

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Doktorské studium biomedicíny
Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Hynek Říha

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

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

Doktorská disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Jan Pirk, DrSc.

Školitel konzultant: prof. MUDr. Bohuslav Ošťádal, DrSc.

Praha 2012

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě chci poděkovat svému školiteli, prof. MUDr. Janu Pirkovi, DrSc., za rozvinutí prvotního nápadu do tématu disertační práce, a také za jeho podporu, vedení, trpělivost a ochotu poradit. Dále bych chtěl vyjádřit svůj dík prof. MUDr. Bohuslavu Ošťádalovi, DrSc., který se ujal role školitele konzultanta, za vlídnost, trpělivost a kritickou diskuzi experimentálních výsledků spolu s jejich zasazením do širšího kontextu výzkumu odolnosti srdečního svalu k nedostatku kyslíku.

Moje velké poděkování patří pracovníkům Oddělení vývojové kardiologie Fyziologického ústavu AV ČR, vedeného prof. RNDr. Františkem Kolářem, CSc., za jejich pomoc a spolupráci při návrhu a realizaci většiny experimentů i vyhodnocování jejich výsledků, a to především RNDr. Janu Neckářovi, Ph.D. a ing. Františku Papouškovi, CSc.

V neposlední řadě chci poděkovat doc. MUD. Ladislavu Hessovi, DrSc. (Centrum experimentální medicíny IKEM), MUDr. Aleši Březinovi, CSc. (Klinika anesteziologie a resuscitace KC IKEM) a MUDr. Tomáši Drábkovi (UPMC Pittsburgh, Pennsylvania, USA; dříve IKEM) za mnoho let trvající diskusi o kardioprotektivních postupech v oblasti anesteziologie a intenzivní péče, a to jak v klinické, tak i experimentální medicíně.

Za cenné připomínky k problematice kardiospecifických biomarkerů děkuji prof. MUDr. Antonínu Jaborovi, CSc. (IKEM), a za poznámky ke statistickému zpracování výsledků Mgr. Jeleně Skibové (IKEM).

Nakonec chci poděkovat manželce Leoně za neutuchající podporu a trpělivost během celé doby mého postgraduálního studia. Za podporu děkuji také svým rodičům.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem doktorskou disertační práci zpracoval samostatně, a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V disertační práci jsou použity původní výsledky výzkumu prováděného v rámci mého kombinovaného postgraduálního doktorského studia v Centru pro výzkum chorob srdce a cév (výzkumný záměr MŠMT ČR č. 1M0510), v Centru experimentální medicíny a Kardiocentru IKEM.

V Praze, 16.5. 2012

MUDr. Hynek Říha

IDENTIFIKAČNÍ ZÁZNAM

ŘÍHA, Hynek. *Vliv inhalačních a intravenózních anestetik na odolnost srdečního svalu k nedostatku kyslíku. [Cardiac tolerance to oxygen deprivation: the effects of inhalational and intravenous anesthetics]*. Praha, 2012. 128 s. Doktorská disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta. Školitel Pirk, Jan; školitel konzultant Ošťádal, Bohuslav.

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 O₂ 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 anestezií, 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 tetrazoliiovými 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 kardijspecifických 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.

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	11
1. ÚVOD.....	13
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	15
2.1. Ischemicko-reperfuzní poškození myokardu	15
2.1.1. Funkční a anatomické změny v ischemickém myokardu.....	16
2.1.2. Celulární a subcelulární změny v ischemickém myokardu	17
2.1.3. Funkční a anatomické změny v myokardu vyvolané reperfuzí	18
2.1.4. Celulární a subcelulární změny v myokardu vyvolané reperfuzí	19
2.1.5. Ischemicko-reperfuzní poškození myokardu v perioperačním období.....	20
2.2. Protekce myokardu před ischemicko-reperfuzním poškozením	22
2.2.1. Ischemický preconditioning.....	22
2.2.2. Postconditioning	24
2.3. Vliv inhalačních anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu.....	26
2.3.1. Účinky inhalačních anestetik na kardiovaskulární systém.....	28
2.3.2. Preconditioning inhalačními anestetiky	30
2.3.3. Postconditioning inhalačními anestetiky.....	33
2.4. Vliv intravenózních anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu.....	34
2.4.1. Účinky intravenózních anestetik na kardiovaskulární systém.....	35
2.4.2. Interakce intravenózních anestetik s mechanismy pre- a postconditioningu	37
2.5. Vliv anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu v klinické praxi	39
2.5.1. Preconditioning a postconditioning navozený inhalačními anestetiky	41
2.5.2. Vliv intravenózních anestetik na protekci myokardu.....	42
2.5.3. Vliv kardioprotektivních účinků anestetik na klinický průběh a výsledky	44

3. CÍLE A HYPOTÉZY DISERTAČNÍ PRÁCE	46
4. MATERIÁL A METODY	48
4.1. Laboratorní potkan.....	48
4.2. Aplikace inhalačního anestetika	48
4.2.1. Anestezie během echokardiografického vyšetření.....	49
4.2.2. Izofluranem navozený preconditioning myokardu	50
4.3. Echokardiografické vyšetření.....	50
4.4. Experimentální model regionálního ischemicko-reperfuzního poškození myokardu ...	53
4.4.1. Perfuze izolovaného srdce	53
4.4.2. Protokol regionální ischemie a reperfuze myokardu	55
4.4.3. Hodnocení arytmií.....	57
4.4.4. Stanovení velikosti infarktu myokardu	58
4.5. Klinická analýza	60
4.5.1. Skupiny pacientů.....	60
4.5.2. Kardiochirurgický zákrok a perioperační péče.....	61
4.5.3. Biochemická vyšetření	62
4.6. Statistické hodnocení	63
4.6.1. Experimentální část.....	63
4.6.2. Klinická část	64
5. VÝSLEDKY.....	65
5.1. Inhalační aplikace izofluranu	65
5.2. Echokardiografická měření	68
5.2.1. Anatomické parametry levé komory.....	68
5.2.2. Funkční parametry levé komory	69
5.3. Ischemicko-reperfuzní poškození myokardu	70

5.3.1. Ischemické arytmie	72
5.3.2. Reperfuzní arytmie.....	75
5.3.3. Velikost infarktu myokardu.....	77
5.4. Klinická analýza	79
5.4.1. Předoperační parametry.....	79
5.4.2. Perioperační klinické údaje	80
5.4.3. Kardiospecifické biomarkery a další biochemické parametry.....	82
6. DISKUZE.....	85
6.1. Experimentální část.....	85
6.1.1. Inhalační aplikace izofluranu.....	85
6.1.2. Vliv izofluranu na echokardiografické parametry levé komory.....	86
6.1.3. Experimentální model regionální ischemie a reperfuze myokardu	89
6.1.4. Vliv preconditioningu izofluranem na komorové arytmie během regionální ischemie a reperfuze myokardu.....	91
6.1.5. Vliv preconditioningu izofluranem na velikost infarktu myokardu.....	96
6.2. Klinická část	97
7. SOUHRN.....	103
8. POUŽITÁ LITERATURA.....	105
9. VLASTNÍ PUBLIKACE AUTORA SE VZTAHEM K DISERTAČNÍ PRÁCI.....	127

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ANOVA	analýza rozptylu (analysis of variance)
APC	anestetiky navozený preconditioning myokardu
AR	ohrožená oblast myokardu (area at risk)
ATP	adenosintrifosfát
AUC	plocha pod křivkou (area under the curve)
AWT	tloušťka přední stěny srdeční komory (anterior wall thickness)
BMI	index tělesné hmotnosti (body mass index)
BW	tělesná hmotnost (body weight)
CABG	aortokoronární bypass (coronary artery bypass grafting)
COX-2	cyklooxygenáza-2
CF	koronární průtok (coronary flow)
CK-MB	MB frakce kreatinkinázy
cTnI	srdeční troponin I
cTnT	srdeční troponin T
EDD	průměr komory na konci diastoly (end-diastolic diameter)
EDV	objem komory na konci diastoly (end-diastolic volume)
EKG	elektrokardiogram
ESD	průměr komory na konci systoly (end-systolic diameter)
F _I O ₂	inspirační frakce kyslíku
FS	frakční zkrácení (fractional shortening)
GF	glomerulární filtrace
HR	srdeční frekvence (heart rate)
HW	hmotnost srdce (heart weight)

IL	interleukin
IM	infarkt myokardu
IS	infarktová oblast (infarct size)
IPC	ischemický preconditioning myokardu
K^+_{ATP}	draslíkové na ATP závislé kanály
$mitoK^+_{ATP}$	mitochondriální K^+_{ATP} kanály
$sarcK^+_{ATP}$	sarkolemální K^+_{ATP} kanály
LV	levá komora (left ventricle)
LVEF	ejekční frakce levé komory
MAC	minimální alveolární koncentrace inhalačního anestetika
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)
PWT	tloušťka zadní stěny srdeční komory (posterior wall thickness)
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
VF	komorová fibrilace
VT	komorová tachykardie

1. ÚVOD

Každý rok je na světě provedeno více než 230 milionů větších chirurgických výkonů (Weiser *et al.*, 2008). U středně a vysoce rizikových nekardiochirurgických operací přesahuje 30denní mortalita 2 % (Lindenauer *et al.*, 2005), u pacientů s vysokým kardiálním rizikem pak dokonce 5 % (Fleisher *et al.*, 1999). Kardiální komplikace po chirurgických výkonech jsou nejčastější příčinou pooperační morbidity a mortality (Lee *et al.*, 1999), s velkým vlivem na délku a finanční náročnost hospitalizace.

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 O₂ v myokardu (srdeční frekvence, tepový objem, krevní tlak), tak ovlivněním kardiomyocytů na úrovni buněčných membrán, iontových kanálů a regulačních enzymů.

V posledních letech se ukázalo, že především inhalační anestetika mají kardioprotektivní účinky nejenom přímé, spojené s poklesem spotřeby O₂ v myokardu, ale také nepřímé, navozením preconditioningu a postconditioningu. V experimentálních studiích zmenšovala inhalační anestetika velikost infarktu myokardu (IM) a zlepšovala obnovu kontraktilní funkce po ischemicko-reperfučním poškození. Klinický přínos aplikace inhalačních anestetik, v porovnání s intravenózními anestetiky, byl potvrzen u pacientů podstupujících kardiokirurgické výkony; koncentrace kardiospecifických biomarkerů po operaci byly nižší a reparace kontraktilní dysfunkce myokardu byla lepší.

Intravenózní anestetika a opioidy vstupují do mnoha interakcí s mechanismy ischemického pre- a postconditioningu, čímž také ovlivňují výslednou ochranu myokardu před ischemicko-reperfučním poškozením v průběhu chirurgických operací.

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. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. ISCHEMICKO-REPERFUZNÍ POŠKOZENÍ MYOKARDU

Průtok krve koronárním řečištěm je 250 ml/min. v klidu, což představuje přibližně 4 % srdečního výdeje; v klidu je spotřeba O₂ myokardem 10 ml O₂/min./100 g (~ 30 ml O₂/min. u dospělého člověka) při 70% extrakci O₂ z koronární krve (Lin, 2009).

Hypoxie myokardu označuje stav způsobený nepoměrem mezi dodávkou a spotřebou O₂. Jako ischemie myokardu se označuje nedokrevnost, jejíž příčinou může být stenóza, obstrukce nebo spasmus přívodné tepny; u ischemie zároveň klesá odstraňování metabolitů z postižené oblasti. Trvá-li ischemie déle (narušení funkce mitochondrií), dochází k ireverzibilním změnám (smrt poškozených srdečních buněk formou nekrózy a apoptózy) se vznikem IM.

Dodávka O₂ do myokardu bývá omezena při postižení koronárního řečiště (akutní i chronická forma ischemické choroby srdeční), poklesu srdečního výdeje (šokové stavy různé etiologie), tachykardii (zkracuje se diastolický čas, důležitý pro průtok krve koronárním řečištěm, především v subendokardiálních oblastech levé komory) nebo při sníženém množství O₂ v krvi (anémie, hemoragický šok, vysoká nadmořská výška). Spotřeba O₂ v myokardu se zvyšuje při stoupajících nárocích, jak funkčních (např. tachykardie, aplikace pozitivně inotropních látek, které zvyšují kontraktilitu myokardu), tak strukturálních (hypertrofie myokardu) (Warltier *et al.*, 2000).

Dojde-li k obnově krevního průtoku do ischemické oblasti (reperfuze) v kritickém časovém intervalu, je možné zachránit významnou část myokardu (Buja, 2005). Ischemie omezeného trvání (< 15 – 20 min.), po které následuje reperfuze, je doprovázena kompletní obnovou funkce myokardu bez strukturálních známek postižení. Sama reperfuze má ovšem řadu negativních účinků, které se souhrnně označují jako reperfuzní poškození; to je přímo

úměrné délce předcházející ischemie, a zahrnuje poruchy mikrocirkulace, arytmie a v poslední řadě i smrt kriticky poškozených kardiomyocytů (Buja a Weerasinghe, 2010).

2.1.1. Funkční a anatomické změny v ischemickém myokardu

Ischemie myokardu mění mechanické, metabolické a elektrofyziologické vlastnosti myokardu, přičemž sekvence těchto změn bývá označována jako ischemická kaskáda (Kennedy a Wiens, 1989). Jako první je při nedostatku O₂ narušena relaxace myokardiálních vláken, což vede k abnormalitám v poddajnosti srdeční svaloviny a vzestupu end-diastolického tlaku v komoře (diastolická dysfunkce) (Pirracchio *et al.*, 2007). Následně klesá kontraktilita myokardu s rozvojem regionálních poruch kinetiky (systolická dysfunkce). Přibližně 20 s od okluze koronární tepny se objevují změny na elektrokardiogramu (EKG) ve smyslu elevací ST segmentů, a také bolest na hrudi. Významnou manifestací ischemie myokardu jsou komorové arytmie, které mohou mít maligní charakter. Častým iniciálním projevem ischemie myokardu je polymorfní komorová tachykardie nebo elektrická bouře (Eifling *et al.*, 2011).

Uzávěr koronárního řečiště, který nebyl v adekvátním časovém intervalu odstraněn, způsobí smrt zasažených buněk se vznikem IM. Množství buněk, které jsou postiženy nekrózou a apoptózou, závisí na velikosti ohrožené oblasti, na stupni a délce trvání ischemického inzultu a na kolaterálním zásobení. Ireverzibilní změny se začínají objevovat po 20 min. trvání ischemie, a to nejdříve v subendokardiální oblasti; po 3 – 4 hod. je postižení kompletní (Jennings a Reimer, 1981). Je-li perfuze ischemické oblasti včas obnovena, je poškození myokardu reverzibilní s tím, že porucha mechanické funkce (hypokineza, akineza) může různě dlouhou dobu (hodiny, dny) přetrvávat i při normálním koronárním průtoku; tento stav je označován jako omráčený (stunned) myokard (Kloner *et al.*, 1998). Odlišným stavem je situace, kdy je při chronické ischemii, způsobené sníženým krevním průtokem distálně od

významné koronární stenózy, přítomna regionální dysfunkce myokardu, tzv. hibernující myokard (Kloner *et al.*, 1998); jedná se o adaptivní reakci tkáně na chronický nepoměr mezi dodávkou a spotřebou O₂. V tomto případě dochází ke zlepšení funkce po zvýšení dodávky O₂ (revaskularizace) nebo při poklesu spotřeby O₂ (např. po zahájení celkové anestezie).

2.1.2. Celulární a subcelulární změny v ischemickém myokardu

Nedostatek O₂ způsobuje řadu dobře dokumentovaných patofyziologických změn v kardiomyocytech (De Hert *et al.*, 2009a). Dochází ke změnám struktury a funkce sarkolemy, kdy přetrvávající zvýšená intracelulární koncentrace Ca²⁺ aktivuje fosfolipázy, které postupně degradují fosfolipidy membrán s uvolněním volných mastných kyselin. Ve zvýšené míře se také tvoří volné kyslíkové radikály (ROS), a to v ischemických kardiomyocytech, ischemických buňkách endotelu a aktivovaných leukocytech; ty také výrazně poškozují fosfolipidy buněčných membrán. Přetížení kardiomyocytů ionty Ca²⁺ nakonec způsobuje zánik buněk; převažujícím mechanismem je nekróza při narušení integrity sarkolemy, ale uplatňuje se také apoptóza při aktivaci specifického buněčného programu pro zánik kardiomyocytů, vyžadující určité množství energie ve formě ATP (Buja, 2005). Klíčovým enzymatickým systémem pro apoptózu jsou kaspázy (intracelulární cysteinové proteázy); ty jsou přímo aktivovány nadměrnou koncentrací Ca²⁺ (Gustafsson a Gottlieb, 2003).

Na úrovni mitochondrií se zastavuje oxidativní fosforylace; převažující anaerobní glykolýza vede k hromadění vodíkových protonů a laktátu, což je příčinou intracelulární acidózy. To následně inhibuje glykolýzu i metabolismus volných mastných kyselin, takže ustává tvorba ATP.

Stoupá rovněž aktivita Na⁺/H⁺ antiportu s cílem korigovat intracelulární acidózu; to zvyšuje koncentraci Na⁺ v kardiomyocytech. Při nedostatku ATP selhává Na⁺/K⁺ ATPáza, a

tak Na^+ iont nemůže být čerpán z cytosolu ven. Aktivace antiportu $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ v reverzním režimu odstraní část Na^+ z buněk, ale za cenu nahromadění Ca^{2+} v cytosolu. Nadměrná intracelulární koncentrace Ca^{2+} způsobí nakonec rozpojení excitace a kontrakce buněk a alteraci funkce iontových transportních systémů v sarkolemě a membránách jednotlivých organel. Důležitou roli při vzniku komorových arytmií v průběhu ischemie myokardu hraje vzestup vodivosti sarkolemy pro K^+ při aktivaci draslíkových na ATP závislých kanálů (K^+_{ATP}), což zkracuje trvání akčního potenciálu (Deutsch *et al.*, 1991). Výsledné rozdíly repolarizačních fází a refrakterních period (Kupersmith *et al.*, 1994) jsou základní příčinou elektrofyziologické heterogenity mezi ischemickou a normální tkání (Rubart a Zipes, 2005); ta je spouštěcím mechanismem komorových arytmií.

Pokračující ischemie vede nakonec ke zhroucení iontové homeostázy postižených kardiomyocytů a nahromadění iontů Na^+ a Ca^{2+} v cytosolu; výsledkem je ischemická kontraktura. Progresivně se zvyšuje propustnost sarkolemy, roste otok kardiomyocytů; posledním krokem je disrupce sarkolemy s následnou nekrózou buněk, která spouští akutní zánětlivou reakci s infiltrací buňkami bílé řady, především polymorfonukleáry.

2.1.3. Funkční a anatomické změny v myokardu vyvolané reperfuzí

Mezi základní projevy reperfuze myokardu patří postischemická kontraktilní dysfunkce (omráčený myokard) a komorové arytmie, které dohromady vytvářejí klinický obraz, označovaný jako reperfuzní syndrom (Monassier, 2008a); důležitým faktorem při jeho vzniku je mikrovaskulární dysfunkce. Mezi typické arytmie, které se vyskytují po zahájení reperfuze myokardu, patří výrazná bradykardie a akcelerovaný idioventrikulární rytmus. Omráčený myokard představuje oblast s protrahovanou poruchou kontraktilní funkce, která se v různém časovém intervalu (hodiny, dny) postupně normalizuje. V klinické praxi se k jejímu

ovlivnění využívají pozitivně inotropní látky, zvyšující kontraktilitu myokardu (Overgaard a Dzavik, 2008).

Důležitým faktorem při rozvoji reperfuzního poškození je tzv. „no-reflow“ fenomén, kdy i přes obnovu krevního průtoku v epikardiální části koronární tepny jsou kardiomyocyty v subendokardiální oblasti nadále bez adekvátního krevního průtoku (Rezkalla a Kloner, 2002). Příčinou je poškození mikrocirkulace, přičemž nejdůležitějšími mechanismy jsou zřejmě protruze endotelových buněk do lumina kapilár (Kloner *et al.*, 1974), kontraktura ischemických buněk (Lee *et al.*, 1980), komprese kapilár edematózními buňkami (Manciet *et al.*, 1994) a obturace lumen kapilár nahromaděnými leukocyty (Engler *et al.*, 1983).

2.1.4. Celulární a subcelulární změny v myokardu vyvolané reperfuzí

Po zahájení reperfuze dochází k úpravě acidózy zvýšenou aktivitou Na^+/H^+ antiportu, $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ symportu a vyplavováním laktátu; zvýšená koncentrace Na^+ aktivuje $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiport, což vede k akumulaci Ca^{2+} iontů v cytosolu (De Hert *et al.*, 2009a). Další příčinou hromadění iontů Ca^{2+} je zvýšená tvorba ROS v mitochondriích (Ferrari *et al.*, 2004). Velká množství ROS, vytvářená během reperfuze, negativně ovlivňují funkci Ca^{2+} ATPázy v membráně sarkoplazmatického retikula a Na^+/K^+ ATPázy, vedou k peroxidaci lipidů membrán a jsou hlavním zdrojem pro chemotaxi neutrofilů s následnou obstrukcí kapilár (Monassier, 2008b). Nadbytek Ca^{2+} je podkladem reperfuzních komorových arytmií (Garcia-Rivas Gde *et al.*, 2006).

Za subcelulární příčinu reperfuzního poškození je považováno otevření pórů ve vnitřní membráně mitochondrií (mPTP); tyto nespecifické kanály jsou po svém otevření volně propustné pro malé ($< 1,5$ kDa) molekuly (Crompton *et al.*, 1987). Za normálních podmínek jsou mPTP uzavřeny, a vnitřní membrána mitochondrií není volně propustná pro ionty a další metabolity (Halestrap, 2009). V průběhu ischemie zůstávají mPTP uzavřeny z důvodu

acidózy a omezeného pohybu elektronů v respiračním řetězci na membráně mitochondrií. Po zahájení reperfúze jsou mitochondrie s respiračním řetězcem vystaveny vysoké koncentraci O_2 , což vede k nadměrné tvorbě ROS ve chvíli, kdy je díky předchozí ischemii vysoká intracelulární koncentrace Ca^{2+} a nedostatek ATP. Primárním impulzem pro otevření mPTP v průběhu reperfúze je zvýšená koncentrace Ca^{2+} v mitochondriální matrix; následuje vyrovnání koncentrací malých molekul ($< 1,5$ kDa) mezi cytosolem a mitochondriální matrix, což spolu s osmotickým tlakem proteinů matrix vede k otoku mitochondrií s následnou rupturou vnější mitochondriální membrány (Halestrap *et al.*, 2004). To umožňuje únik cytochromu c do cytoplasmy, kde aktivuje kaspázy způsobující apoptózu buněk (Yellon a Hausenloy, 2007). Další osud buňky závisí na množství otevřených mPTP kanálů. Při omezeném množství otevřených mPTP kanálů dochází k plnému zotavení kardiomyocytu; při limitním počtu otevřených mPTP kanálů může kardiomyocyt ještě přežít, ale je-li množství otevřených mPTP kanálů nadlimitní, následuje smrt kardiomyocytu (letální reperfúzní poškození) (Gross a Auchampach, 2007).

2.1.5. Ischemicko-reperfúzní poškození myokardu v perioperačním období

Ischemie myokardu, vyskytující se v perioperačním období, patří mezi významné příčiny morbidity a mortality po chirurgických výkonech, které probíhají v celkové anestezii (Lee *et al.*, 1999). Poměr mezi dodávkou a spotřebou O_2 v myokardu je v perioperačním období ovlivňován mnoha strukturálními a funkčními faktory (London, 1990; Landesberg, 2003; Landesberg *et al.*, 2009). Podle platné univerzální definice IM (Thygesen *et al.*, 2007) může být perioperační IM způsoben dvěma mechanismy: akutním koronárním syndromem (typ 1) nebo protražovaným nepoměrem mezi dodávkou a spotřebou O_2 v myokardu (typ 2).

Typ 1 perioperačního IM je způsoben rupturou nebo erozí vulnerabilního aterosklerotického plátu, což vede k akutní koronární trombóze s rozvojem ischemie a IM.

V perioperačním období může k tomuto procesu přispívat stresová reakce organismu se vzestupem koncentrace katecholaminů, který může přetrvávat po dobu několika dnů (Sametz *et al.*, 1999). Bolest, chirurgické trauma, anémie a hypotermie jsou dalšími faktory, které zvyšují koncentraci stresových hormonů (Chernow *et al.*, 1987; Frank *et al.*, 1995). Častý výskyt hypertenze a tachykardie v perioperačním období zvyšuje smykové napětí na povrchu endotelu, což může negativně ovlivňovat stabilitu aterosklerotických plátů. Dalším negativním proischemickým faktorem je hyperkoagulační stav (Gibbs *et al.*, 1992).

Typ 2 perioperačního IM je způsoben nepoměrem mezi dodávkou a spotřebou O₂; nejčastější příčinou v perioperačním období je tachykardie (Landesberg *et al.*, 2001). Důvodem je skutečnost, že malé změny srdeční frekvence způsobují velké změny v délce diastolické fáze srdečního cyklu (Boudoulas *et al.*, 1979). K ischemii myokardu mohou přispívat také změny krevního tlaku, ať už hypotenze při hypovolémii, krvácení, systémové vasodilataci, nebo hypertenze při zvýšené koncentraci stresových hormonů a vazokonstrikci, anémie a změny krevních plynů (hypoxémie a hyperkapnie).

Ischemie myokardu je v některých případech navozena iatrogeně, tzn. naložením příčné svorky na ascendentní aortu (např. u kardiochirurgických operací), kdy je na různě dlouhou dobu přerušen krevní průtok koronárním řečištěm, s následným rozvojem globální ischemie myokardu (Pillai a Suri, 2008). K omezení následků tohoto ischemického inzultu jsou využívána protektivní opatření, která minimalizují spotřebu O₂ myokardem (Buckberg, 1995). Mezi nejdůležitější patří aplikace kardioplegického roztoku s vysokou koncentrací K⁺, vedoucí k zástavě elektrické i mechanické činnosti myokardu (Ovrum *et al.*, 2010), a hypotermie, která snižuje metabolismus kardiomyocytů. V minulosti se při nedokonalé ochraně myokardu během kardiochirurgické operace někdy ischemické poškození projevilo v extrémní podobě jako tzv. ischemická kontraktura levé komory (tzv. „stone heart“) (Armstrong *et al.*, 1973; Zumbro *et al.*, 1978).

U pacientů s akutními formami ischemické choroby srdeční se stala snaha o co nejčasnější reperfuzi, maximalizující rozsah záchraněného myokardu, který byl vystaven ischemii, základem léčby trombolýzou a perkutánními koronárními intervencemi (Widimský *et al.*, 2000).

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 protražovanou ischemií. Poprvé jej popsali Murry a spol. v experimentu na psech v roce 1986; čtyři krátké ischemické epizody (5minutová okluze koronární tepny, následovaná 5minutovou reperfuzí) před protražovanou ischemií myokardu (40minutová koronární okluze následovaná 4denní reperfuzí) významně (o 75 %) zmenšily velikost IM (Murry *et al.*, 1986). Dalším účinkem IPC je omezení postischemické kontraktilní dysfunkce a snížení výskytu arytmií v průběhu ischemie (Kolář a Parratt, 1997; Ravingerová *et al.*, 2009) a následné reperfuze (Hagar *et al.*, 1991). Výsledky dalších experimentů ukázaly, že ochrana myokardu, navozená IPC, je přechodná a objevuje se ve dvou fázích: časná fáze IPC, začínající několik minut po výchozím impulzu a trvající 2 – 3 hod., a pozdní fáze IPC, která se objevuje po 24 hod. a přetrvává 3 – 4 dny (Marber *et al.*, 1993). Bylo prokázáno, že IPC je ubikviterní endogenní protektivní mechanismus na buněčné úrovni, kdy podkladem časně fáze je rychlá posttranslační modifikace (tzn. fosforylace a translokace) existujících proteinů, zatímco pozdní fáze IPC zřejmě závisí na syntéze nových proteinů (Yellon a Downey, 2003). Jako

vzdálený („remote“) ischemický preconditioning je označováno vyvolání protekce myokardu krátkou ischemií jiného orgánového systému (Hausenloy a Yellon, 2008).

Subcelulární mechanismy, které vyvolávají IPC, analyzovalo mnoho autorů (Grover a Garlid, 2000; Yellon a Downey, 2003; Hausenloy a Yellon, 2006; Hausenloy a Yellon, 2008; Huffmyer a Raphael, 2009). Ukázalo se, že krátké epizody ischemie vedou k uvolnění různých látek, např. adenosinu, bradykininu, endotelinu a endorfinů, které se váží na povrchu kardiomyocytů na receptory (adenosinové, α -adrenergní, muskarinové, opioidní, bradykininové a další) spřažené s G-proteiny. Poté jsou aktivovány kaskády, které přenášejí signál do nitra buněk, zahrnující proteinkinázy a transkripční faktory, např. fosfatidylinositol-3-kinázu, mitogenem aktivované proteinkinázy, proteinkinázu C (PKC) a nukleární faktor κ B. Tyto dráhy se sbíhají na mitochondriích, které jsou považovány za buněčné organely odpovědné za IPC. Kardioprotektivním momentem je pravděpodobně otevření 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, např. inducibilní NO-syntázy, stresových proteinů (heat shock proteins) a cyklooxygenázy-2 (COX-2). Dosud není zcela zřejmé, jak aktivace různých receptorů, enzymů (kináz) a iontových kanálů (K^+_{ATP} a dalších) vede k IPC; bylo zjištěno, že protektivní mechanismy před ischemickým poškozením zahrnují omezenou akumulaci Ca^{2+} v mitochondriích, pokles excesivní tvorby ROS, inhibici otevření mitochondriálních pórů mPTP a inhibici apoptózy.

Výše zmiňované experimenty, prokazující existenci IPC, byly prováděny převážně na myokardu pokusných zdravých zvířat. Rozvoj IPC však může ovlivňovat řada dalších faktorů, např. věk, arteriální hypertenze apod. Některé studie naznačovaly nemožnost vyvolat IPC u starších potkanů (Schulman *et al.*, 2001); další práce ale potvrdily vznik IPC (zmenšení velikosti IM) i u starších normotenzních a spontánně hypertenzních potkanů (Dai *et al.*, 2009). U spontánně hypertenzních potkanů byl prokázán výrazný antiarytmický účinek IPC

(Kolář a Parratt, 1997). Bylo prokázáno, že hyperglykemie brání vzniku IPC (Ebel *et al.*, 2003). Deriváty sulfonylurey (např. glibenklamid), které tvoří důležitou skupinu perorálních antidiabetik, blokují K^+_{ATP} kanály (Grover a Garlid, 2000). V β -buňkách pankreatu tato blokáda stimuluje sekreci inzulínu; v kardiomyocytech brání deriváty sulfonylurey otevření K^+_{ATP} kanálů v mitochondriální (mito K^+_{ATP}) a sarkolemální (sar K^+_{ATP}) membráně a tak inhibují vznik IPC (Wu *et al.*, 2007).

