

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



**VLIV INHALAČNÍCH A INTRAVENÓZNÍCH ANESTETIK  
NA ODOLNOST SRDEČNÍHO SVALU  
K NEDOSTATKU KYSLÍKU**

**Cardiac tolerance to oxygen deprivation:  
the effects of inhalational and intravenous anesthetics**

MUDr. Hynek Říha

Praha 2012

## **Doktorské studijní programy v biomedicině**

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

**Obor:** Fyziologie a patofyziologie člověka

**Předseda oborové rady:** prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

**Školící pracoviště:** IKEM a FgÚ AV ČR

**Školitel:** prof. MUDr. Jan Pirk, DrSc.

**Školitel konzultant:** prof. MUDr. Bohuslav Ošřádal, DrSc.

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

## OBSAH

<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK</b> .....	<b>4</b>
<b>ABSTRAKT</b> .....	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>1. ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>2. HYPOTÉZY A CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE</b> .....	<b>7</b>
2.1. Ischemicko-reperfuzní poškození myokardu .....	7
2.1.1. Změny vyvolané ischemií myokardu .....	7
2.1.2. Změny v myokardu vyvolané reperfuzí .....	8
2.1.3. Ischemicko-reperfuzní poškození myokardu v perioperačním období .....	8
2.2. Protekce myokardu před ischemicko-reperfuzním poškozením .....	8
2.2.1. Ischemický preconditioning.....	8
2.2.2. Postconditioning .....	8
2.3. Vliv inhalačních anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu.....	9
2.3.1. Účinky inhalačních anestetik na kardiovaskulární systém.....	9
2.3.2. Preconditioning inhalačními anestetiky .....	9
2.3.3. Postconditioning inhalačními anestetiky.....	9
2.4. Vliv intravenózních anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu.....	10
2.4.1. Účinky intravenózních anestetik na kardiovaskulární systém.....	10
2.4.2. Interakce intravenózních anestetik s mechanismy pre- a postconditioningu .....	10
2.5. Vliv anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu v klinické praxi .....	10
2.5.1. Preconditioning a postconditioning navozený inhalačními anestetiky .....	11
2.5.2. Vliv intravenózních anestetik na protekci myokardu.....	11
2.5.3. Vliv kardioprotektivních účinků anestetik na klinický průběh a výsledky .....	11
<b>3. MATERIÁL A METODY</b> .....	<b>13</b>
3.1. Laboratorní potkan.....	13
3.2. Aplikace inhalačního anestetika .....	13
3.3. Echokardiografické vyšetření.....	13
3.4. Experimentální model regionálního ischemicko-reperfuzního poškození myokardu ...	13
3.4.1. Perfuze izolovaného srdce .....	13
3.4.2. Protokol regionální ischemie a reperfuze myokardu .....	13
3.4.3. Hodnocení arytmií.....	14
3.4.4. Stanovení velikosti infarktu myokardu .....	14
3.5. Klinická analýza .....	14
3.5.1. Skupiny pacientů.....	14
3.5.2. Kardiochirurgický zákrok a perioperační péče.....	14
3.5.3. Biochemická vyšetření .....	15
3.6. Statistické hodnocení .....	15

<b>4. VÝSLEDKY</b> .....	<b>16</b>
4.1. Inhalační aplikace izofluranu .....	16
4.2. Echokardiografická měření .....	16
4.3. Ischemicko-reperfuzní poškození myokardu .....	16
4.3.1. Ischemické arytmie .....	16
4.3.2. Reperfuzní arytmie.....	16
4.3.3. Velikost infarktu myokardu.....	16
4.4. Klinická analýza .....	17
4.4.1. Předoperační parametry a perioperační klinické údaje .....	17
4.4.2. Kardiospecifické biomarkery.....	18
<b>5. DISKUZE</b> .....	<b>19</b>
5.1. Experimentální část.....	19
5.1.1. Inhalační aplikace izofluranu.....	19
5.1.2. Vliv izofluranu na echokardiografické parametry levé komory.....	19
5.1.3. Experimentální model regionální ischemie a reperfuze myokardu .....	20
5.1.4. Vliv preconditioningu izofluranem na komorové arytmie během regionální ischemie a reperfuze myokardu.....	20
5.1.5. Vliv preconditioningu izofluranem na velikost infarktu myokardu.....	21
5.2. Klinická část .....	21
<b>6. ZÁVĚRY</b> .....	<b>23</b>
<b>7. POUŽITÁ LITERATURA</b> .....	<b>24</b>
<b>8. PUBLIKACE DOKTORANDA</b> .....	<b>32</b>

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ANOVA	analýza rozptylu (analysis of variance)
IPC a APC	ischemický a anestetiky navozený preconditioning myokardu
AR	ohrožená oblast myokardu (area at risk)
ATP	adenosintrifosfát
AUC	plocha pod křivkou (area under the curve)
AWT a PWT	tloušťka přední (anterior) a zadní (posterior) stěny srdeční komory
BMI	index tělesné hmotnosti (body mass index)
BW	tělesná hmotnost (body weight)
CABG	aortokoronární bypass (coronary artery bypass grafting)
CF	koronární průtok (coronary flow)
CK-MB	MB frakce kreatinkinázy
cTnI a cTnT	srdeční troponin I a T
EDD a EDV	průměr (diameter) a objem (volume) komory na konci diastoly
EKG	elektrokardiogram
ESD	průměr komory na konci systoly (end-systolic diameter)
F <sub>I</sub> O <sub>2</sub>	inspirační frakce kyslíku
FS	frakční zkrácení (fractional shortening)
GF	glomerulární filtrace
HR	srdeční frekvence (heart rate)
HW	hmotnost srdce (heart weight)
IM a IS	infarkt myokardu a infarktová oblast (infarct size)
K <sup>+</sup> <sub>ATP</sub>	draslíkové na ATP závislé kanály
mito a sarcK <sup>+</sup> <sub>ATP</sub>	mitochondriální a sarkolemální K <sup>+</sup> <sub>ATP</sub> kanály
LV a LVEF	levá komora (left ventricle) a ejekční frakce levé komory
MAC	minimální alveolární koncentrace
MDRD	Modification of Diet in Renal Diseases
MTO	přístroj pro mimotělní oběh
mPTP	permeability transition pór v mitochondriích
NO	oxid dusnatý
PKC	proteinkináza C
PVC	předčasný komorový stah (premature ventricular complex)
RIA	<i>ramus interventricularis anterior</i>
ROS	volné kyslíkové radikály (reactive oxygen species)
RWT	relativní tloušťka stěny srdeční komory (relative wall thickness)
TIVA	totální intravenózní anestezie
TTC	trifenyltetrazolium chlorid
VT	komorová tachykardie
VF	komorová fibrilace

## ABSTRAKT

**Úvod:** Nedílnou součástí anesteziologické péče v průběhu chirurgických výkonů je aplikace inhalačních a intravenózních anestetik. Obě skupiny mají výrazný vliv na kardiovaskulární systém, a to jak ovlivněním dodávky a spotřeby O<sub>2</sub> v myokardu, tak ovlivněním kardiomyocytů na úrovni buněčných membrán, iontových kanálů a regulačních enzymů.

**Cíl:** 1. Zjistit, jak různé koncentrace izofluranu ovlivňují rozměry levé komory (LV) a její systolickou funkci u laboratorního potkana. 2. Zhodnotit vliv izofluranem navozeného preconditioningu myokardu (APC) na odolnost srdečního svalu k ischemicko-reperfuznímu (I-R) poškození. 3. Porovnat vliv anestezie, založené na kombinaci ketamin – dexmedetomidin (KET-DEX), na koncentraci kardiospecifických biomarkerů a časný klinický pooperační průběh s anestézií, založenou na kombinaci sevofluran – sufentanil (SEVO), u pacientů podstupujících elektivní chirurgickou revaskularizaci myokardu (CABG).

**Metodika:** 1. Provedli jsme transtorakální echokardiografické vyšetření při imobilizaci potkanů izofluranem v koncentraci 1,5 – 3 %. 2. Po navození APC izofluranem (0,5 a 1 MAC) jsme sledovali komorové arytmie na modelu izolovaného perfundovaného srdce potkana, a to během regionální ischemie (45 min.), vyvolané okluzí ramus interventricularis anterior, i následné reperfuze (60 min.); velikost infarktu myokardu (IM) jsme stanovili barvením manganistanem draselným a tetrazoliovými solemi. 3. Porovnali jsme koncentrace kardiospecifických biomarkerů (CK-MB, cTnI) a časný klinický pooperační průběh v rámci retrospektivní observační analýzy.

**Výsledky:** 1. Izofluran v koncentraci 1,5 – 3 % neovlivnil tloušťku přední ani zadní stěny LV, ale 3% koncentrace již významně zvětšila průměr LV na konci diastoly i systoly a její objem na konci diastoly; srdeční frekvence ani frakční zkrácení se nelišily. 2. APC navozený izofluranem v obou koncentracích zvýšil odolnost srdečního svalu k I-R poškození; během ischemie se významně snížil počet i závažnost arytmií a výrazně se prodloužil interval do výskytu první arytmie. Během reperfuze se snížila incidence a závažnost arytmií; velikost IM vztažená k velikosti ohrožené oblasti se zmenšila na polovinu. 3. Anestezie KET-DEX vedla k významně nižším koncentracím cTnI a CK-MB ráno první pooperační den, a také významně menšímu celkovému uvolněnému množství cTnI v porovnání s anestézií SEVO; časný pooperační průběh se mezi oběma skupinami nelišil.

**Závěry:** 1. Koncentrace izofluranu běžně používané k imobilizaci potkanů ( $\leq 2,5$  %) neměly zásadní vliv na rozměry a systolickou funkci LV. 2. Izofluranem navozený APC významně zvýšil odolnost srdečního svalu k I-R poškození; měl výrazný antiarytmický účinek a zmenšil také velikost IM. 3. Anestezie, založená na kombinaci ketaminu s dexmedetomidinem, významně snížila pooperační koncentrace kardiospecifických biomarkerů u pacientů podstupujících elektivní CABG v porovnání s anestézií, založenou na kombinaci sevofluranu se sufentanilem.

## ABSTRACT

**Background:** Surgical procedures are invariably accompanied by the use of inhalational and intravenous anesthetics. Both groups have strong influence on cardiovascular system by the interaction with myocardial oxygen supply/demand ratio and cardiomyocyte functions at the level of cell membranes, ion channels and regulatory enzymes.

**Aims:** 1. To examine the effects of different isoflurane concentrations on the left ventricular (LV) dimensions and systolic function in the rat. 2. To examine the effects of isoflurane-induced myocardial preconditioning (APC) on the cardiac tolerance to ischemia-reperfusion (I-R) injury. 3. To compare the influence of anesthesia, based on ketamine–dexmedetomidine (KET-DEX), on the release of biochemical markers of myocardial injury and the early postoperative course with the anesthesia, based on sevoflurane–sufentanil (SEVO), in the patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG).

**Methods:** 1. We carried out transthoracic echocardiographic examination in the rats immobilized by 1.5–3% concentration of isoflurane. 2. After inducing APC by isoflurane (0.5 and 1 MAC), we evaluated ventricular arrhythmias during regional ischemia (45 min), induced by the occlusion of the left anterior descending artery, and subsequent reperfusion (60 min), using the model of isolated perfused rat heart; infarct size (IS) was delineated by potassium permanganate and tetrazolium staining. 3. We compared the levels of cardiac biomarkers (CK-MB, cTnI) and the early postoperative course using retrospective observational analysis.

**Results:** 1. Isoflurane in 1.5–3% concentration did not influence the thickness of the LV anterior and posterior walls, but 3% concentration significantly increased the LV end-systolic and end-diastolic diameters together with end-diastolic volume; heart rate and LV fractional shortening did not change. 2. APC induced by both isoflurane concentrations increased the cardiac tolerance to I-R injury; the number and severity of ventricular arrhythmias significantly decreased during ischemia, and the time interval to the occurrence of the first premature ventricular complex significantly increased. The incidence and severity of arrhythmias during reperfusion decreased; infarct size, normalized to the of area at risk, decreased by half. 3. The patients after KET-DEX anesthesia had significantly lower cTnI and CK-MB levels on the morning after surgery accompanied by a significantly lower overall cTnI release compared with SEVO anesthesia; the early postoperative course did not differ between the groups.

