced changes in interstitial purine metabolites: adenosine deaminase inhibition versus adenosine kinase inhibition. *Cardiovasc Res* 1998;37(1):171-178.
  129. Matheis G, Scholz M, Simon A, Dzemali O, Moritz A. Leukocyte filtration in cardiac surgery: a review. *Perfusion* 2001;16(5):361-370.
  130. 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.
  131. McAllister RG Jr, Tan TG. Effect of hypothermia on drug metabolism. In vitro studies with propranolol and verapamil. *Pharmacology* 1980;20:95-100.
  132. Mets B. The pharmacokinetics of anesthetic drugs and adjuvants during cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000;44:261-273.
  133. 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.

134. Meyerson BA, Linderoth B, Karlsson H, Ungerstedt U. Microdialysis in the human brain: extracellular measurement in the thalamus of parkinsonian patients. *Life Sci* 1990;46:301-308.
135. Müller M. Microdialysis in clinical drug delivery studies. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;45:255-269.
136. Müller M. Science, medicine, and the future: Microdialysis. *BMJ* 2002;324:588-591.
137. Müller M, Brunner M, Schmidt R, Mader RM, Bockenheimer J, Steger GG, Steiner B, Eichler HG, Blöchl-Daum B. Interstitial methotrexate kinetics in primary breast cancer lesions. *Cancer Res* 1998;58:2982-2985.
138. 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.
139. Müller M, Mader RM, Steiner B, Steger GG, Jansen B, Gnant M, Helbich T, Jakesz R, Eichler HG, Blöchl-Daum B. 5-Fluorouracil kinetics in the interstitial tumor space: clinical response in breast cancer patients. *Cancer Res* 1997;57:2598-2601.
140. Müller M, Schmid R, Georgopoulos A, Buxbaum A, Wasicek C, Eichler HG. Application of microdialysis to clinical pharmacokinetics in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1995;57(4):371-380.
141. Müller M, Schmid R, Nieszpauro-Los M, Fassolt A, Lonroth P, Fasching P, Eichler HG. Key metabolite kinetics in human skeletal muscle during ischaemia and reperfusion injury: measurement by microdialysis. *Eur J Clin Invest* 1995;25(8):601-607.
142. Müller M, Rastelli C, Ferri P, Jansen H, Breiteneder H, Eichler HG. Transdermal penetration of diclofenac after multiple epicutaneous administration. *J Rheumatol* 1998;25:1833-1836.
143. Multani MM, Ikonomidis JS, Kim PY, Miller EA, Payne KJ, Mukherjee R, Dorman BH, Spinale FG. Dynamic and differential changes in myocardial and plasma endothelin in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129(3):584-590.
144. Murray G, Porcheron R, Hilario J, Rosembrau W. Anastomosis of a systemic artery to the coronary. *Can Med Assoc J* 1954;71:594-597.
145. Naredi S, Olivecrona M, Lindgren C, Ostlund AL, Grande PO, Koskinen LO. An outcome study of severe traumatic head injury using the „Lund therapy“ with low-dose prostacyclin. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001;45:402-406.
146. Nedvídková J, Nedvídek J, Koška J, Kšinantová L, Vigaš M, Kvetňanský R, Pacák K. Využití mikrodialyzační techniky in vivo v základním a klinickém výzkumu. *Cas Lek. Ces* 2003;142:307-310.
147. Neshar N, Frolkis I, Vardi M, Sheinberg N, Bakir I, Caselman F, Pevni D, Ben-Gal Y, Sharony R, Bolotin G, Loberman D, Uretzky G, Weinbroum AA. Higher levels of serum cytokines and myocardial tissue markers during on-pump versus off-pump coronary artery bypass surgery. *J Card Surg* 2006;21:395-402.

148. Niinikoski J, Kuttala K. Adequacy of tissue oxygenation in cardiac surgery: regional measurements. *Crit Care Med* 1993;21 Suppl2:77-83.
149. O'Connell MT, Tison F, Quinn NP, Patsalos PN. Clinical drug monitoring by microdialysis: application to levodopa therapy in Parkinson's disease. *Br J Clin Pharmacol* 1996;42:765-769.