Existence IPC byla popsána také v klinické praxi, i když výsledky nejsou konzistentní. Angina pectoris, která předchází vzniku IM, zlepšuje klinické výsledky (Rezkalla a Kloner, 2004). Opakované koronární okluze pomocí balónkového katétru během koronární angioplastiky zmenšují bolest na hrudi a omezují elektrokardiografické projevy ischemie (Tomai *et al.*, 1994); snižují také počet následných ischemických epizod v průběhu jednoho roku (Laskey a Beach, 2003). Širšímu přenosu IPC do klinické praxe však brání překážky, a to jak na straně experimentální, tak i klinické (Bolli *et al.*, 2004; Bolli, 2007; Ošťádal, 2009). Většina experimentálních modelů (model izolovaného srdce, izolované kardiomyocyty, relativně krátká ischemie) neodráží adekvátně klinickou situaci; navíc je experimentální výzkum zaměřen především na odhalování molekulárních a buněčných mechanismů poškození a protekce myokardu. Většímu klinickému využití IPC brání řada dalších závažných faktorů, jako je nemožnost předpovědět vznik ischemie nebo krátké trvání protekce navozené IPC, a dále poškození myokardu, které může být vyvoláno i krátkými ischemickými epizodami v průběhu indukce IPC.

2.2.2. Postconditioning

První zmínky o tom, že modifikace reperfuze má pozitivní účinky na výsledné poškození myokardu, pocházejí z experimentální kardiokirurgie (Vinten-Johansen *et al.*, 1985; Okamoto *et al.*, 1986). Klinický neúspěch IPC vedl k intenzivnímu hledání dalších

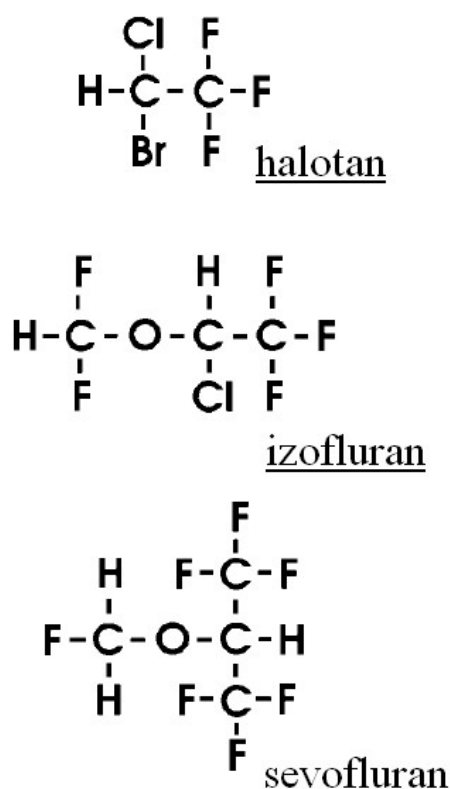
kardioprotektivních možností. V roce 2003 ukázali Zhao a spol. na psech (Zhao *et al.*, 2003; Kin *et al.*, 2004), že krátké ischemické epizody, aplikované – na rozdíl od IPC – po delší ischemii, mají srovnatelný kardioprotektivní účinek (zmenšení velikosti IM, menší akumulace neutrofilů, nižší tvorba cytotoxických ROS a menší dysfunkce endotelu). Je zajímavé, že oddálení původního protokolu o 1 min. eliminovalo protektivní účinek na velikost výsledného IM (Kin *et al.*, 2004). Dalším kardioprotektivním účinkem postconditioningu je antiarytmický vliv v podobě menšího výskytu reperfuzních arytmií (Dow *et al.*, 2009).

Podobně jako v případě IPC není přesný subcelulární mechanismus postconditioningu znám. Experimentální studie potvrdily roli adenosinu, aktivaci kináz důležitých pro přežití buněk (Tsang *et al.*, 2004) a inhibici mPTP (Argaud *et al.*, 2005); řada subcelulárních mechanismů je nejspíše shodných u obou kardioprotektivních fenoménů (Ovize *et al.*, 2010). Na druhou stranu bylo prokázáno, že genomická odpověď (tzn. profil post-ischemické genové exprese) na preconditioning a postconditioning se výrazně liší (Lucchinetti *et al.*, 2005).

Z pohledu klinické praxe je postconditioning, v porovnání s IPC, relevantnějším fenoménem. Je aplikován v průběhu reperfuze, tedy v okamžiku, kdy byla zahájena léčba předchozí ischemie, a proto snadněji proveditelný. První klinická studie, která prokázala pozitivní vliv ischemického postconditioningu (4 epizody 1minutové ischemie následované 1minutovou reperfuzí vyvolané balónkovým katétrem v koronární tepně po zavedení stentu), zahrnula 30 pacientů s akutním IM, indikovaných k přímé koronární angioplastice s implantací stentu; hodnoty kreatinkinázy byly o 36 % nižší a angiografické známky reperfuze významně lepší proti kontrolní skupině (Staat *et al.*, 2005). V kardiochirurgii je reperfuzní 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.) (Okamoto *et al.*, 1986).

2.3. VLIV INHALAČNÍCH ANESTETIK NA ISCHEMICKO-REPERFUZNÍ POŠKOZENÍ MYOKARDU

Většina dnes běžně klinicky používaných inhalačních anestetik jsou páry těžkých kapalin; po chemické stránce se jedná o halogenované uhlovodíky (obr. č. 1): halotan (alkan), enfluran, izofluran, sevofluran a desfluran (étery) (Preckel a Bolten, 2005). Anestetické účinky mají také některé vzácné plyny, např. xenon (Preckel a Schlack, 2005). Inhalační anestetika jsou podávána pomocí speciálního dávkovače (odpařovač); vdechovanou směsí se dostávají do plic a krví do centrálního nervového systému a ostatních orgánů. Hloubka anestezie je ovlivňována změnou koncentrace inhalačního anestetika ve vdechované směsi.



Obrázek č. 1. Chemická struktura vybraných inhalačních anestetik.

Pro porovnání účinnosti inhalačních anestetik je používán parametr MAC (minimální alveolární koncentrace), což je taková alveolární koncentrace inhalačního anestetika, při níž 50 % zkoumaných subjektů nereaguje na supramaximální algický podnět, např. incizi kůže (Preckel a Bolten, 2005). Dalším parametrem je BAR (blocking adrenergic response), což je takový násobek MAC, který zablokuje kardiovaskulární odpověď autonomního nervového systému (změna srdeční frekvence a krevního tlaku) na kožní incizi (Schlack *et al.*, 1998).

Inhalační anestetika mohou vstoupit do interakce s ischemicko-reperfučním poškozením myokardu ve třech okamžicích: před ischemií (preconditioning), během ischemie, a v průběhu reperfúze (postconditioning).

Již v roce 1976 popsali Bland a spol. účinek halotanu na zmenšení elevací ST segmentů při krátké koronární okluzi v experimentu na psech (Bland a Lowenstein, 1976). Následující studie stejné experimentální skupiny potvrdila, že podávání halotanu před prolongovanou koronární okluzí zmenšuje velikost vznikajícího IM (Davis *et al.*, 1983). Enfluran během ischemie myokardu, vyvolané komorovou kardiostimulací v přítomnosti kritické koronární stenózy, snižoval tvorbu laktátu (van Ackern *et al.*, 1985). Všechny tyto výsledky již před více než 25 lety naznačovaly, že aplikace inhalačních anestetik může zlepšovat metabolismus myokardu bez ohledu na inhalačním anestetikem vyvolané hemodynamické změny. Zmíněné pozitivní účinky inhalačních anestetik byly v polovině 80. let zastíněny studii, které poukazovaly na abnormální redistribuci koronárního průtoku z ischemických oblastí k neischemickým vlivem izofluranu (Buffington *et al.*, 1987), který vyvolával výraznou dilataci koronárních tepen, tzv. koronární „steal“ fenomén. Tyto obavy byly později dalšími experimentálními (Moore *et al.*, 1991) i klinickými (Pulley *et al.*, 1991) studii vyvráceny; vasodilatace koronárních tepen, vyvolaná izofluranem (Hartman *et al.*, 1991) a sevofluranem (Kersten *et al.*, 1994), je v porovnání se silnými vasodilatancii koronárního řečiště (adenosin) pouze mírná.

2.3.1. Účinky inhalačních anestetik na kardiovaskulární systém

Účinky moderních inhalačních anestetik na kardiovaskulární systém v dávkách, které vyvolávají anestezii, se mezi sebou zásadním způsobem neliší; základním efektem je pokles krevního tlaku v závislosti na dávce. Řada informací byla získána ve studiích na zdravých dobrovolnících, což umožnilo vyhnout se interakcím inhalačních anestetik s komorbiditami pacientů a chirurgickou stimulací během operace. Všechny níže uvedené změny (včetně vasodilatace koronárních tepen) jsou podkladem pozitivního vlivu inhalačních anestetik, podávaných během ischemie myokardu, na výsledné ischemické poškození, jehož podstatou je pokles hlavních determinant spotřeby O₂ myokardem. V porovnání s preconditioningem a postconditioningem je celkový přímý anti-ischemický účinek inhalačních anestetik relativně malý (Kersten, 2011).

Pokles krevního tlaku, vyvolaný inhalačními anestetiky, závisí na dávce; u izofluranu (Stevens *et al.*, 1971), sevofluranu (Kazama a Ikeda, 1988; Malan *et al.*, 1995) a desfluranu (Weiskopf *et al.*, 1991) je způsoben především snížením systémové cévní rezistence, zatímco halotanem vyvolaný pokles krevního tlaku je primárně vyvolán snížením srdečního výdeje (Eger *et al.*, 1970). Halotan snižuje srdeční výdej více než izofluran, sevofluran a desfluran. Podkladem je negativně inotropní efekt halotanu a izofluranu (Huneke *et al.*, 2001) i sevofluranu (Park *et al.*, 1996); příčinou je inhibiční vliv inhalačních anestetik na influx Ca²⁺ iontů v kardiomyocytech. Navíc halotan a izofluran, na rozdíl od sevofluranu, snižují poddajnost myokardu (Bartunek *et al.*, 2001). Halotan (Eger *et al.*, 1970), izofluran (Stevens *et al.*, 1971) i desfluran (Weiskopf *et al.*, 1991) zvyšují centrální žilní tlak, což je při poklesu systémové cévní rezistence (viz výše) dalším ukazatelem snížené kontraktility myokardu. Se vzrůstající koncentrací inhalačních anestetik (až do koncentrace 2 MAC) klesá spotřeba O₂ a srdeční výdej proporcionálně; při koncentracích > 2 MAC klesá srdeční výdej (resp. dodávka O₂) více než spotřeba O₂ (Scheeren *et al.*, 1999).

Halotan na rozdíl od izofluranu, sevofluranu a desfluranu snižuje práh pro vznik arytmií (Eger *et al.*, 1970; Imamura a Ikeda, 1987); jednou z příčin je pravděpodobně větší blokáda Na⁺ proudu v membráně kardiomyocytů v porovnání s izofluranem a sevofluranem (Weigt *et al.*, 1997). Izofluran i sevofluran snižují výskyt polymorfních QRS komplexů po podání bupivakainu (Fukuda *et al.*, 1996). V klinice běžně používané koncentrace inhalačních anestetik neovlivňují zásadním způsobem srdeční frekvenci (někdy bývá zaznamenáván mírný pokles). Prolongovaná aplikace a použití vyšších koncentrací inhalačních anestetik srdeční frekvenci zvyšují. Tento efekt má multifaktoriální podklad; významnou roli hraje nejen reflexní vzestup srdeční frekvence při poklesu krevního tlaku a srdečního výdeje (viz výše), ale i pokles aktivity parasympatického nervového systému (*n. vagus*), který je nejvíce vyjádřen u desfluranu (Picker *et al.*, 2001); halotan naopak aktivitu *n. vagus* centrálně stimuluje (Eger *et al.*, 1970). Tyto údaje byly získány v experimentech bez chirurgické stimulace, která způsobuje v průběhu aplikace všech inhalačních anestetik vzestup srdeční frekvence a krevního tlaku. V případě použití adekvátní dávky inhalačního anestetika (parametr BAR, viz výše) je odpověď kardiovaskulárního systému potlačena, což ale není důsledkem poklesu plazmatické koncentrace katecholaminů, která se při chirurgické stimulaci naopak zvyšuje. Bylo prokázáno, že zvýšení podávané koncentrace izofluranu a sevofluranu z 1 na 1,5 MAC u zdravých pacientů (dárce části jater) zvyšuje plazmatickou koncentraci adrenalinu a noradrenalinu (Segawa *et al.*, 1998). To znamená, že vyšší koncentrace inhalačních anestetik na jedné straně snižuje odpověď kardiovaskulárního systému na chirurgickou stimulaci (změny srdeční frekvence a krevního tlaku), ale zároveň zvyšuje tonus sympatiku (vzestup plazmatické koncentrace katecholaminů).

2.3.2. Preconditioning inhalačními anestetiky

V roce 1997 byla publikována první práce, která potvrdila možnost vyvolat preconditioning myokardu inhalačním anestetikem (APC); prokázala, že pro tento účinek je nezbytná aktivace $\text{mitoK}_{\text{ATP}}^+$ a $\text{sarcK}_{\text{ATP}}^+$ kanálů (Kersten *et al.*, 1997). Experiment byl proveden na psech v barbiturátové anestezii; regionální ischemie myokardu byla vyvolána 60minutovým podvazem *ramus interventricularis anterior*, následovaným 3hodinovou reperfuzí. IPC byl vyvolán čtyřmi 5minutovými okluzemi, proloženými 5minutovou reperfuzí; APC byl vyvolán 30minutovou aplikací izofluranu, a to 30 min. před vlastní ischemií. Oba způsoby preconditioningu významně zmenšily velikost IM; tento účinek byl zablokován nespecifickým inhibítoem K_{ATP}^+ kanálů glibenklamidem.

APC byl prokázán i u dalších druhů experimentálních zvířat. Na modelu izolovaného perfundovaného srdce potkana, morčete a králíka podle Langendorffa (tedy *in vitro*) byl 2 – 10minutovou aplikací halotanu, enfluranu, izofluranu i sevofluranu navozen APC. Konkrétně bylo zaznamenáno zmenšení velikosti IM (Cope *et al.*, 1997), snížení postischemické kontraktilní dysfunkce (omráčený myokard) (Novalija *et al.*, 1999; Coetzee *et al.*, 2000) a menší endoteliální dysfunkce (Novalija *et al.*, 1999). Izofluranem (0,5 a 1,0 MAC po dobu 30 min.) vyvolaný APC také oddálil začátek reperfuzních arytmií a snížil výskyt komorové fibrilace během 120minutové reperfuze, následující po 30minutové globální i regionální ischemii (Kevin a Novalija, 2008). Podání glibenklamidu před aplikací inhalačního anestetika zamezilo vzniku APC (Novalija *et al.*, 1999; Coetzee *et al.*, 2000). Podobně byl halotanem indukovaný APC inhibován jak podáním blokátoru adenosinových receptorů, tak blokátoru PKC (Cope *et al.*, 1997). Experiment, provedený na izolovaném perfundovaném srdci potkana, potvrdil důležitou roli aktivace PKC (Uecker *et al.*, 2003): aplikace izofluranu (koncentrace 1,5 MAC po dobu 15 min.) způsobila translokaci PKC do jádra kardiomyocytu (izoforma δ i ϵ), do mitochondrií (izoforma δ , ale ne ϵ) a do sarkolemy (izoforma ϵ , ale ne δ);

blokátory PKC zabránily vzniku APC. Na rozdíl od výše uvedených experimentů pouze jedna studie na izolovaných perfundovaných srdcích nepřinesla jednoznačný závěr; 15minutová aplikace koncentrace 1,5 a 3,0 MAC a 25minutová aplikace 1,5 MAC izofluranu, ukončená 5 min. před 30minutovou globální ischemií, neovlivnily postischemickou kontraktilní dysfunkci ani nesnížily množství uvolněné kreatinkinázy (marker celulárního poškození kardiomyocytů) (Martini *et al.*, 2001).

Experimenty, prováděné *in vivo*, jednoznačně potvrdily schopnost inhalačních anestetik v různých koncentracích (0,5 – 1 MAC) a při různě dlouhé aplikaci (5 – 75 min.) v intervalu 15 – 30 min. před vlastní ischemií myokardu vyvolat APC, který zmenšoval velikost IM srovnatelně s IPC (Cason *et al.*, 1997; Toma *et al.*, 2004; Obal *et al.*, 2005b).

Subcelulární mechanismy, odpovědné za APC, jsou velmi pravděpodobně shodné s mechanismy, které jsou aktivovány během IPC (Stadnicka *et al.*, 2007). Aktivace $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ a $\text{sarcK}^+_{\text{ATP}}$ kanálů je považována za klíčový mechanismus APC, což bylo potvrzeno v experimentech prováděných jak *in vitro* (viz výše), tak *in vivo* (Ismaeil *et al.*, 1999; Piriou *et al.*, 2000). Důležitou roli v mechanismu APC má také PKC, především její ϵ izoforma. Bylo prokázáno, že zmenšení velikosti IM, způsobené APC navozeným izofluranem (Obal *et al.*, 2005b) a vzácným plynem xenonem (Weber *et al.*, 2005), je způsobeno zvýšenou fosforylací a translokací izoformy PKC- ϵ do membránové frakce.

Co se týče lidského myokardu, experimenty na izolované tkáni srdeční síně prokázaly stimulaci adenosinových A_1 receptorů a otevření K^+_{ATP} kanálů při APC indukovaným izofluranem (Roscoe *et al.*, 2000); halotan překvapivě APC nevyvolal. V případě desfluranem navozeného APC byla potvrzena stimulace adenosinových A_1 receptorů, α i β -adrenergických receptorů a otevření $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ kanálů v izolované tkáni srdeční síně (Hanouz *et al.*, 2002). Podávání sevofluranu o koncentraci 2 MAC po dobu 10 min. vedlo k translokaci PKC- δ do sarkolemy a PKC- ϵ do mitochondrií, jader a vmezeřených disků v izolovaných myocytech

srdeční síně pacientů, podstupujících aortokoronární bypass (CABG) (Julier *et al.*, 2003). Dalším mechanismem, který se zřejmě při vzniku APC uplatňuje, je pokles tvorby ROS v myokardu v průběhu ischemicko-reperfuzního poškození (Novalija *et al.*, 2002; Kevin *et al.*, 2003b); APC snížil tvorbu ROS v mitochondriích během reperfuze (Novalija *et al.*, 2003). Na druhou stranu scavengery ROS blokovaly vznik APC po podání izofluranu u králíka *in vivo* (Mullenheim *et al.*, 2002), takže určité množství ROS je k vyvolání preconditioningu nezbytné.

Některé experimenty překvapivě nepotvrdily schopnost inhalačních anestetik vyvolat pozdní fázi APC, kdy např. 6hodinová aplikace izofluranu v koncentraci 1 MAC, podávaná 24 hod. před prolongovanou ischemií u psů v barbiturátové anestezii, nezmenšila výsledný IM v porovnání s kontrolní skupinou (Kehl *et al.*, 2002c). Další studie však prokázaly, že izofluran u potkanů (Tonkovic-Capin *et al.*, 2002) i králíků (Tanaka *et al.*, 2004) a sevofluran u potkanů (Lutz a Liu, 2006) pozdní fázi APC vyvolávají.

V *in vivo* experimentech byla řešena také otázka, jaká koncentrace a délka podávání inhalačního anestetika umožňují vyvolat APC. Bylo potvrzeno, že již koncentrace 0,25 MAC izofluranu, podávaná 30 min. s následným 30minutovým wash-out intervalem, vyvolá APC vyjádřený jako významné zmenšení IM (Kehl *et al.*, 2002b). Studie, které využívaly krátkou aplikaci sevofluranu *in vitro* (dva 2minutové intervaly na modelu izolovaného perfundovaného srdce morčete) (Novalija *et al.*, 1999) a *in vivo* (dva 5minutové intervaly proložené 10 min. bez aplikace sevofluranu u potkana) (Obal *et al.*, 2005a), potvrdily možnost vyvolat APC velmi krátkou aplikací inhalačního anestetika. Některé pokusy navíc ukázaly, že různé koncentrace inhalačního anestetika ovlivňují subcelulární struktury odlišným způsobem: nízká koncentrace izofluranu (0,4 MAC) vedla k fosforylaci a translokaci PKC- ϵ do membránové frakce, zatímco vyšší koncentrace (1 a 1,75 MAC) pouze

zmenšovaly velikost IM (stejně jako nízká koncentrace), ale nevedly k translokaci PKC (Obal *et al.*, 2005b).

Vznik APC je podobně jako IPC ovlivňován dalšími faktory, např. věkem. Na modelu izolovaného perfundovaného srdce potkana byl prokázán negativní vliv věku na APC, kdy sevofluranem navozený APC u potkanů starých 20 – 24 měsíců, v porovnání s mladšími zvířaty, nezmenšoval velikost IM ani nezlepšoval postischemickou kontraktilní dysfunkci (Sniecinski a Liu, 2004). Hyperglykemie brání vzniku APC po aplikaci izofluranu: v *in vivo* experimentu u psů blokovala akutní středně závažná hyperglykemie vznik APC při aplikaci koncentrace 0,5 MAC izofluranu; významná hyperglykemie inhibovala zmenšení velikosti IM po aplikaci koncentrace 0,5 i 1 MAC izofluranu (Kehl *et al.*, 2002a).

2.3.3. Postconditioning inhalačními anestetiky

V roce 1996 byl poprvé popsán příznivý účinek inhalačních anestetik na reperfuze poškození myokardu: aplikace halotanu během reperfuze významně snížila uvolňování kreatinkinázy a omezila postischemickou kontraktilní dysfunkci (Schlack *et al.*, 1996). Tento účinek byl později potvrzen i při použití dalších moderních inhalačních anestetik (enfluran, izofluran, sevofluran, desfluran), i když s některými malými rozdíly (Schlack *et al.*, 1998). Aplikace xenonu během reperfuze měla podobný efekt (Preckel *et al.*, 2000). Kardioprotekce ve výše zmíněných studiích zmenšila velikost výsledného IM přibližně o 50 %.

Mechanismus, jakým inhalační anestetika vyvolávají postconditioning, není dosud jednoznačně vysvětlen a je předmětem intenzivního výzkumu. Halotan zabránil vzniku hyperkontraktury kardiomyocytů během časné reperfuze interakcí s ryanodinovými receptory (iontové kanály uvolňující Ca^{2+}) sarkoplazmatického retikula (Siegmond *et al.*, 1997). Sevofluran a izofluran inhibují adhezi neutrofilů v koronárních tepnách (Heindl *et al.*, 1999). Během reperfuze dochází k aktivaci některých kináz, které se souhrnně označují zkratkou

RISK (reperfusion injury salvage kinases); ty působí proti apoptóze (Hausenloy a Yellon, 2007) a jsou aktivovány také inhalačními anestetiky (Pagel, 2008).

Další skupina experimentů se zabývala vlivem použité koncentrace a načasování aplikace inhalačních anestetik během reperfuze na kardioprotekci. Byla-li aplikace sevofluranu zahájena okamžitě se začátkem reperfuze, koncentrace 0,75 MAC nenavodila kardioprotekci, zatímco koncentrace 1 MAC ano; zvýšení koncentrace na 2 MAC nemělo aditivní účinek na dosaženou kardioprotekci u potkana *in vivo* (Obal *et al.*, 2001). Podávání koncentrace 1 MAC sevofluranu po dobu 2 min. se začátkem 90minutové reperfuze, následující po 25minutové regionální ischemii myokardu u potkana *in vivo*, zmenšovalo velikost výsledného IM; naproti tomu prodloužení aplikace sevofluranu na 5 a 10 min. protektivní efekt snižovalo (Obal *et al.*, 2003).

Podobně jako APC je také postconditioning vyvolaný inhalačními anestetiky ovlivňován některými patologickými stavy. Hyperglykemie inhibuje vznik sevofluranem navozeného postconditioningu, takže nedojde ke zmenšení velikosti IM; protektivní účinek postconditioningu je možné obnovit přidáním cyklosporinu A, který inhibuje otevření mPTP (Huhn *et al.*, 2008).

2.4. VLIV INTRAVENÓZNÍCH ANESTETIK NA ISCHEMICKO-REPERFUZNÍ POŠKOZENÍ MYOKARDU

Intravenózní anestetika jsou používána k úvodu do celkové anestezie a jejich kontinuální aplikace je využívána k navození totální intravenózní anestezie (TIVA). Po chemické stránce se jedná o heterogenní skupinu látek. V dnešní době se v běžné klinické praxi využívají thiopental, etomidát, propofol a ketamin. Dalšími látkami, které se používají

během celkové anestezie a ovlivňují kardiovaskulární systém, jsou benzodiazepiny, opioidy a centrální agonisté α_2 -adrenergních receptorů.

2.4.1. Účinky intravenózních anestetik na kardiovaskulární systém

Účinky intravenózních anestetik na kardiovaskulární systém jsou detailně popsány v řadě monografií (Aitkenhead, 2007; Okum a Horrow, 2007; Smith, 2009); na rozdíl od inhalačních anestetik se intravenózní anestetika ve svém vlivu navzájem výrazně liší. Dalším faktorem, který ovlivňuje účinky intravenózních anestetik, je velikost dávky a rychlost aplikace; rychlé podání větší dávky navodí vyšší plazmatickou koncentraci a tedy výraznější účinek na kardiovaskulární systém.

Barbituráty, podané k úvodu do celkové anestezie, snižují kontraktilitu myokardu, systémovou cévní rezistenci a reflexně zvyšují srdeční frekvenci. První dva účinky snižují spotřebu O_2 myokardem, vzestup srdeční frekvence ji naopak zvyšuje; všechny tři účinky ale snižují dodávku O_2 do myokardu. Výsledný vliv barbiturátů na poměr dodávky a spotřeby O_2 myokardem závisí na výchozím hemodynamickém stavu (srdeční frekvence, krevní tlak, náplň krevního řečiště).

Etomidát ovlivňuje kardiovaskulární systém minimálně; *in vitro* působí jako agonista adrenergních α_2 -receptorů a *in vivo* stimulace α_{2B} -receptorů vede k vzestupu krevního tlaku (Paris *et al.*, 2003).

Propofol má podobné účinky jako barbituráty; snižuje kontraktilitu a systémovou cévní rezistenci; reflexní vzestup srdeční frekvence bývá menší než u thiopentalu.

Účinky *ketaminu* na kardiovaskulární systém jsou dány centrální stimulací sympatického vegetativního nervového systému se zvýšením plazmatické koncentrace katecholaminů; dochází k vzestupu srdeční frekvence, kontraktility a systémové cévní rezistence. Tento účinek může být omezen podáním látek s centrálně depresivním působením,

např. benzodiazepinů (Tweed *et al.*, 1972). Ketamin zvyšuje krevní průtok koronárním řečištěm, ovšem při zvýšené spotřebě O₂ (Smith *et al.*, 1979). Přímý účinek ketaminu na myokard je negativně inotropní, tzn. snížení kontraktility; výsledný účinek je dán centrální stimulací sympatiku (White *et al.*, 1982; Craven, 2007).

Benzodiazepiny (např. midazolam, diazepam) mírně snižují systémovou cévní rezistenci a mají minimální negativně inotropní účinek.

Opioidy snižují srdeční frekvenci centrální stimulací parasympatického nervového systému (*n. vagus*). Podání morfinu, který uvolňuje histamin, může vést k vzestupu srdeční frekvence. Vliv opioidů na kontraktilitu myokardu je zanedbatelný; snižují tonus sympatického vegetativního nervového systému, což způsobuje mírnou venodilataci s poklesem preloadu (předtížení). Opioidy snižují elektrickou vodivost, prodlužují refrakterní periodu a zvyšují práh pro vznik komorové fibrilace. Od výše zmíněných účinků se svým profilem liší pethidin, jehož molekula je strukturálně podobná atropinu: může způsobit tachykardii a vyšší dávky snižují kontraktilitu myokardu.

Centrální agonisté α_2 -adrenergních receptorů (např. klonidin, dexmedetomidin) mají sympatolytický účinek; snižují srdeční frekvenci a krevní tlak. Po zahájení jejich podávání může přechodně dojít k vzestupu krevního tlaku díky stimulaci periferních α_1 -receptorů (specifická k α_2 : α_1 -adrenergním receptorům je 200:1 u klonidinu a 1600:1 u dexmedetomidinu). Dochází tak k omezení neurohumorální odpovědi navozené chirurgickým stresem. Centrální agonisté α_2 -adrenergních receptorů mají také výrazné sedativní, anestetické (Ramsay a Luterman, 2004) a analgetické účinky (Jaakola *et al.*, 1991).

2.4.2. Interakce intravenózních anestetik s mechanismy pre- a postconditioningu

V izolovaných myocytech ze srdečních komor potkana blokovaly *barbituráty* (thiopental a pentobarbital) otevření $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ kanálů po podání diazoxidu (Zaugg *et al.*, 2002). V izolovaných kardiomyocytech morčete neovlivňoval pentobarbital $\text{mitoK}^+_{\text{ATP}}$ kanály, ale inhiboval jejich otevření vlivem izofluranu (Kohro *et al.*, 2001). Na modelu izolovaného perfundovaného srdce potkana neměl thiopental na IPC vliv (Mullenheim *et al.*, 2001b). Protože aplikace pentobarbitalu před ischemicko-reperfuzním poškozením myokardu nenavozuje preconditioning (Galagudza *et al.*, 2006), je velmi často využíván k anestezii zvířat při experimentálním studiu IPC i APC. Výzkum reperfuze prokázal, že thiamylal na modelu izolovaného perfundovaného srdce potkana neovlivňuje tvorbu ROS v průběhu 20minutové reperfuze po 15minutové globální ischemii (Tamaki *et al.*, 2001); thiopental, podávaný 20 min. před globální ischemií a v průběhu reperfuze, snižoval adhezi neutrofilů na endotelové buňky při reperfuzi (Szekely *et al.*, 2000).

Etomidát nemá s největší pravděpodobností žádný vliv na pre- a postconditioning; v průběhu reperfuze neovlivňoval adhezi neutrofilů na endotel koronárního řečiště (Szekely *et al.*, 2000).

Propofol nevstupuje do interakce s myokardiálními K^+_{ATP} kanály *in vitro* (Zaugg *et al.*, 2002); bylo ale prokázáno, že blokuje otevření mPTP pod vlivem Ca^{2+} v mitochondriích kardiomyocytů potkana (Sztark *et al.*, 1995). V *in vivo* experimentu na králících propofol nezmenšoval, na rozdíl od izofluranu, velikost IM, nevedl tedy ke vzniku APC (Cason *et al.*, 1997). Ve studii na izolovaném perfundovaném srdci potkana však propofol, podávaný před 25minutovou globální ischemií, po které následovala 30minutová reperfuze, zlepšoval reparaci kontraktilní funkce a snižoval množství uvolněné laktátdehydrogenázy, spolu s redukcí histologického poškození (Ko *et al.*, 1997b). Struktura propofolu je podobná tokoferolu (vitamin E), což je příčinou jeho antioxidačních účinků (působí jako scavenger

ROS). Na modelu izolovaného perfundovaného srdce potkana propofol omezoval peroxidační a funkční postižení myokardu, vyvolané ischemicko-reperfuzním poškozením (Kokita *et al.*, 1998) i peroxidem vodíku (Kokita a Hara, 1996). Je však známo, že malá množství ROS jsou nezbytná pro rozvoj APC (Mullenheim *et al.*, 2002); v *in vivo* experimentu u králíka blokoval propofol vznik APC po podání desfluranu, ale na IPC vliv neměl (Smul *et al.*, 2011).