**Conclusions:** 1. Isoflurane concentrations, commonly used for rat immobilization ( $\leq 2.5\%$ ), did not significantly influence LV dimensions and systolic function. 2. Isoflurane-induced APC significantly increased the cardiac tolerance to I-R injury; it had significant antiarrhythmic effects and decreased also infarct size. 3. Ketamine–dexmedetomidine anesthesia during elective CABG resulted in lower postoperative levels of cardiac biomarkers compared with sevoflurane–sufentanil anesthesia.

## 1. ÚVOD

Každý rok je na světě provedeno více než 230 milionů větších chirurgických výkonů<sup>1</sup>. U středně a vysoce rizikových nekardiochirurgických operací přesahuje 30denní mortalita 2 %<sup>2</sup>, u pacientů s vysokým kardiálním rizikem pak dokonce 5 %<sup>3</sup>. Kardiální komplikace po chirurgických výkonech jsou nejčastější příčinou pooperační morbidit a mortality<sup>4</sup>.

Nedílnou součástí anesteziologické péče v průběhu chirurgických výkonů je aplikace inhalačních a intravenózních anestetik. Obě skupiny mají výrazný vliv na kardiovaskulární systém, a to jak ovlivněním dodávky a spotřeby O<sub>2</sub> v myokardu, tak ovlivněním kardiomyocytů na úrovni buněčných membrán, iontových kanálů a regulačních enzymů.

Detailnější znalost kardioprotektivních mechanismů navozených inhalačními a intravenózními anestetiky, spolu s objasněním klinické účinnosti jednotlivých anesteziologických režimů, by měla přispět k cílenému využití anestetik v klinické praxi a poklesu kardiovaskulárních komplikací po chirurgických výkonech.

## 2. HYPOTÉZY A CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

### 2.1. Ischemicko-reperfuční poškození myokardu

Hypoxie myokardu označuje stav způsobený nepoměrem mezi dodávkou a spotřebou O<sub>2</sub>. Jako ischemie myokardu se označuje nedokrevnost, kdy zároveň klesá odstraňování metabolitů z postižené oblasti.

#### 2.1.1. Změny vyvolané ischemií myokardu

Jako první je při nedostatku O<sub>2</sub> narušena relaxace myokardiálních vláken<sup>5</sup>; následně klesá kontraktilita myokardu. Významnou manifestací ischemie myokardu jsou komorové arytmie. Uzávěr koronárního řečiště, který nebyl v adekvátním časovém intervalu odstraněn, způsobí smrt zasažených buněk se vznikem IM<sup>6</sup>. Je-li perfuze ischemické oblasti včas obnovena, je poškození reverzibilní; porucha mechanické funkce může různě dlouhou dobu přetrvávat (omráčený [stunned] myokard)<sup>7</sup>. Odlišným stavem je regionální dysfunkce myokardu při chronické ischemii, tzv. hibernující myokard<sup>7</sup>.

Nedostatek O<sub>2</sub> způsobuje změny struktury a funkce sarkolemy, kdy přetrvávající zvýšená intracelulární koncentrace Ca<sup>2+</sup> aktivuje fosfolipázy, které degradují fosfolipidy membrán. Ve zvýšené míře se také tvoří volné kyslíkové radikály (ROS). Přetížení kardiomyocytů ionty Ca<sup>2+</sup> nakonec způsobuje zánik buněk (nekróza a apoptóza)<sup>8</sup>. Klíčovým enzymatickým systémem pro apoptózu jsou kaspázy, aktivované nadměrnou koncentrací Ca<sup>2+</sup><sup>9</sup>. Důležitou roli při vzniku komorových arytmii má vzestup vodivosti sarkolemy pro K<sup>+</sup> při aktivaci draslíkových na ATP závislých kanálů (K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>), což zkracuje trvání akčního potenciálu<sup>10</sup>. Výsledné rozdíly repolarizačních fází a refrakterních period<sup>11</sup> jsou základní příčinou elektrofyziologické heterogenity mezi ischemickou a normální tkání<sup>12</sup>; ta spouští komorové arytmie.



### **2.1.2. Změny v myokardu vyvolané reperfuzí**

Mezi základní projevy reperfuze myokardu patří postischemická kontraktální dysfunkce a komorové arytmie<sup>13</sup>. Omráčený myokard představuje oblast s protrahovanou poruchou kontraktální funkce; v klinické praxi se k jejímu ovlivnění využívají pozitivně inotropní látky<sup>14</sup>. Nadbytek  $\text{Ca}^{2+}$  je podkladem reperfuzních komorových arytmií<sup>15</sup>. Za subcelulární příčinu reperfuzního poškození je považováno otevření pórů ve vnitřní membráně mitochondrií (mPTP)<sup>16</sup>. Primárním impulzem pro otevření mPTP je zvýšená koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  v mitochondriální matrix; výsledkem je ruptura vnější mitochondriální membrány<sup>17</sup> a letální reperfuzní poškození<sup>18</sup>.

### **2.1.3. Ischemicko-reperfuzní poškození myokardu v perioperačním období**

Podle platné univerzální definice IM<sup>19</sup> může být perioperační IM způsoben dvěma mechanismy: akutním koronárním syndromem (typ 1) nebo protrahovaným nepoměrem mezi dodávkou a spotřebou  $\text{O}_2$  v myokardu (typ 2). Ischemie myokardu je v některých případech navozena iatrogeně, tzn. naložením příčné svorky na ascendentní aortu; následuje rozvoj globální ischemie myokardu. K omezení následků tohoto ischemického inzultu jsou využívána protektivní opatření<sup>20</sup>; mezi nejdůležitější patří aplikace kardioplegického roztoku s vysokou koncentrací  $\text{K}^+$ , vedoucí k zástavě elektrické i mechanické činnosti myokardu<sup>21</sup>, a hypotermie.

## **2.2. Protekce myokardu před ischemicko-reperfuzním poškozením**

### **2.2.1. Ischemický preconditioning**

Ischemický preconditioning (IPC) představuje adaptivní endogenní odpověď na krátké subletální epizody ischemie-reperfuze myokardu, která zajišťuje ochranu před následující protrahovanou ischemií<sup>22</sup>. Dalším účinkem IPC je omezení postischemické kontraktální dysfunkce a pokles výskytu ischemických<sup>23,24</sup> a reperfuzních<sup>25</sup> arytmií. Ochrana myokardu po IPC se objevuje ve dvou fázích: časná fáze, začínající několik minut po výchozím impulzu a trvající 2 – 3 hod., a pozdní fáze, která se objevuje po 24 hod. a přetrvává 3 – 4 dny<sup>26</sup>.

Subcelulární mechanismy, které vyvolávají IPC, analyzovalo mnoho autorů<sup>27,28</sup>. Kardioprotektivním momentem je pravděpodobně otevření  $\text{K}^+$  ATP kanálů v membráně mitochondrií spolu s tvorbou určitého množství ROS. V případě pozdní fáze IPC dochází k syntéze proteinů, které jsou mediátory a efektory pozdního IPC. Existence IPC byla popsána také v klinické praxi. Angina pectoris, která předchází vzniku IM, zlepšuje klinické výsledky<sup>29</sup>. Širšímu přenosu IPC do klinické praxe však brání překážky, a to jak na straně experimentální, tak i klinické<sup>30</sup>.

### **2.2.2. Postconditioning**

V roce 2003 ukázali Zhao a spol. na psech<sup>31,32</sup>, že krátké ischemické epizody, aplikované – na rozdíl od IPC – po delší ischemii, mají srovnatelný kardioprotektivní účinek. Dalším kardioprotektivním účinkem postconditioningu je pokles výskytu reperfuzních

arytmií<sup>33</sup>. První klinická studie, která prokázala pozitivní vliv ischemického postconditioningu, zahrnula 30 pacientů s akutním IM<sup>34</sup>. V kardiouchirurgii je reperfuční fáze zahájena sejmutím příčné svorky z ascendentní aorty; v tomto období je snižován krevní průtok přístrojem pro mimotělní oběh (MTO) na nižší hodnoty (~ 1 l/min.)<sup>35</sup>.

## **2.3. Vliv inhalačních anestetik na ischemicko-reperfuční poškození myokardu**

### **2.3.1. Účinky inhalačních anestetik na kardiovaskulární systém**

Účinky moderních inhalačních anestetik na kardiovaskulární systém se mezi sebou zásadním způsobem neliší; základním efektem je pokles krevního tlaku v závislosti na dávce<sup>36</sup>. Všechny změny, včetně vasodilatace koronárních tepen, jsou podkladem pozitivního vlivu inhalačních anestetik při poklesu hlavních determinant spotřeby O<sub>2</sub> myokardem.

### **2.3.2. Preconditioning inhalačními anestetiky**

V roce 1997 byla potvrzena možnost vyvolat preconditioning myokardu inhalačním anestetikem (APC)<sup>37</sup>. Na modelech izolovaného perfundovaného srdce potkana, morčete a králíka podle Langendorffa byl 2 – 10minutovou aplikací halotanu, enfluranu, izofluranu i sevofluranu navozen APC; bylo zaznamenáno zmenšení velikosti IM<sup>38</sup> a snížení postischemické kontraktální dysfunkce<sup>39,40</sup>. Izofluranem vyvolaný APC také oddálil začátek reperfučních arytmií a snížil výskyt komorové fibrilace během reperfuze<sup>41</sup>. Experimenty, prováděné *in vivo*, jednoznačně potvrdily schopnost inhalačních anestetik v různých koncentracích (0,5 – 1 minimální alveolární koncentrace [MAC]) a při různě dlouhé aplikaci (5 – 75 min.) v intervalu 15 – 30 min. před vlastní ischemií myokardu vyvolat APC<sup>42-44</sup>.

Subcelulární mechanismy, odpovědné za APC, jsou velmi pravděpodobně shodné s mechanismy, které jsou aktivovány během IPC<sup>45</sup>. Aktivace mitoK<sup>+</sup><sub>ATP</sub> a sarcK<sup>+</sup><sub>ATP</sub> kanálů je považována za klíčový mechanismus APC, což bylo potvrzeno v experimentech prováděných jak *in vitro* (viz výše), tak *in vivo*<sup>46,47</sup>. Co se týče lidského myokardu, experimenty na izolované tkáni srdeční síně prokázaly stimulaci adenosinových A<sub>1</sub> receptorů a otevření K<sup>+</sup><sub>ATP</sub> kanálů při APC indukovaným izofluranem<sup>48</sup>. V případě desfluranem navozeného APC byla potvrzena stimulace adenosinových A<sub>1</sub> receptorů, α i β-adrenergních receptorů a otevření mitoK<sup>+</sup><sub>ATP</sub> kanálů v izolované tkáni srdeční síně<sup>49</sup>.

Bylo prokázáno, že již koncentrace 0,25 MAC izofluranu vyvolá APC vyjádřený jako významné zmenšení IM<sup>50</sup>. Byla také potvrzena možnost vyvolat APC velmi krátkou aplikací inhalačního anestetika<sup>51</sup>.

### **2.3.3. Postconditioning inhalačními anestetiky**

V roce 1996 byl poprvé popsán příznivý účinek inhalačních anestetik na reperfuční poškození myokardu: aplikace halotanu během reperfuze významně snížila uvolňování kreatinkinázy a omezila postischemickou kontraktální dysfunkci<sup>52</sup>. Mechanismus, jakým inhalační anestetika vyvolávají postconditioning, není dosud jednoznačně vysvětlen; halotan

zabránil vzniku hyperkontraktury kardiomyocytů během časné reperfuze interakcí s ryanodinovými receptory sarkoplazmatického retikula<sup>53</sup>.

## **2.4. Vliv intravenózních anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu**

### **2.4.1. Účinky intravenózních anestetik na kardiovaskulární systém**

Účinky intravenózních anestetik na kardiovaskulární systém jsou detailně popsány v řadě monografií<sup>54,55</sup>. *Barbituráty* snižují kontraktilitu myokardu, systémovou cévní rezistenci a reflexně zvyšují srdeční frekvenci. *Etomidát* ovlivňuje kardiovaskulární systém minimálně. *Propofol* má podobné účinky jako barbituráty. Přímý účinek *ketaminu* na myokard je negativně inotropní; výsledný účinek je dán centrální stimulací sympatiku<sup>56</sup>.