150. 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.
151. Palmer G, Herbert MA, Prince SL, Williams JL, Magee MJ, Brown P, Katz M, Mack MJ. Coronary artery revascularization (CARE) registry: an observational study of on-pump and off-pump coronary artery revascularization. *Ann Thorac Surg* 2007;83:986-992.
152. Petersen LJ. Measurement of histamine release in intact human skin by microdialysis technique. *Dan Med Bull* 1998;45:383-401.
153. Pokela M, Dahlbacka S, Biancari F, Vainionpää V, Salomäki T, Kiviluoma K, Rönkä E, Kaakinen T, Heikkinen J, Hirvonen J, Ronsi P, Anttila V, Juvonen T. pH-stat versus alpha-stat perfusion strategy during experimental hypothermic circulatory arrest: a microdialysis study. *Ann Thorac Surg* 2003;76:1215-1226.
154. Pöling J, Leptien A, Klaus S, Rees W, Kraatz E, Wiebe K, Bahlmann L. Analysis of the myocardial metabolism by microdialysis during open heart surgery. *Scand Cardiovasc J* 2007;41(2):114-119.
155. Pöling J, Rees W, Klaus S, Bahlmann L, Hübner N, Mantovani V, Warnecke H. Myocardial metabolic monitoring with the microdialysis technique during and after open heart surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 2007;51:341-346.
156. Pöling J, Rees W, Mantovani V, Klaus S, Bahlmann L, Ziaukas V, Hübner N, Warnecke H. Evaluation of myocardial metabolism with microdialysis during bypass surgery with cold blood- or Calafiore cardioplegia. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;30:597-603.
157. 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.
158. Puskas JD, Wright CE, Ronson RS, Brown WM, Gott JP, Guyton RA. Off-pump multivessel coronary bypass via sternotomy is safe and effective. *Ann Thorac Surg* 1998;66:1068-1072.
159. Quaniers JM, Leruth J, Albert A, Limet RR, Defraigne JO. Comparison of inflammatory responses after off-pump and on-pump coronary surgery using surface modifying additives circuit. *Ann Thorac Surg* 2006;81:1683-1690.
160. Racz MJ, Hannan EL, Isom W, Subramanian VA, Jones RH, Gold JP, Ryan TJ, Hartman A, Culliford AT, Bennett E, Lancey RA, Rose EA. A comparison of short- and long-term outcomes after off-pump and on-pump coronary artery bypass graft surgery with sternotomy. *JACC* 2004;43(4):557-564.

161. 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.
162. 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.
163. Rittenhouse KD, Pollack GM. Microdialysis and drug delivery to the eye. *Adv Drug Deliv Rev* 2000; 45:229-241.
164. Rivetti LA, Gandra SMA. Initial experience using an intraluminal shunt during revascularization of the beating heart. *Ann Thorac Surg* 1997;63:1742-1747.
165. Ronne-Engstrom E, Hillered L, Flik R, Spannare B, Ungersstedt U, Carlson H. Intracerebral microdialysis of extracellular amino acids in the human epileptic focus. *J Cereb Blood Flow Metab* 1992;12(5):873-876.
166. Ronquist G, Hugosson R, Sjolander U, Ungerstedt U. Treatment of malignant glioma by a new therapeutic principle. *Acta Neurochir* 1992;114:8-11.
167. Rooyackers O, Thorell A, Nygren J, Ljungqvist O. Microdialysis methods for measuring human metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7:515-521.
168. Rosdahl H, Ungertedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. Interstitial glucose and lactate balance in human skeletal muscle and adipose tissue studied by microdialysis. *J Physiol* 1993;471:637-657.
169. Rosen DA, Rosen KR. Elimination of drugs and toxins during cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1997;11(3):337-340.
170. 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.
171. Royston D. Blood cell activation. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 1990;2(4):341-357.
172. Royston D. Systemic inflammatory responses to surgery with cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 1996;11(3):177-189.
173. Royston D, Fleming JS, Desai JB, Westaby S, Taylor KM. Increased production of peroxidation products associated with cardiac operations. Evidence for free radical generation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;91(5):759-766.