Ketamin [racemická směs *S*-(+) a *R*-(-) enantiomeru] blokoval u králíka *in vivo* vznik časného (Mullenheim *et al.*, 2001a) i pozdního IPC (Mullenheim *et al.*, 2001c); příčinou je inhibice sarcK⁺_{ATP} (Ko *et al.*, 1997a) a mitoK⁺_{ATP} kanálů (Zaugg *et al.*, 2002). *S*-(+)-ketamin tyto účinky neměl. Některé novější experimenty naopak prokázaly, že racemická směs i *S*-(+)-ketamin vyvolávají APC v buňkách izolovaných z lidského myokardu, a že mechanismem je, alespoň částečně, aktivace K⁺_{ATP} kanálů spolu se stimulací α - a β -adrenergických receptorů (Hanouz *et al.*, 2005).

Ischemie myokardu vede k syntéze a uvolnění endogenních opioidních peptidů (Romano *et al.*, 2004). Bylo prokázáno, že exogenní *opioidy* vyvolávají časný i pozdní preconditioning, a že jedním z důležitých mechanismů je aktivace K⁺_{ATP} kanálů (Patel *et al.*, 2002). Většina studií prokazovala existenci κ - a δ -opioidních receptorů v myokardu; některé z nich ovšem naznačují také přítomnost μ -opioidních receptorů v trabekulách lidských síní (Bell *et al.*, 2000). Zdá se, že hlavním opioidním receptorem, který zprostředkovává vznik preconditioningu, je δ -opioidní receptor (Schultz *et al.*, 1998; Bell *et al.*, 2000). Byly také popsány interakce mezi *opioidy* a anestetiky indukovaným pre- i postconditioningem. Morfin (neselektivní agonista μ - a δ -opioidních receptorů) zmenšoval velikost IM a tento účinek byl aditivní k APC po podání izofluranu (Ludwig *et al.*, 2003); naloxon (opioidní antagonist) a hydroxydekanoát (selektivní antagonist mitoK⁺_{ATP} kanálů) antagonizovaly účinek morfinu a izofluranu, což potvrzuje roli opioidních receptorů a K⁺_{ATP} kanálů při vzniku preconditioningu. Morfin působil stejným způsobem i v případě izofluranem navozeného

postconditioningu (Weihrauch *et al.*, 2005). Další *in vivo* studie na potkanech prokázala, že i stimulace centrálních opioidních receptorů intratekálně podaným morfinem, tzn. bez ovlivnění periferních opioidních receptorů, navozuje preconditioning, který je blokován antagonistou opioidních receptorů naloxonem (Wong *et al.*, 2010b). Podobně jako u IPC a APC, i morfinem navozená kardioprotekce byla negativně ovlivněna přítomností diabetes mellitus (Gross *et al.*, 2007).

2.5. VLIV ANESTETIK NA ISCHEMICKO-REPERFUZNÍ POŠKOZENÍ MYOKARDU V KLINICKÉ PRAXI

Důležitým momentem pro výzkum vlivu inhalačních a intravenózních anestetik na ischemicko-reperfuzní poškození myokardu v klinické praxi je vhodný, srovnatelný, predikovatelný a reprodukovatelný ischemický inzult. Takové podmínky pro ischemii myokardu poskytuje pouze kardiochirurgie. Kardiochirurgické operace, díky přesně definované době globální ischemie myokardu po naložení příčné svorky na ascendentní aortu s následnou reperfuzí, patří mezi nejčastěji využívaný klinický model ischemicko-reperfuzního poškození myokardu. Tento model umožňuje přenos experimentálních podmínek preconditioningu a ischemické i reperfuzní fáze do klinického protokolu. Je známo, že CABG s použitím MTO je spojen s přechodným poklesem kontraktilní funkce myokardu, a to bez ohledu na použité anestetikum (Phillips *et al.*, 1983; Mangano, 1985). Proto je ve studiích nejčastěji sledována obnova kontraktilní funkce po CABG operacích jako ukazatel poškození myokardu, a to spolu s koncentrací uvolněných kardiospecifických biomarkerů (Lasocki *et al.*, 2002).

Existuje řada faktorů, které mohou sledované kardioprotektivní účinky anestetik ovlivnit. Jedním z nich je vliv MTO; v experimentu na ovčích bylo prokázáno, že MTO

navozuje preconditioning zmenšující velikost IM, vyvolaného následnou ischemií, podobně jako IPC; kardioprotektivní účinek MTO byl blokován podáním antagonistů α -adrenergických a adenosinových receptorů (Burns *et al.*, 1995). Je nutné počítat rovněž s vlivem IPC; intermitentní ischemie (dva 3minutové cykly naložení příčné svorky na aortu) u CABG operací snižuje pooperační koncentraci troponinu T (cTnT) (Jenkins *et al.*, 1997). Také pozdní fáze vzdáleného („remote“) IPC, navozeného krátkou ischemií a reperfuzí předloktí 18 hod. před CABG, snížila koncentrace cTnI 8 hod. po operaci; naopak podání neopioidního analgetika tramadolu zvýšilo pooperační koncentrace cTnI (Wagner *et al.*, 2010). Jiným důležitým faktorem je kardioplegický roztok (typ, teplota a způsob aplikace), použitý k ochraně myokardu po naložení příčné svorky na ascendentní aortu (Ferreira *et al.*, 2003; Feng *et al.*, 2004).

Klinické studie, zabývající se kardioprotektivními účinky inhalačních a intravenózních anestetik, jsou komplikovány mnoha dalšími okolnostmi; tou první a nejvýznamnější je nutnost aplikovat anestetika během chirurgického výkonu, takže není možné pracovat s klasickou kontrolní skupinou. Mezi další komplikující faktory patří komorbidity (např. diabetes mellitus, arteriální hypertenze, renální insuficience) a chronická farmakoterapie, např. β -blokátory nebo koxiby (COX-2 inhibitory). Propranolol (neselektivní blokátor β -adrenergických receptorů) inhiboval vznik APC po aplikaci desfluranu v lidských izolovaných myocytech srdečních síní (Hanouz *et al.*, 2002). Na *in vivo* modelu ischemicko-reperfuzního poškození myokardu králíka bylo prokázáno, že selektivní β_1 -blokátor esmolol inhiboval rozvoj APC indukovaný desfluranem a sevofluranem (Lange *et al.*, 2006), a že vznik desfluranem navozeného APC byl blokován β_2 -blokátorem (Lange *et al.*, 2009). Rozsáhlá studie, porovnávající léčbu pooperační bolesti u pacientů po CABG, upozornila na vyšší výskyt nežádoucích kardiovaskulárních účinků při léčbě koxiby (Nussmeier *et al.*, 2005).

2.5.1. Preconditioning a postconditioning navozený inhalačními anestetiky

První klinická studie, která potvrdila existenci APC indukovaného izofluranem (5minutová aplikace koncentrace 2,5 MAC 10 min. před naložením příčné svorky na aortu a podáním kardioplegického roztoku) u pacientů podstupujících CABG, prokázala zvýšené koncentrace markerů aktivace 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 (Belhomme *et al.*, 1999). Další studie potvrdily lepší reparaci kontraktilní funkce a nižší koncentraci uvolněného cTnI po použití inhalačních anestetik (Lee *et al.*, 2006; Meco *et al.*, 2007), některé pouze lepší reparaci kontraktilní funkce po operaci (Haroun-Bizri *et al.*, 2001). V jiné studii koncentrace 2 MAC sevofluranu, podávaná 10 min. po zahájení MTO před naložením příčné svorky na aortu, vedla k translokaci PKC (izoformy δ i ϵ) ve vzorcích tkáně z pravé síně; zároveň byla zaznamenána výrazně nižší koncentrace natriuretického peptidu typu B, i když koncentrace CK-MB a cTnT, výskyt arytmií a denivelací ST úseků na EKG se nelišily (Julier *et al.*, 2003). V *in vitro* studii na izolovaných lidských myocytech z pravé síně od pacientů, podstupujících CABG, vedla aplikace sevofluranu k aktivaci $\text{mitoK}_{\text{ATP}}^+$ i $\text{sarcK}_{\text{ATP}}^+$ kanálů a stimulaci adenosinových A_1 -receptorů, což indukovalo APC, vyjádřený lepší obnovou izometrické kontrakční schopnosti myokardiálních trabekul (Yvon *et al.*, 2003).

Ne všechny studie však kardioprotekci vyvolanou inhalačními anestetiky potvrdily, ať už v podobě lepší reparace kontraktilní funkce nebo nižších pooperačních koncentrací kardiospecifických biomarkerů (Fellahi *et al.*, 2004; Piriou *et al.*, 2007). To ukazuje na ústřední roli klinického protokolu, použitého k navození APC. Práce Beina a spol. ukázala, že přerušovaná aplikace sevofluranu před MTO u pacientů, podstupujících CABG, snížila koncentrace cTnT a CK-MB a zlepšila echokardiografické známky kontraktility; kontinuální aplikace tyto účinky neměla (Bein *et al.*, 2008). Podobně APC protokol s jedním cyklem

aplikace sevofluranu (po dobu 5 min. podávaná koncentrace 1 MAC 10 min. před MTO a naložením příčné svorky) nesnížil pooperační koncentraci cTnI, zatímco dva cykly aplikace sevofluranu, oddělené 5minutovou pauzou, významně snížily koncentraci tohoto biomarkeru (Frassdorf *et al.*, 2009). Sevofluran, podávaný pouze během reperfuze u pacientů, podstupujících CABG, neovlivnil koncentraci cTnI, i když reparace kontraktilní funkce byla mírně lepší; nejlepšího výsledku bylo dosaženo u pacientů, kde byl sevofluran podáván během celého chirurgického výkonu (De Hert *et al.*, 2004).

2.5.2. Vliv intravenózních anestetik na protekci myokardu

V porovnání s inhalačními anestetiky byla intravenózní anestetika předmětem výrazně menšího počtu klinických studií. Vysoké dávky propofolu ve formě 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 (Xia *et al.*, 2006). Přidání propofolu ke standardní anestezii (izofluran a opioid) 15 min. před zahájením reperfuze vedlo nejen k nižším hodnotám markerů peroxidace lipidů, ale i nižším koncentracím prozánětlivých (IL-6, IL-8) cytokinů (Corcoran *et al.*, 2004). Stejní autoři prokázali tyto účinky propofolu také u pacientů s dysfunkcí levé komory (Corcoran *et al.*, 2006).

Většina studií, porovnávajících TIVA, založenou na propofolu, s inhalačními anestetiky, potvrdila lepší výsledky u pacientů, kterým byla aplikována inhalační anestetika. U pacientů, podstupujících CABG, zlepšovala anestezie založená na sevofluranu v porovnání s propofolem kontraktilní funkci po MTO, což bylo spojeno s menší potřebou farmakologické inotropní podpory; vedla také k nižším pooperačním koncentracím cTnI (De Hert *et al.*, 2002). Další práce potvrdily protektivní účinky sevofluranu a desfluranu u vysoce rizikových starších pacientů (De Hert *et al.*, 2003) a u operací aortální chlopně (Cromheecke *et al.*,

2006), vždy v porovnání s TIVA založenou na propofolu. Jako sporný moment je v těchto studiích hodnocen způsob ochrany myokardu; ve většině nebyl používán kardioplegický roztok, ale byla využívána metoda intermitentního naložení příčné svorky na ascendentní aortu spolu s hypotermií, což de facto odpovídá indukci IPC v klinické praxi. Protektivní účinek inhalačních anestetik (nižší pooperační koncentrace cTnI) byl potvrzen i u aortokoronárních operací, prováděných bez použití MTO (Guarracino *et al.*, 2006).

Na zvířecích modelech byl opakovaně vyvolán preconditioning myokardu stimulací δ - (Bell *et al.*, 2000; Patel *et al.*, 2002) a κ -opioidních receptorů (Peart *et al.*, 2008). Murphy a spol. srovnávali morfin (neselektivní agonista μ - a δ -opioidních receptorů) a fentanyl (predominantní μ -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 kardijspecifických biomarkerů (cTnI, natriuretický peptid typu B) nelišily (Murphy *et al.*, 2006). Byl také potvrzen kardioprotektivní účinek remifentanilu (silný agonista μ -opioidních receptorů), když u CABG operací snížilo jeho přidání ke standardní TIVA (kombinace propofol – fentanyl) pooperační koncentrace CK-MB a cTnI (Wong *et al.*, 2010a).

Studie, zabývající se vlivem centrálních agonistů α_2 -adrenergických receptorů, použitých v průběhu celkové anestezie, na kardiovaskulární systém, potvrzují příznivé účinky těchto látek. Dexmedetomidin, přidáný ke standardnímu režimu celkové anestezie u pacientů podstupujících CABG, snížil plazmatické koncentrace noradrenalinu o 90 %, omezil vzestup krevního tlaku během chirurgického výkonu, snížil výskyt tachykardie a omezil spotřebu fentanylu a enfluranu (Jalonen *et al.*, 1997). Další studie prokázala příznivý hemodynamický profil (stabilní hemodynamické parametry s nižšími hodnotami srdeční frekvence a krevního tlaku) u CABG operací, dosažený kontinuálním podáváním dexmedetomidinu během celkové anestezie (Karakaya Kabukcu *et al.*, 2011).

2.5.3. Vliv kardioprotektivních účinků anestetik na klinický průběh a výsledky

Otázkou zůstává, zda má volba anestetika nebo anesteziologického režimu vliv na klinický průběh a výsledky ve smyslu výskytu kardiovaskulárních komplikací nebo rychlosti zotavení pacientů po operaci (délka pobytu na jednotce intenzivní péče a v nemocnici). Dříve publikované studie u kardiochirurgických pacientů nepotvrzovaly vztah mezi volbou anestetika a klinickým výsledkem, hodnoceným jako četnost depresí ST segmentů na EKG nebo výskyt pooperačního IM (Slogoff a Keats, 1989; Tuman *et al.*, 1989). Randomizovaná studie, která zahrnuje 84 pacientů podstupujících CABG, nenalezla rozdíl mezi celkovou anestezií založenou na izofluranu a TIVA s propofolem: pooperační koncentrace cTnI, morbidita a mortalita z kardiálních příčin po dobu hospitalizace, 30 dnů a 1 rok po operaci se významně nelišily (Flier *et al.*, 2010). To, že nebyl nalezen rozdíl v kardioprotekci mezi oběma způsoby celkové anestezie, bylo s největší pravděpodobností způsobeno heterogenitou studované populace (velké rozpětí ejekční frakce levé komory [LVEF], široká škála chronické kardiovaskulární farmakoterapie).

Retrospektivní analýza dánského registru komplikací kardiochirurgických výkonů, která zahrnuje více než 10000 pacientů, porovnávala celkovou anestezii sevofluranem a TIVA s propofolem (Jakobsen *et al.*, 2007): 30denní mortalita byla nevýznamně nižší ve skupině se sevofluranem (2,84 vs. 3,3 %; $p = 0,18$). Analýza podskupin prokázala, že sevofluran u pacientů bez nestabilní anginy pectoris nebo IM v anamnéze (tedy bez ischemického preconditioningu) významně snižoval mortalitu (2,28 vs. 3,14 %; $p = 0,015$); na druhou stranu TIVA s propofolem byla spojena s nevýznamně nižší mortalitou u urgentních operací (4,8 vs. 5,48 %; $p = 0,58$). Vzhledem k retrospektivnímu uspořádání mohly být závěry analýzy ovlivněny dalšími faktory, např. nejednotností typu použitého kardioplegického roztoku (krystaloidní vs. krevní roztok).

Metaanalýza 22 randomizovaných studií, která zahrnula celkem 1922 pacientů podstupujících kardiochirurgický výkon a randomizovaných k celkové anestezii inhalačním anestetikem (sevofluran nebo desfluran) nebo TIVA, potvrdila kardioprotektivní účinky inhalačních anestetik: menší výskyt pooperačního IM (2,4 vs. 5,1 %; $p = 0,008$), menší nemocniční mortalita (0,4 vs. 1,6 %; $p = 0,02$), a dále nižší maximální dosažená koncentrace cTnI, menší potřeba farmakologické inotropní podpory a kratší délka pobytu na jednotce intenzivní péče po operaci (Landoni *et al.*, 2007).

V oblasti nekardiochirurgických operací je k dispozici velmi omezené množství literárních publikací. Metaanalýza, založená na údajích z několika malých studií, která porovnávala sevofluran a desfluran s TIVA založenou na propofolu, neprokázala rozdíl ve výskytu arytmií (10,5 vs. 9,4 %; $p = 0,48$); jiné údaje týkající se morbidity a mortality z kardiálních příčin nebyly pro analýzu k dispozici (Landoni *et al.*, 2009a). 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 (Zangrillo *et al.*, 2011). I přes výše uvedené skutečnosti je v publikovaných doporučených postupech odborných společností (American College of Cardiology/American Heart Association) doporučeno použití inhalačních anestetik pro vedení celkové anestezie během nekardiochirurgických výkonů u pacientů s rizikem perioperační ischemie myokardu (American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, 2008).

3. CÍLE A HYPOTÉZY DISERTAČNÍ PRÁCE

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 celkovou anestezii, která je u laboratorního potkana nezbytná k 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 kontraktlní funkce po ischemii. Vliv APC na arytmiie v průběhu ischemicko-reperfuzního 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 α_2 -adrenergních 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: kardiochirurgické operace s MTO jsou z důvodu jasně definované doby globální ischemie myokardu jediným srovnatelným modelem ischemicko-reperfuzního 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 kardiochirurgických operací dosud popsán.

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

4. MATERIÁL A METODY

4.1. LABORATORNÍ POTKAN

V experimentech jsme použili dospělé samce laboratorního potkana kmene Wistar o tělesné hmotnosti 262 – 375 g (chov firmy Velaz, Únětice). Potkani byli chováni v plastických akváriích za standardních podmínek s volným přístupem k vodě a standardní laboratorní dietě; na prostředí byli adaptováni 1 týden před vlastním experimentem. V místnosti byla udržována konstantní teplota (22 ± 2 °C); režim osvětlení zahrnoval pravidelné střídání světla a tmy v 12hodinových intervalech.

Všechny protokoly experimentálních prací byly schváleny Etickou komisí Fyziologického ústavu AV ČR v Praze. Vlastní 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).

4.2. APLIKACE INHALAČNÍHO ANESTETIKA

V experimentech na laboratorních potkanech jsme používali jako inhalační anestetikum izofluran (Forane; Abbott Laboratories, Praha). Jeho dávkování bylo zajištěno průtokovým odpařovačem (Penlon PPV_Σ; Penlon, Abingdon, Velká Británie). Nosnou směs plynů tvořil medicínální vzduch ($F_{I}O_2 = 0,21$). Před zahájením vlastních experimentů byl odpařovač pro izofluran zkontrolován atestovanou firmou (Anres, Praha), kdy byly za použití kalibračního přístroje (Iris; Dräger, Liebeck, Německo) změřeny skutečné koncentrace izofluranu na výstupu odpařovače při různých nastavených koncentracích na ovladači odpařovače a různých průtocích nosné směsi plynů.

Izofluran jsme laboratorním potkanům podávali ve vzduchotěsné komoře s vnějšími rozměry 26 x 12 x 11 cm a tloušťkou stěny 1 cm vyrobené z akrylátového skla (VisualSonics,

Toronto, Kanada) při zachované spontánní dechové aktivitě zvířat (obr. č. 2). Komora má na jedné straně otvor pro přívod nosné směsi plynů s inhalačním anestetikem, na druhé straně je zajištěn aktivní odvod plynů z komory.

Podobně jako u odpařovače jsme změřili koncentrace izofluranu v komoře v závislosti na nastavené koncentraci na odpařovači při různém průtoku nosné směsi plynů a délce aplikace izofluranu.

Před vlastními experimenty jsme dále ověřili vliv izofluranu na srdeční frekvenci a krevní plyny potkana při zachované spontánní ventilaci v komoře. Podávání izofluranu jsme zahájili 2,5% koncentrací po dobu 1 min. při průtoku medicijnálního vzduchu 5 l/min.; aplikace izofluranu pokračovala koncentrací 1,3 % (= 1 MAC) (Rampil *et al.*, 2001) po dobu 12 min., a to první 2 min. při průtoku vzduchu 5 l/min. a dalších 10 min. při průtoku 3 l/min. Po ukončení aplikace izofluranu jsme u zvířat neinvazivně změřili tepovou frekvenci a saturaci hemoglobinu kyslíkem senzorem pulzního oxymetru na zadní tlapce zvířete; také jsme provedli jednorázový odběr arteriální krve punkcí ventrální ocasní tepny tenkou jehlou (kalibr 22 G) pro analýzu krevních plynů.

4.2.1. Anestezie během echokardiografického vyšetření

Celkovou anestezii jsme navodili aplikací 2,5% koncentrace izofluranu po dobu 3 min. v komoře. Během vlastního transtorakálního echokardiografického vyšetření jsme pokračovali v anestezii izofluranem s použitím jednotlivých sledovaných koncentrací (1,5 – 3 %); izofluran jsme podávali kuželovitým inhalačním nástavcem při průtoku medicijnálního vzduchu 2 l/min. a zachované spontánní dechové aktivitě zvířat. Transtorakální echokardiografické vyšetření při použití jednotlivých sledovaných koncentrací jsme prováděli v různé dny k vyloučení potenciálních reziduálních účinků izofluranu.

4.2.2. Izofluranem navozený preconditioning myokardu

Podávání izofluranu v komoře jsme zahájili 2,5% koncentrací po dobu 1 min. Inhalačními anestetiky indukovaný preconditioning (APC) jsme pak navodili 12minutovou aplikací izofluranu; průtok medicínálního vzduchu byl v průběhu prvních 2 min. 5 l/min., po dobu dalších 10 min. pak 3 l/min. Použili jsme dvě koncentrace izofluranu: 0,5 MAC a 1 MAC (= 1,3 % u potkanů) (Rampil *et al.*, 2001).

Po ukončení aplikace izofluranu jsme ponechali průtok vzduchu do komory na hodnotě 8 l/min. po dobu 1 min.; zvířata byla poté umístěna na 30 min. v separátních klecích k zajištění eliminace izofluranu (wash-out interval).

4.3. ECHOKARDIOGRAFICKÉ VYŠETŘENÍ

Po úvodu do anestezie v komoře (viz část 4.2.1.) jsme zvířata položili na vyhřívanou desku (38 °C). Zde jsme během 5 min. zvíře připravili pro echokardiografické vyšetření: holicím strojkem a depilačním krémem jsme odstranili srst z levé poloviny hrudníku, tlapky zvířete jsme připevnili k pozlaceným elektrodám vyhřívané desky pro záznam EKG a na levou polovinu hrudníku nanесли ohřátý ultrazvukový gel. Vlastní vyšetření jsme začali vždy 8 min. od zahájení aplikace izofluranu v komoře (obr. č. 2).

K vyšetření jsme použili echokardiografickou matrixovou sondu o frekvenci 14 MHz (M12L) připojenou k echokardiografickému přístroji GE Medical Vivid 7 Dimension System (GE Medical Systems CZ, Praha). Využívali jsme doporučené standardní transtorakální echokardiografické projekce u potkana (Liu a Rigel, 2009); parasternální projekci na dlouhou a krátkou osu v režimu dvourozměrného (2D) a M-mode zobrazení (obr. č. 3). Ve všech projekcích jsme zaznamenali tři echokardiografické záznamy (smyčky); získaná obrazová

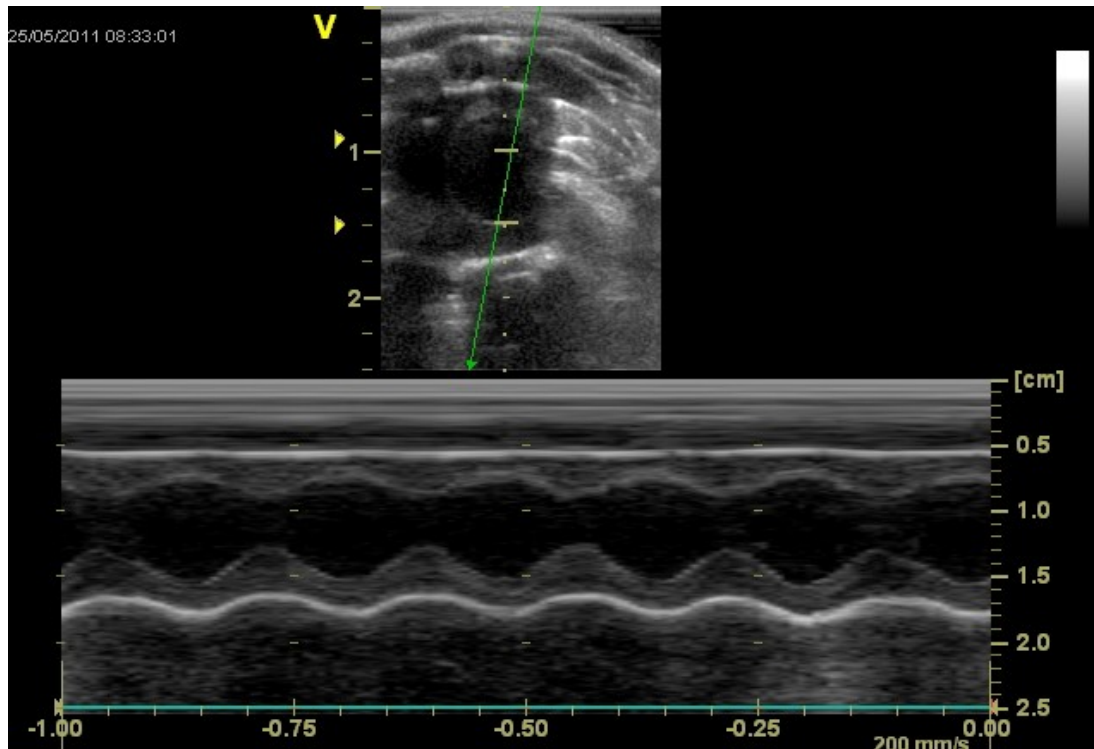
data jsme uložili pro následnou off-line analýzu, kterou jsme prováděli programovým vybavením Echo PAC PC verze 7.1.2 (GE Medical Systems CZ, Praha).



Obrázek č. 2. Echokardiografické pracoviště: rotametry (1); odpařovač (2); komora pro aplikaci inhalačního anestetika (3); vyhřívaná deska s pozlacenými elektrodami (4); echokardiografický přístroj (5) [Oddělení vývojové kardiologie, FgÚ AV ČR, Praha].

Anatomické parametry levé komory, které jsme měřili přímo, zahrnovaly tloušťku přední a zadní stěny a průměr komory, a to vždy na konci diastoly a systoly (anterior wall thickness, AWT_d a AWT_s ; posterior wall thickness, PWT_d a PWT_s ; end-diastolic diameter, EDD; end-systolic diameter, ESD).

Ze změřených parametrů jsme potom vypočítali další anatomické a funkční parametry levé komory, a to relativní tloušťku stěny (relative wall thickness, RWT), objem komory na



Obrázek č. 3. Echokardiografické zobrazení levé komory laboratorního potkana: parasternální projekce na krátkou osu; 2D a M-mode (Oddělení vývojové kardiologie, FgÚ AV ČR, Praha).

konci diastoly (end-diastolic volume, EDV) podle Teichholzovy rovnice (Teichholz *et al.*, 1976) a frakční zkrácení (fractional shortening, FS):

$$\Rightarrow \text{RWT} = (\text{AWT}_d + \text{PWT}_d) / \text{EDD};$$

$$\Rightarrow \text{EDV} = [7,0 / (2,4 + \text{EDD})] \times \text{EDD}^3;$$

$$\Rightarrow \text{FS} (\%) = [(\text{EDD} - \text{ESD}) / \text{EDD}] \times 100.$$

Výsledné hodnoty parametrů včetně srdeční frekvence jsme získali zprůměrováním hodnot z jednotlivých echokardiografických záznamů.

4.4. EXPERIMENTÁLNÍ MODEL REGIONÁLNÍHO ISCHEMICKO-REPERFUZNÍHO POŠKOZENÍ MYOKARDU

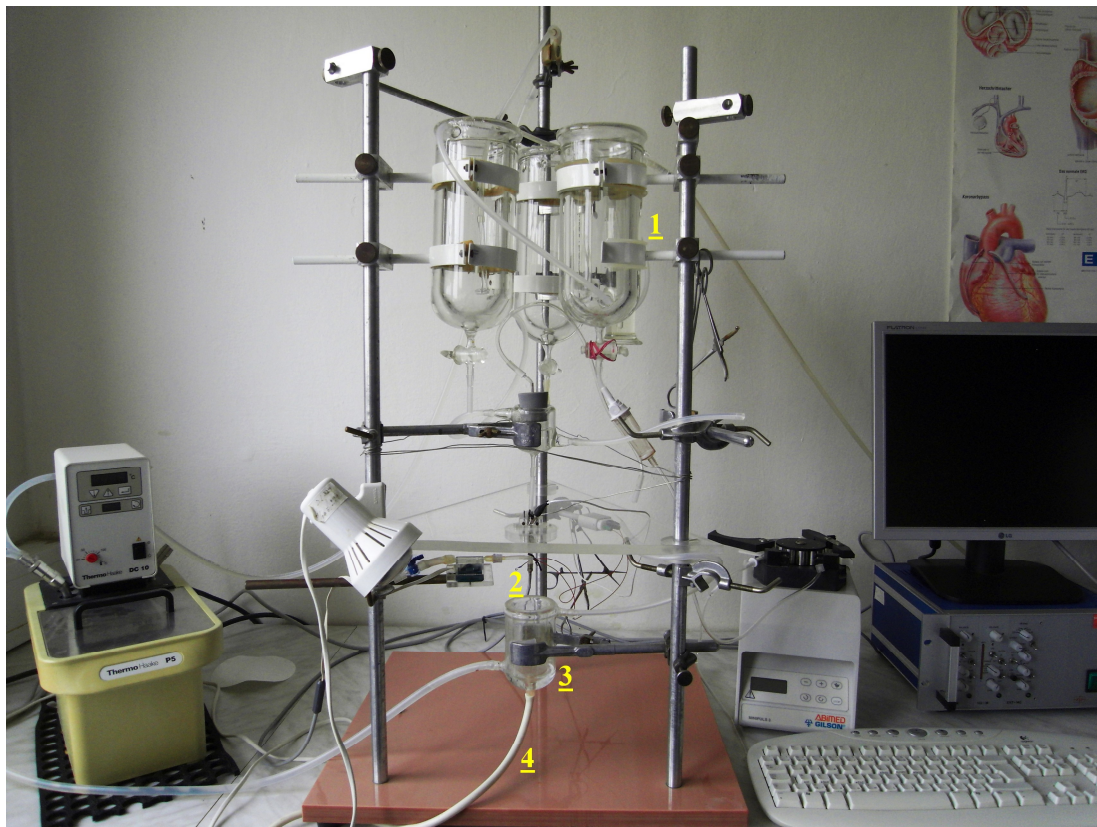
Při sledování vlivu APC vyvolaného izofluranem na ischemicko-reperfuční poškození myokardu jsme jako hlavní parametr hodnotili výskyt a závažnost komorových arytmií, a to během regionální ischemie a následné reperfuze. Jako vedlejší parametr jsme vyhodnotili velikost vzniklého IM.