*Benzodiazepiny* mírně snižují systémovou cévní rezistenci a mají minimální negativně inotropní účinek. *Opioidy* snižují srdeční frekvenci centrální stimulací parasympatického nervového systému; snižují tonus sympatického vegetativního nervového systému, což způsobuje mírnou venodilataci s poklesem preloadu (předtížení). *Centrální agonisté  $\alpha_2$ -adrenergických receptorů* mají sympatolytický účinek; snižují srdeční frekvenci a krevní tlak. Po zahájení jejich podávání může přechodně dojít k vzestupu krevního tlaku díky stimulaci periferních  $\alpha_1$ -receptorů. Centrální agonisté  $\alpha_2$ -adrenergických receptorů mají také výrazné analgetické<sup>57</sup>, sedativní a anestetické<sup>58</sup> účinky.

### **2.4.2. Interakce intravenózních anestetik s mechanismy pre- a postconditioningu**

Aplikace pentobarbitalu nenavozuje preconditioning<sup>59</sup>, proto se využívá k anestezii zvířat při experimentálním studiu IPC i APC. *Etomidát* nemá s největší pravděpodobností žádný vliv na pre- a postconditioning. *Propofol* nevstupuje do interakce s myokardiálními  $K^+_{ATP}$  kanály *in vitro*<sup>60</sup>; blokoval ale otevření mPTP pod vlivem  $Ca^{2+}$  v mitochondriích kardiomyocytů potkana<sup>61</sup>. V *in vivo* experimentu na králících propofol nezměňoval velikost IM, nevedl tedy ke vzniku APC<sup>42</sup>. Struktura propofolu je podobná tokoferolu (vitamin E), což je příčinou jeho antioxidačních účinků. Na modelu izolovaného perfundovaného srdce potkana propofol omezoval peroxidační a funkční postižení myokardu, vyvolané ischemicko-reperfuzním poškozením<sup>62</sup>. *Ketamin* [racemická směs *S*(+) a *R*(-) enantiomeru] blokoval u králíka *in vivo* vznik časného<sup>63</sup> i pozdního IPC<sup>64</sup>. *S*(+)-ketamin tyto účinky neměl. Některé novější experimenty naopak prokázaly, že racemická směs i *S*(+)-ketamin vyvolávají APC v buňkách izolovaných z lidského myokardu<sup>65</sup>. Ischemie myokardu vede k syntéze a uvolnění endogenních opioidních peptidů<sup>66</sup>. Exogenní *opioidy* vyvolávají časný i pozdní preconditioning; aktivují  $K^+_{ATP}$  kanály<sup>67</sup>. Hlavním opioidním receptorem, který zprostředkovává vznik preconditioningu, je  $\delta$ -opioidní receptor<sup>68</sup>.

## **2.5. Vliv anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu v klinické praxi**

Kardiochirurgické operace patří mezi nejčastěji využívaný klinický model ischemicko-reperfuzního poškození myokardu. Chirurgická revaskularizace myokardu (CABG) s použitím MTO je spojena s přechodným poklesem kontraktilní funkce myokardu<sup>69</sup>;

nejčastěji sledovanými parametry v klinických studiích jsou obnova kontraktilní funkce a koncentrace uvolněných kardiospecifických biomarkerů<sup>70</sup>.

### ***2.5.1. Preconditioning a postconditioning navozený inhalačními anestetiky***

První klinická studie, která potvrdila existenci APC indukovaného izofluranem u CABG operací, prokázala zvýšené koncentrace markerů aktivace proteinkinázy C (PKC) ve vzorcích tkáně z pravé síně; byl též zaznamenán trend k nižším koncentracím kardiospecifických biomarkerů (troponinu I [cTnI] a MB frakce kreatinkinázy [CK-MB]) u pacientů, jimž byl aplikován izofluran<sup>71</sup>. Další studie potvrdily lepší reparaci kontraktilní funkce a nižší koncentraci uvolněného cTnI po použití inhalačních anestetik<sup>72,73</sup>, některé pouze lepší reparaci kontraktilní funkce<sup>74</sup>. Ne všechny studie však kardioprotekci vyvolanou inhalačními anestetiky potvrdily<sup>75,76</sup>. Práce Beina a spol. ukázala, že přerušovaná aplikace sevofluranu před MTO u CABG operací snížila koncentrace troponinu T (cTnT) a CK-MB a zlepšila echokardiografické známky kontraktility; kontinuální aplikace tyto účinky neměla<sup>77</sup>.

### ***2.5.2. Vliv intravenózních anestetik na protekci myokardu***

Vysoké dávky propofolu ve formě totální intravenózní anestezie (TIVA), v porovnání s nižšími dávkami propofolu a izofluranem, podávané během MTO u CABG operací, významně snižovaly koncentrace markerů oxidativního stresu a cTnI; zároveň zvyšovaly srdeční výdej 24 hod. po výkonu<sup>78</sup>. U CABG operací zlepšovala anestezie, založená na sevofluranu, v porovnání s propofolem, kontraktilní funkci po MTO; vedla také k nižším pooperačním koncentracím cTnI<sup>79</sup>.

Murphy a spol. srovnávali morfin (neselektivní agonista  $\mu$ - a  $\delta$ -opioidních receptorů) a fentanyl (predominantní  $\mu$ -agonista) v kombinaci s izofluranem u pacientů podstupujících CABG: systolická i diastolická funkce myokardu hodnocená echokardiograficky byla významně lepší v případě morfinu, i když se koncentrace kardiospecifických biomarkerů nelišily<sup>80</sup>. Dexmedetomidin snížil plazmatické koncentrace noradrenalinu o 90 %, omezil vzestup krevního tlaku během chirurgického výkonu, snížil výskyt tachykardie a omezil spotřebu fentanylu a enfluranu<sup>81</sup>.

### ***2.5.3. Vliv kardioprotektivních účinků anestetik na klinický průběh a výsledky***

Dříve publikované studie u kardiochirurgických pacientů nepotvrzovaly vztah mezi volbou anestetika a klinickým výsledkem<sup>82,83</sup>. Randomizovaná studie, která zahrnula 84 pacientů podstupujících CABG, nenalezla rozdíl mezi celkovou anestézií založenou na izofluranu a TIVA s propofolem<sup>84</sup>. Metaanalýza 22 randomizovaných studií, která zahrnula celkem 1922 pacientů podstupujících kardiochirurgický výkon a randomizovaných k celkové anestézii inhalačním anestetikem nebo TIVA, potvrdila kardioprotektivní účinky inhalačních anestetik. Prospektivní randomizovaná studie, která srovnávala celkovou anestezii se sevofluranem a TIVA založenou na propofolu u hrudních a cévních operací, nepotvrdila významný rozdíl v pooperačních hodnotách cTnI<sup>85</sup>.

Na základě studia literárních údajů a po zvážení našich metodických možností jsme si stanovili tři základní cíle disertační práce spolu s odpovídajícími pracovními hypotézami:

**1. Cíl:** zjistit, zda různé koncentrace izofluranu významně ovlivňují anatomické rozměry levé komory a základní parametry její systolické funkce u laboratorního potkana, hodnocené pomocí transtorakální echokardiografie.

**Odůvodnění:** izofluran jako inhalační anestetikum zajišťuje u laboratorního potkana imobilizaci pro echokardiografické vyšetření; v závislosti na dávce ovlivňuje kardiovaskulární a respirační systém. Údaje, hodnotící vliv inhalačních anestetik na echokardiografické parametry, jsou dostupné u laboratorních myší, ale ne u potkanů.

**Hypotéza:** vysoké koncentrace izofluranu ( $> 2$  MAC) významně ovlivní základní anatomické a funkční echokardiografické parametry levé komory.

**2. Cíl:** zjistit, zda izofluranem navozený APC ovlivňuje výskyt a závažnost komorových arytmií během regionální ischemie myokardu a následné reperfuze u laboratorního potkana; dále pak ověřit vliv tohoto způsobu farmakologického preconditioningu na velikost IM.

**Odůvodnění:** APC navozený inhalačními anestetiky má kardioprotektivní účinky; předchozí experimentální studie popsaly výrazné zmenšení velikosti vznikajícího IM a lepší obnovu kontraktility funkce po ischemii; vliv APC na arytmiie v průběhu ischemicko-reperfuze poškození myokardu nebyl dosud popsán.

**Hypotéza:** APC navozený izofluranem významně omezí výskyt a sníží závažnost komorových arytmií, vyvolaných regionální ischemií a reperfuzí myokardu.

**3. Cíl:** zjistit, zda TIVA, založená na kombinaci intravenózního anestetika ketaminu s centrálním agonistou  $\alpha_2$ -adrenergických receptorů dexmedetomidinem, ovlivňuje koncentrace kardiospecifických biomarkerů a časný pooperační klinický průběh u pacientů podstupujících CABG s použitím MTO, a to v porovnání s celkovou anestézií založenou na kombinaci inhalačního anestetika sevofluranu s opioidem sufentanilem.

**Odůvodnění:** kardiokirurgické operace s MTO jsou z důvodu jasně definované doby globální ischemie myokardu jediným srovnatelným modelem ischemicko-reperfuze poškození myokardu v běžné klinické praxi. Většina dosud provedených klinických studií prokazovala kardioprotektivní vliv inhalačních oproti intravenózním anestetikům v podobě nižších koncentrací kardiospecifických biomarkerů a lepší obnovy kontraktility myokardu po operaci; vliv TIVA, založené na kombinaci ketaminu s dexmedetomidinem, na výše uvedené parametry nebyl u kardiokirurgických operací dosud popsán.

**Hypotéza:** TIVA založená na kombinaci ketaminu s dexmedetomidinem povede k nižším hodnotám kardiospecifických biomarkerů a nižšímu výskytu časných klinických známek ischemicko-reperfuze poškození myokardu.

### **3. MATERIÁL A METODY**

#### **3.1. Laboratorní potkan**

V experimentech jsme použili dospělé samce laboratorního potkana kmene Wistar. Zvířata byla chována za standardních podmínek. Protokoly experimentálních prací byly schváleny Etickou komisí FgÚ AV ČR v Praze. Experimenty byly prováděny v souladu s pravidly, uvedenými v publikaci *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, která byla vydána U.S. National Institutes of Health (publikace NIH č. 85-23, revidováno 1996).

#### **3.2. Aplikace inhalačního anestetika**

Jako inhalační anestetikum jsme používali izofluran; dávkování bylo zajištěno průtokovým odpařovačem. Nosnou směs plynů tvořil medicínální vzduch. Izofluran jsme potkanům podávali ve vzduchotěsné komoře při zachované spontánní dechové aktivitě. Během echokardiografického vyšetření jsme, po navození anestezie 2,5% koncentrací izofluranu v komoře, pokračovali aplikací jednotlivých sledovaných koncentrací (1,5 – 3 %) inhalačním nástavcem. APC jsme navodili, po indukci 2,5% koncentrací, 12minutovou aplikací dvou koncentrací izofluranu: 0,5 MAC a 1 MAC<sup>86</sup>; následoval wash-out interval.

#### **3.3. Echokardiografické vyšetření**

Použili jsme transtorakální echokardiografickou matrixovou sondu o frekvenci 14 MHz. K off-line analýze získaných dat jsme použili programové vybavením Echo PAC PC. Anatomické parametry levé komory (LV) zahrnovaly tloušťku přední a zadní stěny a průměr komory, a to vždy na konci diastoly a systoly (AWT<sub>d</sub> a AWT<sub>s</sub>; PWT<sub>d</sub> a PWT<sub>s</sub>; EDD; ESD). Ze změřených parametrů jsme vypočítali další parametry LV, a to relativní tloušťku stěny (RWT), objem komory na konci diastoly (EDV) a frakční zkrácení (FS).

#### **3.4. Experimentální model regionálního ischemicko-reperfuzního poškození myokardu**

##### **3.4.1. Perfuze izolovaného srdce**

Po navození APC jsme zajistili celkovou anestezii jednorázovým intraperitoneálním podáním pentobarbitalu sodného (60 mg/kg). Srdce jsme co nejrychleji vyjmuli z hrudní dutiny a upevnili do perfuzního přístroje podle Langendorffa; následovala perfuze Krebsovým-Henseleitovým roztokem bez recirkulace, modifikovaným pro sledování arytmií, za konstantní rychlosti (10 ml/min./g hmotnosti srdce). Střední perfuzní tlak jsme měřili v postranním rameni aortální kanyly. Epikardiální elektrogram jsme zaznamenávali pomocí dvou platinových elektrod, umístěných v oblasti pravé síně a srdečního hrotu.