174. Runge M, Hughes P, Peter Götze J, Petersen RH, Steinbrüchel DA. Evaluation of myocardial metabolism with microdialysis after protection with cold blood- or cold crystalloid cardioplegia. A porcine model. *Scand Cardiovasc J* 2006;40(3):186-193.
175. 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.

176. Scheyer RD, During MJ, Cramer JA, Toftness BR, Hochholzer JM, Mattson RH. Simultaneous HPLC analysis of carbamazepine and carbamazepine epoxide in human brain microdialysate. *J Liq Chromatogr* 1994;17:1567-1576.
177. Scheyer RD, During MJ, Hochholzer JM, Spencer DD, Cramer JA, Mattson RH. Phenytoin concentrations in the human brain: an in vivo microdialysis study. *Epilepsy Res* 1994;18:227-232.
178. 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.
179. Schultz S, Creed J, Schears G, Zaitseva T, Greeley W, Wilson DF, Pastuszko A. Comparison of low-flow cardiopulmonary bypass and circulatory arrest on brain oxygen and metabolism. *Ann Thorac Surg* 2004;77:2138-2143.
180. Schulze C, Conrad N, Schutz A, Egi K, Reichenspurner H, Reichart B, Wildhirt SM. Reduced expression of systemic proinflammatory cytokines after off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting. *Thorac Cardiovasc Surg* 2000;48(6):364-369.
181. Silva MA, Richards DA, Bramhall SR, Adams DH, Mirza DF, Murphy N. A study of the metabolites of ischemia-reperfusion injury and selected amino acids in the liver using microdialysis during transplantation. *Transplantation* 2005;79(7):828-835.
182. Sjöstrand M, Holmäng A, Lönnroth P. Measurement of interstitial insulin in human muscle. *Am J Physiol* 1999;276:E151-E154.
183. Solligard E, Juel IS, Bakkelund K, Johnsen H, Saether OD, Grønbech JE, Aadahl P. Gut barrier dysfunction as detected by intestinal luminal microdialysis. *Intensive Care Med* 2004;30:1188-1194.
184. 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.
185. Sommer T, Larsen JF. Intraperitoneal and intraluminal microdialysis in the detection of experimental regional intestinal ischaemia. *Br J Surg* 2004;91(7):855-861.
186. Sommer T, Larsen JF. Validation of intramural intestinal microdialysis as detector of intestinal ischaemia. *Scand J Gastroenterol* 2004;39(5):493-499.
187. Stagni G, O'Donnell D, Liu XJ, Kellogg DL, Shepher AM. Iontophoretic current and intradermal microdialysis recovery in humus. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1999;41(1):49-54.
188. Stahl M, Bouw R, Jackson A, Pay V. Human microdialysis. *Curr Pharm Biotechnol* 2002;3(2):165-178.
189. Stahle L. Microdialysis in pharmacokinetics. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1993;18:89-96.
190. Stahle L. Pharmacokinetic estimations from microdialysis data. *Eur J Clin Pharmacol* 1992;43:289-294.

191. Stahle L, Alm C, Ekquist B, Lundquist B, Tomson T. Monitoring free extracellular valproic acid by microdialysis in epileptic patients. *Ther Drug Monit* 1996;18:14-18.
192. Stahle L, Arner P, Ungerstedt U. Drug distribution studies with microdialysis. III: Extracellular concentration of caffeine in adipose tissue in man. *Life Sci* 1991;49:1853-1858.
193. Stallknecht B, Donsmark M, Enevoldsen LH, Fluckey JD, Galbo H. Estimation of rat muscle blood flow by microdialysis probes perfused with ethanol, [<sup>14</sup>C]ethanol, and <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O. *J Appl Physiol* 1999;86(3):1054-1061.
194. Stjernstrom H, Karlsson T, Ungerstedt U, Hillered L. Chemical monitoring of intensive care patients using intraveous microdialysis. *Intensive Care Med* 1993;19(7), 423-428.
195. Taylor KM, Bain WH, Morton JJ. The role of angiotensin II in the development of peripheral vasoconstriction during open-heart surgery. *Am Heart J* 1980;100:935-937.