4.4.1. Perfuze izolovaného srdce

Po navození APC (viz část 4.2.2.) jsme u zvířat zajistili celkovou anestezii jednorázovým intraperitoneálním podáním pentobarbitalu sodného v dávce 60 mg/kg (Sanofi-Santé Animale, Libourne, Francie). Po nástupu anestezie (zvíře nereagovalo na algický podnět) jsme potkana fixovali na operační podložce, kůži na hrudníku nastříhli až k jugulu a odklopili. Potom jsme krátkým stříhem těsně pod bránicí otevřeli břišní dutinu; po přerušení bránice jsme rozstříhli žebra kraniálním směrem a odklopili. Srdce jsme co nejrychleji vyjmuli z hrudní dutiny a upevnili na aortální kanylu v perfuzním přístroji podle Langendorffa (obr. č. 4). Poté jsme ze srdce odstranili zbytky extrakardiální tkáně a jehlou propíchli levou komoru v oblasti apexu, abychom zabránili hromadění perfuzního roztoku cestou *venae cordis minimae*.

Srdce jsme perfundovali Krebsovým-Henseleitovým roztokem bez recirkulace, modifikovaným pro sledování arytmií (tzn. s nižší koncentrací kalia a vyšší koncentrací kalcia), ve složení (mmol/l): NaCl 118,0; KCl 3,2; CaCl₂ 2,5; MgSO₄ 1,2; NaHCO₃ 25,0; KH₂PO₄ 1,2; glukóza 7,0; pyruvát sodný 2,0. Roztok byl saturován směsí kyslíku a oxidu uhličitého (carbogen: 95 % O₂ a 5 % CO₂), pH roztoku upraveno na 7,4 a teplota udržována

konstantní na hodnotě 37 °C. Každý den před začátkem experimentu jsme připravili čerstvý perfuzní roztok.



Obrázek č. 4. Přístroj pro perfuzi izolovaného srdce podle Langendorffa: rezervoár Krebsova-Henseleitova roztoku (1); kanyla pro zavěšení izolovaného srdce (2); temperovaná krycí kádinka (3); derivace perfuzátu (4) [Oddělení vývojové kardiologie, FgÚ AV ČR, Praha].

Během celého experimentu jsme udržovali konstantní rychlost perfuze srdce roztokem (10 ml/min./g hmotnosti srdce). Předpokládanou hmotnost srdce jsme vypočítali pomocí rovnice, vyjadřující vztah mezi hmotností těla potkana (body weight, BW) a srdce (heart weight, HW), založenou na výsledcích předchozích experimentů (Asemu *et al.*, 1999):

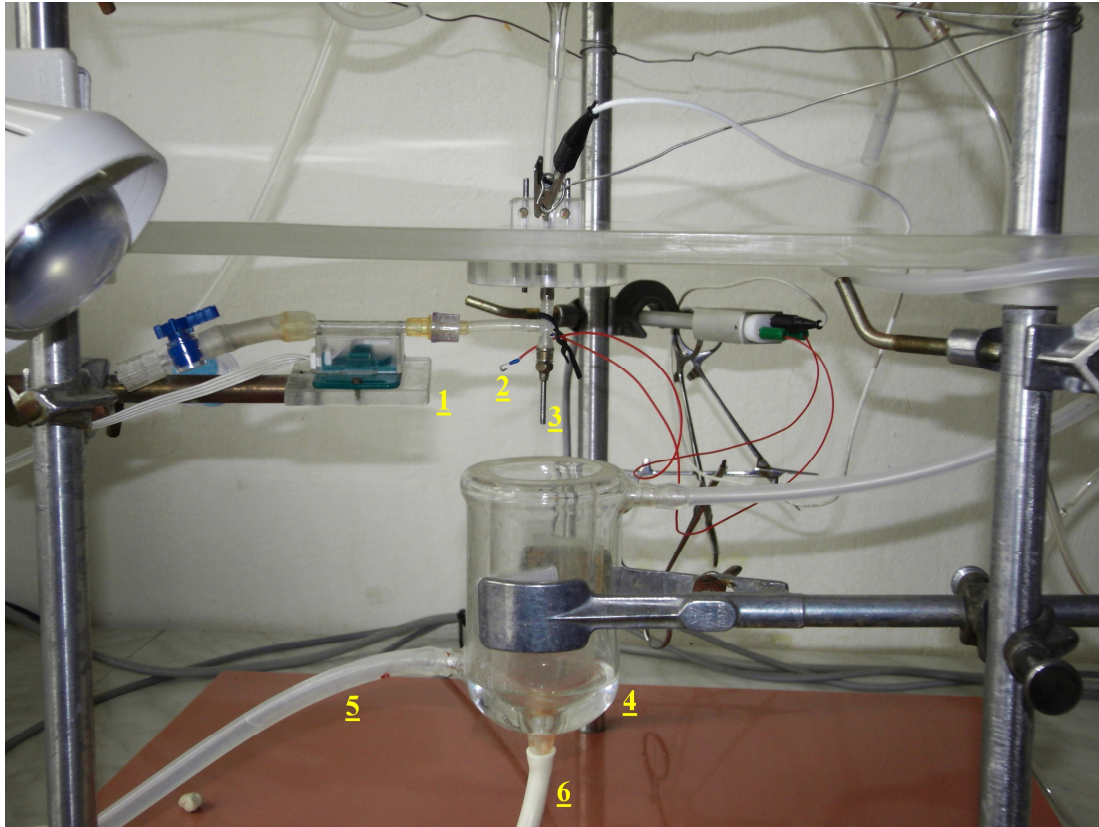
$$\Rightarrow \log HW \text{ (mg)} = 1,042 \times \log BW \text{ (g)} + 0,309.$$

Koronární průtok (coronary flow, CF) jsme kontrolně měřili ve zvolených časových intervalech jako množství perfuzního roztoku vytékajícího ze srdce; hodnoty jsme normalizovali na hmotnost srdce. Po celou dobu perfuze izolovaného srdce v perfuzním aparátu bylo srdce kryto skleněnou kádinkou, do níž odkapával perfuzní roztok a v jejíž stěně byla aktivním oběhem vody udržována konstantní teplota 37 °C (obr. č. 5).

Střední perfuzní tlak jsme měřili v postranním rameni aortální kanyly, připojeným k tlakovému převodníku (HP 1280; Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA). Epikardiální elektrogram jsme zaznamenávali pomocí dvou platinových elektrod, umístěných v oblasti pravé síně a srdečního hrotu. Elektrogram i hodnoty středního perfuzního tlaku byly kontinuálně zaznamenávány (HP 7702B; Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) a ukládány do počítače.

4.4.2. Protokol regionální ischemie a reperfuze myokardu

První částí protokolu byla 25minutová fáze stabilizace (obr. č. 6). Poté následovala 45minutová regionální ischemie. Tu jsme vyvolali podvazem sestupné větve levé koronární tepny (*ramus interventricularis anterior*, RIA) pomocí šicího vlákna z hedvábí (průměr 0,6 mm), které jsme podvlékli atraumatickou jehlou ve vzdálenosti 1 mm od odstupu RIA z levé koronární tepny; oba konce vlákna jsme provlékli krátkou polyetylenovou kanylou. Regionální ischemii jsme vyvolali tlakem kanyly proti tepně v místě jejího podvazu s uchycením kanyly na šicím hedvábném vláknu chirurgickou svorkou. Ischemii jsme považovali za adekvátní (úplné přerušení průtoku koronární tepnou) v případě okamžitého odpovídajícího vzestupu středního perfuzního tlaku. Po 45 min. jsme podvaz koronární tepny uvolnili; potom následovala 60minutová reperfuze fáze.



Obrázek č. 5. Detailní pohled na místo zavěšení izolovaného srdce: tlakový převodník (1); platinové elektrody (2); aortální kanyla (3); skleněná krycí kádinka (4) temperovaná cirkulující vodou o konstantní teplotě (5) s odvodem perfuzátu (6) [Oddělení vývojové kardiologie, FgÚ AV ČR, Praha].

Navození APC izofluranem	inhalace izofluranu		wash-out interval	
	1 min.	12 min.	1 min.	30 min.
	2,5 %	0,5/1 MAC	komora	mimo komoru
Ischemicko-reperfuzní poškození myokardu	stabilizace	regionální ischemie	reperfuze	
	25 min.	45 min.	60 min.	

Obrázek č. 6. Detailní časové schéma experimentálního protokolu.

4.4.3. Hodnocení arytmií

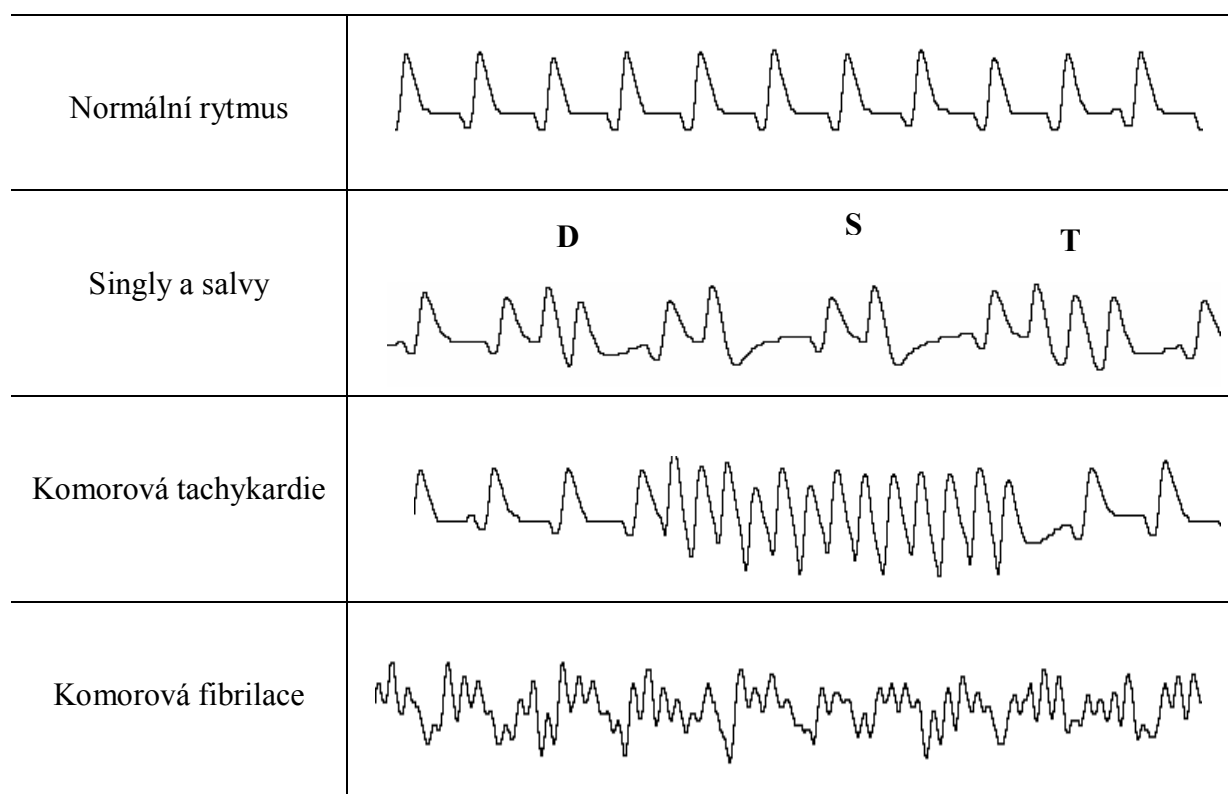
Komorové arytmie jsme sledovali během 45minutové regionální ischemie a po dobu prvních 15 min. reperfuze. Elektrogram jsme po skončení experimentu vyhodnocovali speciálním počítačovým programem, vytvořeným v naší laboratoři (Cardiac Arrhythmias Analyser [CAA] verze 2.6); z elektrogramu byla vypočítávána také srdeční frekvence. Arytmie jsme hodnotili podle Lambethské konvence (Walker *et al.*, 1988) jako (obr. č. 7):

=> jednoduché předčasné komorové stahy (singles);

=> dvojité a trojité komorové stahy následující těsně po sobě (salvy);

=> komorová tachykardie: čtyři a více po sobě jdoucí předčasné komorové stahy (VT);

=> komorová fibrilace (VF).



Obrázek č. 7. Jednotlivé typy komorových arytmií. S, jednoduchý předčasný komorový stah (single); D, dvojité a T, trojitý předčasný komorový stah (salvy).

Dále jsme hodnotili počet, výskyt a dobu trvání epizod komorové tachykardie a fibrilace. Komorovou fibrilaci delší než 2 min. jsme 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, který se u daného srdce vyskytl: singles – 1, salvy – 2, VT – 3, VF – 4, trvalá VF – 5. Skóre bylo přiděleno jak za fázi regionální ischemie, tak následující reperfuze. V případě trvalé VF během regionální ischemie jsme srdce vyřadili z další analýzy.

4.4.4. Stanovení velikosti infarktu myokardu

Velikost IM jsme stanovili histochemickým barvením tetrazoliovými solemi (Neckář *et al.*, 2002; Netuka, 2009). Na konci 60minutové reperfuzní fáze jsme po reokluzi RIA vymezili oblast ohroženou regionální ischemií (area at risk, AR) obarvením normálně perfundované tkáně 2 ml 5% manganistanu draselného (KMnO₄; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) rozpuštěného ve vodě a podaného do aortální kanyly. Silný oxidační účinek manganistanu zbarvil trvale perfundovanou tkáň do černohněda; z manganistanu vznikl oxid manganičitý. Potom jsme dokonale vypláchli přebytečný manganistan ze srdečních dutin a koronárních tepen 10 ml fyziologického roztoku. Důvodem pro výplach je riziko vzniku sraženin z přebytečného manganistanu v průběhu barvení tetrazoliem s následným uzavřením kapilár, což by mohlo bránit průniku tetrazoliových solí do tkáně. Následně jsme uvolnili okluzi RIA.

Obarvení přežívající tkáně v ohrožené oblasti myokardu jsme zajistili podáním 10 ml 1% roztoku 2,3,5-trifenyltetrazolium chloridu (TTC; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) rozpuštěného ve fosfátovém pufru (0,1 mol/l; pH 7,4); následovala 30minutová inkubace srdce v efluentu TTC.

V dalším kroku jsme ze srdce odstranili zbytky tkáně síní. Srdce jsme osušili a zmrazili. Potom jsme oddělili srdeční bázi řezem vedeným v bazální části komor těsně pod atrioventrikulární chlopní, a to kolmo na podélnou osu levé komory. Toto oddělení srdeční báze určilo rovinu pro následující řezy, kterými jsme srdce rozdělili na 1 mm silné řezy (celkem 6 – 8 řezů); ty jsme uložili do 10% neutrálního roztoku formaldehydu. Následující den jsme z jednotlivých řezů odstranili tkáň pravé komory. Digitálním fotografickým přístrojem (Nikon D50; Nikon, Tokio, Japonsko) jsme při konstantním osvětlení laboratorní lampou vyfotografovali všechny řezy z apikální i bazální strany s výjimkou apexu, který byl fotografován pouze z jedné strany; použili jsme makro režim přístroje.

Barvení manganistanem a TTC nám umožnilo na snímcích jednotlivých řezů jednoznačně odlišit tři různé oblasti srdeční tkáně (obr. č. 8). Trvale perfundované oblasti obarvené manganistanem mají černohnědou barvu; karmínově červená barva (TTC pozitivní) charakterizuje tkáň zásobenou RIA, která přežila 45minutovou ischemii, a místa se světle béžovou až bílou barvou (TTC negativní) odpovídají nekrotické oblasti (infarct size, IS).

Velikosti jednotlivých oblastí (IS, AR) i celé levé komory (LV) jsme stanovili z fotografií všech řezů počítačovou planimetrickou metodou jako součet velikosti ploch v jednotlivých řezech (Csonka *et al.*, 2010). Využili jsme programové vybavení Ellipse verze 2.04 pro MS Windows (ViDiTo, Košice, Slovensko); k vymezení jednotlivých oblastí jsme použili pravoúhlou síť bodů (nástroj Point Grid) s takovou hustotou, že celá plocha LV (součet ve všech řezech) byla reprezentována 3000 – 4000 body (Neckář *et al.*, 2012). Oblast ohrožená regionální ischemií (AR) se skládá z letálně poškozené tkáně (IS) a buněk, které přežily na rozhraní s normálně perfundovanou tkání. Velikost ohrožené oblasti jsme vztahovali k celkové velikosti levé komory (AR/LV); velikost letálně postižené oblasti jsme vztahovali k velikosti ohrožené oblasti (IS/AR) a levé komory (IS/LV).



Obrázek č. 8. Příčný řez myokardem levé komory laboratorního potkana po histochemickém barvení tetrazoliovými solemi pro stanovení velikosti infarktu myokardu (Oddělení vývojové kardiologie, FgÚ AV ČR, Praha).

4.5. KLINICKÁ ANALÝZA

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

4.5.1. Skupiny pacientů

Ze skupiny pacientů, kteří podstoupili v období od ledna do září 2010 na našem pracovišti 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, kteří podstoupili elektivní CABG ve stejném období, s anestezií založenou na kombinaci sevofluranu se sufentanilem (skupina SEVO). Pacienti v obou skupinách měli stejné základní vstupní parametry, tzn. věk ≤ 75 let, LVEF ≥ 45 % a glomerulární filtraci vypočtenou rovnicí MDRD (The Modification of Diet in Renal Diseases) $> 1,0$ ml/s/1,73 m².

4.5.2. 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*e. Všechny operace byly provedeny plně kvalifikovaným kardiochirurgem. Okruh MTO byl před použitím naplněn Ringerovým roztokem (1000 ml) a 20% manitolem (250 ml), a byl do něj vřazen membránový oxygenátor; nepulzatilní krevní průtok měl standardní hodnotu 2,4 l/min./m². K ochraně myokardu byl během operace antegrádně podán studený krystaloidní kardioplegický roztok (St. Thomas; ArdeaPharma, Ševětín).

U pacientů byly v den operace v ranní medikaci vynechány inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu, antagonisté angiotenzinu II, diuretika a perorální antidiabetika. Premedikaci tvořil perorálně podaný midazolam v dávce 7,5 mg (u BW < 65 kg pouze 3,75 mg). Během celkové anestezie s endotracheální intubací byla všechna farmaka podávána intravenózně. Nervosvalová relaxace byla zajištěna cis-atrakuriem (0,2 mg/kg, potom 2 µg/kg/min). Objemově řízená umělá plicní ventilace směsí O₂ ve vzduchu (F_IO₂ = 0,5) s pozitivním přetlakem na konci výdechu (5 cm H₂O) byla vedena k dosažení koncentrace CO₂ ve vydechované směsi 35 mm Hg.

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. Analgézie byla zajištěna kombinací morfinu, ketoprofenu a paracetamolu. Po ukončení odvykání od umělé plicní ventilace byli pacienti extubováni. V případě potřeby byl kontinuálně podáván inzulin (cílová glykémie 5,5 – 8,0 mmol/l).

4.5.3. 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 (sejmutí příčné svorky z aorty se zahájením reperfuze) 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 (area under the curve, AUC).

Plazmatické koncentrace cTnI a CK-MB (mass) byly stanoveny automatickým analyzátozem (ARCHITECT STAT Troponin-I a CK-MB; Abbott Laboratories, Diagnostics Division, Abbott Park, IL, USA). Referenční rozmezí je pro cTnI 0,00 – 0,03 µg/l (analytická senzitivita \leq 0,01 µg/l) a pro CK-MB (mass) 0,0 – 7,2 µg/l (analytická senzitivita \leq 0,1 µg/l).

4.6. 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 verze 5.04 pro MS Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

4.6.1. Experimentální část

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 k nalezení významného rozdílu mezi skupinami použili Newmanovu-Keulsovu metodu vícenásobného porovnávání.

Počet předčasných komorových stahů (premature ventricular complex, 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 k nalezení významného rozdílu Newmanovu-Keulsovu metodu vícenásobného porovnávání.

4.6.2. Klinická část

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 u jednotlivých veličin. 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.

5. VÝSLEDKY

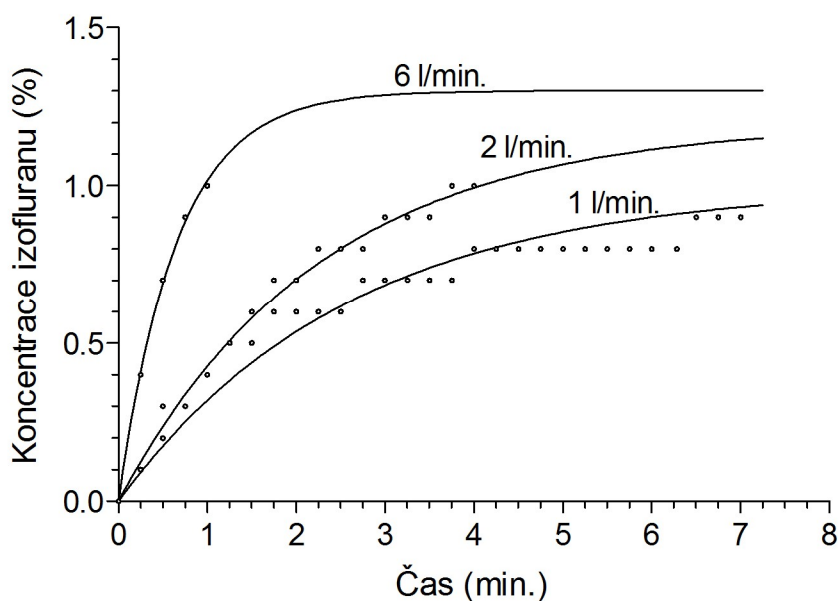
5.1. INHALAČNÍ APLIKACE IZOFLURANU

Tabulka č. 1 shrnuje naměřené hodnoty koncentrace izofluranu na výstupu odpařovače v závislosti na nastavené koncentraci na ovladači odpařovače a hodnotě průtoku nosné směsi plynů (medicinální vzduch; $F_1O_2 = 0,21$). 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 %). Naopak při nastavené koncentraci 2 % byly naměřené hodnoty identické při průtocích plynů ≥ 1 l/min., a podobně při průtocích nosné směsi plynů ≥ 3 l/min. byly naměřené koncentrace izofluranu téměř shodné s nastavenými (rozdíl $\leq 0,1$ %) již od nejnižších hodnot.

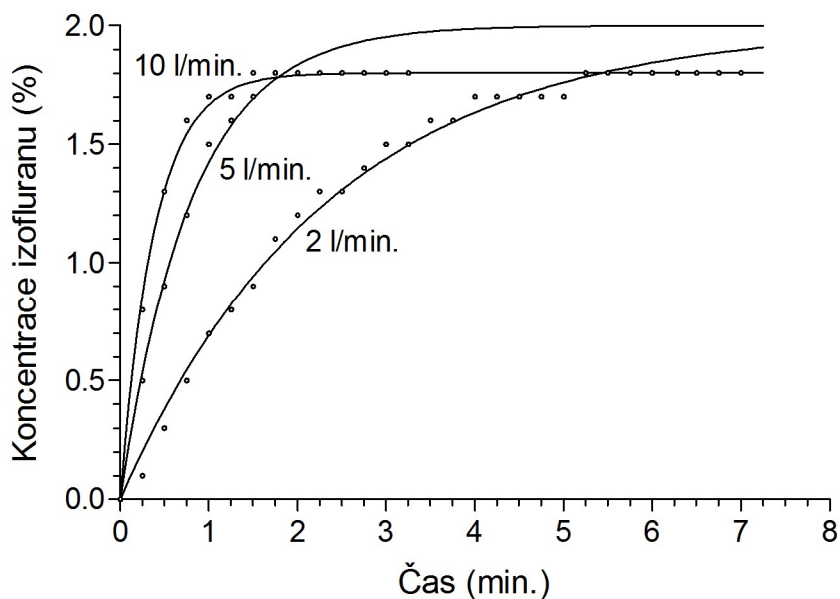
Tabulka č. 1. Naměřené koncentrace izofluranu na výstupu odpařovače v závislosti na nastavené koncentraci na odpařovači a hodnotě průtoku medicinálního vzduchu.

Nastavená koncentrace (%)		0,75	1,3	1,6	2,0
Průtok (l/min.)	0,5	0,3	0,8	1,2	1,7
	1,0	0,5	1,0	1,5	2,0
	1,5	0,5	1,1	1,6	2,0
	2,0	0,6	1,2	1,6	2,0
	3,0	0,7	1,2	1,6	2,0
	6,0	0,7	1,3	1,6	2,0
Naměřená koncentrace (%)					

Naměřené hodnoty koncentrace izofluranu v komoře při konstantní nastavené koncentraci na odpařovači v závislosti na délce podávání jsou znázorněny v grafech č. 1 a 2; křivky byly aproximovány z hodnot jednotlivých měření nelineární metodou nejmenších čtverců. Z grafů je zřejmé, že koncentrace izofluranu v komoře výrazně závisela na průtoku nosné směsi plynů a délce aplikace inhalačního anestetika. Vyšší průtoky nosné směsi plynů vedly k rychlejšímu zvyšování koncentrace izofluranu v komoře. Při průtocích nosné směsi plynů ≤ 2 l/min. byly výsledné křivky koncentrace izofluranu málo strmé, což odpovídá velmi pomalému zvyšování koncentrace izofluranu v komoře.



Graf č. 1. Změna koncentrace izofluranu v komoře v závislosti na délce aplikace při 1,3% koncentraci nastavené na odpařovači a různém průtoku nosné směsi plynů (medicínální vzduch; 1, 2 a 6 l/min.).



Graf č. 2. Změna koncentrace izofluranu v komoře v závislosti na délce aplikace při 2% koncentraci nastavené na odpařovači a různém průtoku nosné směsi plynů (medicínální vzduch; 2, 5 a 10 l/min.).

Vliv izofluranu na srdeční frekvenci a výměnu krevních plynů při spontánní ventilaci byl ověřen u vzorku 6 laboratorních potkanů. Hodnoty naměřené po ukončení aplikace izofluranu v komoře (2,5% koncentrace izofluranu po dobu 1 min. při průtoku medicínálního vzduchu 5 l/min., následovaná aplikací koncentrace 1,3 % po dobu 12 min.; první 2 min. při průtoku vzduchu 5 l/min. a dalších 10 min. při průtoku 3 l/min.) 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.

5.2. ECHOKARDIOGRAFICKÁ MĚŘENÍ

5.2.1. Anatomické parametry levé komory

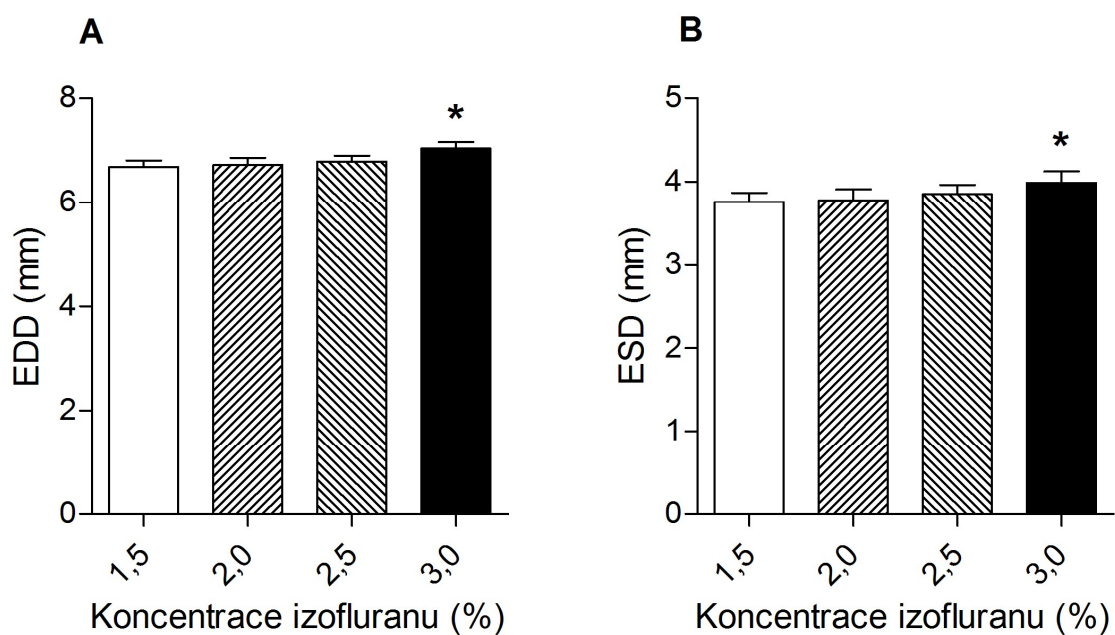
Použité koncentrace izofluranu významně neovlivnily tloušťku přední a zadní stěny levé komory ani relativní tloušťku stěny (tab. č. 2).

Tabulka č. 2. Tloušťka přední a zadní stěny a relativní tloušťka stěny levé komory při různých koncentracích izofluranu.

Izofluran (%)	1,5	2,0	2,5	3,0
AWT_d (mm)	1,5 ± 0,02	1,5 ± 0,03	1,5 ± 0,02	1,5 ± 0,03
AWT_s (mm)	2,5 ± 0,05	2,5 ± 0,06	2,4 ± 0,05	2,4 ± 0,06
PWT_d (mm)	1,7 ± 0,05	1,7 ± 0,05	1,6 ± 0,05	1,6 ± 0,04
PWT_s (mm)	2,7 ± 0,04	2,7 ± 0,05	2,6 ± 0,05	2,6 ± 0,05
RWT	0,47 ± 0,015	0,47 ± 0,019	0,45 ± 0,012	0,43 ± 0,011

AWT, tloušťka přední stěny; PWT, tloušťka zadní stěny; d, konec diastoly; s, konec systoly; RWT, relativní tloušťka stěny

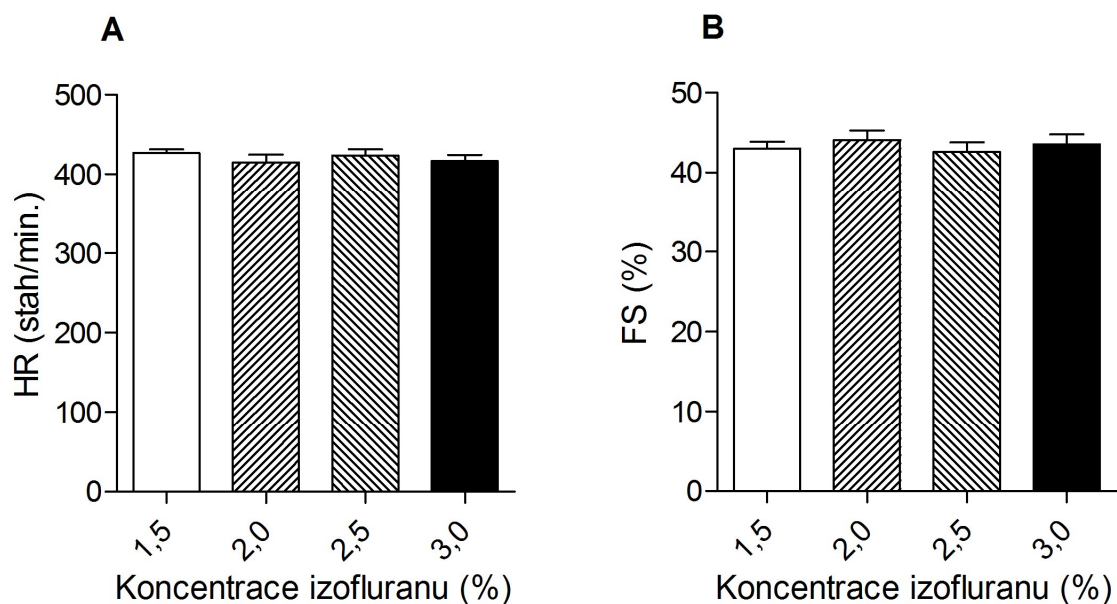
Koncentrace izofluranu v rozmezí 1,5 – 2,5 % neměla vliv na EDD levé komory (graf č. 3A), ale při anestezii 3% koncentrací izofluranu byl EDD významně větší než při nižších koncentracích. Stejná závislost byla zaznamenána u ESD levé komory (graf č. 3B), kdy hodnoty naměřené při 3% koncentraci izofluranu byly významně větší. Podobný vztah byl zachycen i pro EDV se vzestupem hodnot s rostoucí koncentrací izofluranu, ale významným rozdílem pouze u 3% koncentrace ($233,8 \pm 8,64$, $239,5 \pm 10,68$ a $242,7 \pm 8,28$ vs. $258,4 \pm 7,79$ μl ; $p = 0,0022$).