##### **3.4.2. Protokol regionální ischemie a reperfuze myokardu**

Protokol jsme zahájili 25minutovou fází stabilizace; pak následovala 45minutová regionální ischemie. Ischemii jsme považovali za adekvátní při okamžitém vzestupu středního perfuzního tlaku. Potom následovala 60minutová reperfuzní fáze.

### **3.4.3. Hodnocení arytmií**

Komorové arytmie jsme sledovali během celé fáze regionální ischemie a po dobu prvních 15 min. reperfuze. Elektrogram jsme po skončení experimentu vyhodnocovali speciálním počítačovým programem. Arytmie jsme hodnotili podle Lambethské konvence<sup>87</sup> jako jednoduché předčasné komorové stahy (singles), dvojité a trojitě komorové stahy následující těsně po sobě (salvy), komorová tachykardie (VT), a komorová fibrilace (VF).

Dále jsme hodnotili počet, výskyt a dobu trvání epizod VT a VF. Při délce VF > 2 min. jsme ji považovali za trvalou. Kromě jednotlivých arytmií jsme hodnotili také jejich závažnost pomocí arytmiického skóre, kdy jsme každému srdci přidělili hodnotu v rozmezí 1 až 5 podle nejzávažnějšího typu komorové arytmie.

### **3.4.4. Stanovení velikosti infarktu myokardu**

Velikost IM jsme stanovili histochemickým barvením tetrazoliovými solemi<sup>88</sup>. Na konci reperfuzní fáze jsme vymezili oblast ohroženou regionální ischemií (AR) obarvením normálně perfundované tkáně manganistanem draselným. Obarvení přežívající tkáně v AR jsme zajistili podáním trifenyltetrazolium chloridu (TTC); tkáň TTC negativní představuje infarktovou oblast (IS). Potom jsme oddělili srdeční bázi, a srdce jsme rozdělili na 1 mm silné řezy; ty jsme uložili do 10% neutrálního roztoku formaldehydu. Následující den, po odstranění tkáně pravé komory, jsme řezy vyfotografovali z obou stran.

Velikosti jednotlivých oblastí (IS, AR) i celé LV jsme stanovili počítačovou planimetrickou metodou (programové vybavení Ellipse) jako součet velikosti ploch v jednotlivých řezech<sup>89</sup>; relativní zastoupení jednotlivých oblastí bylo standardním způsobem kvantifikováno: AR/LV, IS/AR a IS/LV.

## **3.5. Klinická analýza**

Všichni pacienti udělili písemný informovaný souhlas s kardiochirurgickou i anesteziologickou péčí. Retrospektivní observační analýza byla schválena Etickou komisí IKEM a FTN v Praze.

### **3.5.1. Skupiny pacientů**

Ze skupiny pacientů, kteří podstoupili elektivní CABG s použitím MTO, jsme do retrospektivní analýzy vybrali ty, u nichž byla použita TIVA založená na kombinaci ketaminu s dexmedetomidinem (skupina KET-DEX). Do kontrolní skupiny jsme zařadili pacienty s anestezií založenou na kombinaci sevofluranu se sufentanilem (skupina SEVO). Pacienti v obou skupinách měli stejné základní vstupní parametry.

### **3.5.2. Kardiochirurgický zákrok a perioperační péče**

Operačním přístupem byla podélná střední sternotomie; k revaskularizaci RIA byla použita *arteria thoracica interna sinistra*, k dalším bypassům pak štěpy z *venae saphenae magna*. K ochraně myokardu byl podán studený krystaloidní kardioplegický roztok.

U pacientů ve skupině KET-DEX byla anestezie zahájena midazolamem (0,1 mg/kg) a dexmedetomidinem (1 µg/kg během 10 min.), pak byl podán ketamin (1 – 2 mg/kg). V průběhu výkonu byla anestezie udržována infuzí ketaminu (2 – 4 mg/kg/hod., po ukončení MTO 2 mg/kg/hod. a 20 – 30 min. před koncem operace aplikace ukončena) a dexmedetomidinu (0,5 – 1,5 µg/kg/hod.). Midazolam (0,1 mg/kg) byl přidán před zahájením MTO; sufentanil (0,15 – 0,25 µg/kg) byl použit v průběhu výkonu podle potřeby. Ve skupině SEVO byla anestezie zahájena podáním midazolamu (0,05 mg/kg), sufentanilu (0,5 µg/kg) a etomidátu (0,2 mg/kg). Anestezie byla udržována sevofluranem (1 – 1,5 MAC) a sufentanilem (0,4 – 0,8 µg/kg/hod.) během celé operace. Před zahájením MTO byl přidán midazolam (0,05 mg/kg). Po ukončení operace byli pacienti převezeni na kardiochirurgické pooperační oddělení intenzivní péče, kde byla ukončena infuze dexmedetomidinu nebo sufentanilu v nízké dávce.

### **3.5.3. Biochemická vyšetření**

Krevní vzorky pro biochemickou analýzu byly standardně odebírány po příjezdu pacientů z operačního sálu a v 6,00 hod. první pooperační den. Časový interval od ukončení ischemie myokardu do doby odběru vzorku ke stanovení kardiospecifických biomarkerů (CK-MB [mass], cTnI) jsme u každého pacienta dopočítali. Z jednotlivých hodnot cTnI jsme vypočítali plochu pod křivkou (AUC).

### **3.6. Statistické hodnocení**

Rozdíly v jednotlivých parametrech mezi skupinami jsme považovali za statisticky významné při  $p < 0,05$ . Ke statistickému zpracování a grafickému vyjádření výsledků jsme použili programové vybavení GraphPad Prism.

V experimentální části uvádíme naměřené hodnoty veličin jako průměrné hodnoty  $\pm$  střední chyby průměru. Echokardiografické parametry jsme porovnávali analýzou rozptylu (ANOVA) pro opakovaná měření; v případě, že ANOVA poskytla signifikantní výsledek, jsme následně použili Newmanovu-Keulsovu metodu vícenásobného porovnávání.

Počet předčasných komorových stahů (PVC) a počet epizod VT a VF jsme porovnávali Kruskalovým-Wallisovým testem s následným použitím Dunnova testu. Rozdíly v incidenci VT a VF jsme hodnotili Fisherovým exaktním testem. Ostatní normálně rozdělené veličiny jsme analyzovali jednofaktorovou ANOVA, event. ANOVA pro opakovaná měření; jestliže ANOVA poskytla signifikantní výsledek, použili jsme následně Newmanovu-Keulsovu metodu.

Zjištěné hodnoty veličin v klinické části uvádíme jako průměrné hodnoty  $\pm$  směrodatné odchylky; hodnoty nenormálně rozdělených veličin potom jako medián a kvartilové rozpětí. Pomocí Kolmogorovova-Smirnovova testu dobré shody jsme ověřili normální rozdělení hodnot. Pro porovnání normálně rozdělených veličin jsme použili nepárový Studentův  $t$ -test; veličiny s nenormálním rozdělením jsme porovnali Mannovým-Whitneyovým  $U$  testem. Kategoriální data jsme analyzovali Fisherovým exaktním testem.



## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Inhalační aplikace izofluranu

Odchylka mezi naměřenou a nastavenou koncentrací na odpařovači byla největší při nízkých průtocích nosné směsi plynů (< 1,5 l/min.) a při nízkých nastavených koncentracích izofluranu na odpařovači (0,75 %). Koncentrace izofluranu v komoře výrazně závisela na průtoku nosné směsi plynů a délce aplikace inhalačního anestetika; vyšší průtoky nosné směsi vedly k rychlejšímu zvyšování koncentrace izofluranu v komoře.

Vliv izofluranu na srdeční frekvenci a výměnu krevních plynů při spontánní ventilaci v komoře byl ověřen u vzorku 6 laboratorních potkanů; hodnoty naměřené po ukončení aplikace izofluranu byly: tepová frekvence  $402,8 \pm 8,2$  stah/min.;  $S_pO_2$   $94,3 \pm 0,5$  %; pH  $7,36 \pm 0,01$ ;  $p_aO_2$   $91,2 \pm 0,7$  mm Hg;  $p_aCO_2$   $43,9 \pm 0,4$  mm Hg.

### 4.2. Echokardiografická měření

Použité koncentrace izofluranu (1,5 – 3 %) významně neovlivnily tloušťku přední a zadní stěny levé komory ani relativní tloušťku stěny. Koncentrace izofluranu v rozmezí 1,5 – 2,5 % neměla vliv na EDD, ale při anestezii 3% koncentrací byl EDD významně větší než při nižších koncentracích; stejná závislost byla zaznamenána u ESD. Podobný vztah byl zachycen i pro EDV se vzestupem hodnot s rostoucí koncentrací izofluranu, ale významným rozdílem pouze u 3% koncentrace. Průměrné hodnoty srdeční frekvence ani FS levé komory se nelišily.

### 4.3. Ischemicko-reperfuční poškození myokardu

#### 4.3.1. Ischemické arytmie

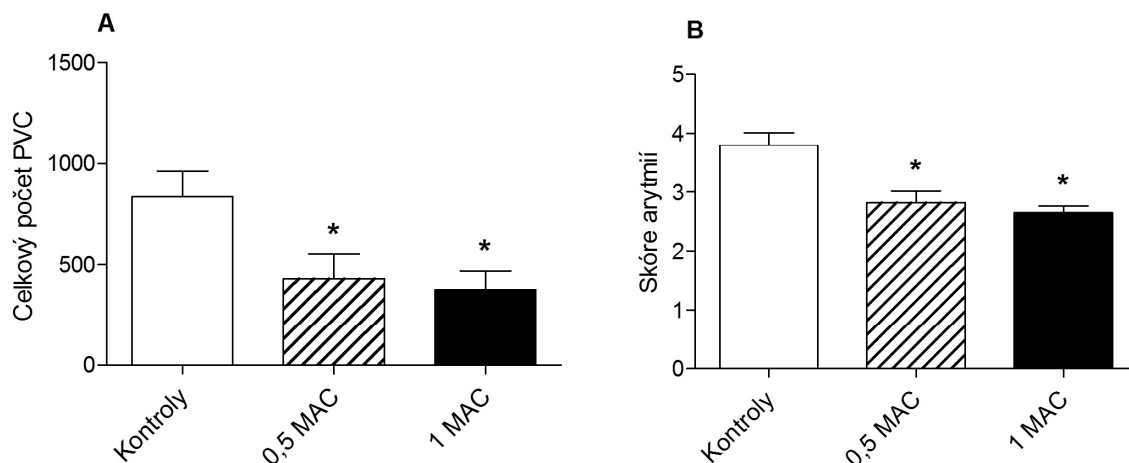
V preischemické fázi byl rytmus u všech srdcí pravidelný a bez arytmií. APC izofluranem v obou použitých koncentracích významně snížil celkový počet PVC (graf č. 1A), stejně jako počet salv a VT. APC významně snížil počet PVC vyskytujících se jako VT, spolu s počtem epizod a celkovým trváním VT; APC dále snížil incidenci reverzibilní i trvalé VF. Významný pokles arytmiického skóre představuje celkové potlačení komorových arytmií během regionální ischemie účinkem APC (graf č. 1B); APC také vedl k významnému opoždění výskytu prvního a mediánového PVC v průběhu ischemie.

#### 4.3.2. Reperfuční arytmie

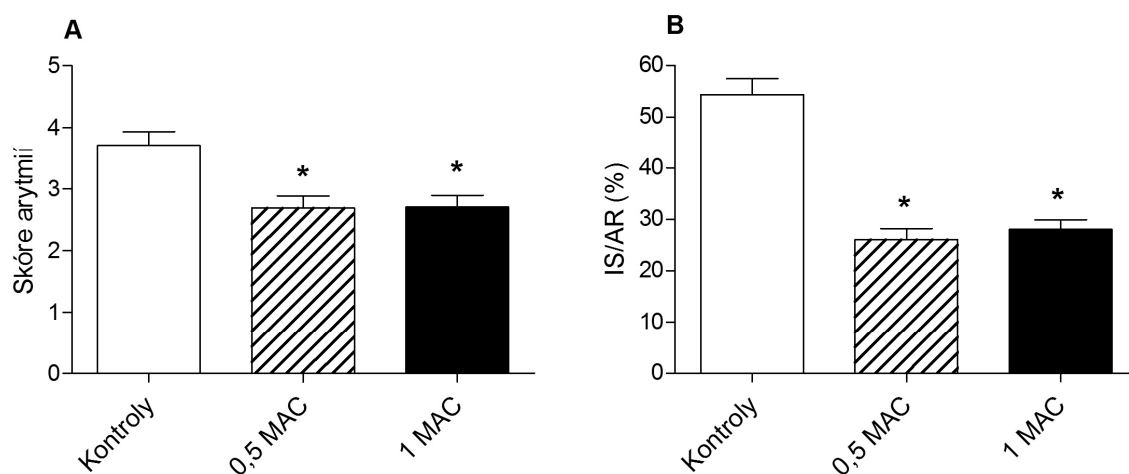
APC izofluranem významně snížil incidenci VT a reverzibilní VF; antiarytmický účinek pak představuje významný pokles arytmiického skóre v průběhu reperfúze (graf č. 2A).