196. Taylor KM, Bain WH, Russel M, Brannan JJ, Morton JJ. Peripheral vascular resistance and angiotensin II levels during pulsatile and non-pulsatile cardiopulmonary bypass. *Thorax* 1979;34(5):594-598.
197. Tegeder I, Brautigam L, Seegel M, Al-Dam A, Turowski B, Geisslinger G, Kovacs AF. Cisplatin tumor concentrations after intra-arterial cisplatin infusion or embolization in patients with oral cancer. *Clin Pharmacol Ther* 2003;73:417-426.
198. Tenhunen JJ, Kosunen H, Alhava E, Tuomisto L, Takala JA. Intestinal luminal microdialysis: a new approach to assess gut ischemia. *Anesthesiology* 1999;91:1807-1815.
199. Tomaselli F, Maier A, Matzi V, Smolle-Jüttner FM, Dittrich P. Penetration of meropenem into pneumonic human lung tissue as measured by in vivo microdialysis. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(6):2228-2232.
200. Trapp VG, Bisarya R. Placement of coronary artery bypass graft without pump oxygenator. *Ann Thorac Surg* 1975;19:1-9.
201. Trappe T, Raue U, Williams R, Carrithers J, Hickner R. Effects of age and resistance exercise on skeletal muscle interstitial prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2006;74:175-181.
202. Trappe T, Williams R, Carrithers J, Raue U, Esmarck B, Kjaer M, Hickner R. Influence of age and resistance exercise on human skeletal muscle proteolysis: a microdialysis approach. *J Physiol* 2003;554.3:803-813.
203. Ungerstedt U. Microdialysis – principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med* 1991;230(4):365-373.
204. Ungerstedt U, Hallström A. In vivo microdialysis – a new approach to the analysis of neurotransmitters in the brain. *Life Sci* 1987;41(7):861-864.
205. Ungerstedt U, Pycock CH. Functional correlate of dopamine neurotransmission. *Bull Schweiz Akad Mad Wiss* 1974;30:44-55.
206. Valen G, Öwall A, Takeshima S, Gojny M, Ungerstedt U, Vaage J. Metabolic changes induced by ischemia and cardioplegia: a study employing cardiac microdialysis in pigs. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004;25:69-75.



207. van Hall G. Lactate as fuel for mitochondrial respiration. *Acta Physiol Scand* 2000;168:643-656.
208. von Frey MV, Gruber M. Untersuchungen über den Stoffwechsel isolierter Organe: Ein Respirations-Apparat für isolierte Organe. *Virchows Arch Physiol* 1885;9:S519-532.
209. 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.
210. Walker CA, Baicu SC, Goldberg AT, Widener CE, Fary DJ, Almany DK, Ergul A, Crawford FA, Spinale FG. Temporal endothelin dynamics of the myocardial interstitium and systemic circulation in cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120(5):864-871.
211. 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.
212. Watkins WD, Peterson MB, Kong DL, Kono K, Buckley MJ, Levine FH, Philbin DM. Tromboxane and prostacyclin changes during cardiopulmonary bypass with and without pulsatile flow. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982;84(2):250-256.
213. Wisktröm BG, Ronquist G, Waldenström A. Dynamics of myocardial metabolism in the preconditioned porcine heart studied using continuous microdialysis. *Eur Heart J* 1995;16:563-569.
214. Wikstrom BG, Ronquist G, Waldenstrom A. No further improvement of ischaemic myocardial metabolism by combining preconditioning with beta-blockade: an in vivo experimental study in the pig heart using a microdialysis technique. *Acta Physiol Scand* 1997;159(1):23-32.
215. Wisktröm G, Ronquist G, Nilsson S, Maripu E, Waldenström A. Continuous monitoring of energy metabolites using microdialysis during myocardial ischaemia in the pig. *Eur Heart J* 1995;16(3):339-347.
216. Wood M. Plasma drug binding: implications for anesthesiologists. *Anesth Analg* 1986;65:786-804.
217. Zacharias A, Habib RH. Factors predisposing to median sternotomy complications. Deep vs superficial infection. *Chest* 1996;110:1173-1178.
218. Zemgulis V, Ronquist 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.