Graf č. 3. Rozměry levé komory při různé koncentraci izofluranu. A: Průměr na konci diastoly (EDD). B: Průměr na konci systoly (ESD). * $p < 0,05$ vs. nižší koncentrace.

5.2.2. Funkční parametry levé komory

Průměrné hodnoty srdeční frekvence se u jednotlivých použitých koncentrací izofluranu nelišily (graf č. 4A). Koncentrace izofluranu neměla také vliv na frakční zkrácení levé komory (graf č. 4B).



Graf č. 4. Funkční parametry levé komory při různé koncentraci izofluranu. A: Srdeční frekvence (HR). B: Frakční zkrácení (FS).

5.3. ISCHEMICKO-REPERFUZNÍ POŠKOZENÍ MYOKARDU

Výchozí hodnoty srdeční frekvence a perfuzního tlaku se mezi kontrolní skupinou a skupinami srdcí ovlivněných izofluranem (APC) významně nelišily. Zatímco srdeční frekvence se v průběhu celého experimentu neměnila, perfuzní tlak se okamžitě po okluzi koronární tepny (RIA) významně zvýšil, a na této vyšší úrovni zůstal po celou dobu regionální ischemie. Se zahájením reperfuze po uvolnění okluze koronární tepny se hodnoty perfuzního tlaku vrátily na preischemické hodnoty. V závěru reperfuze byl perfuzní tlak vyšší než před ischemií, ale nižší než v průběhu ischemie. Výše popsané změny byly srovnatelné ve všech skupinách; jsou shrnuty v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3. Koronární průtok (CF), srdeční frekvence a střední perfuzní tlak v různých časových okamžicích během 45minutové regionální ischemie a 60minutové reperfuze u kontrol a srdcí ovlivněných APC izofluranem.

	n	CF (ml/min./g)	Srdeční frekvence (stah/min.)				Perfuzní tlak (mm Hg)				
			před ischemií	ischemie		reperfuze	před ischemií	ischemie		reperfuze	
				5 min.	45 min.	10 min.		5 min.	45 min.	10 min.	60 min.
Kontroly	20	10,1 ± 0,1	259 ± 4	255 ± 4	263 ± 4	253 ± 4	49,3 ± 1,9	71,3 ± 2,4*	70,1 ± 2,5*	51,4 ± 1,8§	59,5 ± 1,6*§
0,5 MAC	17	10,2 ± 0,2	256 ± 4	258 ± 4	263 ± 5	252 ± 4	49,5 ± 1,7	70,8 ± 2,1*	69,9 ± 2,5*	51,3 ± 1,7§	56,4 ± 1,7*§
1 MAC	17	10,0 ± 0,1	256 ± 4	251 ± 3	263 ± 3	256 ± 3	51,4 ± 1,7	72,3 ± 2,0*	71,5 ± 2,0*	52,9 ± 1,7§	56,8 ± 1,6*§

* $p < 0,05$ vs. preischemické hodnoty; § $p < 0,05$ vs. hodnoty po 5 a 45 min. ischemie

5.3.1. Ischemické arytmie

V preischemické fázi byl rytmus u všech srdcí pravidelný a bez arytmií. Podvaz koronární tepny vyvolal komorové arytmie s maximem mezi 10. a 20. min. regionální ischemie. Tabulka č. 4 podrobně analyzuje komorové arytmie během 45minutové ischemie: počet předčasných komorových stahů (PVC) v jednotlivých formách, výskyt VT, reverzibilní a trvalé VF, a také počet jednotlivých epizod a celkové trvání VT a reverzibilní VF.

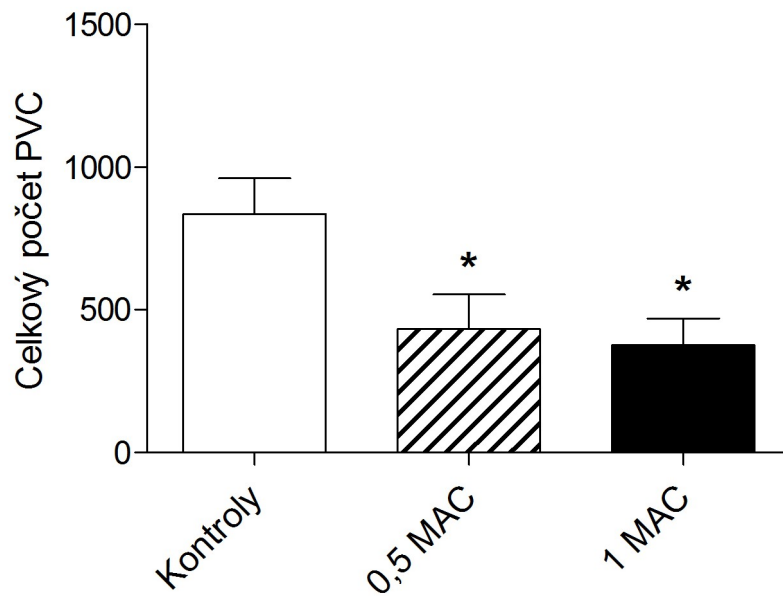
APC izofluranem v obou použitých koncentracích významně snížil celkový počet PVC (graf č. 5), stejně jako počet salv a VT. Dominujícím typem komorových arytmií byla ve všech skupinách VT. Zatímco incidence VT se mezi skupinami nelišila, APC izofluranem významně snížil počet PVC vyskytujících se jako VT, spolu s počtem epizod a celkovým trváním VT. APC izofluranem dále snížil incidenci reverzibilní i trvalé VF; pokles byl signifikantní pouze u koncentrace 1 MAC, kdy se epizody VF vůbec nevyskytly. V porovnání s kontrolní skupinou byl ve skupinách APC oběma koncentracemi izofluranu počet epizod reverzibilní VF nižší a její celkové trvání významně kratší. Celkové potlačení komorových arytmií během regionální ischemie účinkem APC izofluranem je znázorněno v grafu č. 6 jako významný pokles arytmiického skóre.

Maximum komorových arytmií se vyskytovalo ve všech skupinách mezi 10. a 20. min. regionální ischemie. APC izofluranem ovlivnil rozdělení PVC v průběhu 45minutové ischemie (graf č. 7) tak, že výskyt prvního PVC po podvazu koronární tepny byl významně opožděn proti kontrolní skupině ($8,4 \pm 0,2$ a $8,5 \pm 0,2$ vs. $3,0 \pm 0,3$ min.; $p < 0,0001$), a mediánový PVC se vyskytl také významně později než u kontrolní skupiny ($15,2 \pm 0,1$ a $15,2 \pm 0,1$ vs. $14,5 \pm 0,1$ min.; $p = 0,002$).

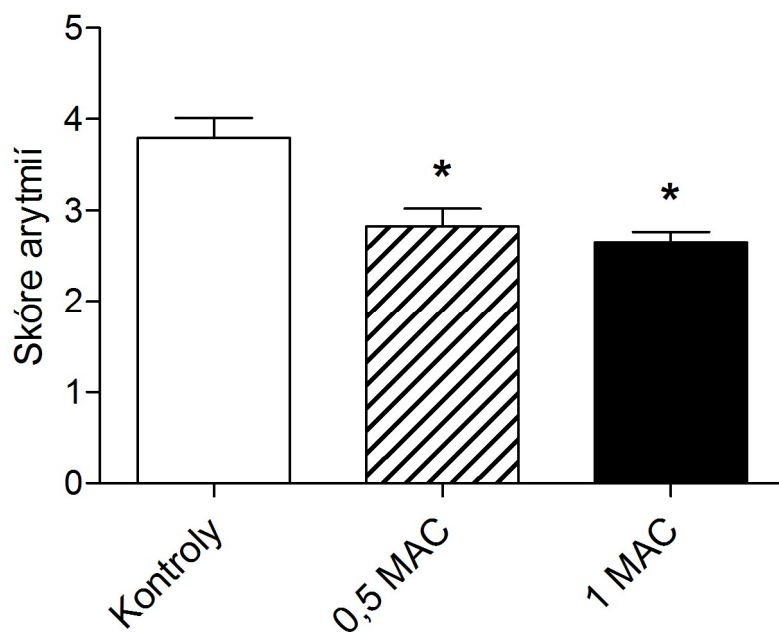
Tabulka č. 4. Počet předčasných komorových komplexů (PVC), incidence komorových tachykardií (VT) a reverzibilních a trvalých komorových fibrilací (VFr a VFs), počet epizod a celkové trvání VT a VFr, a počet srdcí s trvalou VF v průběhu 45minutové regionální ischemie u kontrol a srdcí ovlivněných APC izofluranem.

	n	Počet PVC			Incidence (%)			Počet epizod		Trvání (s)		n VFs
		Singly	Salvy	VT	VT	VFr	VFs	VT	VFr	VT	VFr	
Kontroly	20	143 ± 26	131 ± 18	563 ± 120	92,9	35,7	30,0	26,6 ± 6,0	1,7 ± 0,8	51,8 ± 11,5	16,5 ± 6,8	6
0,5 MAC	17	130 ± 23	70 ± 22*	232 ± 106*	62,5	6,3	5,9	11,0 ± 5,1*	0,06 ± 0,06*	21,0 ± 9,8*	0,8 ± 0,8*	1
1 MAC	17	113 ± 24	62 ± 16*	201 ± 92*	64,7	0*	0*	9,0 ± 4,1*	0*	18,1 ± 8,2*	0*	0*

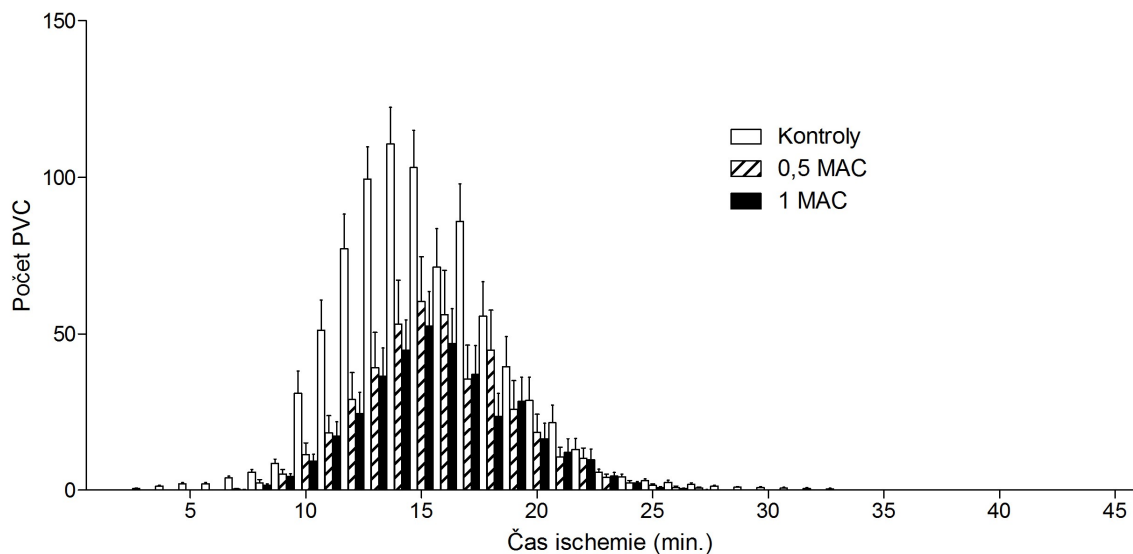
* $p < 0,05$ vs. kontrolní skupina



Graf č. 5. Celkový počet předčasných komorových stahů (PVC) v průběhu 45minutové ischemie u kontrol a srdcí ovlivněných APC izofluranem. * $p < 0,05$ vs. kontroly.



Graf č. 6. Skóre arytmii po 45minutové regionální ischemii u kontrol a srdcí ovlivněných APC izofluranem. * $p < 0,05$ vs. kontroly.



Graf č. 7. Distribuce předčasných komorových stahů (PVC) v průběhu 45minutové regionální ischemie u kontrolních srdcí a po APC vyvolaným izofluranem.

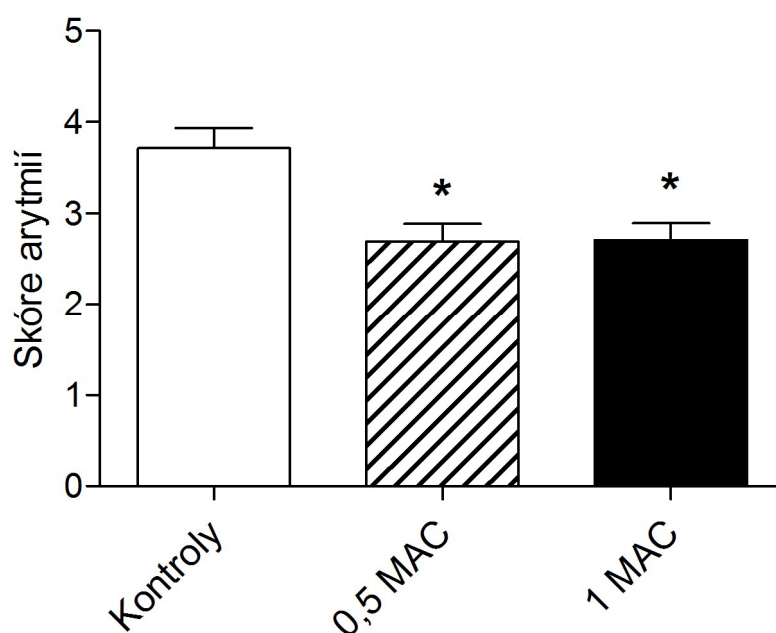
5.3.2. Reperfuční arytmie

Uvolnění podvazu koronární tepny vyvolalo komorové arytmie s maximálním výskytem v prvních 5 – 10 min. reperfuze. Výskyt komorových arytmií v průběhu prvních 15 min. 60minutové reperfuze shrnuje tabulka č. 5. Počet srdcí analyzovaných během reperfuze byl menší z důvodu výskytu trvalé VF v průběhu regionální ischemie (parametr nVFs v tab. č. 4). APC izofluranem významně snížil incidenci VT a reverzibilní VF. Pokles incidence trvalé VF však nedosáhl statistické významnosti ani u jedné z koncentrací izofluranu, použitých k navození APC. Celkové potlačení komorových arytmií v průběhu reperfuze účinkem APC izofluranem je znázorněno v grafu č. 8 jako významný pokles arytmiického skóre.

Tabulka č. 5. Incidence komorových tachykardií (VT) a reverzibilních a trvalých komorových fibrilací (VFr a VFs) během prvních 15 min. reperfuze u kontrol a srdcí ovlivněných APC izofluranem.

	n	Incidence (%)			nVFs
		VT	VFr	VFs	
Kontroly	14	91,7	58,3	14,3	2
0,5 MAC	16	50*	18,8*	0	0
1 MAC	17	52,9*	17,6*	0	0

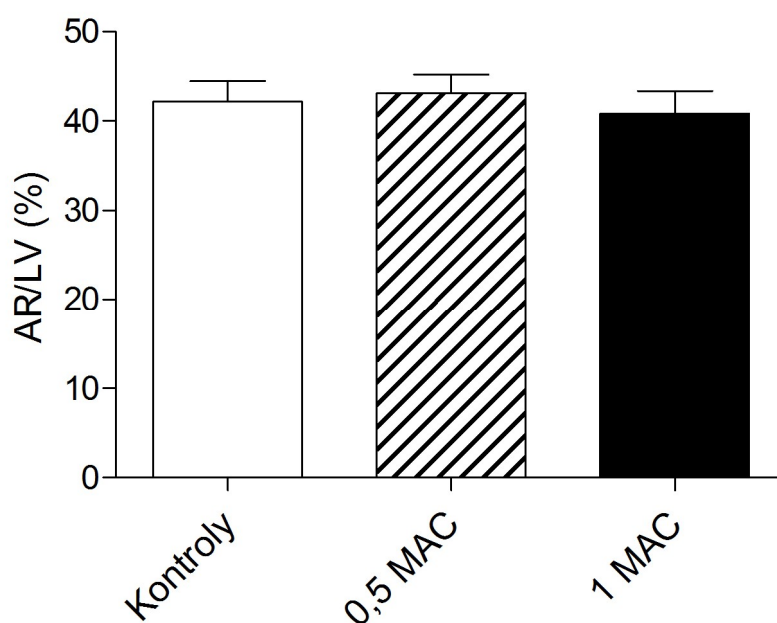
* $p < 0,05$ vs. kontrolní skupina



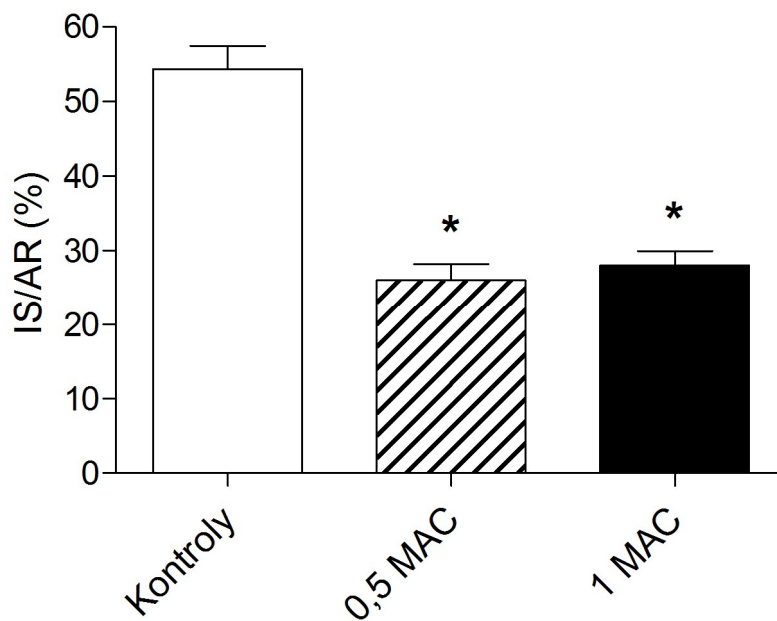
Graf č. 8. Skóre arytmií po 60minutové reperfuzi u kontrol a srdcí ovlivněných APC izofluranem. * $p < 0,05$ vs. kontroly.

5.3.3. Velikost infarktu myokardu

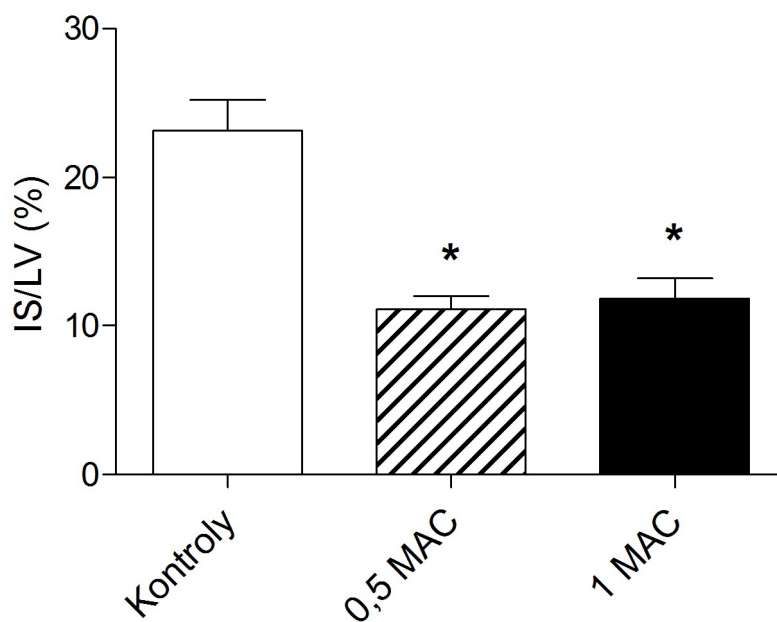
Velikost infarktové oblasti (IS) byla vyhodnocena u srdcí, u nichž byla dokončena celá fáze 60minutové reperfuze (viz tab. č. 5; 12 srdcí v kontrolní skupině, 16 ve skupině APC 0,5 MAC a 17 srdcí ve skupině APC 1 MAC izofluranu). Velikost oblasti ohrožené ischemií (AR) vztažená k velikosti levé komory (LV) se mezi skupinami nelišila (graf č. 9). Velikost IS, vyvolané podvazem koronární tepny s následnou 45minutovou ischemií, vztažená k velikosti AR (graf č. 10) a LV (graf č. 11), byla významně menší u APC vyvolaného izofluranem, a to srovnatelně u obou použitých koncentrací.



Graf č. 9. Velikost oblasti ohrožené ischemií (AR) vztažená k velikosti levé komory (LV) u kontrolních srdcí a po APC vyvolaným izofluranem.



Graf č. 10. Velikost infarktové oblasti (IS) vztažená k velikosti oblasti ohrožené ischemií (AR) u kontrolních srdcí a po APC vyvolaným izofluranem. * $p < 0,05$ vs. kontroly.



Graf č. 11. Velikost infarktové oblasti (IS) vztažená k velikosti levé komory (LV) u kontrolních srdcí a po APC vyvolaným izofluranem. * $p < 0,05$ vs. kontroly.

5.4. KLINICKÁ ANALÝZA

5.4.1. Předoperační parametry

Skupinu SEVO tvořilo 21 pacientů a skupinu KET-DEX 17 pacientů. Skupiny se významně nelišily v základních předoperačních parametrech (tab. č. 6) ani chronické farmakoterapii kardiovaskulárního systému (tab. č. 7). Obě skupiny zahrnovaly pacienty s nízkým operačním rizikem, které bylo stanoveno skórovacím systémem EuroSCORE (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation) (Nashef *et al.*, 1999; Roques *et al.*, 1999), s maximální logistickou hodnotou 5,9 ve skupině KET-DEX a 6,3 ve skupině SEVO (tab. č. 7).

Tabulka č. 6. Základní předoperační parametry pacientů s anestezií sevofluran-sufentanil (SEVO) a ketamin-dexmedetomidin (KET-DEX).

	SEVO (n = 21)	KET-DEX (n = 17)
Věk (roky)	66,5 ± 7,4	62,9 ± 8,7
Pohlaví (M/Ž [%])	81,0 / 19,0	88,2 / 11,8
BMI (kg/m²)	29,3 ± 4,1	28,8 ± 4,8
GF (ml/s)	1,35 ± 0,29	1,25 ± 0,25
Diabetes mellitus (%)	33,3	29,4
- Inzulín (%)	9,5	11,8
- PAD (%)	23,8	17,6
- Deriváty sulfonylurey (%)	9,5	5,9

BMI, body mass index; GF, glomerulární filtrace vypočtená rovnicí MDRD (The Modification of Diet in Renal Diseases); PAD, perorální antidiabetika

Tabulka č. 7. Základní předoperační parametry kardiovaskulárního systému u pacientů s anestezií sevofluran-sufentanil (SEVO) a ketamin-dexmedetomidin (KET-DEX).

	SEVO (n = 21)	KET-DEX (n = 17)
Arteriální hypertenze (%)	57,1	64,7
Infarkt myokardu v anamnéze (%)	52,4	58,8
LVEF (%)	56 ± 7	59 ± 9
<i>Chronická kardiovaskulární medikace</i>		
- Beta-blokátory (%)	82,4	81,0
- Blokátory kalciových kanálů (%)	28,6	35,3
- ACEI (%)	52,4	47,1
- Kličková diuretika (%)	19,1	23,5
- Statiny (%)	81,0	88,2
Logistické EuroSCORE	2,1 (1,3 – 3,9)	1,7 (1,2 – 3,2)

LVEF, ejekční frakce levé komory; ACEI, inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu; EuroSCORE, European System for Cardiac Operation Risk Evaluation

5.4.2. Perioperační klinické údaje

Tabulka č. 8 shrnuje nejdůležitější údaje z průběhu operace. 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.

Tabulka č. 8. Údaje z operačního sálu u pacientů s anestezií sevofluran-sufentanil (SEVO) a ketamin-dexmedetomidin (KET-DEX).

	SEVO (n = 21)	KET-DEX (n = 17)
NTG infuze před MTO (%)	14,3	29,4
Délka MTO (min)	71,0 ± 18,7	74,4 ± 13,5
Délka AXC (min)	42,4 ± 14,3	41,5 ± 12,1
Počet aortokoronárních bypassů	4 (3 – 4)	3 (3 – 4)
Počet defibrilačních výbojů	1 (1,0 – 1,5)	1 (0 – 1,5)
Inotropní podpora po MTO (%)	14,3	11,8
Kardiostimulace po MTO (%)	19,1	23,5

NTG, nitroglycerin; MTO, mimotělní oběh; AXC, příčná svorka na aortu

Pacienti v obou skupinách byli hospitalizováni na pooperačním oddělení intenzivní péče převážně do dopoledne prvního pooperačního dne. Další důležité klinické údaje, které charakterizují pooperační průběh, jsou uvedeny v tabulce č. 9. Doba do extubace (odpojení od umělé plicní ventilace) byla statisticky významně kratší u pacientů ve skupině KET-DEX. Počet pacientů, kteří vyžadovali po operaci farmakologickou podporu oběhu (dobutamin ≤ 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min.}$, noradrenalin $\leq 0,1$ $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min.}$) a kardiostimulaci (při srdeční frekvenci $\leq 60/\text{min.}$), se mezi oběma skupinami významně nelišil. Časný výskyt fibrilace síní v průběhu léčby na pooperačním oddělení intenzivní péče i její celkový výskyt v průběhu celého pooperačního období byl v obou skupinách srovnatelný. Krátkodobá psychická agitovanost nebo zmatenost byla zachycena u jednoho pacienta v každé skupině. U žádného pacienta nebyla zaznamenána vážná komplikace a v průběhu 30 dnů po operaci žádný pacient nezemřel.

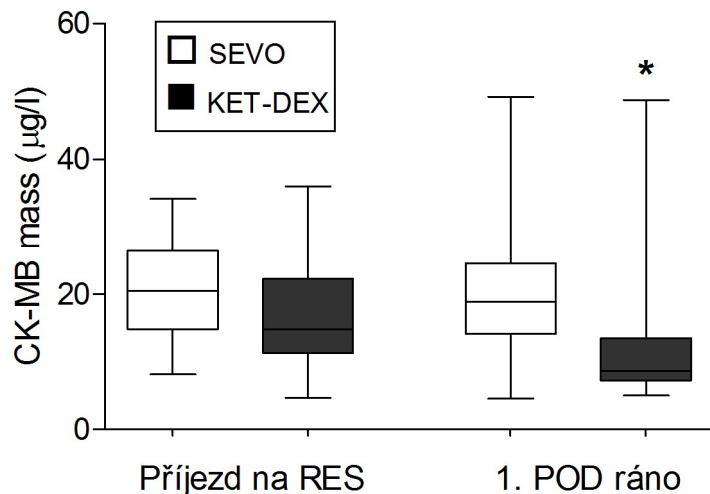
Tabulka č. 9. Klinické pooperační údaje u pacientů s anestézií sevofluran-sufentanil (SEVO) a ketamin-dexmedetomidin (KET-DEX).

	SEVO (n = 21)	KET-DEX (n = 17)
Doba do extubace (hod.)	8,3 ± 2,1	6,8 ± 2,2*
Inotropní látky (%)	9,5	5,9
Vasopresorická podpora (%)	19,0	17,7
Kardiostimulace (%)	14,3	11,8
FiS na RES (%)	19,0	23,5
FiS během hospitalizace (%)	33,3	29,4

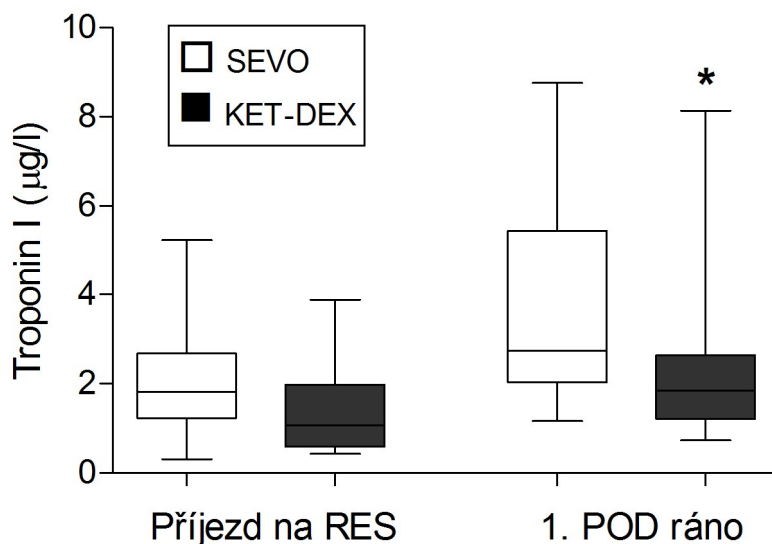
*RES, pooperační oddělení intenzivní péče; FiS, fibrilace síní; * $p < 0,05$ vs. SEVO skupina*

5.4.3. Kardiospecifické biomarkery a další biochemické parametry

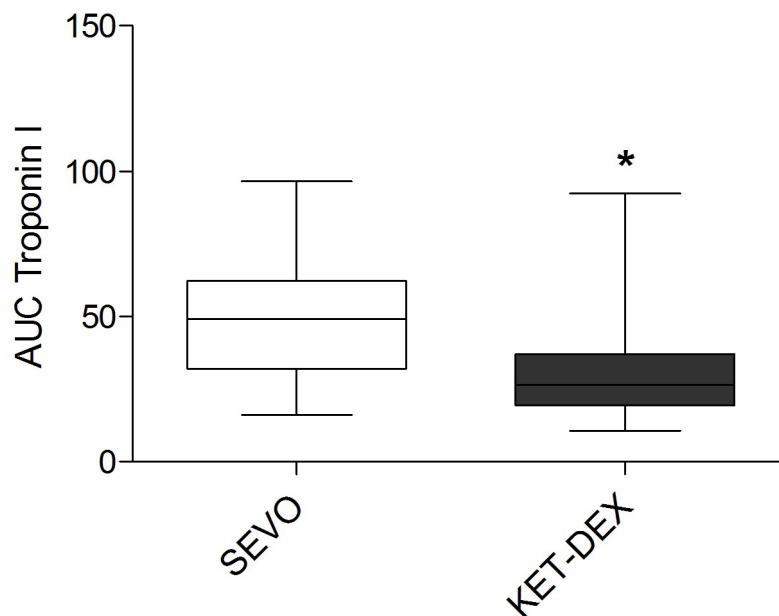
Časový interval od ukončení ischemie myokardu do doby odběru krevního vzorku ke stanovení kardiospecifických biomarkerů se mezi KET-DEX a SEVO skupinou nelišil: 114,2 ± 15,4 vs. 122,3 ± 16,8 min. ($p = 0,14$) pro odběr po příjezdu na pooperační oddělení intenzivní péče, a 1140,0 ± 47,2 vs. 1154,0 ± 42,9 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. 12). Analogická závislost byla zaznamenána pro průběh plazmatických koncentrací cTnI (graf č. 13). Plocha pod křivkou koncentrace cTnI, vytvořená z obou hodnot cTnI, byla významně menší u pacientů ve skupině KET-DEX (graf č. 14).