#### 4.3.3. Velikost infarktu myokardu

Velikost oblasti ohrožené ischemií (AR) vztažená k velikosti levé komory (LV) se mezi skupinami nelišila. Velikost IS, vztažená k velikosti AR, byla významně menší u APC vyvolaného izofluranem (graf č. 2B), a to srovnatelně u obou použitých koncentrací.



**Graf č. 1.** Antiarytmický účinek APC izofluranem v průběhu 45minutové regionální ischemie. **A:** Celkový počet předčasných komorových stahů (PVC). **B:** Výsledné skóre arytmií. \*  $p < 0,05$  vs. kontroly.



**Graf č. 2.** **A:** Skóre arytmií po 60minutové reperfuzi. **B:** Velikost infarktové oblasti (IS) vztažená k velikosti oblasti ohrožené ischemií (AR). \*  $p < 0,05$  vs. kontroly.

#### 4.4. Klinická analýza

##### 4.4.1. Předoperační parametry a perioperační klinické údaje

Skupinu SEVO tvořilo 21 pacientů a skupinu KET-DEX 17 pacientů. Skupiny se významně nelišily v základních předoperačních parametrech ani chronické farmakoterapii kardiovaskulárního systému. Obě skupiny zahrnovaly pacienty s nízkým operačním rizikem, které bylo stanoveno skórovacím systémem EuroSCORE (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation)<sup>90</sup>, s maximální logistickou hodnotou 5,9 ve skupině KET-DEX a 6,3 ve skupině SEVO.

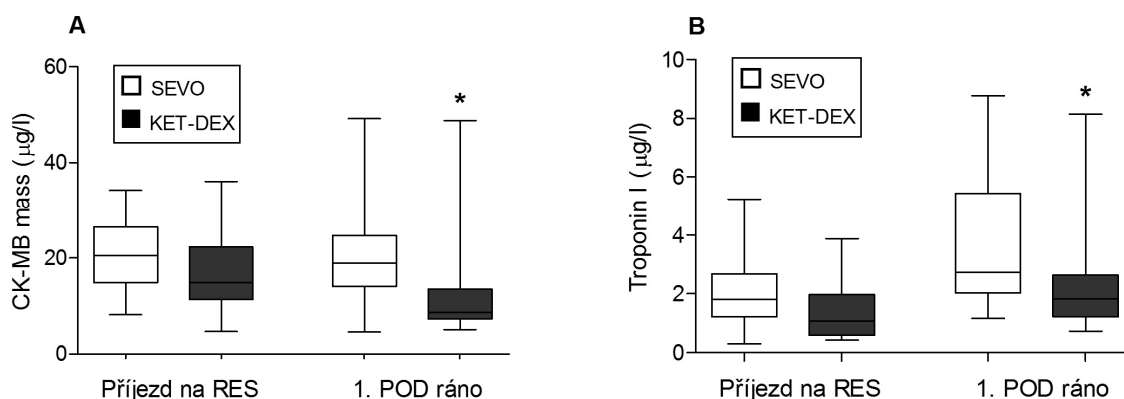
Počet aortokoronárních bypassů, trvání MTO ani doba naložení příčné aortální svorky se mezi skupinami nelišily, což platilo i pro frekvenci podání inotropních látek po MTO. Ve

skupině KET-DEX byla zaznamenána statisticky nevýznamně vyšší četnost použití nitroglycerinu při hypertenzi před MTO a kardiostimulace epikardiálními elektrodami při bradykardii po MTO.

Pacienti v obou skupinách byli hospitalizováni na pooperačním oddělení intenzivní péče převážně do dopoledne prvního pooperačního dne. Doba do odpojení od umělé plicní ventilace byla statisticky významně kratší u pacientů ve skupině KET-DEX. Počet pacientů, kteří vyžadovali po operaci farmakologickou podporu oběhu a kardiostimulaci, se mezi oběma skupinami významně nelišil. Výskyt fibrilace síní byl v obou skupinách srovnatelný. U žádného pacienta nebyla zaznamenána vážná komplikace a v průběhu 30 dnů po operaci žádný pacient nezemřel.

#### 4.4.2. Kardiospecifické biomarkery

Časový interval od ukončení ischemie myokardu do doby odběru krevního vzorku ke stanovení kardiospecifických biomarkerů se mezi KET-DEX a SEVO skupinou nelišil:  $114,2 \pm 15,4$  vs.  $122,3 \pm 16,8$  min. ( $p = 0,14$ ) pro odběr po příjezdu na pooperační oddělení intenzivní péče, a  $1140,0 \pm 47,2$  vs.  $1154,0 \pm 42,9$  min. ( $p = 0,33$ ) pro ranní odběr první pooperační den. Plazmatické koncentrace CK-MB (mass) se po příjezdu na pooperační oddělení intenzivní péče mezi skupinami nelišily, ale první pooperační den ráno byly u pacientů v KET-DEX skupině koncentrace CK-MB (mass) významně nižší (graf č. 3A). Analogická závislost byla zaznamenána pro průběh plazmatických koncentrací cTnI (graf č. 3B). Plocha pod křivkou koncentrace cTnI, vytvořená z obou hodnot cTnI, byla významně menší u pacientů ve skupině KET-DEX.



**Graf č. 3.** Plazmatické koncentrace kardiospecifických biomarkerů po příjezdu na pooperační oddělení (RES) a první pooperační den (POD) ráno u pacientů s anestézií sevofluran-sufentanil (SEVO) a ketamin-dexmedetomidin (KET-DEX). **A:** CK-MB (mass). **B:** Troponin I. Medián, kvartilové rozpětí, nejmenší a největší hodnota; \*  $p < 0,05$  vs. SEVO skupina.

## 5. DISKUZE

### 5.1. Experimentální část

#### 5.1.1. Inhalační aplikace izofluranu

V průběhu experimentů jsme používali vyšší průtok medicijního vzduchu ( $\geq 3$  l/min. v komoře a 2 l/min. u inhalačního nástavce) k zajištění minimální odchylky skutečných koncentrací na výstupu odpařovače od hodnot nastavených na ovladači. Aplikaci izofluranu jsme zahajovali vyšší koncentrací při větším průtoku medicijního vzduchu, protože koncentrace izofluranu v komoře výrazně závisí na průtoku vzduchu a délce aplikace.

V našich experimentech jsme využívali jako nosnou směs plynů medicijní vzduch ( $F_{I}O_2 = 0,21$ ) z těchto důvodů:

- v naší laboratoři jsou i jiné experimenty na laboratorních potkanech *in vivo* prováděny při umělé plicní ventilaci s  $F_{I}O_2 = 0,21$ <sup>91</sup>;
- chtěli jsme se vyhnout riziku hyperoxie, která má protektivní účinek na myokard potkana<sup>92</sup>;
- před vlastním experimentem jsme si ověřili, že hodnoty srdeční frekvence, saturace hemoglobinu kyslíkem, pH a krevních plynů, stanovené po aplikaci izofluranu při zachované spontánní ventilaci, se nacházely v normálním rozmezí pro laboratorního potkana<sup>93</sup>.

#### 5.1.2. Vliv izofluranu na echokardiografické parametry levé komory

Hlavním výsledkem našeho experimentu je zjištění, že při použití izofluranu v koncentraci  $\leq 2,5$  % ( $\sim 2$  MAC) k imobilizaci laboratorních potkanů, se základní anatomické a funkční echokardiografické parametry LV při transtorakálním vyšetření neliší. Vyšší koncentrace izofluranu významně ovlivňovaly rozměry LV na konci diastoly i systoly; nezaznamenali jsme ale změny srdeční frekvence ani systolické funkce LV.

Echokardiografické vyšetření je důležitou neinvazivní metodou k hodnocení srdeční anatomie a funkce u mnoha druhů malých laboratorních zvířat. Pro standardní vyšetření během krátkého časového intervalu je nezbytná úplná imobilizace zvířete, běžně zajišťovaná celkovými anestetiky. Intravenózní anestetika<sup>54</sup> i vyšší koncentrace inhalačních anestetik<sup>36</sup> ovlivňují hemodynamické parametry. Jediná studie, která porovnávala účinky různých koncentrací inhalačních anestetik izofluranu a sevofluranu na echokardiografické parametry, byla provedena u laboratorních myší<sup>94</sup>. Laboratorní potkani jsou považováni za vhodnější model pro lidská kardiovaskulární onemocnění než myši<sup>95</sup>. I přes vzájemnou podobnost obou modelů je mezi nimi řada výrazných anatomických, fyziologických, celulárních i genetických rozdílů. Domnívali jsme se proto, že je správné doplnit chybějící údaje u potkanů.

Nejčastěji používanými koncentracemi izofluranu v publikovaných studiích na potkanech byly 1,5 %<sup>96,97</sup> a 2 %<sup>98</sup>. Proto jsme pro náš experiment zvolili koncentrace v rozmezí 1,5 – 3,0 %. Základní výsledky jsou podobné závěrům studie provedené na myších<sup>94</sup>. Omezením našeho experimentu je skutečnost, že jsme nepoužili koncentrace izofluranu vyšší než 3 %, a proto nemůžeme vyloučit možnost, že by vedly k odlišným výsledkům. Absolutní rozdíly v rozměrech LV mezi 3% koncentrací a nižšími koncentracemi izofluranu, i přes svou statistickou významnost, byly relativně malé.

### **5.1.3. Experimentální model regionální ischemie a reperfuze myokardu**

Použili jsme standardizovaný model izolovaného perfundovaného srdce laboratorního potkana podle Langendorffa<sup>99</sup>. Na izolovaném perfundovaném srdci je možné navodit dva základní typy ischemie: i) globální a ii) regionální; ta se používá ke studiu ischemických a reperfučních komorových arytmií a velikosti vznikajícího IM.

Naši experimentální práci jsme zaměřili na vliv APC izofluranem na výskyt komorových arytmií během regionální ischemie a reperfuze myokardu. Velikost IM jsme stanovili po ukončení reperfuční fáze jako míru letálního poškození kardiomyocytů. V uspořádání našeho experimentu jsme využili kombinaci *in vivo* a *in vitro* přístupu.

### **5.1.4. Vliv preconditioningu izofluranem na komorové arytmie během regionální ischemie a reperfuze myokardu**

Nejdůležitějším výsledkem našeho experimentu je zjištění, že APC navozený izofluranem významně snižuje výskyt, závažnost a trvání komorových arytmií během regionální ischemie i následné reperfuze myokardu. Dalším účinkem APC byla změna v časovém rozdělení arytmií v průběhu ischemie, kdy došlo k významnému prodloužení časového intervalu do doby výskytu prvního a mediánového PVC.

IPC představuje významný ochranný faktor před komorovými arytmiemi, indukovanými ischemií<sup>23,24</sup> i reperfuzí myokardu<sup>25</sup>. V případě APC upozornily některé experimentální práce na možnost antiarytmického účinku ve smyslu menšího výskytu VF během reperfuze po globální ischemii<sup>39,100</sup>. První studie, která se primárně zabývala vlivem APC na arytmogenezi<sup>41</sup>, prokázala prodloužení intervalu do začátku komorových arytmií a pokles četnosti VF během reperfuze; studie ovšem nehodnotila arytmie během ischemické fáze. Z výše uvedených důvodů jsme naši experimentální práci zaměřili na vliv APC na výskyt komorových arytmií. V naší práci jsme nezachytili žádné rozdíly ve vlivu APC, navozeného odlišnými koncentracemi izofluranu (0,5 a 1 MAC), na arytmogenezi s jedinou výjimkou: vyšší koncentrace způsobila výraznější pokles výskytu reverzibilní i trvalé VF během ischemické fáze. Naproti tomu jiné studie prokázaly, že rozdílné koncentrace inhalačních anestetik mají různé účinky na subcelulární úrovni<sup>44</sup>, a že rozdíly v použité dávce izofluranu ovlivnily výslednou velikost IM<sup>101</sup>.

V případě APC existují velké rozdíly mezi používanými protokoly ve smyslu koncentrace a délky aplikace inhalačního anestetika i následného wash-out intervalu<sup>50</sup>; rozdíly jsou i v míře navozené ochrany myokardu a vlivu na různé subcelulární struktury<sup>44</sup>. My jsme k navození APC využili *in vivo* aplikaci izofluranu. Použili jsme relativně nízké koncentrace 0,5 a 1 MAC, které se v experimentálních studiích APC používají nejčastěji; bylo prokázáno, že již koncentrace 0,25 MAC izofluranu navodí preconditioning myokardu<sup>50</sup>. Navíc koncentrace  $\leq 1$  MAC významně neovlivňují hemodynamické parametry ani hodnoty krevních plynů<sup>102</sup>; to jsme si také ověřili před zahájením vlastní experimentální studie.

Při vzniku komorových arytmií během ischemie má důležitou roli vzestup vodivosti sarkolemy pro  $K^+$  po aktivaci  $K^+_{ATP}$  kanálů, což zkracuje trvání akčního potenciálu<sup>10</sup>;

důsledkem jsou rozdíly v repolarizaci a refrakternosti různých částí myokardu<sup>11</sup> s výslednou elektrofyziologickou heterogenitou mezi ischemickým a normálním myokardem<sup>12</sup>. Naše práce se nezabývala subcelulárními mechanismy, které jsou přímo odpovědné za potlačení ischemicko-reperfuzních arytmií vlivem APC. Je pravděpodobné, že tyto mechanismy budou podobné jako v případě studií s APC, které sledovaly otevření mitoK<sup>+</sup><sub>ATP</sub> a sarcK<sup>+</sup><sub>ATP</sub> kanálů, ovlivnění tvorby ROS v mitochondriích a změny v aktivitě různých proteinkináz<sup>45</sup>.

Podkladem reperfuzních komorových arytmií, které se objevují po reoxygenaci kardiomyocytů, je přetížení buněk ionty Ca<sup>2+</sup><sup>15</sup>. Četnost reperfuzních arytmií u potkana je ovlivněna také délkou předchozí ischemie. Protože naším cílem bylo detailní zhodnocení arytmií během ischemie, použili jsme delší trvání ischemické fáze (45 min.), a reperfuzní arytmie jsme hodnotili v prvních 15 min. reperfuze, kdy je jejich četnost nejvyšší. Ochrana myokardu vyvolaná APC má dvě fáze: časnou a pozdní. Celý experiment u jednoho zvířete představoval téměř 3 hod.; naše výsledky odrážejí antiarytmické účinky časné fáze APC. V naší práci jsme použili samce laboratorního potkana; vzhledem k prokázaným pohlavním rozdílům v citlivosti srdečního svalu k ischemii<sup>103</sup> by mohl být protektivní účinek APC na ischemicko-reperfuzní arytmie u samic jiný.

### **5.1.5. Vliv preconditioningu izofluranem na velikost infarktu myokardu**

Naše výsledky potvrdily závěry studií na různých experimentálních modelech<sup>37,50,100</sup>, že APC navozený inhalačními anestetiky významně zmenšuje velikost IM, který vyjadřuje míru letálního poškození kardiomyocytů ischemicko-reperfuzním poškozením.

Použili jsme srdce laboratorních potkanů, které má minimální kolaterální krevní zásobení<sup>104</sup>. Velikost ohrožené oblasti myokardu při okluzi koronární tepny vztažená k velikosti LV se s průměrnými hodnotami 40 – 45 % mezi jednotlivými skupinami v našem experimentu nelišila; ischemický inzult byl u všech zvířat srovnatelný. APC navozený izofluranem zmenšil velikost IM vztaženou k velikosti ohrožené oblasti na polovinu. V *in vivo* experimentu u potkanů vedl APC izofluranem v koncentraci 1,75 MAC také k poloviční velikosti IM, ale nižší koncentrace izofluranu zmenšovaly velikost IM více (0,4 MAC na třetinu ohrožené oblasti)<sup>44</sup>. V naší práci jsme rozdíl ve výsledné velikosti IM mezi oběma koncentracemi izofluranu (0,5 a 1 MAC), použitými k navození APC, nezaznamenali.

## **5.2. Klinická část**

Hlavním výsledkem klinické retrospektivní analýzy je zjištění, že celková anestezie, založená na kombinaci intravenózního anestetika a centrálního agonisty  $\alpha_2$ -adrenergních receptorů (ketamin – dexmedetomidin) u pacientů s nízkým operačním rizikem, vedla k nižším plazmatickým koncentracím cTnI a CK-MB první pooperační den po CABG v porovnání s anestézií, založenou na kombinaci inhalačního anestetika a silného opioidu (sevofluran – sufentanil). Dalším původním zjištěním bylo menší celkové uvolněné množství cTnI, vyjádřené jako plocha pod křivkou koncentrace měřené ve dvou různých časových okamžicích. Časné klinické známky ischemicko-reperfuzního poškození myokardu se mezi

oběma skupinami významně nelišily. Časný pooperační klinický průběh se mezi oběma skupinami také významně nelišil; výjimkou byla o něco časnější extubace u pacientů s TIVA založenou na kombinaci ketamin – dexmedetomidin.

První klinická studie, která popsala APC navozený izofluranem u CABG operací, prokázala nižší pooperační koncentrace cTnI a CK-MB<sup>71</sup>. V meta-analýze, která zahrnuje 2841 pacientů podstupujících CABG, vedla aplikace sevofluranu nebo desfluranu k významně nižším pooperačním koncentracím cTnI<sup>105</sup>. Oproti tomu prospektivní randomizovaná klinická studie neprokázala rozdíl v pooperačních hodnotách cTnI po CABG mezi anestézií založenou na kombinaci izofluran – opioid a TIVA založenou na kombinaci propofol – opioid<sup>84</sup>.

Ketamin se příliš často u kardiologických výkonů nepoužívá; důvodem jsou dominující centrální sympatomimetické účinky, které převažují nad jeho přímým negativně inotropním účinkem<sup>56</sup>. S-(+)-ketamin, podávaný během CABG jako součást TIVA namísto sufentanilu, významně snížil koncentrace prozánětlivých cytokinů<sup>106</sup> a vedl k srovnatelným koncentracím cTnI<sup>107</sup>. V naší práci jsme používali racemickou směs ketaminu, která podle některých autorů blokuje IPC *in vivo*<sup>63</sup>; jiné práce ale prokázaly, že racemická směs i S-(+)-ketamin navozují preconditioning lidských myokardiálních buněk *in vitro* aktivací K<sup>+</sup><sub>ATP</sub> kanálů a stimulací  $\alpha$ - a  $\beta$ -adrenergických receptorů<sup>65</sup>. Dexmedetomidin centrálně snižuje aktivitu sympatického vegetativního nervového systému, čímž omezuje kardiostimulační účinky ketaminu<sup>108</sup>; současně potlačuje stresovou reakci organismu na kardiologický zákrok<sup>81</sup>. Navíc má silné analgetické<sup>57</sup> a anestetické<sup>58</sup> účinky. Výše uvedené údaje potvrzují, že ve zmenšení ischemicko-reperfučního poškození myokardu během CABG může hrát důležitou roli dexmedetomidin i ketamin. Příčinou nižších koncentrací kardiologických biomarkerů v naší analýze byl s největší pravděpodobností dexmedetomidin nebo kombinace ketamin – dexmedetomidin, spíše než samotný ketamin.

Časně klinické známky myokardiálního poškození, např. použití farmakologické inotropní nebo vasopresorické podpory apod., se mezi oběma skupinami pacientů významně nelišily. V případě TIVA jsme zaznamenali vyšší výskyt hypertenze a bradykardie po úvodu do celkové anestezie. Příčinou srovnatelných hodnot peroperačních i pooperačních klinických parametrů bylo s největší pravděpodobností nízké operační riziko všech pacientů. Jedinou výjimkou představovala doba od příjezdu z operačního sálu do extubace, která byla kratší v případě TIVA kombinací ketamin – dexmedetomidin.

Při interpretaci výsledků klinické části je nezbytné pamatovat na některá omezení naší analýzy, především její retrospektivní charakter a relativně malý počet pacientů. Z důvodu malého počtu pacientů jsme z analýzy nevyloučili nemocné s diabetem léčené deriváty sulfonylurey, podobně jako jiní autoři<sup>84</sup>. Naopak pacienty s významnější renální dysfunkcí jsme do analýzy nezařadili pro její vliv na eliminaci troponinů<sup>109</sup>. Z pohledu medicíny založené na důkazech (evidence-based medicine) je nezbytné mít na zřeteli omezení významu retrospektivních studií<sup>110</sup>. Z uvedeného vyplývá nezbytnost potvrdit naše výsledky v prospektivní randomizované studii. Ta by měla v ideálním případě detailně sledovat nejenom kardiologické biomarkery, ale zároveň i echokardiografické a klinické parametry.

## 6. ZÁVĚRY

1. Zjistili jsme, že při použití izofluranu k imobilizaci laboratorních potkanů v koncentraci  $\leq 2,5$  % ( $\sim 2$  MAC) se základní anatomické a funkční echokardiografické parametry levé komory při transtorakálním vyšetření neliší. Anestezie navozená 3% koncentrací izofluranu již významně ovlivňuje rozměry levé komory na konci diastoly i systoly. Změny srdeční frekvence ani systolické funkce, vyjádřené jako frakční zkrácení, jsme nepozorovali. Naše výsledky jsou srovnatelné s obdobnými experimenty u myší.

2. Preconditioning myokardu, navozený inhalačním anestetikem izofluranem:

a) Má během regionální ischemie myokardu silný antiarytmický účinek: významně se snížila četnost a závažnost komorových arytmií, a současně se prodloužil časový interval do doby výskytu prvního předčasného komorového komplexu.

b) Má také antiarytmický efekt během reperfuze, následující po regionální ischemii myokardu: významně se snížila četnost komorové tachykardie a reverzibilní fibrilace komor.

c) Snížil míru letálního poškození kardiomyocytů, vyvolaného ischemicko-reperfučním poškozením: významně se zmenšila velikost infarktu myokardu.

3. Zjistili jsme, že u pacientů, podstupujících chirurgickou revaskularizaci myokardu s použitím mimotělního oběhu, ovlivňují použitá anestetika biochemické parametry odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku.

Celková anestezie, založená na kombinaci intravenózního anestetika a centrálního agonisty  $\alpha_2$ -adrenergických receptorů (ketamin – dexmedetomidin), vedla první pooperační den k významně nižším plazmatickým koncentracím kardioprotektivních biomarkerů než anestezie založená na kombinaci inhalačního anestetika se silným opioidem (sevofluran – sufentanil); podobně celkové uvolněné množství troponinu I bylo významně menší v případě celkové intravenózní anestezie.