Graf č. 12. Plazmatické koncentrace CK-MB (mass) po příjezdu na pooperační oddělení (RES) a první pooperační den (POD) ráno u pacientů s anestezií sevofluran-sufentanil (SEVO) a ketamin-dexmedetomidin (KET-DEX). Medián, kvartilové rozpětí, nejmenší a největší hodnota; * $p < 0,05$ vs. SEVO skupina.



Graf č. 13. Plazmatické koncentrace troponinu I po příjezdu na pooperační oddělení (RES) a první pooperační den (POD) ráno u pacientů s anestezií sevofluran-sufentanil (SEVO) a ketamin-dexmedetomidin (KET-DEX). Medián, kvartilové rozpětí, nejmenší a největší hodnota; * $p < 0,05$ vs. SEVO skupina.



Graf č. 14. Plocha pod křivkou koncentrací troponinu I první pooperační den ráno u pacientů s anestezií sevofluran-sufentanil (SEVO) a ketamin-dexmedetomidin (KET-DEX). Medián, kvartilové rozpětí, nejmenší a největší hodnota; * $p < 0,05$ vs. SEVO skupina.

Koncentrace laktátu se mezi skupinami KET-DEX a SEVO po příjezdu na pooperační oddělení intenzivní péče ($1,4 \pm 0,3$ vs. $1,4 \pm 0,5$ mmol/l; $p = 0,69$), v době extubace ($1,3 \pm 0,4$ vs. $1,2 \pm 0,4$ mmol/l; $p = 0,76$) ani první pooperační den ráno ($1,3 \pm 0,3$ vs. $1,2 \pm 0,3$ mmol/l; $p = 0,4$) významně nelišily. Koncentrace bilirubinu ($11,6 [9,0 - 15,8]$ vs. $14,2 [10,7 - 20,5]$ $\mu\text{mol/l}$; $p = 0,17$), aspartát aminotransferázy ($0,85 \pm 0,23$ vs. $1,0 \pm 0,27$ $\mu\text{kat/l}$; $p = 0,08$) ani alanin aminotransferázy ($0,50 [0,40 - 0,64]$ vs. $0,64 [0,40 - 0,87]$ $\mu\text{kat/l}$; $p = 0,28$) se první pooperační den ráno mezi oběma skupinami také nelišily. Glomerulární filtrace, vypočítaná podle rovnice MDRD, byla první pooperační den ráno v obou skupinách srovnatelná ($1,26 \pm 0,33$ vs. $1,33 \pm 0,39$ ml/s/1,73 m²; $p = 0,60$); to samé platilo i pro počet leukocytů ($11,5 \pm 2,6$ vs. $13,3 \pm 3,1 \cdot 10^9/l$; $p = 0,06$).

6. DISKUZE

6.1. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1.1. Inhalační aplikace izofluranu

Jako inhalační anestetikum jsme pro imobilizaci laboratorního potkana při echokardiografickém vyšetření a pro navození APC zvolili izofluran, jednoho ze zástupců moderních inhalačních anestetik.

Před začátkem experimentů jsme si ověřili standardnost podmínek pro podávání izofluranu. Vzhledem k naměřeným hodnotám koncentrace izofluranu na výstupu odpařovače jsme v průběhu experimentů používali vyšší průtok nosné směsi plynů, v našem případě medicijnálního vzduchu (≥ 3 l/min. při použití komory a 2 l/min. v případě inhalačního nástavce), což zajistilo minimální odchylku ($\leq 0,1$ %) skutečných koncentrací na výstupu odpařovače od hodnot nastavených na ovladači. Aplikaci izofluranu jsme zahajovali vyšší koncentrací při větším průtoku medicijnálního vzduchu, protože koncentrace izofluranu v komoře výrazně závisí na průtoku nosné směsi plynů a délce aplikace; dále jsme přihlédli k vnitřnímu objemu komory (2,2 l), minutové ventilaci laboratorního potkana ($\sim 30 - 35$ ml/min/100 g) (Gross, 1994) a požadavku na co nejrychlejší imobilizaci zvířete v komoře.

V našich experimentech jsme využívali jako nosnou směs plynů medicijnální 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 $F_{I}O_2 = 0,21$ (Neckář *et al.*, 2004);
- chtěli jsme se vyhnout riziku hyperoxie *in vivo*, která má protektivní účinek na myokard potkana se zmenšením velikosti IM a menší postischemickou kontraktilní dysfunkcí při následném ischemicko-reperfuzním poškození myokardu *in vitro*; podkladem je zvýšená tvorba ROS a otevření mitoK⁺_{ATP} kanálů (Colantuono *et al.*, 2008);

- před vlastním experimentem jsme si ověřili, že hodnoty srdeční frekvence, saturace hemoglobinu kyslíkem, pH a krevních plynů, stanovené po aplikaci 2,5% koncentrace izofluranu v délce 1 min. následovanou 12minutovou aplikací izofluranu v koncentraci 1 MAC při zachované spontánní ventilaci, se nacházely v normálním rozmezí (p_aO_2 na dolní hranici normy, p_aCO_2 na horní hranici normy) pro laboratorního potkana (Gross, 1994); to odpovídá literárním údajům o vlivu izofluranu v koncentraci 1 MAC na hemodynamické parametry a krevní plyny (Eger, 1981).

Aby nebyly výsledky další části experimentu (*in vitro* model regionální ischemie-reperfuze myokardu) ovlivněny reziduální koncentrací izofluranu, následoval po navození APC wash-out interval k zajištění jeho eliminace.

6.1.2. Vliv izofluranu na echokardiografické parametry levé komory

Hlavním výsledkem našeho experimentu je zjištění, že při použití izofluranu v koncentraci $\leq 2,5\%$ (~ 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, vyjádřené jako FS.

Echokardiografické vyšetření je důležitou neinvazivní metodou k hodnocení srdeční anatomie a funkce u mnoha druhů malých laboratorních zvířat a různých modelů kardiovaskulárních onemocnění. Pro standardní vyšetření během krátkého časového intervalu je nezbytná úplná imobilizace zvířete, běžně zajišťovaná celkovými anestetiky. Nejčastěji používané anesteziologické režimy zahrnují intraperitoneální aplikaci různých anestetik (např. pentobarbitalu, tribromoetanolu nebo ketaminu s xylazinem, event. midazolamem) nebo inhalační anestezii (Plante *et al.*, 2006; Stein *et al.*, 2007).

Intravenózní anestetika (Aitkenhead, 2007) i vyšší koncentrace inhalačních anestetik (Preckel a Bolten, 2005) ovlivňují hemodynamické parametry. V předchozích experimentálních studiích byly popsány významné rozdíly v echokardiografických parametrech, získaných při použití různých anestetik. Vliv anestetik na echokardiografické parametry byl detailně popsán u myši (Hart *et al.*, 2001; Chaves *et al.*, 2001; Roth *et al.*, 2002); u stejného druhu byl také zkoumán vliv zvyšující se koncentrace inhalačních anestetik (Gentry-Smetana *et al.*, 2008). Pouze několik studií porovnávalo účinky různých anestetik používaných během echokardiografického vyšetření u laboratorních potkanů (Plante *et al.*, 2006; Stein *et al.*, 2007), nicméně vzájemné srovnání různých koncentrací inhalačních anestetik nebylo dosud popsáno.

Při porovnání anestezie izofluranem s kombinací ketaminu a xylazinu u normálních laboratorních potkanů zůstal srdeční výdej i frekvence vyšší a blíže normálním hodnotám v případě izofluranu, zatímco rozměry a systolická funkce LV nebyly volbou anestetika ovlivněny (Plante *et al.*, 2006). Stein a spol. srovnávali echokardiografické parametry u potkanů při vědomí a při anestezii izofluranem, pentobarbitalem a ketaminem s xylazinem; prokázali snížení AWT_d a vzestup EDD a EDV spolu se snížením systolické funkce vlivem izofluranu v porovnání s hodnotami získanými bez anestezie (Stein *et al.*, 2007).

Jediná studie, která porovnávala účinky různých koncentrací (0,5, 1, 2, 3, 4 a 5 %) inhalačních anestetik izofluranu a sevofluranu na echokardiografické parametry, byla provedena u laboratorních myši s primárním zaměřením na funkční parametry LV (Gentry-Smetana *et al.*, 2008). Při koncentracích izofluranu ≥ 4 % došlo k poklesu FS, snížení LVEF bylo pozorováno při koncentracích ≥ 3 % a zvětšení EDV bylo zaznamenáno při 4% koncentraci izofluranu. Hodnoty srdeční frekvence nebyly koncentrací izofluranu ovlivněny. Sevofluran způsobil, v porovnání s izofluranem, větší pokles systolické funkce LV i srdeční frekvence již při koncentracích ≥ 2 %.

Laboratorní potkani jsou považováni za vhodnější model pro lidská kardiovaskulární onemocnění než myši (Abbott, 2004). I přes vzájemnou podobnost obou modelů je mezi nimi řada výrazných anatomických, fyziologických, celulárních i genetických rozdílů. Srdeční frekvence je u myši (500 – 700 stah/min.) výrazně vyšší než u potkanů (300 – 400 stah/min.) (Gross, 1994). Stavba myokardu na buněčné úrovni se také významně liší; u myši tvoří ~ 56 % buněk myocyty a ~ 27 % buněk fibroblasty, zatímco u potkanů pouze ~ 30 % buněk tvoří myocyty a ~ 64 % buněk fibroblasty (Banerjee *et al.*, 2007). Domnívali jsme se proto, že je správné doplnit chybějící údaje pro laboratorní potkany.

Nejčastěji používanými koncentracemi izofluranu v publikovaných studiích na potkanech byly 1,5 % (Plante *et al.*, 2006; Stein *et al.*, 2007) a 2 % (Liu a Rigel, 2009). Proto jsme pro náš experiment zvolili koncentrace v rozmezí 1,5 – 3,0 %. Základní výsledky jsou podobné závěrům studie provedené na myších (Gentry-Smetana *et al.*, 2008). Všechny použité koncentrace (1,5 – 3 %) izofluranu neměly u potkanů vliv na srdeční frekvenci ani systolickou funkci LV, vyjádřenou jako FS. Pouze 3% koncentrace vedla ke zvětšení rozměrů LV (ESD, EDD a EDV), nižší koncentrace rozměry neovlivnily. Důležité metodické rozdíly mezi naším experimentem a studií na myších zahrnují pohlaví vyšetřovaných zvířat (samci potkana vs. samice myši) a časový protokol (vyšetření u potkanů jsme zahájili striktně 8 min. od začátku aplikace izofluranu; v práci na myších detailní popis časového schématu chybí). Zásadním rozdílem ve výsledcích je významný vzestup EDV již při 3% koncentraci izofluranu u potkanů oproti 4% koncentraci u myši.

Omezením našeho experimentu je skutečnost, že jsme nepoužili koncentrace izofluranu vyšší než 3 %, a proto nemůžeme vyloučit možnost, že by vedly k odlišným výsledkům. Pro vyšetření jsme zvolili běžně používané koncentrace (1,5 – 2 %) u potkana, a dvě koncentrace (2,5 a 3 %) nad tímto rozmezím. Je přitom nutno zdůraznit, že imobilizace potkana pro transtorakální echokardiografické vyšetření je dostatečná při koncentracích

izofluranu nižších než 2 MAC, přičemž 1 MAC = 1,3 % (Rampil *et al.*, 2001). Nevýhodnocovali jsme rovněž další echokardiografické parametry, charakterizující rozměry a funkci LV (plocha komory na konci systoly a diastoly a její frakční změna). Zaměřili jsme se na nejdůležitější a nejčastěji popisované parametry u laboratorních potkanů. Používali jsme striktní časový protokol, kdy vyšetření začínalo přesně 8 min. po zahájení aplikace izofluranu a trvalo 8 – 10 min.; nemůžeme vyloučit, že by prolongované podávání izofluranu mohlo vést k odlišným výsledkům. Důležitou skutečností je také to, že absolutní rozdíly v rozměrech LV mezi 3% koncentrací a nižšími koncentracemi izofluranu, i přes svou statistickou významnost, byly relativně malé. Navíc jsme použili pouze normální zdravé potkany, a proto výsledky nelze generalizovat na různé modely postižení kardiovaskulárního systému.

Výsledky našeho experimentu potvrdily hypotézu, že při použití koncentrací izofluranu $\leq 2,5$ % (~ 2 MAC) k imobilizaci laboratorních potkanů, se základní echokardiografické parametry LV u transtorakálního vyšetření neliší. Vyšší koncentrace izofluranu již mohou významně ovlivňovat rozměry LV.

6.1.3. Experimentální model regionální ischemie a reperfuze myokardu

Použili jsme standardizovaný model izolovaného perfundovaného srdce laboratorního potkana podle Langendorffa (Langendorff, 1898; Döring, 1990; Skrzypiec-Spring *et al.*, 2007; Bell *et al.*, 2011). Mezi výhody tohoto modelu patří relativní technická jednoduchost, reprodukovatelnost, výborná krátkodobá stabilita srdečního preparátu a možnost standardizovat podmínky během ischemie a následné reperfuze. Nevýhodou modelu je omezení délky experimentu; při dlouhodobé perfuzi izolovaného srdce dochází z důvodu nízké koronární rezistence a nízkého koloidně-osmotického tlaku perfuzního roztoku ke vzniku edému s následným zhoršením funkčních parametrů. Navíc interpretace poznatků

získaných v experimentech na *in vitro* modelu a jejich extrapolace do *in vivo* situací vyžaduje kritický přístup (Verdouw *et al.*, 1998).

Na izolovaném perfundovaném srdci je možné navodit dva základní typy ischemie: i) globální, při úplném přerušení krevního průtoku koronárními tepnami a ii) regionální, vyvolanou podvazem jedné koronární tepny. Globální ischemie je využívána především ke studiu kontraktlní dysfunkce, protože nedochází k interakci mezi poškozenou a nepostiženou částí myokardu; tato interakce je naopak přítomna v případě regionální ischemie. U izolovaného srdce je také možné použít přímou kardiostimulaci, která odstraní potenciální vliv rozdílné srdeční frekvence; tím jsou standardizovány pracovní podmínky myokardu. Regionální ischemie více napodobuje klinickou situaci, kdy dochází k uzávěru koronární tepny trombem. Tento typ ischemie se používá ke studiu ischemických a reperfučních komorových arytmií a velikosti vznikajícího IM. Model izolovaného perfundovaného srdce je při hodnocení arytmogeneze výhodný také z důvodu snadné manipulace a přímého měření elektrogramu na povrchu srdce.

Naši experimentální práci jsme zaměřili na vliv APC izofluranem na výskyt komorových arytmií, a proto jsme zvolili model regionální ischemie myokardu. Velikost IM (infarktové oblasti) jsme stanovili po ukončení reperfuční fáze jako míru letálního poškození kardiomyocytů. Adekvátnost regionální ischemie vyvolané podvazem RIA jsme ověřili odpovídajícím vzestupem perfuzního tlaku. Zahájení reperfuční fáze bylo doprovázeno poklesem perfuzního tlaku; na konci 60minutové reperfuční fáze jsme zaznamenali mírný vzestup perfuzního tlaku, který byl vyvolán počínajícím edémem tkání.

V uspořádání našeho experimentu jsme využili kombinaci *in vivo* a *in vitro* přístupu. Hlavní důvody pro navození APC inhalací izofluranu *in vivo* s následným *in vitro* hodnocením arytmií během regionální ischemie a reperfuze myokardu byly následující:

- negativní výsledky studie na izolovaném srdci potkanů (Martini *et al.*, 2001), ve které různé koncentrace různě dlouho *in vitro* podávaného izofluranu nenavodily APC s kardioprotektivními účinky (hodnocené jako stupeň postischemické kontraktilní dysfunkce a množství uvolněné kreatinkinázy během 1hodinové reperfuze po 30minutové globální ischemii);
- technická a finanční náročnost aplikace inhalačního anestetika do perfuzního roztoku s nezbytnou kontrolou výsledné koncentrace plynovou chromatografií (Mathur *et al.*, 1999);
- navození APC *in vivo* aplikací inhalačního anestetika je využíváno řadou dalších experimentálních skupin (Tonkovic-Capin *et al.*, 2002; Tanaka *et al.*, 2004; Lutz a Liu, 2006).

V průběhu vlastního experimentu jsme použili také pentobarbital, celkové anestetikum ze skupiny barbiturátů. Po *in vivo* navození APC izofluranem a wash-out intervalu jsme následnou celkovou anestezii, nezbytnou pro vyjmutí srdce z hrudní dutiny k další *in vitro* části experimentu, zajistili pentobarbitalem, podaným intraperitoneálně. Pentobarbital nenavozuje preconditioning před ischemicko-reperfuzním poškozením myokardu (Galagudza *et al.*, 2006), proto je velmi často využíván k anestezii laboratorních zvířat při experimentálním studiu IPC i APC.

6.1.4. 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.

Řada experimentálních prací prokázala, že inhalační anestetika mají kardioprotektivní vlastnosti (De Hert *et al.*, 2009b). Všechny studie, které zkoumaly APC, potvrdily větší odolnost myokardu k následné okluzi koronární tepny; odolnost byla srovnatelná s účinkem IPC (Murry *et al.*, 1986). APC příznivě ovlivňuje výsledné parametry ischemicko-reperfuzního poškození myokardu: zmenšuje velikost IM (Kersten *et al.*, 1997) a snižuje postischemickou kontraktální dysfunkci (Kevin *et al.*, 2003a). Studie, které se zabývaly subcelulárními mechanismy APC, odhalily aktivaci podobných nitrobuněčných struktur jako v případě IPC (Stadnicka *et al.*, 2007).

Experimentální studie také prokázaly, že IPC představuje významný ochranný faktor před komorovými arytmii, indukovanými ischemií (Kolář a Parratt, 1997; Ravingerová *et al.*, 2009) i reperfuzí myokardu (Hagar *et al.*, 1991). V případě APC upozornily některé experimentální práce na možnost antiarytmického účinku ve smyslu menšího výskytu VF během reperfuze po globální ischemii (Novalija *et al.*, 1999; Kevin *et al.*, 2003a). Tyto studie ovšem sledovaly primárně jiné parametry poškození myokardu a antiarytmický účinek APC byl popsán jako vedlejší výsledek. První studie, která se primárně zabývala vlivem APC na arytmogenezi (Kevin a Novalija, 2008), prokázala prodloužení intervalu do začátku komorových arytmii a pokles četnosti VF během 120minutové reperfuze následující po 30minutové globální i regionální ischemii; APC byl navozen 30minutovou aplikací izofluranu v koncentraci 0,5 a 1 MAC. Zmíněná studie ovšem nehodnotila arytmie během ischemické fáze. Z výše uvedených důvodů jsme naši experimentální práci zaměřili na vliv APC na výskyt komorových arytmii jako jeden z parametrů, které charakterizují ischemicko-reperfuzní poškození myokardu.

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. Časová distribuce komorových arytmií v průběhu regionální ischemie se mezi oběma koncentracemi izofluranu nelišila. Naproti tomu jiné studie prokázaly, že rozdílné koncentrace inhalačních anestetik mají různé účinky na subcelulární úrovni (Obal *et al.*, 2005b), a že rozdíly v použité dávce izofluranu ovlivnily výslednou velikost IM (Hu *et al.*, 2009). Podobně ve studii farmakologického preconditioningu adenosinem závisela velikost IM na použité koncentraci (Woolfson *et al.*, 1996). Také u IPC bylo potvrzeno, že různý počet a délka ischemických epizod vedou k různě vyjádřeným kardioprotektivním účinkům, a to včetně rozdílů v subcelulárním přenosu signálů (Miura a Iimura, 1993).

Experimentální protokoly, které se používají k navození IPC myokardu, se navzájem liší počtem a délkou ischemických epizod. Podobně v případě APC existují velké rozdíly mezi používanými protokoly ve smyslu koncentrace a délky aplikace inhalačního anestetika a následného wash-out intervalu (Kehl *et al.*, 2002b); rozdíly jsou i v míře navození ochrany myokardu a vlivu na různé subcelulární struktury, např. PKC (Obal *et al.*, 2005b). 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 (Kehl *et al.*, 2002b). Navíc koncentrace ≤ 1 MAC významně neovlivňují hemodynamické parametry ani hodnoty krevních plynů (Eger, 1981); to jsme si také ověřili před zahájením vlastní experimentální studie. Dobu aplikace jsme zvolili takovou, abychom zajistili adekvátní časový interval pro účinky izofluranu, a zároveň minimalizovali potenciální vliv izofluranu na hemodynamické a respirační parametry potkana. V předchozích studiích byl APC vyvolán již dvěma 5minutovými *in vivo* aplikacemi sevofluranu (Obal *et al.*, 2005a) a desfluranu (Toma *et al.*, 2004); v *in vitro* studii byl kardioprotektivní účinek prokázán již po dvou 2minutových aplikacích sevofluranu (Novalija *et al.*, 1999).

Při vzniku komorových arytmií během ischemie má důležitou roli vzestup vodivosti sarkolemy pro K^+ po aktivaci K^+_{ATP} kanálů, což zkracuje trvání akčního potenciálu (Deutsch *et al.*, 1991); důsledkem jsou rozdíly v repolarizaci a refrakternosti různých částí myokardu (Kupersmith *et al.*, 1994) s výslednou elektrofyziologickou heterogenitou mezi ischemickým a normálním myokardem (Rubart a Zipes, 2005). Inhalační anestetika usnadňují re-entry excitaci během ischemie myokardu (Atlee a Bosnjak, 1990); sevofluran prodlužuje trvání akčního potenciálu v buňkách srdečních komor u potkanů (Chae *et al.*, 2007) a během ischemie má proarytmogenní účinky (Hirata *et al.*, 2009). Naše experimentální práce se nezabývala subcelulárními mechanismy, které jsou přímo odpovědné za potlačení ischemicko-reperfuzních arytmií vlivem APC, tedy v situaci, kdy již není inhalační anestetikum v myokardu přítomno. Je pravděpodobné, že tyto mechanismy budou podobné jako v případě studií s APC, které sledovaly otevření $mitoK^+_{ATP}$ a $sarcK^+_{ATP}$ kanálů, ovlivnění tvorby ROS v mitochondriích a změny v aktivitě různých proteinkináz (Stadnicka *et al.*, 2007). Některé mechanismy by s velkou pravděpodobností mohly být podobné jako v případě IPC (Matejíková *et al.*, 2009).

Podkladem reperfuzních komorových arytmií, které se objevují po reoxygenaci kardiomyocytů, je přetížení buněk vápníkovými ionty (Garcia-Rivas Gde *et al.*, 2006) jako následek zvýšené tvorby ROS (Ferrari *et al.*, 2004). APC snižuje tvorbu ROS v myokardu během ischemicko-reperfuzního poškození (Kevin *et al.*, 2003b) a v mitochondriích během reperfuze (Novalija *et al.*, 2003). Četnost reperfuzních arytmií u potkana je ovlivněna také délkou předchozí ischemie; 5minutový podvaz koronární tepny vede k největšímu výskytu reperfuzních arytmií (Lawson *et al.*, 1993). 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. Vzhledem k předpokládanému výskytu trvalé VF během ischemické fáze experimentu jsme zvolili o

něco větší výchozí počet zvířat v kontrolní skupině. Dalším faktorem, který ovlivňuje četnost reperfučních arytmií, je velikost ohrožené oblasti myokardu při okluzi koronární tepny; ta ovšem byla v poměru k velikosti LV ve všech skupinách srovnatelná.

Ochrana myokardu vyvolaná APC má, podobně jako v případě IPC, dvě fáze: časnou (trvá 2 – 3 hod.) a pozdní (objevuje se po 24 hod. a přetrvává 3 – 4 dny). U potkanů byl výskyt pozdní fáze APC prokázán při použití izofluranu (Tonkovic-Capin *et al.*, 2002) i sevofluranu (Lutz a Liu, 2006). V našem experimentu jsme se zaměřili na účinky časné fáze ochrany myokardu, vyvolanou APC. Celý experiment u jednoho zvířete představoval téměř 3 hod. (není započítán krátký interval anestezie pentobarbitalem s následným odběrem a uchycením srdce k perfuznímu aparátu). APC jsme navodili *in vivo* (celkem 13 min., následoval wash-out interval v celkové délce 31 min.); potom jsme pokračovali ischemicko-reperfučním poškozením myokardu *in vitro* (25minutová stabilizace, 45minutová regionální ischemie a 60minutová reperfuze). Naše výsledky proto odrážejí antiarytmické účinky časné fáze APC navozeného izofluranem.

Při srovnávání výsledků naší práce s experimenty na jiných druzích laboratorních zvířat, event. klinickými studii, je potřeba vzít v úvahu mezidruhové rozdíly, např. v trvání akčního potenciálu kardiomyocytů; ten je nejkratší u myši (Binah *et al.*, 1987). Srdce laboratorních potkanů je ke studiu ischemicko-reperfučního poškození využíváno velmi často; důvodem je vhodná velikost, dobré možnosti chovu, minimální kolaterální krevní průtok v myokardu (Philipp *et al.*, 2005) a velký počet již provedených studií, umožňující porovnání. Mezidruhové rozdíly jsou také s největší pravděpodobností příčinou toho, že *in vivo* aplikace izofluranu u myši neovlivnila velikost IM ani nezlepšila kontraktilní dysfunkci po *in vitro* 45minutové globální ischemii následované 60minutovou reperfuzí (Galagudza *et al.*, 2006); autoři publikace nespecifikovali použitou koncentraci izofluranu. V naší práci jsme použili samce laboratorního potkana; vzhledem k prokázaným pohlavním rozdílům v citlivosti

srdečního svalu k ischemii (Ošťádal *et al.*, 2009) by mohl být protektivní účinek APC na ischemicko-reperfuzní arytmie u samic jiný.

Výsledky experimentu potvrdily naši hypotézu, že APC navozený izofluranem významně omezuje výskyt a snižuje závažnost komorových arytmií vyvolaných regionální ischemií a reperfuzí myokardu.

6.1.5. Vliv preconditioningu izofluranem na velikost infarktu myokardu

Naše výsledky potvrdily závěry studií na různých experimentálních modelech (Kersten *et al.*, 1997; Kehl *et al.*, 2002b; Kevin *et al.*, 2003a), že APC navozený inhalačními anestetiky významně zmenšuje velikost IM, který vyjadřuje míru letálního poškození kardiomyocytů ischemicko-reperfuzním poškozením.

Míra zmenšení velikosti IM se mezi jednotlivými studii liší podle použitého druhu laboratorních zvířat (potkan, myš, morče, pes), uspořádání modelu ischemicko-reperfuzního poškození (*in vivo* nebo *in vitro*) a použitého způsobu preconditioningu myokardu (IPC, APC nebo jiný farmakologický preconditioning). V *in vivo* experimentu na psech zmenšil APC navozený izofluranem velikost IM vztahenou k velikosti ohrožené oblasti na polovinu (Kersten *et al.*, 1997); velikost IM v kontrolní skupině a při použití nízkých koncentrací izofluranu (0,25 a 0,5 MAC) vykazovala inverzní závislost na míře koronárního kolaterálního průtoku (Kehl *et al.*, 2002b).

Použili jsme srdce laboratorních potkanů, které má minimální kolaterální krevní zásobení (Philipp *et al.*, 2005). Velikost ohrožené oblasti myokardu při okluzi koronární tepny vztahená 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 vztahenou 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) (Obal *et al.*, 2005b). V naší práci jsme rozdíl ve výsledné velikosti IM mezi oběma koncentracemi izofluranu (0,5 a 1 MAC), použitými k navození APC, nezaznamenali.

Cílem naší práce bylo komplexně zhodnotit vliv APC izofluranem na ischemicko-reperfuční poškození myokardu. Primárním hodnoceným parametrem byly komorové arytmie; velikost IM byla sekundárním parametrem pro ověření letálního postižení kardiomyocytů regionální ischemií s následnou reperfuzí. Vzhledem k předpokládanému výskytu trvalé VF během ischemické a reperfuční fáze jsme zvolili výchozí počty zvířat v jednotlivých skupinách tak, aby bylo možné statisticky porovnat velikost IM u dostatečného počtu srdcí.

6.2. KLINICKÁ ČÁST

Hlavním výsledkem klinické retrospektivní analýzy je zjištění, že celková anestezie, založená na kombinaci intravenózního anestetika a centrálního agonisty α_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-reperfučního 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.

Řada experimentálních studií prokázala, že inhalační anestetika mají protektivní účinky proti ischemicko-reperfučnímu poškození myokardu (De Hert *et al.*, 2009b). Klinické studie u kardiologických operací tento závěr podpořily, i když výsledky nebyly tak konzistentní jako v experimentálních podmínkách (Landoni *et al.*, 2009b). První klinická studie, která popsala APC navozený izofluranem u CABG operací, prokázala nižší pooperační koncentrace cTnI a CK-MB (Belhomme *et al.*, 1999). Údaje z 64 kardiologických center potvrdily při použití inhalačních anestetik významně nižší mortalitu korigovanou podle rizika (Bignami *et al.*, 2009). V meta-analýze, která zahrnula 32 randomizovaných studií s celkem 2841 pacienty podstupujících CABG, vedla aplikace sevofluranu nebo desfluranu k významně nižším pooperačním koncentracím cTnI (Yu a Beattie, 2006). Meta-analýza 22 kardiologických studií ukázala, že použití sevofluranu a desfluranu bylo spojeno s nižší morbiditou a mortalitou v porovnání s TIVA (Landoni *et al.*, 2007). Oproti tomu prospektivní randomizovaná klinická studie neprokázala rozdíl v pooperačních hodnotách cTnI po CABG mezi anestezií založenou na kombinaci izofluran – opioid a TIVA založenou na kombinaci propofol – opioid (Flier *et al.*, 2010).

Je známo, že kardioprotektivní účinky inhalačních anestetik mohou záviset na načasování jejich aplikace. Sevofluran byl spojen s nižšími pooperačními koncentracemi cTnI a lepším zachováním funkce myokardu v případech, kdy byl podáván během celé operace (De Hert *et al.*, 2004). Dva cykly aplikace sevofluranu, přidané k TIVA, významně snížily pooperační koncentrace cTnI v porovnání s jedním cyklem aplikace (Frassdorf *et al.*, 2009). Z výše uvedených důvodů jsme podávali sevofluran po celou dobu operace včetně fáze MTO.

Z intravenózních anestetik je velmi často využíván propofol, který má antioxidační účinky (Murphy *et al.*, 1992). Při srovnání s izofluranem vedla aplikace propofolu ve vysokých dávkách během MTO u CABG k nižším hodnotám kardijspecifických biomarkerů

cTnI, cTnT a CK-MB (Xia *et al.*, 2006). Na druhou stranu normální dávky propofolu koncentrace cTnI neovlivnily (Xia *et al.*, 2006; Flier *et al.*, 2010).

Ketamin se příliš často u kardiochirurgických výkonů nepoužívá. Důvodem jsou dominující centrální sympatomimetické účinky, vedoucí k vzestupu srdeční frekvence a krevního tlaku; ty převažují nad jeho přímým negativně inotropním účinkem (White *et al.*, 1982; Craven, 2007). Bolus racemického ketaminu podaný během úvodu do celkové anestezie snížil po kardiochirurgických operacích výskyt deliria a koncentrace C-reaktivního proteinu (Hudetz *et al.*, 2009). Navíc *S*-(+)-ketamin, jeden ze dvou enantiomerů racemické směsi ketaminu, podávaný během CABG jako součást TIVA namísto sufentanilu, významně snížil koncentrace prozánětlivých cytokinů IL-6 a IL-8 (Welters *et al.*, 2011) a vedl k srovnatelným koncentracím cTnT (nižší hodnoty 6 hod. po uvolnění příčné svorky z aorty, ale ne po 24 hod.) (Neuhauser *et al.*, 2008). V naší práci jsme používali racemickou směs ketaminu, která podle výsledků některých experimentálních studií blokuje IPC *in vivo* (Mullenheim *et al.*, 2001a) inhibicí $\text{sarcK}^+_{\text{ATP}}$ kanálů (Kawano *et al.*, 2005). Naproti tomu jiné studie prokázaly, že racemická směs i *S*-(+)-ketamin navozují preconditioning lidských myokardiálních buněk *in vitro* aktivací K^+_{ATP} kanálů a stimulací α - a β -adrenergických receptorů (Hanouz *et al.*, 2005).

Dexmedetomidin centrálně snižuje aktivitu sympatického vegetativního nervového systému, čímž omezuje kardiostimulační účinky ketaminu (Levanen *et al.*, 1995); současně potlačuje stresovou reakci organismu na kardiochirurgický zákrok se snížením plazmatických koncentrací katecholaminů (Jalonen *et al.*, 1997). Navíc má silné analgetické (Jaakola *et al.*, 1991), a dokonce i anestetické (Ramsay a Luteran, 2004), účinky. Infuze dexmedetomidinu během kardiochirurgických výkonů zajistila stabilní hemodynamické parametry (Karakaya Kabukcu *et al.*, 2011). I prolongovaná aplikace dexmedetomidinu ve vysokých dávkách (až

2,5 µg/kg/hod.) byla spojena pouze s malým počtem nežádoucích kardiovaskulárních účinků, které byly snadno zvládnutelné (Iirola *et al.*, 2011).

Výše uvedené údaje potvrzují, že ve zmenšení ischemicko-reperfučního poškození myokardu během CABG může hrát důležitou roli dexmedetomidin i ketamin. Příčinou nižších koncentrací kardiospecifických biomarkerů, které jsme zaznamenali v naší analýze, je s největší pravděpodobností dexmedetomidin nebo kombinace ketamin – dexmedetomidin, spíše než samotný ketamin.

Časně klinické známky myokardiálního poškození, např. použití farmakologické inotropní nebo vasopresorické podpory, nutnost kardiostimulace apod., se mezi oběma skupinami pacientů významně nelišily. V případě TIVA jsme zaznamenali vyšší výskyt hypertenze a bradykardie po úvodu do celkové anestezie s dobrou odpovědí na nitroglycerin a atropin; zahájení infuze dexmedetomidinu je spojeno s tranzitorním vzestupem systémové cévní rezistence při stimulaci periferních α_1 -adrenergických receptorů (Bhana *et al.*, 2000). Po sejmutí příčné svorky ze vzestupné aorty při ochraně myokardu studeným kardioplegickým roztokem bývá iniciálním srdečním rytmem VF; počet nezbytných bifázických defibrilačních výbojů se mezi skupinami nelišil. Příčinou srovnatelných hodnot jednotlivých peroperačních i pooperačních klinických parametrů bylo s největší pravděpodobností nízké operační riziko všech pacientů. Jedinou výjimku představovala doba od příjezdu z operačního sálu do extubace (odpojení od umělé plicní ventilace), která byla kratší v případě TIVA kombinací ketamin – dexmedetomidin. Důvodem mohla být skutečnost, že u pacientů s anestézií založené na kombinaci sevofluran – sufentanil pokračovala infuze sufentanilu v nízké dávce ještě 15 – 30 min. po příjezdu z operačního sálu; to mohlo vést k útlumu aktivity dechového centra. U pacientů s anestézií ketamin – dexmedetomidin pokračovala po stejný časový interval infuze dexmedetomidinu v nízké dávce; to na dechovou aktivitu vliv nemělo.

Při interpretaci výsledků klinické části je nezbytné pamatovat na některá omezení naší analýzy; těmi nejpodstatnějšími jsou její retrospektivní charakter a relativně malý počet pacientů. Retrospektivní uspořádání bylo spojeno s nekompletní standardizací anesteziologických postupů, především relativně širokým dávkovacím rozmezím jednotlivých anestetik. Krevní vzorky pro biochemickou analýzu byly odebírány ve standardních časových intervalech, ale ne ve stejných intervalech od zahájení reperfuze myokardu při sejmutí příčné svorky z aorty. Navíc byly koncentrace kardiospecifických biomarkerů měřeny pouze dvakrát, s druhým odběrem přibližně 19 hod. od zahájení reperfuze, což znemožňuje přímé porovnání s prospektivně uspořádanými studii a snižuje přesnost hodnot plochy pod křivkou v případě cTnI.

Z důvodu malého počtu pacientů jsme z analýzy nevyloučili nemocné s diabetem léčené deriváty sulfonylurey; podobný postup zvolili i jiní autoři (Flier *et al.*, 2010). Tyto látky blokují K^+_{ATP} kanály, čímž negativně ovlivňují kardioprotektivní účinky inhalačních anestetik (Lee a Chou, 2003). Nicméně počet diabetiků se mezi oběma skupinami významně nelišil; jen minimum z nich bylo léчено deriváty sulfonylurey, a navíc ráno v den operace nebyla perorální antidiabetika podávána. Naopak pacienty s významnější renální dysfunkcí jsme do analýzy nezařadili; důvodem je její vliv na eliminaci troponinů (Wiessner *et al.*, 2008).

Sufentanil (silný agonista opioidních μ -receptorů a slabý agonista δ -receptorů) byl používán v obou skupinách. Opioidní δ_2 -receptory zvyšují odolnost myokardu k ischemicko-reperfuznímu poškození (Maslov *et al.*, 2010). Nicméně dávka sufentanilu u pacientů s TIVA založené na kombinaci ketamin – dexmedetomidin byla výrazně nižší než u pacientů s anestezií sevofluran – sufentanil.

Výsledky klinické analýzy potvrdily první část naší hypotézy; celková anestezie založená na kombinaci ketaminu s dexmedetomidinem vedla k nižším hodnotám

kardiospecifických biomarkerů po CABG. Časně klinické známky ischemicko-reperfuzního poškození myokardu se mezi oběma skupinami pacientů nelišily. Anesteziologický režim neovlivnil 30denní mortalitu, i když publikované práce prokázaly prediktivní hodnotu koncentrace cTnI stanovené 24 hod. po kardiochirurgickém výkonu pro 30denní, roční a 3letou mortalitu (Croal *et al.*, 2006), a podobně vzestup hodnot CK-MB a cTnI během 24 hod. po CABG měl vliv na 30denní a roční mortalitu (Domanski *et al.*, 2011).

Z pohledu medicíny založené na důkazech (evidence-based medicine) je nezbytné mít na zřeteli omezení významu retrospektivních studií; mezi nejvýznamnější patří bias při výběru vzorku pacientů a nemožnost vyloučit tzv. rušivé (confounding) faktory, ovlivňující sledované proměnné; závažné je též riziko nepřesností v údajích získávaných retrospektivně z lékařské dokumentace (Koop a Strang, 2002; Mann, 2003; Shafer a Dexter, 2012). Z uvedeného vyplývá nezbytnost potvrdit naše výsledky v prospektivní randomizované studii. Ta by měla v ideálním případě detailně sledovat nejenom kardiospecifické biomarkery, ale zároveň i echokardiografické a klinické parametry, ovlivňované ischemicko-reperfuzním poškozením myokardu, a to včetně morbidity a krátkodobé i dlouhodobé mortality. Studie by měla zahrnout i další často používané anesteziologické režimy, např. TIVA založenou na kombinaci propofolu s opioidy. Měla by rovněž zahrnout pacienty s vysokým rizikem. Provedení takové prospektivní randomizované studie plánujeme v závislosti na získání grantových prostředků.

7. SOUHRN

1. Zjistili jsme, že při použití izofluranu k imobilizaci laboratorních potkanů v koncentraci $\leq 2,5$ % (~ 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-reperfuzním 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 α_2 -adrenergických receptorů (ketamin – dexmedetomidin), vedla první pooperační den k významně nižším plazmatickým koncentracím kardiospecifických 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.

8. POUŽITÁ LITERATURA

1. Abbott A. Laboratory animals: the Renaissance rat. *Nature* 2004;428:464-466.
2. 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.
3. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. ACC/AHA 2007 guidelines on perioperative cardiovascular evaluation and care for noncardiac surgery: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines on Perioperative Cardiovascular Evaluation for Noncardiac Surgery). *Anesth Analg* 2008;106:685-712.
4. Argaud L, Gateau-Roesch O, Raisky O, Loufouat J, Robert D, Ovize M. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* 2005;111:194-197.
5. Armstrong RG, Stanford W, Cline RE, Guillebeau J. The stone heart. Development of a canine model, with ultrastructural survey and metabolic manipulation. *Ann Thorac Surg* 1973;16:480-491.
6. Asemu G, Papoušek F, Ošťádal B, Kolář F. Adaptation to high altitude hypoxia protects the rat heart against ischemia-induced arrhythmias. Involvement of mitochondrial K_{ATP} channel. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1821-1831.
7. Atlee JL 3rd, Bosnjak ZJ. Mechanisms for cardiac dysrhythmias during anesthesia. *Anesthesiology* 1990;72:347-374.
8. Banerjee I, Fuseler JW, Price RL, Borg TK, Baudino TA. Determination of cell types and numbers during cardiac development in the neonatal and adult rat and mouse. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H1883-1891.
9. Bartunek AE, Claes VA, Housmans PR. Effects of volatile anesthetics on stiffness of mammalian ventricular muscle. *J Appl Physiol* 2001;91:1563-1573.
10. Bein B, Renner J, Caliebe D, Hanss R, Bauer M, Fraund S, Scholz J. The effects of interrupted or continuous administration of sevoflurane on preconditioning before cardiopulmonary bypass in coronary artery surgery: comparison with continuous propofol. *Anaesthesia* 2008;63:1046-1055.
11. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasche P. Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999;100(19 Suppl II):340-344.
12. Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J Mol Cell Cardiol* 2011;50:940-950.

13. Bell SP, Sack MN, Patel A, Opie LH, Yellon DM. Delta opioid receptor stimulation mimics ischemic preconditioning in human heart muscle. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:2296-2302.
14. Bhana N, Goa KL, McClellan KJ. Dexmedetomidine. *Drugs* 2000;59:263-268.
15. Bignami E, Biondi-Zoccai G, Landoni G, Fochi O, Testa V, Sheiban I, Giunta F, Zangrillo A. Volatile anesthetics reduce mortality in cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;23:594-599.
16. Binah O, Arieli R, Beck R, Rosen MR, Palti Y. Ventricular electrophysiological properties: is interspecies variability related to thyroid state? *Am J Physiol* 1987;252:H1265-1274.
17. Bland JH, Lowenstein E. Halothane-induced decrease in experimental myocardial ischemia in the non-failing canine heart. *Anesthesiology* 1976;45:287-293.
18. Bolli R, Becker L, Gross G, Mentzer R Jr., Balshaw D, Lathrop DA. Myocardial protection at a crossroads: the need for translation into clinical therapy. *Circ Res* 2004;95:125-134.
19. Bolli R. Preconditioning: a paradigm shift in the biology of myocardial ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292:H19-27.
20. Boudoulas H, Rittgers SE, Lewis RP, Leier CV, Weissler AM. Changes in diastolic time with various pharmacologic agents: implication for myocardial perfusion. *Circulation* 1979;60:164-169.
21. Buckberg GD. Update on current techniques of myocardial protection. *Ann Thorac Surg* 1995;60:805-814.
22. Buffington CW, Romson JL, Levine A, Duttlinger NC, Huang AH. Isoflurane induces coronary steal in a canine model of chronic coronary occlusion. *Anesthesiology* 1987;66:280-292.
23. Buja LM. Myocardial ischemia and reperfusion injury. *Cardiovasc Pathol* 2005;14:170-175.
24. Buja LM, Weerasinghe P. Unresolved issues in myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Pathol* 2010;19:29-35.
25. Burns PG, Krukenkamp IB, Caldarone CA, Gaudette GR, Bukhari EA, Levitsky S. Does cardiopulmonary bypass alone elicit myoprotective preconditioning? *Circulation* 1995;92:II447-451.
26. Cason BA, Gamperl AK, Slocum RE, Hickey RF. Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology* 1997;87:1182-1190.

27. Coetzee JF, Le Roux PJ, Genade S, Lochner A. Reduction of postischemic contractile dysfunction of the isolated rat heart by sevoflurane: comparison with halothane. *Anesth Analg* 2000;90:1089-1097.
28. Colantuono G, Tiravanti EA, Di Venosa N, Cazzato A, Rastaldo R, Cagiano R, D'agostino D, Federici A, Fiore T. 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.
29. Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, Downey JM. Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 1997;86:699-709.
30. Corcoran TB, Engel A, Sakamoto H, O'Callaghan-Enright S, O'Donnell A, Heffron JA, Shorten G. The effects of propofol on lipid peroxidation and inflammatory response in elective coronary artery bypass grafting. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2004;18:592-604.
31. Corcoran TB, Engel A, Sakamoto H, O'Shea A, O'Callaghan-Enright S, Shorten GD. The effects of propofol on neutrophil function, lipid peroxidation and inflammatory response during elective coronary artery bypass grafting in patients with impaired ventricular function. *Br J Anaesth* 2006;97:825-831.
32. Craven R. Ketamine. *Anaesthesia* 2007;62 Suppl 1:48-53.
33. Croal BL, Hillis GS, Gibson PH, Fazal MT, El-Shafei H, Gibson G, Jeffrey RR, Buchan KG, West D, Cuthbertson BH. Relationship between postoperative cardiac troponin I levels and outcome of cardiac surgery. *Circulation* 2006;114:1468-1475.
34. Cromheecke S, Pepermans V, Hendrickx E, Lorsomradee S, Ten Broecke PW, Stockman BA, Rodrigus IE, De Hert SG. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing aortic valve replacement with cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 2006;103:289-296.
35. Crompton M, Costi A, Hayat L. Evidence for the presence of a reversible Ca^{2+} -dependent pore activated by oxidative stress in heart mitochondria. *Biochem J* 1987;245:915-918.
36. Csonka C, Kupai K, Kocsis GF, Novak G, Fekete V, Bencsik P, Csont T, Ferdinandy P. Measurement of myocardial infarct size in preclinical studies. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2010;61:163-170.
37. Dai W, Simkhovich BZ, Kloner RA. Ischemic preconditioning maintains cardioprotection in aging normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Exp Gerontol* 2009;44:344-349.
38. Davis RF, Deboer LW, Rude RE, Lowenstein E, Maroko PR. The effect of halothane anesthesia on myocardial necrosis, hemodynamic performance, and regional myocardial blood flow in dogs following coronary artery occlusion. *Anesthesiology* 1983;59:402-411.
39. De Hert SG, Ten Broecke PW, Mertens E, Van Sommeren EW, De Blier IG, Stockman BA, Rodrigus IE. Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function in coronary surgery patients. *Anesthesiology* 2002;97:42-49.

40. De Hert SG, Cromheecke S, Ten Broecke PW, Mertens E, De Blier IG, Stockman BA, Rodrigus IE, Van Der Linden PJ. Effects of propofol, desflurane, and sevoflurane on recovery of myocardial function after coronary surgery in elderly high-risk patients. *Anesthesiology* 2003;99:314-323.
41. De Hert SG, Van Der Linden PJ, Cromheecke S, Meeus R, Nelis A, Van Reeth V, Ten Broecke PW, De Blier IG, Stockman BA, Rodrigus IE. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing coronary surgery with cardiopulmonary bypass are related to the modalities of its administration. *Anesthesiology* 2004;101:299-310.
42. De Hert SG, Preckel B, Hollmann MW, Schlack WS. Drugs mediating myocardial protection. *Eur J Anaesthesiol* 2009a;26:985-995.
43. De Hert SG, Preckel B, Schlack WS. Update on inhalational anaesthetics. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009b;22:491-495.
44. Deutsch N, Klitzner TS, Lamp ST, Weiss JN. Activation of cardiac ATP-sensitive K⁺ current during hypoxia: correlation with tissue ATP levels. *Am J Physiol* 1991;261:H671-676.
45. Domanski MJ, Mahaffey K, Hasselblad V, Brener SJ, Smith PK, Hillis G, Engoren M, Alexander JH, Levy JH, Chaitman BR, Broderick S, Mack MJ, Pieper KS, Farkouh ME. Association of myocardial enzyme elevation and survival following coronary artery bypass graft surgery. *JAMA* 2011;305:585-591.
46. Döring HJ. The isolated perfused heart according to Langendorff technique—function—application. *Physiol Bohemoslov* 1990;39:481-504.
47. 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.
48. Ebel D, Mullenheim J, Frassdorf J, Heinen A, Huhn R, Bohlen T, Ferrari J, Sudkamp H, Preckel B, Schlack W, Thamer V. Effect of acute hyperglycaemia and diabetes mellitus with and without short-term insulin treatment on myocardial ischaemic late preconditioning in the rabbit heart in vivo. *Pflügers Arch* 2003;446:175-182.
49. Eger EI 2nd, Smith NT, Stoelting RK, Cullen DJ, Kadis LB, Whitcher CE. Cardiovascular effects of halothane in man. *Anesthesiology* 1970;32:396-409.
50. Eger EI 2nd. Isoflurane: a review. *Anesthesiology* 1981;55:559-576.
51. Eifling M, Razavi M, Massumi A. The evaluation and management of electrical storm. *Tex Heart Inst J* 2011;38:111-121.
52. Engler RL, Schmid-Schonbein GW, Pavelec RS. Leukocyte capillary plugging in myocardial ischemia and reperfusion in the dog. *Am J Pathol* 1983;111:98-111.

53. Fellahi JL, Gue X, Philippe E, Riou B, Gerard JL. Isoflurane may not influence postoperative cardiac troponin I release and clinical outcome in adult cardiac surgery. *Eur J Anaesthesiol* 2004;21:688-693.
54. Feng J, Bianchi C, Li J, Sellke FW. Improved profile of bad phosphorylation and caspase 3 activation after blood versus crystalloid cardioplegia. *Ann Thorac Surg* 2004;77:1384-1389; discussion 1389-1390.
55. Ferrari R, Guardigli G, Mele D, Percoco GF, Ceconi C, Curello S. Oxidative stress during myocardial ischaemia and heart failure. *Curr Pharm Des* 2004;10:1699-1711.
56. Ferreira R, Fraga C, Carrasquedo F, Hourquebie H, Grana D, Milei J. Comparison between warm blood and crystalloid cardioplegia during open heart surgery. *Int J Cardiol* 2003;90:253-260.
57. Fleisher LA, Eagle KA, Shaffer T, Anderson GF. 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.
58. Flier S, Post J, Concepcion AN, Kappen TH, Kalkman CJ, Buhre WF. 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.
59. Frank SM, Higgins MS, Breslow MJ, Fleisher LA, Gorman RB, Sitzmann JV, Raff H, Beattie C. The catecholamine, cortisol, and hemodynamic responses to mild perioperative hypothermia. A randomized clinical trial. *Anesthesiology* 1995;82:83-93.
60. Frassdorf J, Borowski A, Ebel D, Feindt P, Hermes M, Meemann T, Weber R, Mullenheim J, Weber NC, Preckel B, Schlack W. Impact of preconditioning protocol on anesthetic-induced cardioprotection in patients having coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;137:1436-1442.
61. Fukuda H, Hirabayashi Y, Shimizu R, Saitoh K, Mitsuata H. Sevoflurane is equivalent to isoflurane for attenuating bupivacaine-induced arrhythmias and seizures in rats. *Anesth Analg* 1996;83:570-573.
62. 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.
63. Garcia-Rivas Gde J, Carvajal K, Correa F, Zazueta C. Ru360, a specific mitochondrial calcium uptake inhibitor, improves cardiac post-ischaemic functional recovery in rats in vivo. *Br J Pharmacol* 2006;149:829-837.
64. Gentry-Smetana S, Redford D, Moore D, Larson DF. Direct effects of volatile anesthetics on cardiac function. *Perfusion* 2008;23:43-47.

65. Gibbs NM, Crawford GP, Michalopoulos N. Postoperative changes in coagulant and anticoagulant factors following abdominal aortic surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1992;6:680-685.
66. Gross DR. Animal models in cardiovascular research. 2. revidované vyd. Dordrecht; Boston: Kluwer Academic Publishers, 1994.
67. Gross ER, Hsu AK, Gross GJ. Diabetes abolishes morphine-induced cardioprotection via multiple pathways upstream of glycogen synthase kinase-3 β . *Diabetes* 2007;56:127-136.
68. Gross GJ, Auchampach JA. Reperfusion injury: does it exist? *J Mol Cell Cardiol* 2007;42:12-18.
69. Grover GJ, Garlid KD. ATP-sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32:677-695.
70. Guarracino F, Landoni G, Tritapepe L, Pompei F, Leoni A, Aletti G, Scandroglio AM, Maselli D, De Luca M, Marchetti C, Crescenzi G, Zangrillo A. Myocardial damage prevented by volatile anesthetics: a multicenter randomized controlled study. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2006;20:477-483.
71. Gustafsson AB, Gottlieb RA. Mechanisms of apoptosis in the heart. *J Clin Immunol* 2003;23:447-459.
72. 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.
73. Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004;61:372-385.
74. Halestrap AP. What is the mitochondrial permeability transition pore? *J Mol Cell Cardiol* 2009;46:821-831.
75. Hanouz JL, Yvon A, Massetti M, Lepage O, Babatasi G, Khayat A, Bricard H, Gerard JL. Mechanisms of desflurane-induced preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesthesiology* 2002;97:33-41.
76. Hanouz JL, Zhu L, Persehaye E, Massetti M, Babatasi G, Khayat A, Ducouret P, Plaud B, Gerard JL. Ketamine preconditions isolated human right atrial myocardium: roles of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and adrenoceptors. *Anesthesiology* 2005;102:1190-1196.
77. Haroun-Bizri S, Khoury SS, Chehab IR, Kassas CM, Baraka A. Does isoflurane optimize myocardial protection during cardiopulmonary bypass? *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2001;15:418-421.

78. Hart CY, Burnett JC Jr., Redfield MM. Effects of avertin versus xylazine-ketamine anesthesia on cardiac function in normal mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H1938-1945.
79. Hartman JC, Kampine JP, Schmeling WT, Warltier DC. Steal-prone coronary circulation in chronically instrumented dogs: isoflurane versus adenosine. *Anesthesiology* 1991;74:744-756.
80. Hausenloy DJ, Yellon DM. Survival kinases in ischemic preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006;70:240-253.
81. Hausenloy DJ, Yellon DM. Reperfusion injury salvage kinase signalling: taking a RISK for cardioprotection. *Heart Fail Rev* 2007;12:217-234.
82. Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res* 2008;79:377-386.
83. Heindl B, Reichle FM, Zahler S, Conzen PF, Becker BF. Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing postischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils. *Anesthesiology* 1999;91:521-530.
84. Hirata N, Kanaya N, Kamada N, Kimura S, Namiki A. Differential effects of propofol and sevoflurane on ischemia-induced ventricular arrhythmias and phosphorylated connexin 43 protein in rats. *Anesthesiology* 2009;110:50-57.
85. 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.
86. Hudetz JA, Patterson KM, Iqbal Z, Gandhi SD, Byrne AJ, Hudetz AG, Warltier DC, Pagel PS. Ketamine attenuates delirium after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;23:651-657.
87. Huffmyer J, Raphael J. Physiology and pharmacology of myocardial preconditioning and postconditioning. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;13:5-18.
88. Huhn R, Heinen A, Weber NC, Hollmann MW, Schlack W, Preckel B. Hyperglycaemia blocks sevoflurane-induced postconditioning in the rat heart in vivo: cardioprotection can be restored by blocking the mitochondrial permeability transition pore. *Br J Anaesth* 2008;100:465-471.
89. Huneke R, Jungling E, Skasa M, Rossaint R, Luckhoff A. Effects of the anesthetic gases xenon, halothane, and isoflurane on calcium and potassium currents in human atrial cardiomyocytes. *Anesthesiology* 2001;95:999-1006.
90. Chae JE, Ahn DS, Kim MH, Lynch C 3rd, Park WK. Electrophysiologic mechanism underlying action potential prolongation by sevoflurane in rat ventricular myocytes. *Anesthesiology* 2007;107:67-74.

91. Chaves AA, Weinstein DM, Bauer JA. Non-invasive echocardiographic studies in mice: influence of anesthetic regimen. *Life Sci* 2001;69:213-222.
92. Chernow B, Alexander HR, Smallridge RC, Thompson WR, Cook D, Beardsley D, Fink MP, Lake CR, Fletcher JR. Hormonal responses to graded surgical stress. *Arch Intern Med* 1987;147:1273-1278.
93. Irola T, Aantaa R, Laitio R, Kentala E, Lahtinen M, Wighton A, Garratt C, Ahtola-Satila T, Olkkola KT. Pharmacokinetics of prolonged infusion of high-dose dexmedetomidine in critically ill patients. *Crit Care* 2011;15:R257.
94. Imamura S, Ikeda K. Comparison of the epinephrine-induced arrhythmogenic effect of sevoflurane with isoflurane and halothane. *J Anesth* 1987;1:62-68.
95. Ismaeil MS, Tkachenko I, Gamperl AK, Hickey RF, Cason BA. Mechanisms of isoflurane-induced myocardial preconditioning in rabbits. *Anesthesiology* 1999;90:812-821.
96. Jaakola ML, Salonen M, Lehtinen R, Scheinin H. The analgesic action of dexmedetomidine—a novel α_2 -adrenoceptor agonist—in healthy volunteers. *Pain* 1991;46:281-285.
97. Jakobsen CJ, Berg H, Hindsholm KB, Faddy N, Sloth E. The influence of propofol versus sevoflurane anesthesia on outcome in 10,535 cardiac surgical procedures. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2007;21:664-671.
98. Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A, Heikkila H, Perttila J, Salmenpera M, Valtonen M, Aantaa R, Kallio A. Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology* 1997;86:331-345.
99. Jenkins DP, Pugsley WB, Alkhulaifi AM, Kemp M, Hooper J, Yellon DM. Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart* 1997;77:314-318.
100. Jennings RB, Reimer KA. Lethal myocardial ischemic injury. *Am J Pathol* 1981;102:241-255.
101. Julier K, Da Silva R, Garcia C, Bestmann L, Frascarolo P, Zollinger A, Chassot PG, Schmid ER, Turina MI, Von Segesser LK, Pasch T, Spahn DR, Zaugg M. Preconditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, placebo-controlled, multicenter study. *Anesthesiology* 2003;98:1315-1327.
102. Karakaya Kabukcu H, Sahin N, Temel Y, Aydogdu Titiz T. Hemodynamics in coronary artery bypass surgery: Effects of intraoperative dexmedetomidine administration. *Anaesthesist* 2011;60:427-431.
103. Kawano T, Oshita S, Takahashi A, Tsutsumi Y, Tanaka K, Tomiyama Y, Kitahata H, Nakaya Y. Molecular mechanisms underlying ketamine-mediated inhibition of sarcolemmal adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology* 2005;102:93-101.

104. Kazama T, Ikeda K. The comparative cardiovascular effects of sevoflurane with halothane and isoflurane. *J Anesth* 1988;2:63-68.
105. Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Hyperglycemia prevents isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction. *Anesthesiology* 2002a;96:183-188.
106. Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Is isoflurane-induced preconditioning dose related? *Anesthesiology* 2002b;96:675-680.
107. Kehl F, Pagel PS, Krolikowski JG, Gu W, Toller W, Warltier DC, Kersten JR. Isoflurane does not produce a second window of preconditioning against myocardial infarction in vivo. *Anesth Analg* 2002c;95:1162-1168.
108. Kennedy HL, Wiens RD. Ambulatory (Holter) electrocardiography and myocardial ischemia. *Am Heart J* 1989;117:164-176.
109. Kersten JR, Brayer AP, Pagel PS, Tessmer JP, Warltier DC. Perfusion of ischemic myocardium during anesthesia with sevoflurane. *Anesthesiology* 1994;81:995-1004.
110. Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K^+_{ATP} channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology* 1997;87:361-370.
111. Kersten JR. Anesthetic preconditioning: an anesthesiologist's tale. *Anesthesiology* 2011;114:162-166.
112. Kevin LG, Katz P, Camara AK, Novalija E, Riess ML, Stowe DF. Anesthetic preconditioning: effects on latency to ischemic injury in isolated hearts. *Anesthesiology* 2003a;99:385-391.
113. Kevin LG, Novalija E, Riess ML, Camara AK, Rhodes SS, Stowe DF. Sevoflurane exposure generates superoxide but leads to decreased superoxide during ischemia and reperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg* 2003b;96:949-955.
114. Kevin LG, Novalija E. Anesthetic preconditioning decreases arrhythmias and improves regional conduction in isolated hearts. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2008;22:217-224.
115. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004;62:74-85.
116. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest* 1974;54:1496-1508.
117. Kloner RA, Bolli R, Marban E, Reinlib L, Braunwald E. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning: an NHLBI workshop. *Circulation* 1998;97:1848-1867.