## 7. POUŽITÁ LITERATURA

1. Weiser TG, Regenbogen SE, Thompson KD *et al.* An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. *Lancet* 2008;372:139-144.
2. Lindenauer PK, Pekow P, Wang K *et al.* Perioperative  $\beta$ -blocker therapy and mortality after major noncardiac surgery. *N Engl J Med* 2005;353:349-361.
3. Fleisher LA, Eagle KA, Shaffer T *et al.* Perioperative- and long-term mortality rates after major vascular surgery: the relationship to preoperative testing in the medicare population. *Anesth Analg* 1999;89:849-855.
4. Lee TH, Marcantonio ER, Mangione CM *et al.* Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery. *Circulation* 1999;100:1043-1049.
5. Pirracchio R, Cholley B, De Hert S *et al.* Diastolic heart failure in anaesthesia and critical care. *Br J Anaesth* 2007;98:707-721.
6. Jennings RB, Reimer KA. Lethal myocardial ischemic injury. *Am J Pathol* 1981;102:241-255.
7. Kloner RA, Bolli R, Marban E *et al.* Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. *Circulation* 1998;97:1848-1867.
8. Buja LM. Myocardial ischemia and reperfusion injury. *Cardiovasc Pathol* 2005;14:170-175.
9. Gustafsson AB, Gottlieb RA. Mechanisms of apoptosis in the heart. *J Clin Immunol* 2003;23:447-459.
10. Deutsch N, Klitzner TS, Lamp ST *et al.* Activation of cardiac ATP-sensitive K<sup>+</sup> current during hypoxia: correlation with tissue ATP levels. *Am J Physiol* 1991;261:H671-676.
11. Kupersmith J, Li ZY, Maldonado C. Marked action potential prolongation as a source of injury current leading to border zone arrhythmogenesis. *Am Heart J* 1994;127:1543-1553.
12. Rubart M, Zipes DP. Mechanisms of sudden cardiac death. *J Clin Invest* 2005;115:2305-2315.
13. Monassier JP. Reperfusion injury in acute myocardial infarction: from bench to cath lab. Part II: Clinical issues and therapeutic options. *Archives of cardiovascular diseases* 2008;101:565-575.
14. Overgaard CB, Dzavik V. Inotropes and vasopressors: review of physiology and clinical use in cardiovascular disease. *Circulation* 2008;118:1047-1056.
15. Garcia-Rivas Gde J, Carvajal K, Correa F *et al.* Ru360, a specific mitochondrial calcium uptake inhibitor, improves cardiac post-ischaemic functional recovery in rats in vivo. *Br J Pharmacol* 2006;149:829-837.

16. Crompton M, Costi A, Hayat L. Evidence for the presence of a reversible Ca<sup>2+</sup>-dependent pore activated by oxidative stress in heart mitochondria. *Biochem J* 1987;245:915-918.
17. Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004;61:372-385.
18. Gross GJ, Auchampach JA. Reperfusion injury: does it exist? *J Mol Cell Cardiol* 2007;42:12-18.
19. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-2538.
20. Buckberg GD. Update on current techniques of myocardial protection. *Ann Thorac Surg* 1995;60:805-814.
21. Ovrum E, Tangen G, Tollofsrud S *et al.* Cold blood versus cold crystalloid cardioplegia: a prospective randomised study of 345 aortic valve patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010;38:745-749.
22. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-1136.
23. Kolář F, Parratt JR. Antiarrhythmic effect of ischemic preconditioning in hearts of spontaneously hypertensive rats. *Exp Clin Cardiol* 1997;2:124-127.
24. Ravingerová T, Matejíková J, Pancza D *et al.* Reduced susceptibility to ischemia-induced arrhythmias in the preconditioned rat heart is independent of PI3-kinase/Akt. *Physiol Res* 2009;58:443-447.
25. Hagar JM, Hale SL, Kloner RA. Effect of preconditioning ischemia on reperfusion arrhythmias after coronary artery occlusion and reperfusion in the rat. *Circ Res* 1991;68:61-68.
26. Marber MS, Latchman DS, Walker JM *et al.* Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993;88:1264-1272.
27. Grover GJ, Garlid KD. ATP-Sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32:677-695.
28. Huffmyer J, Raphael J. Physiology and pharmacology of myocardial preconditioning and postconditioning. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;13:5-18.
29. Rezkalla SH, Kloner RA. Ischemic preconditioning and preinfarction angina in the clinical arena. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2004;1:96-102.
30. Ošťádal B. The past, the present and the future of experimental research on myocardial ischemia and protection. *Pharmacol Rep* 2009;61:3-12.

31. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME *et al.* Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H579-588.
32. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY *et al.* Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004;62:74-85.
33. Dow J, Bhandari A, Kloner RA. The mechanism by which ischemic postconditioning reduces reperfusion arrhythmias in rats remains elusive. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2009;14:99-103.
34. Staat P, Rioufol G, Piot C *et al.* Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005;112:2143-2148.
35. Okamoto F, Allen BS, Buckberg GD *et al.* Reperfusion conditions: importance of ensuring gentle versus sudden reperfusion during relief of coronary occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;92:613-620.
36. Preckel B, Bolten J. Pharmacology of modern volatile anaesthetics. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2005;19:331-348.
37. Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS *et al.* Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K<sup>+</sup><sub>ATP</sub> channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology* 1997;87:361-370.
38. Cope DK, Impastato WK, Cohen MV *et al.* Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 1997;86:699-709.
39. Novalija E, Fujita S, Kampine JP *et al.* Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology* 1999;91:701-712.
40. Coetzee JF, Le Roux PJ, Genade S *et al.* Reduction of postischemic contractile dysfunction of the isolated rat heart by sevoflurane: comparison with halothane. *Anesth Analg* 2000;90:1089-1097.
41. Kevin LG, Novalija E. Anesthetic preconditioning decreases arrhythmias and improves regional conduction in isolated hearts. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2008;22:217-224.
42. Cason BA, Gamperl AK, Slocum RE *et al.* Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology* 1997;87:1182-1190.
43. Toma O, Weber NC, Wolter JJ *et al.* Desflurane preconditioning induces time-dependent activation of protein kinase C epsilon and extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 in the rat heart in vivo. *Anesthesiology* 2004;101:1372-1380.
44. Obal D, Weber NC, Zacharowski K *et al.* Role of protein kinase C-ε (PKC-ε) in isoflurane-induced cardioprotection. *Br J Anaesth* 2005;94:166-173.

45. Stadnicka A, Marinovic J, Ljubkovic M *et al.* Volatile anesthetic-induced cardiac preconditioning. *J Anesth* 2007;21:212-219.
46. Ismaeil MS, Tkachenko I, Gamperl AK *et al.* Mechanisms of isoflurane-induced myocardial preconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 1999;90:812-821.
47. Piriou V, Chiari P, Knezynski S *et al.* Prevention of isoflurane-induced preconditioning by 5-hydroxydecanoate and gadolinium: possible involvement of mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium and stretch-activated channels. *Anesthesiology* 2000;93:756-764.
48. Roscoe AK, Christensen JD, Lynch C, 3rd. Isoflurane, but not halothane, induces protection of human myocardium via adenosine A1 receptors and adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology* 2000;92:1692-1701.
49. Hanouz JL, Yvon A, Massetti M *et al.* Mechanisms of desflurane-induced preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesthesiology* 2002;97:33-41.
50. Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B *et al.* Is isoflurane-induced preconditioning dose related? *Anesthesiology* 2002;96:675-680.
51. Obal D, Dettwiler S, Favoccia C *et al.* The influence of mitochondrial K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo. *Anesth Analg* 2005;101:1252-1260.
52. Schlack W, Hollmann M, Stunneck J *et al.* Effect of halothane on myocardial reoxygenation injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 1996;76:860-867.
53. Siegmund B, Schlack W, Ladilov YV *et al.* Halothane protects cardiomyocytes against reoxygenation-induced hypercontracture. *Circulation* 1997;96:4372-4379.
54. Aitkenhead AR. Intravenous anaesthetic agents. In: Aitkenhead AR, Smith G, Rowbotham DJ, eds. Textbook of anaesthesia. 5. vyd. Edinburgh: Churchill Livingstone Elsevier, 2007:34-51.
55. Smith TC. Hypnotics and intravenous anaesthetic agents. In: Smith T, Pinnock C, Lin T, eds. Fundamentals of anaesthesia. 3. vyd. Cambridge: Cambridge University Press, 2009:569-583.
56. White PF, Way WL, Trevor AJ. Ketamine—its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology* 1982;56:119-136.
57. Jaakola ML, Salonen M, Lehtinen R *et al.* The analgesic action of dexmedetomidine—a novel  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist—in healthy volunteers. *Pain* 1991;46:281-285.
58. Ramsay MA, Luterman DL. Dexmedetomidine as a total intravenous anesthetic agent. *Anesthesiology* 2004;101:787-790.

59. Galagudza M, Vaage J, Valen G. Isoflurane and other commonly used anaesthetics do not protect the isolated buffer perfused mouse heart from ischemia-reperfusion injury. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33:315-319.
60. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR *et al.* Differential effects of anesthetics on mitochondrial  $K^+_{ATP}$  channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002;97:15-23.
61. Sztark F, Ichas F, Ouhabi R *et al.* Effects of the anaesthetic propofol on the calcium-induced permeability transition of rat heart mitochondria: direct pore inhibition and shift of the gating potential. *FEBS Lett* 1995;368:101-104.
62. Kokita N, Hara A, Abiko Y *et al.* Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts. *Anesth Analg* 1998;86:252-258.
63. Mullenheim J, Frassdorf J, Preckel B *et al.* Ketamine, but not S(+)-ketamine, blocks ischemic preconditioning in rabbit hearts in vivo. *Anesthesiology* 2001;94:630-636.
64. Mullenheim J, Rulands R, Wietschorke T *et al.* Late preconditioning is blocked by racemic ketamine, but not by S(+)-ketamine. *Anesth Analg* 2001;93:265-270.
65. Hanouz JL, Zhu L, Persehaye E *et al.* Ketamine preconditions isolated human right atrial myocardium: roles of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and adrenoceptors. *Anesthesiology* 2005;102:1190-1196.
66. Romano MA, Seymour EM, Berry JA *et al.* Relative contribution of endogenous opioids to myocardial ischemic tolerance. *J Surg Res* 2004;118:32-37.
67. Patel HH, Ludwig LM, Fryer RM *et al.* Delta opioid agonists and volatile anesthetics facilitate cardioprotection via potentiation of  $K^+_{ATP}$  channel opening. *FASEB J* 2002;16:1468-1470.
68. Bell SP, Sack MN, Patel A *et al.* Delta opioid receptor stimulation mimics ischemic preconditioning in human heart muscle. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:2296-2302.
69. Mangano DT. Biventricular function after myocardial revascularization in humans: deterioration and recovery patterns during the first 24 hours. *Anesthesiology* 1985;62:571-577.
70. Lasocki S, Provenchere S, Benessiano J *et al.* Cardiac troponin I is an independent predictor of in-hospital death after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2002;97:405-411.
71. Belhomme D, Peynet J, Louzy M *et al.* Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999;100:II340-344.
72. Lee MC, Chen CH, Kuo MC *et al.* Isoflurane preconditioning-induced cardio-protection in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Eur J Anaesthesiol* 2006;23:841-847.

73. Meco M, Cirri S, Gallazzi C *et al.* Desflurane preconditioning in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, randomised and placebo-controlled study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007;32:319-325.
74. Haroun-Bizri S, Khoury SS, Chehab IR *et al.* Does isoflurane optimize myocardial protection during cardiopulmonary bypass? *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2001;15:418-421.
75. Fellahi JL, Gue X, Philippe E *et al.* Isoflurane may not influence postoperative cardiac troponin I release and clinical outcome in adult cardiac surgery. *Eur J Anaesthesiol* 2004;21:688-693.
76. Piriou V, Mantz J, Goldfarb G *et al.* Sevoflurane preconditioning at 1 MAC only provides limited protection in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a randomized bi-centre trial. *Br J Anaesth* 2007;99:624-631.
77. Bein B, Renner J, Caliebe D *et al.* The effects of interrupted or continuous administration of sevoflurane on preconditioning before cardio-pulmonary bypass in coronary artery surgery: comparison with continuous propofol. *Anaesthesia* 2008;63:1046-1055.
78. Xia Z, Huang Z, Ansley DM. Large-dose propofol during cardiopulmonary bypass decreases biochemical markers of myocardial injury in coronary surgery patients: a comparison with isoflurane. *Anesth Analg* 2006;103:527-532.
79. De Hert SG, Ten Broecke PW, Mertens E *et al.* Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function in coronary surgery patients. *Anesthesiology* 2002;97:42-49.
80. Murphy GS, Szokol JW, Marymont JH *et al.* Opioids and cardioprotection: the impact of morphine and fentanyl on recovery of ventricular function after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2006;20:493-502.
81. Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A *et al.* Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 1997;86:331-345.
82. Slogoff S, Keats AS. Randomized trial of primary anesthetic agents on outcome of coronary artery bypass operations. *Anesthesiology* 1989;70:179-188.
83. Tuman KJ, Mccarthy RJ, Spiess BD *et al.* Does choice of anesthetic agent significantly affect outcome after coronary artery surgery? *Anesthesiology* 1989;70:189-198.
84. Flier S, Post J, Concepcion AN *et al.* Influence of propofol-opioid vs isoflurane-opioid anaesthesia on postoperative troponin release in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Br J Anaesth* 2010;105:122-130.
85. Zangrillo A, Testa V, Aldrovandi V *et al.* Volatile agents for cardiac protection in noncardiac surgery: a randomized controlled study. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011;25:902-907.
86. Rampil IJ, Laster MJ, Eger EI 2nd. Antagonism of the 5-HT<sub>3</sub> receptor does not alter isoflurane MAC in rats. *Anesthesiology* 2001;95:562-564.

87. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ *et al.* The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1988;22:447-455.
88. Neckář J, Papoušek F, Nováková O *et al.* Cardioprotective effects of chronic hypoxia and ischaemic preconditioning are not additive. *Basic Res Cardiol* 2002;97:161-167.
89. Csonka C, Kupai K, Kocsis GF *et al.* Measurement of myocardial infarct size in preclinical studies. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2010;61:163-170.
90. Nashef SA, Roques F, Michel P *et al.* European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;16:9-13.
91. Neckář J, Ošťádal B, Kolář F. Myocardial infarct size-limiting effect of chronic hypoxia persists for five weeks of normoxic recovery. *Physiol Res* 2004;53:621-628.
92. Colantuono G, Tiravanti EA, Di Venosa N *et al.* Hyperoxia confers myocardial protection in mechanically ventilated rats through the generation of free radicals and opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008;35:64-71.
93. Gross DR. Animal models in cardiovascular research. 2. revidované vyd. Dordrecht; Boston: Kluwer Academic Publishers, 1994.
94. Gentry-Smetana S, Redford D, Moore D *et al.* Direct effects of volatile anesthetics on cardiac function. *Perfusion* 2008;23:43-47.
95. Abbott A. Laboratory animals: the Renaissance rat. *Nature* 2004;428:464-466.
96. Plante E, Lachance D, Roussel E *et al.* Impact of anesthesia on echocardiographic evaluation of systolic and diastolic function in rats. *J Am Soc Echocardiogr* 2006;19:1520-1525.
97. Stein AB, Tiwari S, Thomas P *et al.* Effects of anesthesia on echocardiographic assessment of left ventricular structure and function in rats. *Basic Res Cardiol* 2007;102:28-41.
98. Liu J, Rigel DF. Echocardiographic examination in rats and mice. *Methods Mol Biol* 2009;573:139-155.
99. Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2011;50:940-950.
100. Kevin LG, Katz P, Camara AK *et al.* Anesthetic preconditioning: effects on latency to ischemic injury in isolated hearts. *Anesthesiology* 2003;99:385-391.
101. Hu ZY, Luo NF, Liu J. The protective effects of emulsified isoflurane on myocardial ischemia and reperfusion injury in rats. *Can J Anaesth* 2009;56:115-125.
102. Eger EI 2nd. Isoflurane: a review. *Anesthesiology* 1981;55:559-576.

103. Ošťádal B, Netuka I, Malý J *et al.* Gender differences in cardiac ischemic injury and protection—experimental aspects. *Exp Biol Med* 2009;234:1011-1019.
104. Philipp S, Cohen MV, Downey JM. Animal models for the study of myocardial protection against ischemia. *Drug Discovery Today: Disease Models* 2005;2:219-225.
105. Yu CH, Beattie WS. The effects of volatile anesthetics on cardiac ischemic complications and mortality in CABG: a meta-analysis. *Can J Anaesth* 2006;53:906-918.
106. Welters ID, Feurer MK, Preiss V *et al.* Continuous S-(+)-ketamine administration during elective coronary artery bypass graft surgery attenuates pro-inflammatory cytokine response during and after cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth* 2011;106:172-179.
107. Neuhauser C, Preiss V, Feurer MK *et al.* Comparison of S-(+)-ketamine- with sufentanil-based anaesthesia for elective coronary artery bypass graft surgery: effect on troponin T levels. *Br J Anaesth* 2008;100:765-771.
108. Levanen J, Makela ML, Scheinin H. Dexmedetomidine premedication attenuates ketamine-induced cardiostimulatory effects and postanesthetic delirium. *Anesthesiology* 1995;82:1117-1125.
109. Wiessner R, Hannemann-Pohl K, Ziebig R *et al.* Impact of kidney function on plasma troponin concentrations after coronary artery bypass grafting. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:231-238.
110. Koop PM, Strang V. Prospective and retrospective research: considerations and questions. *Can Oncol Nurs J* 2002;12:142-145.



## 8. PUBLIKACE DOKTORANDA

### 8.1. Publikace *in extenso* se vztahem k tématu disertační práce

#### a) s impact faktorem (IF)

**Říha H**, Papoušek F, Neckář J, Pirk J, Ošťádal B. Effects of isoflurane concentration on basic echocardiographic parameters of the left ventricle in rats. *Physiol Res* 2012;61:v tisku.

**IF 1,646 (2010)**

**Říha H**, Kotulák T, Březina A, Hess L, Kramář P, Szárszoi O, Netuka I, Pirk J. Comparison of the effects of ketamine-dexmedetomidine and sevoflurane-sufentanil anesthesia on cardiac biomarkers after cardiac surgery: an observational study. *Physiol Res* 2012;61:63-72.

**IF 1,646 (2010)**

**Říha H**, Neckář J, Papoušek F, Netuka I, Pirk J, Kolář F, Ošťádal B. Suppression of ischemic and reperfusion ventricular arrhythmias by inhalational anesthetic-induced preconditioning in the rat heart. *Physiol Res* 2011;60:709-714. **IF 1,646 (2010)**

Březina A, Drábek T, **Říha H**, Schreiberová J, Hess L. The effect of medetomidine-ketamine anesthesia on hemodynamic parameters during hemorrhagic shock in minipigs. *Physiol Res* 2010;59:703-710. **IF 1,646 (2010)**

Ramakrishna H, Fassl J, Sinha A, Patel P, **Říha H**, Andritsos M, Chung I, Augoustides JG. The year in cardiothoracic and vascular anesthesia: selected highlights from 2009.

*J Cardiothorac Vasc Anesth* 2010;24:7-17. **IF 1,596 (2010)**

(přehledový článek; část o perioperační ochraně myokardu)

Netuka I, Szárszoi O, Malý J, **Říha H**, Turek D, Ošťádalová I, Ošťádal B. Late effect of early hypoxic disturbance in the rat heart: gender differences. *Physiol Res* 2010;59:127-131.

**IF 1,646 (2010)**

#### b) bez IF

**Říha H**, Kotulák T, Březina A, Hess L, Ošťádal B, Pirk J. Kardioprotektivní účinky inhalačních a intravenózních anestetik. *Cor Vasa* 2011;53:683-692.

(přehledový článek)

**Říha H**, Patel P, Valentine E, Lane B, Augoustides JG. Major themes for 2011 in cardiovascular anesthesia and intensive care. *HSR Proceedings in Intensive Care and Cardiovascular Anesthesia* 2012;4:31-39.

(přehledový článek; část o vlivu inhalačních anestetik na mortalitu v kardiochirurgii)

Fassl J, **Říha H**, Ramakrishna H, Singh N, Wyckoff T, Roscher C, Augoustides JG. Major themes for 2009 in cardiothoracic and vascular anesthesia. *HSR Proceedings in Intensive Care and Cardiovascular Anesthesia* 2010;2:81-91.

(přehledový článek; část o perioperační ochraně myokardu)

## 8.2. Publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertační práce

### a) s IF

Patel PA, Ramakrishna H, Andritsos M, Wyckoff T, **Říha H**, Augoustides JG. The year in cardiothoracic and vascular anesthesia: selected highlights from 2011. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2012;26:3-10. **IF 1,596 (2010)**

Kettner J, Dorazilová Z, Netuka I, Malý J, Al-Hiti H, Melenovský V, Skalský I, **Říha H**, Málek I, Kautzner J, Pirk J. Is severe pulmonary hypertension a contraindication for orthotopic heart transplantation? Not any more. *Physiol Res* 2011;60:769-775.

**IF 1,646 (2010)**

Kotulák T, Drápalová J, Kopecký P, Lacinová Z, Kramář P, **Říha H**, Netuka I, Malý J, Housa D, Bláha J, Svačina Š, Haluzík M. Increased circulating and epicardial adipose tissue mRNA expression of fibroblast growth factor-21 after cardiac surgery: possible role in postoperative inflammatory response and insulin resistance. *Physiol Res* 2011;60:757-767. **IF 1,646 (2010)**

**Říha H**, Augoustides JG. Pro: methylene blue as a rescue therapy for vasoplegia after cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011;25:736-738. **IF 1,596 (2010)**

Netuka I, Szárszoi O, Malý J, Adamíra M, Turek D, Bešík J, Urban M, **Říha H**, Kotulák T, Pirk J. Comprehensive management of severe intestinal bleeding in a patient supported for 94 days by the biventricular Levitronix CentriMag system. *Heart Surg Forum* 2010;13:E409-E410. **IF 0,435 (2010)**

Augoustides JG, **Říha H**. Recent progress in heart failure treatment and heart transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;23:738-748. **IF 1,062 (2009)**

Netuka I, Malý J, Szárszoi O, Skalský I, **Říha H**, Kotulák T, Novotný J, Hulman M, Pirk J. Single-stage extensive chronic type A dissecting aortic aneurysm repair and continuous-flow ventricular assist device implantation. *J Heart Lung Transplant* 2009;28:523-526.

**IF 3,541 (2009)**

**Říha H**, Hubáček JA, Poledne R, Kellovský P, Březina A, Pirk J. IL-10 and TNF- $\beta$  gene polymorphisms have no major influence on lactate levels after cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;30:54-58. **IF 2,106 (2006)**

**b) bez IF**

Hájek R, Adámek P, Derych L, Horáček M, Jehlička P, Kameník V, Leitgeb M, Mokrejš J, **Říha H**, Samek J, Schichel T, Turek Z, Vaněk T. Kardiorelax 2011 - pětidenní dotazníková studie svalové relaxace během kardiochirurgických výkonů v České republice. *Anest Intenziv Med* 2012;23:14-20.

**Říha H**, Kotulák T, Netuka I, Pind'ák M, Kramář P, Syrovátka P, Kellovský P, Říhová L, Malý J, Szárszoi O, Turek D, Kettner J, Pirk J. Intenzivní péče o pacienty po implantaci mechanických srdečních podpor. *Cor Vasa* 2011;53:94-98.

Netuka I, Malý J, **Říha H**, Szárszoi O, Dorazilová Z, Skalský I, Turek D, Urban M, Kettner J, Pirk J. Přínos dlouhodobé pulzatilní mechanické srdeční podpory u multiorgánově selhávajících pacientů v terminálním srdečním selhání. *Čas Lék Česk* 2011;150:44-48.

Netuka I, Malý J, Szárszoi O, **Říha H**, Turek D, Urban M, Skalský I, Kotulák T, Dorazilová Z, Pirk J. Technika implantace a zkušenosti s dočasnou mechanickou srdeční podporou při selhání pravé komory. *Rozhl Chir* 2011;90:88-94.

Kotulák T, **Říha H**, Haluzík M. Hyperglykémie a její kontrola u dospělých pacientů v intenzivní péči. *Čas Lék Česk* 2011;150:20-23.

**Říha H**, Netuka I, Kotulák T, Malý J, Pind'ák M, Sedláček J, Lomová J. Anesthesia management of a patient with a ventricular assist device for noncardiac surgery. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2010;14:29-31.

**Říha H**, Netuka I, Kotulák T, Malý J, Pind'ák M, Kellovský P, Kopáč F, Hodr D, Szárszoi O, Kettner J, Al-Hiti H, Dorazilová Z, Marek T, Skalský I, Pirk J. Dysfunkce pravé komory po implantaci levostranné mechanické srdeční podpory. *Vnitř Lék* 2010;56:30-36.

Březina A, **Říha H**, Pirk J. Prophylactic application of levosimendan in cardiac surgical patients with severe left ventricle dysfunction. *Exp Clin Cardiol* 2009;14:e31-e34.

Březina A, **Říha H**. Kardiogenní šok a současné možnosti jeho léčby. *Anest Intenziv Med* 2007;18:301-304.

**Říha H**, Říhová L, Pind'ák M, Březina A, Pirk J. Metylenová modř v léčbě vazoplegického syndromu po kardiochirurgické operaci. *Čas Lék Česk* 2006;145:322-324.

Kettner J, Pirk J, Netuka I, Březina A, **Říha H**, Malý J, Mašín J. Použití mechanické srdeční podpory – první zkušenosti v České republice. *Čas Lék Česk* 2005;144:38-42.