118. Ko SH, Lee SK, Han YJ, Choe H, Kwak YG, Chae SW, Cho KP, Song HS. Blockade of myocardial ATP-sensitive potassium channels by ketamine. *Anesthesiology* 1997a;87:68-74.
119. Ko SH, Yu CW, Lee SK, Choe H, Chung MJ, Kwak YG, Chae SW, Song HS. Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Anesth Analg* 1997b;85:719-724.
120. Kohro S, Hogan QH, Nakae Y, Yamakage M, Bosnjak ZJ. Anesthetic effects on mitochondrial ATP-sensitive K channel. *Anesthesiology* 2001;95:1435-1340.
121. Kokita N, Hara A. Propofol attenuates hydrogen peroxide-induced mechanical and metabolic derangements in the isolated rat heart. *Anesthesiology* 1996;84:117-127.
122. Kokita N, Hara A, Abiko Y, Arakawa J, Hashizume H, Namiki A. Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts. *Anesth Analg* 1998;86:252-258.
123. Kolář F, Parratt JR. Antiarrhythmic effect of ischemic preconditioning in hearts of spontaneously hypertensive rats. *Exp Clin Cardiol* 1997;2:124-127.
124. Koop PM, Strang V. Prospective and retrospective research: considerations and questions. *Can Oncol Nurs J* 2002;12:142-145.
125. 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.
126. Landesberg G, Mosseri M, Zahger D, Wolf Y, Perouansky M, Anner H, Drenger B, Hasin Y, Berlatzky Y, Weissman C. Myocardial infarction after vascular surgery: the role of prolonged stress-induced, ST depression-type ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1839-1845.
127. Landesberg G. The pathophysiology of perioperative myocardial infarction: facts and perspectives. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2003;17:90-100.
128. Landesberg G, Beattie WS, Mosseri M, Jaffe AS, Alpert JS. Perioperative myocardial infarction. *Circulation* 2009;119:2936-2944.
129. Landoni G, Biondi-Zoccai GG, Zangrillo A, Bignami E, D'Avolio S, Marchetti C, Calabro MG, Fochi O, Guarracino F, Tritapepe L, De Hert S, Torri G. Desflurane and sevoflurane in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2007;21:502-511.
130. Landoni G, Fochi O, Bignami E, Calabro MG, D'Arpa MC, Moizo E, Mizzi A, Pappalardo F, Morelli A, Zangrillo A. Cardiac protection by volatile anesthetics in non-cardiac surgery? A meta-analysis of randomized controlled studies on clinically relevant endpoints. *HSR Proceedings in Intensive Care and Cardiovascular Anesthesia* 2009a;1:34-43.

131. Landoni G, Fochi O, Tritapepe L, Guarracino F, Belloni I, Bignami E, Zangrillo A. Cardiac protection by volatile anesthetics. A review. *Minerva Anesthesiol* 2009b;75:269-273.
132. Lange M, Smul TM, Blomeyer CA, Redel A, Klotz KN, Roewer N, Kehl F. Role of the β_1 -adrenergic pathway in anesthetic and ischemic preconditioning against myocardial infarction in the rabbit heart in vivo. *Anesthesiology* 2006;105:503-510.
133. Lange M, Redel A, Smul TM, Lotz C, Nefzger T, Stumpner J, Blomeyer C, Gao F, Roewer N, Kehl F. Desflurane-induced preconditioning has a threshold that is lowered by repetitive application and is mediated by β_2 -adrenergic receptors. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;23:607-613.
134. Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pflügers Arch* 1898;61:291-332.
135. Laskey WK, Beach D. Frequency and clinical significance of ischemic preconditioning during percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:998-1003.
136. Lasocki S, Provenchere S, Benessiano J, Vicaut E, Lecharny JB, Desmots JM, Dehoux M, Philip I. Cardiac troponin I is an independent predictor of in-hospital death after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2002;97:405-411.
137. Lawson CS, Avkiran M, Shattock MJ, Coltart DJ, Hearse DJ. Preconditioning and reperfusion arrhythmias in the isolated rat heart: true protection or temporal shift in vulnerability? *Cardiovasc Res* 1993;27:2274-2281.
138. Lee BY, Wilson GJ, Domenech RJ, Macgregor DC. Relative roles of edema versus contracture in the myocardial postischemic "no-reflow" phenomenon. *J Surg Res* 1980;29:50-61.
139. Lee MC, Chen CH, Kuo MC, Kang PL, Lo A, Liu K. Isoflurane preconditioning-induced cardio-protection in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Eur J Anaesthesiol* 2006;23:841-847.
140. Lee TH, Marcantonio ER, Mangione CM, Thomas EJ, Polanczyk CA, Cook EF, Sugarbaker DJ, Donaldson MC, Poss R, Ho KK, Ludwig LE, Pedan A, Goldman L. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery. *Circulation* 1999;100:1043-1049.
141. Lee TM, Chou TF. Impairment of myocardial protection in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:531-537.
142. Levanen J, Makela ML, Scheinin H. Dexmedetomidine premedication attenuates ketamine-induced cardiostimulatory effects and postanesthetic delirium. *Anesthesiology* 1995;82:1117-1125.
143. Lin ES. Physiology of the circulation. In: Smith T, Pinnock C, Lin T, eds. *Fundamentals of anaesthesia*. 3. vyd. Cambridge: Cambridge University Press, 2009:297-324.

144. Lindenauer PK, Pekow P, Wang K, Mamidi DK, Gutierrez B, Benjamin EM. Perioperative β -blocker therapy and mortality after major noncardiac surgery. *N Engl J Med* 2005;353:349-361.
145. Liu J, Rigel DF. Echocardiographic examination in rats and mice. *Methods Mol Biol* 2009;573:139-155.
146. London MJ. Silent ischemia and postoperative infarction. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1990;4:60.
147. Lucchinetti E, Da Silva R, Pasch T, Schaub MC, Zaugg M. Anaesthetic preconditioning but not postconditioning prevents early activation of the deleterious cardiac remodelling programme: evidence of opposing genomic responses in cardioprotection by pre- and postconditioning. *Br J Anaesth* 2005;95:140-152.
148. Ludwig LM, Patel HH, Gross GJ, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC. Morphine enhances pharmacological preconditioning by isoflurane: role of mitochondrial K^+_{ATP} channels and opioid receptors. *Anesthesiology* 2003;98:705-711.
149. Lutz M, Liu H. Inhaled sevoflurane produces better delayed myocardial protection at 48 versus 24 hours after exposure. *Anesth Analg* 2006;102:984-990.
150. Malan TP Jr., Dinardo JA, Isner RJ, Frink EJ Jr., Goldberg M, Fenster PE, Brown EA, Depa R, Hammond LC, Mata H. Cardiovascular effects of sevoflurane compared with those of isoflurane in volunteers. *Anesthesiology* 1995;83:918-928.
151. Manciet LH, Poole DC, Mcdonagh PF, Copeland JG, Mathieu-Costello O. Microvascular compression during myocardial ischemia: mechanistic basis for no-reflow phenomenon. *Am J Physiol* 1994;266:H1541-1550.
152. Mangano DT. Biventricular function after myocardial revascularization in humans: deterioration and recovery patterns during the first 24 hours. *Anesthesiology* 1985;62:571-577.
153. Mann CJ. Observational research methods. Research design II: cohort, cross sectional, and case-control studies. *Emerg Med J* 2003;20:54-60.
154. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 1993;88:1264-1272.
155. Martini N, Preckel B, Thamer V, Schlack W. Can isoflurane mimic ischaemic preconditioning in isolated rat heart? *Br J Anaesth* 2001;86:269-271.
156. Maslov LN, Lishmanov YB, Oeltgen PR, Barzakh EI, Krylatov AV, Naryzhnaya NV, Pei JM, Brown SA. Comparative analysis of the cardioprotective properties of opioid receptor agonists in a rat model of myocardial infarction. *Acad Emerg Med* 2010;17:1239-1246.

157. Matejíková J, Ravingerová T, Pancza D, Čarnická S, Kolář F. Mitochondrial KATP opening confers protection against lethal myocardial injury and ischaemia-induced arrhythmias in the rat heart via PI3K/Akt-dependent and -independent mechanisms. *Can J Physiol Pharmacol* 2009;87:1055-1062.
158. Mathur S, Farhangkhgoee P, Karmazyn M. Cardioprotective effects of propofol and sevoflurane in ischemic and reperfused rat hearts: role of K^+_{ATP} channels and interaction with the sodium-hydrogen exchange inhibitor HOE 642 (cariporide). *Anesthesiology* 1999;91:1349-1360.
159. Meco M, Cirri S, Gallazzi C, Magnani G, Cosseta D. Desflurane preconditioning in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, randomised and placebo-controlled study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007;32:319-325.
160. Miura T, Iimura O. Infarct size limitation by preconditioning: its phenomenological features and the key role of adenosine. *Cardiovasc Res* 1993;27:36-42.
161. Monassier JP. Reperfusion injury in acute myocardial infarction: from bench to cath lab. Part II: Clinical issues and therapeutic options. *Archives of cardiovascular diseases* 2008a;101:565-575.
162. Monassier JP. Reperfusion injury in acute myocardial infarction. From bench to cath lab. Part I: Basic considerations. *Archives of cardiovascular diseases* 2008b;101:491-500.
163. Moore PG, Kien ND, Reitan JA, White DA, Safwat AM. No evidence for blood flow redistribution with isoflurane or halothane during acute coronary artery occlusion in fentanyl-anesthetized dogs. *Anesthesiology* 1991;75:854-865.
164. Mullenheim J, Frassdorf J, Preckel B, Thamer V, Schlack W. Ketamine, but not S(+)-ketamine, blocks ischemic preconditioning in rabbit hearts in vivo. *Anesthesiology* 2001a;94:630-636.
165. Mullenheim J, Molojavyi A, Preckel B, Thamer V, Schlack W. Thiopentone does not block ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *Can J Anaesth* 2001b;48:784-789.
166. Mullenheim J, Rulands R, Wietschorke T, Frassdorf J, Preckel B, Schlack W. Late preconditioning is blocked by racemic ketamine, but not by S(+)-ketamine. *Anesth Analg* 2001c;93:265-270.
167. Mullenheim J, Ebel D, Frassdorf J, Preckel B, Thamer V, Schlack W. Isoflurane preconditions myocardium against infarction via release of free radicals. *Anesthesiology* 2002;96:934-940.
168. Murphy GS, Szokol JW, Marymont JH, Avram MJ, Vender JS. 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.
169. Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, Webster NR, Jones JG. The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol). *Br J Anaesth* 1992;68:613-618.

170. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-1136.
171. Nashef SA, Roques F, Michel P, Gauducheau E, Lemeshow S, Salamon R. European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;16:9-13.
172. Neckář J, Papoušek F, Nováková O, Ošťádal B, Kolář F. Cardioprotective effects of chronic hypoxia and ischaemic preconditioning are not additive. *Basic Res Cardiol* 2002;97:161-167.
173. 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.
174. Neckář J, Šilhavý J, Zídek V, Landa V, Mlejnek P, Šimáková M, Seidman JG, Seidman C, Kazdová L, Klevstig M, Novák F, Večka M, Papoušek F, Houštěk J, Drahotka Z, Kurtz TW, Kolář F, Pravenec M. CD36 overexpression predisposes to arrhythmias but reduces infarct size in spontaneously hypertensive rats: gene expression profile analysis. *Physiol Genomics* 2012;44:173-182.
175. Netuka I. Vliv perinatální hypoxie na odolnost myokardu laboratorního potkana k ischemicko-reperfučnímu poškození v dospělosti. Doktorská disertační práce, Univerzita Karlova, Praha 2009.
176. Neuhauser C, Preiss V, Feurer MK, Muller M, Scholz S, Kwapisz M, Mogk M, Welters ID. 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.
177. Novalija E, Fujita S, Kampine JP, Stowe DF. Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology* 1999;91:701-712.
178. Novalija E, Varadarajan SG, Camara AK, An J, Chen Q, Riess ML, Hogg N, Stowe DF. Anesthetic preconditioning: triggering role of reactive oxygen and nitrogen species in isolated hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H44-52.
179. Novalija E, Kevin LG, Eells JT, Henry MM, Stowe DF. Anesthetic preconditioning improves adenosine triphosphate synthesis and reduces reactive oxygen species formation in mitochondria after ischemia by a redox dependent mechanism. *Anesthesiology* 2003;98:1155-1163.
180. Nussmeier NA, Whelton AA, Brown MT, Langford RM, Hoefft A, Parlow JL, Boyce SW, Verburg KM. Complications of the COX-2 inhibitors parecoxib and valdecoxib after cardiac surgery. *N Engl J Med* 2005;352:1081-1091.
181. Obal D, Preckel B, Scharbatke H, Mullenheim J, Hoterkes F, Thamer V, Schlack W. One MAC of sevoflurane provides protection against reperfusion injury in the rat heart in vivo. *Br J Anaesth* 2001;87:905-911.

182. Obal D, Scharbatke H, Barthel H, Preckel B, Mullenheim J, Schlack W. Cardioprotection against reperfusion injury is maximal with only two minutes of sevoflurane administration in rats. *Can J Anaesth* 2003;50:940-945.
183. Obal D, Dettwiler S, Favoccia C, Scharbatke H, Preckel B, Schlack W. The influence of mitochondrial K^+_{ATP} -channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo. *Anesth Analg* 2005a;101:1252-1260.
184. Obal D, Weber NC, Zacharowski K, Toma O, Dettwiler S, Wolter JI, Kratz M, Mullenheim J, Preckel B, Schlack W. Role of protein kinase C- ϵ (PKC- ϵ) in isoflurane-induced cardioprotection. *Br J Anaesth* 2005b;94:166-173.
185. Okamoto F, Allen BS, Buckberg GD, Bugyi H, Leaf J. Reperfusion conditions: importance of ensuring gentle versus sudden reperfusion during relief of coronary occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;92:613-620.
186. Okum G, Horrow JC. Anesthetic management of myocardial revascularization. In: Hensley FA, Martin DE, Gravlee GP, eds. A practical approach to cardiac anesthesia. 4. vyd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007:289-315.
187. Ošťádal B. The past, the present and the future of experimental research on myocardial ischemia and protection. *Pharmacol Rep* 2009;61:3-12.
188. Ošťádal B, Netuka I, Malý J, Bešík J, Ošťádalová I. Gender differences in cardiac ischemic injury and protection—experimental aspects. *Exp Biol Med* 2009;234:1011-1019.
189. Overgaard CB, Dzavik V. Inotropes and vasopressors: review of physiology and clinical use in cardiovascular disease. *Circulation* 2008;118:1047-1056.
190. Ovize M, Baxter GF, Di Lisa F, Ferdinandy P, Garcia-Dorado D, Hausenloy DJ, Heusch G, Vinten-Johansen J, Yellon DM, Schulz R. Postconditioning and protection from reperfusion injury: where do we stand? Position paper from the Working Group of Cellular Biology of the Heart of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 2010;87:406-423.
191. Ovrum E, Tangen G, Tollofsrud S, Oystese R, Ringdal MA, Istad R. Cold blood versus cold crystalloid cardioplegia: a prospective randomised study of 345 aortic valve patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010;38:745-749.
192. Pagel PS. Postconditioning by volatile anesthetics: salvaging ischemic myocardium at reperfusion by activation of prosurvival signaling. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2008;22:753-765.
193. Paris A, Philipp M, Tonner PH, Steinfath M, Lohse M, Scholz J, Hein L. Activation of α_{2B} -adrenoceptors mediates the cardiovascular effects of etomidate. *Anesthesiology* 2003;99:889-895.

194. Park WK, Pancrazio JJ, Suh CK, Lynch C 3rd. Myocardial depressant effects of sevoflurane. Mechanical and electrophysiologic actions in vitro. *Anesthesiology* 1996;84:1166-1176.
195. Patel HH, Ludwig LM, Fryer RM, Hsu AK, Warltier DC, Gross GJ. Delta opioid agonists and volatile anesthetics facilitate cardioprotection via potentiation of K^+_{ATP} channel opening. *FASEB J* 2002;16:1468-1470.
196. Peart JN, Gross ER, Reichelt ME, Hsu A, Headrick JP, Gross GJ. Activation of κ -opioid receptors at reperfusion affords cardioprotection in both rat and mouse hearts. *Basic Res Cardiol* 2008;103:454-463.
197. 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.
198. Phillips HR, Carter JE, Okada RD, Levine FH, Boucher CA, Osbakken M, Lappas D, Buckley MJ, Pohost GM. Serial changes in left ventricular ejection fraction in the early hours after aortocoronary bypass grafting. *Chest* 1983;83:28-34.
199. Picker O, Scheeren TW, Arndt JO. Inhalation anaesthetics increase heart rate by decreasing cardiac vagal activity in dogs. *Br J Anaesth* 2001;87:748-754.
200. Pillai JB, Suri RM. Coronary artery surgery and extracorporeal circulation: the search for a new standard. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2008;22:594-610.
201. Piriou V, Chiari P, Knezynski S, Bastien O, Loufoua J, Lehot JJ, Foex P, Annat G, Ovize M. 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.
202. Piriou V, Mantz J, Goldfarb G, Kitakaze M, Chiari P, Paquin S, Cornu C, Lecharny JB, Aussage P, Vicaut E, Pons A, Lehot JJ. 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.
203. Pirracchio R, Cholley B, De Hert S, Solal AC, Mebazaa A. Diastolic heart failure in anaesthesia and critical care. *Br J Anaesth* 2007;98:707-721.
204. Plante E, Lachance D, Roussel E, Drolet MC, Arsenault M, Couet J. Impact of anesthesia on echocardiographic evaluation of systolic and diastolic function in rats. *J Am Soc Echocardiogr* 2006;19:1520-1525.
205. Preckel B, Mullenheim J, Moloschavij A, Thamer V, Schlack W. Xenon administration during early reperfusion reduces infarct size after regional ischemia in the rabbit heart in vivo. *Anesth Analg* 2000;91:1327-1332.
206. Preckel B, Bolten J. Pharmacology of modern volatile anaesthetics. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2005;19:331-348.

207. Preckel B, Schlack W. Inert gases as the future inhalational anaesthetics? *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2005;19:365-379.
208. Pulley DD, Kirvassilis GV, Kelermenos N, Kater K, Barzilai B, Genton RE, Efstathiou C, Lappas DG. Regional and global myocardial circulatory and metabolic effects of isoflurane and halothane in patients with steal-prone coronary anatomy. *Anesthesiology* 1991;75:756-766.
209. Rampil IJ, Laster MJ, Eger EI 2nd. Antagonism of the 5-HT₃ receptor does not alter isoflurane MAC in rats. *Anesthesiology* 2001;95:562-564.
210. Ramsay MA, Luterman DL. Dexmedetomidine as a total intravenous anesthetic agent. *Anesthesiology* 2004;101:787-790.
211. Ravingerová T, Matejíková J, Pancza D, Kolář F. Reduced susceptibility to ischemia-induced arrhythmias in the preconditioned rat heart is independent of PI3-kinase/Akt. *Physiol Res* 2009;58:443-447.
212. Rezkalla SH, Kloner RA. No-reflow phenomenon. *Circulation* 2002;105:656-662.
213. Rezkalla SH, Kloner RA. Ischemic preconditioning and preinfarction angina in the clinical arena. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2004;1:96-102.
214. Romano MA, Seymour EM, Berry JA, Mcnish RA, Bolling SF. Relative contribution of endogenous opioids to myocardial ischemic tolerance. *J Surg Res* 2004;118:32-37.
215. Roques F, Nashef SA, Michel P, Gauducheau E, De Vincentiis C, Baudet E, Cortina J, David M, Faichney A, Gabrielle F, Gams E, Harjula A, Jones MT, Pintor PP, Salamon R, Thulin L. Risk factors and outcome in European cardiac surgery: analysis of the EuroSCORE multinational database of 19030 patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;15:816-822.
216. 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.
217. Roth DM, Swaney JS, Dalton ND, Gilpin EA, Ross J Jr. Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:H2134-2140.
218. Rubart M, Zipes DP. Mechanisms of sudden cardiac death. *J Clin Invest* 2005;115:2305-2315.
219. Sametz W, Metzler H, Gries M, Porta S, Sadjak A, Supanz S, Juan H. Perioperative catecholamine changes in cardiac risk patients. *Eur J Clin Invest* 1999;29:582-587.
220. Segawa H, Mori K, Murakawa M, Kasai K, Shirakami G, Adachi T, Arai T. Isoflurane and sevoflurane augment norepinephrine responses to surgical noxious stimulation in humans. *Anesthesiology* 1998;89:1407-1413.

221. Shafer SL, Dexter F. Publication bias, retrospective bias, and reproducibility of significant results in observational studies. *Anesth Analg* 2012;114:931-932.
222. Scheeren TW, Schwarte LA, Arndt JO. Metabolic regulation of cardiac output during inhalation anaesthesia in dogs. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999;43:421-430.
223. Schlack W, Hollmann M, Stunneck J, Thamer V. Effect of halothane on myocardial reoxygenation injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 1996;76:860-867.
224. Schlack W, Preckel B, Stunneck D, Thamer V. Effects of halothane, enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on myocardial reperfusion injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth* 1998;81:913-919.
225. Schulman D, Latchman DS, Yellon DM. Effect of aging on the ability of preconditioning to protect rat hearts from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H1630-1636.
226. Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ. Ischemic preconditioning in the intact rat heart is mediated by δ_1 - but not μ - or κ -opioid receptors. *Circulation* 1998;97:1282-1289.
227. Siegmund B, Schlack W, Ladilov YV, Balsler C, Piper HM. Halothane protects cardiomyocytes against reoxygenation-induced hypercontracture. *Circulation* 1997;96:4372-4379.
228. Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szelag A, Schulz R. Isolated heart perfusion according to Langendorff—still viable in the new millennium. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007;55:113-126.
229. Slogoff S, Keats AS. Randomized trial of primary anesthetic agents on outcome of coronary artery bypass operations. *Anesthesiology* 1989;70:179-188.
230. Smith G, Thorburn J, Vance JP, Brown DM. The effects of ketamine on the canine coronary circulation. *Anaesthesia* 1979;34:555-561.
231. 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.
232. Smul TM, Stumpner J, Blomeyer C, Lotz C, Redel A, Lange M, Roewer N, Kehl F. Propofol inhibits desflurane-induced preconditioning in rabbits. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011;25:276-281.
233. Sniecinski R, Liu H. Reduced efficacy of volatile anesthetic preconditioning with advanced age in isolated rat myocardium. *Anesthesiology* 2004;100:589-597.
234. Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'huillier I, Aupetit JF, Bonnefoy E, Finet G, Andre-Fouet X, Ovize M. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005;112:2143-2148.

235. Stadnicka A, Marinovic J, Ljubkovic M, Bienengraeber MW, Bosnjak ZJ. Volatile anesthetic-induced cardiac preconditioning. *J Anesth* 2007;21:212-219.
236. Stein AB, Tiwari S, Thomas P, Hunt G, Levent C, Stoddard MF, Tang XL, Bolli R, Dawn B. Effects of anesthesia on echocardiographic assessment of left ventricular structure and function in rats. *Basic Res Cardiol* 2007;102:28-41.
237. Stevens WC, Cromwell TH, Halsey MJ, Eger EI 2nd, Shakespeare TF, Bahlman SH. The cardiovascular effects of a new inhalation anesthetic, Forane, in human volunteers at constant arterial carbon dioxide tension. *Anesthesiology* 1971;35:8-16.
238. Szekely A, Heindl B, Zahler S, Conzen PF, Becker BF. Nonuniform behavior of intravenous anesthetics on postischemic adhesion of neutrophils in the guinea pig heart. *Anesth Analg* 2000;90:1293-1300.
239. Sztark F, Ichas F, Ouhabi R, Dabadie P, Mazat JP. 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.
240. Tamaki F, Oguchi T, Kashimoto S, Nonaka A, Kumazawa T. Effects of propofol on ischemia and reperfusion in the isolated rat heart compared with thiamylal. *Jpn Heart J* 2001;42:193-206.
241. Tanaka K, Ludwig LM, Krolikowski JG, Alcindor D, Pratt PF, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC. Isoflurane produces delayed preconditioning against myocardial ischemia and reperfusion injury: role of cyclooxygenase-2. *Anesthesiology* 2004;100:525-531.
242. Teichholz LE, Kreulen T, Herman MV, Gorlin R. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence of absence of asynergy. *Am J Cardiol* 1976;37:7-11.
243. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-2538.
244. Toma O, Weber NC, Wolter JI, Obal D, Preckel B, Schlack W. 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.
245. Tomai F, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, De Paulis R, Penta De Peppo A, Chiariello L, Gioffre PA. Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamide, a selective ATP-sensitive K⁺ channel blocker. *Circulation* 1994;90:700-705.
246. Tonkovic-Capin M, Gross GJ, Bosnjak ZJ, Tweddell JS, Fitzpatrick CM, Baker JE. Delayed cardioprotection by isoflurane: role of K⁺_{ATP} channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H61-68.

247. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, Yellon DM. Postconditioning: a form of "modified reperfusion" protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res* 2004;95:230-232.
248. Tuman KJ, McCarthy RJ, Spiess BD, Davalle M, Dabir R, Ivankovich AD. Does choice of anesthetic agent significantly affect outcome after coronary artery surgery? *Anesthesiology* 1989;70:189-198.
249. Tweed WA, Minuck M, Mymin D. Circulatory responses to ketamine anesthesia. *Anesthesiology* 1972;37:613-619.
250. Uecker M, Da Silva R, Grampp T, Pasch T, Schaub MC, Zaugg M. Translocation of protein kinase C isoforms to subcellular targets in ischemic and anesthetic preconditioning. *Anesthesiology* 2003;99:138-147.
251. Van Ackern K, Vetter HO, Bruckner UB, Madler C, Mittman U, Peter K. Effects of enflurane on myocardial ischaemia in the dog. *Br J Anaesth* 1985;57:497-504.
252. Verdouw PD, Van Den Doel MA, De Zeeuw S, Duncker DJ. Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes. *Cardiovasc Res* 1998;39:121-135.
253. Vinten-Johansen J, Edgerton TA, Howe HR, Gayheart PA, Mills SA, Howard G, Cordell AR. Immediate functional recovery and avoidance of reperfusion injury with surgical revascularization of short-term coronary occlusion. *Circulation* 1985;72:431-439.
254. Wagner R, Piler P, Bedáňová H, Adámek P, Grodecká L, Freiburger T. Myocardial injury is decreased by late remote ischaemic preconditioning and aggravated by tramadol in patients undergoing cardiac surgery: a randomised controlled trial. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2010;11:758-762.
255. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, Campbell RW, Janse MJ, Yellon DM, Cobbe SM, Coker SJ, Harness JB, Harron DW, Higgins AJ, Julian DG, Lab MJ, Manning AS, Northover BJ, Parratt JR, Riemersma RA, Riva E, Russell DC, Sheridan DJ, Winslow E, Woodward B. The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1988;22:447-455.
256. Wartier DC, Pagel PS, Kersten JR. Approaches to the prevention of perioperative myocardial ischemia. *Anesthesiology* 2000;92:253-259.
257. Weber NC, Toma O, Wolter JI, Obal D, Mullenheim J, Preckel B, Schlack W. The noble gas xenon induces pharmacological preconditioning in the rat heart in vivo via induction of PKC- ϵ and p38 MAPK. *Br J Pharmacol* 2005;144:123-132.
258. Weigt HU, Kwok WM, Rehmert GC, Turner LA, Bosnjak ZJ. Voltage-dependent effects of volatile anesthetics on cardiac sodium current. *Anesth Analg* 1997;84:285-293.

259. Weihrauch D, Krolikowski JG, Bienengraeber M, Kersten JR, Warltier DC, Pagel PS. Morphine enhances isoflurane-induced postconditioning against myocardial infarction: the role of phosphatidylinositol-3-kinase and opioid receptors in rabbits. *Anesth Analg* 2005;101:942-949.
260. Weiser TG, Regenbogen SE, Thompson KD, Haynes AB, Lipsitz SR, Berry WR, Gawande AA. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. *Lancet* 2008;372:139-144.
261. Weiskopf RB, Cahalan MK, Ionescu P, Eger EI 2nd, Yasuda N, Lockhart SH, Rampil IJ, Laster M, Freire B, Peterson N. Cardiovascular actions of desflurane with and without nitrous oxide during spontaneous ventilation in humans. *Anesth Analg* 1991;73:165-174.
262. Welters ID, Feurer MK, Preiss V, Muller M, Scholz S, Kwapisz M, Mogk M, Neuhauser C. 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.
263. White PF, Way WL, Trevor AJ. Ketamine—its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology* 1982;56:119-136.
264. Widimský P, Groch L, Želízko M, Aschermann M, Bednář F, Suryapranata H. Multicentre randomized trial comparing transport to primary angioplasty vs immediate thrombolysis vs combined strategy for patients with acute myocardial infarction presenting to a community hospital without a catheterization laboratory. The PRAGUE study. *Eur Heart J* 2000;21:823-831.
265. Wiessner R, Hannemann-Pohl K, Ziebig R, Grubitzsch H, Hoher B, Vargas-Hein O, Lun A, Schimke I, Liefeldt L. Impact of kidney function on plasma troponin concentrations after coronary artery bypass grafting. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:231-238.
266. Wong GT, Huang Z, Ji S, Irwin MG. Remifentanyl reduces the release of biochemical markers of myocardial damage after coronary artery bypass surgery: a randomized trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2010a;24:790-796.
267. Wong GT, Ling Ling J, Irwin MG. Activation of central opioid receptors induces cardioprotection against ischemia-reperfusion injury. *Anesth Analg* 2010b;111:24-28.
268. Woolfson RG, Patel VC, Yellon DM. Pre-conditioning with adenosine leads to concentration-dependent infarct size reduction in the isolated rabbit heart. *Cardiovasc Res* 1996;31:148-151.
269. Wu GT, Wang L, Li J, Zhu WZ. Effects of glibenclamide, glimepiride, and gliclazide on ischemic preconditioning in rat heart. *Chin Med Sci J* 2007;22:162-168.
270. 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.

271. Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 2003;83:1113-1151.
272. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 2007;357:1121-1135.
273. 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.
274. Yvon A, Hanouz JL, Haelewyn B, Terrien X, Massetti M, Babatasi G, Khayat A, Ducouret P, Bricard H, Gerard JL. Mechanisms of sevoflurane-induced myocardial preconditioning in isolated human right atria in vitro. *Anesthesiology* 2003;99:27-33.
275. Zangrillo A, Testa V, Aldrovandi V, Tuoro A, Casiraghi G, Cavenago F, Messina M, Bignami E, Landoni G. Volatile agents for cardiac protection in noncardiac surgery: a randomized controlled study. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2011;25:902-907.
276. Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC. Differential effects of anesthetics on mitochondrial K^+_{ATP} channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002;97:15-23.
277. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H579-588.
278. Zumbro GL Jr., Tillman L, Bailey AO 3rd, Treasure RL. A comparison between propranolol and hypothermia in preventing ischemic contracture of the left ventricle (stone heart). *Ann Thorac Surg* 1978;25:541-550.

9. VLASTNÍ PUBLIKACE AUTORA SE VZTAHEM

K DISERTAČNÍ PRÁCI

8.1. Publikace *in extenso* v časopisech s IF s úzkým vztahem k disertační práci

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.

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.

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.

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.

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.

(přehledový článek; část o perioperační ochraně myokardu)

8.2. Publikace *in extenso* v časopisech s IF s volným vztahem k disertační práci

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.

8.3. Publikace *in extenso* v časopisech bez IF se vztahem k disertační práci

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 kardiouchirurgii)

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)

8.4. Abstrakta se vztahem k disertační práci

Říha H. Kardioprotektivní účinek inhalačních anestetik. *Referátový výběr z anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny* 2012;59:v tisku.

Říha H, Hess L, Březina A, Kramář P, Kotulák T. Kombinace midazolam – dexmedetomidin – ketamin v kardioanestezii. *Referátový výběr z anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny* 2011;58(1; Suppl):4-5.

Březina A, **Říha H**, Hess L. Peroperační blokáda sympatiku. *Anesteziologie a intenzivní medicína* 2011;22:291-292.

Říha H, Hess L, Březina A. TIVA s kombinací dexmedetomidin – ketamin v kardiouchirurgii. Sborník abstrakt XII. kongresu ČSARIM s mezinárodní účastí. Galén, Praha 2005, str. 24 (ISBN: 80-7262-353-2).